

氏 名	おおやま あつし 大 山 敦 嗣
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1751 号
学位授与の日付	平成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Up-regulated TGF- β mRNA expression in splenic T cells of high IgA-prone mice: a murine model of IgA nephropathy with glomerulosclerosis. (糸球体硬化を伴う IgA 腎症の動物モデルである高 IgA 血症 (HIGA) マウスにおける脾臓 T 細胞の TGF- β mRNA の発現増加に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 本 庶 佑 教 授 西 川 伸 一 教 授 篠 山 重 威

論 文 内 容 の 要 旨

IgA 腎症の動物モデルとして ddY マウスが知られているが、ddY マウスは純系ではないので個体差が大きいという欠点があった。そのため、ddY マウスのうち血清 IgA 濃度が高いものを選択的に交配し、個体差が少なく安定して高 IgA 血症と IgA 腎症様の腎病変を呈する新しい HIGA マウスを作成した。これまでの検討で(1)HIGA マウスは10週令から高 IgA 血症を呈し、60週令以降までそれが続くこと、(2)腎臓の糸球体において若齢時よりメサンギウム領域に基質蛋白と IgA が沈着すること、(3)血中の IgA が多クローン性に増加すること、(4)ddY マウスと同じく血中及び糸球体に retrovirus 由来の gp70 の増加を認めること、(5)BALB/c マウスや wild-type ddY マウスに比べ腎臓において10週令より type I, IV collagen, fibronectin, TGF- β の mRNA 発現の亢進と type IV collagen, fibronectin 蛋白の沈着増加を認めること、を証明した。今回は HIGA マウスが高 IgA 血症を呈するメカニズムを脾臓リンパ球の機能異常を中心に検討した。

血中 IgA と IgG は Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) で測定した。また、脾臓リンパ球を採取し、CD3, CD4, CD8, B220, 表面 IgA 陽性細胞数を flow cytometry にて測定した。腎臓の糸球体における CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞浸潤を免疫組織化学法で検出した。さらに脾臓リンパ球あるいは B 細胞を除去して T 細胞主体の細胞群から RNA 抽出を行い、TGF- β の mRNA 発現を northern blot 法を用いて検討した。血中 TGF- β 1 濃度は ELISA で測定した。HIGA マウスに対する対照として wild-type ddY マウスと BALB/c マウスを用いた。

血中 IgA は10~15週令(若齢)では HIGA, wild-type ddY, BALB/c マウスでそれぞれ 28.4 ± 8.0 , 70.4 ± 11.5 , 5.7 ± 0.7 mg/dl, 40~50週令(老齢)ではそれぞれ 98.3 ± 5.3 , 127.8 ± 23.0 , 10.4 ± 2.0 mg/dl であり、いずれも HIGA, wild-type ddY マウスにおいて BALB/c マウスより有意に増加していた。対照的に IgG においては若齢では HIGA, wild-type ddY マウスにおいて増加がみられたが老齢においては wild-type ddY マウスのみ高値を示した。

Flow cytometric analysis では CD3 陽性細胞の率は若齢時において BALB/c マウスが HIGA マウスに対し増加していたが HIGA マウスは加齢後もあまり率に変化がなかったのに対して BALB/c マウスは CD3 陽性細胞の減少を認め、老齢では有意差は認められなかった。B220陽性細胞は若齢、老齢とも両種間に有意差を認めなかったがいずれも加齢に伴う減少を認めた。CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞に関しては両種とも加齢に伴い CD4 陽性細胞は減少、CD8 陽性細胞増加したが両種間に有意差は認めなかった。表面 IgA 陽性 B 細胞は若齢、老齢とも HIGA マウスの方が BALB/c マウスよりも多かった。

腎糸球体における CD4 及び CD8 陽性細胞の浸潤に関しては CD4 細胞の浸潤が HIGA マウスにおいて 0.288 ± 0.007 であり、BALB/c マウス (0.140 ± 0.029) に対して有意に増加していたが CD8 陽性細胞に関しては差異を認めなかった。

northern blot 法による検討では脾臓リンパ球細胞の TGF- β mRNA 発現は HIGA マウスにおいて BALB/c マウスより若齢、老齢とも増加していたが同時に検討した bFGF, PDGF-B chain, MCP-1 においては両者に差異を認めなかった。

結論としては HIGA マウスにおける高 IgA 血症には B 細胞 class switching の関与が示唆された。しかし、IgA class

switching を促進するとされる TGF- β は腎臓及び脾臓 T 細胞では発現亢進がみられたものの血中濃度はむしろ BALB/c マウスより低下しており, TGF- β が autocrine または paracrine の形態で HIGA マウスの B cell class switching に作用している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

慢性糸球体腎炎のなかで特に IgA 腎症は症例数が多く予後も不良で未だ末期腎不全に至る患者の中で占める割合は大きい。HIGA マウスは ddY マウスのうち血清 IgA 値が高いものを選択的に交配して得られた系統で, 高 IgA 血症と IgA 腎症類似の糸球体病変を呈する。以前の研究で本マウスの腎臓において細胞外基質 (ECM) 蛋白の沈着と mRNA 発現及びメサンギウム細胞の ECM 産生を促進する TGF- β の発現が亢進しており, TGF- β が糸球体硬化に関わっている可能性が示された。

本研究は HIGA マウスにおける脾臓リンパ球機能の異常に関して解析を行ったものである。T 細胞の分画には対照とした BALB/c マウスに比し明らかな違いは認められなかったが, B 細胞のうち表面 IgA 陽性細胞は増加しており, B 細胞の IgA class switching の亢進が示唆された。また, B 細胞を除去した T 細胞主体の脾臓リンパ球において B 細胞の IgA class switching を促進するとされる TGF- β の発現亢進が認められ, TGF- β が HIGA マウスにおける IgA 産生亢進にも関与している可能性が示唆された。血中の TGF- β 濃度はむしろ HIGA マウスにおいて低下しており, HIGA マウスにおける TGF- β の糸球体とリンパ球における作用が全身循環を介さずに autocrine または paracrine の形で働いていると考えられた。以上の研究は IgA 腎症の新しい動物モデルである HIGA マウスの腎病変及び免疫学的異常の機序の解明に貢献し, 将来的に HIGA マウスを用いた IgA 腎症の新しい治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって, 本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお, 本学位授与申請者は, 平成13年2月27日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け, 合格と認められたものである。