

原発性免疫不全症における T 細胞サブセットの解析

今 野 多 助
峯 岸 正 好
今 泉 益 栄
土 屋 滋
(東北大学医学部小児科)

緒 言

原発性免疫不全症の病因はまだ十分解明されていないが、このなかには T 細胞の異常が免疫グロブリン産生障害に深くかかわっている場合もあることが示唆されている¹⁾²⁾。そこでわれわれはいくつかの原発性免疫不全症患児の末梢血リンパ球を用いて、T 細胞サブセットの表面マーカーと免疫グロブリン産生に対する調節機能について検討したので報告する。

症 例

対象とした症例は 10 例であり (表 1), うちわけは先天性無ガンマグロブリン血症男児 4 例 (うち 2 例は兄弟で X 染色体性と思われる), IgM 産生を伴う低ガンマグロブリン血症女児 2 例, 分類不能型低ガンマグロブリン血症女児 1 例, DiGeorge 症候群男児 1 例, T4⁺ T 細胞欠損症男児 1 例, 重症複合型免疫不全症男児 1 例である。

先天性無ガンマグロブリン血症の 4 例では膜表面に免疫グロブリンを保有する細胞は全く認められず, また血清中には IgG のみが僅かに認められるだけであった。IgM 産生を伴う低ガンマグロブリン血症では膜表面に μ -鎖を保有する細胞を認めるものの, その他の heavy 鎖は認められなかった。分類不能型低ガンマグロブリン血症では膜表面に μ -鎖と γ -鎖を保有する細胞を認めるものの, 血清中には IgG が僅かに認められるだけであった。DiGeorge 症候群および T4⁺ T 細胞欠損症では膜表面に免疫グロブリンを保有する細胞が認められた。重症複合型免疫不全症では μ -鎖を保有する細胞を認めたが, その他の heavy 鎖を保有する細胞は認められなかった。また血清中には IgG を僅かに認めるのみであった。

方 法³⁾⁴⁾

表面マーカーの検索にはモノクローナル抗体 OKT シリーズを用い, 細胞はヘパリン加末梢血より Ficoll-Paque 比重遠心法にて得た単核球を, 非特異的な蛍光陽性を除去する目的でセ

表1 Immunological Findings of Patients with Primary Immunodeficiency Diseases

Patients	Age (years)	Sex	Diagnosis	Lymphocyte count (/mm ³)	Lymphocyte subpopulation* (%)		Membrane immunoglobulins† (%)			Serum immunoglobulins (mg/dl)		B1 \ddagger (%)		
					EN	EAC _{hu}	μ	γ	α	IgM	IgG		IgA	
1. M. O.	4	M	Congenital agammaglobulinemia	3310	92	6	0	0	0	0	<40	94	<30	0
2. O. S.	12	M	Congenital agammaglobulinemia	1790	91	11	0	0	0	0	<40	165	<30	0
3. K. Ko.	6	M	Congenital (X-linked) agammaglobulinemia	5400	91	29	0	0	0	0	<40	53	<30	1
4. K. Y.	0	M	Congenital (X-linked) agammaglobulinemia	6400	88	13	0	0	0	0.1	<40	285	<30	0
5. C. J.	7	F	Hypogammaglobulinemia with IgM production	3150	77	23	4.5	0.2	0	0	56	21	<30	6
6. K. Ky.	17	F	Hypogammaglobulinemia with IgM production	2970	84	16	2.4	0	0	0	323	50	<30	9
7. O. H.	12	F	Common variable hypogammaglobulinemia	3070	76	26	6.2	14.8	0.1	0.1	<40	222	<30	13
8. W. G.	4	M	DiGeorge syndrome	5700	26	47	11.5	28.8	4.8	4.8	90	1040	132	ND
9. K. Ya.	0	M	Selective T cell deficiency	2890	59	35	2.9	1.7	0.5	0.5	79	3800	<30	ND
10. Y. A.	0	M	Severe combined immunodeficiency	4680	3	98	59	0	0	0	<40	232	<30	63

* EN, neuraminidase treated sheep erythrocytes; EAC_{hu}, IgM antibody-human complement coated sheep erythrocytes; the mean number of EN and EAC_{hu} rosette-forming cells from control subjects is 70.0 \pm 7.2% and 32.9 \pm 9.0%, respectively;

†, the mean percentage of sIg is 3.9% for IgM, 4.8% for IgG and 1.6% for IgA; μ , B1, B1 antigen 9.1 \pm 2.0% of peripheral blood mononuclear cells from normal individuals; ND, not done.

表2 T-cell Subsets and Functions in Patients with Primary Immunodeficiency Diseases

Patients	Lymphocyte count (mm ³)	Lymphocyte subpopulation		Blastogenesis by†			Skin tests‡	% among PBMC				Ratio	Ia-like	
		EN (%)	EAC ^{bn} (%)	PHA	ConA	PWM		OKT3	OKT4	OKT6	OKT8			OKT4
												OKT4	OKT6	
1. M. O.	3310	92	6	N	N	N	+	94	65	0	0	27	2.4	4
2. O. S.	1790	91	11	N	N	N	+	93	62	0	0	36	1.7	6
3. K. Ko.	5400	91	29	N	N	N	+	94	65	0	0	32	2.0	5
4. K. Y.	6400	90	13	N	N	N	ND	95	79	0	0	19	4.1	3
5. C. J.	3150	77	23	N	N	N	+	89	62	0	0	40	1.7	12
6. K. Ky.	2970	84	16	~1/2	~1/2	~1/2	-	94	62	0	0	40	1.5	13
7. O. H.	3070	76	26	N	N	N	+	89	57	0	0	36	1.6	16
8. W. G.	5700	26	47	~1/2	~1/2	~1/2	-	52	43	0	0	12	3.3	7
9. K. Ya.	2890	59	35	~0	~0	~0	-	52	1	0	0	53	0.02	ND
10. Y. A.	4680	3	98	~0	~0	~0	-	5	1	0	0	0	-	77

† N: normal uptake of ³H-thymidine : ~1/2, uptake of ³H-thymidine approximately half of that of control subjects : ~0, almost no response against mitogens ; §, skin tests for delayed-type hypersensitivity were performed against Candida, streptokinase/streptodornase, purified protein derivatives and dinitrochlorobenzene ; ND, not done.

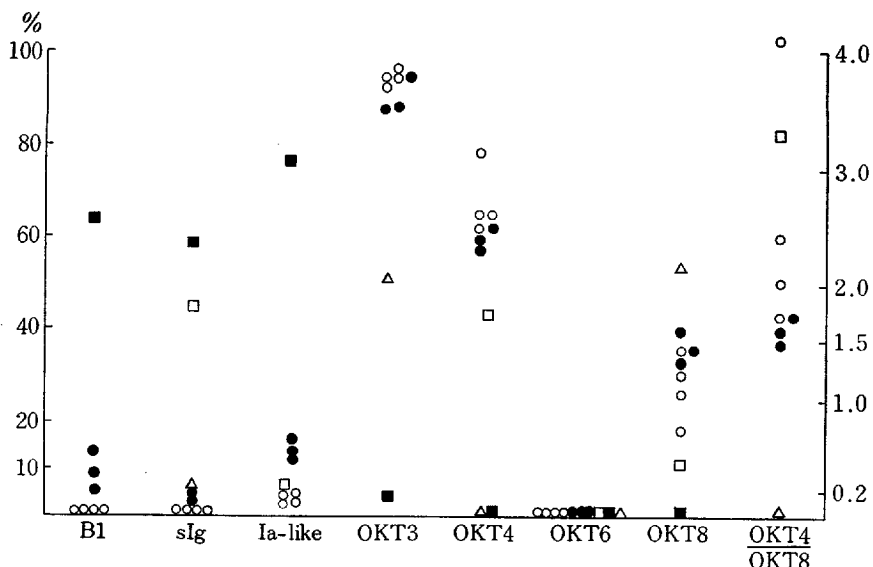


図4 Percentages of surface markers of peripheral lymphocytes from patients with Congenital agammaglobulinemia (○), Hypogammaglobulinemia (●), DiGeorge syndrome (□), Severe combined immunodeficiency (■), and Selective T cell deficiency (△), and their OKT4/OKT8 ratio

ファデックス G-10 カラムを通過させ、単球を除去したものをを用いた。結果はすべて2回以上検索することにより確認した。

in vitro における免疫グロブリン産生能の実験の際は、ヘパリン加末梢血より Ficoll-Paque 比重遠心法にて単核球を得、neuraminidase 処理羊赤血球ロゼット形成法により T cell-enriched fraction と B cell-enriched fraction とを得た。健康成人あるいは患児由来のT細胞とB細胞との間に種々の組み合わせをつくり、pokeweed mitogen 存在下に7日間培養し、上清中の免疫グロブリンを二抗体法による radioimmunoassay により定量した。抑制性T細胞の機能を除去したT細胞分画は mitomycin C (MMC) にて処理することにより得た。

結果及び考察 (表2, 図4)

表面マーカーによる4例の先天性無ガンマグロブリン血症のT細胞の分析の結果は、末梢血リンパ球の95%前後を OKT3⁺ T 細胞が占め、T細胞サブセットの分布は症例4を除き正常範囲にあった。すなわち症例1-3では OKT4/OKT8 比が2.0前後を示したのに対し、症例4では OKT8⁺ T 細胞の占める割合が低く、従って OKT4/OKT8 比も4.1と高値を示した。このことは患児がまだ生後8ヵ月という年齢を考え併せると、今後経時的にT細胞サブセットの変化を追跡するのも興味深いものがあるように思われた。またいずれの症例でも OKT6⁺ T 細胞は認められなかった。

IgM 産生を伴う低ガンマグロブリン血症の2例および分類不能型低ガンマグロブリン血症の1例においては OKT3⁺ T 細胞は末梢血リンパ球の90%前後を占め、OKT4/OKT8 比は正

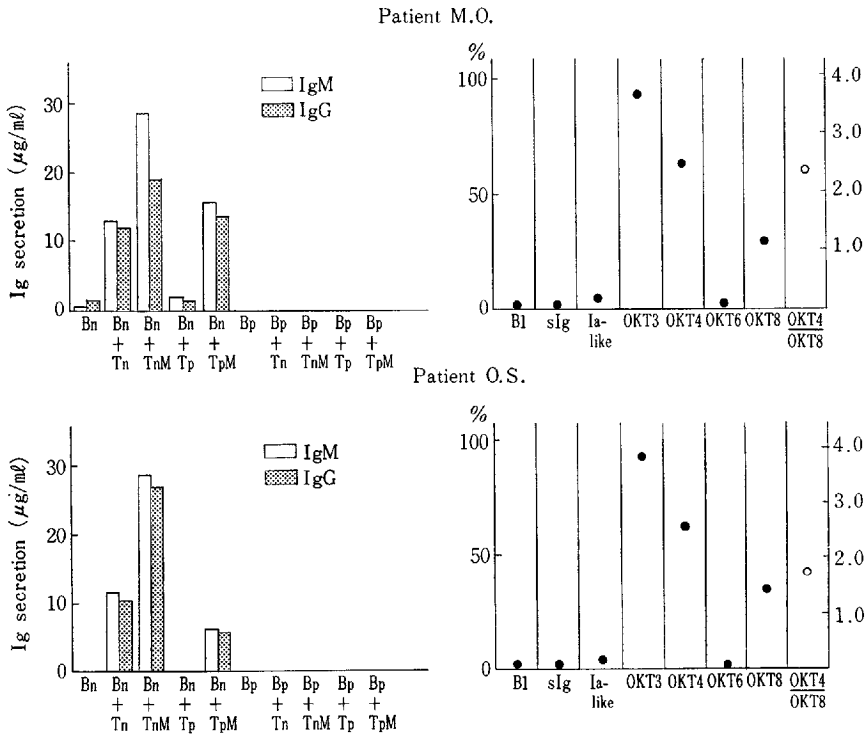


図1 Immunoglobulin production in vitro and surface markers of peripheral lymphocytes from patients with congenital agammaglobulinemia

常を示していた。いずれにおいても $OKT6^+$ T 細胞は認められなかった。

DiGeorge 症候群では表面マーカー上、T細胞サブセットのうち、 $OKT8^+$ T 細胞の低下がみられた点はこれまでの報告と一致する⁵⁾。またこのことはEロゼット形成細胞および芽球化反応の低下により裏付けられているが、皆無という訳ではなく、胸部X線写真上および開胸手術時に胸腺が認められないところから異所性胸腺の存在も予想される。 $OKT4^+$ および $OKT8^+$ T細胞の和がEロゼット形成細胞の比率を上回っているのは非特異的蛍光陽性細胞の除去が十分でなかったためと思われる。

$T4^+$ T細胞欠損症では $OKT3^+$ T細胞を52%認め、これとはほぼ同数に $OKT8^+$ T細胞を認めたが、 $OKT4^+$ T細胞は1%認められただけであった。 $OKT6^+$ T細胞は認められなかった。本症例ではレクチンに対する芽球化反応がほとんど認められなかったのに対し、Eロゼット形成細胞は59%認められた。

重症複合型免疫不全症ではT細胞サブセット表面マーカー陽性細胞がほとんど認められていないが、このことはEロゼット形成能、芽球化反応、および免疫グロブリン産生補助能(結果は示さず)が著明に低下していたことと一致する。 $OKT6^+$ T細胞も認められなかった。

次に先天性無ガンマグロブリン血症の4例とIgM産生を伴う低ガンマグロブリン血症の2例について、免疫グロブリン産生能の検討を行った。用いたT細胞、B細胞の組み合わせは10

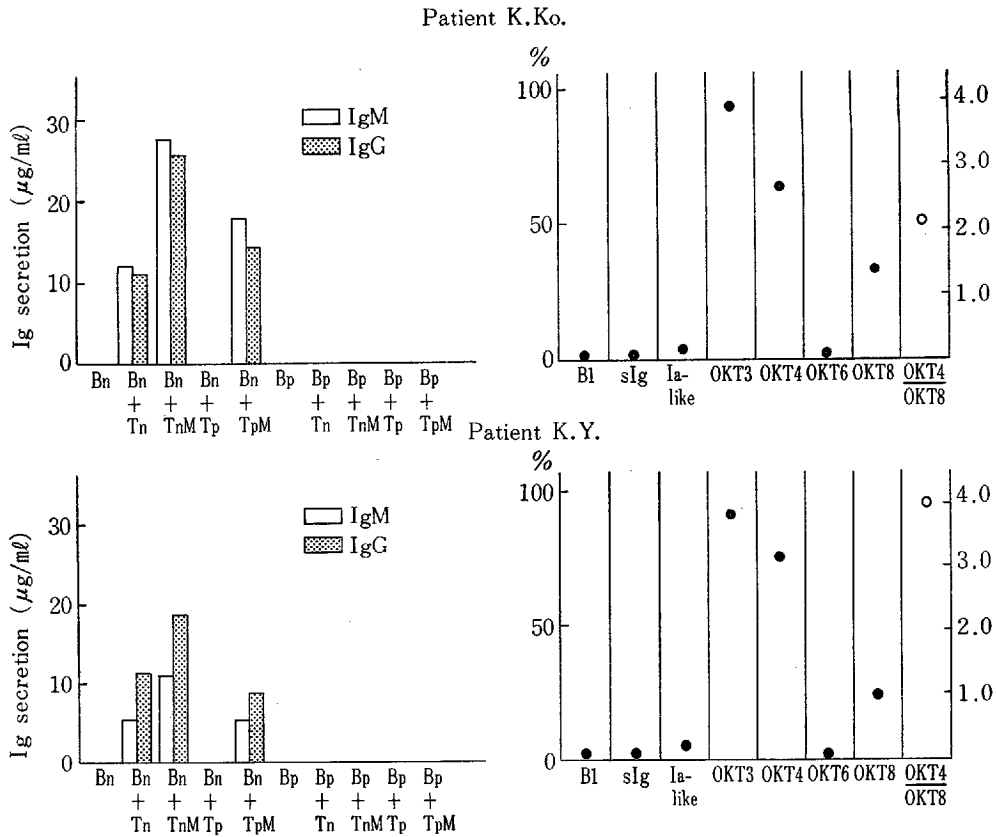


図2 免疫グロブリン産生 in vitro と表面マーカーの結果ととも患者 K.Ko. と K.Y. の先天性アガマグロブリン血症患者の末梢リンパ球

系あり、その結果を表面マーカーの結果とともに図1, 2, 3に示した。ここにBはB細胞、TはT細胞、これらにnを付したものは健康成人由来、pを付したものは患者由来の細胞をあらわし、また TnM, TpM は Tn, Tp を MMC 処理し、抑制性T細胞の機能を除去したT細胞分画を意味している。またグラフ上白抜き棒は IgM, 点描で示した棒は IgG 産生量を示している。患児由来のB細胞と患児由来のT細胞、あるいは MMC 処理したT細胞との組み合わせでは、ほとんど患児由来のB細胞は免疫グロブリン産生細胞に分化しない。しかし患児由来のT細胞は MMC 処理することにより健康成人由来のB細胞に対し、ほとんど健康成人由来のT細胞と同程度に免疫グロブリンの産生を行わせることができる。このことは先天性無ガンマグロブリン血症患児のT細胞が正常のEロゼット形成能および正常の芽球化反応を有することと併せて、本症におけるT細胞サブセットが正常の分布を有していることと一致している。

IgM 産生を伴う低ガンマグロブリン血症では患児由来のB細胞は、患児由来のT細胞との組み合わせにおいて、T細胞の MMC 処理の有無にかかわらず、IgM 免疫グロブリンの産生しか行わず、全く IgG の産生は認められない。しかし患児由来のT細胞は健康成人由来のB

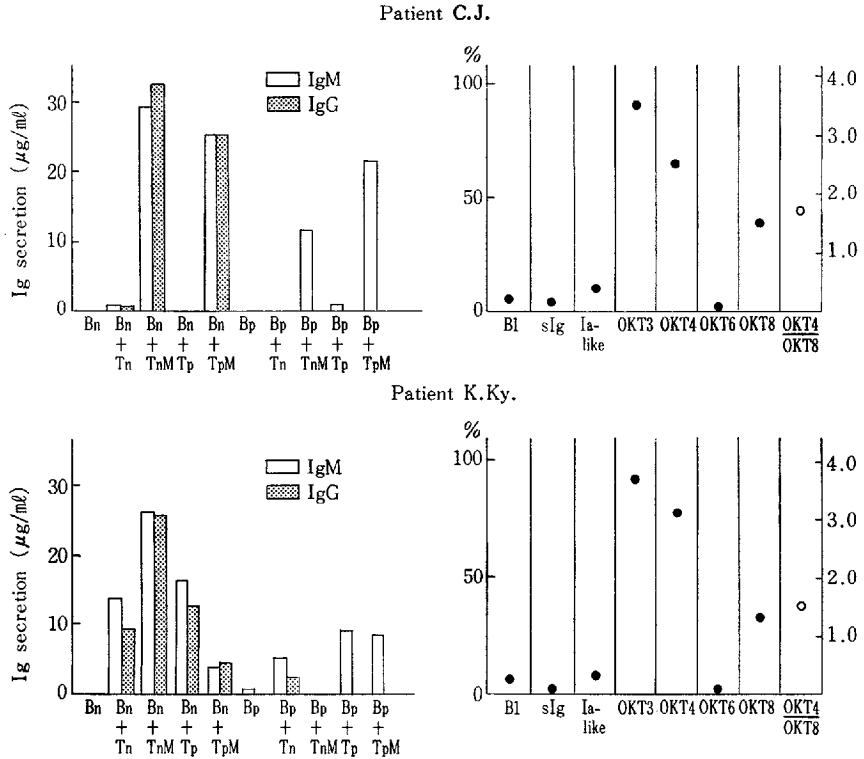


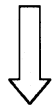
図3 Immunoglobulin production in vitro and surface markers of peripheral lymphocytes from patients with hypogammaglobulinemia with IgM production

細胞に対し、IgM および IgG の産生を健康成人由来のT細胞と同様に誘導することができ、本症の場合もT細胞サブセットの分布が正常のパターンを示していることと一致している。

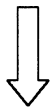
今回われわれはT細胞サブセットモノクローナル抗体パネルを用いて、種々の原発性免疫不全症におけるT細胞の解析を行った。このような検索が今後も積み重ねられることは、調節性T細胞のサブポピュレーションのアンバランスと免疫グロブリン産生障害とのかかわりを解明し、原発性免疫不全症の病因を知る上で種々の情報を与えてくれるものと思われた。

文 献

- 1) Phan-Dinh-Tuy, F. et al. : Scand. J. Immunol., **14** : 193, 1981.
- 2) Aiuti, F. et al. : J. Clin. Immunol., **2** : 81, 1982.
- 3) Siegal, F.P. et al. : New Engl. J. Med., **299** : 172, 1978.
- 4) Waldmann, T.A. et al. : Fed. Proc., **35** : 2067, 1976.
- 5) Reinherz, E.L. et al. : J. Clin. Invest., **68** : 699, 1981.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



緒言

原発性免疫不全症の病因はまだ十分解明されていないが、このなかにはT細胞の異常が免疫グロブリン産生障害に深くかかわっている場合もあることが示唆されている。そこでわれわれはいくつかの原発性免疫不全症患者の末梢血リンパ球を用いて、T細胞サブセットの表面マーカーと免疫グロブリン産生に対する調節機能について検討したので報告する。