

IgA 腎症における IgA 産生昂進の機序について

小児慢性腎疾患の予防と管理に関する研究 小児腎疾患の遺伝に関する研究

堺 秀 人

IgA 腎症患者とその家族にポリクローナルな IgA の産生昂進が認められることを前年度に報告した。今年度はこのような IgA の産生昂進の機序を明らかにするために、患者および正常人の末梢血中から T 細胞の一分画である T α 4 細胞を分離し、その機能を検討した。その結果、T α 4 細胞は IgM 産生 B 細胞を特異的に IgA 産生 B 細胞に変換するいわゆるスイッチ T 細胞であることが示され患者血中の T α 4 細胞の増加が上記のような IgA 産生昂進をもたらしているものと推定された。

IgA 腎症, IgA 産生昂進, スイッチ T 細胞

〔序言〕 IgA 腎症は本邦における糸球体腎炎のうち最多数を占めており、若年成人に好発して腎不全に移行する症例も少なくないところから、その成因の解明が急がれている。われわれは近年この問題について一連の研究を行い本症においては患者のみならずその家族の一部にも IgA の産生昂進を認めることを *in vivo*, *in vitro* 両面について観察した⁽¹⁾⁽²⁾。本研究においては、このような IgA の産生昂進の機序について検討を行った。

〔対象・方法〕 対象は腎生検によって診断が確定し、しかも未治療である IgA 腎症患者 27 例と、腎糸球体に IgA の沈着を伴わない増殖性腎炎患者 20 例であり、健常人 15 名を対象とした。患者はいずれも血清クレアチニン濃度 1.5 mg/dl 以下で、検査 1 カ月以内に感染を生じていたものは含まれていない。

健常成人のうち口頭にて同意の得られた 5 名については、静脈血を 200~400ml ヘパリン採血し、IgA 特異的スイッチ T 細胞について以下の実験を行った。Ficoll-Hypaque による単核球の分離の後、単球その他の粘着性の細胞をプラスチックシャーレに対する吸着によって除去し、次いで IgM, IgA および IgG-bearing

B 細胞をそれぞれの免疫グロブリンの H 鎖特異的ヤギ IgG の F(ab')₂ 分画でコーティングしたシャーレを用いて分離精製した。残余の B 細胞はナイロン・ウール・カラムによって除去した。次いで T 細胞分画をヒト骨髄 IgA と反応させた後に、抗ヒト IgA ヤギ IgG F(ab')₂ 分画でコーティングしたシャーレを用いて T α 細胞を分離し、さらにこの T α 細胞分画を抗 OKT4 マウス IgG と反応させた後に、抗マウス IgG ヤギ IgG の F(ab')₂ 分画でコーティングしたシャーレによって T α 4 細胞分画を分離した。T α 4 細胞分画およびその他の T 細胞分画を各種の B 細胞と pokeweed mitogen (PWM) 添加および非添加の条件下で混合培養し、7 日目に細胞表面および細胞内の免疫グロブリンのクラスを膜免疫蛍光法によって測定した。

その他の健常成人 10 名と IgA 腎症患者 および増殖性腎炎患者については末梢血中の T α 4 細胞数を膜免疫二重蛍光染色法によって測定した。すなわち、あらかじめヒツジ赤血球を用いた比重遠沈法で濃縮した T 細胞分画を抗 OKT4 マウス IgG と反応させた後に、FITC 標識ヒト骨髄腫 IgA および RITC 標識抗マウス IgG ヤギ IgG F(ab')₂ 分画と反応させて、落射式蛍光顕微鏡で観察した。

東海大学医学部内科学第七教室

Hideto Sakai

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Tokai University

〔成績〕 蛍光顕微鏡下における Tα4 細胞の形態を図1, 2に示す。

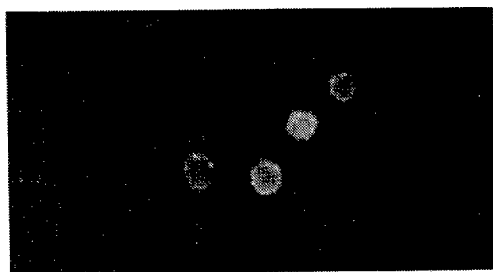


図1：T4細胞（FITC陽性細胞4個）



図2：Tα4細胞（FITC陽性細胞1個）

このようにTα4細胞はきわめて明瞭に観察・算定することが可能である。

次に各種のB細胞およびTα4細胞分画の回収効率を表1に示す。

Concentration of Cell Fractions		
	Original Population	"Concentrated" Population
IgM-bearing cells	6-11%	22-46%
IgA-bearing cells	1-3%	15-36%
IgG-bearing cells	8-12%	20-42%
Tα4 cells	0.5-2%	20-36%

表1：各種細胞分画の回収効率

それぞれの細胞分画は末梢血中での分離前の状態と比べて分離後は10倍以上に濃縮されているが、決して100%の精度には達していない。

Tα4細胞分画はIgA特異的スイッチを作用を有することを示すデータを表2にまとめて提示する。

Amount of Surface-Immunoglobulin Bearing Cells in Cultures.

Source of T Cells	Cells in Cultures	Source of B Cells		
		sigM	sigA	sigG
FceR ⁺ , OKT4 ⁺	sigM	7.8%	2.1%	2.8%
	sigA	40.2%	44.5%	9%
	sigG	2.2%	3.5%	47.2%
FceR ⁺ , OKT4 ⁺	sigM	29.3%	2.9%	3.4%
	sigA	3.4%	40.3%	8.5%
	sigG	7.2%	6.3%	46.9%
FceR ⁺ , OKT4 ⁺	sigM	41.3%	3.0%	4.2%
	sigA	1.2%	43.6%	0.8%
	sigG	7.6%	3.4%	45.5%
FceR ⁺ , OKT4 ⁺	sigM	42.7%	2.1%	4.5%
	sigA	2.7%	41.8%	1.0%
	sigG	4.6%	6.5%	40.9%

表2：Tα4細胞のIgA特異的スイッチ作用
Tα4細胞と混合培養されたIgM-bearing B細胞はその大部分がIgA-bearing B細胞に変換したが、Tα4細胞以外のT細胞分画にはそのような作用は認められなかった。

Tα4細胞のIgA特異的スイッチ作用は従量的であることを表3に示す。

EFFECT OF Tα4 CELLS ON ENHANCEMENT OF sigA CELLS

PWM	Tα4 cells	sigM cells	OKT3 ⁺	sigG	sigA	sigM	sigA
+	0	1×10 ⁴	14.3%	2.7%	5.3%	7.2%	0%
+	0.2×10 ⁴	1×10 ⁴	22.1%	3.7%	34.7%	9.6%	3.4%
+	0.5×10 ⁴	1×10 ⁴	32.6%	2.1%	41.5%	11.3%	5.0%
+	1.0×10 ⁴	1×10 ⁴	50.4%	3.0%	43.1%	10.1%	3.2%
-	0	1×10 ⁴	12.4%	1.0%	5.4%	6.0%	1.9%
-	0.2×10 ⁴	1×10 ⁴	21.4%	1.9%	14.3%	6.4%	3.3%
-	0.5×10 ⁴	1×10 ⁴	30.0%	2.8%	28.3%	8.9%	6.7%
-	1.0×10 ⁴	1×10 ⁴	46.9%	2.1%	26.4%	7.5%	6.7%

表3：Tα4細胞の従量的作用

IgM産生性B細胞からIgA産生性B細胞への変換は同時に添加したTα4細胞の数と平行している。

Tα4細胞のIgA特異的スイッチ作用は外部からのIgAの添加によって抑制されることを表4に示す。

EFFECT OF IgA ON ENHANCEMENT OF sigA CELLS

IgA/IgG	Tα4 cells	sigM cells	sigG	sigA	sigM	sigG	sigA	sigM
0	1×10 ⁴	1×10 ⁴	11.3%	47.8%	7.3%	7.6%	26.7%	7.6%
			10.0%	50.5%	8.5%	4.9%	17.7%	7.7%
			8.0%	50.0%	7.9%	6.5%	4.3%	6.3%
100	1×10 ⁴	1×10 ⁴	10.7%	25.5%	7.3%	6.8%	4.0%	7.7%
			8.3%	11.3%	8.0%	4.2%	2.9%	4.8%
			11.5%	13.1%	8.3%	4.3%	3.4%	6.8%
100	0	1×10 ⁴	14.3%	3.5%	6.8%	4.3%	2.5%	4.2%
			13.3%	3.9%	7.5%	4.2%	2.2%	4.3%
			11.4%	3.3%	8.9%	2.2%	2.5%	4.5%
800	0	1×10 ⁴	13.4%	5.9%	8.0%	2.5%	2.1%	2.4%
			14.5%	12.8%	7.5%	4.3%	2.1%	4.5%
			12.0%	16.7%	9.9%	4.1%	2.0%	4.8%

表4：IgAによるTα4細胞の抑制

Tα4細胞によるIgM産生性B細胞からIgA産生性B細胞への変換は、ヒト骨髄腫IgAを添加することによって著明に抑制された。

患者および健常人で末梢血中のTα4細胞の数はin vitroでのIgA産生能と有意に相関することを図3に示す。

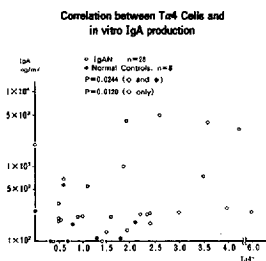


図3：Tα4細胞とIgA産生能患者と健常人との間でTα4細胞対IgA産生能の関係に差は認められない。

末梢血中でのTα4細胞数がIgA腎症患者では対照に比べ有意に増加していることを図4に示す。

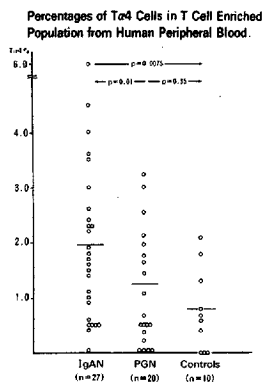


図4：患者および健常人におけるTα4細胞数

IgA腎症患者の末梢血中Tα4細胞数は増殖性腎炎患者および健常成人と比較して有意に増加していた。さらに未だ例数が不十分なためここには示さないで、IgA腎症の患者家族の

一部にも末梢血中のTα4細胞の増加が認められている。

【考察】IgA腎症は1968年、Berger and Hinglais⁽³⁾によって報告されて以来、各国での報告が行われ、現在では本邦をはじめアジア太平洋地域とフランス・イタリー・スペインなどの南ヨーロッパに多発する腎炎であることが知られ、最近ではイギリス・ドイツなどの北ヨーロッパや北米でも従来考えられていたよりも多発していることが明らかとなり、世界的に重視される疾患となっている⁽⁴⁾。慢性腎不全への移行率は世界的に15~20%とされており、患者の絶対数が多いところから本邦における慢性腎不全の重要な原因の一つとなっている。しかし本症の成因は未だ明らかでなく、原因療法の開発のためにも成因の解明が急がれている。

現在までに明らかになったところでは、本症は家族性にIgAの産生が昂進しており、各種の抗原刺激によって、IgAの特異抗体と非特異抗体の両方が増加して、これらによる免疫複合体が腎糸球体に沈着して、補体系特にalternate系を活性化して組織の障害を引き起こしているものと考えられている⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾。そこで本症における家族性のポリクローナルなIgA産生昂進をもたらしている機序の解明が本症の成因解明と原因療法の開発上重要な問題となって来た。

われわれは従来この問題について研究を行いヒトの末梢血中のT細胞のうち細胞表面にIgAのFc部分に対するレセプターを有するいわゆるTα細胞がIgA特異的ヘルパー細胞で⁽⁶⁾、IgA腎症患者の末梢血中では有意に増加しており⁽⁷⁾、さらにTα細胞の80%以上が細胞表面にヘルパーT細胞のマーカーであるOKT4抗原を所有していること⁽⁸⁾などを報告した。

今回の研究においては従来の知見を基としてTα細胞のうち表面にOKT4抗原を持つTα4細胞についてその機能を検討した。その結果、Tα4細胞はIgM産生性のB細胞をIgA産生性のB細胞に特異的に変換するいわゆるIgA特

異的スイッチT細胞であることが示された。この様な機能を持つT細胞は従来マウスでは知られていたが⁽⁹⁾、ヒトでの観察は初めてである。またマウスにおけるT α 細胞はヒトの場合とは逆にIgA特異的サブレッサーであるとされているが⁽¹⁰⁾、この相違は細胞の培養液中にIgAが添加されているか否かによるものであることが本研究の結果から示唆された。すなわちT α 4細胞は比較的IgAが乏しい状態では各種の抗原刺激によって生じたIgM産生性B細胞をIgA産生性B細胞に変換させてIgAの産生昂進をもたらし、そのようにして産生されたIgAが大量になると逆にIgA産生を抑制してIgAが無制限に増加しないよう調節を行っている可能性が示唆された。

T α 4細胞が家族性に増加しているか否かは現時点では明らかでないが、T α 4細胞が大部分を占めているT α 細胞については一般のIgA腎症の症例⁽⁷⁾および家族内でIgA腎症が多発している家系⁽⁵⁾で増加しており、T α 4細胞も家族性に増加している可能性は極めて高いものと思われる。ただし現時点ではT α 4細胞の増加を規定している遺伝子の有無については全く不明である。またT α 4細胞のIgA特異的スイッチ作用を担っている物質についても明らかでないが、最近マウスおよびヒトにおいてリンホカインの一つであるインターロイキン5がIgA産生を特異的に増加させることが判明して⁽¹¹⁾、この物質がT α 4細胞から分泌されている可能性が示唆されるようになった。

〔結論〕末梢血中のT細胞の一種であるT α 4細胞がIgA特異的ヘルパーであって、この細胞の増加によって本症患者にIgAの産生昂進をもたらされている可能性が示された。今後この細胞の免疫遺伝学的解析によってIgA腎症の成因が明らかにされ、原因療法の開発につながる可能性が期待される。

〔参考文献〕

1. Sakai, H.: In, Clarkson, A.R., ed., IgA Nephropathy, Martinus Nijhoff Pub., Boston, 1987, pp 176-187.
2. Sakai, H.: In, Mestecky, J., et al. eds. Mucosal Immunology, Part B, Plenum Press, New York, 1987, pp 1507-1514.
3. Berger, J. and Hinglais, N.: J. Urol. (Paris) 74: 694-695, 1968.
4. 堺 秀人: 本田西男編修, 新・腎炎のすべて, 南江堂, 1983. pp 216-224.
5. Egidio, J., Julian, B.A. and Wyatt, R.J. Nephrol. Dial. Transplant. 2: 134-142, 1987.
6. Endoh, M., Sakai, H., Suga, T., et al., J. Immunol. 127: 2612-2613, 1981.
7. Sakai, H., Endoh, M., Tomino, V., et al Clin. Exp. Immunol. 50: 77-82, 1982.
8. Suga, T., Endoh, M., Sakai, H., et al., J. Immunol. 134: 1327-1329, 1985.
9. Kawanishi, H., Saltzman, L.E. and Strober, W., J. Exp. Med. 157: 433-450, 1983.
10. Yodoi, J., Adachi, M. and Noro, N., Int. Rev. Immunol. 2: 117-141, 1987.
11. Harriman, G.R. and Strober, W., J. Immunol. 139: 3553-3555, 1987.



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



IgA 腎症患者とその家族にポリクローナルな IgA の産生昂進が認められることを前年度に報告した。今年度はこのような IgA の産生昂進の機序を明らかにするために、患者および正常人の末梢血中から T 細胞の一分画である T_H4 細胞を分離し、その機能を検討した。その結果、T_H4 細胞は IgM 産生 B 細胞を特異的に IgA 産生 B 細胞に変換するいわゆるスイッチ T 細胞であることが示され患者血中の T_H4 細胞の増加が上記のような IgA 産生昂進をもたらしているものと推定された。