

氏名(本籍)	平山浩一(茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第2,168号		
学位授与年月日	平成11年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	黄色ブドウ球菌感染後に発症するHenoch-Schönlein紫斑病性腎炎における臨床病理学的検討		
主査	筑波大学教授	医学博士	住田孝之
副査	筑波大学教授	医学博士	渡辺照男
副査	筑波大学助教授	医学博士	大塚盛男
副査	筑波大学助教授	医学博士	長田道夫

## 論文の内容の要旨

### (目的)

Henoch-schönlein 紫斑病性腎炎 (HSPN) は、血小板非減少性紫斑と間接症状を伴う原因不明の糸球体腎炎である。近年、筑波大学臨床医学系腎泌尿器内科において、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 感染後に発症するHSPNを経験し報告した。本研究では、黄色ブドウ球菌感染後にHSPNを発症した症例を対象として、臨床的、病理学的、免疫学的解析をおこない、黄色ブドウ球菌および産生される外毒素 (Staphylococcal enterotoxin, SE) と糸球体腎炎の発症機序について検討を行った。

### (対象と方法)

1) 対象：黄色ブドウ球菌感染後に発症した6名のHSPN症例、明らかな黄色ブドウ球菌感染を伴わない5名のHSPN症例、健常人27名を対象とした。典型的な紫斑、1日0.5g以上の持続性蛋白尿と尿沈渣にて1視野に10個以上の赤血球を認め、少なくとも関節症状もしくは、消化器症状のどちらかを認めた症例をHSPNと診断した。

2) 病理組織学的解析：超音波下径皮的腎生検を実施して得られた腎組織について、hematoxylin and eosin染色、periodic acid-Schiff染色、periodic acid-silver methenamine染色とMason-trichrome染色を行い、光学顕微鏡にて病理組織学的に観察した。

3) 免疫組織化学的解析：fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識抗ヒトIgG抗体、抗ヒトIgA抗体、抗ヒトIgM抗体、抗ヒトC3抗体、抗ヒトC4抗体、抗ヒトC1q抗体、抗ヒト・フィブリノーゲン抗体、抗Staphylococcal enterotoxins抗体、抗*Staphylococcus aureus*抗体および抗Protein A抗体で腎生検標本を染色し蛍光顕微鏡にて観察した。

4) 電子顕微鏡的解析。

5) 細菌培養：血液、尿、喀痰、穿刺液、感染創部の膿を培養し、その薬剤感受性、コアグララーゼ型別、および受身ラテックス凝集法にて産生される外毒素を検討した。

6) フローサイトメトリー解析：遠心重層法にて得られた末梢血単核球をFITC、フィコエリトリンまたはbiotinで標識してある抗CD3抗体、抗CD4抗体、抗CD8抗体、抗HLA-DR抗体、およびT細胞レセプター (T cell receptor: TCR)  $\beta$ 鎖の変異領域 (variable region of  $\beta$ -chain: V $\beta$ ) に対するモノクローナル抗体にて染色し、フローサイトメトリーによる3カラー解析を実施した。

7) サイトカインの測定：血清中のIL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8をenzyme-linked

immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した。

(結果)

1) 黄色ブドウ球菌感染後HSPNの臨床的特徴：発症時、発症直後に白血球数高値、貧血、血小板数高値、軽度の低蛋白血症、軽度の腎機能障害を認めた。血清学的検査では、血清IgG値、血清IgA値、血清補体濃度、免疫複合体の高値が認められた。各種自己抗体は全症例で検出されなかった。臨床経過上、全例ネフローゼ症候群に合致するほどの大量の蛋白尿を伴って比較的急速に腎機能低下が進行して腎死に至る確率が高く、予後不良の型であった。

2) 腎組織の特徴：腎組織には、半月体形成を伴う様々な程度メサンギウム細胞の増殖とメサンギウム基質の増生を認め、管内性の細胞増殖やメサンギウムおよび内皮下領域の沈着物も認められた。間質領域は浮腫状であり尿細管上皮および間質領域への炎症細胞の浸潤や間質の線維化も認められた。

3) 免疫組織学的特徴：蛍光抗体法においては、IgA、IgGおよびC3メサンギウム領域および末梢係蹄壁への沈着を認めた。しかし、抗staphylococcal enterotoxins抗体、抗*Staphylococcus aureus*抗体および抗Protein A抗体の沈着は認められなかった。

4) 電子顕微鏡の特徴：電子顕微鏡では、高電子密度沈着物メサンギウム領域、開大した内皮下領域、上皮下領域の一部にもみられた。上皮細胞の足突起の融合傾向も認められた。炎症細胞は毛細血管腔のみならずメサンギウム領域にも認められた。

5) 細菌培養：検出された黄色ブドウ球菌は、メチシリン耐性でコアグラーゼⅡ型であり、SECを中心とした外毒素を産生していた。

6) T細胞解析：黄色ブドウ球菌感染後HSPN症例では、CD3陽性細胞、CD4陽性T細胞とCD8陽性T細胞との比率は健常人と比べて統計学的に有意な差はなかった。しかし、HLA-DR陽性のCD4及びCD8陽性T細胞が有意に高値であった。TCRV $\beta$  (5.2+5.3) 陽性、V $\beta$ 5.3陽性、およびV $\beta$ 8陽性T細胞のが健常正常人と比較して有意に高値であった。特にCD4陽性T細胞における上記TCR-V $\beta$ 陽性T細胞が増加していた。一方、黄色ブドウ球菌汚染の明らかな関与のないHSPN症例では、健常正常人と有意差は認められなかった。

7) サイトカイン産生：健常正常人と比較して、HSPN症例ではIL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、およびTNF- $\alpha$ が有意に上昇してきた。一方、血清中のIL-1 $\alpha$ とIFN- $\gamma$ については有意差は認められずIL-4は健常正常人、HSPN症例ともに測定限界以下であった。

(考察)

黄色ブドウ球菌感染後に発症するHSPNにおいては、黄色ブドウ球菌およびそれが産生する外毒素に対する抗体の交叉反応による腎糸球体への免疫グロブリンの沈着の可能性は低く発症直後の血清IgG値、血清IgA値、免疫複合体も高値を示していたことより、免疫複合体として腎糸球体に沈着し腎炎を発症したものと考えられた。しかしながら、自己抗体などは検出されず、その抗原が何であるかは確認できなかった。一方、T細胞の著明な活性化と特定のTCR-V $\beta$ 陽性細胞の増加、さらにIL-1、IL-6、THF- $\alpha$ のみならずIL-2も含めた高サイトカイン血症が認められ、その発症機序として、黄色ブドウ球菌の産生する外毒素がスーパー抗原として関与しているものと推測している。すなわち、黄色ブドウ球菌の産生する外毒素がスーパー抗原として特定のTCR-V $\beta$ を介してT細胞を活性化し、サイトカインの過剰な産生・放出により、T細胞のみならずB細胞をも活性化し、IgG・IgAのポリクローナルな産生をもたらす結果、免疫複合体の形成が生じ、本腎炎が惹起されるものと考えられた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、Henoch-Schönlein 紫斑病性腎炎 (HSPN) の病因解明を目的としてなされたものである。著者らは、HSPNに黄色ブドウ球菌感染が先行することに注目し、その臨床的な特徴、腎組織の免疫病理学的特徴を明らか

にした。さらに、外毒素の一つであるSECを産生する黄色ブドウ球菌が全例で検出されたことより、スーパー抗原による糸球腎炎発症機序を想定し、末梢血T細胞のT細胞レセプター解析を行った。その結果、TCRV $\beta$ 5.2, V $\beta$ 5.3, V $\beta$ 8陽性T細胞が増加していること、T細胞由来のIL-2などのサイトカインが上昇していることを見出し、黄色ブドウ球菌感染後の発症するHSPNの機序として、黄色ブドウ球菌由来毒素によるT細胞活性化機構の関与を示唆した。本研究は、黄色ブドウ球菌感染後HSPNの発症機序の一部を斬る新たなアイデアで解明したものであるとして高く評価される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。