免疫学的手法による実験的腎盂腎炎

—病理形態学的研究—

大阪市立大学医学部泌尿器科学教室

(主任: 前川正信教授)

大阪市立大学医学部病理学第一教室

(主任: 藤本輝夫教授)

井 関 達 男*

EXPERIMENTAL PYELONEPHRITIS INDUCED IN RABBITS BY IMMUNOLOGICAL MEANS

—A Morphopathological Study—

Tatsuo Iseki

Department of Urology, Osaka City University Medical School

(Chief: Prof. M. Maekawa)

Department of Pathology, Osaka City University Medical School

(Chief: Prof. T. Fujimoto)

By Fujimoto's method (1963), the author attempted to induce an experimental pyelonephritis immunologically without using microrganisms.

Bovine Serum Albumin (BSA) was injected into the left renal pelvis, during clamping of pelvioureteral junction of the same side for 24 hours, in rabbits which had been immunized by BSA, and after one month interval BSA injection was repeated into the homolateral renal pelvis. Rabbits were sacrificed and dissected 3 days to 10 weeks after the last provocative injection for morphopathological study.

In one time-injection group, earlier stage of pyelonephritis was established and it was suggested that immunological response plays an important role in the extension and progress of pyelonephritis.

In twice-injection group, recurrent and later stage of pyelonephritis was established by twice immunological responses in association with wide spread occurrence, mixture of early and later stage of inflammation and damage of tubular epithelium.

It is suggested that lymphatic route plays an important role in the extension of pyelogenous inflammatory processes into renal tissue.

要旨: Fujimoto (1963) の方法に準拠し, 病原微生物を用いることなく, 免疫学的方法による実験的腎盂腎炎の作成を試みた。

ウシ血清アルブミン(以下 BSA と略す)感作ウサギの一側腎盂内に同一抗原を惹起注入し, 更に 1 カ月の間隔をおいて再度の惹起注入を行ない, それぞれ最終惹起注入後 3 日より 10 週の期間にわたって, 病理形態学的検索を加えた。

1 回惹起注入群では, 腎盂腎炎の発生の当初からそれが陳旧化するまでの基本的な病理過程を明らかにすることができた。また 2 回惹起注入群では, この様な病理過程の再発により腎盂腎炎のひろがり, 新旧病変の混在, 尿細管上皮等の傷害という点で, 1 回惹起注入群よりは顕著な再発性のさらに長期にわたる腎盂腎炎の発生が見られた。腎盂炎の腎組織内波及にあたってリンパ行性の経路によるそれが重要な意義をもつことを示唆する所見も得られた。

緒 言

腎盂腎炎の主体は, 病原微生物に対する腎盂ならびに腎実質組織の直接的な炎症性反応であるとする理解

* 大阪市立大学大学院医学研究科外科系専攻(泌尿器科学)課程修了

が一般的であり、その際この炎症性反応が二次的に腎実質に傷害を及ぼすことも注目されている。その病理組織学的特徴については、ヒトの腎盂腎炎、特に慢性化し萎縮腎に至るような症例を中心として多くの記載がなされている^{1)~3)}。しかし、腎盂腎炎についての研究の動向は腎実質への波及形成⁴⁾、その実質傷害の形態学的特徴⁵⁾⁶⁾、高血圧²⁾³⁾⁷⁾、腎不全³⁾⁸⁾との関連性などに向けられ、腎盂・腎実質固有の組織構造にもとづいて成立する腎盂腎炎の病理過程、ことにその免疫学的応答としての実体についての理解は十分でなく、その基本的病理過程の把握は必ずしも満足すべきものとは言えなかった。Fujimoto(1963)⁹⁾は、ヒトの腎盂腎炎について病理組織学的解析を試み、腎盂腎炎の本態が腎盂粘膜を経由して腎組織にまで到達する抗原刺激に対する腎盂ならびに腎実質の局所免疫応答にあるとする見解を呈示するとともに、この示唆にしたがって、病原微生物を用いることなく、異種蛋白で感作した動物の腎盂内への同一蛋白抗原の惹起注入により、腎盂腎炎の初期像を作成することに成功した。

今回、著者はFujimoto(1963)の方法に準拠し、Bovine Serum Albumin(以下BSAと略す)感作ウサギの腎盂内へのBSAの惹起注入を約1カ月の間隔で繰り返すことにより再発性ないし慢性腎盂腎炎の作成を試み、この際発生した腎盂腎組織の病変について、光学顕微鏡的・電子顕微鏡的検索、ならびに蛍光抗体法による検索、さらに一部の動物については排泄性腎盂造影による経時的な検索をも行ない、若干の知見を得たのでここに報告する。

実験材料および方法

実験動物として健康な成熟日本白色種ウサギ(雄、体重2.2~4.5kg)28匹を使用し、異種蛋白抗原としてBSA(Sigma社製、A-7638)を用いた。

1. BSAによるウサギの感作

まず、ウサギの背部を広範囲に剃毛、イソジン®で消毒した。その背部の数カ所にBSA(20~180mg)の生理的食塩水溶液1mlとFreund Complete Adjuvant(Difco社製)1mlとの懸濁液を皮下注射した。この操作を1週間毎に3回繰り返した後、更に1週間経過した時点において、BSA(20mg)生理食塩水溶液5mlを耳静脈より静注した。このように感作したウサギを用いて、次に述べる左腎盂内惹起注入を行なった。

2. BSAの左腎盂内惹起注入

ベントバルビタール(ネブタール、Labott社製)25ml/kgの耳静脈内注射による麻酔下で、左腰背部を

広範囲に剃毛、イソジン®で消毒した後、ウサギを右側臥位に固定した。左腰背部皮膚を長軸方向に切開し、腰椎近傍の筋群と背筋群の間より後腹膜腔に到り、周脂肪組織を鈍的に剝離し左腎を体外に脱出させた。腎下極付近で尿管を同定した後、周脂肪組織より剝離し、左腎盂尿管移行部を3号絹糸によって結紮した。その後直ちにツベルクリン注射針をつけた注射器でBSA(5~180mg)生理食塩水溶液0.8mlを左腎盂内に注入すると、腎盂は軽度ながら拡張した。感染予防のために、スルベニシリンナトリウム(リラシリン、武田薬品製)0.5g生理的食塩水溶液で創部を洗浄した後、腎を元の位置に戻し切開創を閉じた。皮膚切開部にはノベクタンスプレー(吉富製薬製)を数秒間噴霧した。24時間経過後、縫合糸を抜きし創を開いた後、尿管結紮糸を解放し、同様の洗浄操作を繰り返した後、創を閉じた。またコントロールとしてBSA感作ウサギ2匹について同様の手術操作にしたがって生理的食塩水(0.8ml)のみを左腎盂内に注入し、24時間後に結紮糸を解放し、注入後1週と3週で剖検し観察した。17匹のウサギでは、第1回惹起注入後1週間の時期から、1週間毎に3回同様のBSA懸濁液を背部に皮下注射した。更に1週間経過した後、再びBSA左腎盂内惹起注入を繰り返した。

3. 剖検

1回惹起注入群ウサギでは左腎盂内惹起注入後1週より10週の期間内に、2回惹起注入群ウサギでは最終左腎盂内惹起注入後3日より10週にいたる期間内に致死させ、ただちに剖検した。両腎(腎盂を含む)の重量、大きさ、表面および断面の性状などについて計測ならびに観察を行なった。脾についても重量の測定を行なった。

4. 組織学的検索

1) 光学顕微鏡的検索

剖検腎を10%ホルマリン水で約5日間固定した後、パラフィン包埋し、薄切標本作製、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)、過沃素酸シッフ染色(PAS染色)、アザン・マリロー染色、エラスチカ・ワンギーソン染色を施し観察した。

2) 蛍光抗体法による検索

剖検腎の一部をただちにTissue Tek II(Lab-Tek Products製)にて包埋した後、Cryostat IIにより厚さ6 μ の切片を作製した。95%エチルアルコールで固定した後、燐酸緩衝液で洗浄し、5倍希釈のFITC抗ウサギIgGヤギ血清(Hoechst製)を用いて、直接法

で検索した。観察および撮影には、オリンパス蛍光顕微鏡を用いた。

3) 電子顕微鏡（以下電顕と略す）的検索

剖検時に得られた腎の皮髄境界部付近で、それに沿うように帯状に巾約1mm長さ1cmの大きさに3つの部分に分けて切り出し、その後ただちに0.2M 磷酸緩衝液(pH7.4)で希釈した6%グルタルアルデヒドの中で約1mm³の大きさに細切し、4℃の条件で2時間前固定を行なった。次に4℃の条件下で1%オスミウム酸を含む磷酸緩衝液の中で約2時間後固定した。一部の材料については、4℃の条件下で、1%オスミウム酸による2時間の前固定を、次に6%グルタルアルデヒドの中で約2時間の後固定を行なった。その後、常温下でエタノール系列で脱水後、Epon 812(Luft 法)で包埋し、60℃の保温器の中に数日間放置した。その後、Portem-Blum MT II B ウルトラミクロトームで約500μの厚さの切片を作製して、トルイジンブルー染色を施行し、光学顕微鏡下に検鏡の後、エポン包埋材料を超薄切片用にトリミングし、そのものについて超薄切片を作製し、酢酸ウラニウム(Watson 変法)およびクエン酸鉛(Reynold 法)の二重染色を行ない、日立 H-300型電子顕微鏡を用いて検鏡、電子顕微鏡フィルム(FG, 富士写真フィルム製)で撮影した。このフィルムをコピナール(富士写真フィルム製)による5分間の現象、レンフィクス(富士写真フィルム製)による定着等の処理の後、引伸して印画した。

5. 抗BSA ウサギ血清の採血および沈降抗体価の測定

採血は第1・2回惹起注入直前、結紮解放後、および剖検時において、耳静脈より行なった。得られた血液を直ちに遠心分離して血清を得、-80℃で保存した。保存血清の沈降抗体価測定はBSA 50mg/ml 生理的食塩水溶液を抗原として用い、免疫向流法 Counter Immunophoresis で行なった。

6. 排泄性腎盂造影による観察

ペントバルビタール2.5ml/kgの耳静脈麻酔後、ただちに76%ウログラフィン2.5ml/kgを静注、その後5・10・15分を経て超軟線X線発生装置(Softex CSM-2, Softex Co, LTD)を使用し、管電圧55kVp、管電流28mA、カセットと管電球の距離50cm、露光時間2秒の条件下で、ソフテックスフィルム(HS, 富士写真フィルム製)を用いて、排泄性腎盂造影(Intravenous Pyelography, 以下IPと略す)を行なった。このフィルムをソフドル(富士写真フィルム製)で5分間現

象し、レンフィクス(富士写真フィルム製)により定着を行ない、腎・腎盂・尿管のIP下における形態学的観察を行なった。

7. 尿の細菌学的検索

剖検時に、膀胱内尿を直接穿刺により約5ml採取し、ミクロスティクス™-3(マイルス・三共製)を用いて尿中の細菌の有無を検索した。

実験成績

腎盂炎ないし腎盂腎炎の発生は、実験に用いたウサギ28匹のうち16匹の左腎に認められた。Table 1はその実験成績の概略を示したものである。そのうち1回惹起注入群では11匹のうち6匹の左腎に、2回惹起注入群では17匹のうち10匹の左腎に、腎盂炎ないしは腎盂腎炎の発生がみられ、その発生率はそれぞれ59%、65%であった。

1. 左腎の病理学的所見

A. 肉眼的所見

左腎線維膜は惹起注入による外科的操作のため、一部癒着肥厚しているものも認められたが、その他の部位では殆ど剝離容易であった。腎表面はおおむね平滑であったが、腎門部より放射状に走る数本の灰白色の線条が3匹(R-28, 36, 37)で認められた。剖面では腎盂の壁は浮腫を呈するものが多く、尿管結紮部では軽度の狭窄が認められた。その部位の壁は浮腫状で、一部に出血も認められた。一部には腎盂の軽度の拡張を呈するものも存在したが、水腎症性傷害は認められなかった。腎重量の多少の左右差は認められたが、左腎が右腎より著しく軽くなっているのは1例(R-56)のみであった。

B. 蛍光抗体法による所見

すべての実験例の左腎を、蛍光抗体法による検索のために前述の方法により包埋し、そのうち光学顕微鏡的検索により腎盂腎炎がかなり強く発生した5例(R-39, 28, 40, 18, 56)について、蛍光抗体法による検索を行なった。そのうち2例(R-18, 40)において、若干の所見が得られた。すなわち、ウサギIgGの存在が形質細胞の細胞質内に示されたが、糸球体係蹄および尿管組織等の内部には認められなかった。

C. 病理組織学的所見

病理組織学的所見の概要はTable 2に示すとおりである。

D. 若干例の記載

これらの動物の中で腎盂腎炎の成立と進展に関して特に示唆に富むと考えられる1回惹起注入群3例と2

Table 1 Outline of the Experimental Procedures and Results

No. of cases	No. of rabbits	sex	sensitization		provocation		days after last provocative injection (sacrificed)	body weight (initial final) (gm.)	weight of kidneys (gm.)		weight of spleens (gm.)
			subcutaneous injection of BSA (mg)	intravenous injection of BSA (mg)	amount of BSA (mg)	times			right	left	
1	R-36	m	50	20	160	1	7		12.0	11.0	2.3
2	R-51	m	50	20	160	1	7				
3	R-37	m	50	20	160	1	21	2.750 2.800 2.600	8.8	11.2	2.5
4	R-38	m	50	20	160	1	21	3.500 3.700	10.3	9.3	2.1
5	R-1	m	20	20	5	1	56	2.300 3.200			
6	R-5	m	20	20	5	1	70				
7	R-54	m	50	20	180	2	3				
8	R-13	m	20	20	160	2	5	3.500 3.100	12.8	14.4	2.4
9	R-39	m	50	20	160	2	7	4.000 3.500	11.9	10.5	2.5
10	R-14	m	20	20	160	2	7	2.950 3.200	11.9	12.6	2.8
11	R-28	m	50	20	20	2	21	4.500 3.750	12.0	11.0	3.75
12	R-40	m	50	20	180	2	35	3.000 3.100	8.7	13.3	3.1
13	R-18	m	100	20	160	2	35	3.200 2.900	14.4	12.5	4.3
14	R-57	m	50	20	160	2	49	2.900 2.700			
15	R-49	m	50	20	160	2	56				
16	R-56	m	50	20	160	2	70	3.400 3.200	14.5	12.0	3.7

Table 2A Experimental Results

No. of cases	No. of rabbits	days after last provocative injection (sacrificed)		renal pelvis	renal tissue				
					subcapsular cortex	cortex	cortico-medullary junction	medulla	papilla
1	R-36	7	h e c s f	+				+	+
2	R-51	7	h e c s f	+		+	+		+
3	R-37	21	h e c s f	+	+		+	+	
4	R-38	21	h e c s f	+		+	+	+	+
5	R-1	56	h e c s f	+	+				+
6	R-5	70	h e c s f	+		+	+		+

h : hemorrhage. e : edema. c : cellular reaction. s : sclerosis. f : fibrosis.

回惹起注入群 5 例について、肉眼的所見と、皮質、皮髄境界部、髓質、乳頭、腎盂門蓋部の部位別に、電顕的所見をも加えた病理組織学的所見を記載する。

1) 第 1 例 (R-36, 1 回惹起注入後 1 週で致死剖検) 左腎は右腎に比し大きさ、重量とも小さく、表面は赤褐色、平滑であり、腎門部より放射状に走る灰白色の

線条が数本認められた。線維膜の剝離は容易であった。剖面では、尿管結紮部より上位の尿管および腎盂壁、乳頭中央部に出血が認められた。

病理組織学的には、腎盂腎組織の各所に出血が認められる。すなわち、髓質では集合管周囲の間質に出血巣が認められ、乳頭中央部でも間質に出血巣が見られ

Table 2B Experimental Results

No. of cases	No. of rabbits	days after last provocative injection (sacrificed)	h e c s f	renal pelvis	renal tissue				
					subcapsular cortex	cortex	cortico-medullary junction	medulla	papilla
7	R-54	3	h e c s f	± ±	+		+		
8	R-13	5	h e c s f	± ±		++ ++	± +	+	++ +
9	R-39	7	h e c s f	+	++ ++	+	+	++ +	++ +
10	R-14	7	h e c s f	± ±		+			++ +
11	R-28	21	h e c s f	+	++ ++	++ ++		+	
12	R-40	35	h e c s f	+	++ ++	++ ++	+	++ +	+
13	R-18	35	h e c s f	+	++ ++	++ ++	+	++ ++	++ +
14	R-57	49	h e c s f	+	++ ++	++ ++	+	++ ++	++ +
15	R-49	56	h e c s f	++ ++	+	++ ++	+		+
16	R-56	70	h e c s f	++ ++	+	+			++ +

h: hemorrhage, e: edema, c: cellular reaction, s: sclerosis, f: fibrosis.

る。弓状動静脈周囲、乳頭近傍に接する腎盂円蓋部では、浮腫、僅かなリンパ球・形質細胞の浸潤が認められるが、腎実質の変化はいずれの部位にも見当たらない。

2) 第4例(R-38, 1回惹起注入後3週で致死剖検) 左腎の重量、大きさは右腎とほぼ同じであった。線維膜の剝離は容易であり、表面は赤褐色平滑、剖面でも著変は認められなかった。

組織学的には、(1) 腎外側部(左側の意)皮質では、尿細管組織の間質に様々なひろがりを出す浮腫とリンパ球・形質細胞浸潤が認められるが、実質の変化は目立たない。(2) 皮髄境界部では、弓状動静脈周囲にやや大きなリンパ球・形質細胞浸潤巣が観察される。(3) 髄質では、集合管周囲組織に出血、浮腫が認められる。(4) 乳頭では、中央部付近の乳頭管上皮下組織は軽度の浮腫を呈し、所々に出血も認められる。腎盂円蓋部では間質はやや硬化し、そこにはリンパ球・形質細胞浸潤も見られる。

3) 第5例(R-1, 1回惹起注入後8週で致死剖検) 左腎は右腎よりやや腫大し、重量も増していた。線維

膜の剝離は容易であり、表面は平滑、淡褐色を呈し、剖面に著変は認められなかった。

組織学的には、(1) 皮質では、線維膜より皮髄境界部付近に達する細い帯状の病巣、皮質中層部付近まで伸びる楔状の病巣、皮質表層のみに存在する病巣などが数カ所認められる。これらの病巣部位の糸球体、ヘンレの係蹄・集合管上皮には著しい変化は認められない。尿細管主部上皮には空胞変性を示すものが多く、基底膜の肥厚も僅かに存在する。尿細管組織の間質には、浮腫、硬化、出血が見られ、リンパ球も散在している。皮質の所々に、リンパ球・形質細胞が集簇している部位や出血巣が尿細管組織中にひろがっているところが認められる。細動脈には著しい変化は認められない。(2) 皮髄境界部では、明らかな炎症性細胞浸潤は見られないが、腎盂円蓋部より弓状動静脈周囲に到る部位に、膠原線維の増殖巣が存在する。(3) 髄質では、集合管周囲組織に出血、リンパ球・形質細胞浸潤が認められる。(4) 乳頭では、上皮が脱落しているところが多く、上皮下組織にはリンパ球が散在している像も見られる。さらに内側には、リンパ球・形質細胞が結節状に集簇しているのが見られる。腎盂円蓋部では線維化が認められる。

4) 第9例(R-39, 2回目の惹起注入後1週で致死剖検) 左腎の重量は右腎のそれより軽く、線維膜の剝離は容易であった。表面は平滑、赤褐色を呈していた。剖面では腎盂はやや拡張していたが、皮質の厚さはおおむね保たれていた。腎皮質表層には陥凹部が4カ所認められた。

組織学的には、(1) 皮質線維膜下に他の皮質表面よりは陥凹し、かつ、深部に向かって楔状または帯状にひろがった病巣が存在する(図1)。この部位では尿細管組織の間質は浮腫を呈し、中等度のリンパ球・形質細胞浸潤と一部に出血が認められる部位と硬化、線維化が強い部位が存在する。換言すれば、新旧の病変が混在している。尿細管主部上皮は空胞変性を示すものが多く、一部では基底膜の肥厚も認められる。糸球体内毛細管には赤血球が充盈し、糸球体係蹄壁はよく保たれているが、一部には虚脱におちいつているものもあり、ボウマン嚢基底膜の肥厚も一部に認められる(図2)。電顕的には、この部位に毛細リンパ管の拡張、リンパ栓の存在が示されるものがある。小葉間動静脈周辺では、リンパ球浸潤、出血巣も散在しており、ところによってはリンパ球が結節状に集簇しているところもある。このような炎症巣に続くボウマン嚢壁および

周囲組織には浮腫と細胞浸潤のみ認められるもの、硬化、線維化に陥っているものなどが認められる。尿細管主部上皮は空胞変性を示し、基底膜の肥厚も認められる。この病巣内に存在する細動脈には、内膜の弾性線維の層状増殖が一部に認められる。(2) 皮髄境界部の弓状動静脈周囲ではリンパ球・形質細胞浸潤が認められ(図3)、この周囲の尿細管主部上皮には空胞変性が認められるものも存在するが、糸球体係蹄壁は比較的良好に保たれている(図4)。尿細管組織の間質に膠原線維の増殖している部位も数カ所存在する。(3) 髓質では、集合管上皮の変化が目立ち、菲薄化したもの、壊死に陥ったものが多く、基底膜から剝離しているものもある。周囲間質には、リンパ球・形質細胞浸潤が中等度に認められる部位、著明な出血が見られる部位、液性滲出が強い部位あるいは、それが軽度にとどまる部位が集合管の組織の間質に散在している。(4) 乳頭では、集合管上皮が菲薄化、あるいは空胞変性におちいっているものも一部に認められ、拡張した管腔内には、脱落上皮、好酸性に染まる液性内容を入れるものもある。間質には浮腫、リンパ球・形質細胞浸潤、出血が所々に認められる。腎盂円蓋部でも、乳頭と同様の炎症像が認められる。

5) 第11例(R-28, 2回目の惹起注入後3週で致死剖検) 左腎の重量は右腎のそれより軽く、線維膜は周囲で癒着、肥厚しており、色調は黄褐色であり、表面には腎門部より放射状に走る数本の灰白色の線条が認められた。剖面では、一時的な尿管結紮のためか腎盂はやや拡張していたが、皮質の厚さは右腎とはほぼ同程度のものではあった。

組織学的には、(1) 腎外側部皮質において、肥厚した線維膜より髓質にひろがる比較的浅い病巣が存在し、そこでは陳旧化した病変が主として見られる。すなわちこの部位の間質では硬化、線維化が強く、リンパ球・形質細胞の浸潤は散在性に見られるのみである。尿細管主部上皮では空胞変性が認められ、基底膜も一部で肥厚している。集合管、介在部、ヘンレの係蹄上皮は菲薄化するとともに内腔は拡張し、円柱を入れるものも一部に認められる。糸球体係蹄構造がよく保たれ、毛細血管には赤血球が充盈しているところが多いが、一部には虚脱の像も認められる。細動脈の変化の著しいものは認められない。腎内側部皮質では、全層にわたり強い新旧入り混じった病変が認められ、髓境との境界は不明瞭である。この部の尿細管組織の間質では、浮腫、硬化ないし線維化が混在し、それと入り

混じってリンパ球・形質細胞が浸潤している。ボウマン嚢周囲では線維化が著明であり、尿細管主部上皮は空胞変性を示している。集合管と介在部・ヘンレの係蹄の尿細管の内腔は拡張し、円柱を入れるものも認められる。また、細動脈内皮細胞の腫大、内膜の弾性線維の層状増殖も認められる。(2) 皮髄境界部では、炎症性細胞浸潤は認められない。(3) 腎盂円蓋部に近い髓質には浮腫、出血などの変化が認められるが、上皮細胞の変化は見当らない。(4) 腎盂円蓋部では、膠原線維、弾性線維の増殖が見られる。

6) 第12例(R-40, 2回目の惹起注入後5週で致死剖検) 左腎は右腎よりやや腫大し、色調は褐色であった。線維膜の剝離も容易であり、剖面にも著変は認められなかった。

組織学的には、(1) 腎外側部皮質では、線維膜の肥厚、出血が認められ、これより皮髄境界部に向かって楔状に伸びる病巣が存在するが、この部位の変化は主に陳旧化した病変から成る。尿細管組織の間質には線維化、硬化が著明であり、炎症性細胞浸潤は僅かである。これらの間に存在する糸球体では、その係蹄構造はよく保たれているが、ボウマン嚢周囲の硬化を示すものがあり、一部には糸球体の虚脱も見られる。これらの糸球体が相互に密着している様な所見は見当らない。尿細管主部上皮の多くのものは空胞変性に陥り、基底膜の肥厚も示されているが、集合管、介在部、ヘンレの係蹄では、一部の内腔の拡張、円柱の停滞を除くと、それらの構造はよく保たれている。この病巣内の細動脈では、内膜の弾性線維の層状増殖も認められる。腎内側部皮質においても同様に陳旧化した病変が認められる。すなわち腎線維膜下より皮髄境界部に到る全層において、硬化、線維化、硝子化にいたる結合組織の増殖した領域が広範囲に認められ、炎症性細胞浸潤はむしろ僅かである。ボウマン嚢周囲に線維化が認められる部位でも、糸球体係蹄壁は比較的良好に保たれているが、一部の糸球体には虚脱が認められる。尿細管主部上皮は変性萎縮し、その数は減少するとともにその内腔は目立たなくなり、基底膜が肥厚したものが散在している。集合管、介在部、ヘンレの係蹄はその内腔に円柱を入れるが、それらの構造には著しい変化は認められない。また、この部の細動脈には内皮細胞の腫大、内膜の弾性線維増殖も認められる。電顕的には、この部では間質は広がり、膠原線維の増殖とリンパ球の僅かな浸潤が認められる。尿細管主部上皮は萎縮し、細胞内小器管の数も減少し、その管腔側の微絨

図1 皮質表層部の楔状炎症巣，左腎，HE染色，ウサギ39.

図2 図1の強拡大，左腎，HE染色，ウサギ39.

図3 皮質深部の炎症巣，左腎，HE染色，ウサギ39

図4 図3の強拡大，左腎，HE染色，ウサギ39.

毛は殆んど認められない。基底膜は肥厚・離開しており、離開した基底膜と細胞質の間に膠原線維が存在する部位も認められる。基底膜の肥厚・離開が見られるが、それに囲まれた尿細管主部上皮で細胞質内の変化に乏しいものも存在する。

集合管、ヘンレの係蹄、介在部はその内腔に円柱を入れるものも見られるが、上皮の構造はよく保たれている(図5)。(2)皮髄境界部では、前述の楔状病巣は弓状動静脈近傍に達し、これらの周囲に浮腫とリンパ球・形質細胞浸潤が認められる。(3)髄質では、間質の拡大、線維化を広範囲に示している。集合管上皮の変化は殆んど見出せない。(4)乳頭では、乳頭管上皮下に膠原線維の増殖が認められ、腎盂円蓋部では、更に弾性線維の増殖を伴うものが数カ所に認められるが、炎症性細胞浸潤は見出せない。

7) 第13例(R-18, 2回目の惹起注入後5週で致死剖検) 左腎は右腎より軽く、やや萎縮しており、表面は平滑、淡褐色を呈していた。線維膜の剝離は比較的容易であり、剖面では乳頭、腎盂粘膜に出血が認められたが、腎盂の拡張は見られなかった。

組織学的には、(1)皮質の殆んどすべての領域で間質の拡大が認められ、次に述べる新旧入り混じった病変が認められる。a) 間質が浮腫を呈し、リンパ球・形質細胞の浸潤が僅かに認められるもの、b) 間質の硬化が強く、その間にリンパ球・形質細胞が軽度に浸潤しているもの、c) 間質内にリンパ球が結節状に集簇しているもの、d) 間質の硝子化が生じているもの、e) 間質内に出血をきたしているもの、などがそれである。それらが混在している所もある。糸球体係蹄壁は比較的よく保たれており、その毛細血管内には赤血球が充盈しているが、虚脱を呈しているものも見られる。ボウマン囊周囲には浮腫・硬化・線維化、リンパ球・形質細胞浸潤が見られる。間質の変化が広範に起こっているが、糸球体が相互に密集している像は見当たらない。尿細管主部上皮、ヘンレの係蹄、介在部、集合管の上皮はそれぞれの同定が不可能な位変化が著しく、数の減少も認められる。すなわち、空胞変性を示すとともに内腔の目立たなくなっているもの、基底膜が肥厚し、上皮の萎縮が強く核のみが目立っているもの、著しく内腔が拡張し上皮が菲薄化しているものなど、変化の程度、種類は多彩である。電顕的には、この部位のボウマン囊周囲および尿細管組織の間質は拡大を示し、膠原線維は散在し、またリンパ球、粗面小胞体の発達した形質細胞の浸潤が見られる。糸球体係蹄を

構成する細胞およびボウマン囊上皮には著変は認められない(図6, 7)。尿細管主部上皮の微絨毛は不明瞭となり、上皮はやや萎縮しており、細胞内小器管の数も減少し、内腔の狭くなっているものが多い(図8)。基底膜は、肥厚・離開・層状化を示している。他の部位では、尿細管組織の間質の中に、毛細血管とは異なり、基底膜の構造がやや不明瞭で、扁平な内皮細胞で管腔が囲まれた管(毛細リンパ管)が確認され、この中に中等度の電子密度をもつ線維状物(リンパ栓)の存在が見られる(図9)。毛細リンパ管周囲には、膠原線維の増殖、リンパ球・形質細胞の浸潤が観察される。また拡大した間質の中の細動脈では、内皮細胞の腫大、内膜の弾性線維の増殖、中膜の平滑筋線維の肥大が認められる。(2)皮髄境界部の弓状動静脈周囲では、膠原線維の増殖、リンパ球・形質細胞の浸潤、出血が認められる(図10, 11)。(3)髄質の集合管周囲の間質は著しく拡大し、上皮の数は減少している。その間質には、リンパ球・形質細胞浸潤、出血、硬化、線維化、硝子変性が見られる。集合管上皮は菲薄化し、その内腔が著しく拡大しているものも少なくない。その他、上皮が空胞変性に陥ったもの、基底膜より剝離しているものが存在する。(4)腎盂円蓋部では、硬化、リンパ球・形質細胞浸潤が見られる(図12)。また乳頭近傍では、拡張したリンパ管の内腔に薄い硝子様のリンパ栓が形成されているのが多数認められ(図13)、その周囲や間隙には、膠原線維の増殖、リンパ球・形質細胞の浸潤、軽度の硝子変性が認められる。リンパ管の間の組織には、毛細血管も見られる。周囲の乳頭管上皮の一部は空胞変性しており、基底膜より剝離している。乳頭中央部の乳頭管腔内には、剝離した上皮、少数のリンパ球、赤血球も認められる。

8) 第16例(R-56, 2回目の惹起注入後10週で致死剖検) 左腎は右腎よりやや軽く、萎縮しており、線維膜はやや肥厚し、周辺では剝離はやや困難であった。表面は平滑、黄褐色であった。剖面では著しい変化は見られなかった。

組織学的には、(1)腎外側部皮質では、肥厚した線維膜より带状に皮髄境界部に向かうやや陳旧化した小病巣が若干存在する。この部位の尿細管組織の間質には線維化、軽度のリンパ球浸潤が見られるところがある。腎内側部皮質では、尿細管組織の間質には線維化、リンパ球・形質細胞浸潤が顕著に認められるところがある。糸球体係蹄壁はよく保たれているが、虚脱を示すものが少なくなく、ボウマン囊周囲の線維化を示す

図5 円柱を入れる比較的良好に保たれた介在部上皮。間質の膠原線維の軽度の増殖。
左腎。電顕写真。ウサギ40。

図6 ボウマン嚢周囲のリンパ球・形質細胞浸潤を伴った線維化。糸球体係蹄はよく保たれている。左腎。電顕写真。ウサギ18。

図7 ボウマン嚢周囲のリンパ球・形質細胞浸潤。左腎。電顕写真。ウサギ18.

図8 尿細管主部上皮の強い萎縮，基底膜の肥厚・蛇行・上皮基底膜間の線維成分の増加，間質のリンパ球・形質細胞の浸潤を混じえる膠原線維の増殖。左腎。電顕写真。ウサギ18.

図9 皮質内の線維化を伴う炎症巣中の毛細リンパ管のリンパ栓形成。左腎。電顕写真。ウサギ18.

図10 皮髄境界部の炎症巣。左腎。HE染色。ウサギ18.

図11 図10の強拡大。左腎。HE染色。ウサギ18.

図12 腎盂同蓋部の硬化巣。左腎。HE染色。ウサギ18。

図13 腎盂同蓋部（乳頭近傍）のリンパ栓性リンパ管炎およびリンパ管周囲炎。左腎。
HE染色。ウサギ18。

図14 皮髄境界部のリンパ球浸潤の目立つ炎症巣。左腎。HE染色。ウサギ56。

図15 腎盂同蓋部の硝子変性を示す線維化巣。左腎。HE染色。ウサギ56。

ものが多く認められる。尿細管主部上皮の空胞変性、基底膜の肥厚が生じているものと、全く変化を示さないものとが存在する。ヘンレの係蹄、集合管の上皮は菲薄化しているものが多く、内腔の拡張とともに円柱を入れるものが見られる。細動脈には著しい変化は見られない。(2) 皮髄境界部の弓状動静脈の周囲より髄質に向かう癰痕化巣が見られ、弓状動静脈周囲にはリンパ球・形質細胞が結節状に浸潤している(図14)。(3) 髄質では、集合管上皮はところどころ壊死化し、それが基底膜より剝離しているのが見られる。(4) 乳頭中央部では所々に乳頭管上皮の脱落が見られ、上皮下の組織では線維化、リンパ球・形質細胞の軽度の浸潤が認められるところもある。腎盂門蓋部では、硝子変性を伴う線維化巣が認められ、炎症性細胞浸潤は軽度である(図15)。

2. 右腎の病理学的所見

第13例(R-18)では、右腎の重量は左腎のそれより大であり、代償性肥大が認められた。それ以外の例では、右腎の重量は左腎のそれと等しいか、やや小であった。

組織学的には、すべての実験例の右腎で、炎症性細胞浸潤、腎実質の著しい傷害は認められない。

3. 生理的食塩水を注入した左腎(コントロール)の病理学的所見(2匹、生理的食塩水注入後1週および3週で致死剖検)2匹とも、左腎の重量、大きさは右腎とほぼ同じであった。線維膜の剝離は容易であり、表面は平滑、赤褐色であった。剖面でも著変は認められなかった。

組織学的には、腎皮質、髄質には炎症性細胞浸潤は認められない。乳頭ならびに腎盂門蓋部では、炎症性細胞浸潤は見られないが、腎盂門蓋部では軽度の硬化が見られるところが一部にあった。

4. ウサギ血清中の抗BSA抗体価

ウサギ6匹において抗BSA抗体価を測定した結果、惹起注入前後において抗体価の低下は認められなかったが、第1・2回惹起注入時から剖検時へと経過を追うにつれて抗体価は低下する傾向が見られた。

5. 排泄性腎盂造影による観察

R-39, 40, 50の3匹において行ない、以下に述べる結果が得られた。

第1回惹起注入に先立つ結紮をその24時間後に解放した直後では、左腎は右腎に比し著明に大きく造影され、腎よりの造影剤の排泄も遅延していた。その後4日目には、IP 5分像で造影剤は左腎実質内に停滞して

いたが、左尿管への排泄は認められた。約1週間後には、左腎盂の軽度の拡張、左尿管の結紮部における狭窄が認められた。さらに第2回惹起注入後1週では、左腎盂は著明に拡張し、腎盂門蓋部は鈍化し、結紮部より近位側の尿管の拡張が見られたが、3週間経過すると腎盂の拡張は軽減する傾向を示すとともに、結紮部における尿管の狭窄、腎盂門蓋部の鈍化像はなお観察された。全経過を通して、右腎について著変は認められなかった。

6. 尿の細菌学的検査

R-49, 54, 56で剖検時、前述の方法に従って行なった結果、細菌は検出されなかった。

総括的観察ならびに考察

著者は、慢性腎盂腎炎を作成するにあたり、Fujimoto(1963)の方法に従ってBSAで感作されたウサギの一侧腎尿管移行部を24時間結紮しその当初に同一抗原を腎盂内に惹起注入する群と、同一の惹起方法を約1カ月の後に再度行なう群の2群に分けて実験を試み、それぞれ最終の惹起注入後、3日ないし10週および7日ないし10週の期間にわたって観察した。1回惹起注入群では、腎盂門蓋部、皮髄境界部および乳頭の組織の間質に、漿液滲出、リンパ球・形質細胞の浸潤、出血などの比較的新しい変化から、組織の硬化ないし線維化に至る過程が観察期間の短いものから長いものに及ぶに従って見出された。また、やや経過の長いものについて見ると、腎盂門蓋部の病変はすでに陳旧化しているのに、腎組織内部に波及した病巣ではそれ程には至っていないという傾向が示された。尿管上皮等の変化の著しいものは見出されなかった。この群の経過の長い例でも同一炎症巣内では、新旧の病変が混在するという所見は見出されなかった。これに対し、2回惹起注入群では前群にくらべ、病変が強く、そのひろがりやが広範で同一局所についても時相を異にする病変の混在が注目された。この際見られた腎盂および腎組織の病変には1回惹起注入群で見られた腎組織間質の硬化ないし線維化に加えて、局所の硝子変性まで生じている所があり、また炎症巣あるいは線維化巣内部の尿管主部上皮の空胞変性、基底膜の離開、層状化、肥厚などから更にこの上皮の著しい萎縮、基底膜の強い肥厚、蛇行、萎縮上皮と基底膜との間の膠原線維の増殖に至るような諸変化の発生が確かに認められた。腎組織内への炎症過程のひろがりについては、1回惹起注入群で見られたものの他、所によっては皮髄境界部の病巣との融合が示される場所もあった。腎

盂門蓋部およびこれらの腎組織内の病巣では、やや進行したあるいは陳旧化した病変の見られる病巣、比較的新しい炎症性変化あるいはそのやや進行した病変が見られる病巣が相接して、あるいは多少入り組んだ形に混在している所見が認められた。その結果、それぞれの局所においても病巣のひろがり1回惹起注入群にくらべてより広いという傾向が見られた。

この両群の動物の右腎盂ならびに右腎の検索では、特記すべき所見は見出されなかった。またBSA感作ウサギの左尿管近位部の24時間の結紮の当初に生理的食塩水を同一側の腎盂内に注入された後の、7日、21日の腎においては、腎盂門蓋部、乳頭などの軽微な傷害の発生が一部に見い出されたが、惹起注入群で示されたような諸病変の発生は全く認められなかった。

著者の実験で得られた惹起注入群の腎盂腎組織の変化は、以上の諸特徴から腎盂腎炎であると言うことができよう。この腎盂腎炎は、上に述べた諸実験成果から見て、明らかに著者の行なった免疫学的な実験操作にもとづいて発生したものと言うことが出来るように思われる。しかも2回惹起注入群では1回惹起注入群とは異なり、新旧の病変の混在が示されたということは、発生した腎盂腎炎がまさに惹起注入のくり返しによってもたらされたと解釈することの妥当性を裏づけるものと言うことができよう。著者の病理形態学的研究と平行して、動物の血清について抗BSA抗体の消長を追及したが、病変の強さ、進展の模様などとの間に明らかな関連性を示唆する所見は得られなかった。また、ウサギIgGについての蛍光抗体法による検索でも、炎症巣中の形質細胞の細胞質内にその存在を確かめることができたが、糸球体、尿管組織およびそれらの間質におけるIgGの局在については明確な証左を得ることができなかった。

著者の作成し得た実験的腎盂腎炎を通して、腎盂腎炎の発生と進展の様式に関して次のような点が示唆されているように思われる。それは、腎盂門蓋部の炎症が腎組織内に波及するにあたって、主としてリンパ行性の経路をとるということである。すなわち腎盂門蓋部から弓状動静脈近傍、更に皮質・髄質の、それぞれの内部の細血管近傍のリンパ管、毛細リンパ管ならびにそれらの周囲組織を通じての炎症のひろがりの様式が示されたということである。その他に腎盂門蓋部から線維膜内を通して皮質表層部に波及するような所見も見出された。これらのリンパ行性の炎症の波及に際して、リンパ管あるいは毛細リンパ管内にリンパ栓の

形成が示されることも注意された。なお著者の作成した腎盂腎炎の過程に乳頭炎と言うべきものが認められた例も一部にあったが、これらの例においてもその病変は軽度で、かつ、そのひろがりも巣状にとどまるものであった。著者の実験では確かに腎盂尿管移行部の結紮が行なわれ、この部に尿管の軽度の狭窄が残っていた。しかし、腎盂腎組織を通じて水腎症性傷害の著しいものは殆んど残されていなかった。これは尿管結紮が24時間にとどまったため、多少の尿管の狭窄を残したとしても、著しい水腎性傷害の発生にいたることなく、かつ、わずかに発生したものも、その後の経過においておおむね修復されたものと考えられる。従って上記の乳頭炎の像は、ごく一部において腎盂内圧の初期の亢進に伴って惹起注入された抗原が、乳頭管上皮を通過して組織内に侵入することがあったことによるものではないかと推測される。緒言に述べた様にFujimoto (1963) はヒトの腎盂腎炎の剖検例について病理形態学的研究の結果、腎盂炎の腎組織内波及にあたってのリンパ行性経路の役割を重視した。その際、慢性腎不全を呈する腎に合併した腎盂腎炎においてはこの経路の他、乳頭管を通じての管内性波及もまれならず見出されることをも明らかにした。著者の実験成果は、このヒトの腎盂腎炎における腎盂炎の腎組織内への波及の様式についての指摘を支持するものである。

著者が準拠したFujimoto (1963) の実験では、惹起注入後の観察期間が70分ないし10日にとどまったためか、腎組織実質の傷害が軽度のものが得られたにすぎなかったが、著者の実験では腎盂炎の腎組織内への波及に伴って、尿管主部上皮の変性、萎縮、基底膜の傷害の他、ボウマン嚢壁の肥厚、硬化の所見が示された。しかしながら、この様な病巣の内部の糸球体にはその構造が比較的よく保存されており、炎症像と言うべきものは全く見出されなかった。これはFujimoto (1963) がヒトの腎盂腎炎について指摘したように、尿管組織、ボウマン嚢壁とは異なり、糸球体内部にはリンパ管の発達が見られないため、腎盂炎の腎組織内へのリンパ行性波及に際しても、炎症過程へ陥ることがないものと考えられる。しかしながら、著者のウサギIgGを用いた蛍光抗体法による検索では、尿管組織、ボウマン嚢壁におけるIgGを明確に証明できず、十分な免疫学的証左を得るまでにいたらなかった。

ヒトの慢性腎盂腎炎においては尿管組織が甲状腺の濾胞様に変化する所見が特徴的な病変の一つとして

注目されているが、著者の実験ではこのような像の発生は認められるにいたらなかった。腎組織内の炎症巣あるいはその陳旧化した病巣を灌流する細・小動脈には、2回惹起注入群で、内皮細胞の腫大、内膜の弾性線維の層状増殖が認められた。これは Fujimoto (1963) が指摘した荒廃した腎組織ことに尿細管組織に灌流する動脈系に様々な血管病変が発生するという特徴に一致するものである。

今日までの腎盂腎炎の実験的作成ということになるとそのほとんどは病原微生物を用いるものであり、その中でもラットの膀胱内に大腸菌を注入しその上行性感染によって腎盂腎炎の発生をくわだてる方法が最も一般的であると言うことができる⁴⁾¹⁰⁾¹¹⁾。この方法によってもある種の腎盂腎炎の発生が見られているものもあるが、腎盂腎組織内の膿瘍の形成が強く、それに続いて動物が敗血症死にいたる場合があり、腎盂腎炎の基本をなす病理過程の実験的作成の方法としては必ずしも適切なものとは思われない点があるので、著者は Fujimoto (1963) の方法に従って無菌的に、異種蛋白で感作した動物の腎盂内に同一抗原を惹起注入するという方法を選んだのである。ただ異種蛋白の場合、細菌感染の実験とは異なり、実験動物の体内における投与抗原の増加ということがないためか、腎盂腎組織に発生した病変はそれぞれ一定の経過の後消失ないし陳旧化の方向に向かい、炎症性変化が局所に長く持続するということがないことが特徴をなすように思われる。このことは1回惹起注入群の所見が強く示唆する所であり、再度の惹起注入により、腎盂腎炎の再発をおこし得たことからよく理解できるところである。

結 語

著者は、病原微生物を用いることなく、BSA 感作ウサギの一侧腎盂内に同一抗原を1回ないし1カ月の間隔をおいて2回惹起注入することによりやや長期にわたる、あるいは再発性の腎盂腎炎を作成することができた。1回惹起注入群では、腎盂腎炎の発生の当初からそれが陳旧化するまでの基本的病理過程を明らかにすることができた。また2回惹起注入群では、このような病理過程の再発により腎盂腎炎のひろがり、新旧病変の混在、尿細管上皮等の傷害という点で、1回惹起注入群よりは顕著な、再発性の、さらにより長期にわたる腎盂腎炎の発生がみられた。腎盂腎炎の腎組織内波及にあってリンパ行性の経路によるそれが重要な意義をもつことを示唆する所見も得られた。

本研究の遂行および論文の作成にあたり、御指導と御校

閲を頂いた藤本輝夫教授(病理学第一教室)および、この研究の過程で御鞭撻を頂いた前川正信教授(泌尿器科学教室)に深謝致します。さらに、多大なる御協力を頂いた病理学第一教室、泌尿器科学教室諸兄姉に心から御礼を申し上げます。とくに電子顕微鏡の検索の技術面で御教示をいただいた岩本 勉氏(電子顕微鏡研究室)に衷心より感謝します。

本論文の要旨は The XIX International Congress of the Societe Internationale d'Urologie (1982年9月10日) および第227回大阪市医学会例会 (1982年11月10日) において発表された。

文 献

- 1) Staemmler, M. und Dopheide, W.: Die pyelonephritische Schrumpfniere. Virchows Arch., 277, 713—756, 1930.
- 2) Kimmelstiel, P. and Wilson, C.: Inflammatory lesions in the glomeruli in pyelonephritis in relationship to hypertension and renal insufficiency. Am. J. Path., 12, 99—105, 1936.
- 3) Weiss, S. and Parker, F. Jr.: Pyelonephritis: Its relation to vascular lesions and to arterial hypertension. Medicine, 18, 221—315, 1939.
- 4) Anderson, B.R. and Jackson, G.G.: Pyelitis, an important factor in the pathogenesis of retrograde pyelonephritis. J. Exp. Med., 114, 375—391, 1961.
- 5) Kimmelstiel, P., Kim, O.J., Beres, J.A. and Wellman, K.: Chronic pyelonephritis. Am. J. Med., 30, 589—607, 1961.
- 6) Zollinger, R.U. and Mihatsch, M.J.: Combination of pyelonephritis and glomerulonephritis. In: Renal Pathology in Biopsy, 1st. Ed. 441—442, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1978.
- 7) Kincaid-Smith, P.: Vascular obstruction in chronic pyelonephritic kidneys and its relation to hyfper-tension. Lancet, 2, 1263—1268, 1955.
- 8) Freedman, L.R.: Chronic pyelonephritis at autopsy. Ann. Int. Med., 66, 697—710, 1967.
- 9) Fujimoto, T.: Fundamental pathological processes in pyelonephritis. Histopathological and experimental studies. Acta Path. Jap., 13, 9—35, 1936.
- 10) Fiere, J., Talner, L. and Braude, A.I.: Bacteremia in the pathogenesis of retrograde E.coli pyelonephritis in the rat. Am. J. Path., 64, 443—465, 1971.
- 11) Brooks, S.J.D., Lyons, J.M. and Braude, A.I.: Immunization against retrograde pyelonephritis. I. Production of an experimental models of severe ascending Escherichia coli pyelonephritis without bacteremia in rats. Am. J. Path., 74, 345—358, 1974.

(1983年10月23日受付)