

ステロイド剤依存性・抵抗性ネフローゼ症候群患児リンパ球の subset 別機能と好中球機能に関する研究

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究

ステロイド剤抵抗性ネフローゼ症候群に関する研究

清水 凡生* 森 美喜夫, 浜崎 隆, 坂野 堯**

ステロイド剤依存性, および抵抗性のネフローゼ症候群患児リンパ球の PHA, PWM, ConA に対する反応を T 4, T 8, B 7 各細胞別に検討した。その結果いずれの subset についても機能不全が認められ, 細胞相互作用についても, 協調系, 抑制系ともに障害されている。しかし, その本態は, 主として B 細胞機能不全によることが示唆された。好中球機能には著しい異常を認めなかった。これら症例の治療には免疫賦活を目的とすべきであると考えられる。

subset blastogenesis cyclophosphamide

序言

ネフローゼ症候群の発症にリンパ球機能の変容が大きく関係していることは, 現在では広く認められるようになってきている。しかし, その詳細については未だ議論のあるところである。また, 変容の認められる subset や障害されている subset 間の相互作用などは明らかでなく, 発症に直接関与する機構についても不明である。我々はリンパ球の免疫グロブリン産生能, 抑制性 T 細胞機能, PHA, PWM, ConA などに対する反応性などをステロイド剤反応性症例における病像の推移に伴う変動とステロイド剤依存性症例におけるこれらのリンパ球機能の特性を比較し, ステロイド剤依存性症例のリンパ球機能はステロイド剤反応性症例における完全寛解後期へ導入された時点におけるものに相当し, 機能の不完全回復期にあり完全回復が障害されているものであることを示唆した。

今回は, 我々が独自に開発した各種 mitogen に対するリンパ球 subset 別反応測定値により, 種々のタイプ, 時期のネフローゼ症候群患児リンパ球機能を検討した。また, 免疫能のなかでリンパ球と並んで重要と考えられる好中球機能についても遊走能, 喰食能の面から検討した。

ステロイド剤依存性症例に対する治療につい

て我々は Cyclophosphamide 少量, 長期投与を提唱しているが, この治療法とリンパ球機能との関係についてもいささか考察を加えた。

研究方法

リンパ球の subset 別機能については図 1 に示すように末梢単核細胞を分離し, PHA, PWM, ConA とともに培養した。PHA については培養 4 日目, PWM, ConA については培養 6 日目に細胞を回収し, 遠沈洗浄後再度培養液に浮遊して OKT 4, OKT 8, OKB 7 抗血清を用いて 4℃で 30 分間感作した。これにウサギ補体を加え 37℃で 30 分間作用させた後 Greiner plate の well に細胞浮遊液を分注し, E thidium Bromide を含んだ quenching 液を注入後顕微蛍光分光光度計でその蛍光量を測定したい。

抗血清を作用させない細胞浮遊液の示す蛍光量を抗血清添加細胞の示す蛍光量から減じ, 抗血清によって死亡した細胞数を相対的に求めた。その数値を各 mitogen について添加培養細胞の値を無添加培養細胞の値で除してそれぞれの反応指数 (R.I.) とした。

好中球機能は分離した好中球について Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine に対する遊走能及び Opsonized zymosan による科学発光を用

* 広島大学幼児保健学教室 Bommi Shimizu, Hiroshima Univ., Dept. of Child Health

** 広島大学小児科学教室 Mikio Mori, Takashi Hamasaki, Takashi Sakano, Hiroshima Univ.

図1 STUDY PROCEDURE

cells, cultured with none
PHA
PWM
Con A

cells, harvested
incubated with none monoclonal antibody
OKT4
OKT8
OKB7
at 4°C, for 30 min.
complement, added and incubated at 37°C
shaking for 30 min.
aliquots of cell suspension, dispensed in wells
stained with Ethidium Bromide
quenching solution, added
fluorescence, measured on a fluorescence microscope

表1 RESPONSE TO PHA AT DIFFERENT SUBSETS (R.I.)

CASE	OKT4	OKT8	OKB7	
Control	1	1.17	8.00	10.25
	2	9.71	3.24	9.40
Active	3	1.67	4.55	62.40
Remitted	4	1.15	2.56	2.57
	5	1.53	1.94	3.19
	6	3.24	3.88	5.32
St. Depend.	7	1.14	0.96	0.73
	8	1.52	1.06	2.03
	9	1.71	2.95	1.30
St. Resist.	10	1.54	0.43	0.16
	11	2.74	0.72	0.43

いて測定した。

結果

subset 別のリンパ球機能について PHA, PWM, ConA に対する反応をそれぞれ表 1, 2, 3 に示した。症例 1, 2 が正常対照, 3 が活動期, 4~6 が寛解期の症例で, 7~9 がステロイド剤依存性, 10, 11 がステロイド剤抵抗性症例である。

PHA に対する反応としては対照例で T4, T8 細胞の反応とともに B7 細胞の反応もみられるが, ステロイド剤依存性, 抵抗性症例では B7 細胞の反応が著しく低い。また, ステロイド剤抵

抗性症例と依存性症例の一部に T8 細胞の反応低下が認められる。PWM に対する反応は主として B7 細胞にみられるが, ステロイド剤依存性及び抵抗性症例ともに反応が著しく低い。ConA は正常対照では T8 細胞を反応させる。B7 細胞は殆ど反応せず, T4 細胞は添加培養によってかえって減少する。ステロイド剤依存性, 抵抗性症例では T8 細胞の反応はみられるが, B7 細胞も反応している点特徴的である。

好中球機能は測定結果を表 4, 5 に示した。症例 4 がステロイド剤抵抗性, 他が依存性症例である。抵抗性症例はカクテル療法を含むすべての治療に反応せず, CAPD のみを行っている症例であるが, 低アルブミン血症が持続している。依存性症例はすべてプレドニンを投与中で, 症例 1 には Cyclophosphamide を併用している。ステロイド剤抵抗性症例を除いてすべてその機能は正常範囲にある。

考察

すでに述べたように, ネフローゼ症候群の発症とリンパ球機能の変容が密接な関係にあることは多くの研究者によって認められているところであるが, 変容リンパ球の subset, 障害されている細胞相互作用などについては十分明らかでない。また, 報告によって差のある部分もあり, 機能変容の本態についても研究者によって意見の異なるところである。特に mitogen に対する反応についての結果やその解釈に一致をみない点が多かったが, subset 別の反応を測定することによって, この問題はかなり解決できたと思われる。

PHAはT細胞mitogenと考えられているが、今回の成績からB細胞の反応も大きいことが知られた。T細胞の協調機能を介しての反応と考えられるが、ステロイド剤依存性、抵抗性症例では、この系の機能低下が認められる。T4細胞の反応がほぼ正常であることを考えると、B細胞の反応低下によるものと思われる。また、T8細胞の反応が正常対照に比して低いものが多い。

表2

RESPONSE TO PWM AT DIFFERENT SUBSETS (R.I.)

Case		OKT4	OKT8	OKB7
Control	1	0.90	1.31	8.13
	2	1.12	1.05	10.05
Active	3	2.37	0.80	6.67
Remitted	4	5.31	5.64	6.77
	5	2.56	2.51	5.01
	6	1.31	1.25	1.91
St. Depend.	7	-	-	-
	8	0.96	0.71	3.71
	9	2.36	2.43	2.00
St. Resist.	10	2.07	2.69	3.75
	11	3.21	1.86	1.32

PWMはB細胞mitogenとされている。ステロイド剤依存性抵抗性症例ではB細胞の反応が著しく低いことが特徴的である。また、T4、T8細胞の反応も正常対照に比して高い。B細胞の反応もT細胞依存性であると考えられており、この実験系におけるT細胞の反応性はB細胞機能低下に対するfeedback効果と解釈できる。

表3

RESPONSE TO ConA AT DIFFERENT SUBSETS (R.I.)

Case		OKT4	OKT8	OKB7
Control	1	0.07	1.89	0.67
	2	0.15	1.35	1.05
Active	3	0.81	1.55	6.00
Remitted	4	1.37	2.19	0.67
	5	0.52	0.45	1.96
	6	0.70	0.64	2.29
St. Depend.	7	0.61	2.70	1.75
	8	1.00	1.64	2.11
	9	0.53	2.78	1.42
St. Resist.	10	-	-	-
	11	0.41	2.69	2.41

ConAは抑制性T細胞誘導mitogenとして知られている。

T細胞の反応はステロイド剤依存性、抵抗性症例においても正常対照とほぼ同様に認められるが、B細胞の反応抑制は少なく、B細胞のT細胞によって産生される反応抑制因子に対する感受性が低下しているためと考えられる。

これらの結果を総合するとリンパ球はいずれのsubsetについても機能低下のあることが考えられ、細胞間相互作用については協調系、抑制系ともに機能低下のあることが考えられるが、特に、B細胞の機能不全の著しいことが示唆される。従来、抑制性T細胞の機能不全が強調されているが、今回の成績や活動期におけるB細胞のspontaneous Ig productionの亢進などを

考慮するとT細胞 lymphokineに対するB細胞の感受性の低下が第一義的で、その結果、協調性、抑制性の機能低下として現れているものようである。この点から、リンパ球機能の変容を見直す必要があると思われる。

ネフローゼ症候群がこのようなリンパ球機能不全を背景として発症するものであれば、治療としては「免疫抑制」というよりも「免疫賦活」の方向へむけるべきである。治療薬として定着しているステロイド剤、Cyclophosphamideが従来は主として免疫抑制を目的として用いられてきた感があるが、この点も見直しが必要である。

表4 好中球機能検査 (遊走能)

	遊走距離 μm	
	ランダム	FMLP
症例 1.	46.3 \pm 3.0	109.0 \pm 4.5
対照	49.3 \pm 6.6	116.8 \pm 2.0
症例 2.	59.3 \pm 2.0	109.0 \pm 4.5
症例 3.	49.7 \pm 8.0	97.8 \pm 0.8
対照	45.7 \pm 1.7	79.7 \pm 2.7
症例 4.	55.2 \pm 0.2	56.3 \pm 5.0
対照	74.7 \pm 2.7	118.7 \pm 12.7
症例 5.	40.0 \pm 4.7	109.7 \pm 1.0
症例 6.	37.9 \pm 0.2	102.7 \pm 1.0
対照	40.8 \pm 4.7	97.3 \pm 7.3

(遊走因子 FMLP 10^{-8} M)

表5 好中球機能検査 (化学発光)

	Max. cpm ($\times 10^3$)	%
症例 1.	3314	93.1
対照	3558	
症例 2.	2219	135.0
症例 3.	2606	159.0
対照	1639	
症例 4.	4984	95.4
対照	5225	
症例 5.	2335	112.3
症例 6.	2397	115.2
対照	2080	

(刺激因子 オブソニン化ザイモサン)

ステロイド剤のヒトリンパ球機能に対する影響については見解が種々であるが、治療量においては各種機能の亢進が報告されている。

Cyclophosphamide については、投与量によってその影響は大きく異なり、概して大量で免疫機能を抑制し、少量ではかえって亢進させるとする報告がある。我々の行っている Cyclophosphamide の少量、長期投与はこの意味からしても合理的な方法と考えられる。

好中球機能については、ステロイド剤依存性症例において著変を認めない。すべてステロイド剤投与中であり、なかには Cyclophosphamide 投与中の症例もあることから、これら薬剤は、

治療量の範囲では好中球機能に障害を与えないことも明らかとなった。抵抗性症例において遊走能の低下がみられたが低アルブミン血症などによる二次的なものと考えられる。

文献

Ozer, H. et al: In vitro effects of hydroperoxycyclophosphamide on human immunoregulatory T subset function, J. Exp. Med. 155:276, 1982



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



ステロイド剤依存性,および抵抗性のネフローゼ症候群患児リンパ球の PHA, PWM, ConA に対する反応を T4, T8, B7 各細胞別に検討した。その結果いずれの subset についても機能不全が認められ,細胞相互作用についても,協調系,抑制系ともに障害されている。しかし,その本態は,主として B 細胞機能不全によることが示唆された。好中球機能には著しい異常を認めなかった。これら症例の治療には免疫賦活を目的とすべきであると考えられる。