

ラットにおける IgE 抗体産生と腎炎発症の遺伝学的背景について

永井博式，稲垣直樹，松浦直資，江田昭英

（岐阜薬科大学薬理学教室）

Genetic Control of IgE Antibody Production and Susceptibility to
Glomerulonephritis in Rats

HIROICHI NAGAI, NAOKI INAGAKI, NAOSUKE MATSUURA,

AKIHIDE KODA

Department of Pharmacology, Gifu College of Pharmacy

(Received February 27, 1982)

The IgE antibody production and the susceptibility to rabbit IgG accelerated nephrotoxic serum nephritis in Lewis, Brown Norway and Fischer 344 inbred rats, as well as (Lewis×Brown Norway) F₁ and (F₁×Lewis) backcross. The similar high responsibility to the IgE antibody production and the susceptibility to nephritis were found in Brown Norway and (Lewis×Brown Norway) F₁ rats. However, tissue typing of above rats suggested that the IgE antibody production and the susceptibility to nephritis were not linked to the major rat histocompatibility locus.

アレルギー性疾患または自己免疫疾患の多くはその発症に家族歴がみられ，発症の背景には遺伝学的要因が存在することが知られている。最近，この遺伝学的要因は疾患感受性遺伝子群として主要組織適合遺伝子複合体（major histocompatibility complex; MHC）と関連するものであることが次第に解明されてきた。すなわち，ヒトではその MHC である human leucocyte antigen (HLA) のうち HLA-B27 と強直性脊椎炎，HLA-DR，MT 3 と若年性糖尿病，HLA-DR，MB 3 と重症性筋無力症および自己免疫性甲状腺炎が関連することが報告されている。ラットにおいても同様にラットの MHC である RT1 のうち，RT1¹ ハプロタイプとアレルギー性脳髄膜炎および自己免疫性腎炎，RT1^b と実験的自己免疫性甲状腺炎が関連することが明らかにされている。ところで，近年，この MHC 中には免疫応答遺伝子 (immune response gene; Ir gene) が存在することが見出されている。すなわち，Benacerraf et al.⁹⁾ や McDevitt et al.^{10,11)} はある種の合成抗原に対する個体の免疫応答性が一個の優性遺伝子によって支配され，それが MHC の中心部にある I 領域に存在することを報告している。この Ir gene と疾患感受性遺伝子とはいずれも MHC の中心部に存在し，免疫応答性の異常と自己免疫疾患発症との相関性からその異同が研究されたが，いまだに明らかな結論は導き出されていない。一方，これとは別に，糸球体腎炎患者のうち，特に未治療ネフローゼ症候群患者には血清 IgE 抗体価がアトピー性疾患患者のそれと同様に高値を示す例があることが報告され¹²⁾，ネフローゼ症候群における IgE 抗体の意義が注目されている。今回，我々はこの点に注目し，IgE 抗体産生を支配する Ir gene と腎炎発症を支配する疾患感受性遺伝子との関連性についてラットを用いて検討を行った。

実験材料および方法

実験動物：体重100～200gの雄性 Lewis (LEW) 系，Brown Norway (BN) 系，Fischer 344 (F344) 系，(LEW×BN) F₁ 系および F₁×LEW の backcross 系のラットを用いた。これらのラットのハプロタイプは，1977年の

国際移植学会で LEW は RT^{1l}, BN は RT¹ⁿ, F344 は RT^{1vl} と決定されている。これらの組織適合性はそれぞれの系のラットの脾細胞を用いて局所的 **graft versus host reaction** で同一性を確認した。

IgE 抗体産生: すでに報告した方法に従って行った。¹³⁾ すなわち, 抗原には Strejan and Campbell の方法によ¹⁴⁾って作製したブタ回虫抽出物 (As-ext) に Eisen et al. の方法により¹⁵⁾ dinitrophenyl (DNP) 基を結合したものを DNP-As として用いた。タンパク質量として 1mg の DNP-As と 10¹⁰ 個の killed Bordetella pertussis を含む生理食塩水溶液 0.5ml を 4分してラットの足臍内に注射して免疫し, 5日後にタンパク質量で 0.5mg の DNP-As を含む生理食塩水溶液 0.5ml を 4分して背部筋肉内に注射して追加免疫した。経日的に採血を行い血中抗体価を測定した。IgE 抗体価の測定は 48^h homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 反応を用いて行い, IgM または IgG 抗体価は passive hemagglutination (PHA) test により測定した。PCA によって測定される抗体が IgE 抗体であることは sheep anti rat ϵ serum (Dr. A. Sehon, Manitoba, Canada より譲与) を用いて吸収実験により確認した。

実験的腎炎: すでに報告した方法により行った。¹⁶⁾ すなわち, 1mg のウサギ IgG (RGG) を complete Freund's adjuvant と共にラットの腹腔内に注射して免疫を行い, 5日後に単独では腎炎を惹起することのできない用量 (0.2 ml) の抗腎抗体 (nephrotoxic serum; NTS) を静注して腎炎発症を行った。腎炎は経日的に尿タンパク質量を測定して判定した。また, 通常の場合は NTS 注射後20日目の組織学的検討を hematoxylin-eosin 染色および periodinate-Shiff 染色により行った。¹⁷⁾ RGG の精製は Franklin の方法に従って行い, その単一性は sheep anti rabbit γ serum を用いて免疫拡散法および免疫電気泳動法により確認した。NTS は Shibata et al. の方法に従¹⁸⁾い, ラット腎より 150 mesh ステンレス篩および連続遠心法により得た糸球体基底膜をウサギに免疫して作製した。56°C, 30分の加熱処理および同種赤血球による吸収を充分行ったのち実験に用いた。用いた NTS は 1.0ml の静注により F344 系ラットに再現性よく馬杉腎炎を惹起した。

実験成績

IgE 抗体産生: LEW, BN, F344 および (LEW×BN) F₁ 系ラットの IgE 抗体産生について検討した。その成績は Fig. 1 に示すように, 用いたいずれの系のラットも7日目より IgE 抗体産生が始まり, 22日目まで持続した。この時の LEW および F344 系ラットの IgE 抗体価は 48^h homologous PCA titer で約256倍であったが, BN および (LEW×BN) F₁ 系ラットのそれは約2048倍であった。この時の IgM および IgG 抗体価は Fig. 2 に示すように, いずれの系も同様な経日的変化を示し, ラットの系による差は認められなかった。

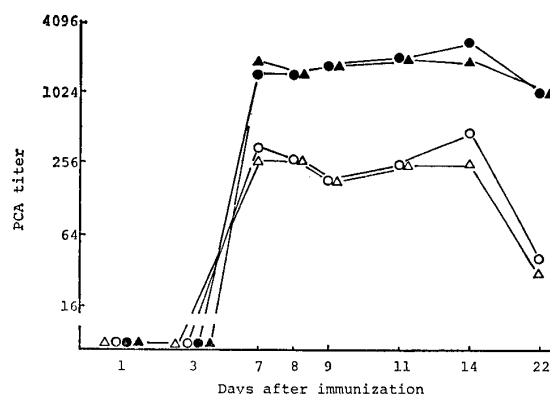


Fig.1. Reciprocal geometric mean DNP-As specific reagin (48 h PCA) titers in LEW (O—O), BN (●—●), F344 (△—△) and (LEW×BN)F₁ (▲—▲) rats.

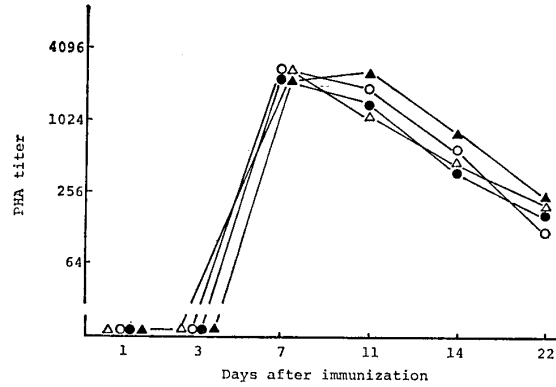


Fig.2. Reciprocal geometric mean DNP-As specific PHA titers in LEW (O—O), BN (●—●), F344 (△—△) and (LEW x BN)F₁ (▲—▲) rats.

Table 1. The susceptibility to PCA reaction in four different rat strains.

Donor \ Recipient	LEW	BN	F344	(LEW x BN)F ₁
LEW	x 256	x 1024	x 256	x 512
BN	x 256	x 1024	x 256	x 512
F344	x 256	x 1024	x 256	x 512
(LEW x BN)F ₁	x 256	x 1024	x 256	x 512

Results are represented as the mean of three experiments. Values are expressed the maximum dilution of antiserum in positive PCA reaction.

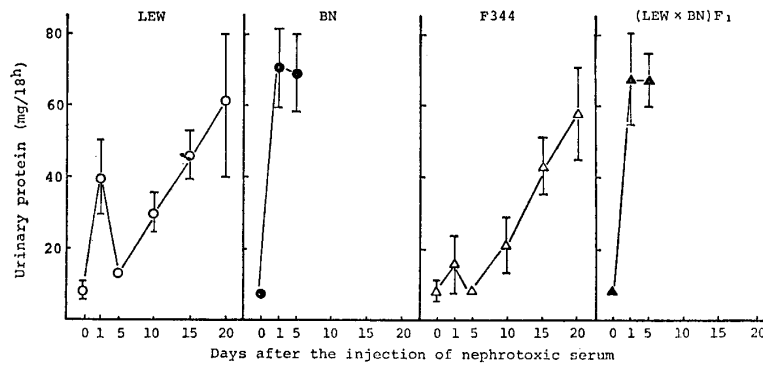


Fig.3. Proteinuria in different strains of rats.

PCA 反応感受性：上述の4系のラットの 48^h homologous PCA に対する感受性をそれぞれの系より得た抗血清を用い検討した。その成績は Table 1 に示すように、いずれの系のラットもほぼ同程度の感受性を示した。

実験的腎炎：上述の4系のラットにおける腎炎発症について検討した。その成績は Fig. 3 に示すように、LEW および F344 系ラットではほぼ同様な尿タンパク質の排出パターンがみられた。しかし、BN および (LEW×BN) F₁ 系ラットでは4～5日目に全例異常に高い尿タンパク質量を示して死亡した。組織学的には糸球体への強い細胞浸潤が観察された。そこで F₁×LEW の backcross 系ラットを用いて腎炎発症を検討した。その成績は Table 2 に示すように、NTS 注射後14日目で LEW および F344 系ラットは全例生存したがいずれにも 30mg/18h 以上の異常タンパク尿がみられた。これに対して BN および (LEW×BN) F₁ 系ラットは全例死亡した。また、F₁×LEW の backcross 系ラットでは10例中2例が死亡し、残りの8例はいずれも異常タンパク尿を示した。

Table 2. Viability and proteinuria in different strains of rats after 14 days of the injection of nephrotoxic serum.

Strain	RT1 haplotype	Viability ^a	Abnormal ^a proteinuria
LEW	RT1 ^l	10/10	10/10
BN	RT1 ⁿ	0/10	0/10
F344	RT1 ^{lv1}	10/10	10/10
(LEW×BN)F ₁	RT1 ⁿ	0/10	0/10
F ₁ ×LEW	RT1 ^l /RT1 ⁿ	8/10	8/10

a. Values are represented the number of lived or positive animals/the number of employed animals.

考 案

今回の実験成績は以下のことを示唆する。すなわち、1) IgE 抗体産生能と腎炎発症感受性は共に優性遺伝する。2) しかし、腎炎発症の疾患感受性遺伝子はラットの MHC である RT1 のハプロタイプと関連しない。3) ラットにおける DNP-As に対する IgE 抗体産生の Ir gene と IgM または IgG 抗体産生の Ir gene とは同一の gene 上にはないものと思われる。

今回の実験成績から得られた上述の知見はさらに以下のような検討の必要性を示唆する。まず第一に IgE 抗体産生の Ir gene と腎炎発症の疾患感受性遺伝子の同一性についての検討である。現在までのところ、ラットの MHC である RT1 中の B 重鎖領域にある Ba-1 および Ba-2 に合成ペプチドおよび自然抗原に対する Ir gene が存在することが報告されている^{19,20)}。しかし、この時産生される抗体は IgM または IgG 抗体であり、IgE 抗体ではない。さらに Murphey et al.²¹⁾ はラットの ovalbumin に対する IgE 抗体産生に関する Ir gene は RT1 ハプロタイプとは関連しないことを報告している。今回の成績では IgE 抗体産生は RT1 ハプロタイプの違いにより異なった反応性を示したが、IgM または IgG 抗体産生は RT1 ハプロタイプによる違いがみられなかった。これらの知見を考えると、ラットでの IgE 抗体産生の Ir gene は IgM または IgG 抗体産生の Ir gene が存在する MHC とは異なった部分にあるものと思われる。疾患感受性遺伝子に関しては自己免疫性甲状腺炎や自己免疫性腎炎についての遺伝子が RT1 上に存在することが報告されている^{6,7,8)}が、今回用いたネフローゼ様腎炎の疾患感受性遺伝子は RT1 上には存在しないものと考えられた。すなわち、腎炎に対して高感受性を有する BN 系ラットと通常の感受性である

LEW 系ラットの F₁ は BN 系ラットと同様に高感受性を示した。そこで、F₁×LEW の backcross 系ラットを用いて腎炎発症を検討したが高感受性動物は20%であり、MHC の遺伝様式とは異なっていた。これらのことより、IgE 抗体産生の Ir gene とネフローゼ様腎炎の疾患感受性遺伝子は二点において共通性を有している。すなわち、両者とも RT1 上に存在せず、かつ、優性遺伝子である。この二点では一致するがその存在場所が同一の minor gene の上にあるか否かは不明である。したがって、今後 minor な histocompatibility antigen の異なる system を用いての検討が必要である。

つぎに、IgE 抗体と腎炎発症の関連についての検討である。これに関しては龍華¹²⁾らがネフローゼ症候群の発症初期に未治療群では高い IgE 抗体価がみられることを、Benveniste et al.²²⁾が immune complex の腎系球体への沈着に IgE 抗体—好塩基球—血小板系が関与することを、さらに Gerber and Paronett²³⁾がネフローゼ症候群患者の腎に IgE 抗体が沈着していることを報告している。これらはいずれも IgE 抗体がネフローゼ症候群の発症に関与するものであることを示唆するが直接的な証明はなされていない。しかし、臨床的には高い IgE 抗体価を示すアトピー性患者が腎炎にかかりやすいという報告はない。したがって、今後ネフローゼ症候群発症初期の高値を示す IgE 抗体がどのような抗原に対して向けられたものであるかを検討する必要がある。それによってネフローゼ症候群における IgE 抗体が発症と関連するものが単なる随伴症状であるのかが明らかにされるであろう。

ヒトでは喘息患者における IgE 抗体産生と HLA W-10 の相関性および慢性腎炎発症と HLA-2 との関連性が^{24,25)}報告されている。これら二者の間に共通性はみられないが、今回の成績で示唆されたように minor な histocompatibility antigen の部分に主な共通部分があることが判明すれば、腎炎治療あるいは発症予防に何らかの方法が見出さるものと思われる。

文 献

- 1) Waters, H., Konrad, P. and Wolford, R. L.: The distribution of HLA histocompatibility factors and genes in patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Tissue Antigens*, 1, 68 (1978).
- 2) Grumet, F. C., Coukei, A., Bodmer, J. G., Bodmer, W. F. and McDevitt, H. O.: Histocompatibility antigens associated with systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.*, 285, 193 (1971).
- 3) Brewerton, D. A., Caffray, M., Hart, F. D., James, D. C. O., Nicholls, A. and Sturrock, R. D.: Ankylosing spondylitis and HLA-27. *Lancet*, 1, 904 (1973).
- 4) Mackey, I. P. and Morris, P. J.: Association of autoimmune active chronic hepatitis with HLA-18. *Lancet*, 2, 793 (1972).
- 5) McDevitt, H. O. and Bodmer, W. F.: Histocompatibility antigens, immune responsiveness and susceptibility to disease. *Am. J. Med.*, 52, 1 (1972).
- 6) Stenglein, B., Thoenes, G. H. and Günther, E.: Genetically controlled autologous immune complex glomerulonephritis in rats. *J. Immunol.*, 115, 895 (1975).
- 7) Gasser, D. L., Newlin, C. M., Palm, J. and Gonatas, N. K.: Genetic control of susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in rats. *Science*, 181, 872 (1973).
- 8) 小谷富男：ラット実験的免疫性甲状腺炎Ⅱ．発病機構について．臨床免疫，11，141（1979）．
- 9) Benacerraf, B. and McDevitt, H. O.: The histocompatibility-linked immune response gene. *Science*, 175, 273 (1972).

- 10) McDevitt, H. O., Deak, B. D., Shreffler, D. C., Klein, J., Stimpfling, J. H. and Snell, G. D. : Genetic control of the immune response ; Mapping of the Ir-1 locus. *J. Exp. Med.*, **135**, 1259 (1972).
- 11) McDevitt, H. O. and Landy, M. (Eds.) : Genetic control of immune responsiveness ; Relationship to disease susceptibility. Brook Lodge, 1972, New York, Academic press (1972).
- 12) 龍華二郎, 坂本信夫 : 糸球体疾患と IgE とくにネフローゼ症候群における IgE の意義について—日本臨床, **35**, 2115 (1977).
- 13) Koda, A., Nagai, H., Watanabe, S., Yanagihara, Y. and Sakamoto, K. : Inhibition of hypersensitivity reactions by a new drug, N (3', 4'-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5'). *J. Allergy Clin. Immunol.*, **57**, 396 (1976).
- 14) Strejan, G. and Campbell, D. H. : Hypersensitivity to ascaris antigens. IV. Production of homocytotropic antibodies in the rat. *J. Immunol.*, **101**, 628 (1968).
- 15) Eisen, H. N., Belman, S. and Carsten, M. E. : The reaction of 2,4-dinitrobenzene sulfonic acid with free amino groups of proteins. *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**, 4583 (1953).
- 16) Nagai, H., Shimazawa, T. and Koda, A. : Immunopharmacological approach to nephritis using an experimental model. *Jap. J. Pharmacol.*, **30**, 389 (1980).
- 17) Franklin, E. C. : The immunoglobulins—their structures and function and some techniques for their isolation. *Progress in Allergy*, **8**, 58 (1964).
- 18) Shibata, S., Naruse, T., Miyakawa, Y. and Nagasawa, T. : Further purification of the glycoprotein that induces nephrotoxic antibody ; Isolation of the active polysaccharide fraction mainly composed of glucose. *J. Immunol.*, **104**, 215 (1970).
- 19) Günther, E. and Stark, O. : The major histocompatibility system in man and animals. (ed. by Götze, D.) p. 234, Springer-Verlag, New York (1977).
- 20) 名取孝 : ラット主要組織適合抗原とその応用. 代謝, **17**, 2091 (1980).
- 21) Murphey, S. M., White, C., Waters, T. and Fireman, P. : Reagin synthesis in inbred rats. II. Genetic control of reaginic antibody synthesis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **58**, 387 (1976).
- 22) Benveniste, J., Henson, P. M. and Cochrane, C. G. : Leucocyte-dependent histamine release from rabbit platelets : The role of IgE, basophils and a platelet activating factor. *J. Exp. Med.*, **136**, 1356 (1972).
- 23) Gerber, M. A. and Paronett, F. : IgE in glomeruli of patients with nephrotic syndrome. *Lancet*, **1**, 1097 (1971).
- 24) 山田昭夫, 広瀬俊一, 宮本昭正, 堀内淑彦 : アトピー性気管支喘息と HLA. 臨床免疫, **6**, 837 (1974).
- 25) Patel, R., Michey, M. R. and Terasaki, P. I. : Leucocyte antigens and disease ; Association of HLA-2 and chronic glomerulonephritis. *Br. Med. J.*, **2**, 424 (1969).