

微小変化型ネフローゼ症候群における インターロイキン 2 産生能と反応能

奈良県立医科大学第 1 内科学教室

森 田 博 文

PRODUCTION OF INTERLEUKIN 2 (IL-2) AND RESPONSIVENESS TO IL-2 OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN MINIMAL CHANGE NEPHROTIC SYNDROME

HIROFUMI MORITA

The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received September 27, 1989

Summary: The present study was done to investigate the role of cell-mediated immunity in minimal change nephrotic syndrome (MCNS) by measuring interleukin 2 (IL-2) production and the response to IL-2 of peripheral blood lymphocytes (PBL). Moreover, the lymphocyte subpopulations capable of producing IL-2, and expressing IL-2 receptors (IL-2R), were assessed by flow cytometry. Subjects employed in the study were 41 patients with MCNS, 24 with membranous nephropathy (MN), 22 with IgA glomerulonephritis (IgA-GN), and 50 healthy volunteers as controls.

Patients with MN and IgA-GN showed normal levels of IL-2 production by PBL. PBL of patients with MCNS, who were in the nephrotic stage prior to initiation of prednisolone (PSL) treatment or who were in remission less than one year, exhibited significantly lower levels of IL-2 production. In contrast, PBL of patients with MCNS, who were in remission more than 1 year or who could remit of PSL regimen, had normal IL-2 production. The IL-2 production by CD4⁺ cells from patients with MCNS at nephrotic stage was normal, but that production by CD8⁺ cells was markedly reduced, returning to normal when the disease was in remission. In patients with MCNS, the IL-2 production correlated positively with both the proportion of CD4⁺ cells and the ratio of CD4⁺/CD8⁺, and inversely with the proportion of CD8⁺ cells. The response to exogenous IL-2 of concanavalin A-induced lymphoblasts from patients with MCNS was significantly lower, although the proportion of IL-2R⁺ cells showed no difference from that of healthy volunteers.

These findings suggest that defective IL-2 production and IL-2 response of PBL in patients with MCNS contribute to the pathogenesis of MCNS.

Index Terms

interleukin 2, interleukin 2 receptors, lymphocyte subpopulations, minimal change nephrotic syndrome, nephrotic syndrome

緒 言

微小変化型ネフローゼ症候群 (minimal change nephrotic syndrome; 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 については種々の液性ならびに細胞性免疫異常の存在が知られており¹⁾、かかる免疫不全が本症の発症要因として注目されてきた。とりわけ、最近では MCNS における細胞性免疫異常が相ついで報告されている。つまり、T 細胞機能異常としては E ロゼット形成細胞 (T 細胞) の減少^{2,3)}、T μ 細胞の増加と T γ 細胞の減少²⁾、Leu3a/Leu2a (または OKT4/OKT8) の低下⁴⁾、concanavalin A (ConA) 誘導サブプレッサー T 細胞の機能亢進^{5,6)}、リンパ球幼若化反応抑制因子⁷⁾・抗リンパ球抗体⁸⁾ の存在など、B 細胞機能異常としては血清 IgE 値の上昇⁹⁾ や IgG 値の低下、免疫グロブリン産生細胞の機能異常¹⁰⁾ などが該当する。さらに natural killer (NK) 細胞については NK 活性の低下が報告されている¹¹⁾ が、現在のところ MCNS の発症病因に対する細胞性免疫異常の意義は明らかにされていない。

1970 年代の後半から、免疫担当細胞相互間に伝達物質として働く液性因子が相ついで発見されており、免疫調節機構は飛躍的に解明された。当初、報告者により種々の名称で呼ばれていた液性伝達物質は、1979 年からインターロイキンという名称に統一されている。このうち、インターロイキン 2 (interleukin 2; IL-2) は、活性化 T 細胞から産生される分子量約 15,000 の糖蛋白¹²⁾ であり、その生物学的活性は多岐にわたるが、とくにリンパ球の分化・増殖因子として重要なリンホカインとされている。リンパ球の IL-2 産生能および IL-2 反応能は、全身性エリテマトーデス (SLE)^{13,14)} や慢性関節リウマチ¹⁵⁾ などの自己免疫疾患において異常を示すことが報告されており、T 細胞機能の指標として注目されている。このように現在では、免疫不全の病因解明は免疫担当細胞相互間に作用する液性伝達物質について検討されるようになった。

そこで今回著者は、MCNS の発症病因としての T 細胞機能異常の関与を究明する目的で、末梢血リンパ球 (PBL) の IL-2 産生能、IL-2 反応能および IL-2 レセプター (IL-2R) 発現率について検討したので、ここに報告する。

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で腎生検を施行した MCNS41 例であり、その性別は男性 33 例、女性 8 例、年齢は 16 から 58 歳 (平均 28 歳) 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¹⁶⁾ によった。なお検討に際しては、MCNS の病期をネフローゼ症候群および副腎皮質ステロイド治療の有無から、1) 未治療のネフローゼ期、2) 副腎皮質ステロイド治療中のネフローゼ期、3) 副腎皮質ステロイド治療中で寛解導入後 1 年未満、4) 副腎皮質ステロイド治療中で寛解導入後 1 年以上、および 5) 副腎皮質ステロイド治療を離脱し得た寛解期の 5 期に分けて解析した。使用した副腎皮質ステロイドは主としてプレドニソロン (prednisolone; PSL) であり、ネフローゼ期には PSL 換算量 1 日 40~100mg、寛解期には維持量として 1 日 2.5~20mg の PSL が投与されていた。

また、対照には健康人 (健康対照群) 50 例と膜性腎症 (membranous nephropathy; MN) 24 例および IgA 腎炎 (IgA glomerulonephritis; IgA-GN) 22 例を選んだ。健康対照群 50 例の性別は男性 27 例、女性 23 例で、年齢は 18 から 59 歳 (平均 29 歳) である。MN および IgA-GN の性別はそれぞれ男性 13 例、女性 11 例および男性 14 例、女性 8 例であり、その年齢は 30 から 64 歳 (平均 38 歳) および 17 から 50 歳 (平均 28 歳) である。

2. 方法

(1) IL-2 産生能

1) IL-2 産生

まず Ficoll-Hypaque (Pharmacia 社製) 比重遠心法によりヘパリン加末梢血から単核球を分離した。この得られた単核球を 0.01M リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 3 回洗浄後、 2×10^6 /ml の濃度になるように調整して培養液に浮遊させた。使用した培養液は RPMI 1640 (日本製薬社製) に 10% ウシ胎児血清 (fetal calf serum; FCS, Chimera Biomedics 社製)、ストレプトマイシン (明治製菓社製) 100 μ g/ml、ペニシリン (明治製菓社製) 100IU/ml および L-グルタミン (日本製薬社製) を加えて調整したものである。つぎに単核球をプラスチックディッシュ (Corning 社製) 内で 5%CO₂、37°C の条件下で 1 時間静置した。この操作を 2 回くり返して単核球を除去し、PBL を得た。この PBL を 10 μ g/ml phytohemagglutinin (PHA, Wellcome 社製) 加 RPMI 1640 に浮遊させ、 2×10^6 /ml 濃度となるように調整し、5%CO₂、37°C の条件下で 48 時間培養した。培養終了後の上清を採取し、0.2 μ ポアフィルター (Sartorius 社製) を通してから、-70°C で凍結保存した。

さらに T 細胞サブセットにおける IL-2 産生能を検討

する目的で、補体依存性細胞融解法により T 細胞を CD4⁺ および CD8⁺ 細胞に細分画化して IL-2 産生能を測定した。すなわち、PBL にあらかじめノイラミニダーゼ (Behring Institut 社製) 処理した羊赤血球を加えてロゼットを形成させ、Ficoll-Hypaque 比重遠心法によりロゼット形成細胞と非形成細胞に分離した。この精製操作を 2 回くり返し、ロゼット形成細胞を得た。このロゼット形成細胞浮遊液に 0.17M Tris 緩衝液 (pH 7.2) を混和して羊赤血球を溶血させ、PBS で洗浄して T 細胞を分離した。1×10⁷/ml の T 細胞浮遊液 400μl に単クローン抗体である抗 OKT8 あるいは抗 OKT4 抗体 (Ortho Diagnostic 社製) を 200μl 加えて 4°C で 1 時間反応させた。さらに最終濃度が 25% になるように家兎補体 (Behring Institut 社製) を加えて 37°C、2 時間培養し、CD8⁺ あるいは CD4⁺ 細胞を除去した。CD8⁺ 細胞を除去した T 細胞分画を CD4⁺ 細胞、CD4⁺ 細胞を除去した T 細胞分画を CD8⁺ 細胞とし、それぞれの細分画における IL-2 産生能を検討した。

2) IL-2 活性の測定

IL-2 活性の測定は標的細胞として IL-2 依存性培養成人 T 細胞白血病細胞株 ILKT-1¹⁷⁾ を用いた。PHA 刺激リンパ球培養上清 100μl を 96 穴マイクロプレート (Corning 社製) 上で RPMI 1640 を用いて 2 倍段階希釈し、1/2 から 1/2⁵ の希釈列を作成した。ILKT-1 を 2×10⁴ 個/ウェル添加し、37°C の条件下で 66 時間培養した。さらに 0.5μCi/ウェルの ³H-thymidine (Amersham 社製) を添加して 6 時間培養後、セルハーベスター (Labo Mash 社製) を用いてガラスフィルター (Labo Mash 社製) 上に細胞を回収した。乾燥させたフィルターの放射活性を液体シンチレーションカウンター (LS 7500, Beckmann 社製) で測定した。

3) IL-2 活性

IL-2 活性は、Gillis, et al.¹⁸⁾ の probit analysis 法を用い、標準 IL-2 (GUPI-2, Genzyme 社製) の活性を 1 単

位に換算して評価した。

(2) リンパ球サブセット

Leu シリーズ単クローン抗体 (Becton Dickinson 社製) を用いたフローサイトメトリー法によるリンパ球サブセットと、同時に測定した IL-2 産生能との関係を検討した。ヘパリン加末梢血 100μl に PBS 100μl を加えて 2 倍に希釈した。単クローン抗体 10μl を加えて静かに混和し、4°C、30 分間反応させた。対照には単クローン抗体の代わりに PBS10μl を加えた。反応後、2ml の赤血球除去剤 (0.8% NH₄Cl, 0.5mM EDTA, 0.1% KHCO₃) を混和して赤血球を溶血させ、4°C、300×G の条件下で 5 分間遠心して細胞を分離した。この細胞を PBS に再浮遊させてスペクトラム III (Ortho 社製) により解析した。なお、今回使用した単クローン抗体の特性は Table 1 に示すとおりである。

(3) IL-2 反応能

IL-2 反応能は Con A 活性化リンパ球の外因性 IL-2 に対する反応性を ³H-thymidine の細胞内への取り込みから測定した。Ficoll-Hypaque 比重遠心法を用いて得た PBL を 7μg/ml Con A (E.Y. Laboratory 社製) 加 RPMI 1640 に浮遊させ、5×10⁶/ml 濃度となるように調整し、5%CO₂、37°C の条件下で 48 時間培養した。培養後の PBL を 10mg/ml α-methylmannoside (α-MM, Sigma 社製) 加 PBS で 3 回洗浄後、10mg/ml α-MM 加 RPMI 1640 に 5×10⁶/ml 濃度となるように調整して浮遊させた。この細胞浮遊液 100μl をマイクロプレート上で 100U/ml recombinant IL-2 (rIL-2, シオノギ製薬社製) 100μl 存在下および非存在下で、37°C、48 時間培養した。さらに ³H-thymidine (Amersham 社製) 0.25μCi/ウェルを添加して 8 時間培養後、セルハーベスター (Labo Mash 社製) を用いて細胞を回収し、前述と同様の方法により細胞内に取り込まれた ³H-thymidine の放射活性を測定した。

IL-2 反応能は次式で求めた。

Table 1. Specificity of monoclonal antibodies used in this study

Cluster designation ¹⁹⁾	Monoclonal antibody	Major specificity	Additional specificity
CD3	Leu4	Mature T cells	—
CD4	Leu3a	Helper/inducer T cells	Monocytes
CD8	Leu2a	Cytotoxic/suppressor T cells	NK cells
—	Leu7	NK cells	Suppressor T cells
—	Leu10	B cells (HLA-DC/DS)	Monocytes
CD16	Leu11	NK cells (IgG Fc receptor)	Granulocytes
—	HLA-DR	B cells and activated T cells	Monocytes

IL-2 反応能 (cpm) = rIL-2 添加時の放射活性 - rIL-2 非添加時の放射活性

(4) IL-2R 発現率

Con A 活性化リンパ球における Tac 抗原発現率を抗 Tac 単クローン抗体²⁰⁾を用いたフローサイトメトリー法により検出し、IL-2R 発現率と判定した。IL-2 反応能と同様の方法により得られた Con A 活性化リンパ球を 10mg/ml α -MM 加 RPMI 1640 に浮遊させ、 5×10^5 /ml の濃度に調整した。この細胞浮遊液 100 μ l にヒト AB 血清 (大日本製薬社製) 5 μ l を加えて Fc レセプターを遮断した後、抗 Tac 単クローン抗体 IL-2R1 (Coulter 社製) 10 μ l を添加して静かに混和し、4°C で 30 分間培養した。培養後、PBS を加えて洗浄し、再浮遊させた細胞をスペクトラム III (Ortho 社製) で解析した。

(5) 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 標準偏差で表した。

成 績

1. MCNS における IL-2 産生能

MCNS, MN および IgA-GN における IL-2 産生能は、それぞれ 0.94 ± 0.52 , 0.86 ± 0.61 および 0.88 ± 0.47 単位であり、いずれも健常対照群の 1.02 ± 0.48 単位と差を示さなかった (Table 2)。つぎに MCNS の IL-2 産生能を病期に分けて検討した。未治療期および PSL 治療中のネフローゼ期にある症例の IL-2 産生能は、それぞれ 0.38 ± 0.27 単位および 0.60 ± 0.31 単位であり、いずれも健

Table 2. IL-2 production in patients with primary glomerular diseases

Subjects	n	IL-2 production (units)
Healthy volunteers	50	1.02 ± 0.48
MCNS	41	0.94 ± 0.52
MN	24	0.86 ± 0.61
IgA-GN	22	0.88 ± 0.47

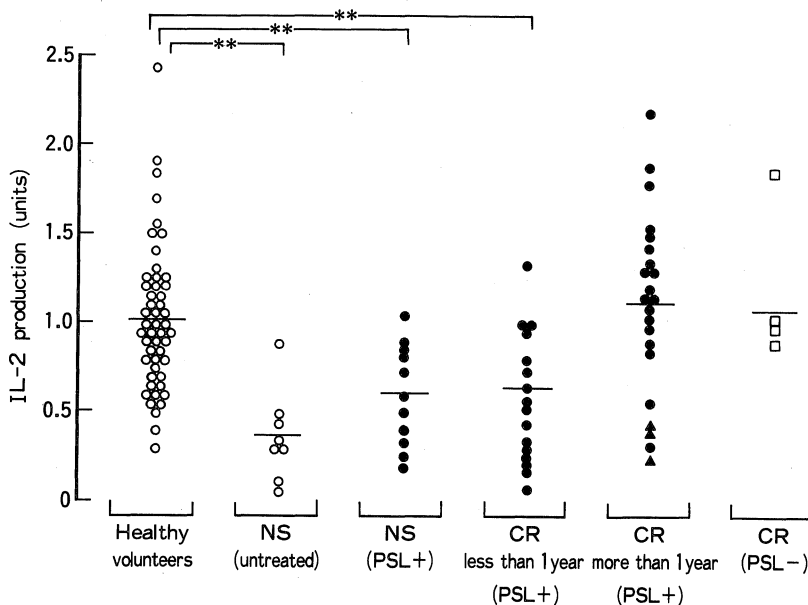


Fig. 1. IL-2 production in patients with MCNS. Patients were divided into untreated (○), treated with prednisolone (●), and remitted off prednisolone (□). Three patients in remission more than 1 year, had a relapse (▲). NS: nephrotic stage, CR: complete remission, ** P < 0.01.

常対照群に比して有意に低下していた (Fig. 1)。また、寛解導入後1年未満の症例におけるIL-2産生能は、 0.62 ± 0.37 単位であり、健常対照群に比して有意の低値を示した。一方、寛解導入後1年以上の症例およびPSL治療を離脱し得た症例のIL-2産生能はそれぞれ 1.19 ± 0.73 および 1.12 ± 0.45 単位であり、いずれも健常対照群と差を示さなかった。さらに経過中にネフローゼ症状の再燃を認めた3例のIL-2産生能を検討した。この3例は、1年以上の寛解後にネフローゼ症状が再燃しており、再燃時のPSL投与量は1日2.5~5mgであった。3例の再燃前におけるIL-2産生能は、それぞれ0.24, 0.40 および 0.43 単位の低値を示していた。

つぎに今回の検討症例中、IL-2産生能を経時的に測定し得た5例について述べる (Fig. 2)。未治療のネフローゼ期では5例中4例がIL-2産生能の低下を示した。PSL治療中のネフローゼ期には3例が未治療期に比してIL-2産生能の上昇、2例が低下を示した。一方、PSL治療中の寛解期におけるIL-2産生能は、5例全例が未治療期に比して有意の上昇を示した。

2. MCNSにおけるIL-2産生能とリンパ球サブセット

つぎにIL-2産生能と末梢血リンパ球サブセットを同時に測定し、両者の関係について検討した (Fig. 3)。健常対照群におけるIL-2産生能は、検討したいずれのリンパ球サブセットとも有意の相関を示さなかった。一方、MCNSにおけるIL-2産生能は、 $CD4^+$ 細胞および $CD4^+/CD8^+$ と有意の正相関 ($r=0.50$, $P<0.05$ および $r=0.54$, $P<0.05$) を示し、 $CD8^+$ 細胞と有意の負相関 ($r=-0.66$, $P<0.01$) を示した。

そこでMCNSにおけるIL-2産生能低下がどのT細胞サブセット異常に由来しているかを検討する目的で、T細胞を $CD4^+$ および $CD8^+$ 細胞に細分化し、各細分画のPHA刺激によるIL-2産生能を測定した (Table 3)。PHA非刺激下におけるT細胞分画のIL-2産生能

は、健常対照群およびMCNSのいずれも測定感度以下であった。一方、PHA刺激下におけるT細胞分画のIL-2産生能は健常対照群 1.08 ± 0.36 、未治療のネフローゼ期MCNS 0.40 ± 0.24 および寛解期MCNS 1.02 ± 0.34 単位であり、健常対照群、未治療のネフローゼ期MCNSおよび寛解期MCNSにおけるT細胞分画はいずれもIL-2産生を示した。しかし、未治療のネフローゼ期MCNSにおけるT細胞分画のIL-2産生能は健常対照群に比して低下していた。

つぎにPHA刺激による細分画のIL-2産生能を検討

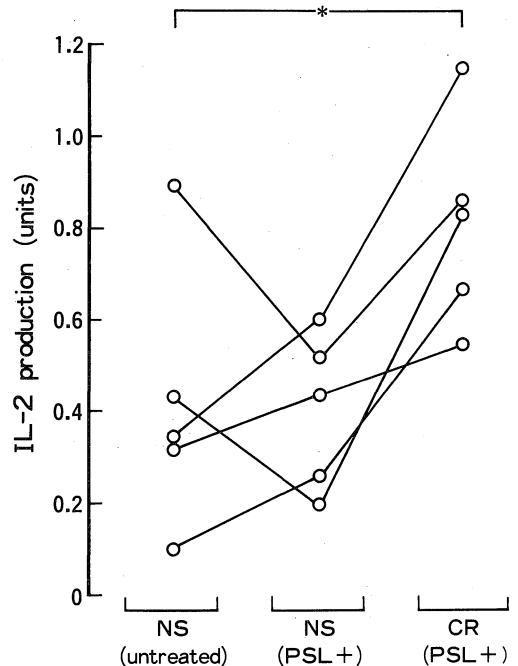


Fig. 2. Serial change of IL-2 production in patients with MCNS. NS: nephrotic stage, CR: complete remission, * <0.05 .

Table 3. Production of IL-2 by T cell subsets from patients with MCNS

Subjects	Source of IL-2	IL-2 production (units)		
		T	$CD4^+$	$CD8^+$
Healthy volunteers (n=11)	PHA+	1.08 ± 0.36	1.17 ± 0.32	0.83 ± 0.36
	PHA-	UD	—	—
NS untreated (n=3)	PHA+	0.40 ± 0.24	0.91 ± 0.25	0.17 ± 0.11
	PHA-	UD	—	—
CR PSL+ (n=7)	PHA+	1.02 ± 0.34	0.88 ± 0.35	0.64 ± 0.32
	PHA-	UD	—	—

NS: nephrotic stage, CR: complete remission, UD: undetectable, Mean \pm SD.

した。健常対照群における CD4⁺ および CD8⁺ 細胞の IL-2 産生能はそれぞれ 1.17±0.32 および 0.83±0.36 であり、いずれも PHA 刺激による IL-2 産生を示した。さらに未治療のネフローゼ期 MCNS における CD4⁺ 細胞の IL-2 産生能は、0.91±0.25 であり、健常対照群とほぼ同値を示した。一方、CD8⁺ 細胞の IL-2 産生能は、0.17±0.11 であり、健常対照群に比して低下していた。ただし、今回の検討は、未治療期 MCNS 症例が 3 例にすぎず、推計学的処理を行わなかった。なお、寛解期 MCNS については、CD4⁺ および CD8⁺ 細胞の IL-2 産生能は、それぞ

れ 0.88±0.35 および 0.64±0.32 であり、いずれも健常対照群と差を示さなかった。

3. MCNS における IL-2 反応能

MCNS, MN および健常対照群における Con A 活性化リンパ球の IL-2 反応能を Fig. 4 に示す。MCNS における IL-2 反応能は、24,686±9,443 cpm であり、健常対照群の 30,466±7,998cpm に比して有意の低値を示した。しかし、ネフローゼ期と寛解期の間には差が認められなかった。MN における IL-2 反応能は、28,423±6,646cpm であり、健常対照群と差を示さなかった。

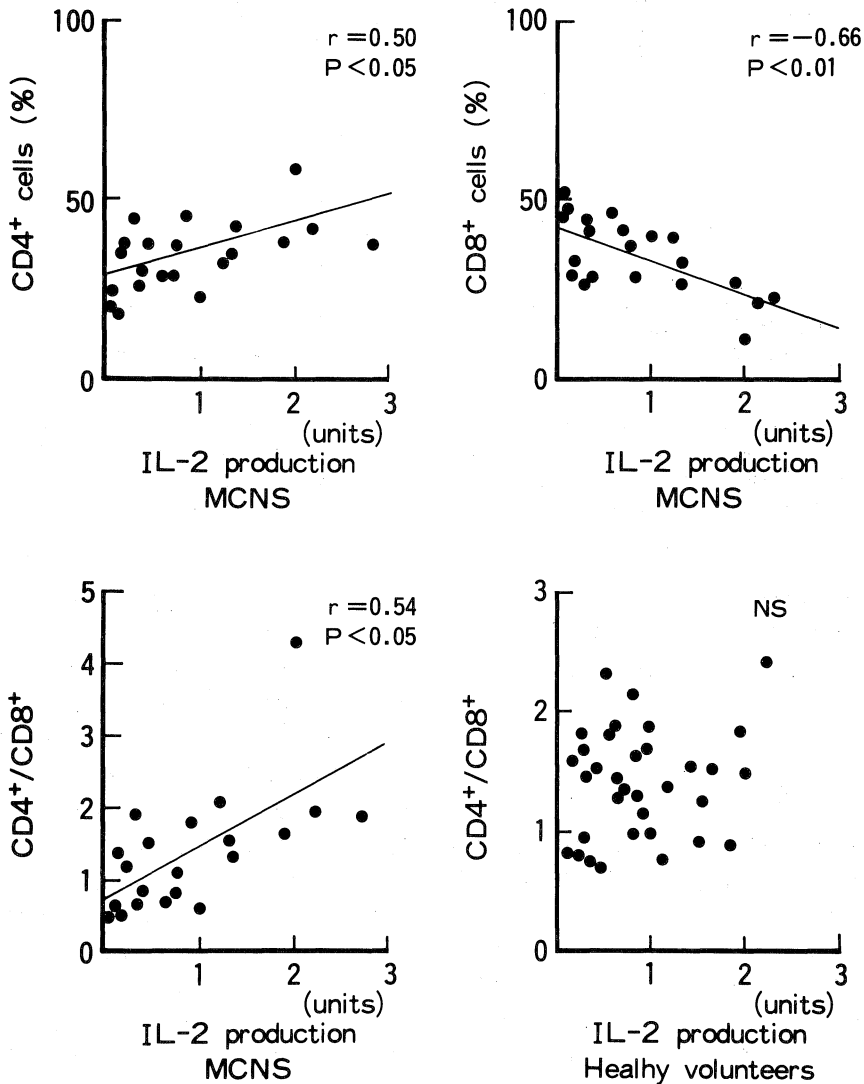


Fig. 3. Correlation between IL-2 production and proportion of CD4⁺ cells, CD8⁺ cells, and CD4⁺/CD8⁺ in patients with MCNS.

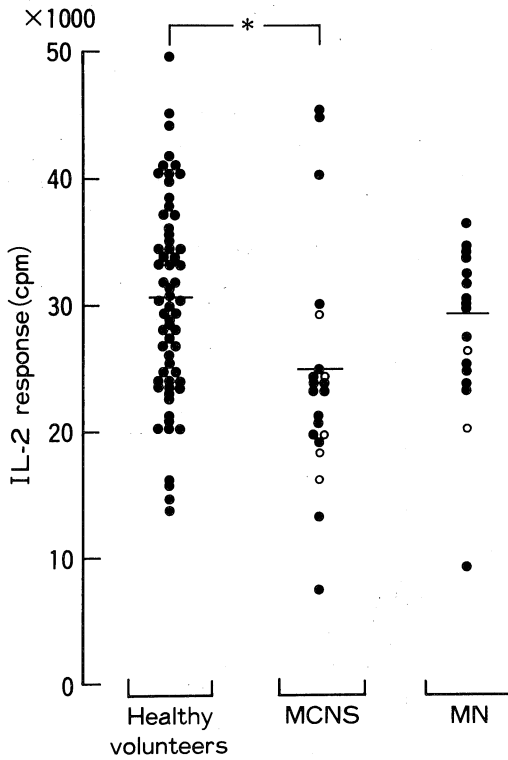


Fig. 4. IL-2 response in patients with MCNS and MN. ○: patients in nephrotic stage, not treated with any prednisolone. ●: patients in remission, treated with prednisolone. *P<0.05.

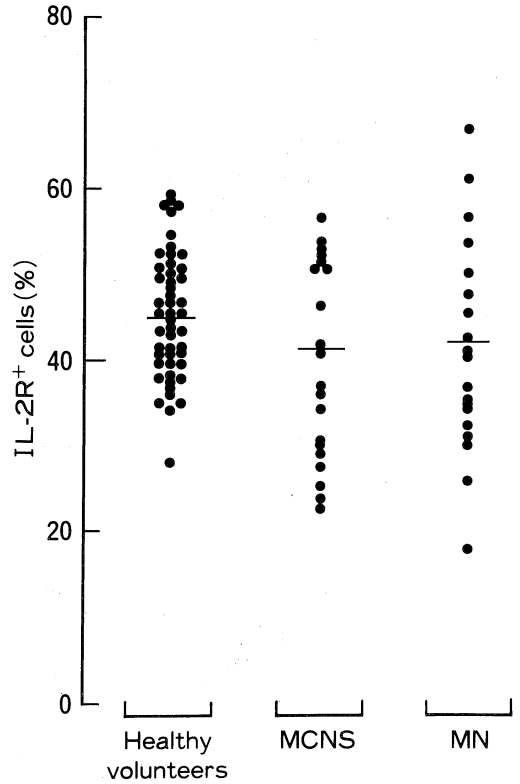


Fig. 5. IL-2R expression in patients with MCNS and MN. There was no statistical differentiation between healthy volunteers and patient groups.

4. MCNSにおけるIL-2R発現率

MCNSおよびMNにおけるCon A活性化リンパ球のIL-2R発現率は、それぞれ41.2±11.5および42.2±12.2%であり、いずれも健常対照群の45.0±7.2%と差を示さなかった (Fig. 5).

考 察

IL-2は、機能的T細胞の長期継代培養を可能にするT細胞増殖因子 (T cell growth factor) として報告されたが^{21,22)}、現在ではT細胞から産生されるリンホカインの一種として知られている。IL-2には種々の生物学的活性の存在することが明らかにされており、免疫学的回路における重要性が注目されている。すなわち、抗原あるいはマイトゲン刺激により活性化されたT細胞から産生されるIL-2は、活性化T細胞に発現してくるIL-2レセプターと結合して同細胞の分裂・増殖を惹起するだけでなく、ヘルパーT細胞、サブレッサーT細胞や抗

原特異的キラー細胞などに誘導して機能的分化を発現させること²³⁾、T細胞におけるリンホカイン類のリンホトキシンやγ-インターフェロンなどの産生を促進すること、さらにNK細胞を活性化すること²⁴⁾が知られている。また最近では、IL-2にはB細胞に直接作用して同細胞の増殖を惹起するB細胞増殖因子 (B cell growth factor) 活性と、抗体産生細胞への分化を誘導するB細胞分化因子 (B cell differentiation factor) 活性の存在することも明らかにされている²⁵⁾。したがって現在では、T細胞の関与する免疫現象は、免疫担当細胞相互間に作用するIL-2とIL-2レセプター遺伝子発現の調節に置き換えて解析されるようになった。

さて糸球体疾患における免疫学的検討については、当初は免疫複合体や抗糸球体基底膜抗体と糸球体障害との関連を究明する主として液性免疫の分野から着手されてきた。しかし、MCNSは他の腎疾患と異なって糸球体係蹄壁に免疫グロブリンや補体の沈着を認めないので、組

織学的見地からは糸球体障害の出現に免疫学的機序が直接関与しているとは考えにくい。他方、MCNSには幾多の免疫学的異常が認められており、臨床面に限っても副腎皮質ステロイドに対する著効性、麻疹感染後の自然寛解、ホジキン病との合併などが知られている。Shalhoub¹⁾はこれらの事実を踏まえてMCNSの成因にはT細胞機能異常が関与するとの見解を述べている。さらに最近では、血清IgE値の上昇²⁾、末梢血リンパ球サブセット異常^{2,3,4)}、サブレッサー機能亢進^{5,6)}、リンパ球幼若化反応抑制因子⁷⁾・抗リンパ球抗体⁸⁾の存在などが判明しており、T細胞機能異常を含めた広範な細胞性免疫異常の存在が推測されている。しかし、これらの細胞性免疫異常が、MCNSの発症病因に対してどのように関与しているのかについてはいまだ明らかではない。そこで今回著者は、MCNSにおけるT細胞機能異常の関与を明確にする目的で、IL-2産生能およびIL-2反応能を中心に検討を加えた。

1. MCNSにおけるIL-2産生能

現在までのところ、ネフローゼ症候群におけるIL-2産生能の報告は、小児の頻回再発例および副腎皮質ステロイド抵抗症例についてシクロスポリンAの有効性とIL-2産生能を検討したTejani, et al.²⁶⁾によるものが唯一である。彼らは、大半の症例はIL-2産生能に有意の変動を示さなかったが、シクロスポリンA無効例ではIL-2産生能が有効例に比して有意に低下していたことから、シクロスポリンAの反応性とIL-2産生能で評価されるT細胞機能との関連が注目されると述べている。しかし、彼らの対象症例は巣状糸球体硬化症およびメサンギウム増殖性糸球体腎炎が大半を占めており、MCNSは20例中わずか3例にすぎない。したがって、著者の成績をTejani, et al.²⁶⁾の成績と比較することはできない。今回の著者の検討では、MCNS全例のIL-2産生能は、MNおよびIgA-GNと同様、健常対照群と差を示さなかった。

従来から、副腎皮質ステロイドの細胞性免疫に対する影響については、広範な検討がなされており、遅延型過敏反応やin vitroにおける芽球化反応の抑制が知られている。Gillis, et al.²⁷⁾は、マイトーゲンや抗原刺激によるリンパ球の芽球化反応がIL-2を介して惹起されることとdexamethasoneがこのIL-2産生を抑制することを見出し、副腎皮質ステロイドによる免疫抑制効果がIL-2を介在して発現することを報告している。このような副腎皮質ステロイドのIL-2産生に及ぼす影響はin vivoにおいても同様と推測されるので、副腎皮質ステロイド治療中のMCNS患者におけるリンパ球機能

はその影響を考慮して評価する必要がある。そこで著者は、MCNSのIL-2産生能をより正確に把握するために、ネフローゼ症状および副腎皮質ステロイド治療の有無から、MCNSの病期を5期に分けて検討した。未治療のネフローゼ期MCNSにおけるIL-2産生能は健常対照群に比して有意に低下しており、MCNSのT細胞機能異常にはIL-2産生能低下も関与していることが明らかとなった。さらに寛解導入後1年以上のMCNSおよびPSL治療を離脱し得たMCNSにおけるIL-2産生能は正常範囲に改善しており、ネフローゼ症状の推移とIL-2産生能が密接に関連していることが示唆された。加えて、寛解導入後1年未満のMCNSのIL-2産生能はなお低値を示していたことから、MCNSのT細胞機能異常が寛解後も比較的長期間持続していることが推測された。さらに再燃例におけるIL-2産生能を検討してみると、寛解導入後1年以上で1日PSL投与量が2.5~5mgの3例に再燃が認められたが、再燃前に測定したIL-2産生能は全例が低値を示した。したがって、寛解後も長期間にわたってIL-2産生能低下を示すMCNSは、ネフローゼ症状の再燃をきたす可能性があり、副腎皮質ステロイドの減量に注意する必要があると思われた。以上の成績から、IL-2産生能の測定は、MCNSにおけるT細胞機能の指標としてのみならず、寛解期MCNSに対する副腎皮質ステロイド投与量を決定する臨床的指標としても有用と考えられる。

つぎにネフローゼ期MCNSのIL-2産生能に対するPSL治療の影響を、IL-2産生能を経時的に測定し得た症例において検討した。PSL治療中のネフローゼ期MCNSのIL-2産生能は、未治療のネフローゼ期に比し、上昇を示す症例と低下を示す症例が混在しており、一定の変動を示さなかった。したがって今回の検討からは、ネフローゼ期のIL-2産生能はPSL治療によって明らかな影響を受けなかったことになる。その理由としては、各症例のPSL投与期間が一定していないこと、さらに症例によってPSL感受性に差があったことが考えられる。

2. MCNSにおけるIL-2産生能とリンパ球サブセット

MCNSにおけるIL-2産生能低下がどのリンパ球サブセットに由来しているかを明らかにする目的で、この両者を同時に測定した。健常対照群におけるIL-2産生能は、CD4⁺やCD8⁺細胞をはじめとして、いずれのリンパ球サブセットとも明らかな相関を示さなかった。一方、MCNSにおけるIL-2産生能は、CD4⁺細胞およびCD4⁺/CD8⁺と有意の正相関、CD8⁺細胞と有意の負相関

を示した。この成績は、MCNSにおけるIL-2産生が主としてCD4⁺細胞に依存し、CD8⁺細胞が質的あるいは量的にIL-2産生を抑制している可能性をうかがわせる。

ヒトのIL-2産生細胞はCD4⁺細胞が主体とされているが²⁸⁾、PHAやCon Aをマイトゲンとしてリンパ球を活性化すると、健常人のCD8⁺細胞も有意のIL-2産生を示すことが明らかにされている^{29,30)}。そこでMCNSのIL-2産生におけるCD4⁺およびCD8⁺細胞の役割を解明する目的で、両分画のIL-2産生能を検討した。未治療のネフローゼ期MCNSにおけるCD8⁺細胞のIL-2産生能は低下していたが、CD4⁺細胞のIL-2産生能は正常域に保たれていた。さらに寛解期におけるCD8⁺細胞のIL-2産生能は正常範囲に回復することが明らかになった。すでに教室の山田ら⁴⁾は、MCNSにおける末梢リンパ球サブセットについて報告しており、未治療のネフローゼ期MCNSにおけるCD4⁺細胞数は相対的比率のみならず絶対数も健常対照群と差を示さないこと、2カラー染色による機能的分析からもヘルパーT細胞数は減少しておらず、CD8⁺分画に属する抑制性T細胞数の減少とキラーT細胞数の増加がPSL治療に起因することも明らかにしている。このリンパ球サブセットについての成績と今回のIL-2産生能の成績を合わせて考えると、MCNSのIL-2産生能低下の主因は、CD8⁺細胞の質的欠陥に起因していると考えられ、CD4⁺細胞に由来している可能性は低い。さらに寛解期におけるCD8⁺細胞のIL-2産生能が正常域に回復を示したことから、MCNSのIL-2産生に対する副腎皮質ステロイドの反応性はCD8⁺細胞にあると推測される。

自己免疫疾患の代表であるSLEはB細胞の異常活性化とT細胞機能不全を免疫学的背景に持つ疾患であり、IL-2産生能および反応能についても詳細に検討されている。SLEにおけるIL-2産生能低下は周知の事実であるが^{13,14)}、その機序としてはマクロファージのインターロイキン1産生低下¹³⁾、IL-2産生細胞活性化に必須の細胞内刺激伝達機構の障害³¹⁾、抑制性T細胞による産生抑制³²⁾などが想定されている。さらに最近では、無刺激状態のCD8⁺細胞から自発的にIL-2産生抑制因子が放出されていること³³⁾やCD8⁺分画内にIL-2産生を強力に抑制する細胞群の存在すること³⁴⁾も相ついで報告されている。現在のところ、MCNSにおけるCD8⁺細胞のIL-2産生障害機序は明らかでない。しかし、今回の検討では、CD8⁺細胞のIL-2産生能がPSL治療によって正常範囲に回復したので、MCNSのCD4⁺細胞におけるIL-2産生を抑制する細胞群がCD8⁺分画内に存在す

るものと推測される。

3. MCNSにおけるIL-2反応能とIL-2R発現率

特異抗原やマイトゲンで活性化されたT細胞は、IL-2を産生すると同時にIL-2Rを発現する。産生されたIL-2がIL-2Rに結合すると、T細胞は分裂あるいは増殖し、生体内で種々の免疫生物学的活性を持った機能的T細胞に分化することが明らかにされている^{35,36)}。T細胞系に免疫異常が存在すると、PHAやCon Aに対する芽球化反応が低下することは周知の事実であるが、この芽球化反応によって活性化されたT細胞のIL-2反応性はヘルパー活性、抑制性活性やキラー活性などのリンパ球機能を反映しているとみなされている。

MCNSのリンパ球機能を検討した報告は現在までに以下のものがみられる。Dohi, et al.¹¹⁾は、MCNSではNK活性が病期とは関係なしに低下していると述べている。抑制性機能については、Osakabe & Matsumoto³⁾がMCNSの再燃時におけるCon A誘導抑制性活性の上昇を明らかにしており、Wu & Moorthy⁶⁾は、未治療のMCNSにおける抑制性機能が亢進していたと述べている。一方、Taube, et al.³⁷⁾はMCNSにおける抑制性機能は正常範囲にあるという。このようにMCNSの抑制性機能は報告によって成績が異なっており、いまだ結論が得られていないのが現状といえる。これら成績の不一致の原因として、抑制性機能の検査方法が統一されていないこと、MCNSの病期を厳密に分けて検討していないこと、成績の評価に副腎皮質ステロイドや免疫抑制剤の影響を考慮していないことなどが挙げられる。

MCNSにおけるIL-2反応能が低下していたという今回の著者の成績は、IL-2産生系のみならずIL-2反応細胞としてのT細胞、換言すれば機能的T細胞への分化過程にも本質的な欠陥が本疾患に存在することを示唆する。ただし、正常域のIL-2反応能を示す未治療例や高値のIL-2反応能を示す寛解例も少なからず認められており、さらに症例を重ねて検討する必要があると思われる。

つぎにMCNSにおけるIL-2反応能低下機序を明らかにする目的で、Con A活性化リンパ球のIL-2R発現率を検討した。MCNSのIL-2R発現率は健常対照群およびMNと差を示さなかったため、IL-2反応能低下の原因をIL-2R発現性に求めることはできなかった。

Tac抗原の全アミノ酸構造はLeonard, et al.³⁸⁾およびNikaido, et al.³⁹⁾によってすでに決定されており、IL-2Rの構造もすべて解明されたものと考えられていた。しかし、以後の研究からIL-2Rには低・中・高親和性の

3種類が存在することが発見された^{40,41}。さらに抗 Tac 単クローン抗体は低および高親和性 IL-2R を認識する⁴²が、IL-2R の機能を担っているのは高および中親和性 IL-2R であること⁴³、低親和性 IL-2R は中親和性 IL-2R と複合体を形成して高親和性 IL-2R の発現を調節していること^{44,45}が明らかとなった。したがって現在のところ、Tac 抗原はそのアミノ酸構造が判明している唯一のリンホカインレセプターであるが、Tac 抗原の発現性のみから IL-2 のシグナル伝達様式を評価することは困難である。この点に関しては今後の中および高親和性 IL-2R に対する検索方法の進展を待ちたい。

4. MCNS の発症病因と IL-2

最後に MCNS の発症病因と IL-2 の関連について触れる。糸球体疾患における免疫学的機序の関与を示唆する所見は、糸球体局所における免疫複合体の存在であり、これは実験腎炎モデルの解析からも抗原抗体反応を表現するものとされている。糸球体局所への免疫複合体の沈着には、循環血中の免疫複合体の沈着⁴⁶と糸球体局所 (in situ) における免疫複合体形成⁴⁷の2つの機序が想定されている。いずれの機序にせよ、免疫複合体の沈着を引き金に補体が活性化され、多核白血球の遊走・癒着・融解作用、凝固系、マクロファージの動員などの炎症メディエーターを介し各糸球体疾患に固有の糸球体障害が惹起される。現在ではループス腎炎をはじめとして MN、膜性増殖性糸球体腎炎、IgA-GN、溶連菌感染後糸球体腎炎は免疫複合体を介した糸球体障害により発症すると理解されている。一方、MCNS については、組織学的に糸球体障害が軽微で、免疫グロブリンや補体の沈着を認めないことから、蛋白尿の出現には液性免疫学的機序以外の要因が関与していると考えられてきた。

糸球体基底膜は、高分子物質の糸球体透過性を物理化学的に阻止する障壁 (size selective barrier) として作用することが知られているが、同時に陰性荷電を帯びており⁴⁸、陰荷電性物質の糸球体透過を阻止する障壁 (charge selective barrier) としての機能を有することも明らかにされている⁴⁹。MCNS のネフローゼ期にはこの基底膜の陰性荷電が減少している事実が報告されており⁵⁰、陰荷電性物質である血清アルブミンの糸球体透過性が亢進すると考えられている。実験的にも陽イオンの硫酸プロタミンをラット腎動脈に注入すると、糸球体基底膜の陰性荷電が減少し、数分以内にアルブミン尿の出現することが知られている⁵¹。さらに最近では、ネフローゼ症候群における charge barrier の異常は腎基底膜のみならず、患者赤血球や血小板膜にも及んでいることが明らかにされている⁵²。

ネフローゼ症候群患者のリンパ球をマイトゲン刺激して得られた培養上清中には血管透過性因子の存在することが以前から知られていた⁵³が、Heslan, et al.⁵⁴はこの因子が T 細胞由来のリンホカインの一種であることを報告している。Tomizawa, et al.⁵⁵は、ネフローゼ期の MCNS 患者における T 細胞が無刺激で自発的に血管透過性因子を産生していること、また寛解期 MCNS における T 細胞はこの因子の活性を示さないことから、腎基底膜の蛋白透過性に対する血管透過性因子の関与を推測している。Boulton Jones, et al.⁵⁶は、MCNS 患者リンパ球の培養上清をラット腎で灌流したところ、糸球体基底膜の陰性荷電の減少と上皮細胞足突起の融合を認めたとしており、リンホカインが基底膜の荷電状態を変化させる重要な因子であろうと述べている。また Schnaper, et al. は、健康人の活性化 CD8⁺ 細胞が B 細胞抗体産生抑制因子 (soluble immune response suppressor; SIRS) を産生することを報告し⁵⁷、さらに未治療の MCNS 患者の尿中にも SIRS 活性が存在すること、同活性が副腎皮質ステロイド投与による尿蛋白減少に先行して消失することも明らかにしており、SIRS が蛋白透過性因子である可能性を推測している⁵⁸。以上の成績は、MCNS における糸球体基底膜の蛋白透過性と T 細胞機能異常の関連を類推するうえで興味深い。本症の発症病因を免疫異常に求める立場からは、基底膜透過性因子はリンホカインであろうと考えられる。現在のところ、IL-2 と基底膜蛋白透過性との因果関係は明らかでないが、IL-2 の持つ多彩な生物学的活性を考えると、IL-2 産生低下あるいはその結果として惹起される T 細胞不均衡に起因するリンホカイン異常が MCNS の発症に寄与しているものと推測される。今後は、MCNS における糸球体基底膜の蛋白透過性亢進の機序を分子科学レベルで解明していく必要があると思われる。

結 論

微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) の発症への T 細胞機能異常の関与を究明する目的で、IL-2 産生能、IL-2 反応能および IL-2R 発現率を検討し、以下の成績を得た。

1. 未治療のネフローゼ期 MCNS における IL-2 産生能は健常対照群に比して有意に低下していた。寛解導入後1年未満の MCNS における IL-2 産生能は健常対照群に比して有意の低値を示したが、寛解導入後1年以上および副腎皮質ステロイド治療を離脱し得た MCNS の IL-2 産生能は健常対照群と差を示さなかった。

2. MCNS における IL-2 産生能は CD4⁺ 細胞および

CD4⁺/CD8⁺ と正相関, CD8⁺ 細胞と負相関を示した。

3. 未治療のネフローゼ期 MCNS における CD4⁺ 細胞の IL-2 産生能は明らかな変動を示さなかったが, CD8⁺ 細胞の IL-2 産生能は低下していた。寛解期 MCNS における CD4⁺ および CD8⁺ 細胞の IL-2 産生能はいずれも健常対照群と差を示さなかった。

4. MCNS における IL-2 反応能は健常対照群に比して有意に低下していた。

5. MCNS における IL-2 レセプター (Tac 抗原) 発現率は健常対照群と差を示さなかった。

以上の成績から, MCNS の T 細胞機能異常には IL-2 産生能および IL-2 反応能の低下が関与しており, 副腎皮質ステロイド治療によるネフローゼ症状の推移と IL-2 産生能が密接に関連していることが示唆された。さらに IL-2 産生能の測定は, MCNS における T 細胞機能の指標としてのみならず, 寛解期 MCNS に対する副腎皮質ステロイド投与量を決定する臨床的指標としても有用と考えられる。

稿を終わるにあたり, 御指導, 御校閲を賜りました石川兵衛教授に深甚なる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泌尿器科学講座岡島英五郎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紘講師に感謝します。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。さらに細胞株 ILKT-1 をご提供下さいました金沢医科大学血液免疫内科紺田 進教授と清水史郎助教授に謝意を表します。

本論文の要旨は第 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), 第 10 回国際腎臓学会 (1987 年 7 月, London) および第 30 回日本腎臓学会総会 (1987 年 10 月, 東京) において発表した。

文 献

- Shalhoub, R.J.: Pathogenesis of lipoid nephrosis: A disorder of T-cell function. *Lancet* ii: 556, 1974.
- Saselli, M., Rovinetti, C., Cagnoli, L., Beltrandi, E., Barboni, F. and Zucchelli, P.: Lymphocyte subpopulations in minimal-change nephropathy. *Nephron* 25: 72, 1980.
- Matsumoto, K., Osakabe, K., Ohi, H., Yoshizawa, N., Harada, M. and Hatano, M.: Alteration of T-lymphocyte subpopulations in patients with primary renal diseases and systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Immunol.* 11: 187, 1980.
- 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.
- Osakabe, K. and Matsumoto, K.: Concanavalin A-induced suppressor cell activity in lipoid nephrosis. *Scand. J. Immunol.* 14: 161, 1981.
- Wu, M.J. and Moorthy, A.V.: Suppressor cell function in patients with primary glomerular disease. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 22: 442, 1982.
- Saselli, M., Cagnoli, L., Candi, P., Mandreoli, M., Beltrandi, E. and Zucchelli, P.: Cell-mediated immunity in idiopathic glomerulonephritis. *Clin. exp. Immunol.* 46: 27, 1981.
- Nakabayashi, K., Arimura, Y., Yoshida, M. and Nagasaya, T.: Anti-T cell antibodies in primary glomerulonephritis. *Clin. Nephrol.* 23: 74, 1985.
- 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, 宇野傳治, 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.
- Beale, M.G., Nash, G.S., Bertovich, M.J. and MacDermott, R.P.: Immunoglobulin synthesis by peripheral blood mononuclear cells in minimal change nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 23: 380, 1983.
- 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.
- Taniguchi, T., Matsui, H., Fujita, T., Takaoka, C., Kashima, N., Yoshimoto, R. and Hamuro, J.: Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin 2. *Nature* 302: 305, 1983.
- Linker-Israeli, M., Bakke, A.C., Kitridou, R. C., Gendler, S., Gillis, S. and Horwitz, D.A.: Defective production of interleukin 1 and interleukin 2 in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *J. Immunol.* 130: 2651, 1983.
- Murakawa, Y., Takada, S., Ueda, Y., Suzuki, N., Hoshino, T. and Sakane, T.: Characteriza-

- tion of T lymphocyte subpopulations responsible for deficient interleukin 2 activity in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* **134**: 187, 1985.
- 15) **Combe, B., Andary, M., Klein, B., Clot, J. and Sany, J.**: Regulation of interleukin-2 production in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* **14**: 226, 1987.
- 16) 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.
- 17) 清水史郎, 高塚亮三, 菅井 進, 紺田 進: ヒト interleukin 2 定量法. *免疫実験操作法* **13**: 4293, 1984.
- 18) **Gillis, S., Ferm, M.M., Ou, W. and Smith, K.A.**: T cell growth factor: Parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J. Immunol.* **120**: 2027, 1978.
- 19) **Bernard, A., Bernstein, I., Boumsell, L., Dausset, J., Evans, R., Hensen, J., Haynes, B., Kersey, J., Knapp, W., McMichael, A., Milstein, C., Reinherz, E., Ritts, R. E. and Schlossman, S.F.**: Differentiation human leukocyte antigens: a proposed nomenclature. *Immunol. Today* **5**: 158, 1984.
- 20) **Uchiyama, T., Broder, S. and Waldmann, T.A.**: A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. I. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac(+) cells. *J. Immunol.* **126**: 1393, 1981.
- 21) **Morgan, D.A., Ruscetti, F.W. and Gallo, R.**: Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* **193**: 1007, 1976.
- 22) **Gillis, S. and Smith, K.A.**: Long term culture of tumor-specific cytotoxic T cells. *Nature* **268**: 154, 1977.
- 23) **Smith, K.A.**: Interleukin 2. *Ann. Rev. Immunol.* **2**: 319, 1984.
- 24) **Handa, K., Suzuki, R., Matsui, H., Shimizu, Y. and Kumagai, K.**: Natural killer (NK) cells as a responder to interleukin 2 (IL 2). II. IL 2-induced interferon γ production. *J. Immunol.* **130**: 988, 1983.
- 25) **Ralph, P., Jeong, G., Welte, K., Mertelsmann, R., Rabin, H., Henderson, L.E., Souza, L.M., Boone, T.C. and Robb, R.J.**: Stimulation of immunoglobulin secretion in human B lymphocytes as a direct effect of high concentrations of IL 2. *J. Immunol.* **133**: 2442, 1984.
- 26) **Tejani, A., Butt, K., Trachtman, H., Suthanthiran, M., Rosenthal, C.J. and Khawar, M.R.**: Cyclosporine A induced remission of relapsing nephrotic syndrome in children. *Kidney Int.* **33**: 729, 1988.
- 27) **Gillis, S., Crabtree, G.R. and Smith, K.A.**: Glucocorticoid-induced inhibition of T cell growth factor production. I. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *J. Immunol.* **123**: 1624, 1979.
- 28) **Moretta, A.**: Frequency and surface phenotype of human T lymphocytes producing interleukin 2. Analysis by limiting dilution and cell cloning. *Eur. J. Immunol.* **15**: 148, 1985.
- 29) **Luger, T.A., Smolen, J.S., Chused, T.M., Steinberg, A.D. and Oppenheim, J.J.**: Human lymphocytes with either the OKT4 or OKT8 phenotype produce interleukin 2 in culture. *J. Clin. Invest.* **70**: 470, 1982.
- 30) **Meuer, S.C., Hussey, R.E., Penta, A.C., Fitzgerald, K.A., Stadler, B.M., Schlossman, S.F. and Reinherz, E.L.**: Cellular origin of interleukin 2 (IL 2) in man: Evidence for stimulus-restricted IL 2 production by T4⁺ and T8⁺ lymphocytes. *J. Immunol.* **129**: 1076, 1982.
- 31) **Murakawa, Y. and Sakane, T.**: Deficient phytohemagglutinin-induced interleukin-2 activity in patients with inactive systemic lupus erythematosus is correctable by the addition of phorbol myristate acetate. *Arthritis Rheum.* **31**: 826, 1988.
- 32) **Linker-Israeli, M., Bakke, A.C., Quismorio, F. P. and Horwitz, D.A.**: Correction of interleukin-2 production in patients with systemic lupus erythematosus by removal of spontaneously activated suppressor cells. *J. Clin. Invest.* **75**: 762, 1985.
- 33) **Linker-Israeli, M. and Casteel, N.**: Partial purification and characterization of systemic lupus

- erythematosus derived factors that suppress production of interleukin-2. *J. Rheumatol.* **15**: 952, 1988.
- 34) **Horwitz, D.A., Linker-Israeli, M., Gray, J.D. and Lemoine, C.**: Functional properties of CD8 positive lymphocyte subsets in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* **14**: 49, 1987.
- 35) **Waldmann, T.A.**: The structure, function, and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant lymphocytes. *Science* **232**: 727, 1986.
- 36) **Smith, K.A.**: Interleukin-2: Inception, impact and implications. *Science* **240**: 1169, 1988.
- 37) **Taube, D., Brown, Z. and Williams, D.G.**: Long-term impairment of suppressor-cell function by cyclophosphamide in minimal-change nephropathy and its association with therapeutic response. *Lancet* **i**: 235, 1981.
- 38) **Leonard, W.J., Depper, J.M., Crabtree, G.R., Rudikoff, S., Pumphrey, J., Robb, R.J., Krönke, M., Svetlik, P.B., Peffer, N.J., Waldmann, T.A. and Greene, W.C.**: Molecular cloning and expression of cDNAs for the human interleukin-2 receptor. *Nature* **311**: 626, 1984.
- 39) **Nikaido, T., Shimizu, A., Ishida, N., Sabe, H., Teshigawara, K., Maeda, M., Uchiyama, T., Yodoi, J. and Honjo, T.**: Molecular cloning of cDNA encoding human interleukin-2 receptor. *Nature* **311**: 631, 1984.
- 40) **Sharon, M., Klausner, R.D., Cullen, B.R., Chizzonite, R. and Leonard, W.J.**: Novel interleukin-2 receptor subunit detected by cross-linking under high affinity conditions. *Science* **234**: 859, 1986.
- 41) **Tsudo, M., Kozak, R.W., Goldman, C.K. and Waldmann, T.A.**: Demonstration of a non-Tac peptide that binds interleukin 2: A potential participant in a multichain interleukin 2 receptor complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 9694, 1986.
- 42) **Robb, R.J., Green, W.C. and Rusk, C.M.**: Low and high affinity cellular receptors for interleukin 2. Implications for the level of Tac antigens. *J. Exp. Med.* **160**: 1126, 1984.
- 43) **Wang, H.M.**: The interleukin 2 receptor. Functional consequences of its bimolecular structure. *J. Exp. Med.* **166**: 1055, 1987.
- 44) **Tsudo, M., Kozak, R.V., Goldman, C.K. and Waldmann, T.A.**: Contribution of a p75 interleukin 2 binding peptide to a high-affinity interleukin 2 receptor complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 4215, 1987.
- 45) **Dukovich, M., Wano, Y., Thuy, L.B., Katz, P., Cullen, B.R., Kehrl, J.H. and Greene, W.C.**: A second human interleukin 2 binding protein that may be a component of high-affinity interleukin 2 receptors. *Nature* **327**: 518, 1987.
- 46) **Dixon, F. J., Feldman, J.D. and Vazquez, J.J.**: Experimental glomerulonephritis. The pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis. *J. Exp. Med.* **113**: 899, 1961.
- 47) **Vogt, A., Rohrbach, R., Shimizu, F., Takamiya, H. and Batsford, S.**: Interaction of cationized antigen with rat glomerular basement membrane: In situ immune complex formation. *Kidney Int.* **22**: 27, 1982.
- 48) **Kanwar, Y.S. and Farquhar, M.G.**: Presence of heparan sulfate in the glomerular basement membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 1303, 1979.
- 49) **Martinez-Hernandez, A. and Amenta, P.S.**: The basement membrane in pathology. *Lab. Invest.* **48**: 656, 1983.
- 50) **Bridges, C.R., Myers, B.D., Brenner, B.M. and Deen, W.M.**: Glomerular charge alterations in human minimal change nephropathy. *Kidney Int.* **22**: 677, 1982.
- 51) **Vehaskari, V.M., Root, E.R., Germuth, F.G. and Robson, A.M.**: Glomerular charge and urinary protein excretion: Effects of systemic and intrarenal polycation infusion in the rat. *Kidney Int.* **22**: 127, 1982.
- 52) **Levin, M., Smith, C., Walters, M.D.S., Gascoine, P. and Barratt, T. M.**: Steroid-responsive nephrotic syndrome: A generalised disorder of membrane negative charge. *Lancet* **ii**: 239, 1985.
- 53) **Lagrue, G., Xheneumont, S., Branellec, A., Hirbec, G. and Weil, B.**: A vascular permeability factor elaborated from lymphocytes. I. Dem-

- onstration in patients with nephrotic syndrome. *Biomedicine* **23**: 37, 1975.
- 54) **Heslan, J.M., Branellec, A., Laurent, J. and Lagrue, G.**: The vascular permeability factor is a T lymphocyte product. *Nephron* **42**: 187, 1986.
- 55) **Tomizawa, S., Maruyama, K., Nagasawa, N., Suzuki, S. and Kuroume, T.**: Studies of vascular permeability factor derived from T lymphocytes and inhibitory effect of plasma on its production in minimal change nephrotic syndrome. *Nephron* **41**: 157, 1985.
- 56) **Boulton Jones, J.M., Tulloch, I., Dore, B. and McLay, A.**: Changes in the glomerular capillary wall induced by lymphocyte products and serum of nephrotic patients. *Clin. Nephrol.* **20**: 72, 1983.
- 57) **Schnaper, H.W., Pierce, C.W. and Aune, T.M.**: Identification and initial characterization of Concanavalin A- and interferon-induced human suppressor factors: Evidence for a human equivalent of murine soluble immune response suppressor (SIRS). *J. Immunol.* **132**: 2429, 1984.
- 58) **Schnaper, H.W. and Aune, T.M.**: Identification of the lymphokine soluble immune response suppressor in urine of nephrotic children. *J. Clin. Invest.* **76**: 341, 1985.