



# 小児期IgA腎症におけるリンパ球サブセットと機能

亀田, 愛樹

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1991-03-31

(Date of Publication)

2012-06-07

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0996

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.11501/3057180>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000996>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	かめ だ あい じゅ 亀 田 愛 樹 (兵庫県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博い第733号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の日付	平成3年3月31日
学位論文題目	小児期 IgA 腎症におけるリンパ球サブセットの機能

審査委員	主査 教授 中村 肇
	教授 藤田拓男 教授 伊東 宏

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

IgA 腎症は1969年に Berger よって初めて報告されて以来、現在までに、その臨床的、病理学的、免疫学的特徴についての報告が多く行われている。成人の IgA 腎症患者における免疫学的異常については様々な報告がある。細胞表面 IgA 陽性リンパ球の増加、リンパ球培養系における IgA 産生能の亢進、IgA 特異的 suppressor T細胞の活性低下、IgA 特異的 helper T細胞の活性亢進、CD 8 cytotoxic/suppressor T細胞の減少、あるいは CD 4 helper/inducer T細胞の増加に伴う、循環血液中の CD 4/CD 8 比の増加、IgA 特異的B細胞の活性亢進などである。しかし小児期における IgA 腎症の特徴についての報告は少ない。我々は、小児期 IgA 腎症においては IgA の産生亢進がその成因に関わっていることを報告した。今回、この IgA 産生亢進の原因解明のため小児期 IgA 腎症におけるTリンパ球の機能とTリンパ球サブセットの異常について検討を加えた。

### 【対象及び方法】

患者および対照児：対象は6歳から17歳までの小児 IgA 腎症患者、男子8名女子5名である。IgA 腎症の診断は腎生検組織の免疫組織学的検索によってした。SLE、Henoch-Schönlein 紫斑病その他の全身疾患を伴うことなく、糸球体メサンギウムに IgA 優位な免疫グロブリンの沈着を認めるものを IgA 腎症と診断した。実験時いずれの患者も尿蛋白陽性であった。また、腎機能の低下、高血圧、あきらかな上気道感染症、肉眼的血尿はなかった。12歳から17歳の男子5名女子5名の、研究への協力・理解が得られた健康小児を対照群とした。患者および対照児いずれもフェニトイン、ステロ

イド、免疫抑制剤等は投与されていない。

末梢血単核球 (PBMC) の分離 : PBMC はヘパリン採血した末梢血より、リンホプレブを用いて密度勾配遠心法で分離した。RPMI1640中にペニシリン (100IU/1), ストレプトマイシン (100  $\mu$ g/ml), L-グルタミン (2 mM) および加熱不活化した10%ウシ胎児血清 (FCS) を加えた培地にて培養した。

CD4 + T細胞および CD8 + T細胞の除去 : PBMC に、マウスモノクローナル抗体 OKT 4, OKT 8 を結合させ、ウサギ補体を加えて細胞を溶解させ、CD4 + T細胞除去 (suppressor-rich) PBMC, あるいは CD8 + T細胞除去 (helper-rich) PBMC とした。それぞれのTリンパ球サブセットは FITC 標識 OKT 4, OKT 8 で測定した。またB細胞は FITC 標識マウスモノクローナル抗体 B 1 で測定した。suppressor-rich PBMC における CD8 + T細胞, CD4 + T細胞, B細胞の割合はそれぞれ >80%, <10%, 14%であった。また, helper-rich PBMC における CD4 + T細胞, CD8 + T細胞, B細胞の割合はそれぞれ >85%, <2%, 12%であった。B細胞の数は患者群と対照群のあいだに有意な差はなかった。

培養 : PBMC, CD4 + T細胞除去 PBMC, および CD8 + T細胞除去 PBMC はそれぞれ前述の培地に懸濁し, 5%CO<sub>2</sub>, 湿度99%, 37°Cの条件下で培養した。それぞれ Pokeweed mitogen (PWM; 5  $\mu$ g/ml) 刺激下, Staphylococcus aureus Cowan I (SAC; 1 : 10000) 刺激下, あるいは無刺激下で7日間培養。培養上清を測定した。

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent Assay) による免疫グロブリンの測定 : 培養上清中の免疫グロブリンの濃度は, 精製ヤギ抗ヒト IgG, IgA, IgM とペルオキシダーゼ標識精製ヤギ F(ab')<sub>2</sub> 抗ヒト IgG, IgA, IgM をもちい, ELISA 法で測定した。

血清中の免疫グロブリンの測定 : 血清中の IgG, IgA, IgM の値はレーザ・ネフェロメトリーで測定した。

リンパ球サブセットの分析 : リンパ球サブセットは FITC 標識マウスモノクローナル抗体 OKT 3, OKT 4, OKT 8 および B 1 を用いてフローサイトメトリで分析した。Tリンパ球サブセットは FITC, あるいは PE 標識マウス抗ヒトモノクローナル抗体の組み合わせによる二色分析法で, Leu2a/Leu3a, Leu3a/Leu8, Leu2a/Leu15, Leu4/HLA-DR の4種類について FACS (Fluorescein Activated Cell Sorter) で分析した。

## 【結果】

血清中免疫グロブリン値 : 血清中 IgA 値は患者群  $381 \pm 157$  mg/dl 対照群  $211 \pm 51$  mg/dl と, 患者群が有意に高値を示した。

PBMC による免疫グロブリン産生 : Mitogen による刺激を受けた系も受けなかった系も, 患者群は対照群と比較して IgA 産生が有意に亢進していた。IgM については, SACによって刺激を受けた系において患者群は対照群と比較して産生が亢進していた。

CD4 + T細胞除去 (suppressor-rich) PBMCによる免疫グロブリン産生 : 刺激を受けた系も受け

なかった系も、患者群は対照群と比較して IgA 産生が有意に亢進していた。さらに、無刺激系および SAC によって刺激を受けた系で患者群は対照群と比較して IgG 産生が有意に亢進していた。

CD8 + T細胞除去 (helper-rich) PBMC による免疫グロブリン産生：刺激を受けた系も受けなかった系も、患者群は対照群と比較して IgA 産生が有意に亢進していた。さらに、無刺激系および SAC によって刺激を受けた系で患者群は対照群と比較して IgG 産生が有意に亢進していた。

リンパ球サブセット：OKT 3, OKT 4, OKT 8 及び B 1 の比率は、両群間に有意な差はなかった。

Tリンパ球サブセット：IgA 腎症患者群は対照群と比較して Leu3a + Leu8 + 細胞 (suppressor-inducer T細胞) が有意に減少していた。

### 【考察】

IgA 腎症は SLE, Henoch-Schönlein 紫斑病その他の全身疾患に伴うことなく糸球体メサンギウムに IgA 優位な免疫グロブリンの沈着を認めるのを特徴とする糸球体疾患で、多くは IgG, C<sub>3</sub> の沈着を伴っている。IgA 腎症の病因は未だ明らかでないが、免疫複合体病であると考えられている。IgA 腎症の進行を示唆する最も重要な臨床所見は持続する蛋白尿である。本研究においては、血尿の有無に関わりなく、蛋白尿が持続している症例について検討を加えた。

今回の IgA 腎疾患児における検討で、血清 IgA 値は対照群と比較して有意に高値であった。末梢血リンパ球の培養系においても、刺激の有無に拘らず、IgA 腎疾患児の PBMC は健康小児と比較して IgA の産生が有意に亢進していた。また、SAC によって刺激された系においては IgM の産生も有意に亢進していた。これらの結果は免疫グロブリンの産生亢進が IgA に限定されているわけではないことを示している。

IgA 特異的 suppressor T細胞減少の報告がある。本実験においては suppressor-rich PBMC では、刺激の有無に拘らず、患者群は対照群と比較して IgA 産生が亢進していた。さらに、IgG についても患者群は産生が亢進していた。suppressor T細胞の数は両群間に差はなかった。これらの結果、IgA 腎症患者においては suppressor T細胞の機能が低下している事が示され、またこの異常は IgA に特異的ではないことがわかった。

IgA 特異的 helper T細胞の活性亢進の報告もある。本実験においては helper-rich PBMC では、刺激の有無に拘らず、患者群は対照群と比較して IgA 産生が亢進していた。helper T細胞の数は両群間に差はなかった。さらに、IgG についても、刺激の有無に拘らず、患者群は対照群と比較して産生が亢進していた。これらの結果 IgA 腎症患者においては helper T細胞の機能が亢進している事が示され、またこの異常は IgA に特異的ではないことがわかった。

CD8 T細胞の減少および CD4 T細胞の増加にもとづく循環血液中 CD4 / CD8 比の増加が報告されている。今回のリンパ球サブセット分析では、CD3, CD4, CD8, CD4 / CD8 比および CD20 については、IgA 腎疾患児と対照群の間には有意な差はなかった。しかし FACS を使用した二色分析では suppressor-inducer T細胞が IgA 腎症患者において有意に減少していることがわかった。

以上より, suppressor-inducer T細胞の減少, suppressor T細胞の機能低下および helper T細胞の機能亢進が IgA 腎症患者における IgA の産生亢進をもたらし, それが IgA 腎症の進行に関わっていると考えられた。また suppressor T細胞の機能低下および helper T細胞の機能亢進は IgA 特異的ではなく, この非特異的な免疫グロブリン産生異常は IgA 腎症患者の糸球体メサンギウムへの IgG 等の沈着を説明しうると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

IgA 腎症は, 1969年に Berger よって初めて報告された糸球体疾患で, SLE, Henoch-Schönlein 紫斑病その他の全身疾患を伴うことなく糸球体メサンギウムに IgA 優位な免疫グロブリンの沈着を認めるものを特徴とし, その病因は未だ不明であるが, 免疫複合体病であると考えられる。成人の IgA 腎症患者においては  $1/2 \sim 1/3$  の症例で血清 IgA 値が高値であると言われている。申請者らのグループは小児 IgA 腎症患者においても血清 IgA 値が高値で, 患児末梢血単核球は健康小児の末梢血単核球に比し Mitogenによる刺激の有無に拘らず, IgA 産生が亢進しているという免疫学的異常の存在を見出ししている。

本研究は, 小児期 IgA 腎症において免疫グロブリン産生を制御するTリンパ球の機能, Tリンパ球サブセットの異常について検討し, 小児期 IgA 腎症の病因究明を目指したものである。研究方法として, 13名の小児 IgA 腎症患者および10名の年齢の一致した健康小児からそれぞれTリンパ球を分離し, さらにマウスモノクローナル抗体 OKT4または OKT8と反応させることにより, CD4 + T細胞を除去した Suppressor-rich 細胞系および CD8 + T細胞を除去した helper-rich 細胞系及び CD8 + T細胞を除去した helper-rich 細胞系を作成した。それぞれの細胞系で, Mitogen として Pokeweed mitogen (PWM) 及び Staphylococcus aureus Cowan I (SAC) を用いて免疫グロブリン産生能を調べるとともに, Tリンパ球サブセットを二色分析フローサイトメトリー法により検討している。

その結果, Suppressor-rich 細胞系, Helper-rich 細胞系いずれにおいても, 小児期 IgA 腎症患者では健康小児に比べ, IgA 及び IgG 産生能が亢進していること, リンパ球サブセットについては, Suppressor-inducer T細胞 (Leu3a+Leu8+) のみが有意に減少していることを明らかにした。Suppressor-inducer T細胞の減少, Suppressor T細胞の機能低下及び Helper T細胞の機能亢進が IgA 腎症患者における IgA 産生亢進をもたらす IgA 腎症の進行に関わっていることを示唆する成績と言える。

本研究は, 小児期 IgA 腎症の発症機序について免疫学的見地より研究したものであり, 従来ほとんど行われていない培養細胞系を用いて, 小児 IgA 腎症患者末梢血単核球の IgA 産生能亢進メカニズムについて重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって, 本研究者は, 医学博士の学位を得る資格があると認める。