

Title	Involvement of IL-6 in mesengial proliferative glomerulonephritis
Author(s)	堀井, 康弘
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36906
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	堀 井 康 弘
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8959 号
学位授与の日付	平成2年2月2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	Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis (メサンギウム増殖性腎炎に対するインターロイキン6の関与)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三
	(副査) 教授 濱岡 利之 教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

(目 的)

インターロイキン6 (IL-6/BSF-2) はB細胞の分化の最終段階に働くT細胞由来可溶性因子としてクローニングされたものであるが、最近免疫系細胞だけでなくミエローマ細胞や肝細胞などの種々の細胞に働いてその増殖分化を制御するなど様々な機能が明かとなってきた。また、マクロファージやケラチノサイトなど種々の細胞でIL-6が産生される事が明かとなってきた。一方、メサンギウム増殖性腎炎(PGN)はメサンギウム細胞(MC)の増殖によって特徴づけられる疾患で、その病因としてPDGFやIL-1等のgrowth factorの関与が示唆されている。そこで、ラット培養MCに対しIL-6がgrowth factorとして働くかどうか、さらに、PGN患者においてIL-6の異常産生がPGNの病因に関与しているのかどうか検討した。

(方 法)

(1)ラットMCは100~120gの雄Wistarラット腎よりSieving法により分離し、3~4回継代培養したものをを用いた。(2)MCの増殖は96穴プレートに各穴 10^3 のMCを種々の濃度のgrowth factorやmitogenとともに3日間培養し、 $^3\text{H-TdR}$ の取り込みで測定した。(3)IL-6活性は、IL-6 dependent cell line MH60. BSF-2を用い測定した。(4)RNA解析: グアニジン法でtotal RNAを抽出し、IL-6 mRNAの発現は、ノザンプロット法で解析した。プローブはマウスIL-6 cDNAプローブを用いた。(5)In situ hybridization: Tissue culture chamberを用いスライドガラス上でMCを培養後、パラホルムアルデヒドで固定し、 ^{35}S でラベルしたマウスIL-6 cDNAをプローブとしてhybridizationを行った。(6)患者尿中IL-6活性: 原発性糸球体疾患84例(PGN38例, 膜性腎症(MN)27例, 微小変化

型ネフローゼ症候群 (MCNS) 19例, 正常人20例の尿を採取後直ちにPMSFを加え, PBSで2回, さらにRPMI 1640で1回, 各2時間ずつ透析し, サンプルとした。IL-6活性はIL-6依存性株MH60.BSF-2を用い測定した。(7)免疫組織学的解析: PGN患者より経皮的腎生検で採取した腎組織を抗IL-6抗体を用いた酵素抗体法で染色した。

(成 績)

(1)リコンビナントIL-6 (rIL-6) は濃度依存性にラットMCの増殖を誘導した。(2)ラットMCはFCSの存在下でIL-6を産生するが, LPS等の刺激でその産生は増強された。(3)ノザンプロット解析および *In situ* hybridization 法によりMCがIL-6 mRNAを発現することが明らかとなった。(4)PGNで38例中19例, MNで27例中2例に尿中IL-6活性を認めた。MCNS, 正常群では活性は認められなかった。尿中IL-1活性は正常群でも陽性を認め, 疾患との相関は認められなかった。(5)MCの増殖程度と尿中IL-6活性の関係について調べたところ mild type では尿中IL-6活性は $9.54 \pm 5.67 \text{ pg/ml}$, moderate type では $27.20 \pm 9.21 \text{ pg/ml}$, advanced type では $51.87 \pm 9.98 \text{ pg/ml}$, であった。(6)抗IL-6抗体を用いた酵素抗体法でPGN患者より得た腎組織のMCが陽性に染色された。MCはコントロール抗体では染まらなかった。また, 過剰のIL-6を加えると抗IL-6抗体での染色は抑制された。このことよりMCの染色はIL-6に特異的であると考えられる。

(総 括)

ラット培養MCを用いた実験で, MCはIL-6を産生し, かつIL-6によって増殖が誘導されることが明かとなった。このことより, IL-6がMCの autocrine growth factor であることが強く示唆された。一方, PGNの患者の半数で尿中IL-6活性が認められた。また, PGNの組織の進行度と尿中IL-6濃度が相関することが明かとなった。このことはIL-6産生とMCの増殖が密接に関係していることを示唆している。また腎生検組織でPGNのMCが抗IL-6抗体で染色されたことはIL-6によるオートクリン増殖機構によりMCの増殖が誘導されていることを強く示唆している。さらに, 尿中IL-6活性の測定がPGNの診断治療の指標として有用であると思われる。

論文の審査結果の要旨

本論文は, ラット培養メサンギウム細胞がIL-6を産生し, かつIL-6によってその増殖が誘導されることを明らかにした。さらに, メサンギウム細胞の増殖によって特徴づけられるメサンギウム増殖性腎炎患者より腎生検で得た組織が抗IL-6抗体を用いた酵素抗体法で陽性に染色され, 患者尿中にもIL-6活性が認められることを明らかにした。また, 患者尿中IL-6活性が, 腎炎の進行度と相関することがわかり, 腎炎の診断治療の指標としても有用であると思われる。以上の点より考えて, 本論文は博士論文として価値あるものと思われる。