

2. JRA と SLE における免疫学的検討

— Two color analysis と免疫グロブリン産生能 —

研究協力者 藪内百治*
共同研究者 河敬世*
土居悟*

〔目 的〕

JRA や SLE などの自己免疫疾患では、多様な免疫学的異常が根底にあり、その結果としてリウマチ因子や抗核抗体などが出現してくる。免疫学的恒常性は、異なった細胞間、とりわけ T 細胞によって調節されており、JRA や SLE では、その疾患に特異的ではないにしろ、T 細胞サブセットの異常が報告されている¹⁾。今回私達は 2 色蛍光抗体法を用いて、T 細胞のうち suppressor inducer 細胞の割合の異常が認められるかどうか、また HLR-DR と interleukin-2 receptor を用い、T 細胞の活性化が in vivo ですでおこっているかどうか検索した。

また、B 細胞に関しても、SLE では活性化がおこっていると報告されているが²⁾、JRA でも同様な活性化がみられるかどうか、免疫グロブリン産生能をみることにより検討することを目的とした。

〔対象および方法〕

JRA 7 例および SLE 3 例を対象とした (表 1)。末梢血単核球 (PBMC) は Ficoll-Hypaque 比重遠心法を用いてヘパリン加静脈血より得た。PBMC の表面形質分析は、表 2 に示すモノクローナル抗体を用い、2 色蛍光抗体法によった。フローサイトメーターとしては FACS IV を 488 nm のアルゴンイオンレーザーで使用し、 3×10^4 個計測して得られた蛍光強度は横軸は FITC、縦軸は PE (Phycoerythrin) によるものとし、等高線

表示した。

また、PBMC の芽球化反応は PHA-P ($1 \mu\text{l}$ /ml), ConA ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$), Staphylococcus aureus Cowan 1 株 (Cowan 1) (0.001%) を用い、培養 3 日目に [^3H] TdR のとりこみで測定した。免疫グロブリン産生細胞 (ISC) の測定は、Protein A-SRBC を用いた reverse plaque assay により、plaque-forming cells (PFC) を算出した。

〔結 果〕

1. 2 色蛍光抗体法による表面形質分析

図 1 は Leu 4-PE と Leu 12-FITC による 2 色染色の例を示しており、82.89% が Leu 4 のみに陽性、10.64% が Leu 12 のみに陽性であり、Leu 4 と Leu 12 とが同時に陽性のものは 0.27% とほとんどない。図 2 の例では、Leu 3-PE のみに陽性が 1.54%、Leu 8-FITC のみに陽性が 41.31%、Leu 3 および Leu 8 に陽性のものは 51.07% であり、 $\text{Leu } 8^+ \text{ Leu } 3^+ / \text{Leu } 3^+ = 51.07 / 51.07 + 1.54$ で、Leu 3⁺ のうち 97% が同時に Leu 8⁺ であることが分かる。

このようにして表面形質を分析すると、図 3 のように、JRA の 7 例では Leu 3⁺、Leu 2⁺ の割合は正常コントロールに比べて大きな変化はないものの、Leu 3⁺/Leu 2⁺ ratio は、1 以下のものから 2 以上のものまで、ばらつきがみられた。SLE の 3 例では Leu 3⁺/Leu 2⁺ ratio はいずれも 1 以下であった。次に、これらの症例の Leu 8⁺ Leu 3⁺/Leu 3⁺ (%) を、2 色蛍光抗体法で測定すると、JRA で 1 例、SLE で 1 例ではあるが、著しい低下を示すものがあつた (図 4)。Leu 3⁺ Leu 8⁺ 細胞は、suppressor inducer 細胞をあら

* 大阪大学医学部小児科学教室

表1 対象症例およびその臨床的事項

Patient	Diagnosis	Age (Y)	Sex	Period (M)	Steroid	Active phase	RA
1	JRA	11	M	9		+	+
2	JRA	9	F	23	+		+
3	JRA	17	M	156	+		
4	JRA	11	M	18	+	+	+
5	JRA	16	M	15			
6	JRA	12	M	96	+	+	
7	JRA	3	F	32	+	+	
8	SLE	17	F	120			
9	SLE	12	F	56	+	+	
10	SLE	16	F	32	+	+	

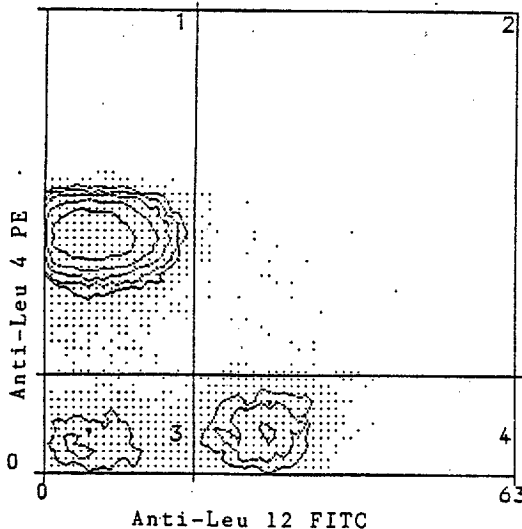
表2 Monoclonal Antibody

PE (Phycoerythrin)	FITC
Leu4 (mature T)	Leu12 (B)
Leu3a (inducer/helper subset)	Leu8 (regulatory subset)
Leu2a (suppressor/cytotoxic subset)	HLA-DR
	Interleukin-2 Receptor

Leu3a(+) Leu8(-) helper

Leu3a(+) Leu8(+) suppressor inducer

53



No. of Cells

- 10
- 20
- 40
- 80
- 160

- P(1) = 82.89 %
- P(2) = 0.27 %
- P(3) = 6.21 %
- P(4) = 10.64 %

図1 抗 Leu 12 FITC, 抗 Leu 4 PE による2色染色

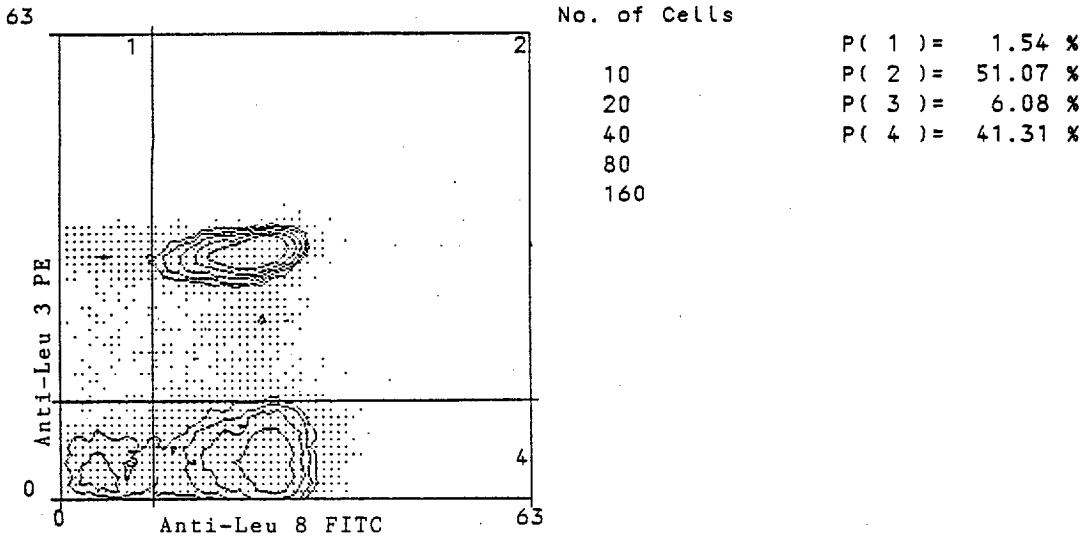


図2 抗 Leu 8 FITC, 抗 Leu 3 PE による2色染色

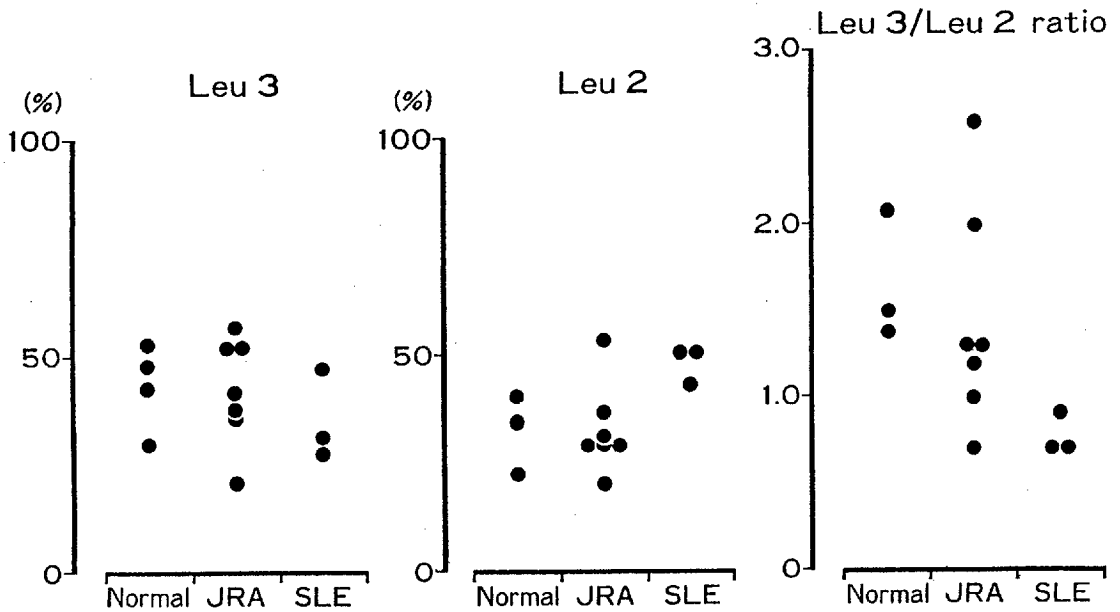


図3 Tcell subsets in JRA and SLE

わすと言われており、JRA と SLE では、suppressor inducer 細胞の割合の低下をきたす症例があることが示唆された。なお、Leu 3⁺ または Leu 2⁺ であり、かつ HLA-DR⁺ または Interleukin-2 Receptor⁺ である細胞の増加はみられなかった。

2. 免疫グロブリン産生能

JRA の4例で、PBMC の芽球化反応を PHA-P, Con A, Cowan1 を用いて検索したところ、図5のように大きく低下している症例はなかった。次に、JRA の5例で、免疫グロブリン産生能を検索した。PBMC を PWM (0.25%) と Cowan

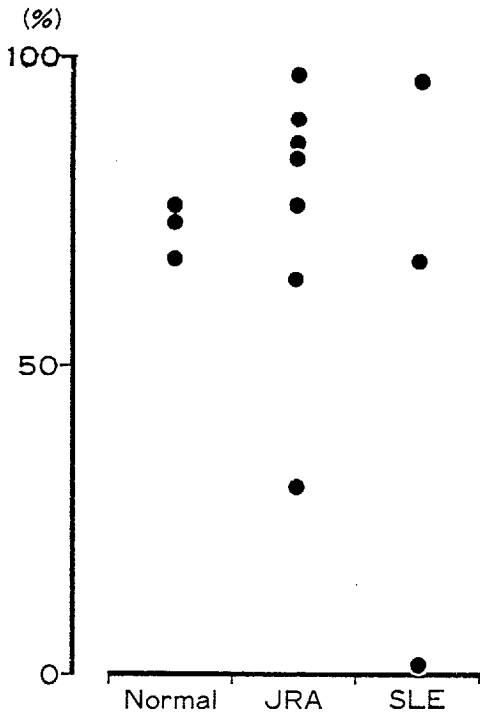


図4 JRA および SLE における
Leu 8⁺ Leu 3⁺/Leu 3⁺

1 (0.001%) とともに 6 日間培養し、産生してきた免疫グロブリン産生細胞 (ISC) を reverse plaque assay で産出したところ、図 6 のように IgM, IgG, IgA とも低下傾向がみられた。この 5 例の PBMC の分離直後の免疫グロブリン産生細胞 (spontaneous ISC) は図 7 に示すように、IgM-SC は、増加していなかったが、IgG-SC, IgA-SC は 1 例のみであるが、やや高値を示す症例が認められた。

[考 按]

T 細胞サブセット、Leu 3⁺、Leu 2⁺ 細胞の割合は、それ自体では SLE, JRA に特異的ではないと考えられるが、Leu 8 モノクローナル抗体と 2 色染色することにより、suppressor inducer 細胞は、まず Leu 8⁺ Leu 3⁺ 細胞としてとらえてよいと考えられる³⁾。Leu 8⁺ Leu 3⁺/Leu 3⁺ の百分率は、JRA 1 例、SLE 1 例で大きく低下しており、この suppressor inducer 細胞の割合の低下が、自己免疫疾患の発病および病態と何らか

の関係があるかどうか、今後症例を重ねて明らかにしてゆきたい。

また、HLA-DR 陽性 T 細胞や interleukin-2 receptor 陽性細胞の増加が、原発性免疫不全症や再生不良性貧血の PBMC に無刺激で時としてみられることが報告されている⁴⁾。これは、T 細胞の in vivo での活性化がすでにおこっているためと考えられるが、今回の私達の症例では、T 細胞での HLA-DR や interleukin-2 receptor の発現の増加はみられなかった。

次に、JRA 患者 PBMC の芽球化反応は、T 細胞マイトーゲンとして PHA-P と Con A, B 細胞マイトーゲンとして Cowan 1 を用いて検討したが、大きな異常は認められなかった。免疫グロブリン産生能は、PWM と Cowan 1 とともに 6 日間培養し、免疫グロブリン産生細胞を求めたところ、JRA 患者では、IgM, IgG, IgA とも低下していた。B 細胞マイトーゲン Cowan 1 に対する分裂は低下していなかったため、このことが、B 細胞の免疫グロブリン産生細胞への分化能の低下を示唆するものかどうかに関しては、今回は PBMC での検討であり、今後 B 細胞を精製し、Cowan 1 とリンパ球分化因子による実験で検討する必要があると思われる。

また、PBMC の分離直後の免疫グロブリン産生細胞 (spontaneous ISC) の増加は、活性化された B 細胞の増加を表すと言われており、SLE で、spontaneous ISC が増加することはすでに報告されている。今回の JRA 5 例の検討では、わずか 1 例ではあるが、IgM-SC は増加しないものの、IgG-SC, IgA-SC の軽度増加を示す症例がみられた。この症例の病状が活動期にあることを考えると、JAR の場合に関節局所のみならず、末梢血においても B 細胞の活性化がおこっている可能性があり、興味を持たれる。

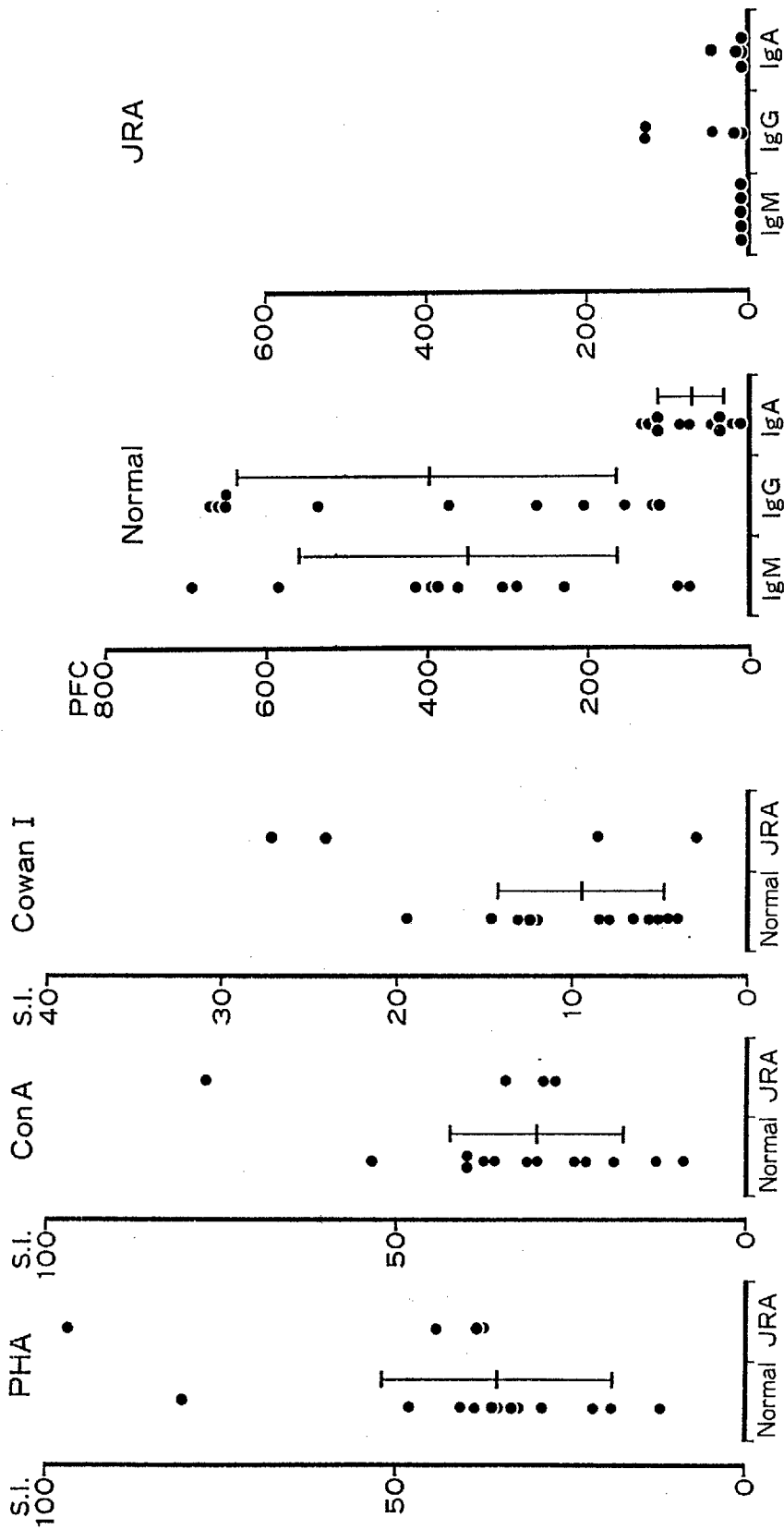


Figure 5 Proliferative Response to Mitogens
 PBMC were stimulated and proliferative responses were assayed by [³H] TdR incorporation on day 3 of culture.
 S.I.=stimulation index

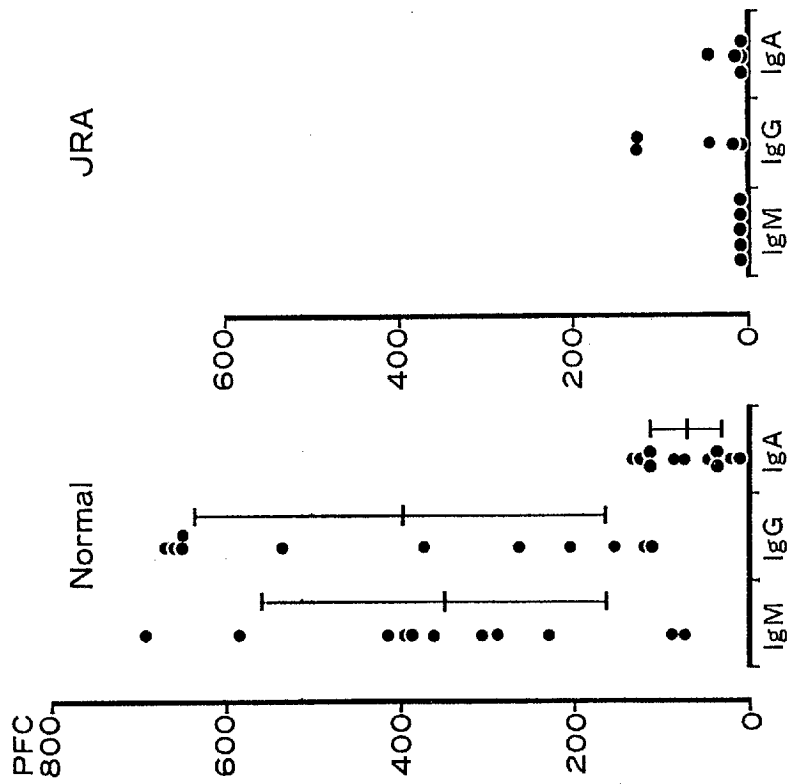
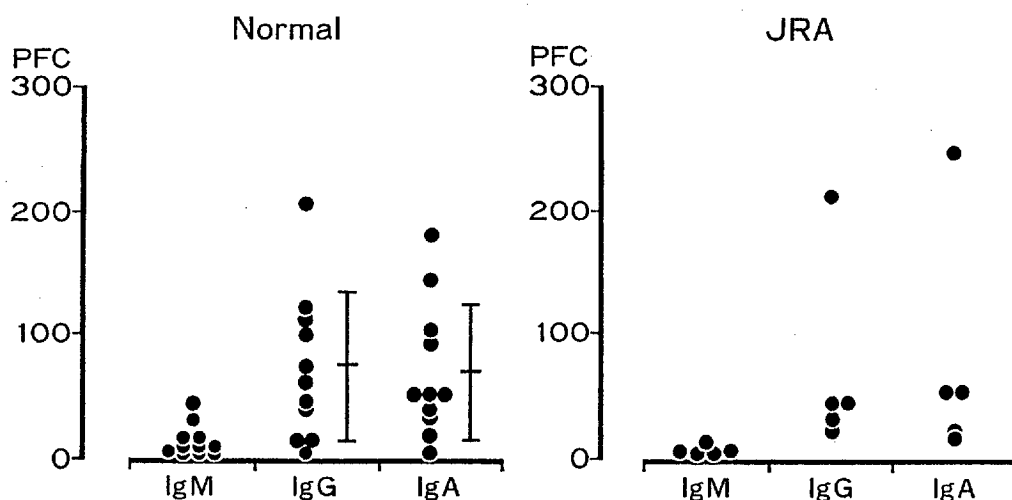


Figure 6 Induction of ISC in JRA
 PBMC were stimulated by PWM plus Cowan I and ISC were detected by reverse plaque assay on day 6 of culture (ISC/2X10⁴ initial PBMC).



Spontaneous IgM-, IgG-, and IgA-SC from 5 JRA patients and 11 normals were detected immediately after cell separation by reverse plaque assay (ISC/10⁵ initial PBMC).

図7 Spontaneous ISC in JRA

§ 文献

- 1) 森本幾夫：ヒト免疫異常疾患におけるT細胞サブセット—モノクローナル抗体による解析—。
Immunohaematology, 4: 165, 1982.
- 2) Saiki, O. et al: Spontaneous immunoglobulin A secretion and lack of mitogenresponsive B cells in systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.*, 76: 1865, 1985.
- 3) Lanier, L. L. et al: Correlation of functional properties of human lymphoid cell subsets and surface marker phenotypes using multiparameter analysis and flow cytometry. *Immunological Rev.*, 74: 143, 1983.
- 4) Gupta, S.: Study of activated T cells in man. *Scand. J. Immunol.*, 19: 465, 1984.
- 5) Zoumbos, N. C.: Circulating activated suppressor T lymphocytes in aplastic anemia. *N. Engl. J. Med.*, 312: 257, 1985.



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



〔目的〕

JRA や SLE などの自己免疫疾患では,多様な免疫学的異常が根底にあり,その結果としてリウマチ因子や抗核抗体などが出現してくる。免疫学的恒常性は,異なった細胞間,とりわけ T 細胞によって調節されており,JRA や SLE では,その疾患に特異的ではないにしろ,T 細胞サブセットの異常が報告されている 1)。今回私達は 2 色蛍光抗体法を用いて,T 細胞のうち suppressor inducer 細胞の割合の異常が認められるかどうか,また HLR-DR と interleukin-2receptor を用い,T 細胞の活性化が in vivo ですでおこっているかどうか検索した。

また,B 細胞に関しても,SLE では活性化がおこっていると報告されているが 2),JRA でも同様な活性化がみられるかどうか,免疫、グロブリン産生能をみることにより検討することを目的とした。