

氏名(本籍)	いしづ たかし 石津 隆(茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第2414号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	各種糸球体腎炎における、活性型T細胞サブセットとTCR V β usageの検討
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 長沢俊郎
副査	筑波大学助教授 医学博士 長田道夫
副査	筑波大学助教授 医学博士 渋谷彰

論文の内容の要旨

(目的)

腎炎を共通の病態とするが異なる病型を呈する5つの腎疾患(膜性腎症, IgA腎症, 紫斑病性腎炎, ループス腎炎, 壊死性半月体形成性腎炎)の発症機構を明らかにすることを目的として, 免疫反応の中心的役割を担っているT細胞に注目し, 末梢血中T細胞の細胞表面マーカー, 活性化マーカー, T細胞レセプター(T cell receptor, TCR) V β 発現について解析した。

(対象と方法)

膜性腎症12例, IgA腎症50例, 紫斑病性(HSP)腎炎12例, ループス腎炎14例, 壊死性半月体形成性腎炎9例の各疾患患者と健常人55名を対象とした。免疫抑制薬あるいはステロイド剤を使用している症例や感染症の合併例などリンパ球のサブセットに影響を与える状況にある症例は除外した。

末梢血よりFicoll-Paque法により単核球を分離し, フローサイトメトリーによる3カラー解析を行い, 以下の分子の発現について検討した。

1) CD3⁺細胞, 2) HLA-DR⁺CD3⁺細胞(活性化T細胞), 3) CD4⁺T細胞とCD8⁺T細胞の比, 4) HLA-DR⁺CD4⁺T細胞, 5) HLA-DR⁺CD8⁺T細胞, 6) CD45RO⁺CD4⁺T細胞, 7) CD45RA⁺CD4⁺T細胞, 8) TCRV β レパートリー(TCRV β 2, V β 3.1, V β 5.1, V β 5.2+5.3, V β 5.3, V β 6.7, V β 8.1, V β 11, V β 12.1, V β 13.1+13.3, V β 13.6, V β 14, V β 16, V β 17, V β 21.3, V β 22)

(結果)

- 1) CD3⁺細胞: 健常群1 (70.7 \pm 6.7%) に対して, ループス腎炎では77.6 \pm 9.39%と有意な増加を認めた(P=0.01)。その他の疾患では健常群との間に有意差を認めなかった。
- 2) HLA-DR⁺CD3⁺細胞: 健常群1が12.9 \pm 8.6%であったのに対して, ループス腎炎では26.0 \pm 13.99%と増加を認めた(p<0.0001)。HSP腎炎と14腎症は, 有意な増加を認めなかった。壊死性半月体形成性腎炎(22.1 \pm 10.39%), 膜性腎症(21.9 \pm 9.9%)では, 健常群2(11.8 \pm 4.1%)と比較して, 両者ともに有意に増加していた(p<0.05)。

- 3) CD4⁺/CD8⁺ : 健常群1で1.6 ± 1.0であったが, HSP腎炎で3.2 ± 2.1 (p = 0.0004) で高値であった。その他の疾患では, 対応する健常群との間に有意差を認めなかった。
- 4) HLA-DR⁺CD4⁺T細胞 : 健常群1で4.5 ± 2.1%であったのに対して, HSP腎炎, ループス腎炎, IgA腎症はそれぞれ9.2 ± 6.1% (p = 0.0002), 8.5 ± 6.8% (p = 0.0006), 6.2 ± 2.8% (p = 0.02) と有意な増加を認めた。壊死性半月体形成性腎炎と膜性腎症では, 健常群2との間に有意差を認めなかった。
- 5) HLA-DR⁺CD8⁺T細胞 : 健常群1が6.2 ± 4.5%であったのに対し, ループス腎炎で14.9 ± 10.1%と有意に増加していた (p < 0.0001)。
- 6) CD45RO⁺CD4⁺T細胞 : 健常群1が14.2 ± 5.9%であったのに対し, HSP腎炎が22.7 ± 12.4%, IgA腎症が19.2 ± 7.1%と増加していた (p = 0.001, P = 0.003)。ループス腎炎では有意差を認めなかった。健常群2は15.9 ± 6.8%であったが, 膜性腎症は28.2 ± 16.1%と有意に増加していた (p = 0.03)。壊死性半月体形成性腎炎では有意差を認めなかった。
- 7) CD45RA⁺CD4⁺細胞 : 健常群1が9.4 ± 5.3%であったのに対し, HSP腎炎が19.9 ± 17.1%と有意の増加を認めた (p = 0.0004)。その他の疾患では有意差を認めなかった。
- 8) TCR-Vβレパートリー : 膜性腎症では, 健常群2と比較して有意に増加したレパートリーは存在しなかった。IgA腎症では, 健常群1に比して, TCR-Vβ 3.1で使用が増加していた。HSP腎炎では, 健常群1に比してTCR-Vβ 5.1, TCR-Vβ 6.7, TCR-Vβ 12.1の3つのレパートリーが有意に増加していた。ループス腎炎では, 健常群1に比してTCR-Vβ 3.1, TCR-Vβ 5.2 + 5.3, TCR-Vβ 8, TCR-Vβ 11, TCR-Vβ 13.6, TCR-Vβ 21.3の6つが有意に増加していた。壊死性半月体形成性腎炎では, 健常群2に比して増加していたレパートリーは存在しなかった。TCR-Vβ 17では有意に減少していた。

(考察)

- 1) 膜性腎炎では, CD4⁺T細胞が活性化されていたが, 特異的なTCRの使用はみられないため, サイトカインなどの抗原非特異的メディエーターの病態への関与が示唆された。
- 2) IgA腎症では, TCR-Vβ 3.1⁺活性化CD4⁺T細胞が増加していることから, 限られた抗原がHLA分子上に発現されて特定のT細胞の活性化を誘導している可能性が示された。これらのT細胞が認識する抗原と増加したIgAが認識する可溶性抗原の解析が興味深い。
- 3) HSP腎炎は, IgA腎症と同様に活性型CD4⁺T細胞の増加が認められ, 使用していたTCRは比較的限定されていた。HLAに結合した抗原やスーパー抗原による誘導が考えられるので, これらの抗原認識部位であるCDR3領域のアミノ酸解析が待たれる。
- 4) ループス腎炎では, 6つの特定なTCR-Vβ陽性T細胞の増加が認められた。このことは, 抗原刺激により末梢血中T細胞が増加していることを示唆している。さらに, 活性化されたCD4⁺T細胞の増加は, 抗体産生の異常増加を促し, 活性化CD8⁺T細胞の増加は二次的な細胞障害性T細胞や調節性T細胞による抗体産生のフィードバック調節機構が働いている可能性を示している。
- 5) 壊死性半月体形成性腎炎では, 健常人と解析した範囲では大きな違いを見出す事ができなかった。このことから, 末梢血中T細胞のこの疾患への関与はあまり大きく無い可能性が示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は, 5つの腎炎の発症機序を明らかにするために, 末梢血中のT細胞に焦点をあて, そのサブタイプ, 活性化分子, 抗原受容体についてフローサイトメトリーを用いて解析した。その結果, IgA腎症, 紫斑病性腎炎, ループス腎炎においては, 特定の抗原刺激により誘導されたT細胞が病態形成に関与している事, 膜性腎炎や壊死性

半月体形成性腎炎では、抗原特異的免疫応答よりも抗原非特異的メディエーターの役割が重要である事を明らかにした。今後は、腎臓局所でのT細胞の免疫学的解析および末梢血T細胞の遺伝学的解析により、腎炎発症の分子機構がより明瞭になることが期待される。

本研究は、病態の異なる腎炎の発症機序、制御機構を解明する上で重要な成果であり、腎炎の病態解明の一つのアプローチ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。