

氏名(本籍)	菊池博 (茨城県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	博乙第382号
学位授与年月日	昭和62年4月30日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	荷電の異なるフェリチンを用いた家兔急性血清病腎炎における血小板活性化の機序
主査	筑波大学教授 医学博士 上野賢一
副査	筑波大学教授 医学博士 阿部 帥
副査	筑波大学教授 医学博士 岩崎寛和
副査	筑波大学教授 医学博士 河野邦雄
副査	筑波大学教授 医学博士 中村恭一

論文の要旨

〈目的〉

糸球体腎炎の発症は免疫複合体(IC)の糸球体への沈着によるが、このさい血小板が血管作働性アミンを放出して血管透過性を高め、ICの係蹄壁沈着を惹起させている。この血小板活性化の機序がいかんして起るかを家兔急性血清病腎炎をモデルとして以下の研究を行なった。

〈検討事項〉

血小板膜表面が陰性荷電を有することに注目し、種々に荷電を変えたフェリチンを抗原とし、血小板よりの放出反応、血小板表面抗体および循環血液中の血小板の形態変化を観察、これにより抗原の陽性荷電化が血小板活性化に及ぼす影響およびIC沈着機序を検討した。

〈実験方法〉

- (1) 動物：New Zealand white rabbit 12羽。
- (2) 抗原：馬脾ferritin (MW480,000, PI4.6-4.8) をnative ferritin (NF) とした。
- (3) 陽性荷電化抗原：Dannon法により、等電点8.6-9.3および10以上の陽性荷電化抗原を作成、夫々をMCF (moderately cationized ferritin), HCF (highly cationized ferritin) とした。
- (4) 腎炎系の作成：一群4羽よりなる家兔に上記3抗原(NF, MCF, HCF)を50mg/rabbitに耳静脈より投与した。
- (5) 抗原の標識： $^{125}\text{I}-\text{Na}$ をchloraminT法で標識した。

(6) 血小板数の測定：1/6ACD-A 加血液を1300rpm10分遠沈し、platelet rich plasma (PRP) とし platelet counter PL-100で測定した。

(7) 血小板内セロトニン測定：PRP0.25mlに0.75mlの4%EDTA (pH7.2)を加えて3000rpm20分遠心、1mlの蒸留水を加えてペレット中に凍結した。Drummond-Gardon法で測定し $\mu\text{g}/10^9$ 個で表した。

(8) 血中フェリチン抗体の測定：酵素抗体法を用いて測定した。

(9) 血小板の形態変化(電顕)：3%グルタルアルデヒド固定、酢酸ウラン・鉛二重染色後、日立H500で観察した。

(10) 血小板表面抗体の測定：酵素抗体法を用いて測定した。

(11) 組織学的検討：光顕はH-E, PAM, Masson Trichrome 染色, 蛍光抗体法はFITC 標識抗家兎IgG, C₃, fibrinogen による直接法にて検討した。

〈実験結果〉

(1) 抗原消失率：NF 群は4～6日, MCF 群は6日, HCF 群は7～8以降平坦化した。

(2) 血中抗体産生：NF 群で8～10日, MCF 群は6～8日, HCF 群では7日目に陽性となった。

(3) 血小板数：抗原静注後著減したが, NF, MCF 群は8日後, HCF 群は4日後に前値に回復し, 8日以降前値を上まわった。

(4) 血小板内セロトニン：抗原投与後著減し, NF 群では8～10日目, MCF 群では8日目より回復したが, HCF 群では6～8日で最低となり, その後も低値を持続した。

(5) 血小板表面抗体：HCF 群で6日より陽性, 6～8日で最高を示した。

(6) 血小板形態変化：HCF 群で2日より空胞形成・偽足形成が始まり, 6～8日で最高に達した。

(7) 蛋白尿：HCF 群のみで6～10日目に陽性をみた。

(8) 腎組織変化：HCF 群で末梢係蹄壁にIgG, C₃, fibrinogen を認めた。

〈結論〉

(1) フェリチン自身による血小板の活性化はNF・MCF・HCFのいずれの群においても認められた。しかし予想に反し陽性荷電の程度との相関は認められなかった。

(2) Immune elimination に一致して血小板表面IgG抗体が検出され, セロトニン放出反応が認められた。

(3) またimmune elimination に一致して血小板の形態的变化(空胞化・偽足形成)が強く起り, この時期にその活性化が最高に達すると考えられた。そしてこの活性化は, 主に循環ICによることが強く示唆された。

(4) NF・MCF・HCF 3群ともにセロトニン放出を認めたが, 蛋白尿の出現はHCF 群のみであった。

以上より, 腎炎発症過程で重要な役割を演ずる血小板の活性化の機序として, 抗原自身の直接的作用に加うるに, 循環免疫複合体(circulating immune complex)およびPAFの作用があるものと

考えられ、かつこの後者の作用が主役を演じているものと推論された。

審 査 の 要 旨

急性血清病腎炎の発症は、種々の機序が次々と連鎖的に起り、その病態を形成する。この過程において血小板の果たす役割は大きく、とくにその vasoactive amine release が免疫複合体の糸球体内沈着に大きく関与している。この血小板活性化の機序がいかにして起るか、その解明に著者は、免疫学的・生化学的・形態学的手技を駆使して、循環免疫複合体が血小板に与える作用がその主役を成すことを証明した。この機序の解明は、東條教授一門の腎炎病態解明の一連の業績の一端を支えるものであり、難病の一つである腎炎の病因解明、ひいてはその治療に連なるものとして、その意義は大きく、高く評価される。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。