

# 腎抗原刺激マウスの腎間質組織における 免疫細胞反応の意義

—モノクローナル抗体による検討— (第一報)

川崎医科大学 腎臓内科

(指導: 大沢源吾教授)

進 藤 亨

(昭和60年2月28日受付)

## The Significance of the Immune Cell Response after Alloantigen Stimulation in the Renal Interstitial Tissue of Mice

— I. Monoclonal Antibody Study —

Toru Shindo

Department of Medicine, Kawasaki Medical School

(Accepted on February 28, 1985)

同種腎抗原によるマウス自己免疫性IC腎炎において、多核白血球、Tリンパ球の部位別、経時的変動をABC法により組織切片上で観察した。抗原刺激後、多核白血球は14日目を中心に一過性の変動を示したが、Tリンパ球は7日目にまず髄質部で増加し、以後持続した。皮質部では、14日目に軽度の増加を認めた。

14日目の多核白血球変動とTリンパ球変動の間に解離を認め、このことより細胞性免疫反応の不全型、あるいは局所における免疫自己制御機構の関与する可能性が示唆された。

T cells and granulocytes were investigated by the ABC method in renal tissue of mice with alloantigen-induced autoimmune IC nephritis. Granulocytes responded 14 days after the immunization. T cells appeared in medulla 7 days after the stimuli and in cortex on day 14.

Dissociation was found between the movement of T cells and granulocytes, which suggests the possibility of incomplete cellular immunity or local immune autoregulation.

Key Words ① Mouse nephritis ② Interstitial cell ③ ABC method

### 緒 言

糸球体腎炎における尿細管間質性病変は、そ

の腎炎の持続性ないし進行性を示唆する因子の1つとして重視されており、<sup>1), 2), 3)</sup> 尿細管間質病変の病因の検索は腎炎の持続性や進行性の機

構の解明にもつながる可能性があると思われる。

一般にヒト尿細管間質性腎炎の発生には、多彩な病因が関与していると思われるが、免疫学的な観点からは大きく、尿細管間質における免疫複合体沈着を伴う型、抗尿細管基底膜抗体が関わっていると考えられる型、および、細胞性免疫が主体となって関与している型の3つに分けられている。<sup>4)</sup>ところが、ヒトの糸球体腎炎にみられる尿細管間質性病変が、どのような機構を介して起こっているのか、そして、その間質病変は糸球体病変の発現ないし持続機構とどのように関連しているのか、などの詳細についてはほとんど検討されていない。

近年、モノクロナール抗体の出現によって、組織切片上における血球由来細胞の適確な鑑別が可能となってきた。Hooke,<sup>5)</sup> Nagata,<sup>6)</sup> Hinglais<sup>7)</sup> らは、ヒト糸球体腎炎患者の腎組織浸潤細胞をモノクロナール抗体を用いて検索している。しかしながら、腎炎における尿細管間質性病変の出現機序を解明するにはいたっていない。臨床研究における組織学的研究手法の短所は、組織採取の部位および時期の制限にあると思われる。そこで著者は、動物実験において抗原刺激後の経時的、部位的な尿細管間質浸潤細胞の性格の検討を行い、糸球体腎炎における尿細管間質性病変、とくに、その浸潤細胞の意義について考察を加えてみた。

## 方 法

### 1. 腎抗原作製

BALB/c マウス(6週齢, 雄)10匹を、エーテル麻酔下に脱血し、両腎を摘出した。腎被膜を取除き、皮質部のみ分離した後、細切し、PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7.2にて数回洗浄し、No. 80 screen mesh を通し、homogenizer にて50%腎皮質粥とした。

### 2. 腎抗原免疫操作

Complete Freund Adjuvant (C. F. A.) と混合した腎粥を、BALB/c マウス(6週齢, 雄)43匹に各々 0.3 ml ずつ両後肢足掌および

背部皮下に1回のみ注射した。コントロールとして生理的食塩水注射群14匹とCFAのみの注射群4匹を用意した。これらのマウスを3~49日間にわたり順次観察した。

### 3. 組織学的検索

エーテル麻酔下に臓器を摘出し、光学顕微鏡、電子顕微鏡標本用にそれぞれ固定し、残りの組織は凍結保存(-20°C)し、免疫組織学的検索に供した。

#### a) 光学顕微鏡の検索

腎臓長軸に垂直な面にて組織を切出し、アルコールブアン固定、脱水しパラフィン包埋した。2μm切片をHematoxyline eosin 染色し観察した。

#### b) 電子顕微鏡の検索

型のごとく細切切片を2.5%グルタルアルデヒド固定した後、四酸化オスミウムにて後固定し、脱水、エポン樹脂包埋した。超薄切片にウラン、鉛二重染色を行い観察した。

#### c) 蛍光顕微鏡の検索

FITC 標識抗マウスIgGおよびC<sub>3</sub>(MBL)により直接法で凍結切片を観察した。

#### d) 免疫組織化学的検索

光学顕微鏡標本と同様に腎臓横断面での4μm切片をCryostat (Bright) にて作製した。次に、その切片上にてTリンパ球をモノクロナール抗体を用いてHsu<sup>8)</sup>らのAvidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) 法により、Wood<sup>9)</sup>, Marty<sup>10)</sup>, らの方法を参考にして後述のごとき手順で行った。内因性Peroxidaseのblockingを省略したため、多核白血球(Polymorphonuclear cell: PMN と略す。)のPeroxidase granules が同時に染色された。<sup>11)</sup>

著者のABC法手順は、まず、凍結切片をシリカゲルを敷いた密封容器内で12時間乾燥させた後、冷アセトンにて10時間固定する。短時間乾燥させた後、PBSで湿潤させ、37°Cのmoist chamber内に置き、Avidin-D (Vector) 液を1滴々下し、5分間incubationする。PBSで手短かに洗い流した後、Biotin (vector) 液を1滴々下し、さらに5分間置く、次にBiotinyl

anti-Thy 1, 2 抗体液 (Becton Dickinson) 100倍希釈を1滴々下し, 5分間 incubation, PBS 洗浄の後, ABC 試薬 (vector) を1滴々下し, 5分間 incubation, PBS 洗浄後, Peroxide 添加 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (Nakarai) 溶液中にて5分間反応させ, 水洗後, 0.4% methyl green にて核染色, アセトン脱水の後封入した。

#### e) 組織切片細胞数算定法

腎横断面標本を, 糸球体部(G), 糸球体以外の皮質部(C), 髓質部(M)に分類し, 部位別にTリンパ球, 多核白血球の絶対数を視算した。次に, 千代田卓上顕微投影装置 Brio-II にてスライド標本を200倍に拡大して均質の紐に投写して切抜き, 単位面積重量との比例により標本の面積を皮質, 髓質に分割して算出した。皮質と髓との境界は, 弓状動脈の断面を結んだ仮想線とした。G, C, Mの部位別にT cell, PMNそれぞれの単位面積あたりの細胞数を算出した。ただし, Gについては, その面積を皮質の面積で代用した。糸球体は, ほぼ皮質部のみに存在し, したがって糸球体の面積は皮質部の面積に比例すると考えられる。

#### 4. 尿中蛋白排泄量測定

マウス用代謝ケージ (日本クレア) 中で, 24時間蓄尿し採尿した。尿中蛋白測定は, Kingsbury-Clark 法により行った。血尿の有無は, 尿沈査検頭および試験紙法により判定した。

#### 5. 体重測定および臓器重量測定

エーテル麻酔時に体重を測定し, 臓器摘出した後, 切分ける前に素速く両腎, 脾臓の重量を測定した。

#### 6. 統計学的検討

2群間の有意差検定には, Student's t test を用いた。

## 結 果

#### 1. 体重測定および臓器重量測定

体重は, 14日目において腎炎群  $21.75 \pm 1.47$  g, コントロール群  $23.0 \pm 2.12$  g にて有意差を認めなかった。腎重量は, 同じく14日目にお

いて, 腎炎群  $170 \pm 21.2$  mg, コントロール群  $200 \pm 35.3$  mg と有意差はなかったが, 脾臓重量は, 腎炎群  $212.5 \pm 54.5$  mg, コントロール群  $50.0 \pm 12.2$  mg と有意差 ( $p < 0.01$ ) を示した。

#### 2. 尿中蛋白排泄量

24時間尿中蛋白量は, 14日目において, 腎炎群  $14.45 \pm 5.47$  mg, コントロール群  $9.25 \pm 5.84$  mg で有意差を認めなかった。尿潜血反応, 尿沈査において, 全マウスで異常を認めなかった。

#### 3. 組織病理学的所見

腎炎群マウスで, 光学顕微鏡的に明らかな病理学的所見を認めたのは, 14日目に観察した7匹のうち3匹であった。すなわち, 糸球体係蹄毛細管内および尿細管間質毛細血管と, その周囲に中等度の多核白血球浸潤を特徴とする所見であった。しかし, 糸球体メサンギウム細胞の増生, 尿細管上皮の変性壊死像などは認めなかった (Figs. 1, 2)。

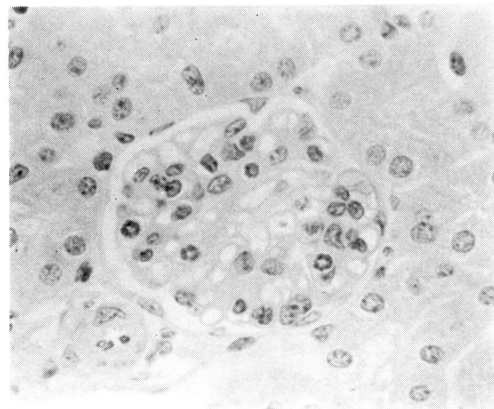
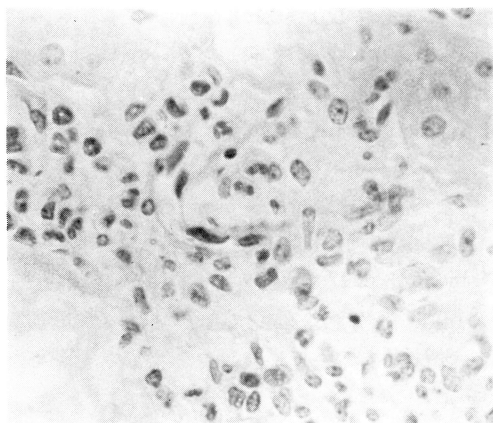
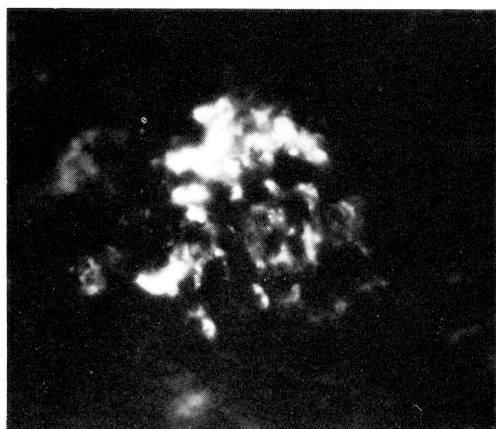


Fig. 1. Glomerulus, 14 days after immunization. PMNs are lodged in the capillary lumen. (H&E stain;  $\times 500$ )

蛍光顕微鏡的観察では, 腎炎群およびCFAコントロール群のマウスに一樣に糸球体メサンギウム領域に顆粒状のIgG沈着を認めた (Fig. 3). 14日目に多核白血球浸潤の著明であった3匹の腎炎群マウスでは, 尿細管間質内にも微細顆粒状のIgG沈着が認められた (Fig. 4)。



**Fig. 2.** Tubular interstitial cell infiltrates, 14 days after immunization. Mononuclear cell accumulation is shown. (H&E stain;  $\times 500$ )



**Fig. 3.** Immunofluorescent study of the immunized mouse on day 14. Mesangial IgG granules are recognized. (FITC;  $\times 500$ )

補体は、糸球体メサンギウム領域への顆粒状沈着以外に、ボーマン嚢、尿細管基底膜の一部に沿った線状沈着が、腎炎群、コントロール群のいずれにも観察された。

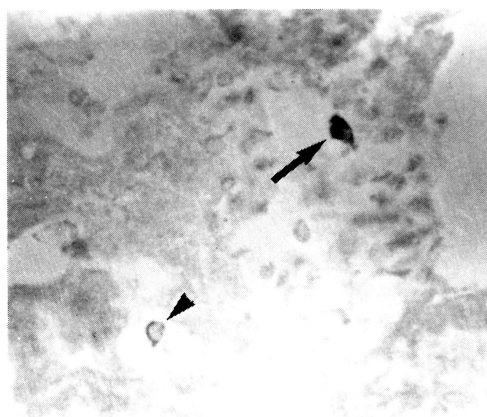
電子顕微鏡的観察では、糸球体糸球体内腔への顆粒球の出現を認めたが、基底膜上皮下の hump を認めず、メサンギウム領域にも dense deposit を認めなかった。その他の微細構造にも、変化は認められなかった。

#### 4. 免疫組織化学的所見

ABC 法標本を示す(**Fig. 5**)。糸球体糸球部



**Fig. 4.** Immunofluorescent study of the immunized mouse on day 14. Tubulointerstitial IgG granules are recognized. (FITC;  $\times 500$ )



**Fig. 5.** ABC method indicates the PMN (arrow) with dark cytoplasmic granules. The T cell (arrow head) is stained only the surface. The staining pattern of these two cell types can be easily recognized. ( $\times 500$ )

に細胞内陽性顆粒を有する多核白血球を認める。尿細管間質部には、細胞表面が染色された T リンパ球を認める。両細胞の鑑別は、上記の染色形態により比較的容易であった。また、incubation time の短縮により back ground 染色が少なく、視算が容易であった。多核白血球の浸潤は diffuse であったが、T リンパ球の浸潤は、傍皮質部髓質に多くみられる傾向があ



**Table 1.** (PMN/mm<sup>2</sup>)

Immunized mice						NaCl Control mice				
Day	n	Σ	C	M	G	n	Σ	C	M	G
3	7	0.20±0.18	0.19±0.20	0.16±0.20	0.02±0.02	9	0.33±0.17	0.31±0.13	0.32±0.31	0.03±0.04
7	7	0.51±0.27	0.39±0.21	0.44±0.36	0.13±0.04	1	0.39	0.35	0	0.10
14	7	2.05±1.86	1.33±1.22	2.29±2.19	0.66±0.70	9	0.40±0.09	0.33±0.16	0.33±0.34	0.09±0.06
21	7	0.70±0.12	0.63±0.14	0.77±0.31	0.06±0.03	1	0.09	0.05	0	0.05
28	6	0.44±0.19	0.38±0.12	0.56±0.61	0.06±0.05	1	0.26	0.26	0	0.04
35	3	0.43±0.23	0.35±0.17	0.09±0.01	0.18±0.13	1	0.02	0	0	0.03
42	3	0.44±0.08	0.30±0.08	0.62±0.13	0.11±0.03	(Mean ± SD)				
49	3	0.14±0.07	0.09±0.10	0.19±0.13	0.03±0.01					
CFA Control mice										
7	1	0.57	0.39	0.75	0.13					
14	1	0.47	0.33	0.65	0.10					
21	1	0.55	0.48	0.23	0.13					
28	1	0.26	0.31	0.13	0					

**Table 2.** (T cells/mm<sup>2</sup>)

Immunized mice						NaCl Control mice				
Day	n	Σ	C	M	G	n	Σ	C	M	G
3	7	2.26±1.61	1.80±1.60	2.65±1.57	0.30±0.23	5	0.78±0.44	0.55±0.28	1.10±0.82	0.15±0.11
7	7	4.40±2.47	2.22±1.51	10.46±6.30	0.55±0.34	1	3.76	2.17	10.14	0.48
14	7	8.33±4.77	4.66±3.37	21.45±11.19	0.74±0.48	5	2.65±1.78	1.66±1.06	6.64±3.46	0.24±0.18
21	7	7.54±3.33	4.49±3.53	17.67±8.60	0.55±0.40	1	7.94	6.12	12.05	1.05
28	6	4.59±1.61	2.58±1.47	12.02±1.61	0.35±0.22	1	6.09	3.33	17.50	0.57
35	3	4.62±0.88	2.16±1.03	12.12±2.84	0.36±0.23	1	5.55	3.11	11.69	1.21
42	3	4.58±2.09	1.96±0.92	15.13±6.42	0.29±0.18	(Mean ± SD)				
49	3	3.47±0.84	1.77±0.68	10.72±2.05	0.31±0.11					
CFA Control mice										
7	1	2.54	1.17	8.49	0					
14	1	3.32	2.10	7.83	0.26					
21	1	3.94	2.94	6.28	0.56					
28	1	1.70	0.92	4.03	0					

った。

ABC 法標本における糸球体，皮質，髓質各部分の単位面積あたりの多核白血球数，Tリンパ球数を **Table 1, 2**，に示した。各群の数値は，平均および標準偏差値で示した。

腎炎群の多核白血球数の変動をグラフに示した (**Fig. 6**)。各群の最大最小値，および平均値を部位別に実線で結んだ。皮質，糸球体，髓質の各部分とも14日目を頂点とする一過性の経

過をとっている。この増加は，3日目と比較して全部位において有意 ( $p<0.05$ ) の増加である。コントロール群の多核白血球数の変動を **Fig. 7** に同じスケールで示す。腎炎群との比較では，3日目では有意差なく，14日目では全部位に有意差 ( $p<0.05$ ) を認めた。

腎炎群のTリンパ球数の変動を **Fig. 8** に示す。左端のスケールは，糸球体，皮質，髓質でそれぞれ異なる。多核白血球と比べTリンパ球

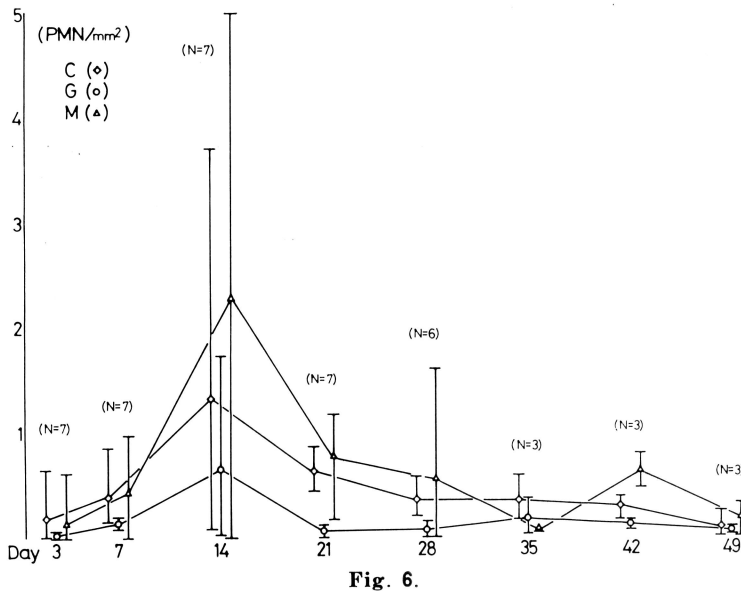


Fig. 6.

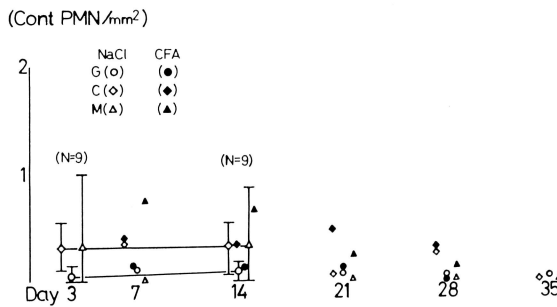


Fig. 7.

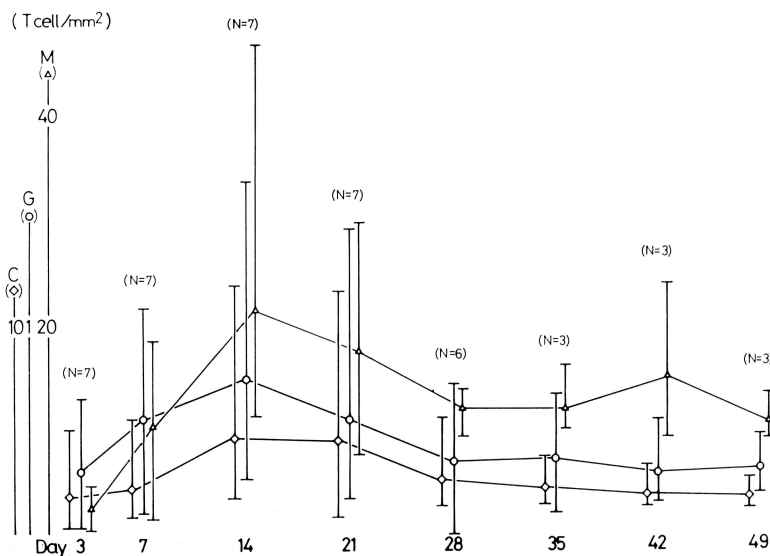


Fig. 8.

の場合は、細胞数の増加持続期間が長く、部位によっても、その変動がやや異なることが注目される。3日目と比較して7日目に、髄質部にのみ有意 ( $p < 0.02$ ) の増加を認めた。3日目と14日目の比較では、皮質部、糸球体部の増加は、 $0.05 < p < 0.1$  と有意の変動はみられなかった。髄質部での増加は、28日目まで検定した限りにおいては、いずれも3日目と較べ有意 ( $p < 0.01$ ) の増加であった。コントロール群のTリンパ球数の変動を **Figure 9** に同じスケールで示す。腎炎群との比較では、3日目でいずれの部位も有意差なく、14日目では、髄質部のみが有意差 ( $p < 0.05$ ) を示した。

次に、細胞数の変動が最も著しい14日目における多核白血球数とTリンパ球数の相関々係について検討を行った。糸球体部での相関係数  $r = -0.38$ 、同じく髄質部では、 $r = -0.31$  といずれも弱い負の相関々係を示した。しかし、皮質部では、 $r = -0.73$  と有意 ( $p < 0.05$ ) に強い負の相関々係を示した (**Fig. 10**)。

以上の所見をまとめると、組織病理学的所見は、14日目の3匹のマウスを除けば、全体に軽微

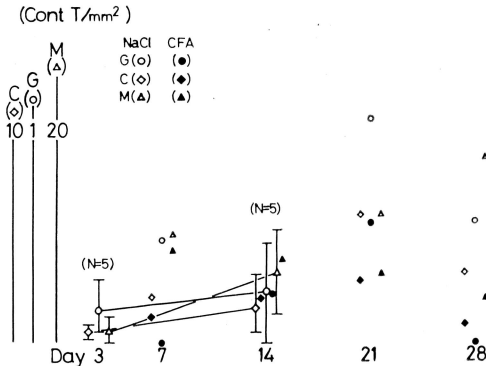


Fig. 9.

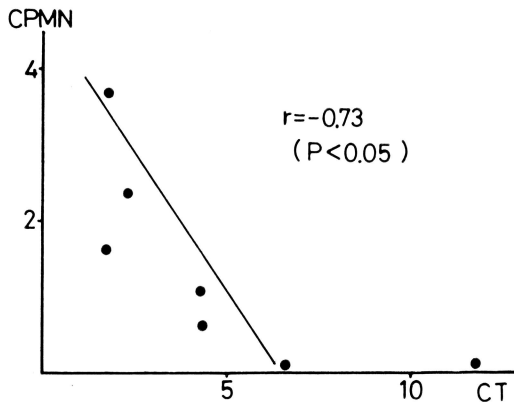


Fig. 10. Relationship between PMN and T-cell in the cortex.

なものであった。しかし、蛍光抗体法では、メサンギウム領域に IgG の顆粒状沈着を認めた。免疫組織化学的手法を用いた検索において、14日目を中心とする多核白血球の一過性の増加と、7日目より始まる傍皮質部髄質を中心とするTリンパ球のやや持続性の増加が認められた。両細胞の変動が最大となる14日目に、両者の相関々係を調べてみると、多核白血球の増加がみられた個体ではTリンパ球が少なく、反対に、Tリンパ球が増加している個体では、多核白血球が少ない傾向が認められた。

## 考 察

今回、著者の作成したマウス腎炎は、抗原刺激後、14日目に一過性の多核白血球浸潤が認め

られ、蛍光抗体法にて糸球体メサンギウムおよび尿細管間質内に IgG の顆粒状沈着が認められたことなどより、糸球体および尿細管間質にみられた変化が、Immune Complex (以下 IC) 沈着と関連したものであることが示唆される。尿細管基底膜への線状の  $C_3$  沈着については、コントロール群にもみられることから、血中抗体の有無は検索していないが抗尿細管基底膜抗体の関与はないものと考えたい。従って蛍光抗体法の所見からは、本実験腎炎は、いわゆる IC 型腎炎としてのヒトの慢性型糸球体腎炎に類似したものと考えられる。マウスにおける実験的 IC 型腎炎は、受身型<sup>12), 13)</sup> および自己免疫型<sup>14), 15)</sup> に分けられるが、いずれの型においても IC を形成する抗体の結合力の強弱によって、その IC の沈着部位が、メサンギウム領域から係蹄壁へと変化することが知られている<sup>13), 15)</sup> また、受身型 IC 型腎炎においては、同じ抗原による近交系マウス間の腎炎惹起性が異なることより遺伝的素因の関与が考えられている<sup>14)</sup>。また、CFA に含まれる結核菌々体成分は、Polyclonal B-cell activation 作用を持ち、マウスに IC 型腎炎を起こすと報告されている<sup>16)</sup>。

一方、著者の実験腎炎手法は、蛍光抗体法所見からは可能性が低い、自己免疫性抗基底膜抗体腎炎 (Auto-immune Anti-Basement Membrane Nephritis; AABMN) 惹起の手法でもある。マウスにおける AABMN モデルでは、canine GBM,<sup>17)</sup> human GBM,<sup>18)</sup> mouse TBM,<sup>19)</sup> rabbit TBM<sup>20), 21)</sup> などの抗原を用いた報告があり、その発症機序には抗基底膜抗体が大きな役割を果たしていると考えられてきた<sup>22)</sup>。しかしながら、Rocklin<sup>23)</sup> らにより、抗 GBM 抗体腎炎患者血中リンパ球が、ヒト GBM に対して MIF 活性を示すことが報告されて以来、AABMN にも遺伝的素因により制禦されているTリンパ球の関与が考えられるようになって

てきた。<sup>21)</sup> 本実験に供した BALB/c 系マウスは、比較的 AABMN を発現し易い系統のマウスであると考えられている。<sup>19), 20), 21)</sup> また、抗基底膜抗体の存在が、必ずしも AABMN の発現に結びつかないことも知られている。<sup>20), 21)</sup> 従って、本実験腎炎において、たとえ抗基底膜抗体が蛍光抗体法によって検出されないにしても、この1~2週目という早期に腎組織に出現したTリンパ球が、AABMN と関連したものである可能性も残されている。この点に関して Mampaso<sup>24)</sup> らは、ラットにウシ TBM を免疫し AABMN を発症させ、その腎、脾、末梢血中の単核性細胞を検討した。その結果、13日目の腎組織より抽出した細胞分画において、T helper/T suppressor の比が、脾、末梢血のものよりも有意に増加していたと報告している。このTリンパ球の出現時期は、マウスとラットという動物種の違いはあるにしろ、著者の結果と非常に近似していると思われる。従って、著者のマウス腎炎に AABMN が関与しているとすれば、これら同時期に出現するTリンパ球の性格をも検討しなければならない。

これに関して著者は、IC 型腎炎の程度を反映すると考えられる多核白血球浸潤とTリンパ球について、変動が最大となる14日目において両者の相関々係をみることに手掛かりを求めた。その結果、多核白血球の多く出現している個体ではTリンパ球は少なく、反対に、多核白血球が少ない個体ではTリンパ球が多く出現していることが判った。このことより、次の2つの可能性が考えられる。すなわち、①腎組織内で IC による反応とは別に、Tリンパ球主体の反応が起こっている。②腎組織内で早期に IC の沈着による反応を抑制するTリンパ球が増加している。①の場合の説明として、著者の使用した粗抗原には雑多な抗原基が含まれ、その中で抗体産生を刺激し易い抗原基を認識した個体では IC が多く産生される。しかし、抗体産生とは別の免疫応答、たとえば細胞性免疫反応を促す性質の抗原基を認識した個体では、局所にTリンパ球主体の反応が起こる可能性がある。

つまり、この場合は AABMN の不全型とも考えられる。②の場合の説明は、抗原刺激に対して、まず Helper T cell により抗体産生が促されるが、同時に、Helper T cell は未熟なTリンパ球群を活性化することにより、その免疫反応の強さを抑制すると考えられている。<sup>25)</sup> この活性化された T cell が、局所に出現する可能性がある。つまり、この場合は、免疫自己制御機構の局所における発現とも考えられる。

Husby<sup>26)</sup> らは、ヒト間質性腎炎における単核性浸潤細胞について、また、Hinglais<sup>27)</sup> らは、原発性、および二次性ヒト糸球体腎炎組織における Ia 抗原について、それぞれ検討を行っているが、いずれも間質組織中に活性化 T cell の浸潤を認めたと報告している。従って、これら臨床例における検討では、組織浸潤 Tリンパ球が、免疫自己制御機構の局所における発現である可能性を示唆しているように思われる。

ところで、Tリンパ球の浸潤様式に関しては、Klassen<sup>27)</sup> らは、Heymann 型腎炎において、リンパ球を主とする単核性細胞浸潤を傍皮質部髄質に多く認めたと報告している。従って、著者の検討したマウスの自己免疫型 IC 型腎炎における類似部位へのリンパ球浸潤も、Klassen らのラット腎炎におけると同様の意義をもった浸潤細胞である可能性がある。しかし、他方、急性移植腎拒絶反応の場合、細胞性免疫の関与によって、やはり皮質髄質境界部の大きな血管周囲より細胞浸潤が始まるという報告もある。<sup>28)</sup> さらには、murine にみられる腎盂壁の蠕動運動が乳頭部に圧力をかけ、間質組織内に皮質から髄質へと向かう流れを生み、細胞浸潤がより髄質側に強調される可能性も考えられる。

今回、著者は、マウス自己免疫型 IC 腎炎の腎組織において、多核白血球浸潤とTリンパ球浸潤との間に解離が認められることより、細胞性免疫反応の不全型、あるいは免疫自己制御機構の局所における発現の可能性を推察した。しかし、その詳細を明らかにするためには、今後、Tリンパ球亜群の検討が必要である。

稿を終るにあたり、動物実験法に関し御教示を賜りました和歌山県立医科大学病理学教室 楠山洋司先生、また、研究に御助力頂いた川崎医科大学組織切片製作室吉田陽子、若林かずみ、内科教室研究補助員小野愛子の各女史に感謝の意を表します。川崎医科大学

内科学教室大沢源吾教授の御指導、御校閲に深謝いたします。

本研究の一部は、厚生省特定疾患「進行性腎障害」調査研究班（班長大野丞二教授）の研究費によったので謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) 大沢源吾, 阿部昌洋, 長井靖仁: 糸球体腎炎の臨床病理—糸球体腎炎における間質病変の検討. 臨床免疫 12: 916—923, 1980
- 2) Bohle, A., Grund, K. E., Mackensen, S. and Tolon, M.: Correlation between renal interstitium and level of serum creatinine-Morphometric investigations of biopsies in perimembranous glomerulonephritis. Virchows Arch. [A] 375: 87—96, 1977
- 3) Olsen, S., Hansen, E. S. and Japsen, F. L.: The prevalence of focal tubulointerstitial lesions in various renal diseases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. A 89: 137—145, 1981
- 4) McCluskey, R. T. and Colvin, R. B.: Immunological aspects of renal tubular and interstitial diseases. Ann. Rev. Med. 29: 191—203, 1978
- 5) Hooke, D. H., Hancock, W. W., Gee, D. C., Kraft, N. and Atkins, R. C.: Monoclonal antibody analysis of glomerular hypercellularity in human glomerulonephritis. Clin. Nephrol. 22: 163—168, 1984
- 6) Nagata, K., Platt, J. L. and Michael, A. F.: Interstitial and glomerular immune cell populations in idiopathic nephrotic syndrome. Kidney Int. 25: 88—93, 1984
- 7) Hinglais, N., Kazatchkine, M. D., Charron, D. J., Appay, M. D., Mandet, C., Paing, M. and Bariety, J.: Immunohistochemical study of Ia antigen in the normal and diseased human kidney. Kidney Int. 25: 544—550, 1984
- 8) Hsu, S. M., Raine, L. and Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques-A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. J. Histochem. Cytochem. 29: 577—580, 1981
- 9) Wood, G. S. and Warnke, R.: Suppression of endogenous avidin-binding activity in tissues and its relevance to biotin-avidin detection systems. H. Histochem. Cytochem. 29: 1196—1204, 1981
- 10) Marty, J., Kjeldsberg, C. R. and Gee, S.: Improved immunoperoxidase stain on frozen sections-An avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) technique. J. Histotechnol. 5: 61—64, 1982
- 11) Pearse, A. G. E.: Oxidoreductase I. In Histochemistry 2, 3rd ed. Edinburg and London, Churchill Livingstone. 1972, pp. 841—879
- 12) Germuth, F. G., Rodriguez, E., Lorelle, C. A., Trump, E. I., Milano, L. and Wise, O.: Passive immune complex glomerulonephritis in mice-Models for various lesions found in human disease I. High avidity complexes and mesangiopathic glomerulonephritis. Lab. Invest. 41: 360—365, 1979
- 13) Germuth, F. G., Rodriguez, E., Lorelle, G. A., Trump, E. I., Milano, L. L. and Wise, O.: Passive immune complex glomerulonephritis in mice-Models for various lesions found in human disease II. Low avidity complexes and diffuse proliferative glomerulonephritis with subepithelial deposits. Lab. Invest. 41: 366—371, 1979

- 14) Iskandar, S. S., Jennette, J. C., Wilkman, A. S. and Becher, R. L.: Interstrain variations in nephritogenicity of heterologous protein in mice. *Lab. Invest.* 46: 344—351, 1982
- 15) Iskandar, S. S. and Jennette, C.: Interaction of antigen load and antibody response in determining heterologous protein nephritogenicity in inbred mice. *Lab. Invest.* 48: 726—734, 1983
- 16) Niembro, F. R., Fournie, G. and Lambert, P. H.: Induction of circulating immune complexes and their renal localization after acute or chronic polyclonal B-cell activation in mice. *Kidney Int.* 21 [Suppl. 11]: s 29—s 38, 1982
- 17) Avasthi, P. S., Avasthi, P., Tokuda, S., Anderson, R. E. and Williams, R. C.: Experimental glomerulonephritis in the mouse I. The model. *Clin. Exp. Immunol.* 9: 667—676, 1971
- 18) Bolton, W. K., Benton, F. R. and Sturgill, B. C.: Autoimmune glomerulotubular nephropathy in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 33: 463—473, 1978
- 19) Wakashin, M., Wakashin, Y., Ueda, S., Takei, I., Mori, Y., Mori, T., Iesato, K. and Okuda, K.: Murine autoimmune interstitial nephritis and associated antigen-Purification of a soluble tubular basement membrane antigen from mice kidneys. *Renal Physiol. Basel* 3: 360—367, 1980
- 20) Rudofsky, U. H., Dilwith, R. L. and Tung, K. S. K.: Susceptibility differences of inbred mice to induction of autoimmune renal tubulointerstitial lesions. *Lab. Invest.* 43: 463—470, 1980
- 21) Neilson, E. G. and Phillips, S. M.: Murine interstitial nephritis I. Analysis of disease susceptibility and its relationship to pleiomorphic gene products-Defining both immune-response genes and a restrictive requirement for cytotoxic T cells at H-2 K. *J. Exp. Med.* 155: 1075—1085, 1982
- 22) Unanue, E. R., Dixon, F. J. and Feldman, J. D.: Experimental allergic glomerulonephritis induced in the rabbit with homologous renal antigens. *J. Exp. Med.* 125: 163—176, 1967
- 23) Rocklin, R. E., Lewis, E. J. and David, J. R.: In vitro evidence for cellular hypersensitivity to glomerular basement membrane antigens in human glomerulonephritis. *N. Engl. J. Med.* 283: 497—501, 1970
- 24) Mampaso, F. M. and Wilson, C. B.: Characterization of inflammatory cells in autoimmune tubulointerstitial nephritis in rats. *Kidney Int.* 23: 448—457, 1983
- 25) Cantor, H.: Control of the immune system by inhibitor and inducer T-lymphocytes. *Ann. Rev. Med.* 30: 269—277, 1979
- 26) Husby, G., Tung, K. S. K. and Williams, R. C.: Characterization of renal tissue lymphocytes in patients with interstitial nephritis. *Am. J. Med.* 70: 31—38, 1981
- 27) Klassen, J., Sugisaki, T., Milgrom, F. and McCluskey, R. T.: Studies on multiple renal lesions in Heymann nephritis. *Lab. Invest.* 25: 577—585, 1971
- 28) 石倉 浩: ラット同種腎移植片拒絶の病理組織学的研究. 移植片局所での浸潤細胞の形態学的ならびに免疫組織化学的検討. *移植* 19: 117—130, 1984
- 29) Nielsen, B. S. and Graves, B.: Changes in fluid compartments in hamster renal papilla due to peristalsis in the pelvic wall: *Kidney Int.* 22: 613—625, 1982