— 原 著 —

マウスにおけるヒツジ抗Ⅳ型コラーゲン血清
投与による腎糸球体変化
特に IgA メサンジウム沈着について

益田 幸成

日本医科大学第1病理学教室 (主任: 馬杉洋三教授)

Glomerular change after the administration of anti-Type IV
collagen sheep serum in mice
Regarding IgA mesangial deposition

Yukinari Masuda

Department of Pathology, Nippon Medical School

The nephritogenicity of the anti-Type IV collagen sheep serum was investigated by administering it intravenously to BALB/c, C3H and ddY strain male mice which had previously been treated with sheep IgG and FCA. The animals were sacrificed chronologically at 3 days and 1 week up to 10 months. At each interval 2 to 4 mice were sacrificed. A control group without any treatment was similarly studied.

An immunofluorescent microscopic study revealed that the sheep IgG was specifically localized in the mesangial region. A similar distribution pattern of the mouse IgG and C3 was also confirmed. However, morphological features were seen to be preserved. At 3~4 months, accumulation of the mouse IgA was noted in the mesangial region. This feature is particularly prominent in the ddY mice strain. The amount of IgA deposition was well correlated with the immunochemical determinative amount of IgA in the serum and with the alteration of morphological features.

However, serum IgA antibody activity against sheep IgG in vitro by ELISA showed no close interrelation with the amount of mesangial IgA deposition. Moreover, the renal eluted IgA from the ddY mice, which disclosed the IgA deposition in the mesangium, showed essentially no antibody activity to the sheep IgG. However, the antibody activity was well maintained in the eluted IgG.

Based on these observations, it is justifiable to assume that the mouse IgA was non-immunologically trapped in the functionally disturbed mesangium by the locally formed IgG immune complex which is produced by the treatment of anti-Type IV collagen sheep serum to mice. This observation may be useful in clarifying the causative process of human IgA nephropathy.

Key words: mesangial IgA deposition, mesangial functional disturbance, anti-Type IV collagen

緒 言

Ⅳ型コラーゲン, ラミニン, ヘパラン硫酸などは腎糸

球体基底膜 (GBM) の主要な構成成分である^{1,2)}。著者の研究グループはこれらの glycoprotein のうちⅣ型コラーゲンをウサギ眼球レンズ被膜より分離, 精製しヒツジに免疫して抗体を得た。この抗血清を二, 三の実験動物に静注すると, 特に腎では糸球体の GBM よりは, むしろメサンジウム領域を中心に結合することが

Correspondence to Yukinari Masuda, Department of Pathology, Nippon Medical School, 1-1-5, Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

示された。さらにこの抗血清は、モルモットやウサギに投与することによって増殖性糸球体腎炎を惹起することをすでに報告^{3,4)}している。しかし、Rothbard⁵⁾あるいはShibata⁶⁾も報告しているように、マウスやラットではGBM構成成分のうち非コラーゲン成分には催腎炎性が認められるが、コラーゲン成分にはないかあっても軽度であるとされている。しかし最近IV型コラーゲンに対する抗血清をマウスに投与し比較的短期観察にて、蛋白尿の出現および形態学的に腎変化を認めたことが報告^{7,8)}されてきているが、それらには著者らがすでに報告したウサギやモルモットで観察したような強い増殖性糸球体腎炎を呈するほどの変化は認めていない。

今回、著者はこの報告を確認するために数系のマウスにヒッジ抗IV型コラーゲン血清を投与し、短期間の観察のみではなくむしろより長期間の観察に重点をおいて、処置後最長10カ月間にわたり形態学的に観察したところ、実験開始3～4カ月後ごろから高率にメサンジウム領域にIgAの沈着を認めるという興味ある所見を得たのでここに報告する。

実験材料および方法

(1) 実験材料

BALB/cAnCrj, C3H/HeNCrj, およびddY系マウス、雄性8週齢(体重約20～30g)を使用した。実験期間中、飼育は通常の方法で自由に食餌および水を与えた。

抗IV型コラーゲン抗血清は、すでに報告したようにSanoらの方法(1981)⁹⁾によってウサギ眼球レンズ被膜にペプシン消化を加え分離、精製したIV型コラーゲンをヒッジに対して免疫し、得られたものを用いた。

(2) 方法

各系のマウスは主として以下に示すA, B, Cの3群に分けて行った。すなわちA群は、前処置として0.1mg/匹の正常ヒッジIgGをFreund complete adjuvant (FCA) とともに足蹠に注射し、その4日後に0.5ml/匹のヒッジ抗IV型コラーゲン血清を尾静脈より投与した。B群はヒッジ抗IV型コラーゲン血清のみを投与した。C群は前処置のみの対照群とした。さらにddY系のみには無処置群をD群として検索を行った。各系、各群のマウスは、処置直後より最長10カ月間にわたり、毎月1回適当数ずつ全採血により屠殺し、直ちに腎臓を取り出し以下の検索に用いた。

1) 形態学的検索

i. 光学顕微鏡の検索

得られた腎臓は10%中性ホルマリンで固定し、パラフィン包埋、薄切後、切片にヘマトキシリンエオジン染色(HE)ならびにPAS染色を施した。

ii. 免疫組織学的検索

得られた腎組織の一部は蛍光抗体法用にドライアイスアセトン内冷却n-ヘキサンにて急速凍結し、使用するまで-70℃に保存した。これらの材料はクライオスタットにて約4μmの凍結切片を作製し、FITCラベル抗マウスIgG, IgM, IgA, およびC3抗体(MBL, Japan)ならびにFITCラベル抗ヒッジIgG抗体(Miles Scientific, USA)による蛍光抗体直接法を施した後、蛍光顕微鏡で観察し、蛍光強度を一, 土, +, ++までの4段階に分類し記録した。

iii. 電子顕微鏡の検索

2.5%グルタルアルデヒド, 1%オスミウム酸による二重固定を行い、型どおり系列アルコールにて脱水、Epok包埋後、灰白色の干渉色を有する超薄切片を作製し、ウラン、鉛の二重染色を施し、日立H800電子顕微鏡で加速電圧75kVにて観察した。

2) 尿検査

屠殺時膀胱より得た尿を、市販のラブスティックスIII(マイルス三共, 東京)を使用し蛋白尿および潜血の有無について定性的に測定した。

3) 腎組織内グロブリン溶出

ddY系マウス主実験A群のヒッジ抗血清投与後5カ月目の10匹についてその両腎を生食で灌流後、一緒にしてブレンダーでホモジネートし、遠心分離した。得られた沈査を十分生食で洗浄し血清成分を除外した後、0.1Mクエン酸緩衝液(pH2.8)を加え超音波破壊を行い37℃, 2時間スターラーで攪拌し、これを遠心分離後、上清をリン酸緩衝液で透析、次いで濃縮し、腎溶出液とした¹⁰⁾。

4) IgA量の測定

血清中、腎溶出液中のIgA量の測定には、Radial immunodiffusion kit (Miles Scientific, USA)を用いて測定した。

5) 抗体活性の測定

マウス血清中および腎溶出液中のヒッジIgGに対するIgG, IgA分画の抗体活性の測定はenzyme linked immunosorbent assay (ELISA)を用いて行った。ELISAはEngvallの方法¹¹⁾に従って行った。すなわち、NUNCのELISA用マイクロプレート(96 wells)

を用い、抗原として各 well にヒツジ IgG (Miles Scientific, USA) を各 5 $\mu\text{g/ml}$ になるように入れ、2 時間 incubate、反応後 buffer で洗浄し、1% BSA 加 0.1 M carbonate buffer を入れ、37°C で 2 時間 incubate し抗原の非結合部位を BSA で block して検体の well への非特異的結合の可能性を除外した後、希釈した各血清ならびに腎溶出液を 37°C、3 時間反応させた。さらにラベル抗体として、HRP ラベル抗マウス IgG および IgA (Cappel Lab., USA) にて 37°C、1 時間反応後、洗浄し 2,2'-azino-di (3-ethyl-benzthiazoline sulphononic acid; ABTS) (Zymed Lab., USA) で発色し、Model 2550 EIA Reader (BIO-RAD, USA) の O.D 測定器 (405 nm, filter) を用いて計測した。なお、抗原、血清、ラベル抗体の希釈に際しては、あらかじめテストした結果から、最適条件のものをを用いて行った。

結 果

1. 光顕所見

短期観察として処置直後および 1 カ月目では、ddY, BALB/c, C3H 系のどのマウスにも糸球体にはメサンジウムの肥厚や細胞増生を示すような形態学的変化は全くみられなかった。しかし 3~4 カ月目ぐらいから各系の A, B 両群、特に ddY 系のマウスの糸球体にはメサンジウム基質の巣状の拡大が認められるようになり、その一部には PAS 陽性沈着物の形成ならびに細胞増生が認められたが、後者は全般的には軽度であった。

2. 蛍光所見

3 系マウスそれぞれの群の腎組織に対して、FITC ラベル抗ヒツジ IgG, 抗マウス IgG, IgM, IgA および C3 抗体について観察した。ヒツジ IgG は、ヒツジ抗血清投与群 A および B には、どの系にも同様に実験最終時までメサンジウム優位の蛍光パターンで観察された (Photo 1)。しかし、各系の抗血清非投与 C 群および ddY 無処置 D 群ではすべて陰性であった。マウス IgG は、ヒツジ抗血清投与群、すなわち A および B 両群には他の群よりも初期からメサンジウム優位の蛍光を示し、蛍光強度も $++$ であり、この傾向は最終まで持続した (Photo 2)。一方、血清非投与 C 群および無処置 D 群にても経時的に IgG の蛍光は幾分増加する傾向にあったが、蛍光強度は、おおむね $-$ ~ $+$ ぐらいの程度であった。この傾向には系による差異は認めら

れなかった。マウス IgA は、特に ddY 系には陽性頻度は高く、ならびに高度沈着例が他の系に比較して高率に認められた。うちヒツジ抗血清投与群には、処置後 3~4 カ月目から多くのマウスで強陽性沈着が、メサンジウム優位に認められた (Photo 3)。かつ、この傾向は前処置を施した A 群のほうがより強く促進されて現われた。一方 IgA の沈着程度と光顕で認められたメサンジウム基質増生程度には相関傾向が認められた (Photo 4)。また、ddY 系のみには、抗血清非投与群にも IgA 陽性例は認められたが、抗血清投与群ほど沈着は強度でなく、それは A 群から D 群へ漸次減弱していく傾向にあり、しかも D 群における強度出現例は実験開始後 8 カ月目であった。Imai¹²⁾と同様に無処置群 ddY 系マウスは加齢とともに血清中 IgA 量が漸次増加していく傾向を認めた。BALB/c, C3H 両系の A および B 群では、IgA 沈着の出現頻度は散発的で、かつその程度も ddY 系に比べて同程度の例もあるが相対的に弱い傾向が認められた (Photo 5)。各系各群の動物個々のメサンジウム IgA 沈着強度は Fig. 1 にまとめて示した。しかし、すべての系において蛍光での IgA 強度と IgG 強度との相関は認められなかった。また IgM の陽性例は高率にみられたが C3 は散発的に陽性で、その程度は両者とも $+$ ~ $++$ ぐらいであった。

3. 電顕所見

IgA 強度陽性例マウスでは、focal segmental に para- および intra-メサンジウムに大小不同の電子密度の高い deposits が認められた。しかしながら上皮下や内皮下の dense deposits は認められなかった。糸球体基底膜 (GBM)、内皮細胞、上皮細胞には全例において変化は認められなかった (Photo 6)。

4. IgA 量

血清中の IgA 量とメサンジウムの蛍光 IgA 陽性強度との間には系による差異がなく、Table 1 に示したように一般的に血清中の IgA 量が増加している例に一致してメサンジウムの蛍光 IgA 陽性も強く現われる傾向を示した。

5. ELISA 測定

(1) 血清

ヒツジ IgG に対する抗体活性がマウス血清中の IgA 分画にあるか否かを検索した結果、C 群には軽度、A 群では極めてわずかに抗体活性が認められたが、それは

month intensity strain		1~2	3~4	5~6	7~8	9~10
BALB/c	—	●●●● ■●●● ▲	●●●● ■●●● ▲▲▲	●●● ■●● ▲▲	●●● ■●●	■●● ▲▲▲
	±		●● ▲	●		●●●●●
	+		● ■	●● ■		●
	++					
C3H	—	●●●●● ■●●● ▲	●●●●●● ■●●● ▲▲▲	●●● ■●● ▲▲	■	●●● ■ ▲
	±		■●	● ■	●●● ■	
	+			●		■
	++					
ddY	—	●●● ■● ▲▲▲▲ △△△△△	●● ▲▲ △△△	● ■ ▲▲ △△△△	▲ △	
	±	● ■	●●● ■● ▲▲ △△△	● ■ ▲▲ △△	●●●● ■ ▲ △△△△△	●●● ■ ▲ △△△
	+		● ■	●●● ■ ▲	■ ▲	● ■ ▲ △△△
	++		● ■	●●	●	

Fig. 1 Summarized score represents the intensity of mesangial IgA deposition of each mouse in each experimental strain

The ddY mice show high positive rate of mesangial IgA deposition than other strains and also there is significant acceleration by administration of anti-serum.
intensity of mesangial IgA deposition

— : Non, ± : Mild, + : Moderate, ++ : Marked

Group : A-●, B-■, C-▲, D-△

Fig. 2 に ddY 系実験マウスについて示したようにメサンジウム沈着 IgA の強度とは全く相関性を示さなかった。IgG についても同様の傾向が認められ、やはり IgG のメサンジウム沈着とは相関していなかった。

(2) 腎溶出液

ddY 系マウスで特に A 群に高率にメサンジウム

IgA 沈着が認められたため、この群の実験開始後 5 カ月目の陽性例 10 匹のマウス腎を一つにまとめて溶出を行った。次に溶出液中に IgG, IgA の存在をオクトロニー法によって確認したのち ELISA にてそれらのヒツジ IgG に対する抗体活性を検索した。その結果を Fig. 3 に示した。すなわち IgG クラスには抗体活性が

Fig. 2 Relation between the intensity of mesangial IgA deposition and the specific serum IgA antibody activity to sheep IgG measured by ELISA in all ddY mice
 ○ : Serum $\times 20$, + : $M \pm SEM$

Fig. 3 Specificity of anti-sheep IgG activities of IgA and IgG fraction in eluate from the kidneys of ddY mice of group A in 5th experimental month, measured by ELISA

認められるが、IgA には抗体活性はほとんど認められなかった。

6. 尿所見

糸球体形態変化におおむね比例してラブスティックで+〜++程度の蛋白尿の排出が認められたが、しかし

Table 1 Relation between the intensity of mesangial IgA deposition and the average serum level of IgA (mg/dl) of each strain

		strain		
		BALB/c	C 3 H	ddy
intensity of IgA mes. deposition	—	186.8±20.2 (36)	126.9±11.2 (31)	258.3± 31.8 (24)
	±	740.5±256.3*(6)	549.3±110.9*(8)	507.2± 42.6*(32)
	+	1613.0±219.7*(5)	962.0±608.0*(2)	790.4±106.5*(13)
	++			821.5±144.8*(4)

concentration of serum IgA (mg/dl)

*: p<0.05, —: Non, ±: Mild, +: Moderate, ++: Marked, (): Cases

潜血はすべての例で陰性であった。

考 察

著者の研究グループはマウスを始めとして種々の実験動物にヒツジ抗ウサギIV型コラーゲン血清を in vitro, in vivo で反応させた。その結果腎糸球体では、抗体反応はGBMよりは主としてメサンジウムに強く起こることを観察している³⁾。最近この所見はIV型コラーゲンに対する monoclonal 抗体あるいは polyclonal 抗体による研究報告によって確認されている^{13,14)}。この結果に基づいて今回数系のマウスにヒツジ抗ウサギIV型コラーゲン血清を投与し比較的長期間にわたってその腎炎惹起能を観察した。この結果、この実験系には馬杉腎炎第I相の heterologus phase と第II相の homologus phase に相当する起炎機序が存在しているにもかかわらず、モルモットやウサギに認められたような比較的強い増殖性糸球体腎炎像はどの系のマウスにも認められなかった。しかし3～4カ月以降になると糸球体メサンジウム領域にIgAの沈着が認められてくると、この現象は加齢により自然発症的なIgAメサンジウム沈着が増加する ddY 系マウス¹²⁾には、それがさらに促進されてみられるという興味ある所見を得た。

また長期間観察すると、各系のA、B両群で3～4カ月目より形態学的には糸球体に focal segmental な腎糸球体メサンジウム基質の巣状の増加と多少の細胞増生を示す例がみられた。さらに、これを蛍光観察結果と対比するとメサンジウムにおけるマウスIgG強度沈着例よりも、むしろIgA強度沈着例に高い相関性を持っていることが明らかとなった。また血清中のIgA量を測定すると、この値もメサンジウム沈着IgAの蛍光強度に比例して増加しており、それと高い相関性を示していることも認められたが、この沈着マウス

IgAがヒツジIgGに対する抗体活性を有するか否かを、血清中およびメサンジウムIgA沈着陽性マウスの腎溶出液中においてELISAで検索すると、血清中では前処置群A、Cに幾分認められるもののそれはIgAメサンジウム沈着量とは全く相関せず、さらに腎溶出液中のIgAには抗体活性は全く示されなかった。この結果この糸球体に沈着したマウスIgAはメサンジウムに先に結合したヒツジIgGに対する specific な抗体ではなくて、non-specific に沈着している可能性が強く示唆された。これはGeninら¹⁵⁾が行った異種蛋白経口感作による実験的IgA腎症でのメサンジウム沈着IgAが特異抗体ではないという検索結果と一致する。

トレーサーを用いた研究によって腎糸球体には、浄化機構と考えられるメサンジウム流通路の存在することが報告¹⁶⁻¹⁸⁾されている。数多くある報告の内、熱凝集させたヒトIgGをトレーサーとして灌流し、動物の腎での正常あるいは腎機能異常状態における観察結果から、サイズの大きい物質はメサンジウム基質へのみ取り込みを認め、かつnephrotic animalではそのメサンジウム基質への取り込みが増加し、しかもその物質のメサンジウムからの消失が遅延するといわれている^{19,20)}。このnephroticな状態と今回の実験における抗血清投与による腎変化とは直接には対比できないが、本実験系では強い増殖性変化は認めないもののメサンジウムを場としたヒツジIgG抗体によるheterologusおよびマウスIgG抗体によるhomologus phaseのin situ免疫反応が認められた。この結果、メサンジウムの機能障害を惹起している可能性がある。これに加え、IgAは他のイムノグロブリンに比し凝集しやすい性質を持っていることが知られている。以上よりメサンジウムに沈着しているIgAは機能的障害を受けたメサンジウム領域にnon-immunologicalに

trap され、長くその場に留まるものと考えられる。これにより光顕的に糸球体は focal segmental な PAS 陽性沈着物の形成によるメサンジウム基質の拡大と多少の細胞増生の所見を呈し、さらに電顕的には para-mesangium に dense deposits も認められることよりヒト IgA 腎症との形態的相似性が考えられる。ヒト IgA 腎症は Berger ら²¹⁾が初めて報告して以来、各国から多数の報告がみられ、特に本邦においては原発性慢性糸球体腎炎に占める割合が高い^{22,23)}。しかしながらその病因や進展機序の解明には、なお不明の点が多く残されている。また、近年、病因解明を目的とした実験的 IgA 腎症の作製の試みは Rifai ら²⁴⁾を始めとして、種々試みられている。その中でも特に IgA が気道、消化管等と粘膜系の防御機構に深く関係していることから、異種蛋白である ovalbumin, bovine gamma globulin などの連続的経口感作により IgA 腎症を誘発させるという試みが多くなされており、そのうちには抗原をメサンジウムに蛍光抗体法にて証明したという報告もされているが、その追試による確認はされていない²⁵⁻²⁷⁾。しかしながらメサンジウム機能障害という面からそこに非特異的に IgA の沈着する可能性について研究された報告は全くない。本実験結果からヒト IgA 腎症に関しても、その成因との関連性の一つとしてのメサンジウム機能障害の問題も今後追究されるべきであると考えられる。最後に今回用いた実験動物の系でみると、特に ddY 系マウスにメサンジウム IgA 沈着がより促進的に認められる結果となったが、これはヒト IgA 腎症においてもその発症について何か遺伝的な因子が関連している可能性を支持する事実とも考えられる²⁸⁾。

結 論

ヒツジ IV 型コラゲン血清を、先にヒツジ IgG と Freund complete adjuvant にて前処置した 8 週齢の BALB/c, C3H および ddY 系雌性マウスに静注し、その腎について短期間の観察ばかりでなく、より長期間の観察に重点をおいて処置後最長 10 カ月間まで毎月 1 回動物を屠殺し、特に糸球体を蛍光抗体法的ならびに通常の形態学的に観察するほか、血清ならびに腎溶出液を免疫血清学的に検索して以下の結果を得た。

1) 処置後、早期から腎糸球体の主としてメサンジウム領域にヒツジ IgG、さらにマウス IgG と C3 の沈着を示す第 I 相、第 II 相の免疫反応が生じたが、初期には糸球体形態変化は少なかった。

2) 処置後、3 カ月目ぐらいからマウス IgA のメサンジウム沈着陽性例が認められ始めた。特に ddY 系マウスにその沈着強度と頻度が高かった。

3) どの系の動物でも IgA メサンジウム沈着量は、血清中の IgA 量と糸球体形態変化の程度に比例していた。

4) どの系の動物でも血清中のヒツジ IgG に対する IgA 抗体活性は対応するメサンジウム IgA 沈着量とは全く比例しなかった。

5) IgA メサンジウム沈着陽性の ddY 系マウスからの腎溶出 IgG にはヒツジ IgG に対する抗体活性を認めたが、溶出 IgA にはそれは全く認められなかった。

以上の結果より、本実験系におけるメサンジウム沈着 IgA は先に局所に形成された IgG 免疫複合物により機能的に障害を受けたメサンジウム領域に、血清 IgA が非特異的に trap されたもので、使用したマウス各系のうち加齢とともに血清中 IgA の増加する ddY 系に特に著明に現われたものと考えた。

稿を終るにあたり、終始本研究にご助力を賜りました日本医科大学第 1 病理学教室石崎正通博士に深謝致します。そして同教室員各位に厚く御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨は、第 75 回日本病理学会総会(1986 年 4 月)ならびに第 29 回日本腎臓学会総会(1986 年 11 月)において発表した。

文 献

- 1) Martinez-Hernandez, A. and Amenta, P.S.: The basement membrane in pathology. Lab. Invest., 48, 656-677, 1983.
- 2) Laurie, G.W., Leblond, C.P., Inoue, S., Martin, G.R. and Chung, A.: Fine structure of the glomerular basement membrane and immunolocalization of five basement membrane components to the lamina densa (basal lamina) and its extensions in both glomeruli and tubules of the rat kidney. Am. J. Anat., 169, 463-481, 1984.
- 3) Sano, J.: The induction of glomerular hypercellularity in guinea pigs with anti-basement membrane (type IV) collagen serum. Biomed. Res., 3, 553-560, 1982.
- 4) Ishizaki, M., Sano, J., Sugisaki, Y., Yamanaka, N., Masugi, Y. and Yajima, G.: Study for type IV collagen; Rabbit glomerulonephritis produced by anti type IV collagen antibody. Jpn. J. Nephrol., 26, 517-518, 1984.
- 5) Rothbard, S. and Watson, R.F.: Renal glomerular lesions induced by rabbit anti-rat collagen serum in rats prepared with adjuvant. J. Exp. Med., 109, 633-648, 1959.
- 6) Shibata, S.: Immunologic and non-immunologic aspects of experimental glomerulonephritis. "Biology Chemistry of Basement Membrane" (Kefalides, N.A. ed.) p. 535-559, Academic Press, New York, 1978.
- 7) Yaar, M., Foidart, J.M., Brown, K.S., Rennard, S.I., Martin, G.R. and Liotta, L.: The goodpasture-like syn-

- drome in mice induced by intravenous injections of anti-type IV collagen and anti-laminin antibody. *Am. J. Pathol.*, 107, 79~91, 1982.
- 8) Wick, G., Muller, P.U. and Timpl, R.: In vivo localization and pathological effects of passively transferred antibodies to type IV collagen and laminin in mice. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 23, 656~665, 1982.
 - 9) Sano, J., Fujiwara, S., Sato, S., Ishizaki, M., Sugisaki, Y., Yajima, G. and Nagai, Y.: AB (type V) and basement membrane (type IV) collagenes in the bovine lung parenchyma; Electron microscopic localization by the peroxidase-labeled antibody method. *Biomed. Res.*, 2, 20~29, 1981.
 - 10) Tomino, Y., Endoh, M., Nomoto, Y. and Sakai, H.: Specificity of eluted antibody from renal tissues of patients with IgA nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.*, 1, 276~280, 1982.
 - 11) Engvall, E.: Enzyme immunoassay; ELISA and EMIT. *Methods Enzymol.*, 70, 419~439, 1980.
 - 12) Imai, H., Nakamoto, Y., Asakura, K., Miki, K., Yasuda, T. and Miura, B.A.: Spontaneous glomerular IgA deposition in ddY mice; An animal model of IgA nephritis. *Kidney Int.*, 27, 756~761, 1985.
 - 13) Sakai, L.Y., Engvall, E., Hollister, D.W. and Burgeson, R. E.: Production and characterization of a monoclonal antibody to human type IV collagen. *Am. J. Pathol.*, 108, 310~318, 1982.
 - 14) Roll, F.J., Madri, J.A., Albert, J. and Furthmayer, H.: Codistribution of collagen type IV and AB₂ in the basement membranes and mesangium of the kidney; An immunoferritin study of ultrathin frozen sections. *J. Cell Biol.*, 85, 597~616, 1980.
 - 15) Genin, C., Laurent, B., Sabatier, J.C., Colon, S. and Berthoux, F.C.: IgA mesangial deposits in C3H/HeJ mice after oral immunization with ferritin or bovine serum albumin. *Clin. Exp. Immunol.*, 63, 385 ~ 394, 1986.
 - 16) 重松秀一: 糸球体の浄化機構. 腎と透析, 10, 763~771, 1981.
 - 17) Lee, S. and Vernier, R.L.: Immunoelectron microscopy of the glomerular mesangial uptake and transport of aggregated human albumin in the mouse. *Lab. Invest.*, 42, 44~58, 1980.
 - 18) Michael, A.F., Fish, A.J. and Good, R.A.: Glomerular localization and transport of aggregated proteins in mice. *Lab. Invest.*, 17, 14~29, 1967.
 - 19) Mauer, S.M., Fish, A.J., Blau, E.B. and Michael, A.F.: The glomerular mesangium. I. Kinetic studies of macromolecular uptake in normal and nephrotic rats. *J. Clin. Invest.*, 51, 1092~1101, 1972.
 - 20) Mauer, S.M., Fish, A.J., Day, N.K. and Michael, A.F.: The glomerular mesangium. II. Studies of macromolecular uptake in nephrotoxic nephritis in rats. *J. Clin. Invest.*, 53, 431~439, 1974.
 - 21) Berger, J. et Hinglais, N.: Les ddpôts intercapillaires d'IgA-IgG. *J. Urol. Nephrol. (Paris)*, 74, 694 ~ 695, 1968.
 - 22) 富野康日己: IgA腎症の臨床と病理. 腎と透析, 10, 509~515, 1981.
 - 23) 坂井紀: IgA腎炎. "臨床腎臓病講座 第2巻" (上田泰, 阿部裕, 東條静夫 編), p. 79~91, 金原出版, 東京, 1981.
 - 24) Rifai, A., Small, P.A., Teague, P.O. and Ayoub, E.M.: Experimental IgA nephropathy. *J. Exp. Med.*, 150, 1161~1173, 1979.
 - 25) Isaacs, K., Miller, F. and Lane, B.: Experimental model for IgA nephropathy. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 20, 419~426, 1981.
 - 26) Emancipator, S.N., Gallo, G.R. and Lamm, M.E.: Experimental IgA nephropathy induced by oral immunization. *J. Exp. Med.*, 157, 572~582, 1983.
 - 27) Sato, M., Ideura, T. and Koshikawa, S.: Experimental IgA nephropathy in mice. *Lab. Invest.*, 54, 377~384, 1986.
 - 28) Sakai, H., Nomoto, Y., Arimori, S., Komori, K., Inoue, H. and Tsuji, K.: Increase of IgA-bearing peripheral blood lymphocytes in families of patients with IgA nephropathy. *Am. J. Clin. Pathol.*, 74, 452~456, 1979.

Legends

- Photo 1 Immunofluorescent micrograph of glomerulus from a ddY mouse treated with anti-type IV collagen sheep serum with pretreatment of sheep IgG and FCA (group A) at the 4th experimental week. Stained with rabbit anti-sheep IgG. It distributes mainly in the mesangial area. $\times 600$
- Photo 2 Immunofluorescent micrograph of glomerulus from a ddY mouse of group A at the 4th exp. week. Stained with rabbit anti-mouse IgG. $\times 600$
- Photo 3 Immunofluorescent micrograph of glomerulus from a ddY mouse of group A at the 4th exp. month stained with rabbit anti-mouse IgA, shows positive stain in the mesangial area. $\times 600$
- Photo 4 Light micrograph of the same sample as in photo 3. Note increased glomerular mesangial matrix and mild cell proliferation. PAS stain $\times 600$
- Photo 5 Immunofluorescent micrograph of glomerulus from a C3H mouse of group A at the 6th exp. month stained with rabbit anti-mouse IgA. It is also noted in the mesangial area. $\times 600$
- Photo 6 Electron micrograph of a portion of a glomerulus from a ddY mouse of group A at the 6th exp. month. Various electron dense deposits in the para- and intra-mesangium are shown. Uranyl acetate and lead citrate atain. $\times 5,200$

(受付: 1987年6月25日)

Plate (1)

Plate (2)