

微小変化型ネフローゼ症候群における血清 interferon- γ 濃度と末梢血単核球 interferon- γ 産生能

奈良県立医科大学第1内科学教室

平 山 俊 英

SERUM INTERFERON- γ CONCENTRATION AND INTERFERON- γ PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS IN MINIMAL CHANGE NEPHROTIC SYNDROME

TOSHIHIDE HIRAYAMA

The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received September 27, 1990

Summary: The present study was designed to clarify the ability of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with minimal change nephrotic syndrome (MCNS) to produce interferon- γ (IFN- γ) in vitro.

Subjects were 35 patients with MCNS, 25 with membranous nephropathy (MN), 42 with IgA nephropathy (IgA-GN), and 23 healthy volunteers as controls.

Upon stimulation with phytohemagglutinin and tetradecanoyl phorbol-13-acetate, PBMC of patients with MCNS produced significantly lower amounts of IFN- γ compared to normal healthy volunteers. The reduction of IFN- γ production by PBMC was prominent in the nephrotic stage of MCNS. Decreased production of IFN- γ by PBMC from patients with MCNS returned to normal levels when PBMC were cultured in the presence of autologous serum, suggesting that there may be enhancing factor(s) for IFN- γ production in patient sera. In addition, we have measured the levels of IFN- γ in serum from MCNS. The samples from MCNS in the nephrotic stage had significantly higher levels of IFN- γ than normal healthy volunteers, although the samples from MCNS in incomplete remission and complete remission had normal levels of IFN- γ . Finally, 3 patients of MCNS in the nephrotic stage were found to show a remarkable reduction in their IFN- γ production and an elevation of serum IFN- γ levels. But IFN- γ production and serum IFN- γ levels returned to normal range when the disease was in remission.

These findings indicate that disturbance of IFN- γ formation by PBMC and elevation of serum IFN- γ levels may be related to immunological abnormalities in MCNS.

Index Terms

interferon- γ , lymphocyte subpopulation, minimal change nephrotic syndrome, nephrotic syndrome

緒 言

微小変化型ネフローゼ症候群 (minimal change ne-

phrotic syndrome; MCNS) には従来から多種多様な免疫学的異常の存在することが知られている¹⁻¹⁰⁾. MCNS のT細胞異常については、機能異常としてEロゼット形

成細胞 (T細胞) の減少²⁻⁴⁾, T μ 細胞の増加と T γ 細胞の減少^{2,4)}, リンパ球幼若化反応抑制因子⁵⁾, 抗リンパ球抗体の存在⁶⁾, リンパ球サブセット異常として Leu3a/Leu2a (または OKT4/OKT8) 比の低下⁷⁻⁹⁾, Leu7+Leu11-細胞の減少¹⁰⁾, キラーT細胞の増加¹⁰⁾, 副腎皮質ステロイド (プレドニソロン: PSL) 治療中のサブレッサーインデューサーT細胞およびサブレッサーT細胞の減少¹⁰⁾が報告されている。

MCNS のB細胞機能異常としては, 血清 IgM・IgE 値の上昇や IgG 値の低下¹¹⁾の他に, 免疫グロブリン産生細胞の機能異常¹¹⁾も明らかにされている。教室の藤井ら¹²⁾も, MCNS において高 IgE 血症症例の出現頻度が高いことと, 血清 IgE 値の推移がネフローゼ症状の経過と一致することを報告しており, MCNS の病因解明には IgE 産生亢進機序の検討が不可欠としている。

インターロイキン 4 (IL-4) は, T細胞由来の B細胞刺激因子として発見¹³⁾されたものであり, B細胞を γ グロブリン産生細胞へ誘導する¹⁴⁾ことが知られている。とくに, B細胞を IgG1 や IgE 産生細胞へ誘導する^{14,15)}ことや B細胞上に MHC class II 抗原を発現させる¹⁶⁾ことが明らかにされている。そこで, MCNS に対する IL-4¹⁵⁾の開与を検討する必要にせまられるが, 血清 IL-4 活性は現在の測定系では検出感度以下であり, IL-4 動態の評価は臨床の場においては不可能といえる。

一方, インターフェロン γ (IFN- γ) は, 抗ウイルス作用を有する糖蛋白として発見¹⁷⁾されたが, MHC class II 抗原発現作用¹⁸⁾やマクロファージ活性化作用^{19,20)}を有するとされている。さらに, 骨髄細胞増殖抑制作用²¹⁾, B細胞増殖抑制作用²²⁾および IL-4 による抗体産生を抑制する作用²²⁻²⁴⁾の存在も指摘されている。加えて, 全身性エリテマトーデス (SLE)²⁵⁻²⁷⁾, 慢性関節リウマチ (RA)²⁸⁾, サルコイドーシス²⁹⁾, ベーチェット病³⁰⁾, Vogt-小柳-原田病³⁰⁾および尋常性乾癬^{31,32)}においては高 IFN- γ 血症の存在することが報告されており, IFN- γ が慢性炎症性疾患の発生機序に関与するものと考えられている。

そこで, 著者は MCNS における高 IgE 血症^{11,12)}の発生機序解明を目的に, IgE 産生調節因子としての IL-4 に拮抗する IFN- γ の動態^{23,24)}を検討した。いいかえると, 今回の研究目的は, 血清 IFN- γ 濃度と末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cells; PBMC) IFN- γ 産生能を検討することによって, 血清 IgE 高値の出現機序を解明することにある。

対象と方法

1. 対象

対象は, 奈良県立医科大学第 1 内科およびその関連病院へ入院あるいは通院中で, 腎生検を施行し得た MCNS 35 例である。対照には健康成人 23 例と膜性腎症 (Membranous nephropathy; MN) 25 例および IgA 腎症 (IgA nephropathy; IgA-GN) 42 例を選んだ。対象および対照の性別と年齢は Table 1 に示すとおりである。ネフローゼ症候群の診断は成人ネフローゼ症候群治療研究会の診断基準³³⁾によったが, 不完全寛解期 (IR) の症例は少数であったので I 型と II 型は一括して解析した。使用した副腎皮質ステロイドは PSL であり, ネフローゼ (NS) 期には 40~100 mg/日, IR 期と完全寛解 (CR) 期には維持量として 2.5~40 mg/日が投与されていた。さらに, CR 期で PSL 投与を中止している症例も対象に含めた。

2. 方法

(1) 単核球の分離

ヘパリン加末梢血から Ficoll-Hypaque (Pharmacia 社製) 比重遠心法によって PBMC を分離した。PBMC を 0.01 M リン酸緩衝生理食塩水 (pH7.3, PBS, 日水製薬社製) で 2 回洗浄した後, 50 μ g/ml の streptomycin (明治製菓社製), 6mM の HEPES (同仁化学研究所製), 3mM の tricin (P-L Biochemical Inc. 製), 50 μ g/ml の gentacin および 2mM の L-glutamin を添加した RPMI 1640 (日水製薬社製) に 6 \times 10⁶個/ml の濃度で浮遊させた。さらに, この PBMC 浮遊液に 3% 非働化ウシ胎児血清 (FCS, Armour 社製) あるいは 3% 自己血清を添加した。以上の操作により得られた細胞は, トリパンブルーを用いた染色で 98% 以上が生細胞であることが確認されている。

(2) IFN- γ 産生

PBMC における IFN- γ 産生刺激は Vilček らの方法³⁴⁾に準じて行った。PBMC を tetradecanoyl phorbol-13-acetate (TPA, 20ng/ml; P-L Biochemical Inc. 製) と phytohemagglutinin (PHA, 5 μ g/ml; P-L Biochemical Inc. 製) を用いて 5%CO₂・37°C の条件下で 48 時間

Table 1. Clinical characteristic in these studies

Subjects	n (m/f)	Age (range)
Healthy volunteers	23 (13/10)	31 (20-60)
MCNS	35 (22/13)	29 (14-62)
MN	25 (14/11)	37 (28-64)
IgA-GN	42 (19/23)	31 (17-56)

刺激した。TPAはPHA添加2時間前に添加したが、今回の実験に採用したTPAとPHAの添加濃度と添加時間は、予備実験の成績で最大のIFN- γ 産生が得られた濃度と添加時間を用いた。

(3) IFN- γ 濃度の測定

培養上清中のIFN- γ 濃度および血清IFN- γ 濃度はIFN- γ RIAキット(Centocor社製)で測定した³⁵⁾。ヒト組み換えIFN- γ に対する単クローン抗体B1の結合したポリスチレンビーズにヒト加熱(50°C・30分;非働化)血清で希釈したIFN- γ 試料200 μ lを加え、37°C・2時間反応後、蒸留水で2回洗浄した。つぎに、B1単クローン抗体とは異なるエピトープを認識する¹²⁵I-ラベルB3単クローン抗体を加えて室温で2時間反応後、再び蒸留水でビーズを洗浄した。ビーズに結合した¹²⁵Iの放射活性を測定し、天然IFN- γ を標準にして作成した標準曲線から試料中のIFN- γ 力価を算出した。ただし、標準IFN- γ あるいは試料の希釈に生理食塩水やRPMI 1640を用いた場合は、ビーズに結合する¹²⁵Iが増加するために、0.1単位(IU)/ml以下の濃度は測定不能であった。そこで、希釈液にヒト加熱血清を使用したところ、0.01IU/mlまでの測定が可能となった³⁶⁾。

(4) リンパ球サブセット

リンパ球サブセットは、Leuシリーズ単クローン抗体(Becton Dickinson社製)およびOKM1抗体(Ortho Diagnostic社製)を用いたフローサイトメトリー法で測定した。まず、ヘパリン加末梢血を採取してFicoll-Hypaque比重遠心法によってPBMCを分離し、このPBMCにPBS 5mlを加え、4°C・300 \times gの条件下で10分間遠心した。この操作を3回繰り返すことで洗浄PBMCが得られた。使用したPBSは2%FCS, 0.02%アジ化ナトリウム(NaN₃, 和光純薬工業社製)を加えて作成したものである。このPBMCをPBSに浮遊させて、細胞数が2 \times 10⁷個/mlの濃度となるように調整した。ポリエチレン製試験管(Falcon 2052, Falcon社製)に

PBMC (2 \times 10⁷/ml) 50 μ lとfluorescein isothiocyanate標識単クローン抗体(Leu4^{37,38)}, Leu3a^{37,38)}, Leu2a^{37,38)}, Leu7^{39,40)}, Leu15⁴¹⁾, OKM1⁴¹⁾, Leu11a⁴³⁾およびHLA-DR⁴⁴⁾のいずれかを20 μ lを加えて静かに混和し、遮光・4°Cの条件下で30分間反応させた。対照には単クローン抗体の替わりにPBS 20 μ lまたはマウスIgG1(Becton Dickinson社製)20 μ lを加えた。反応後、PBS 2mlを加えて4°C・300 \times gの条件下で10分間遠心して洗浄した。この細胞をスペクトラムIII(Ortho社製)で解析し、成績を全リンパ球中における比率あるいは血液1 μ lあたりの細胞実数で表した。なお、今回使用した単クローン抗体の特性はTable 2に示すとおりである。

3. 推計学的処理

推計学的処理は分散分析および多重比較法(Dunnett法)によった。なお測定値は平均値 \pm 標準誤差で表した。

成 績

1. PBMCにおけるIFN- γ 産生能

(1) 3% FCS添加時IFN- γ 産生能

MCNSのIFN- γ 産生能は、NS期547.1 \pm 236.0IU/ml(n=7), IR期820.9 \pm 151.5IU/ml(n=11), CR期1,115.9 \pm 214.4IU/ml(n=17)であり、いずれの病期においても健常対照の2,216.4 \pm 308.2IU/ml(n=23)に比して有意の低値を示した(Fig. 1)。しかし各病期間には差がなかった。また非健常対照としたMNおよびIgA-GNにおけるIFN- γ 産生能は、MNのNS期1,399.0 \pm 597.7IU/ml(n=5), MNのIR期507.8 \pm 177.81U/ml(m=8), MNのCR期926.6 \pm 303.81U/ml(n=11), IgA-GN 1,035.1 \pm 108.2IU/ml(n=42)であり、MNのIR期とCR期およびIgA-GNが健常対照に比して有意に低下していた。

(2) 3%自己血清添加時IFN- γ 産生能

MCNSの3%自己血清添加時IFN- γ 産生能は、NS期1,276.3 \pm 928.2IU/ml(n=3), IR期162.5 \pm 12.5IU/ml

Table 2. Specificity of monoclonal antibodies used in these studies

Cluster designation	Monoclonal antibody	Major specificity	Additional specificity
CD 3	Leu 4	Mature T cells	
CD 4	Leu 3 a	Helper/inducer T subsets	Monocytes
CD 8	Leu 2 a	Cytotoxic/suppressor T subsets	NK cells
—	Leu 7	NK cells	Suppressor T subsets
CD 11	Leu 15	Monocytes and granulocytes	NK cells and suppressor T subsets
—	OKM 1	(C 3 bi receptor)	T subsets
CD 16	Leu 11 a	NK cells (IgG Fc receptor)	Granulocytes
—	HLA-DR	B cells and activated T cells	Monocytes

(n=2), CR期 1,849.2±285.0IU/ml (n=17) であり、健康対照の 2,276.3±289.6IU/ml (n=16) と差を示さなかった (Fig. 2). MN の全病期および IgA-GN の 3%自己

血清添加時 IFN- γ 産生能も健康対照と差を示さなかった.

(3) 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能と 3%自己血清添

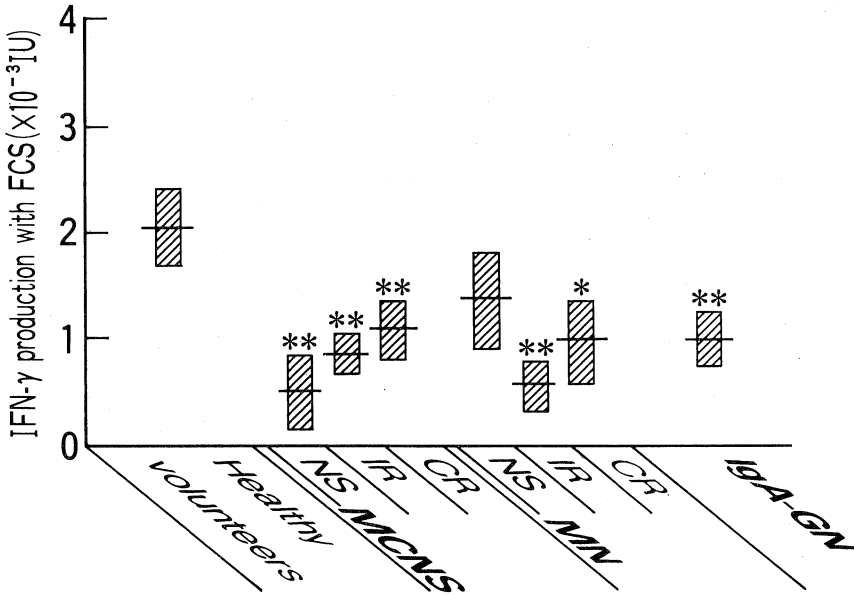


Fig. 1. IFN- γ production treated with FCS in patients with primary glomerular diseases. NS : nephrotic stage, IR : incomplete remission stage, CR : complete remission stage, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

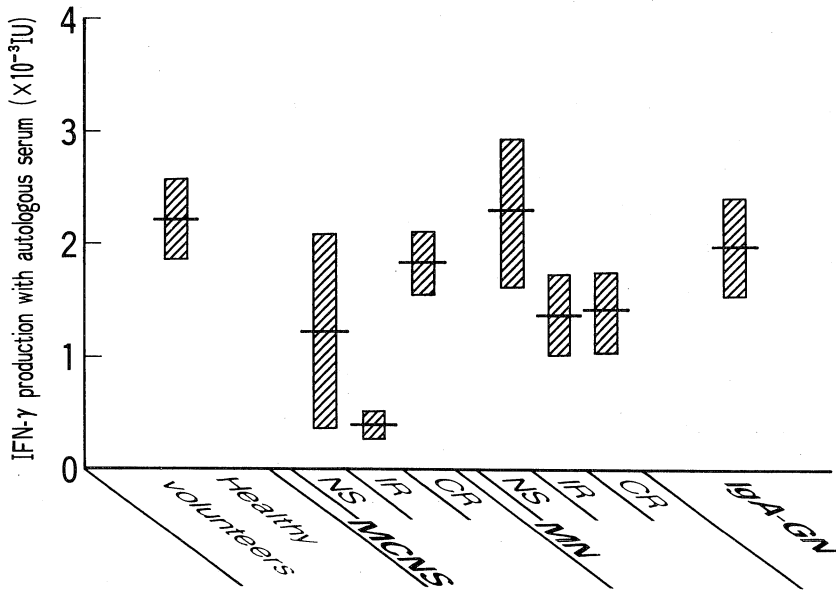


Fig. 2. IFN- γ production treated with autologous serum in patients with primary glomerular diseases. NS : nephrotic stage, IR : incomplete remission stage, CR : complete remission stage.

加時 IFN- γ 産生能の対比

つぎに3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能と3%自己血清添加時 IFN- γ 産生能を比較した。MCNS の3%自己血清添加時 IFN- γ 産生能は、MCNS のIR 期を除いて3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能に比して有意に上昇していた (NS 期; $p < 0.01$, CR 期; $p < 0.05$) (Table 3)。また MN および IgA-GN の3%自己血清添加時 IFN- γ 産生能は、NS 期 $2,315.8 \pm 706.9$ IU/ml ($n=4$), IR 期 $1,389.1 \pm 472.8$ IU/ml ($n=7$), CR 期 $1,413.0 \pm 231.7$ IU/ml ($n=9$), IgA-GN $1,943.4 \pm 231.0$ IU/ml ($n=24$) であり、いずれも3%FCS 添加時 IFN- γ 産生能に比して有意に上昇していた (MN のNS 期; $p < 0.05$, MN のIR 期; $p <$

0.05 , MN のCR 期; $p < 0.01$, IgA-GN; $p < 0.01$)。

一方、健常対照の3%自己血清添加時 IFN- γ 産生能は3%FCS 添加時 IFN- γ 産生能と差を示さなかった。すなわち、MCNS のNS 期とCR 期、MN および IgA-GN の IFN- γ 産生能は、3%自己血清添加の条件下でPBMC を培養した場合には3%FCS 添加時に比して上昇し、健常対照と差を示さなくなることが明らかになった。

2. 血清 IFN- γ 濃度

つぎに各疾患群における血清 IFN- γ 濃度を Fig. 3 に示す。MCNS における血清 IFN- γ 濃度はNS 期 0.429 ± 0.027 IU/ml ($n=5$), IR 期 0.188 ± 0.036 IU/ml ($n=7$), CR 期 0.249 ± 0.034 IU/ml ($n=17$) であり、NS 期が健常

Table 3. Comparison of IFN- γ production treated with FCS and autologous serum in patients with primary glomerular diseases and healthy volunteers

IFN- γ production (IU/ml)	n	with FCS	with autologous serum	statistical significance
Healthy volunteers	23	2,216.4 \pm 308.2	2,276.3 \pm 289.6	NS
MCNS NS	7	547.1 \pm 236.0	1,276.3 \pm 928.2	$p < 0.01$
IR	11	820.9 \pm 151.5	162.5 \pm 12.5	NS
CR	17	1,115.9 \pm 214.4	1,849.2 \pm 285.0	$P < 0.05$
MN NS	6	1,399.0 \pm 597.7	2,315.8 \pm 706.9	$p < 0.05$
IR	8	507.8 \pm 177.8	1,389.1 \pm 472.8	$p < 0.05$
CR	11	926.6 \pm 303.8	1,413.0 \pm 231.7	$p < 0.01$
IgA-GN	42	1,035.1 \pm 108.2	1,943.4 \pm 231.0	$p < 0.01$

NS ; not significant.

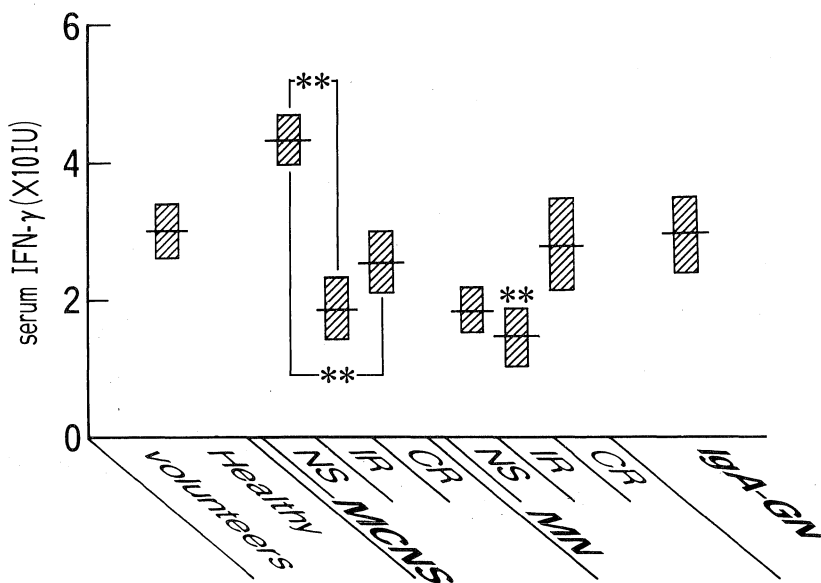


Fig. 3. Serum IFN- γ concentration in patients with primary glomerular diseases. NS : nephrotic stage, IR : incomplete remission stage, CR : complete remission stage, ** $p < 0.01$.

対照の $0.301 \pm 0.025 \text{IU/ml}$ ($n=23$) に比して有意に高値を示した。さらに MCNS の NS 期には、IR 期および CR 期に比して有意に高かった。一方、MN および IgA-GN における血清 IFN- γ 濃度は、MN の NS 期 $0.181 \pm 0.029 \text{IU/ml}$ ($n=5$)、MN の IR 期 $0.147 \pm 0.027 \text{IU/ml}$ ($n=10$)、MN の CR 期 $0.283 \pm 0.057 \text{IU/ml}$ ($n=10$)、IgA-GN $0.289 \pm 0.020 \text{IU/ml}$ ($n=42$) であり、MN の IR 期が健常対照に比して有意に低下していた。しかし MN では病期間に差がなかった。

3. MCNS における 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能と血清 IFN- γ 濃度の関係

健常対照における 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能は血清 IFN- γ 濃度と有意の正相関を示した ($r=0.61$, $p<0.025$) (Fig. 4, left). 一方、MCNS の NS 期における 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能は血清 IFN- γ 濃度に比して低下する傾向を示した (Fig. 4, right) が、MCNS および MN の NS 期における 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能は血清 IFN- γ 濃度と有意の相関を示さなかった。ただし MN の NS 期では、血清 IFN- γ 濃度に比して 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能の上昇を示す症例の頻度が高い印象を受けた (Fig. 4, right).

そこで PBMC における IFN- γ 産生能に対する自己血清添加の影響を明確にする目的で、3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能を 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能で除した値 (A/F 比) と血清 IFN- γ 濃度の関係を検討した。MCNS では、血清 IFN- γ 濃度と A/F 比が有意の負相関 ($r=-0.50$, $p<0.05$) を示した (Fig.5, left). この関係は、自己血清を非働化して血清 IFN- γ を失活させた場合も変化しなかった。一方、IgA-GN における血清 IFN- γ 濃度と A/F 比は有意の正相関を示し ($r=0.52$, $p<0.05$) (Fig.5, right), 加熱処理した自己血清を使用した場合でも両者の関係に変化がみられなかった。

4. MCNS における IFN- γ 産生能とリンパ球サブセット

つぎに 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能とリンパ球サブセットを同時測定して両者の関係について検討を加えた。健常対照群における 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能は、検討したリンパ球サブセットの中では OKM1 陽性細胞数と有意の正相関を示したにすぎない ($r=0.62$, $p<0.05$) (Fig.6, Table 4). 一方 MCNS の IFN- γ 産生能は OKM1 陽性細胞と有意の相関を示さず、OKM1 細胞数に比して IFN- γ 産生能低下を示す症例の頻度が高い傾

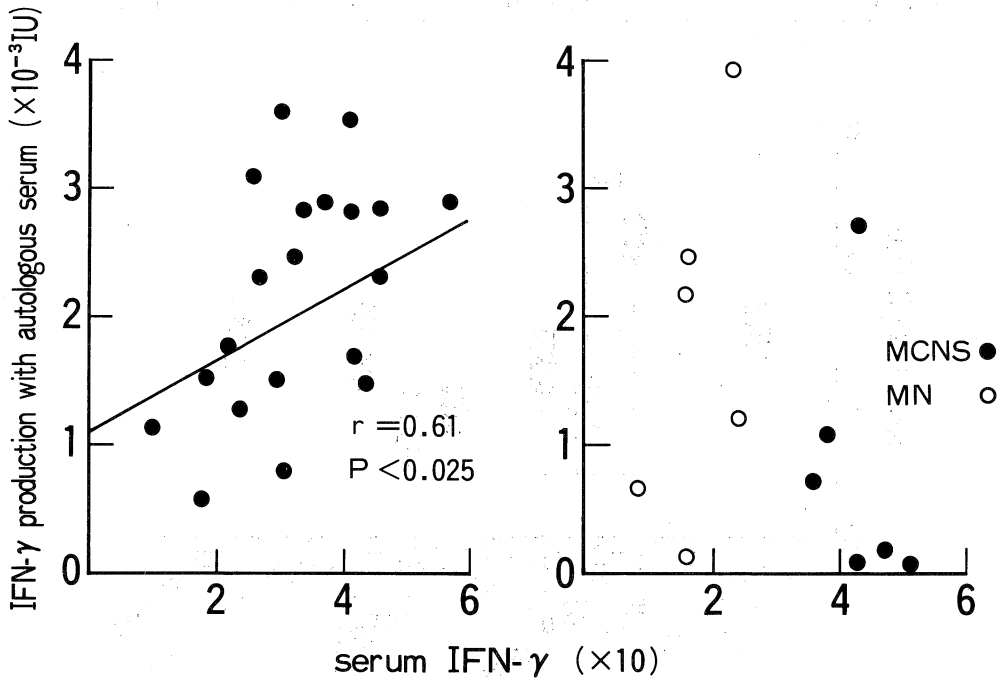


Fig. 4. Correlation between IFN- γ production treated with autologous serum and serum IFN- γ concentration in healthy volunteers (left) and in patients with nephrotic MCNS and MN (right).

向にあった。

しかし健常対照およびMCNSの3%自己血清添加時IFN- γ 産生能および血清IFN- γ 濃度はいずれのリンパ球サブセットとも相関を示さなかった。すなわちMCNSのIFN- γ 産生能および血清IFN- γ 濃度はいずれのリンパ球サブセットとも相関関係を示さず、MCNSでは健常対照にみられたOKM1陽性細胞との相関関係も認められないことが明らかとなった。

5. MCNS 3症例の臨床経過

つぎに、NS期からCR期までの経過を追跡し得たMCNS 3例における3% FCS添加時IFN- γ 産生能と血清IFN- γ 濃度の推移を示す (Fig. 7)。全例の血清IFN- γ 濃度は、NS期には高値を示したが、PSL治療によるIR期への移行期には徐々に低下し、CR期では健常対照と同等まで低下した。一方、NS期に低下していたIFN- γ 産生能は、PSL治療によりIR期へ移行すると健常対照と同等まで回復したが、PSL少量投与あるいはPSL投与中止時のCR期には再び低下する傾向を示し

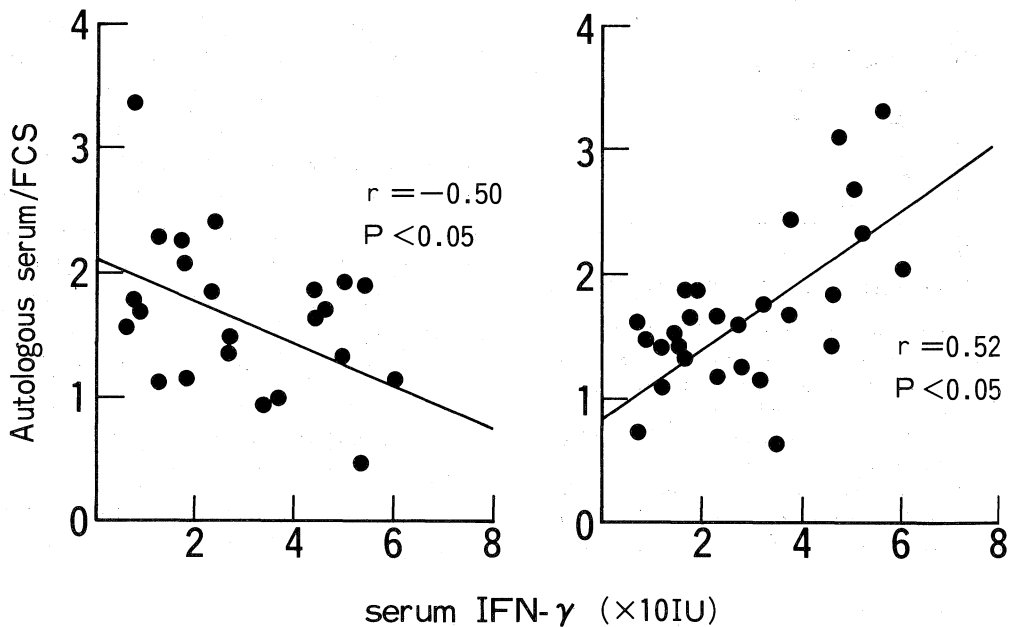


Fig. 5. Correlation between A/F ratio and serum IFN- γ concentration in patients with MCNS (left) and IgA-GN (right).

Table 4. Correlation between monoclonal antibodies and 3 IFN- γ parameters in healthy volunteers (HV) and patients with MCNS

Cluster designation	Monoclonal antibody	IFN- γ production with FCS		IFN- γ production with autologous serum		Serum IFN- γ concentration	
		HV	MCNS	HV	MCNS	HV	MCNS
CD3	Leu4	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CD4	Leu3a	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CD8	Leu2a	NS	NS	NS	NS	NS	NS
—	Leu7	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CD11	Leu15	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	OKM1	r=0.62 (P<0.01)	NS	NS	NS	NS	NS
CD16	Leu11a	r=0.23 (P<0.05)	NS	NS	NS	NS	NS
	HLA-DR	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS ; not significant.

た。

考 察

MCNS は小児から若年者に好発する一次性ネフローゼ症候群であり、高選択性の蛋白尿と副腎皮質ステロイドに対する著効性を特徴とする。従来からMCNSについては多岐にわたる液性および細胞性免疫異常の存在¹⁻¹⁰⁾が知られており、教室においても Dohi, et al.⁴⁵⁾はナチュラルキラー (NK) 活性の低下、山田ら^{8,10)}は末梢血リンパ球サブセットの異常、森田ら⁴⁶⁾はインターロイキン2 (IL-2) 産生能の低下を報告している。しかし現在でも、MCNSに内在する細胞性免疫異常は十分に解明されたといえず、その解明には前述のように、高IgE血症とIL-4との関係についての検討が急務と考えられる。

IFN- γ は、T細胞⁴⁷⁾およびNK細胞^{48,49)}から産生される糖蛋白であり、1)ウィルスの増殖抑制^{17,50,51)}、2)腫瘍細胞の増殖抑制^{19,20,52)}、3)NK活性の増強⁵³⁾、4)MHC class II抗原の発現増強¹⁸⁾、5)IL-2レセプターの発現促進⁵⁴⁾、6)キラーT細胞における分化誘導の惹起⁵⁵⁾などの作用を示す。Jacob et al.⁵⁶⁾は、ループス様腎症発症前のNZB/W F₁マウスにIFN- γ を投与するとループス様腎症の発症が促進され病変が増悪したが、抗IFN- γ 抗体の投与によりループス様腎症の発症が遅延したと報告している。さらに癌患者へのIFN- γ 投与が間質性腎炎を惹起したとの報告⁵⁷⁾もあり、IFN- γ と腎炎発症との関連が注目されている。ただしヒト原発性糸球体疾患とIFN- γ の関連を

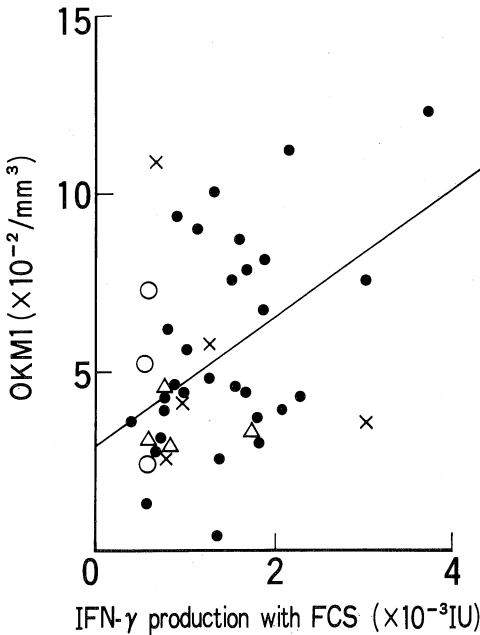


Fig. 6. Correlation between proportion of OKM1+ cells and IFN- γ production treated with FCS. Patients with MCNS were divided in 3 groups. (○) : nephrotic stage, (△) : incomplete remission stage, (×) : complete remission stage. There was statistical correlation between proportion of OKM1+ cells and IFN- γ production treated with FCS in healthy volunteers (●). $r=0.62, P<0.01$.

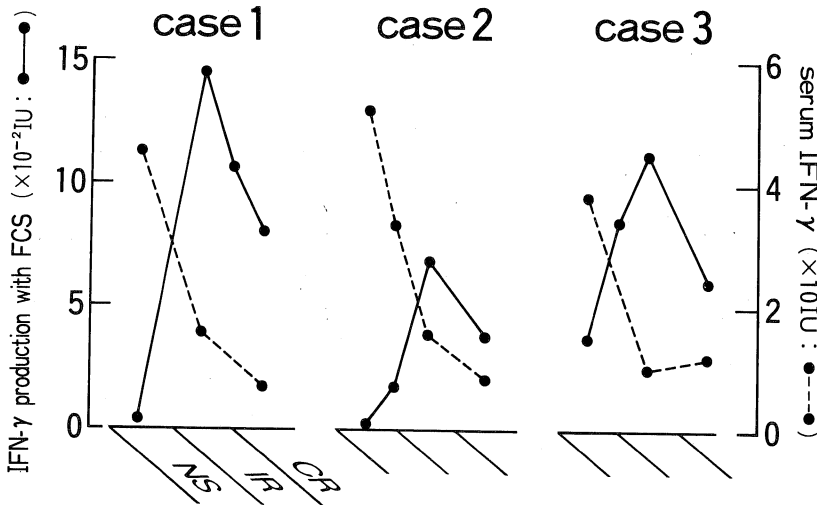


Fig. 7. Serial changes of IFN- γ production treated with FCS and serum IFN- γ concentration in 3 patients with MCNS. NS : nephrotic stage, IR : incomplete remission stage, CR : complete remission stage.

検討した報告はいまだみられない。

最近、IFN- γ のIL-4に対する拮抗作用が報告^{23,24)}されているので、著者はMCNSにおける血清IgE高値の出現機序解明の一助としてIFN- γ の動態を検討した。

1. PBMCにおけるIFN- γ 産生能

(1) 3% FCS添加時IFN- γ 産生能

今回の検討は、MCNSの3% FCS添加時IFN- γ 産生能が健常対照に比して有意に低下していることを明らかにしたものであり、MCNSにおける細胞性免疫能低下の存在を示唆するものといえる。現在までに、PBMCにおけるIFN- γ 産生能の低下はSLE⁵⁸⁾、RA⁵⁹⁾およびサルコイドーシス⁶⁰⁾で報告されており、この低下がこれらの疾患における細胞性免疫異常に関与していると推測されている。今回の成績から、MCNSも自己免疫疾患と同様にIFN- γ 産生能低下を示すことが明らかとなった。

治療面からMCNSと自己免疫疾患を比較すると、両者には副腎皮質ステロイド治療に奏功するという類似点がある。つまり両者の大半は副腎皮質ステロイド治療が実施されており、IFN- γ 産生能低下の機序には副腎皮質ステロイドの影響も考慮されなければならない。従来から、細胞性免疫に対する副腎皮質ステロイドの影響については広範な検討がなされている^{8,10,46,58,61)}。とくに副腎皮質ステロイドはSLE患者のIFN- γ 産生能を正常域まで回復させるという報告がある⁵⁸⁾。一方ではPBMC培養液中に添加した副腎皮質ステロイドはIFN- γ 産生能に全く影響を与えなかったとする報告もあり、IFN- γ 産生能に対する副腎皮質ステロイドの影響についてはいまだ見解の統一が得られていない。今回の成績では、MCNSの3% FCS添加時IFN- γ 産生能はNS期に比してIR期およびCR期において上昇しているが、この成績からin vivoにおける副腎皮質ステロイドの影響に言及することは困難であり、IFN- γ 産生能測定のみからMCNSの病態を把握することは不可能といえる。また生体内のPBMCにおけるIFN- γ 産生能は種々の血清因子によって制御されているものと推定されるので、MCNSの病態の把握には血清因子の解明が不可欠と考えられる。

一方、現在ではPBMCの培養にはFCSの使用が欠かせない。FCSにはIFN- γ やIL-4をはじめとする種々の血清因子が少量とは推定されるが含まれているために、生体内におけるPBMCのIFN- γ 産生能を正確に把握することは不可能である。そこで著者は、自己血清添加時のIFN- γ 産生能も測定してIFN- γ 産生能とIFN- γ 産生能に影響する内在性血清因子の存在を検討した。

なおMNにおけるIFN- γ 産生能は、NS期には健常

対照と差を示さなかったことから、MNの病態を把握する指標とならないものと判断される。

(2) 3%自己血清添加時IFN- γ 産生能

PBMCのIFN- γ 産生能は、3% FCS添加条件下ではMCNSの全病期において有意に低下していたが、3%自己血清添加条件下にはNS期およびCR期において健常対照と差を示さなくなるまで回復した。一方、副腎皮質ステロイド投与中のIR期におけるIFN- γ 産生能は、自己血清の添加によっても回復しなかった。以上の成績は、NS期とCR期にはPBMCに対するIFN- γ 産生能促進因子、IR期にはIFN- γ 産生抑制因子が血清中に存在することを示唆するものといえる。そこでIFN- γ 産生能に影響する血清因子の解明を目的に、血清IFN- γ 濃度と末梢血リンパ球サブセットの動態を測定した。

2. 血清IFN- γ 濃度

MCNSのNS期における血清IFN- γ 濃度は、IR期、CR期および健常対照に比して有意に上昇していた。前述のように、MCNSのNS期におけるIFN- γ 産生能は健常対照に比して有意に低下していたことから、血清IFN- γ 濃度上昇の機序をIFN- γ 産生能から説明することができない。むしろ今回の成績は、血清IFN- γ 濃度の上昇とPBMCにおけるIFN- γ 産生能の低下をみたというSLE^{25-27,58)}、RA^{28,59)}およびサルコイドーシス^{29,60)}での成績に類似している。つまり、MCNS患者における血清IFN- γ 濃度上昇の機序は、SLE、RAおよびサルコイドーシスと同様の機序、いいかえると、PBMC以外の臓器ないし細胞群でIFN- γ の産生が亢進しているものと推定される。MCNSのNS期には血清IgE値の上昇¹²⁾をみることから、血清IL-4値の上昇が推測されるが、血清IFN- γ 濃度の上昇はむしろ血清IL-4活性や血清IgE値を低下させる^{23,24)}と考えられている。したがって血清IFN- γ は血清IL-4に拮抗して上昇している可能性が考えられる。以上をまとめると、MCNSのNS期にはIL-2に代表されるリンホカインやウイルスなどのIFN- γ 産生能を上昇させる因子が、健常対照に比して血清中に高濃度に存在するものと推測される。

血清IFN- γ 濃度がMCNSのIR期に低値を示す機序は、PBMCにおけるIFN- γ 産生能の低下によって説明しても矛盾がないと思われる。これには、副腎皮質ステロイド投与によって血清中に存在するIFN- γ 産生能を上昇させる因子の産生が抑制されるために、T細胞以外の臓器あるいは細胞群におけるIFN- γ の産生が低下する機序と、副腎皮質ステロイドのIL-4産生抑制によって拮抗して亢進していたIFN- γ 産生能も低下する機序の両者が想定される。いずれにしても、血清IFN- γ 濃度の

低下には副腎皮質ステロイド治療の影響が大きいと考えられる。

3. MCNS における IFN- γ 産生能と血清 IFN- γ 濃度の関係

健常対照における IFN- γ 産生能は 3% 自己血清添加時には 3% FCS 添加時に比して高い傾向にあったが、推計学的には差がなかった。また 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能は、血清 IFN- γ 濃度と有意の正相関を示したが、3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能とは有意の相関を示さなかった。この成績から、健常対照の血清中には IFN- γ 産生促進因子が微量であるが存在しており、PBMC における IFN- γ 産生能がその因子の存在によって上昇し、血清 IFN- γ 濃度と相関を示したものと推測される。すなわち、健常対照の生体内での血清 IFN- γ 濃度は PBMC における IFN- γ 産生能に制御されている可能性が大きい。一方、MCNS の NS 期および CR 期に低下していた PBMC の IFN- γ 産生能は、自己血清添加によって有意に上昇した。しかし、3% FCS 添加時および 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能のいずれも血清 IFN- γ 濃度と正相関を示すまでには回復しなかったため、MCNS の PBMC における IFN- γ 産生能は血清 IFN- γ 濃度に比して低下していると考えられる。つまり今回の成績は、MCNS の血清中には IFN- γ 産生促進因子が健常対照に比してより高濃度に存在するが、その濃度は IFN- γ 産生能増強作用を発揮するには十分ではないという可能性を示している。一方では、IL-4 に代表される IFN- γ 抑制因子^{23,24)}が低下している可能性も否定できない。しかし前述のように、MCNS には高 IgE 血症症例の出現頻度が高い¹²⁾ことから、血清 IL-4 活性低下よりはむしろ IFN- γ 産生能促進因子の増強を考えるのが妥当といえる。MCNS におけるこの IFN- γ 産生促進因子増強の機序が、PBMC における IFN- γ 産生能の低下を回復させようとする生体の防御反応か否かについては今後の検討を待たねばならない。

さらに MCNS と健常対照間における IFN- γ 産生促進因子活性の差異を把握するため、PBMC における 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能と 3% 自己血清添加時 IFN- γ 産生能の比 (A/F 比) と血清 IFN- γ 濃度との関連を検討した。A/F 比は、FCS 中に含まれる IFN- γ 産生促進因子に対する自己血清中の IFN- γ 産生促進因子の活性強度を表わすものと考えられるので、IFN- γ 産生促進因子の半定量指標として用いた。また、A/F 比を血清 IFN- γ 濃度と比較した理由は、この比較が IFN- γ 産生促進因子に対する血清 IFN- γ の関与を明確にし得ると考えたからである。血清 IFN- γ 濃度は、MCNS において

A/F 比と有意の負相関を示したが、IgA-GN では逆に有意の正相関を示した。この成績は、添加自己血清を非働化して血清中の IFN- γ を失活させても変化しなかった。つまり、MCNS における PBMC の IFN- γ 産生能は加熱処理で失活しない IFN- γ 産生促進因子に制御されていることが示唆される。

4. MCNS における IFN- γ 産生能とリンパ球サブセット

健常対照についての今回の成績は、3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能が OKM1 と正相関を示しており、IFN- γ が T 細胞サブセットから産生される⁴⁷⁾という基礎的実験を追証するものであった。しかし MCNS では 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能は OKM1 細胞数と相関性を示さず、3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能は OKM1 細胞数に比して低下傾向を示した。この成績から、以下の 3 つの可能性が考えられた。1) IL-4 などの阻害因子は、病期によって濃度に変化し、T 細胞による IFN- γ 産生能を制御している。2) IFN- γ 産生促進因子は健常対照の血清中に比して MCNS の NS 期において低下している。3) T 細胞における IFN- γ 産生能は NK 細胞あるいは他臓器で産生された IFN- γ によるフィードバック機構によって抑制されている。前述の成績をあわせて考えると、MCNS における IFN- γ 産生促進因子および血清 IL-4 活性は上昇していると考えるのが妥当であり、1) と 2) の可能性は低いと考えられる。すなわち、NK 細胞あるいは他臓器で産生された IFN- γ によって T 細胞からの IFN- γ 産生が抑制されている可能性が最も強い。

5. MCNS 3 症例の臨床経過と 3% FCS 添加時 IFN- γ 産生能および血清 IFN- γ 濃度

NS 期から CR 期までの経過を観察し得た MCNS の 3 症例における検討では、PBMC の IFN- γ 産生能の推移と血清 IFN- γ 濃度の推移が相反していた。つまり NS 期では血清 IFN- γ 濃度が上昇しているにもかかわらず、IFN- γ 産生能が低下しており、副腎皮質ステロイド治療によって IR 期へ移行した場合には血清 IFN- γ 濃度が低下して IFN- γ 産生能は正常域まで回復した。しかし副腎皮質ステロイド少量投与の CR 期には、血清 IFN- γ 濃度のみならず IFN- γ 産生能も低下していた。以上のように、血清 IFN- γ 濃度と IFN- γ 産生能の間には相反して推移する時期が認められるので、MCNS の血清中に存在する IFN- γ の由来は T 細胞による産生のみでは一元的に説明することができない。そこで、IFN- γ 産生に影響する血清因子を考慮する必要が生じてきた。著者は前述のように、MCNS の NS 期における IFN- γ は T 細胞以外の NK 細胞などで産生され、産生された IFN- γ はフ

ードバック機構を介してT細胞におけるIFN- γ 産生を抑制するという可能性を考えている。したがって、IR期におけるIFN- γ 産生能の回復機序としては、副腎皮質ステロイドがNK細胞によるIFN- γ 産生を抑制するために血清IFN- γ 濃度は低下し、T細胞のIFN- γ 産生能は自己血清非添加のIFN- γ 産生抑制因子のない条件下で回復を示すためと推測される。一方、副腎皮質ステロイドを減量ないし中止するCR期には、NK細胞によるIFN- γ 産生が回復して血清IFN- γ 濃度が再上昇傾向を示し、フィードバック機構を介してT細胞におけるIFN- γ 産生能が低下するものと考えられる。以上より、副腎皮質ステロイドはNK細胞におけるIFN- γ 産生能に対して強い抑制作用を示すものと推測される。

この成績は、MCNSにおけるT細胞機能異常の一つとして、PBMCにおけるIFN- γ 産生能の低下と血清IFN- γ 濃度の上昇が存在すること、さらにはネフローゼ症状の推移とIFN- γ の動態が密接に関連していることを明らかにしたものであり、PBMCにおけるIFN- γ 産生能および血清IFN- γ 濃度の測定がNS期からCR期への寛解の指標として役立つ可能性を示した知見といえる。

結 論

微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)の病因に対するT細胞機能異常の関与を究明する目的で、末梢血単核球におけるインターフェロン γ (IFN- γ)産生能、血清IFN- γ 濃度およびリンパ球サブセットを検討し、以下の成績を得た。

1. MCNSのネフローゼ(NS)期、不完全寛解期(IR)および完全寛解期(CR)における3% FCS添加時IFN- γ 産生能は健常対照に比して有意に低下していた。一方、NS期とCR期における3%自己血清添加時IFN- γ 産生能は、3% FCS添加時に比して有意に上昇し、健常対照と差を示さなくなった。

2. 血清IFN- γ 濃度は、NS期には健常対照に比して有意に高値を示したが、IR期およびCR期では健常対照と差を示さなかった。

3. 健常対照における3%自己血清添加時IFN- γ 産生能は血清中IFN- γ 濃度と正相関を示した。一方、MCNSでは3%自己血清添加時IFN- γ 産生能は、血清IFN- γ 濃度と相関を示さなかった。

4. 健常対照における3% FCS添加時IFN- γ 産生能はOKM1陽性細胞数と有意の正相関を示した。しかしMCNSでは、3% FCS添加時IFN- γ 産生能はOKM1細胞数と相関を示さず、OKM1細胞数に比して3% FCS

添加IFN- γ 産生能の低下を示す症例の出現頻度が高かった。

5. MCNSの3症例についてネフローゼ症状の推移と3% FCS添加時IFN- γ 産生能および血清IFN- γ 濃度との関係を見ると、血清IFN- γ 濃度はNS期に上昇、IR期に低下したが、3% FCS添加時IFN- γ 産生能は逆にNS期に低下、IR期に正常域まで回復した。しかしCR期には両者とも低下する傾向を示した。

以上の成績から、MCNSのT細胞機能異常にはPBMCにおけるIFN- γ 産生能の低下と血清IFN- γ 濃度の上昇が関与しており、ネフローゼ症状の推移とIFN- γ の動態は密接に関連しているといえる。

稿を終わるにあたり、御指導、御校閲を賜りました内科学第1講座石川兵衛教授に深甚の謝意を捧げるとともに、御校閲、御助言を賜りました細菌学講座榎葉周三教授ならびに産婦人科学講座一條元彦教授に深謝いたします。さらに直接、御指導、御教示いただきました土肥和弘講師に感謝します。また、終始、御協力いただきました第1内科学教室腎研究班の諸兄に感謝の意を表します。

本論文の要旨は、第27回日本腎臓学会総会(1984年11月、東京)、第28回日本腎臓学会総会(1985年10月、東京)、第29回日本腎臓学会総会(1986年11月、東京)、第15回日本臨床免疫学会総会(1987年7月、札幌)および第10回国際腎臓学会(1987年7月、London)において発表した。

文 献

- 1) Shalhoub, R. J. : Pathogenesis of lipoid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* ii : 556, 1974.
- 2) Matsumoto, K., Osakabe, K., Ohi, H., Yoshizawa, N., Harada, M. and Hatano, M. : Alternation of T-lymphocyte subpopulations in patients with primary renal diseases and systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Immunol.* 11 : 187, 1980.
- 3) Sasdelli, M., Rovinetti, C., Cagnoli, L., Beltrandi, E., Barboni, F. and Zucchelli, P. : Lymphocyte subpopulations in minimal-change nephropathy. *Nephron* 25 : 72, 1980.
- 4) 堺 薫, 嶋倉泰裕, 富沢修一, 伊東末志 : リポイドネフローゼと細胞性免疫. *医学のあゆみ* 119 : 351, 1981.

- 5) **Sasdeli, M., Cagnoli, L., Candi, P., Mandreolli, M., Beltrandi, E. and Zucchelli, P.** : Cell-mediated immunity in idiopathic glomerulonephritis. *Clin. Exp. Immunol.* **46** : 27, 1981.
- 6) **Nakabayashi, K., Arimura, Y., Yoshida, M. and Nagasawa, T.** : Anti-T cell antibodies in primary glomerulonephritis. *Clin. Nephrol.* **23** : 74, 1985.
- 7) 山田宏治, 土肥和紘, 高井正秀, 藤井謙裕, 花谷正和, 大楠皓亮, 石川兵衛 : 原発性糸球体疾患におけるADCC活性. *日腎誌.* **27** : 157, 1985.
- 8) 山田宏治, 土肥和紘, 高井正秀, 藤井謙裕, 大楠皓亮, 石川兵衛 : 原発性糸球体疾患におけるリンパ球サブセット. *日腎誌.* **28** : 127, 1986.
- 9) 嶋倉泰裕 : 小児各種腎疾患におけるT細胞サブセットの検討. *日腎誌.* **27** : 195, 1985.
- 10) 山田宏治, 土肥和紘, 森田博文, 平山俊英, 高井正秀, 藤井謙裕, 石川兵衛, 岩城孝次 : 微小変化型ネフローゼ症候群における末梢血リンパ球サブセットのtwo-color flow cytometryによる解析. *日腎誌.* **29** : 675, 1987.
- 11) 横山 仁, 木田 寛, 谷 吉雄, 越野慶隆, 竹田慎一, 吉村光弘, 友杉直久, 安倍俊男, 服部 信 : 微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) における免疫グロブリン産生細胞に関する研究. *日腎誌.* **27** : 773, 1985.
- 12) 藤井謙裕, 土肥和紘, 藤本順一郎, 金内雅夫, 山中富美男, 花谷正和, 石川兵衛, 宇野傅治, 木部佳紀, 杉岡五郎 : 微小変化型ネフローゼ症候群における血清IgE値の臨床的意義. *奈医誌.* **35** : 1, 1984.
- 13) **Howard, M., Farrar, J., Hilfiker, M., Johnson, B., Takatsu, K., Hamaoka, T. and Paul, W. E.** : Identification of a T cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin 2. *J. Exp. Med.* **155** : 914, 1982.
- 14) **Snapper, C. M., Finkelman, F. D. and Paul, W. E.** : Differential regulation of IgG1 and IgE synthesis by interleukin 4. *J. Exp. Med.* **167** : 183, 1988.
- 15) **Bergstedt-Lindqvist, S., Moon, H. B., Persson, U., Möller, G., Heusser, C. and Severinson, E.** : Interleukin 4 instructs uncommitted B lymphocytes to switch to IgG₁ and IgE. *Eur. J. Immunol.* **18** : 1073, 1988.
- 16) **Noelle, R. J., Kuziel, W. A., Maliszewski, C. R., McAdams, E., Vitetta, E. S. and Tucker, P. W.** : Regulation of the expression of multiple class II genes in murine B cells by B cell stimulatory factor-1 (BSF-1). *J. Immunol.* **137** : 1718, 1986.
- 17) **Epstein, L. B.** : The comparative biology of immune and classical interferons. *in* *Biology of the Lymphokines.* Academic Press, Inc., New York, p. 443, 1979.
- 18) **King, D. P. and Jones, P. P.** : Induction of Ia and H-2 antigens on a macrophage cell line by immune interferon. *J. Immunol.* **131** : 315, 1983.
- 19) **Pace, J. L., Russell, S. W., Torres, B. A., Johnson, H. M. and Gray, P. W.** : Recombinant mouse γ interferon induces the priming step in macrophage activation for tumor cell killing. *J. Immunol.* **130** : 2011, 1983.
- 20) **Pace, J. L., Russell, S. W., LeBlanc, P. A. and Murasko, D. M.** : Comparative effects of various classes of mouse interferons on macrophage activation for tumor cell killing. *J. Immunol.* **134** : 977, 1985.
- 21) **Gajewski, T. F., Goldwasser, E. and Fitch, F. W.** : Anti-proliferative effect of IFN- γ in immune regulation. II. IFN- γ inhibits the proliferation of murine bone marrow cells stimulated with IL-3, IL-4, or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J. Immunol.* **141** : 2635, 1988.
- 22) **Reynolds, D. S., Boom, W. H. and Abbas, A. K.** : Inhibition of B lymphocyte activation by interferon- γ . *J. Immunol.* **139** : 767, 1987.
- 23) **Jabara, H. H., Ackerman, S. J., Vercelli, D., Yokota, T., Arai, K., Abrams, J., Dvorak, A. M., Lavigne, M. C., Banchereau, J., deVries, J., Leung, D. Y. M. and Geha, R. S.** : Induction of interleukin-4-dependent IgE synthesis and interleukin-5-dependent eosinophil differentiation by supernatants of a human helper T-cell clone. *J. Clin. Immunol.* **8** : 437, 1988.
- 24) **Pene, J., Rousset, F., Briere, F., Chretien, I., Bonnefoy, J. Y., Spits, H., Yokota, T., Arai, N., Arai, K., Banchereau, J. and deVries, J.** : IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferon γ and α and prostaglandin E₂. *Proc. Natl.*

- Acad. Sci. USA 85: 6880, 1988.
- 25) **Hooks, J. J., Jordan, G. W., Cupps, T., Moutsopoulos, H. N., Fauci, A. S. and Notkins, A. L.** : Multiple interferons in the circulation of patients with systemic lupus erythematosus and vasculitis. *Arthritis Rheum.* 25: 396, 1982.
 - 26) **Preble, O. T., Black, R. J., Friedman, R. M., Klippel, J. H. and Vilček, J.** : Systemic lupus erythematosus. : Presence in human serum of an unusual acid-labile leukocyte interferon. *Science* 216: 429, 1982.
 - 27) **Ytterberg, S. R. and Schnitzer, T. J.** : Serum interferon levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 25: 401, 1982.
 - 28) **Husby, G. and Williams, R. C.** : Immunohistochemical studies of interleukin-2 and γ -interferon in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 28: 174, 1985.
 - 29) **Rottoli, L., Rottoli, P., Muscettola, M., Grasso, G. and Bocci, V.** : Presence of acid-labile interferon in the serum of sarcoidosis patients. *Acta Virol.* 29: 91, 1985.
 - 30) **Ohno, S., Kato, F., Matsuda, H., Fujii, N. and Minagawa, T.** : Detection of gamma interferon in the sera of patients with Behçet's disease. *Infect. Immun.* 36: 202, 1982.
 - 31) **Bjerke, J. R., Livden, J. K., Degre, M. and Matre, R.** : Interferon in suction blister fluid from psoriatic lesions. *Brit. J. Dermatol.* 108: 295, 1983.
 - 32) **Livden, J. K., Bjerke, J. R., Degre, M. and Matre, R.** : The effect of Goeckerman therapy on interferon in serum and suction blister fluid from patients with psoriasis. *Brit. J. Dermatol.* 114: 217, 1986.
 - 33) 成人ネフローゼ症候群治療研究会 : わが国における成人ネフローゼ症候群に対する副腎皮質ステロイド療法の治療成績. *最新医学* 28: 748, 1973.
 - 34) **Yip, Y. K., Pang, R. H., Oppenheim, J. D., Nachbar, M. S., Henriksen, D., Zerebecky-Eckhardt, I. and Vilček, J.** : Stimulation of human gamma interferon production by diterpene esters. *Infect. Immun.* 34: 131, 1981.
 - 35) **Chang, T. W., Mckinney, S., Liu, V., Kung, P. C., Vilček, J. and Le, J.** : Use of monoclonal antibodies as sensitive and specific probes for biologically active human gamma-interferon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 5219, 1984.
 - 36) 皆川知紀 : ヒト内在性インターフェロン- γ の検出とその意義. *Minophagen Med. Rev.* 33: 49, 1988.
 - 37) **Ledbettr, J. A., Evans, R. L., Lipinski, M., Cunningham-Rundles, C., Good, R. A. and Herzenberg, L. A.** : Evolutionary conservation of surface molecules that distinguish T lymphocyte helper/inducer and cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. *J. Exp. Med.* 153: 310, 1981.
 - 38) **Evans, R. L., Wall, D. W., Platsoucas, C. D., Siegel, F. P., Fikrig, S. M., Testa, C. M. and Good, R. A.** : Thymus-dependent membrane antigens in man: Inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to TH₂ antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 544, 1981.
 - 39) **Abo, T. and Balch, C. M.** : A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). *J. Immunol.* 127: 1024, 1981.
 - 40) **Abo, T., Cooper, M. D. and Balch, C. M.** : Postnatal expansion of the natural killer and killer cell population in humans identified by the monoclonal HNK-1 antibody. *J. Exp. Med.* 155: 321, 1982.
 - 41) **Landay, A., Cartland, G. L. and Clement, L. T.** : Characterization of a phenotypically distinct subpopulation of Leu-2+ cells that suppresses T cell proliferative responses. *J. Immunol.* 131: 2757, 1983.
 - 42) **Breard, J., Reinherz, E. L., Kung, P. C., Goldstein, G. and Schlossman, S. F.** : A monoclonal antibody reactive with human peripheral blood monocytes. *J. Immunol.* 124: 1943, 1980.
 - 43) **Lanier, L. L., Le, A. M., Phillips, J. H., Warner, N. L. and Babcock, G. F.** : Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens. *J. Immunol.* 131: 1789, 1983.
 - 44) **Lampson, L. A. and Levy, R.** : Two populations of Ia-like molecules on a human B cell line. *J. Immunol.* 125: 293, 1980.

- 45) **Dohi, K., Yamada, H., Takai, M., Fujii, Y. and Ishikawa, H.** : Natural killer activity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in primary glomerular diseases. *Clin. Nephrol.* **27**: 11, 1987.
- 46) 森田博文, 土肥和紘, 小川修二, 平山俊英, 山田宏治, 高井正秀, 藤井謙裕, 石川兵衛: 原発性糸球体疾患におけるインターロイキン2産生能と反応能. *日腎誌.* **29**: 1365, 1987.
- 47) **Placios, P., Martinez-Maza, O. and De Ley, M.** : Production of human immune interferon (Hu IFN- γ) studied at the single cell level. Origin, evidence for spontaneous secretion and effect of cyclosporin A. *Eur. J. Immunol.* **13**: 221, 1983.
- 48) **Trinchieri, G., Santoli, D., Dee, R. R. and Knowles, B. B.** : Anti-viral activity induced by culturing lymphocytes with tumor-derived or virus-transformed cells. Identification of the anti-viral activity as interferon and characterization of the human effector lymphocyte subpopulation. *J. Exp. Med.* **147**: 1299, 1978.
- 49) **Catalona, W. J., Ratliff, T. L. and McCool, R. E.** : γ interferon induced by *S. aureus* protein A augments natural killing and ADCC. *Nature* **291**: 77, 1981.
- 50) **Vogel, S. N., English, K. E. and O'Brien, A. D.** : Silica enhancement of murine endotoxin sensitivity. *Infect. Immun.* **38**: 681, 1982.
- 51) **Spitalny, G. L. and Havell, E. A.** : Monoclonal antibody to murine gamma interferon inhibits lymphokine-induced antiviral and macrophage tumoricidal activities. *J. Exp. Med.* **159**: 1560, 1984.
- 52) **Ozaki, Y., Edelstein, M. P. and Duch, D. S.** : Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase: a mechanism of the anti-tumor activity of interferon- γ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 1242, 1988.
- 53) **Huddleston, J. R., Merigan Jr, T. C. and Oldstone, M. B. A.** : Induction and kinetics of natural killer cells in humans following interferon therapy. *Nature* **282**: 417, 1979.
- 54) **Stewart, W. E.** II: The interferon system. Vienna, Springer Verlag, 1979.
- 55) **Sonnefeld, G.** : Modulation of immunity by interferon. *in Lymphokine Reports* (Pick, E., ed.). New York, Academic Press, p.113, 1986.
- 56) **Jacob, C. O., van der Meide, P. H. and McDevitt, H. D.** : In vivo treatment of (NZB \times NZW) F₁ lupus-like nephritis with monoclonal antibody to γ -interferon. *J. Exp. Med.* **166**: 798, 1987.
- 57) **Ault, B. H., Stapleton, F. B., Gaber, L., Martin, A., Roy III, S. and Murphy, S. B.** : Acute renal failure during therapy with recombinant human gamma interferon. *N. Engl. J. Med.* **319**: 1397, 1988.
- 58) **Tsokos, G. C., Boumpas, D. T., Smith, P. L., Djeu, J. Y., Balow, J. E. and Rook, A. H.** : Deficient γ interferon production in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **29**: 1210, 1986.
- 59) **Reuter, A., Bernier, J., Vrindts-Gevaert, Y., Meuleman-Gathy, R., Malaise, M., Fiers, W. and Franchimont, P.** : Production of interferon gamma by peripheral blood mononuclear cells from normal subjects and from patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheum.* **6**: 347, 1988.
- 60) 皆川知紀, 中根明夫, 木村浩一, 平賀洋明, 山本朝子, 菊地弘毅: サルコイドーシスにおけるインターフェロンシステム (第二報). *Jpn. J. Sarcoidosis* **6**: 31, 1986.
- 61) 藤井 弘, 小林 聡, 大野重昭: ステロイド剤の末梢血リンパ球におけるインターフェロン産生に及ぼす影響. *臨床免疫* **16**: 137, 1984.