全身性自己免疫性疾患におけるリンパ球の機能的分担と in vivo および in vitro 細胞性免疫にかんする研究

京都大学医学部内科学第二講座

星野 孝◇ 中川 潤 高橋 隆幸
堀内 徹郎 内田 温士 坂根 剛

STUDIES ON FUNCTIONAL ASSIGNMENT OF LYMPHOCYTES IN RELATION
TO IN VIVO AND IN VITRO CELL-MEDIATED IMMUNITY IN
PATIENTS WITH SYSTEMIC AUTOIMMUNE DISEASES

Takashi HOSHINO, MD, Jun NAKAGAWA, MD, Takayuki TAKAHASHI, MD,

Tetsuro HORIUCHI, MD, Atsushi UCHIDA, MD and Tsuyoshi SAKANE, MD

The Second Department of Internal Medicine, Kyoto University, Faculty of Medicine

概要 各種全身性自己免疫性疾患の病因の追究と病態の解明を目的として、SLE 23例、PSS11例、RA39例、DM 4例の患者より得た末梢血リンパ球について、subpopulationおよびsubclassの構成と免疫学的機能分担について検討した。まず大部分の患者末梢血Tリンパ球は相対的・絶対的減少を示すと共に、それぞれ対応する自己抗原に感作されたsubclassが存在し、この細胞はin vitroで抗原刺激によりLIFを産生した。さらに実際にこの細胞群がin vivoで組織病変の構築にあずかっている事実を、1例のRA患者関節液中のLIF活性の検出により立証した。次に抗原刺激によるリンパ球の幼若化反応をdose-response関係より検討した結果、患者リンパ球には特定濃度のPHA, PWM, Con Aに反応するsubclassの量的変化が認められた。そこで末梢血リンパ球をBSA濃度勾配遠沈法により分画し、比重別細胞分布、そのsubpopulation構成および機能にかんし、5例の正常者より得た値と各1例のSLE, PSS, RA患者の値とを比較検討した。その結果、特異および非特異抗原の認識やlymphokine産生などの各免疫反応は、それぞれ異なるsubclassにより遂行されており、リンパ球における機能的分担を示唆した。また女性SLE患者リンパ球にはUV照射後のDNA修復能の低下が認められ、この形質異常は本症リンパ球異常の発生に重要な意味をもつと考えられた。以上各自己免疫性疾患には、それぞれ固有のリンパ球構成と機能的変化があり、細胞性免疫の異常は各機能に関与するsubclassの量的偏移や質的異常に帰納せしめうると考えられた。

緒 言

全身性自己免疫性疾患、とくにSLEを始めとして従来膠原病の範疇に含められてきた疾患では、血中自己抗体の存在と共に病理組織学的には主に小動脈における増殖性血管炎と広範な組織壊死像

があり、病巣内にはリンパ球を主とする小円形細胞の著明な浸潤が認められる。これらの所見は、少なくとも系統的血管病変を伴う自己免疫性疾患の発生には細胞性免疫の関与が主体をなす過程が極めて重要であり、自己抗原の認識、抗体の産生などと共に病態の構築にあずかっていることを示しているものと考えられる。このような視点に立

〔昭和52年5月2日受稿〕

つて、われわれはかねてから各種自己免疫性疾患の病因の追究と病態の解明を目的として、患者リンパ球にかんする免疫細胞学的、血液学および細胞遺伝学的研究を進めてきた^{1)~3)}。今回は患者末梢血リンパ球のsubpopulationおよびsubclass構成と免疫学的機能分担にかんして、主として遅延型反応およびin vitro抗原反応性の方面から検討を加えたので、その成績の概要を記して病態構成上の意義を考察すると共に、これらの変化をもたらす細胞形質解明への手がかりとして、リンパ球のDNA修復能にかんする若干の検討結果をも述べ、併せて今後の研究発展への参考に資したい。

症 例

京大第二内科および関連病院に入院して診断の確定した全身性エリテマトーデス (SLE) 23例、進行性硬化症 (PSS) 11例、リウマチ様関節炎 (RA) 39例、および皮膚筋炎 (DM) 4例の患者を対象とした。すべての症例に以下の全検査を施行することはできなかつたので、各検査を行なつた症例数はその項に示した通りである。また PPD 皮膚反応の成績のみは、関西地区各病院よりアンケート調査にて集積した成績を一部利用した。各疾患患者は、それぞれの診断基準、ことに SLE と RA はアメリカ・リウマチ協会の診断基準を満足する確実例のみである。各検査は原則として治療前に施行したが、治療中の症例はすべて活動性でかつ prednisolone 10mg/d 以下の投与症例で、リンパ球構成や機能に影響を与える如き免疫抑制剤の使用例および使用中 3 週間以内の症例は対象から除外してある。

正常対照者は主として病院勤務の健康人であるが、各疾患患者はその性・年齢構成が著しく異なるため、必ずしも患者と対照者との構成はmatchしていないが、可及的にそれぞれの疾患毎に適当な対照者を選ぶように努めた。

方法および成績

1. 皮膚遅延型過敏反応 (図1)

診断用 PPD を用いたツベルクリン反応 (ツ反応) の成績は、SLE, PSS, DM および RA いずれの疾患

1. Positive rate of PPD tuberculin reaction

2. Tuberculin reaction in relation to in vitro lymphocyte blastogenesis to PHA in RA

3. Positive rate of PHA skin test

図1. 遅延型皮膚反応の成績

でも陽性率50%以下であり、明らかな遅延型反応の低下が認められた。ことにRAでは高令者が多い関係もあつて、約1/4症例がツ反応陽性を示したに過ぎなかつた。

そこでRA患者39例のリンパ球について、in vitro PHA添加3日培養による幼若化率を調べてみると、ツ反応の陽性例は殆どわれわれの正常値55~85%の範囲内の値を示したが、ツ反応陰性例の半数以上は異常低値を呈し、とくに幼若化率30%以下の著明低下例が約1/4例に認められた。この事実は皮膚遅延型過敏反応性とリンパ球のin vitro細胞性免疫反応性との密接な相関を示唆していると考えられた。

さらにPHA-Pによるin vivo遅延型皮膚試験を実施してみると⁴⁾、正常者13例はすべて陽性反応を示すのに対し、SLE 14例、およびRA 23例における陽性率はそれぞれ71.4%、69.5%に止まり、皮膚反応の低下がツ反応のような2次反応のみならず、1次反応に対しても存在する事実が示された。

2. 末梢血リンパ球のsubpopulation構成 (図2)

そこでFicoll-Hypaque比重分別遠沈法で集めた末梢血リンパ球について、Jondal変法⁵⁾により

図 2. 末梢血中のE-rosette形成細胞 (T-リンパ球) 比率および絶対数

subpopulation構成を検討した。その結果SLE 23例, PSS11例, RA14例におけるE-rosette形成T細胞は, その比率, 絶対数共に健康人37例より得た正常値に比して有意の減少を示した。とくにSLEでは, そもそも白血球数およびリンパ球数減少の認められる症例が多い関係上, T細胞絶対数は著明な減少を呈した。

3. 末梢血および病巣内リンパ球による白血球遊走阻止因子LIFの産生

次に自己免疫性疾患の病態構築にあずかるリンパ球の役割りを追究する目的で, まず各種自己抗原に対するLIFの産生を, Sjöborg法⁶⁾またはClau-sen法⁷⁾によって検討した(図3)。その結果SLE患者リンパ球は白血球homogenateを抗原とした場合22例中15例に, 白血球核に対して8例中4例, 変

図 3. 各種自己抗原を添加培養した患者リンパ球による白血球遊走阻止因子 (LIF) の産生

性DNAに対し17例中8例に, PSS患者リンパ球はラット皮膚collagenを抗原とした場合3例中2例に, またRA患者リンパ球はaggregated IgGおよびそれを多量に含むと考えられるRA患者関節滑液膜homogenateを抗原とした場合にそれぞれ21例中13例, および10例中3例と, 高率に白血球遊走阻止試験LMTが陽性であった⁸⁾。すなわち患者リンパ球は, それぞれ対応する自己抗原に感作され

図 4. Sephadex G200 column chromatographyにより分画した関節液中の蛋白成分におけるLIF活性の証明

ており、その抗原に接してLIFを産生して生体内で遅延型過敏反応の発現にあずかり、次に組織障害を引き起こす原因となつていていると考えられた。

そこでRA患者を例にとつて、実際に病巣には感作リンパ球によつて産生されたLIFが存在するか否かを確認するため、次の検索を進めた(図4)。すなわちRA患者関節穿刺液を透析し、その透析内液をヒアルロニダーゼ処理後、sephadex G-200 column chromatographyで分画して得た三つの蛋白分画⁹⁾について、Rocklin¹⁰⁾のLIF assay法に準じて健康人の分離末梢白血球をindicator cellとしてLMTを実施したところ、albumin (69,000ダルトン)およびIgGに相当する分画に明瞭なLIF活性を証明した。しかし対照とした変形性関節症患者関節穿刺液中には、このような活性は全く見出せなかつた。この成績は、RA患者滑液膜病巣に浸潤した感作リンパ球が自己抗原と接してLIFを産生し、遅延型免疫反応を演じて局所病変の成立にあずかつている事実を示している。

4. 末梢血リンパ球のphytomitogen反応性におけるdose-response関係(図5)

次にリンパ球、とくにT-細胞の重要な機能である抗原認識能を明らかにする目的で、各種のphytomitogen刺激によるin vitro幼若化反応、とくに異なる抗原量に反応するそれぞれのリンパ球群の大きさを求めるために、両者のdose response関係を検討した¹¹⁾。すなわち末梢血リンパ球に、至

適濃度の1/10以下の低濃度より、その約10倍以上の高濃度に至る各種濃度のPHA, Con AまたはPWMを加えて3日間培養し、収獲前6時間における³H-thymidine (³H-TdR)の取り込みを指標として、それぞれの反応性を求めた¹²⁾。

その結果、正常者およびSLE患者リンパ球は共に至適濃度のphytomitogen刺激に対して当然最も強い反応を示したが、各抗原濃度における両者の反応を比較した場合、患者リンパ球にはかなりの異常が認められた。すなわちPHAに対するSLE 20例の平均値は、その至適濃度および低濃度において正常者20例の平均値より有意の反応低下を、Con Aに対するSLE 9例の平均値は正常者14例の平均値より、その高濃度における反応亢進性を、またPWMに対するSLE 11例の平均値は正常者14例の平均値にくらべて、すべての濃度、とくに低濃度における反応低下が認められた。

さらに興味あり重要な所見は、全くphytomitogenを添加せずに3日間単純培養した非刺激対照リンパ球にも、SLE患者20例のリンパ球は、正常人20例のリンパ球に比して、有意のDNA合成の増加を認めた事実であろう。

5. ウシ血清アルブミン(BSA)濃度勾配遠沈法により分画した各リンパ球群の免疫学的特性

Phyтомitogen反応性における患者リンパ球反応の偏移をさらに追究する目的で、Augustの法¹³⁾に

図5. 正常者およびSLE患者リンパ球のphytomitogen幼若化反応におけるdose-response関係 (mean±SEM)

従いウシ血清アルブミンを用いた濃度勾配遠沈法によつて末梢血リンパ球を分画し、各分画細胞の構成と機能を検討した。すなわち35%より19%に至る2%濃度間隔の非連続BSA gradientの最上層に、予めFicoll-Hypaque法で集めたリンパ球を17%BSA溶液中に浮遊して重層し、これを900 g 45分間遠沈した。この操作によつてヒト末梢血リンパ球を各濃度BSAの境界に分散して沈殿した9分画に分けることができたので、それらを別々に採集してよく洗浄し、その免疫学的特性を調べた¹⁴⁾。図6は正常人5例より得たリンパ球について各分画における細胞数分布、T-細胞比率およびphyto mitogen反応性の成績を示している。すなわち正常者リンパ球の約40%以上が第4分画に集まり、次いで第5、第3および第6分画の順に多く、それ以外の低比重および高比重リンパ球は数的に少量であつた。さらに第4分画リンパ球の約90%、第3分画リンパ球の約80%、第5分画リンパ球の約70%はT-細胞であり、結局末梢血リンパ球中のT-細胞の大部分は第3～第5分画に集まる

図6. BSA濃度勾配遠沈法により分画した正常者リンパ球の細胞数分布、T細胞比率およびphyto mitogen芽効若化反応性

事実が明らかとなつた。一方至適濃度のphyto mitogen刺激に対して、T-細胞分画である第3、第4および第5分画リンパ球は当然最も強い反応性を示したが、PHAとCon A反応性のそれぞれのpeakは異なる分画に存在した。すなわちPHA反応性は第4分画リンパ球が最も強く、次いで第3、第5分画の順であり、一方Con A反応性は第3分画リンパ球が最も強く、次いで第4、第5分画の順であつた。この成績は、PHAとCon Aに反応するそれぞれのリンパ球群が異なるpopulationに属することを示唆している。

図7はSLE, PSS, およびRAの各1例の末梢血リンパ球について、BSA濃度勾配遠沈法で分画した各群の細胞数分布およびsubpopulation構成を示している¹⁵⁾。まずSLE患者リンパ球は第5分画に最も多く、次いで第6および第4分画の順に多く分布し、リンパ球が全体として重い方向に偏移していると共に、第3分画のリンパ球が正常者に比

図7. BSA濃度勾配遠沈法により分画した患者リンパ球の細胞数分布およびsubpopulation構成

して極端に少ないという特徴を得た。subpopulation構成上、第4～第6分画は“T-cell rich”でそのpeakは第6分画リンパ球にあり、第7～第9分画の重いリンパ球群は“B-cell rich”であつた。また第3分画のリンパ球は数的減少のみならず、T-細胞比率の低下もあり、SLEではこの分画のリンパ球の欠失が特徴であると考えられた。一方RA患者のリンパ球の比重分布とsubpopulation構成はSLEとほとんど同様のpatternを、またPSS患者のリンパ球は正常者とほとんど同様のpatternを示すという成績を得た。これらの実験結果は、末梢血リンパ球の比重分布および各分画のsubpopulationの構成が、各疾患によつてそれぞれ異なる特有のpatternをもつ事実を示している。

そこで前記LMTの成績とも併せて、各疾患の病態構成にあずかる特異リンパ球群の所在が問題となる。図8は図7と同一のSLE患者1例の各分画リンパ球について、特異抗原に対する幼若化反応およびLIF産生を検討した成績を示している¹⁵⁾。まず各分画リンパ球 $7 \times 10^5/\text{ml}$ をウシ胸腺

図8. BSA濃度勾配遠沈法により分画したSLE患者リンパ球の変性DNA刺激培養後の幼若化率および培養上澄のLIF活性

より得たdenatured DNA 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と共に7日間培養し、幼若化反応を目標として変性DNA感作リンパ球群の所在を求めたところ、第4～第7、とくに第5分画のリンパ球の幼若化率の明らかな上昇を観察しえた。またこの際の各培養上澄についてLIF活性を検討したところ、agar-plate法では第6分画のリンパ球に、microtube法では第4分画のリンパ球にLIFの産生を認めた。以上の成績によつて、SLE患者のリンパ球中にはDNAに感作されたsubclassが存在し、DNAを抗原と認識して幼若化し、あるいはLIFを産生して遅延型過敏反応を引き起こすことを示している。

6. リンパ球のDNA修復能 (図9)

そこでSLEにおけるリンパ球subclassの量的質的偏移の原因、およびDNA感作への過程を解明する一手段として、まず患者リンパ球のDNA修復能に注目した¹⁶⁾。ほぼ純粋に集めた患者リンパ球 1×10^6 個を液層1mmの浮遊液となるようにペトリ皿に入れ、直上50cmの距離より100erg/mm²の紫外線(UV)を照射した。予め正常者リンパ球について予備実験で決定した至適条件に従い、照射直後にhydroxyureaを 1×10^{-2} molとなるように加えてde novo DNA合成を阻止すると共に、10 $\mu\text{C}/\text{ml}$ の³H-TdRも加え、その後の4時間以内にunsch-

図9. 紫外線照射後におけるリンパ球のDNA修復能

cheduled DNA合成によつて核内に取り込まれた³H-TdRの放射活性を指標として、UV照射後のDNA修復量を測定した。その結果10例のSLE患者リンパ球のDNA修復能は正常者にくらべて明らかな低下を示した。患者がすべて女子であつたので、11例の女子正常者リンパ球の値とSLE患者リンパ球の値を比較すると、極く少数例を除き、ほとんどoverlapもなく両者は明瞭な相違を示した。しかしPSS, RA, Behçet病など合計11例の他の全身性自己免疫性疾患患者リンパ球には、このようなDNA修復能の低下は認められなかつた。従つてDNA修復能の低下は、女性SLE患者リンパ球のもつ重要な特長の一つと考えられた。

考 案

SLEを始めとする各種の全身性自己免疫性疾患における組織学的病変の主体は、小血管炎と各臓器および組織の破壊壊死であつて、その病変の修復に膠原線維増生を始めとする増殖性変化を伴っている。このような組織病変の発生には、その組織に浸潤したリンパ球が重要な意義をもっており、組織における細胞性免疫反応の主役を果たすと共に、流血中のリンパ球と相俟つて自己抗体の産生にも関与していると考えられる。最近リンパ球のsubpopulationの同定とその機能的検索が広く行なわれるようになるにつれ、各subpopulationやsubclassの構成および相互作用が、免疫反応では極めて重要であることが明らかになってきた。われわれはかねて自己免疫性疾患患者リンパ球の免疫学的、血液学的特性を明らかにして、疾患の病因および病態構築における意義を追求してきたが^{2) 3) 8) 14)}、今回はSLE, PSS, RAなどのいわゆる膠原病に属する系統的自己免疫性疾患を対象として、患者リンパ球における各subclassの構成と機能的分担を検討した結果、前記のような興味ある成績を得た。

まず二、三の皮膚反応を利用して患者の遅延型過敏反応を調べたところ、PPDの如き特異抗原に対する二次反応も、PHAの如き非特異抗原に対する一次反応も、共に低下を示すことが明らかと

なつた¹⁷⁾。このin vivo細胞性免疫反応の成績は、in vitroにおけるリンパ球免疫反応の成績とよく相関しており、とくにRA患者についてPPD皮膚反応とリンパ球PHA幼若化率との相互関係で確認した。さらにわれわれの成績および文献上の報告でも明らかなように、SLE, PSS, RA等の患者末梢血リンパ球には、T-細胞の比率的、絶対的減少も認められている。従つてこれら疾患患者における遅延型皮膚反応の低下は、リンパ球の一般的抗原反応性の低下と共に、T-細胞の数的減少にも由来していると考えられよう。

しかしこの見解は、本症の障害組織において血管炎を伴う著しい細胞性免疫反応が認められる事実と相容れないものであり、この問題の解決は本症の病態の解明に極めて重要な鍵をもつと考えられる。まず本症の病像の構築にあずかる特異的リンパ球subclassの存在が想定される。そこで細胞性免疫における組織反応を演出すると言われるlymphokineの産生および局在を介して、この問題へのアプローチを試みた。その結果全身性自己免疫性疾患患者の末梢血リンパ球は、それぞれ対応する自己抗原に感作されており、in vitroで抗原に接してLIFを産生することを証明した。またRA患者関節液中のIgGおよびalbumin相当分画中にも、明らかなLIF活性が検出された。これらの所見は、自己免疫性疾患患者リンパ球は、T-細胞の総体的減少にも拘らず特定の自己抗原に接してlymphokineを産生し、実際に細胞性免疫反応を介して病像の成立に関与するsubclassが存在することを示しており、リンパ球の病態学上の重要な意義が改めて確認された。さらにSLE患者リンパ球において、抗原非添加培養細胞にもDNAを合成して幼若化反応をする細胞が認められたわれわれの成績にも示されるように、患者リンパ球中にはin vivoで既に特異抗原に感作の後に刺激されて脱分化し、細胞分裂cycleへ踏み出しているpopulationが健常者にくらべて比較的多く存在することも明らかにしえた。

次に各種phytomitogen幼若化反応におけるdose-

response関係によつて検討した非特異的抗原認識能にかんする成績に示されるように、SLE患者リンパ球には正常者リンパ球に比して、特定濃度の抗原に反応する細胞群の量的変化、ないしは異なる反応を営む細胞群の存在が示唆された。実際にBSA濃度勾配遠沈法で分画したリンパ球群の細胞数分布、phytomitogen反応性および特異抗原反応性にかんする成績を総合すると、末梢血リンパ球は、いくつかの異なる機能的および形態的subclassの集合より成り立ち、SLE、PSS、RAなどの疾患では、それぞれかなり特徴的なリンパ球構成patternが存在することが示唆された。すなわちまず正常者でも、PHAとCon Aに最も強く反応するT-細胞subclassは、比重分画上異なる群に属していると考えられた。また検索しえたSLEとRA患者のリンパ球構成は、その比重分布およびT-細胞分布上近似のpatternを示しているが、正常者リンパ球とは明らかに異なり、第3分画の絶対数減少とT-細胞比率低下および第6分画の絶対数増加とT-細胞比率上昇が認められ、T-細胞は全体的に重いリンパ球群へと偏移している傾向がうかがわれた。しかしPSS患者リンパ球はむしろ正常者と近い構成patternをもち、その偏移は前2者に比して軽度であつた。

そこで病態構築上に最も重要である特異抗原感作リンパ球や、lymphokine産生リンパ球の所在を確かめる目的で、SLE患者1例についてリンパ球の変性DNAに対する特異反応を検討した。その結果、DNA感作リンパ球はT-cell rich fractionである第4～第7、ことに第5分画中に存在し、またLIF産生細胞もT-cell rich fractionではあるが第4または第6分画中に存在するという成績を得た。このことは特異抗原感作リンパ球中の抗原認識群とlymphokine産生群とは、恐らく同一のsubclassに属する細胞ではなく、またLMTの方法が異なると検出するLIF産生細胞群も異なることを示唆しており、末梢血リンパ球は各種の機能を分担するsubclassの集合によつて構成されていると考えられた。さらに正常者ではCon Aに最も強く

反応する第3分画T-細胞がSLE患者では、ほとんど欠除しており、このリンパ球が変性DNAにも反応しなかつた成績も興味深い。すなわちCon A刺激リンパ球にはsuppressor effectが認められることを証明した動物¹⁸⁾やヒト¹⁹⁾の実験成績を考慮すると、SLEにおいてsuppressor T-細胞の消失ないしは減弱があり、これが第3分画に属すべきリンパ球subclassである可能性を示唆していよう。

以上のように自己免疫性疾患では、正常者に比して各機能を分担するリンパ球subclassの量的偏移、質的異常或いは特定cloneの欠損の可能性が示唆され、それらの変化はそれぞれの疾患によつて異なる特徴的patternを示すと考えられた。そこでこのようなリンパ球構成の偏移や異常をもたらす原因の一つとして、特定リンパ球の生命維持上の遺伝学的欠陥が考えられる。紫外線照射後のunscheduled DNA合成を測定したわれわれの成績によつて、女子SLE患者リンパ球には明瞭なDNA修復能の低下が認められたが、これは本症患者リンパ球における重要な質的欠陥の存在を示唆しており、上記リンパ球構成の偏移をもたらす要因の一つとして強調されよう。以前よりわれわれ²⁾はSLE患者末梢血リンパ球には、各種の不安定型および安定型染色体異常が頻発し、また細胞分裂の異常をも伴っている事実を報告してきたが、DNA修復能の低下は染色体異常発生の誘因としても重要である。因みにSLE患者より、分離培養した線維芽細胞にはDNA修復能の異常は認められないと報告しているAltmannら²⁰⁾の成績を参考にするに、SLE患者体細胞におけるDNA修復能の低下という形質異常は、リンパ球に限定している可能性があり、自己免疫性疾患における各種の病態は、結局リンパ球の量的、質的異常に帰納せしめうると主張してきたわれわれの考えを支持する所見として重要である。

勿論SLEを始めとする自己免疫性疾患には、血清自己抗体の存在は病態学上重要な意義をもっている。とくに抗原抗体複合物の生成および組織沈着によつて、臓器の機能障害が引き起こされると

共に、補体依存性の抗体によつて細胞破壊を来したり、各種の体液性免疫のmediatorを介して全身症状の発現にあずかっている事はCoombsのI型～III型のアレルギー反応による組織障害の機構として周知の通りである。さらにこのような疾患患者の血清蛋白成分の中には、抗体の他にも直接・間接的にリンパ球の抗原反応性を抑制する作用をもつ因子の存在も指摘されており、このような血清因子はリンパ球をin vitroで洗浄しても完全に除去されずに残り、in vitro免疫反応抑制の一因をなす可能性も完全には否定できない。また或る自己抗原に感作された患者リンパ球がantigenic competitionを起こしてin vitro免疫反応の低下を招いている可能性や、逆に抗原抗体複合物や阻止抗体の存在によつてimmunological enhancementを引き起こす可能性など、自己免疫性疾患におけるリンパ球の機能に關与する機構は非常に複雑で、未解決の多くの問題が残されている。今後リンパ球の機能的subclassの解析を続けると共に、体液性免疫との関連性をも追究する予定である。

結 論

SLE, PSS, RA, DMなどの全身性自己免疫性疾患患者の末梢血リンパ球について、そのsubpopulationおよびsubclassの構成と機能を検討し、これら疾患の病因および病態を構築するリンパ球の意義を解明せんと試みた。現在までに得られた成績を要約して、次の如き結論を導き得た。

1) 患者末梢血リンパ球にはT細胞の相対的および絶対的減少と共に、in vitro一般抗原反応性の低下があり、これは一次抗原および二次抗原に対するin vivo皮膚遅延型過敏反応の低下とよく相關した。

2) 患者末梢血リンパ球には、それぞれ特異自己抗原に感作された細胞群が存在し、in vitroで抗原に接してLIFを産生する。このリンパ球が実際に病巣における組織変化の構築に与っている事実を、RA患者関節液中におけるLIF活性の検出によつて立証した。

3) 末梢血リンパ球のphyto mitogen反応性にお

けるdose-response關係を検討した結果、SLE患者リンパ球は正常者リンパ球に比して、特定濃度のPHA, Con AおよびPWMに反応する細胞群の量的変化が認められた。

4) ウシ血清アルブミン濃度勾配遠沈法を用いて末梢血リンパ球を比重によつて九つに分画し、各分画への細胞数分布、subpopulation構成および機能を検討した。その結果、特異的および非特異的抗原認識やlymphokine産生などの細胞性免疫反応の各過程は、それぞれ異なる特定のT-細胞subclassによつて遂行されると考えられ、リンパ球における機能的分担を立証した。

5) 各自己免疫性疾患は、リンパ球分画上それぞれ特有のpatternを示しており、細胞性免疫の異常は各機能に關与するリンパ球subclassの量的偏移や質的異常に帰納せしめうるとみなされる所見を得た。とくにSLE患者リンパ球にはCon Aに反応すべき一部の特定のT-細胞群の欠損があり、本症におけるsuppressor T-細胞の低下との關係が示唆された。

6) 女子SLE患者リンパ球には、紫外線照射後のDNA障害に対する修復能の低下が認められ、この形質異常は本症におけるT-細胞群の偏移やリンパ球染色体異常の発生要因として重要であると考えられた。

文 献

- 1) 星野 孝：リンパ球と免疫反応。訂補2版，中外医学双書，中外医学社，東京 1973, p270. —2) 星野孝，他：SLE患者リンパ球の細胞遺伝学的異常とその意義。臨床免疫 3：616, 1971. —3) 星野孝，他：自己免疫性疾患におけるリンパ球の意義。日内会誌 61：607, 1972. —4) Blease RM, et al: Phytohemagglutinin as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. J Lab Clin Med 81：538, 1973. —5) Jondal M, et al: Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming non-immune rosettes with sheep red cells. J Exp Med 136：207, 1972. —6) Sjöborg M: The leukocyte migration technique for in vitro detection of cellular hypersensitivity in man, Bloom, BR and Glade, RR ed, In vitro methods in cell-mediated immunity. Academic Press, New York 1971, p 273. —7) Clau-

- sen JE: Leukocyte migration agarose technique. Some technical details. *Acta Allerg* 28: 351, 1973. —8) 中川 潤, 他: マクロファージ遊走阻止試験 (MIT) および白血球遊走阻止試験 (LMT), 測定法と臨床的意義の概括. *日本臨床* 34: 2672, 1975. —9) Ziff M: Autoimmune process in rheumatoid arthritis, Brent L and Holborow J ed *Progress in Immunology II* Vol 5, North Holland Publ Comp Amsterdam 1974, p 37. —10) Rocklin RE: Products of activated lymphocytes; Leukocyte inhibitory factor (LIF) distinct from migration inhibitory factor (MIF). *J Immunol* 112: 1461, 1974. —11) Rigas DA, et al: Transformation of blood lymphocytes in ataxia telangiectasia. Dose and timeresponse to phytohemagglutinin. *Inter Arch Allerg & Appl Immunol* 39: 221, 1970. —12) Sakane T: Studies on cell-mediated immune response by human lymphocytes in vitro III. Lymphocyte response to phytohemagglutinin and concanavalin A in patients with autoimmune diseases. *Acta Haemat Jap* 39: 29, 1976. —13) August CS, et al: The response in vitro of human lymphocytes to phytohemagglutinin and to antigens after fractionation on discontinuous density gradients of albumin. *Cell Immunol* 1: 603, 1970. —14) Sakane T: Studies on cell-mediated immune response by human lymphocytes in vitro. II. Human T lymphocyte subpopulations in terms of differential responsiveness to phytoantigen. *臨床免疫* 7: 1193, 1975. —15) 高橋隆幸, 他: SLE および類縁疾患の血液学的研究: 第8報 リンパ球の subpopulation T-cell subunits およびその機能について (抄). *日血会誌* 38: 411, 1975. —16) 堀内徹郎, 他: ヒト末梢血リンパ球の DNA 修復に関する研究. 第2報 SLE患者リンパ球の紫外線照射後の DNA 修復. 第4回日本臨床免疫学会総会, 7月9日, 岡山, 1976. —17) Bitter T, et al: In vivo and in vitro study of cell-mediated immunity during the onset of SLE. *Arthritis Rheum* 14: 152, 1971. —18) Rich RR and Rich SS: Biological expression of lymphocyte activation. IV. Concanavalin-A activated suppressor cells in mouse mixed lymphocyte reaction. *J Immunol* 114: 1112, 1976. —19) Show L, et al: Suppressor cell activity after Con A treatment of lymphocytes from normal donors. *J Exp Med* 143: 1100, 1976. —20) Altmann H: DNA repair mechanisms. *Symposia Medica Hoechst*, FK Schattauer Verlag. Stuttgart 1972, p 1.