The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	重症筋無力症患者における胸腺リンパ球サブセットの解析
Author(s)	早川, 正宣
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3052224
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【98】

氏名・(本籍)	早川正宣（はやかわまさのぶ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9397 号
学位授与の日付	平成2年11月6日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**重症筋無力症患者における胸腺リンパ球サブセットの解析**
論文審査委員	(主査) 教授 川島 康生 (副査) 教授 濱岡 利之　教授 木谷 照夫

論文内容の要旨

〔目　的〕

重症筋無力症（MG）は，骨格筋のアセチルコリン受容体（AchR）に対する抗体により起こる疾患である。MGにおいては，胸腺腫，胚中心の形成などの胸腺の異常が高率に発生し，胸腺摘出が有効な事からMGの発症に胸腺が関与していることが考えられる。AchRを始めとする自己抗原に反応するTcellは，正常では胸腺内で除去されると考えられているが，MG患者では，自己AchR抗原に反応するTcellが存在する。この事は，MG胸腺では自己AchR抗原に反応するTcell を除去する機能に異常がある事を示唆している。

本研究は，2カラーフローサイトメトリーを用いてMG患者における胸腺内リンパ球の細胞表面抗原を解析することによって，MG患者の胸腺内リンパ球サブセットの分布を明らかにし，さらにリンパ球サブセットと血清抗AchR抗体との関係を検討することを目的とした。

〔方　法〕

MG患者18名を対象とした。その中6名は胸腺腫を合併していた。年齢は12－54才で平均34.9才であった。術前ステロイドや免疫抑制剤の投与をうけなかった。全員拡大胸腺摘出術または胸腺胸腺腫摘出術を受けた。対照群は，胸部手術を受けた非免疫性疾患患者11名を用いた。年齢は3－55才で平均28.9才であった。

手術時得られた胸腺組織又は胸腺腫をはさみを用いて機械的にときほぐし，得られた浮遊液からFicoll-Hypaque 液を用いた比重遠心法でリンパ球を分離した。このリンパ球に，FITC標識モノクローナ

ル抗体とＰＥ標識モノクローナル抗体を添加し，氷上（４℃）で３０分間反応させた後ＰＢＳで２回洗浄した。次に，死細胞を同定するため，Propidium iodideを加えた後ＦＡＣStar（Beckton Dickinson）にて染色度を解析した。ヘパリン採血した末梢血も同様に解析した。

モノクローナル抗体は，ＣＤ３，ＣＤ４，ＣＤ８，ＣＤ４５ＲＡを用いた。一方，抗AchR抗体価の測定はLindstrom の方法に準じて行った。即ち，広範囲大腿部切除患者の大腿部筋肉よりAchRを抽出し，このAchR抽出液に，^{125}Ｉで標識したAchRと特異的に結合するα－Bungarotoxin を３－５倍量添加した。次いで，この混合液に血清を添加し，４℃で一晩反応させた後ウサギ抗ヒトIgG 抗体を添加。４時間incubation後遠沈，洗浄し，この沈査の^{125}Ｉを測定し，α－Bungarotoxin のモル数で血清中AchR抗体価を表した。backgroundとして正常人血清の沈査のcount数を用いた。各検体はtriplicateで測定した。

〔結　果〕

1. 対照例では，胸腺内リンパ球のＣＤ４$^{+}$ＣＤ８$^{+}$cell（double positive cell）の割合は年齢と有意（r=－0.８９，p＜0.０５）の相関性を示したが，ＭＧ胸腺内リンパ球ではdouble positive cellの割合と年齢との間に有意の相関はなかった。
2. ＭＧ胸腺内リンパ球のＣＤ４$^{+}$ＣＤ８$^{+}$の割合と血清AchR抗体価の間には有意（r=0.52, p＜0.０５）の負の相関があった。％ＣＤ４$^{+}$single positive T cell（helper T cell）と血清AchR 抗体価の間には有意の正相関（r= 0.５６，p＜0.０５）を認めたが，％ＣＤ８+と血清抗体価の間には有意の相関はなかった。
3. ＭＧ胸腺内ＣＤ４５ＲＡ陽性Ｔ細胞の割合と血清抗AchR抗体価との間には有意（r＝0.５１，p＜0.０５）の正相関を認めた。

〔総　括〕

1. 重症筋無力症１８例，正常人１１例において，胸腺内リンパ球の表面抗原を２カラーフローサイトメトリーにより解析した。
2. 正常胸腺内のdouble positive cellの割合は，加齢とともに減少したが，ＭＧ胸腺内のdouble positive cellの割合は年令と有意の相関はなかった。
3. ＭＧ患者の抗AchR抗体価と胸腺内helper T cellの割合の間に有意の正相関（r＝0.５６,p＜0.０５）を認めた。

ＭＧ患者の胸腺リンパ球の培養で，抗AchR抗体が産生される事，その産生量が血清抗AchR抗体価と相関しているという研究結果と考え合わせると，血清抗AchR抗体価の高い患者の胸腺内に増加しているhelper T cellが胸腺において，AchR抗体産生に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

重症筋無力症（MG）に関する今日までの研究により，MG患者の胸腺リンパ球から抗アセチルコリンレセプター抗体が産生される事が明らかにされてきたが，胸腺内リンパ球サブセットと血清抗アセチルコリンレセプター抗体価との関係は明らかにされていない。本研究は，2カラーフローサイトメトリーを用いてMG胸腺内リンパ球の細胞表面抗原を解析し，血清抗アセチルコリンレセプター抗体価と患者胸腺内ヘルパーT細胞の割合の相関性を明らかにした。