

## 微小変化型ネフローゼ症候群における末梢血単球・マクロファージの interleukin-1 産生能

奈良県立医科大学第1内科学教室

小川修二

### INTERLEUKIN -1 PRODUCTION OF PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES/MACROPHAGES IN MINIMAL CHANGE NEPHROTIC SYNDROME

SHUJI OGAWA

*The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University*

Received July 30, 1991

*Summary*: The present study was designed to clarify the role of cell-mediated immunity in minimal change nephrotic syndrome(MCNS) by measuring interleukin-1(IL-1) production of peripheral blood monocytes/macrophages(PBM).

The subjects employed in this study were 25 patients with MCNS, 18 with membranous nephropathy(MN), 32 with IgA nephropathy(IgA-GN), and 30 healthy volunteers as controls.

Patients with MN and IgA-GN showed normal levels of IL-1 activity. PBM from patients with MCNS produced significantly higher levels of IL-1 activity compared to normal healthy volunteers. The increase of IL-1 production by PBM was prominent in the nephrotic stage of MCNS. Increased production of IL-1 by PBM from patients with MCNS returned to normal when the disease was in remission. In addition, we measured the levels of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  produced by PBM. Patients with MCNS, MN, IgA-GN showed normal levels of IL-1 $\alpha$ . PBM from patients with MCNS produced significantly larger amounts of IL-1 $\beta$  compared to normal healthy volunteers. Finally, the level of IL-1 activity produced by PBM correlated positively with the level of IL-1 $\beta$ .

These findings indicate that increased production of IL-1 by PBM from patients with MCNS may be related to immunological abnormalities in MCNS.

#### Index Terms

interleukin-1, lymphocyte activating factor, minimal change nephrotic syndrome, nephrotic syndrome

#### 緒 言

微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)には従来から多種・多様の免疫異常の存在することが知られている<sup>1)~8)</sup>。1974年に Shalhoub<sup>1)</sup>は、MCNS では麻疹罹患後に自然寛解を示す症例がみられることと、Hodgkin病合併例の頻度が高いことから、MCNSの病因にはT細胞

機能異常の関与することを示唆した。最近では、MCNSのT細胞機能異常としてEロゼット形成細胞(T細胞)の減少<sup>2)~4)</sup>、T $\mu$ 細胞の増加とT $\gamma$ 細胞の減少<sup>2)~4)</sup>、リンパ球幼若化反応抑制因子<sup>5)</sup>、抗リンパ球抗体の存在<sup>6)</sup>が、またMCNSのリンパ球サブセット異常としてLeu 3a/Leu 2a(OKT 4/OKT 8)比の低下<sup>7)</sup>、Leu 7+ Leu 11-細胞の減少<sup>8)</sup>、キラーT細胞の増加<sup>9)</sup>などが報

告されている。しかし、これらの免疫異常がどのような機序で MCNS の病因に関与しているのかという点については未だ明らかにされていない。

1970 年代の後半から、免疫担当細胞相互間の伝達物質として働く液性因子(サイトカイン)の発見が相次いでおり、免疫調節機構は飛躍的に解明された。そこで、免疫異常の原因がサイトカインレベルで検討されるようになっていく。

インターロイキン 1(IL-1)は主として単球・マクロファージ系細胞から産生されるサイトカインであり、T 細胞の分化・増殖に関与することが知られている<sup>9)</sup>。IL-1 には等電点の異なる  $\alpha$  と  $\beta$  の 2 種類のものが存在する<sup>10)</sup>が、その生物学的活性の相違は明らかにされていない。全身性エリテマトーデス(SLE)<sup>11)</sup>や慢性関節リウマチ(RA)<sup>12)</sup>などの膠原病では末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能異常が認められていることから、免疫不全の発生には単球・マクロファージにおける IL-1 産生異常が関与していると考えられている。

そこで今回著者は、MCNS における免疫異常の発生機序を究明する目的で、末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能を IL-1 活性、IL-1  $\alpha$  および  $\beta$  抗原量から検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

対象とした MCNS は奈良県立医科大学第 1 内科およびその関連病院で腎生検を施行し得た 25 例であり、比較のため膜性腎症(MN)18 例および IgA 腎症(IgA-GN)32 例も検討の対象とした。対照は健康成人 30 例とした。それら被検者の性別と年齢を Table 1 に示した。

MCNS の診断は成人ネフローゼ症候群治療研究会の診断基準<sup>13)</sup>に拠り、病期を 1) ネフローゼ(NS)期、2) 不完全寛解(IR)期、3) 完全寛解(CR)期の 3 期に分けた。対象はいずれも副腎皮質ステロイド(プレドニソロン; PSL)により治療中の患者であり、NS 期には 40~60 mg/日、IR 期と CR 期には維持量として 2.5~40 mg/日が投与されていた。ただし、NS 期および CR 期症例の一部には PSL 投与前または中止後のものも含まれてい

た。

### 2. 方法

#### (1) 単球・マクロファージの分離

ヘパリン加末梢血から Ficoll-Hypaque(Pharmacia 社製)比重遠心法により末梢血単核細胞(PBMC)を分離し、その PBMC を 0.01 M リン酸緩衝生理食塩水(PBS; 日本製薬社製)で 3 回洗浄後、 $2 \times 10^6$ /ml の濃度になるように調整して培養液に浮遊させた。使用した培養液は RPMI 1640(日本製薬社製) 500 ml にウシ胎児血清(FCS; Chimera Biomedics Corporation 社製)50 ml、ストレプトマイシン(明治製薬社製)50 mg、ペニシリン G(明治製薬社製)50000 IU および L-グルタミン(日本製薬社製)を加えて調整したものである。つぎに PBMC を、熊谷らの方法<sup>14)</sup>により作製した血清コートプレート(Corning 社製)内で 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C の条件下で 1 時間培養した。培養後、PBS で 3 回プレートを洗浄してリンパ球を除去した。このプレートに 0.02% EDTA, 5% FCS 加 PBS 溶液 4 ml を加え、4 °C で 20 分間反応させた後、上清を回収して単球・マクロファージを得た。以上の操作により得られた単球・マクロファージについては、ペルオキシダーゼを用いた染色法およびトリパンブルーを用いた染色法により、93% 以上がペルオキシダーゼ陽性細胞であり、95% 以上が生細胞であることを確認している。

#### (2) 単球・マクロファージによる IL-1 の産生

単球・マクロファージによる IL-1 産生の刺激には Lipopolysaccharide(LPS; Difco 社製)を使用した。単球・マクロファージを PBS で 3 回洗浄した後、 $1 \times 10^5$ /ml の濃度になるように調整して培養液に浮遊させた。この培養液に 20  $\mu$ g/ml の濃度になるように LPS を加え、5% CO<sub>2</sub>, 37 °C の条件下で 48 時間培養した後、その上清を採取して -70 °C で凍結保存した。この LPS 刺激単球・マクロファージ培養上清を以下の IL-1 活性、IL-1  $\alpha$  および  $\beta$  濃度の測定に供した。

#### (3) IL-1 活性の測定

IL-1 活性の測定は標的細胞として 4~6 週齢の C3H/HeJ マウス(Jackson 社)から無菌的に採取した胸腺細胞浮遊液を用いた<sup>15)</sup>。精製 IL-1 (Genzyme 社製)お

Table 1. Sex and age distribution of subjects

Subjects	Number	(male/female)	Age (average)
Healthy volunteers	30	(14/16)	20-58 (31)
MCNS	25	(12/13)	18-56 (32)
MN	18	(10/8)	22-64 (38)
IgA-GN	32	(13/19)	18-56 (31)

よび前述の培養上清 100  $\mu$ l から 96 穴マイクロプレート (Corning 社製) 上で RPMI 1640 により 2 倍段階希釈し、 $2^{-1}$  から  $2^{-9}$  の希釈列を作成した。胸腺細胞  $1 \times 10^6$  個/ウェル と Phytohemagglutinin-P (PHA-P, Difco 社製) 0.5  $\mu$ g/ウェル を添加して 6 時間後にセルハーベスター (Labo Mash 社製) を用いてガラスフィルター (Labo Mash 社製) 上に細胞を回収した。乾燥させたフィルターの放射活性を液体シンチレーションカウンター (LS 7500, Beckman 社製) で測定した。

(4) IL-1  $\alpha$  の定量

培養上清中の IL-1  $\alpha$  はヒト IL-1  $\alpha$  ELISA kit (大塚製薬社製) を用いて定量した<sup>16)</sup>。抗 IL-1  $\alpha$  単クローン抗体を 96 穴マイクロプレートに固相化し、前述の培養上清 100  $\mu$ l を加えて室温で 24 時間反応させた。反応後、プレートを PBS で洗浄し、抗 IL-1  $\alpha$  家兎抗血清を加えて室温で 2 時間反応させた。再度プレートを PBS で洗浄した後、ペルオキシダーゼ標識抗家兎 IgG 抗体を加えて室温で 2 時間反応させた。未反応のペルオキシダーゼ標識抗家兎 IgG 抗体を PBS 洗浄により除去した後、プレートに基質の *o*-フェニレンジアミンおよび  $H_2O_2$  を加えて室温で 20 分間反応させた。IN 硫酸を加えて反応を停止させた後、各穴の吸光度を波長 492 nm で測定し、精製 IL-1 を用いて作製した標準曲線と比較して IL-1  $\alpha$  濃度を求めた。

(5) IL-1  $\beta$  の定量

培養上清中の IL-1  $\beta$  は Interleukin-1  $\beta$  RIA kit (Cistron 社製) を用いて定量した<sup>17)</sup>。培養上清 100  $\mu$ l と抗 IL-1  $\beta$  家兎血清溶液 100  $\mu$ l をポリエチレン製試験管 (Falcon 社製) 内で混和して室温で 24 時間反応させた後に <sup>125</sup>I 標識 IL-1  $\beta$  溶液 100  $\mu$ l を加え、さらに 24 時間室温で反応させた。ついで、抗兎 IgG 羊血清を含む PBS-ポリエチレングリコール溶液 1 ml を加えて 1 時間反応させた後、遠心して上清を除去した。試験管内の放射線を測定し、精製 IL-1  $\beta$  を用いて作製した標準曲線と比較して IL-1  $\beta$  濃度を求めた。

(6) 統計学的処理

統計学的処理は分散分析および多重比較法 (Dunnett 法) によった。本文中の測定値は平均値  $\pm$  標準偏差を示す。

成 績

1. マウス胸腺細胞の IL-1 に対する反応性

IL-1 活性定量の基礎的検討として、IL-1 試料に対してマウス胸腺細胞が濃度依存性に増殖反応を示すか否かについて検討した。精製 IL-1 および健康成人 10 例から得

られた LPS 刺激単球・マクロファージ培養上清を  $2^{-1}$  ~  $2^{-9}$  に希釈して、各希釈濃度における IL-1 活性をマウス胸腺細胞の増殖反応性から測定した。マウス胸腺細胞は精製 IL-1 に対しては濃度依存性増殖を  $2^{-1}$  ~  $2^{-9}$  の希釈範囲において示したが、健康成人 10 例の培養上清に対しては  $2^{-4}$  ~  $2^{-9}$  の希釈範囲に限って濃度依存性増殖を示した (Fig. 1)。以上の成績から、培養上清中の IL-1 活性は、 $2^{-4}$  ~  $2^{-9}$  の希釈範囲におけるマウス胸腺細胞の増殖反応性から、Gillis, et al.<sup>18)</sup> の probit analysis 法により精製 IL-1 の活性を 1 単位として求めた。

2. MCNS における IL-1 産生能

各疾患群における LPS 刺激単球・マクロファージ培養上清中の IL-1 活性 (IL-1 産生能) について検討した。MCNS における IL-1 産生能は、 $1.97 \pm 1.09$  単位であり、健康対照群の  $1.17 \pm 0.49$  単位に比して有意に上昇していた ( $p < 0.01$ )。一方、MN の IL-1 産生能は  $1.22 \pm 0.66$  単位、IgA-GN の IL-1 産生能は  $1.56 \pm 0.65$  単位であり、いずれも健康対照群と差を示さなかった (Fig. 2)。

つぎに MCNS の IL-1 産生能を病期に分けて検討した。MCNS の NS 期における IL-1 産生能は、 $2.80 \pm 1.09$  単位であり、健康対照群に比して有意に上昇していた ( $p < 0.01$ )。一方、MCNS の IR 期における IL-1 産生能は  $0.77 \pm 0.44$  単位、CR 期における IL-1 産生能は  $1.68 \pm 0.91$  単位であり、いずれも健康対照群と差を示さ

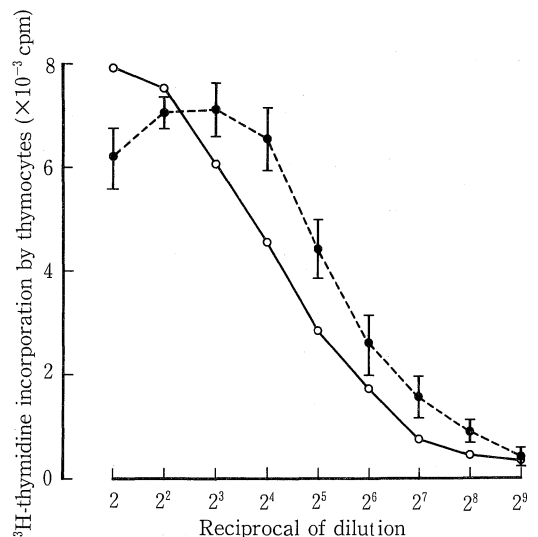


Fig. 1. Standardization of IL-1 activity. Response for mouse thymocytes to doses of standard IL-1 (open circles) and test samples (closed circles, mean  $\pm$  SE) were expressed as cpm.

なかった(Table 2).

NS 期から CR 期までの経過を追跡し得た MCNS 4 症例における IL-1 産生能の推移を Fig. 3 に示した. 全例の IL-1 産生能は, NS 期に高値を示したが, IR および CR 期には健常対照値に低下した.

3. MCNS における IL-1 $\alpha$  と IL-1 $\beta$  産生能

MCNS, MN および IgA-GN における LPS 刺激単球・マクロファージ培養上清中の IL-1 $\alpha$  濃度(IL-1 $\alpha$  産生能)と IL-1 $\beta$  濃度(IL-1 $\beta$  産生能)を Table 3 に示した. 各疾患群の IL-1 $\alpha$  産生能は, MCNS 367.0 $\pm$ 90.1 pg/ml, MN 291.2 $\pm$ 99.8 pg/ml, IgA-GN 391.3 $\pm$ 97.6 pg/ml であり, いずれも健常対照群の 363.3 $\pm$ 80.2 pg/ml と差を示さなかった. MCNS における IL-1 $\beta$  産生能は 5.07 $\pm$ 2.90 ng/ml であり, 健常対照群の 2.72 $\pm$ 0.72 ng/ml に比して有意に上昇していた(p<0.01). 一方, MN の IL-1 $\beta$  産生能は 2.09 $\pm$ 1.36 ng/ml, IgA-

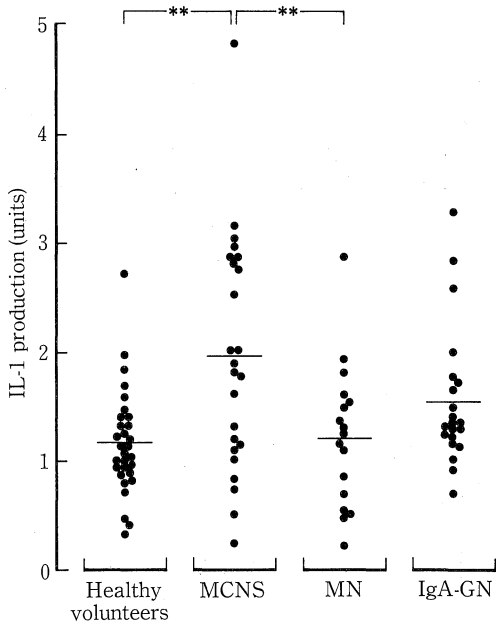


Fig. 2. IL-1 production in patients with MCNS, MN and IgA-GN.\*\*; p<0.01.

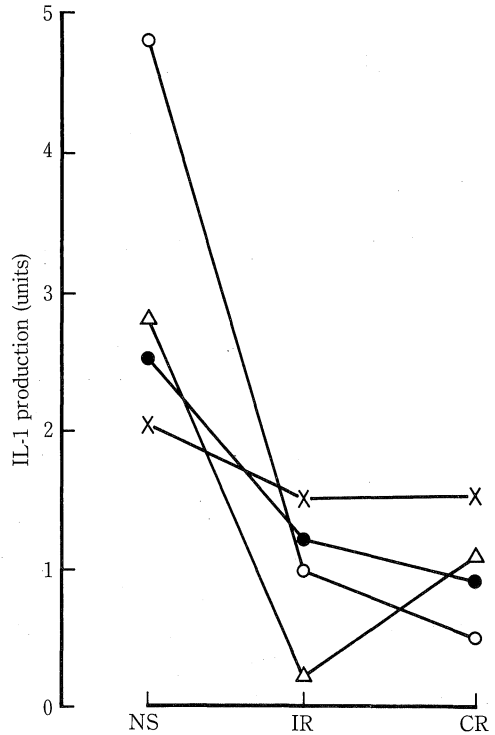


Fig. 3. Serial changes in IL-1 production of 4 patients with MCNS. NS; nephrotic syndrome, IR; incomplete remission, CR; complete remission.

Table 2. IL-1 production in patients with minimal change nephrotic syndrome

Subjects	Number	IL-1 production (units)
Healthy volunteers	30	1.17 $\pm$ 0.49
MCNS NS	7	2.80 $\pm$ 1.09**
IR	7	0.77 $\pm$ 0.44
CR	15	1.68 $\pm$ 0.91

NS : nephrotic syndrome, IR : incomplete remission, CR : complete remission. \*\* p<0.01.

Table 3. Productions of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in patients with primary glomerular diseases

Subjects	Number	IL-1 $\alpha$ (pg/ml)	IL-1 $\beta$ (ng/ml)
Healthy volunteers	22	363.3 $\pm$ 80.2	2.72 $\pm$ 0.72
MCNS	11	367.0 $\pm$ 90.1	5.07 $\pm$ 2.90**
MN	11	291.2 $\pm$ 99.8	2.09 $\pm$ 1.36
IgA-GN	14	391.3 $\pm$ 97.6	3.42 $\pm$ 0.78

\*\*p<0.01.

GN の IL-1 $\beta$  産生能は  $3.42 \pm 0.78$  ng/ml であり、いずれも健常対照群と差を示さなかった。

4. IL-1 産生能と IL-1 $\alpha$  および  $\beta$  産生能

同時に測定し得た IL-1 産生能と IL-1 $\alpha$  および  $\beta$  産生能との関係を検討した。まず IL-1 $\alpha$  産生能は、全症例についても、各疾患群別の検討でも、IL-1 産生能との間に有意の関係を示さなかった (Fig. 4, Table 4)。

つぎに、IL-1 $\beta$  産生能と IL-1 産生能とは、全症例についても、MCNS, MN および IgA-GN の各疾患群についても、有意の正相関を示した (Fig. 5, Table 4)。

IL-1 $\alpha$  産生能と IL-1 $\beta$  産生能とは、全症例についても、各疾患群についても有意の関係を示さなかった (Table 4)。

考 察

IL-1 は、1972 年に Gery & Waksman<sup>19)</sup>によりヒト末梢血単球・マクロファージ培養上清中に存在するリンパ球活性化因子 (Lymphocyte activating factor; LAF) として発見されており、現在では単球・マクロファージ系細胞から産生されるサイトカインの一種とされる。IL-

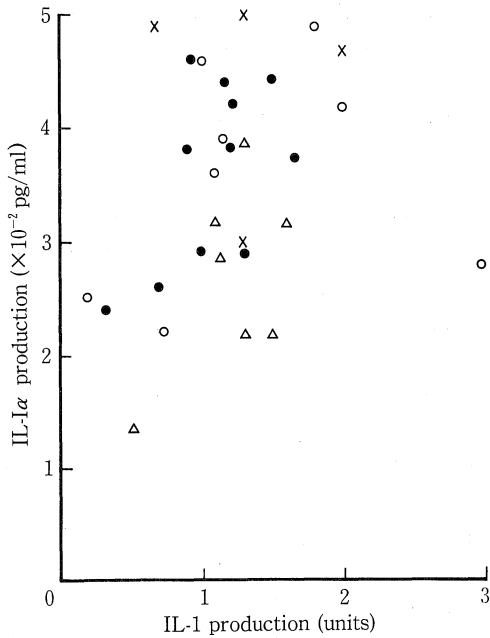


Fig. 4. Relationship between IL-1 $\alpha$  and IL-1 productions. (●) : healthy volunteers, (○) : MCNS, (△) : MN, (×) : IgA-GN.

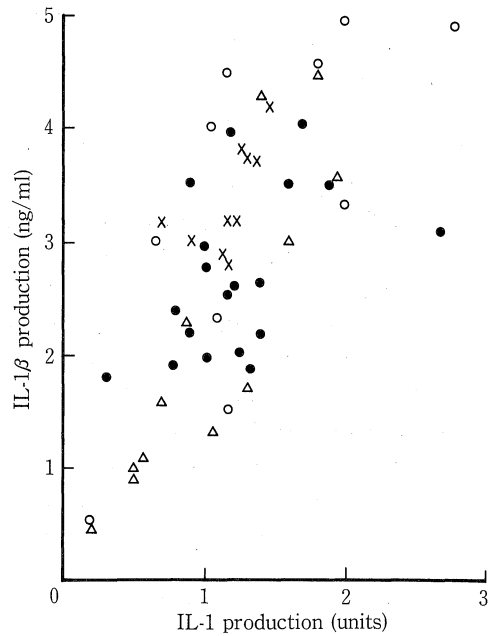


Fig. 5. Relationship between IL-1 $\beta$  and IL-1 productions. (●) : healthy volunteers, (○) : MCNS, (△) : MN, (×) : IgA-GN.

Table 4. Relationships between 3 components of IL-1 in patients with primary glomerular disease

Subjects	IL-1 $\alpha$ production vs IL-1 production	IL-1 $\beta$ production vs IL-1 production	IL-1 $\alpha$ production vs IL-1 $\beta$ production
Healthy volunteers	n s	n s	n s
all	n s	r=0.77 (p<0.001)	n s
MCNS	n s	r=0.84 (p<0.001)	n s
MN	n s	r=0.88 (p<0.001)	n s
IgA-GN	n s	r=0.72 (p<0.001)	n s

n s : not significant.

1 については、すでに種々の生物学的活性<sup>20)-23)</sup>が明らかにされており、免疫調節機構における重要性が注目されている。すなわち、単球・マクロファージから産生される IL-1 は、抗原刺激などによって IL-1 に対するレセプターを発現した IL-1 反応性 T 細胞と結合し、インターロイキン 2(IL-2)やインターフェロン  $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )などのリンホカイン産生を誘導する作用<sup>20)</sup>のほか、単球・マクロファージのプロスタグランジン  $E_2$  産生増強作用<sup>21)</sup>、B 細胞の分化・成熟促進作用<sup>9)</sup>が知られている。また、IL-1 には発熱作用<sup>20),22)</sup>・好中球増加作用<sup>20)</sup>、急性期反応性蛋白の産生増強作用<sup>23)</sup>も存在することが明らかにされており、IL-1 は炎症反応にも重要な役割を持つと考えられる。したがって、免疫・炎症反応の関与する各種疾患において、IL-1 の果たす役割が注目されている。

MCNS は、小児から若年者に好発する一次性ネフローゼ症候群であり、高選択性の蛋白尿と副腎皮質ステロイドの著効性を特徴とする。従来から MCNS については多岐にわたる液性および細胞性免疫異常の存在が知られており<sup>1)-8)</sup>、教室でも Dohi, et al.<sup>24)</sup>がナチュラル・キラー(NK)活性の低下を、山田ら<sup>8),10)</sup>が末梢血リンパ球サブセットの異常を、森田ら<sup>25)</sup>が IL-2 産生能の低下を、平山ら<sup>26)</sup>が IFN- $\gamma$  産生能の低下を報告している。それでもなお、MCNS における免疫異常が十分に解明されたとはいえず、さらに免疫担当細胞間の相互作用についてサイトカインレベルでの検討が必須と思われる。そこで著者は、MCNS における免疫異常解明の一助として末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能について検討した。

#### 1. IL-1 活性測定法

IL-1 は、当初 LAF として発見されたことから、その生物学的活性の測定にはマウス胸腺細胞を標的細胞とした方法<sup>15)</sup>が主として用いられている。この測定法は、IL-1 添加による胸腺細胞の増殖能を利用して活性値を測定するものであり、測定感度および再現性がすぐれているとされる。しかし、マウス胸腺細胞の IL-1 に対する反応性は、マウスの遺伝子型<sup>27)</sup>や胸腺細胞サブセット<sup>28)</sup>および培養条件によって相違すること、さらには単球・マクロファージ培養上清中の IL-1 活性測定にあたり、培養上清中に含まれるプロスタグランジン  $E_2$  などの増殖抑制物質の影響を受けることが指摘されている<sup>21)</sup>。特に培養上清中の IL-1 が高濃度であると、IL-1 によるプロスタグランジン  $E_2$  産生増強効果が顕著になり、増殖抑制活性が出現してくるものと推測されている。

これらの問題点を考慮して、著者は健常成人から得られた LPS 刺激単球・マクロファージ培養上清を  $2^{-1} \sim 2^{-9}$  に 2 倍段階希釈して、各希釈濃度における IL-1 活性を

マウス胸腺細胞の増殖能から測定したのであるが、著者の成績ではマウス胸腺細胞は  $2^{-4} \sim 2^{-9}$  の希釈範囲に限定して濃度依存性増殖を示した。つまり、 $2^{-1} \sim 2^{-3}$  の希釈範囲では前述の増殖抑制活性の影響が強いと推測された。以上の成績から、著者は LPS 刺激単球培養上清を  $2^{-4} \sim 2^{-9}$  に希釈して測定した。

さらに、各測定系におけるマウス胸腺細胞の反応性の相違による測定誤差については、それを補正するために probit analysis 法<sup>18)</sup>を用い、一定力価の精製 IL-1 を 1 単位として IL-1 活性を求めることとした。

#### 2. MCNS における細胞性免疫異常と IL-1 産生能

今回の成績は、MCNS における末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能が健常対照に比して有意に上昇していることを明らかにしたものであり、MCNS における細胞性免疫異常に IL-1 産生が関与することを示唆するものといえる。

MCNS におけるサイトカイン産生異常について教室では、すでに末梢血リンパ球の IL-2 産生能<sup>25)</sup>および IFN- $\gamma$  産生能<sup>26)</sup>について検討しており、MCNS では IL-2 産生能と IFN- $\gamma$  産生能はいずれも低下していることが明らかにされている。IL-1 は前述のようにリンパ球の分化・増殖を誘導するが、この作用は IL-2 を介して行われることが知られている<sup>10),20)</sup>。すなわち、単球・マクロファージから産生された IL-1 が T 細胞の IL-2 レセプター発現と IL-2 産生を誘導する。産生された IL-2 は、IL-2 レセプターの発現した T 細胞に作用して T 細胞の分化・増殖を誘導すると考えられている。つまり、IL-1 は IL-2 産生調節因子と考えられており、IL-1 産生能と IL-2 産生能の間には密接な関係がある。

膠原病の代表である SLE と RA はいずれも B 細胞の異常活性化と T 細胞機能不全を免疫学的背景に持つ疾患であり、すでに IL-1 および IL-2 産生能についても検討されている。SLE および RA における末梢血リンパ球の IL-2 産生能は、いずれも低下していることが明らかになっている<sup>11),12)</sup>。SLE における IL-2 産生能低下の機序には、末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能が低下していることから、単球・マクロファージの IL-1 産生能低下を主因と考える報告がある<sup>11)</sup>。RA における IL-2 産生能低下は、末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能が逆に上昇している<sup>12)</sup>ことから、IL-1 に対する T 細胞の反応性低下が主因と考えられている。

MCNS を対象とした今回の検討は、単球・マクロファージの IL-1 産生能の上昇を明らかにしたといえる。したがって、MCNS における T 細胞の IL-2 産生能低下が単球・マクロファージの IL-1 産生低下に起因していると

いう機序は否定されよう。本疾患においては、IL-1 に対する T 細胞の反応性低下が IL-2 産生能低下の主因と解釈される。つまり本研究によって、MCNS における細胞性免疫異常は、IL-1 応答から IL-2 産生細胞活性化にいたる過程、換言すると機能的 T 細胞への分化過程に本質的な障害が存在することが、明らかとなった。

一方、MCNS における末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能が亢進していたことから、MCNS 患者末梢血中の単球・マクロファージは、健常成人に比してより活性化された状態にあると推測される。MCNS における末梢血単球・マクロファージ活性化の機序は現在のところ明らかではない。しかし免疫学的に単球・マクロファージは、抗原刺激を受けた感作 T 細胞から産生される液性因子により活性化されると考えられている。また、最近 Koretzky, et al.<sup>29)</sup>は異種抗原吸入後の肺胞マクロファージから IL-1 活性の産生されることを報告している。つまり、単球・マクロファージ活性化には異種抗原による刺激が関与しているものと思われる。従来から MCNS においては、牛乳の飲用<sup>30)</sup>や真菌の吸入<sup>31)</sup>などを誘因に発症する例が存在すること、再発には花粉アレルギーの関与していること<sup>32)</sup>が示唆されており、これらの抗原と末梢血中の単球・マクロファージ活性化との関係が注目される。さらに、IL-1 は単球・マクロファージ機能の指標<sup>20)</sup>と考えられているので、今回の著者の成績は MCNS における単球・マクロファージ機能亢進を示唆するものといえる。

### 3. MCNS の臨床経過と IL-1 産生能

今回の成績は、MCNS の NS 期に亢進していた IL-1 産生能が寛解期には回復する傾向を明らかにしており、IL-1 産生能がネフローゼの経過と密に関係していることを示唆している。MCNS には副腎皮質ステロイドが著効するという特徴があり、症例の大半に副腎皮質ステロイドが投与されている。したがって、MCNS の寛解期における IL-1 産生能回復の機序には副腎皮質ステロイド投与の影響も考慮しなければならない。

従来からサイトカイン産生に対する副腎皮質ステロイドの影響については広範な検討がなされており、大部分のサイトカインは副腎皮質ステロイド投与によってその産生が抑制されることが知られている<sup>33),34)</sup>。Leu, et al.<sup>34)</sup>は、副腎皮質ステロイドが LPS 刺激による単球・マクロファージの IL-1 産生を抑制することを明らかにしている。このような副腎皮質ステロイドによる IL-1 産生の抑制が生体内において発現していると考えられるので、MCNS 寛解期における IL-1 産生能の回復機序についても副腎皮質ステロイド投与の影響は大きいと思われる。

しかし、MCNS には稀に自然寛解例がみられること<sup>1),35)</sup>、これら自然寛解例と副腎皮質ステロイド著効例との病態の相違が明らかにされていないことから、MCNS 寛解期における IL-1 産生能の回復機序をステロイド投与の影響のみで説明することは困難である。

Hill, et al.<sup>36)</sup>は、マウスに IL-1 を投与すると血中の ACTH と副腎皮質ホルモン濃度が上昇することから、血中 IL-1 濃度の上昇が下垂体前葉からの ACTH 分泌を促進し、これが副腎皮質からの副腎皮質ホルモンの分泌を促進して IL-1 産生細胞からの IL-1 産生を抑制するというフィードバック機構を介する免疫調節機構の存在を示唆している。MCNS 寛解期における IL-1 産生能の回復には、このような免疫調節機構による内因性副腎皮質ホルモン分泌の亢進も関与していると思われる。つまり、MCNS 寛解期における末梢血単球・マクロファージの IL-1 産生能は、副腎皮質ステロイド投与および副腎皮質ホルモン分泌の亢進による IL-1 産生の抑制効果を反映しており、単球・マクロファージ機能の指標としてのみならず、治療用副腎皮質ステロイドの投与量を決定するための指標としても有用であると思われる。

### 4. IL-1 活性と IL-1 $\alpha$ および IL-1 $\beta$ 濃度

IL-1 には分子量が同一でアミノ酸組成の異なる  $\alpha$  および  $\beta$  の 2 種類が存在する<sup>10)</sup>。IL-1 $\alpha$  と IL-1 $\beta$  は共通のレセプターを介して標的細胞に結合するとされており<sup>37)</sup>、その生物学的作用の相違については現在のところ明らかにされていない。最近、抗 IL-1 抗体を用いた RIA 法<sup>17)</sup>や ELISA 法<sup>16)</sup>の開発によって IL-1 $\alpha$  および IL-1 $\beta$  の定量が可能になった。そこで著者は MCNS 患者における末梢血単球・マクロファージの IL-1 $\alpha$  産生能を ELISA 法で定量し、IL-1 $\beta$  産生能を RIA 法で定量して、それぞれ IL-1 産生能との関係について検討した。その成績では、MCNS における IL-1 $\alpha$  産生能は健常成人と同等であるが、IL-1 $\beta$  産生能は健常成人に比して亢進していることが明らかになった。さらに、IL-1 $\alpha$  産生能は IL-1 産生能と有意の相関を示さなかったのに対して、IL-1 $\beta$  産生能は IL-1 産生能と有意の正相関を示した。

健常成人について末梢血単球・マクロファージから産生される IL-1 $\alpha$  と IL-1 $\beta$  の抗原量を比較すると、IL-1 $\beta$  抗原量が IL-1 $\alpha$  抗原量に比して明らかに高値を示した。March, et al.<sup>10)</sup>はすでに、末梢血単球・マクロファージから産生される IL-1 は IL-1 $\beta$  が主体であることを明らかにしているが、今回の著者の成績はこの報告を追証するものといえる。加えて今回の成績は、MCNS における IL-1 産生能の亢進が主として IL-1 $\beta$  産生の亢進によることを明らかにしており、IL-1 $\beta$  産生能の測定も

MCNS における単球・マクロファージ機能の指標として有用な方法であることを示唆するものといえる。

## 結 論

微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)の病因における細胞性免疫異常の関与を究明する目的で、末梢血単球・マクロファージのインターロイキン 1 (IL-1)産生能について検討し以下の成績を得た。

1. MCNS における IL-1 産生能は健常対照に比して有意に上昇していた。一方、膜性腎症(MN)および IgA 腎症 (IgA-GN) における IL-1 産生能は、健常対照と差を示さなかった。

2. MCNS における IL-1 産生能は、ネフローゼ(NS)期には健常対照に比して亢進していたが、不完全寛解(IR)期および完全寛解(CR)期には健常対照と差を示さなかった。

3. ネフローゼ症状の推移と IL-1 産生能の関係について、同一症例の追跡により、IL-1 産生能が NS 期に上昇し、IR および CR 期に健常対照値に回復することが確認された。

4. MCNS における IL-1 $\beta$  産生能は健常対照に比して有意に亢進していたが、IL-1 $\alpha$  産生能は健常対照と差を示さなかった。

5. MCNS における IL-1 $\beta$  産生能は IL-1 産生能と正相関を示したが、IL-1 $\alpha$  産生能は IL-1 産生能と有意の相関を示さなかった。

以上、MCNS における細胞性免疫異常には末梢血単球・マクロファージにおける IL-1 $\beta$  を主体とした IL-1 産生能の亢進が関与しており、ネフローゼ症状の推移と IL-1 産生能は密接に関連している。IL-1 および IL-1 $\beta$  産生能の測定は、MCNS における単球・マクロファージ機能の指標となるほか、MCNS 寛解期における副腎皮質ステロイドの投与量を決定する臨床的指標としても有用である。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました石川兵衛教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、御校閲、御助言を賜りました細菌学講座榎葉周三教授ならびに第 3 内科学講座辻井 正教授に深謝いたします。さらに、直接御指導、御教示いただきました土肥和紘講師に感謝します。また終始、御協力いただきました第 1 内科学教室腎研究班の諸兄に感謝の意を表します。

本論文の要旨は、第 16 回日本臨床免疫学会総会(1988 年 6 月、大阪)および第 31 回日本腎臓学会総会(1988 年

10 月、奈良)において発表した。

## 文 献

- 1) Shalhoub, R. J. : Pathogenesis of lipoid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* 2: 556, 1974.
- 2) Matsumoto, K., Osakabe, K., Ohi, H., Yoshizawa, N., Harada, M. and Hatano, M. : Alternation of T-lymphocyte subpopulations in patients with primary renal disease and systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Immunol.* 11: 187, 1980.
- 3) Sasdelli, M., Rovinetti, C., Cagnoli, L., Beltrandi, E., Barboni, F. and Zucchelli, P. : Lymphocyte subpopulations in minimal change nephropathy. *Nephron* 25: 72, 1980.
- 4) 堺 薫, 嶋倉泰裕, 富沢修一, 伊藤末志 : リポイドネフローゼと細胞性免疫. *医学のあゆみ* 119: 351, 1981.
- 5) Sasdelli, M., Cagnoli, L., Candi, P., Mandreolli, M., Beltrandi, E. and Zucchelli, P. : Cell-mediated immunity in idiopathic glomerulonephritis. *Clin. Exp. Immunol.* 46: 27, 1981.
- 6) Nakabayashi, K., Arimura, Y., Yoshida, M. and Nagasawa, T. : Anti-T cell antibodies in primary glomerulonephritis. *Clin. Nephrol.* 23: 74, 1985.
- 7) 山田宏治, 土肥和紘, 高井正秀, 藤井謙裕, 花谷正和, 大楠皓亮, 石川兵衛, : 原発性糸球体疾患におけるリンパ球サブセット. *日腎誌.* 28: 127, 1986.
- 8) 山田宏治, 土肥和紘, 森田博文, 平山俊英, 高井正秀, 藤井謙裕, 石川兵衛, 岩城孝次 : 微小変化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, 1987.
- 9) Oppenheim, J. J., Kovacs, E. J., Matsushima, K. and Durum, S. K. : There is more than one interleukin 1. *Immunology Today* 7: 45, 1986.
- 10) March, C. J., Mosley, B., Larsen, A., Cerreti, D. P., Braedt, G., Price, V., Gillis, S., Henney, C. S., Kronheim, S. R., Grabstein, K., Conlon, P. J., Hopp, T. P. and Cosman, D. : Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature* 315: 641, 1985.
- 11) Linker-Israeli, M., Bakke, A. C., Kitridou, R.



- C., Gendler, S., Gillis, S. and Horwitz, D. A. : Defective production of interleukin 1 and interleukin 2 in patients with systemic lupus erythematosus(SLE). *J. Immunol.* **130** : 2651, 1983.
- 12) Shore, A., Jaglal, S. and Keystone, E. C. : Enhanced interleukin 1 generation by monocytes in vitro is temporally linked to an event in the onset or exacerbation of rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* **65** : 293, 1986.
- 13) 成人ネフローゼ症候群治療研究会 : わが国における成人ネフローゼ症候群に対する副腎皮質ステロイド療法の治療成績. *最新医学* **28** : 748, 1973.
- 14) 熊谷勝男, 伊東恭吾, 日沼州司, 多田正人 : マクロファージの純粋分離法. *免疫実験操作法* **8** : 2473, 1979.
- 15) Rosenwasser, L. J. and Dinarello, C. A. : Ability of human leukocytic pyrogen to enhance phytohemagglutinin induced murine thymocyte proliferation. *Cell. Immunol.* **63** : 134, 1981.
- 16) Tanaka, K., Ishikawa, E., Ohmoto, Y. and Hirai, Y. : Sandwich enzyme immunoassay for human interleukin 1  $\alpha$  produced in vitro by peripheral blood mononuclear cells. *Clin. Chim. Acta* **170** : 97, 1987.
- 17) Lisi, P. J., Chu, C. W., Koch, G. A., Endres, S., Lonneman, G. and Dinarello, C. A. : Development and use of a radio-immunoassay for human interleukin-1 beta. *Lymphokine Res.* **6** : 229, 1987.
- 18) Gillis, S., Ferm, M. M., Ou, W. and Smith, K. A. : T cell growth factor : parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J. Immunol.* **120** : 2027, 1978.
- 19) Gery, I. and Waksman, B. H. : Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediator(s). *J. Exp. Med.* **136** : 143, 1972.
- 20) Dinarello, C. A. : Biology of interleukin 1. *FASEB J.* **2** : 108, 1988.
- 21) Dinarello, C. A., Marnoy, S. O. and Rossenwasser, L. J. : Role of arachidonate metabolism in the immunoregulatory functions of human leukocytic pyrogen lymphocyte activating factor Interleukin 1. *J. Immunol.* **130** : 890, 1983.
- 22) Oppenheim, J. J., Stadler, B. M., Sraganian, R. P., Mage, M. and Mathieson, B. : Lymphokines ; their role in lymphocyte responses. Properties of interleukin 1. *Fed. Proc.* **41** : 257, 1982.
- 23) Whicher, J. T., Gilbert, A. M., Westacott, C., Hutton, C. and Dippe, P. A. : Defective production of leukocytic endogenous mediator(interleukin 1) by peripheral blood leukocytes of patients with systemic sclerosis, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and mixed connective tissue disease. *Clin. Exp. Immunol.* **65** : 80, 1986.
- 24) Dohi, K., Yamada, H., Takai, M., Fujii, Y. and Ishikawa, H. : Natural killer activity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in primary glomerular diseases. *Clin. Nephrol.* **27** : 11, 1987.
- 25) 森田博文, 土肥和紘, 小川修二, 平山俊英, 山田宏治, 高井正秀, 藤井謙裕, 石川兵衛 : 原発性糸球体疾患におけるインターロイキン 2 産生能と反応能. *日腎誌.* **29** : 1365, 1987.
- 26) 平山俊英, 土肥和紘, 山田宏治, 高井正秀, 藤井謙裕, 石川兵衛 : 原発性糸球体疾患における末梢血リンパ球の  $\gamma$ -interferon 産生能. *腎と透析* **20** : 733, 1986.
- 27) 矢野明彦, 山下慶三 : IL-1 に対する胸腺細胞反応の遺伝的統御. *臨床免疫* **20** : 157, 1988.
- 28) Piantelli, M., Lauroila, L., Maggiano, N., Ranelletti, F. O. and Musiani, P. : Role of interleukins 1 and 2 on human thymocyte mitogen activation. *Cell. Immun.* **64** : 337, 1981.
- 29) Koretzky, G. A., Elias, J. A., Kay, S. L., Rossman, M. D., Nowell, P. C. and Daniele, R. P. : Spontaneous production of interleukin-1 by human alveolar macrophages. *Clin. Immun. Immunopathol.* **29** : 443, 1983.
- 30) Sandberg, G. H., Bernstein, C. W., McIntosh, R. M., Carr, R. and Straus, J. : Severe steroid-responsive nephrosis associated with hypersensitivity. *Lancet* **1** : 338, 1977.
- 31) Hardwicke, J., Soothill, J. F., Squire, J. R. and Holti, G. : Nephrotic syndrome with pollen hypersensitivity. *Lancet* **1** : 500, 1959.
- 32) Witting, H. J. and Goldman, A. S. : Nephrotic syndrome associated with inhaled allergens. *Lancet* **1** : 542, 1970.
- 33) Arya, S. K., Wong-Staal, F. and Gallo, R. C. :

Dexamethasone mediated inhibition of human T cell growth factor and  $\gamma$ -interferon messenger RNA. *J. Immunol.* **133** : 273, 1984.

- 34) **Lew, W., Oppenheim, J. J. and Matsushima, K.** : Analysis of the suppression of IL-1  $\alpha$  and IL-1  $\beta$  production in peripheral blood mononuclear adherent cells by a glucocorticoid hormone. *J. Immunol.* **140** : 1895, 1988.
- 35) 真井久夫, 土肥和紘, 加藤 茂, 椎木英夫, 山田宏治, 花谷正和, 石川兵衛 : 自然寛解をした微小変化型ネフローゼ症候群の3例. *奈医誌.* **41** : 404, 1990.
- 36) **Hill, M. K., Stith, R. D. and McCallum, R. E.** : Interleukin 1 : a regulatory role in glucocorticoid-regulated hepatic metabolism. *J. Immunol.* **137** : 858, 1986.
- 37) **Killian, P. L., Kaffka, K. L., Stern, A. S., Woehle, D., Benjamin, W. R., Dechiara, T. M., Gubler, U., Farrar, J. J., Mizel, S. B. and Lomedico, P. T.** : Interleukin 1  $\alpha$  and interleukin 1  $\beta$  bind to the same receptor on T cells. *J. Immunol.* **136** : 4509, 1986.