

Title	末梢血サプレッサー/キラーTリンパ球の性差と自己免疫性甲状腺疾患における質的異常
Author(s)	岩谷, 良則
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.18910/33296
DOI	10.18910/33296
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

【 5 】

氏名・(本籍)	岩 谷 良 則
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 9 7 8 号
学位授与の日付	昭 和 5 8 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	末梢血サプレッサー/キラーTリンパ球の性差と自己免疫性 甲状腺疾患における質的異常
論文審査委員	(主査) 教授 宮井 潔 (副査) 教授 岸本 進 教授 熊原 雄一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

免疫系のホメオスタシスは各種リンパ球サブセットおよびマクロファージ間の複雑な協調作用により支配されており、とくにヘルパーTリンパ球とサプレッサーTリンパ球の微妙なバランスが重要と考えられている。最近、Tリンパ球サブセットに対するモノクローナル抗体による解析法が開発され、全身性自己免疫疾患である全身性エリテマトーデスにおいてサプレッサーTリンパ球の減少が報告されているが、臓器特異的な自己免疫性甲状腺疾患については一定の結論が得られていない。そこでFITC標識モノクローナル抗体 (Leu抗体) とFluorescence-activated cell sorter (FACS) を用いて、健常人および自己免疫性甲状腺疾患患者の末梢血Tリンパ球サブセットについて量的のみならず質的な解析を試みた。

〔方法ならびに成績〕

Leu 1抗体は全Tリンパ球に、Leu 2a抗体はサプレッサー/キラーTリンパ球に、Leu 3a抗体はヘルパー/インデューサーTリンパ球に結合することが認められている。

比重遠心法で得た末梢血単核球 1×10^6 個を各Leu抗体 $1 \mu\text{g}$ と 4°C で45分間反応させ、2回洗浄した後、 2×10^4 個の単核球をFACSで解析して蛍光陽性細胞数を測定し、リンパ球数に対する比率を求めた。単核球中の単球混入はペルオキシダーゼ染色で同定し、リンパ球数は、以下の式で求めた： $2 \times 10^4 \times (1 - \text{ペルオキシダーゼ陽性細胞率}(\%)/100)$ 。さらにリンパ球の質的異常を調べるため、リンパ球の膜抗原密度を反映するとされる蛍光強度ヒストグラムのピークの位置を記録した。測定の標準化を行なうため、測定毎に同一健常人から末梢血単核球を得、Leu 3a抗体で標識したものを標

準単核球として、そのスキャッターと蛍光強度ヒストグラムのピークの位置を、予め定めた各標準値に合うようにFACSを調整する方法を考案した。この標準化法を用いた際の再現性をみるため、2人の健常人から週1回6~12週間にわたって採血し、その単核球の各陽性細胞の比率および蛍光強度の変動係数をみたところ、最大7.8~10.7%と安定していた。なお、単核球中の単球および赤血球の除去操作は、測定結果に変動を来たすため行なわなかった。

以上の方法を用いて、健常人40人（男性18人，女性22人）およびバセドウ病患者29人（未治療例22人，寛解例7人），橋本病患者23人（甲状腺機能正常例11人，低下例7人，破壊性甲状腺中毒症例5人）および亜急性甲状腺炎患者5人の末梢血Tリンパ球サブセットを調べた。患者はすべて不投薬の状態で検索した。また、年齢は健常人と自己免疫性甲状腺疾患の各群の間に有意差はなかった。採血は午前10時から11時の一定時間に行なった。

末梢血リンパ球数は、健常人（ 1950 ± 370 個/ mm^3 ）に比し、未治療バセドウ病（ 2360 ± 760 個/ mm^3 ， $P < 0.01$ ）と亜急性甲状腺炎（ 2410 ± 630 個/ mm^3 ， $P < 0.05$ ）で高値であった。Leu 1陽性細胞比率は、健常人（ $67.6 \pm 8.1\%$ ）に比し、未治療バセドウ病（ $62.3 \pm 11.1\%$ ， $P < 0.05$ ）と破壊性甲状腺中毒症の橋本病（ $57.9 \pm 14.6\%$ ， $P < 0.05$ ）で低値を示した。しかし、Leu 2aおよびLeu 3a陽性細胞比率、さらにはLeu 3a/Leu 2a細胞比も、健常人（各々 $23.3 \pm 5.2\%$ ， $44.6 \pm 7.1\%$ ， 2.03 ± 0.63 ）に比し、各群とも有意差はなかった。また、Leu 1，Leu 2aおよびLeu 3a陽性細胞の絶対数にも有意差はなかった。

次に健常人においてLeu 2a陽性細胞の蛍光強度をみると、女性（ 127.5 ± 10.9 channel）は男性（ 137.9 ± 12.7 channel）より有意の低値（ $P < 0.01$ ）を示すという興味ある結果が得られた。そこで蛍光強度の患者群での比較は女性のみで行なった。Leu 2a陽性細胞の蛍光強度は、健常人（ 127.5 ± 10.9 channel， $n = 22$ ）に比し、自己免疫性甲状腺疾患の活動期と考えられる未治療バセドウ病（ 111.9 ± 17.4 channel， $n = 19$ ， $P < 0.001$ ），甲状腺機能低下の橋本病（ 107.7 ± 14.2 channel， $n = 7$ ， $P < 0.001$ ）および破壊性甲状腺中毒症の橋本病（ 107.8 ± 14.9 channel， $n = 5$ ， $P < 0.01$ ）において低値を示した。Leu 1陽性細胞では、健常人（ 56.6 ± 4.1 channel， $n = 22$ ）に比し、亜急性甲状腺炎（ 61.4 ± 3.9 channel， $n = 5$ ， $P < 0.05$ ）で蛍光強度は高値であった。Leu 3a陽性細胞では、健常人（ 46.6 ± 3.8 channel， $n = 22$ ）に比し、各群とも有意差はなかった。

以上の測定値と血中甲状腺ホルモン，甲状腺自己抗体，甲状腺腫の大きさ，眼球突出度の各値との間には有意の相関はなかった。また，Eロゼット形成細胞比率とLeu 1陽性細胞比率との間，およびIgG-Fcレセプター保有T細胞（ $T\gamma$ 細胞）比率とLeu 2a陽性細胞比率との間にも有意の相関は認められなかった。

〔総括〕

モノクローナル抗体とFACSを用いて、健常人および自己免疫性甲状腺疾患患者の末梢血Tリンパ球サブセットを解析した。各抗体陽性細胞の数とリンパ球数に対する比率，およびリンパ球の膜抗原密度を反映すると考えられる蛍光強度（ヒストグラムのピークの位置）を調べ、以下の結果を得た。

1. 健常人において、Leu 2a陽性細胞（サブプレッサー/キラーTリンパ球）の蛍光強度が、女性の方

が男性よりも低値を示した。

2. 未治療バセドウ病および橋本病におけるTリンパ球サブセットの量的異常は認められなかった。しかし、甲状腺機能異常を示す活動期では、Leu 2a陽性細胞の蛍光強度が健常人に比し低値を示し、Leu 2a陽性細胞の質的異常が示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は、蛍光標識モノクローナル抗体とFACSを用いて、自己免疫性甲状腺疾患の病因の一つとして考えられるTリンパ球サブセットのバランスの異常の有無を調べたものである。解析法を十分検討した上、病型を的確に分類し、蛍光陽性細胞数のみでなく、新たに蛍光強度をも測定することによって、自己免疫性甲状腺疾患にTリンパ球サブセット数の量的異常を認めないこと、活動期にLeu 2a細胞（サブプレッサー/キラーTリンパ球）の蛍光強度が低下することを明らかにした。また、健常人におけるLeu 2a細胞の蛍光強度の性差をも見い出している。

以上の研究は、免疫能の性差および自己免疫性疾患の病因の解明に新たな知見を提供するものであり、高く評価できる。従って、本論文は学位論文として価値あるものとする。