

ネフローゼ症候群の末梢血単核球亜型とステロイド療法

分担研究：小児腎疾患の進行阻止に関する研究

分担課題：進行阻止に関する免疫・遺伝・病態生化学的研究

笹井敬子*、重城一仁*、金子一成*、
福田 豊*、古川 漸*、藪田敬次郎*

要約：ネフローゼ症候群のステロイド療法に対する反応性をあきらかにするために、活動期とステロイド投与中の末梢血単核球亜型を測定し、再発の有無で二群に分けて検討した。その結果、再発のない群(I群)ではステロイド投与前に比し投与中の Leu 4 (成熟T細胞)、Leu 3a(ヘルパー/インデューサー細胞)の減少と、Leu 12(B細胞)、Leu M3(マクロファージ/モノサイト)およびHLA-DR陽性細胞(B細胞、活性化T細胞、マクロファージ)の増加がみられた($p < 0.05$)。再発のあった群(II群)ではこれらの有意な変化はなかった。Leu 2a(サイトトキシク/サプレッサー細胞)、Leu 7(ナチュラルキラー細胞)陽性細胞やLeu 3a/Leu 2a比は、I群、II群ともに明らかな変化を示さなかった。

ステロイドの投与により末梢血の Leu 12、Leu M3やHLA-DR陽性細胞の増加する症例は、ステロイドに対する反応性が良いと評価する1つの指標となると考えられた。

見出し語(key words):ネフローゼ症候群、末梢血単核球亜型、ステロイド療法

研究方法 ネフローゼ症候群患児8例(2歳から13歳の男児4例、女児4例)の末梢血単核球亜型を測定した。いずれも初発の症例で、発症後6ヵ月間に再発のなかった4例をI群、6ヵ月間に再発を認めたかあるいは1年間に3回以上再発した4例をII群とした。表1は、各症例の入院時の血清アルブミン値、血清コレステロール値および1日の尿蛋白量で、両群の間に差はなかった。末梢血単核球亜型の測定は、ステロイド投与前のネフローゼ症候群の活動期とプレドニン $60\text{mg}/\text{m}^2/\text{day}$ を約4週間投与した時点に行なった。

末梢静脈よりヘパリン加採血し、Ficoll-Hypaque比重遠沈法にて単核球を分離洗浄後、Fisher tubeに 1×10^6 の濃度に細胞を調整し、これにfluorescein isothiocyanate(FITC)標識のLeuシリーズのモノクローナル抗体(Leu 2a、Leu 3a、Leu 4、Leu 7、Leu 12、Leu M3、HLA-DR)を加え、氷上にて反応させ洗浄した後、fluorescence activated cell sorter (FACS)で測定した。また、免疫蛍光二重染色法は、FITC標識のモノクローナル抗体とPhyco-erythrin(PE)標識のモノクローナル抗体を加え、氷上で反応させた後洗浄し、FACS

* 順天堂大学小児科 (Department of Pediatrics, Juntendo University School of Medicine)

表1 各症例の発症時の臨床検査値

	Patients No.	Age (years)	Serum albumin (g/dl)	Serum cholesterol (mg/dl)	Proteinuria (g/24hr)	
I	1	6- ⁰ / ₁₂	1.8	505	13	
	2	2- ⁰ / ₁₂	2.2	565	(3.9g/dl)	
	3	13- ² / ₁₂	1.9	534	79	
	4	9- ⁰ / ₁₂	1.9	496	51	
	mean	7- ³ / ₁₂	1.95	525		
II	5	4- ⁷ / ₁₂	2.3	350	28	Patients had a relapse within a 6-month period
	6	4- ⁷ / ₁₂	2.2	494	55	
	7	3- ¹⁰ / ₁₂	1.4	574	31	
	8	5- ¹ / ₁₂	2.3	348	26	
	mean	4- ⁵ / ₁₂	1.89	486		

で測定した。

結果 再発のみられなかった I群と、再発のみられたII群について、末梢血中の Leu4(成熟T細胞)、Leu 3a(ヘルパー/インデューサーT細胞)、Leu 2a(サイトトキシック/サプレッサーT細胞)、Leu 3a/Leu2a比、Leu 7(ナチュラルキラー細胞)、Leu 12 (B細胞)、Leu M3 (マクロファージ/モノサイト)、HLA-DR(B細胞、マクロファージ、活性化T細胞)陽性細胞の結果を図 1.に示した。I群は白いカラムで、II群は斜線のカラムで表し、また左側は活動期、右側がステロイド投与中の値である。ほぼ同年齢の健康小児から得た平均値を、右側に黒い Bar で示した。免疫蛍光二重染色法による測定の結果は表 2 に示した。

治療前のネフローゼ症候群の活動期の各亜型の値は両群間に差はなかった。I群ではLeu 4陽性細胞と Leu 3a陽性細胞が、活動期に比べステロイド投与中で有意に減少し(p<0.05)、

Leu 12, Leu M3およびHLA-DR陽性細胞は有意に増加を示した(p<0.05)。これに対して、II群ではステロイド投与の前後に有意な変化を認めなかった。Leu 2a陽性細胞、Leu 7陽性細胞やLeu 3a/Leu 2a比は、I群、II群ともステロイド投与により明らかな変化を示さなかった。

二重染色法の結果では、サプレッサーインデューサーT細胞を表すLeu 3a⁺ Leu 8⁺陽性細胞がステロイド投与により減少する傾向が観られたが統計学的な差は認めず、Leu 3⁺8⁻(ヘルパーT細胞)、Leu 2⁺15⁺(サプレッサーT細胞)、Leu 2⁺15⁻(キラーT細胞)陽性細胞も明らかな変化は示さなかった。

考察 ネフローゼ症候群の末梢血リンパ球亜型についての報告はこれまでにいくつかある¹⁾⁻⁴⁾が、マクロファージやモノサイトを含めた単核球亜型の研究はない。いくつかのリンフォカインを分泌するマクロファージは免疫反応

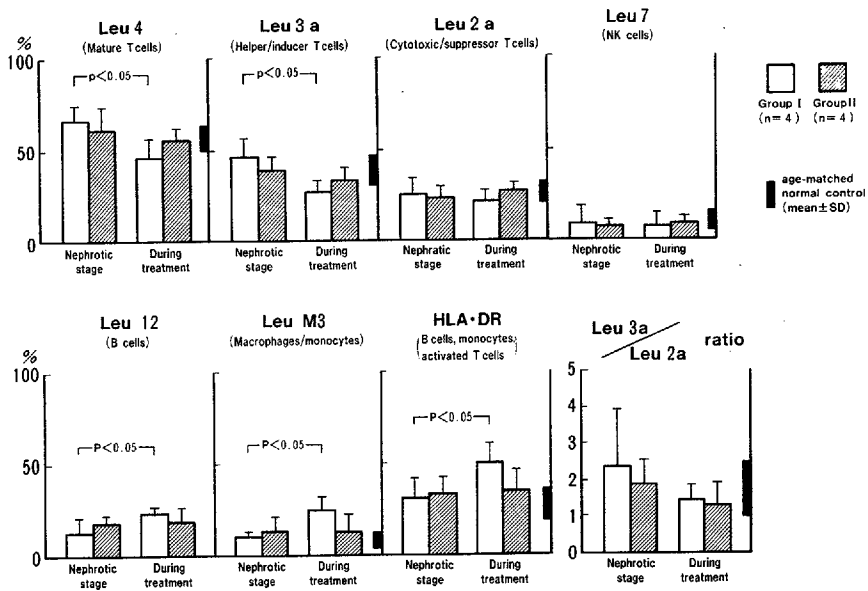


図1. ネフローゼ症候群の活動期およびステロイド投与中の末梢血単核球亜型。

の場で重要な細胞であると考え、著者らはマクロファージやモノサイトを含む末梢血の単核球亜型を測定した。

一方、ステロイド投与によりヘルパーT細胞が減少するという健康人での報告⁵⁾から、ステロイドの投与は末梢血の亜型に変化をきたすことが示唆される。そこで、ステロイド投与の前後の末梢血の単核球亜型を測定し、その変動を再発のある症例とない症例で比較してステロイドに対する反応性が異なるのかどうか検討した。

各亜型の陽性細胞数の比率で検討した結果、6ヵ月間に再発のみられなかったI群では、ネフローゼ症候群の活動期に比べステロイド投与中は成熟T細胞を表すLeu 4陽性細胞とヘルパーT細胞を表すLeu 3a陽性細胞が減少し、B細胞を表すLeu 12陽性細胞、マクロファージとモノサイトを表すLeu M3陽性細胞およびB細胞、マクロファージ、活性化T細胞

に発現するHLA-DR陽性細胞の増加を認めた。これに対して再発のあったII群では、これらの変化はみられなかった。つまり再発の有無で症例を2つに分けると、再発の少ない症例では再発のあった症例に比べ各亜型の変化が顕著にみられた。

特発性ネフローゼ症候群にステロイド依存性やステロイド抵抗性の症例があることは治療上の大きな問題で、この点を早い時期に予知することは重要な課題である。ところがこれまでの報告を含めてネフローゼ症候群の活動期の末梢血のリンパ球ないしは単核球亜型は、再発例と再発の少ない例に分けて比較しても、両群間で明らかな差がみられない。症例数は少ないが今回の成績で各亜型をステロイド投与の前後の変動でみると、再発の少ない症例では明らかな変化がみられた。再発の少ない例が再発例に比しステロイドに対する反応性が良いと評価すると、Leu 12、Leu M3

表2 ネフローゼ症候群の末梢血単核球亜型 (免疫蛍光二重染色法)

	I群 (n=4)		II群 (n=4)	
	活動期	治療中	活動期	治療中
Leu 3a ⁺ 8 ⁺ (%)	38.1±16.7	20.5± 5.1	35.5±7.7	26.5±5.7
Leu 3a ⁺ 8 ⁻ ()	7.8± 6.2	7.0± 1.2	6.3±2.4	6.4±1.8
Leu 2a ⁺ 15 ⁺ ()	6.3± 5.3	4.2± 3.8	6.8±1.9	8.8±4.0
Leu 2a ⁺ 15 ⁻ ()	17.9± 7.7	15.1± 4.5	15.8±4.6	18.2±2.8

やHLA-DR陽性細胞の増加する症例はステロイドに対する反応性が良く再発の可能性が少なくと予測することができるかと考えた。

免疫蛍光二重染色法では、山田ら³⁾や広瀬⁴⁾の報告と同様にサブプレッサーインデューサーT細胞を表す Leu 3a⁺Leu 8⁺陽性細胞が活動期に比べステロイド投与中に減少する傾向がみられたが、統計学的な差はないので今後さらに多数例での解析が必要と考えられた。

文献

- 1) Cagnoli, L. et al.: T cell subset alterations in idiopathic glomerulonephritis. Clin. Exp. Immunol. 50:70-76, 1982.
- 2) Herrod, H.G. et al.: Evaluation of T lymphocyte subpopulations in children with nephrotic syndrome. Clin. Exp. Immunol. 52:581-585, 1983.
- 3) 山田宏治 他: 微小変異型ネフローゼ症候群における末梢血リンパ球サブセットの Two-color flow cytometryによる解析 日腎誌29:675-686, 1987.
- 4) 広瀬久忠: ステロイド反応性小児ネフローゼ症候群における末梢リンパ核球サブセットの検討 30:1293-1304, 1988.
- 5) Thomas, H.C. et al.: T cell subsets in autoimmune and HBV-induced chronic liver disease, HBs antigen carriers with normal histology and primary biliary cirrhosis. J. Clin. Immunol. 2:55s-60s, 1982.

Abstract

Changes of peripheral blood mononuclear cell subsets with steroid therapy for Nephrotic syndrome

Keiko Sasai, Kazuhito Jujouh, Kazunari Kaneko, Yutaka Fukuda, Susumu Furukawa, Keijirou Yabuta

In order to clarify the immunological mechanism of steroid therapy for Nephrotic syndrome, we investigated the changes of peripheral blood mononuclear cell subsets by fluorescence-activated cell sorter using monoclonal antibodies of Leu series, in eight patients before and during treatment with prednisolone. This study included four males and four females aged from two years to 13 years. Subject patients were divided into two groups. Four patients had no relapse (Group I), and other four patients had one or more relapses (Group II) within a 6-month period.

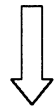
Before therapy, there were no significant differences in the absolute counts of peripheral blood mononuclear subsets between Group I and Group II. During treatment with prednisolone in Group I, the absolute counts of Leu 12⁺ cells (B cells), Leu M3⁺ cells (macrophages/ monocytes) and HLA-DR⁺ cells were significantly higher than those of the pre-treatment ($p < 0.05$, respectively). In group II, there were no significant changes of absolute counts in peripheral mononuclear subsets between before and during treatment with prednisolone.

These results suggest that the good responder to steroid therapy for Nephrotic syndrome might demonstrate the increased counts of Leu 12⁺ cells, Leu M3⁺ cells and HLA-DR⁺ cells.



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



要約:ネフローゼ症候群のステロイド療法に対する反応性をあきらかにするために、活動期とステロイド投与中の末梢血単核球亜型を測定し、再発の有無で二群に分けて検討した。その結果、再発のない群(1群)ではステロイド投与前に比し投与中の Leu4 成熟T細胞)、Leu3a(ヘルパー/インデューサー細胞)の減少と、Leu12(B細胞)・LeuM3(マクロファージ/モノサイト)および HLA-DR 陽性細胞(B細胞、活性化T細胞、マクロファージ)の増加がみられた($p < 0.05$)。再発のあった群(群)ではこれらの有意な変化はなかった。Leu2a(サイトトキック/サプレッサー細胞)、Leu7(ナチュラルキラー細胞)陽性細胞や Leu3a/Leu2a 比は、群、群ともに明らかな変化を示さなかった。ステロイドの投与により末梢血の Leu12、LeuM3 や HLA-DR 陽性細胞の増加する症例は、ステロイドに対する反応性が良いと評価する1つの指標となると考えられた。