

ネフローゼ症候群患児Tリンパ球由来血管透過性因子のラット腎に及ぼす影響

富 沢 滋 ・ 丸 山 健 一 ・ 島 袋 直 哉

群馬大学小児科

1. 序 言

われわれはネフローゼ症候群患児Tリンパ球の培養上清中に血管透過性因子(Vascular Permeability factor, 以下V P Fと略す)が存在することやその性状について既に報告した。¹⁾

しかし、このV P Fがネフローゼ症候群の原因となっているのか、あるいは一つの病態を反映している結果なのか現在のところ結論はえられていない。V P Fの腎に対する影響を検討したものは、わずかにBoulton Jones の報告がみられるのみである。²⁾

今回、われわれは、ネフローゼ症候群患児Tリンパ球由来V P Fのラット腎に及ぼす影響について検討を試みたので報告する。

2. 対象・方法

1) 対象とした患児(表1)

ネフローゼ症候群患児8例で、年齢は7才から15才で、男児4例、女児4例である。

初発あるいは再発の有無については、初発4例、再発4例であり、再発しているものについてはその回数は1回から10回であった。

治療としては全例ステロイドを使用しているが、再発のみられた4例で、cyclophosphamide、3例でchlorambucilを使用している。観察期間は10カ月から7年6カ月までである。

2) 方 法

a) Tリンパ球培養上清の作成

上記8例の患児のネフローゼ症候群診断基準を満たした状態で、ステロイド使用開始前に末梢血を採取した。採取した患児末梢血よりFi-

col-conray gradient technique を用いて、単核球を分離し、さらにE-rosette沈降法にてT-cell rich fractionを得た。これを10% FCSを加えたRPMI 1640にて 1×10^6 個/mlに調整し、Con-Aを10 μ g加えた。培養はCO₂ incubator で24時間行なった。各々の培養上清は遠心分離した後-80℃に保存した。

b) 培養上清のラット腎動脈への灌流

雄の正常ウイスター系ラット(体重450~600g)を用いて実験した。麻酔にはペントバルビタールを用い、体重100gあたり5mgを腹腔内に注射した。麻酔後、大腿静脈にPE-50を挿入し、10ml/hの速度で生理食塩水の注入を開始した。さらに、腹部に正中切開を加え、両側尿管及び左腎動脈を露出した。尿採取のため両側尿管にはPE-10を挿入した。次いで、左腎動脈を30ゲージ針にて穿刺し、15ml/hの速度で培養上清及び対照液の灌流を開始した。対照液としては生理食塩水及び10% FCS加RPMI 1640を用い、腎動脈への灌流は生食、RPMI、培養上清、生食の順とした。尿の採取は腎動脈穿刺後30分経過した時点より開始し、以後30分毎に採取した。採取した尿は尿量測定後、尿蛋白量をturbidimetric trichloracetic acid法にて測定した。

3. 成 績

前述の8例のリンパ球培養上清について検討した結果、症例3、5、6および7の4例において培養上清注入時に尿蛋白の軽度増加がみられた。これら尿蛋白の増加がみられた4例中3

例は初発例であった。

次に、尿蛋白の増加がみられた再発性1例と初発例2例および尿蛋白の増加がみられなかった再発例について臨床経過と実験結果について説明する。

症例3 (N.K.)は13才女児で、初発は5才時で10回に及ぶ頻回再発型であり、免疫抑制剤(endoxan, leukeran)の併用で、寛解期間がわずかに延長したが、1年以上の寛解はない。再発時 hypovolemic shock をよく起こす。また、ステロイドの副作用で精神症状を起こした。

本症例の再発時のTリンパ球培養上清をラット左腎動脈より注入した(図1)。

その結果、対照液である生食、RPMIを注入した際の尿蛋白は左尿管尿で $500\mu g/30\text{min}$ 、右尿管尿で $600\mu g/30\text{min}$ であったものが、培養上清(VPF)を注入した際には、左尿管尿で $800\mu g/30\text{min}$ 、右尿管尿で約 $900\mu g/30\text{min}$ 、と各々1.5~1.6倍の尿蛋白排出の増加が認められた。

症例6 (N.N.)は7才の男児で初発例である。初回ステロイドによる治療後10カ月間寛解中である。本症例の初発時のTリンパ球培養上清をラット左腎動脈より注入した(図2)。

その結果、初回生食を注入した際の尿蛋白は左尿管尿で $500\mu g/30\text{min}$ 、から $650\mu g/30\text{min}$ 、と軽度増加したが、その後のRPMI、生食の注入により減少し、 $300\sim 400\mu g/30\text{min}$ 、と安定した。

その後培養上清を注入したところ、尿蛋白は $900\mu g/30\text{min}$ と2倍以上の増加が認められた。本例ではラット右尿管カテーテルが不成功であったため、左尿管尿の尿蛋白の変動のみを示した。

症例7 (S.Y.)は9才の男児で初発例である。初回ステロイドによる治療後9カ月間寛解中である。本症例の初発時のTリンパ球培養上清をラット左腎動脈より注入した(図3)。

その結果、RPMI注入時には左尿管尿での蛋

白尿は $700\mu g/30\text{min}$ 、であったものが、培養上清注入時には約 $900\mu g/30\text{min}$ 、と軽度の増加がみられた。本例でも右尿管カテーテルが不成功であったので、左尿管尿の尿蛋白の変動のみを示した。

症例4 (T.H.)は15才の女児で、初発は13才時で、頻回再発型である。免疫抑制剤(endoxan)の併用により1年間の寛解がえられたが、その後再発した。本症例の再発時のTリンパ球培養上清をラット左腎動脈より注入した(図4)。その結果、生食、RPMI、培養上清のいずれの注入においても、左右の尿管尿で蛋白尿は $250\sim 400\mu g/30\text{min}$ 、の範囲内であり、培養上清の注入による蛋白尿の増加はみられなかった。

図5は8例のネフローゼ症候群患児Tリンパ球培養上清ならびに生食、RPMI培養液を用いたラット腎動脈への灌流実験の結果をまとめたものである。左腎より排出された左尿管尿蛋白の平均値は各々、生食、RPMI、VPF、生食の順で、420.0、445.0、551.3、435.7 $\mu g/30\text{min}$ 、とVPF注入時で尿蛋白の増加がみられた。右腎より排出された右尿管尿蛋白の平均値は各々、生食、RPMI、VPF、生食で459.2、460.8、511.7、436.9とVPFで軽度増加がみられた。

しかし、左右尿管尿蛋白ともVPF注入時には生食やRPMIなどの対照群と比較して統計学的に有意の増加は認められなかった。

4. 考 察

Lagruéの報告以来、ネフローゼ症候群患児のリンパ球培養上清中にVPFが含まれることは衆知の事実である。しかし、VPFの証明はモルモットの皮膚を用いたassayであり、糸球体基底膜に及ぼす影響については不明である。Boulton jones がラットの大動脈よりPE-50を挿入し両側腎動脈にネフローゼ症候群患者リンパ球培養上清を注入し、足突起の癒合および糸球体基底膜の陰性荷電の減少を初めて報

告したが、尿蛋白量との関連については一切ふれていない。われわれは、今回、ネフローゼ症候群患児Tリンパ球培養上清を用いてラット腎動脈灌流実験を行い、尿蛋白排出について検討し、8例中4例に尿蛋白の軽度増加をみたが有意ではなかった。Boulton Jonesの方法では、培養上清の3~6 mlを90mmHgの圧で注入しているが、注入の時間については明らかでない。われわれの実験では、ラットのRPFになるべく影響を与えないという目的で1.5ml/hrの注入速度を設定したが、これはラットのRPFに対して少なすぎたため、腎局所においてVPFの活性が十分に発揮されなかったことも考えられる。

尿採取の方法および培養上清の注入速度、量などを再検討する必要があると思われる。

今後改良を重ね、本研究を進める予定である。

5. 結 論

8例のネフローゼ症候群患児Tリンパ球培養上清をラット腎動脈に注入し、尿蛋白排出について検討した。その結果4例に軽度の尿蛋白の増加をみたが、統計学的には有意差はみられなかった。

6. 参考文献

- 1) Tomizawa, S.; Maruyama, K.; Nagasawa, S.; Suzuki, S.; Kuroume, T.: Studies of vascular permeability factor derived from T lymphocytes and inhibitory effect of plasma on its production in minimal change nephrotic syndrome. *Nephron* 41: 157-160, 1985.
- 2) Boulton Jones, J.M.; Tulloch, I.; Dore, B.; McIlroy, A.: Changes in the glomerular capillary wall induced by lymphocytes products and serum of nephrotic patients. *Clin. Nephrol.* 20: 72-77, 1983.
- 3) Lagrue, G.; Xheneumont, S.; Branallec, A.; Hirbec, G.; Weil, B.A.: Vascular permeability factor elaborated from lymphocytes. I. Demonstration in patients with nephrotic syndrome. *Biomedicine* 23: 37-40, 1975.

表 1 対象患児

症例	年齢	性	再発回数	免疫抑制剤の使用	観察期間
1. Y.O.	7y	M	初発	(-)	1年6ヵ月
2. A.Y.	12y	F	再発	2 Endoxan Leukeran	5年4ヵ月
3. N.K.	13y	F	再発	10 Endoxan Leukeran	7年6ヵ月
4. T.H.	15y	F	再発	1 Endoxan	2年3ヵ月
5. T.V.	9y	F	初発	(-)	1年
6. N.N.	7y	M	初発	(-)	10ヵ月
7. S.Y.	9y	M	初発	(-)	11ヵ月
8. M.T.	12y	M	再発	3 Endoxan Leukeran	4年10ヵ月

図 3

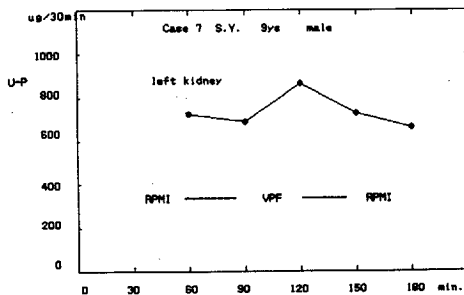


図 1

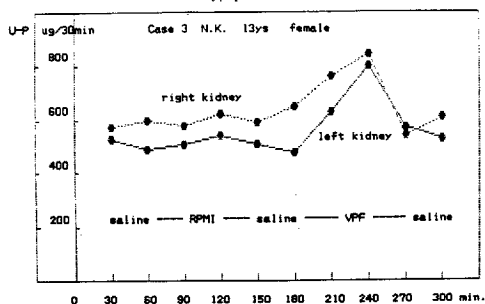


図 4

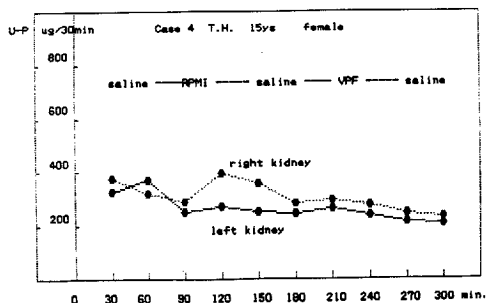
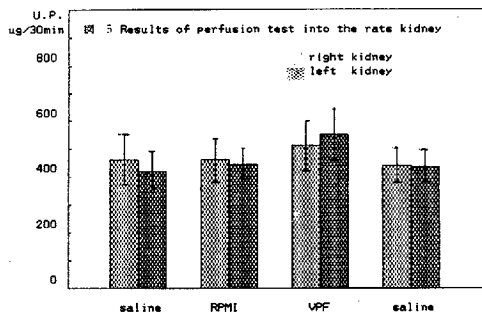
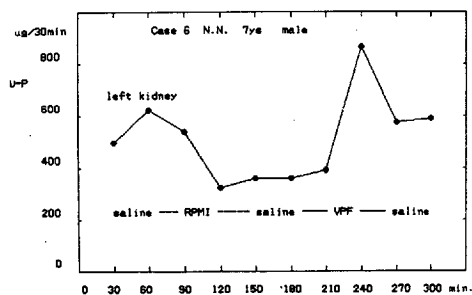


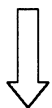
図 2





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



5. 結論

8 例のネフローゼ症候群患児 T リンパ球培養上清をラット腎動脈に注入し、尿蛋白排出について検討した。その結果 4 例に軽度の尿蛋白の増加をみたが、統計学的には有意差はみられなかった。