



四肢の慢性リンパ浮腫に対する免疫系細胞注入療法の基礎的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 藤田, 信 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/927

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 74号	学位授与年月日	平成 元年 3月27日
氏名	藤田 信		
論文題目	四肢の慢性リンパ浮腫に対する免疫系細胞注入療法の基礎的研究		

四肢の慢性リンパ浮腫に対する免疫系細胞注入療法の基礎的研究

論文の内容の要旨

四肢の慢性リンパ浮腫は難治性疾患の一つとして知られており、現在のところ決定的な治療法はない。しかし、1984年にリンパ球注入療法が開発され、臨床有効例も報告されているが、その作用機序、有効な細胞構成などは不明である。本研究では、臨床における本法の早期および遠隔期の治療効果について考察し、動物実験ではその作用機序の一部を明らかにし、本法の改良点について検索した。

臨床的研究

〔対象と方法〕慢性リンパ浮腫患者の男1名、女7名を対象とし、連続成分採血装置で患者の単核球分画を採取し、それを患肢の大腿（腋窩）動脈から1週間間隔で4回投与したが、本法は入院から7日目以後に開始した。これは、慢性リンパ浮腫の入院症例17名について、安静臥床の8日目以後で浮腫が安定した結果を得たことによる。〔結果〕早期に浮腫軽減効果（浮腫率減少5%以上）が認められたものは8例中5例あり、浮腫率は平均して14.4%減少した。半年後においては6例中3例、1年後5例中2例、2年後5例中3例、3年後3例中1例に浮腫率の減少持続があった。

実験的研究

〔材料と方法〕1) 近交系の雄DAラットと雄(DA×Lewis)F₁ラットを用いた。2) 投与細胞として、リンパ球をラットの胸管リンパ(TDL)から採取した。3) 採取したリンパ球について、間接的免疫蛍光抗体法により各亜群の同定を行った。4) リンパ球を免疫グロブリン・パンニング法で高純度のT細胞とB細胞に分離し、種々の比率のリンパ球亜群混合液を準備した。5) ラットの一侧後肢に高蛋白性で再現性の高い熱傷浮腫を作成し、直ちに尾静脈等から細胞を投与した。6) 足の中央部の周径を測定して断面積を算出し、細胞投与前後の比率によって浮腫軽減効果を評価した。7) 組織学的には免疫系臓器重量の測定と、浮腫組織の免疫組織化学的検索を行った。8) 血中の種々の液性因子を定量測定した。9) 投与リンパ球の生体内分布・動態をみるために、³H-uridine 標識リンパ球を準備した。

〔結果〕①高蛋白性浮腫について、同系リンパ球投与は半同系リンパ球投与と同等かそれ以上の軽減効果があり、TDLドレナージ5日目のリンパ球投与は有意に軽減効果があった。②リンパ球非投与群と投与群の浮腫組織液の蛋白濃度は、正常と比較して高値を示した。③投与されたリンパ球のうち、T細胞とB細胞の比率が60:40のときに最も強い浮腫軽減の傾向が認められ、浮腫側の鼠径リンパ節は有意に腫大した。④浮腫組織において、T細胞とB細胞は真皮乳頭部に散在的に分布し、真皮から皮下結合組織にかけては好中球とMφが分布していた。⑤投与から48時間後に、リンパ球が末梢性リンパ組織で減少し、浮腫局所で増加する傾向がみられた。⑥リンパ球投与群で細網内皮系の異物貪食能の低下と、血清補体値の増加が認められた。⑦リンパ球非投与群と投与群で、血清コルチゾール値とヒスタミン値が正常と比較して増加したが、両群間に有意差は認められなかった。

考察とまとめ

〔考察〕以上の結果から、慢性リンパ浮腫に対するリンパ球注入療法は、遠隔期に効果の持続が認められた症例もあったが、一般にその効果には限界が感ぜられた。また、リンパ球注入療法の作用機序の一つとして、自己Ia抗原の刺激による同系リンパ球混合培養反応が、生体内のリンパ系組織および浮腫局所において生じている可能性が示唆された。それによってリンパ球-Mφ系が活性化されて、Mφから分泌される強力な蛋白分解酵素によって高蛋白性浮腫の軽減されることが考えられる。〔まとめ〕慢性リンパ浮腫に対するリンパ球注入は有望な治療法であり、同系リンパ球(T:B=60:40)の投与が最も有効であることが考えられ、今後臨床応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

難治性疾患の一つである四肢の慢性リンパ浮腫に対して古くから保存的治療、外科的手術が施行されてきたが、有効例が少なかった。1984年、加藤らが創案したリンパ球注入療法は簡便で有効例が少なくないことが注目されている。申請者はこの方法を臨床的に追試し、熱傷浮腫ラットをモデルとしてこの療法の改良及び作用機序の解明のための研究を実施した。

I. 患者自家リンパ球注入療法の追試

入院安静臥床し浮腫が安定した7日目以降の慢性リンパ浮腫患者の男1名、女7名を対象として、連続成分採血装置で採取した患者の単核球分画を自家リンパ球として患肢の大腿または腋窩動脈内に1週間間隔で4回投与し、8例中5例に注入開始1カ月後の浮腫軽減の早期効果を認め(14.4%)、退院後3年間の外来経過観察で、約半数の患者に浮腫率の減少を認めた。したがって、申請者はこの療法が有効であることを確認した。

II. リンパ球注入療法の作用機序解明のための動物実験

近交系雄DAラットの後肢を $54.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ の湯浴中に40秒間浸し、高蛋白質性の熱傷浮腫ラットを準備した。投与細胞として、同系のDAラットまたは半同系の(DA×Lewis)F₁雑種ラットの胸管リンパ球を用いた。さらに、高純度のT細胞とB細胞に分離し、両者を種々の比率に混合したリンパ球亜群混合液を用いた。準備したリンパ球を浮腫作成後、直ちに静脈内投与した。細胞投与前と後1日目と3日目の断面の比率を浮腫率と定め、これによって浮腫軽減効果の程度を評価した。

この方法の作用機序を検索するために、(1)³H-uridine 標識リンパ球投与による生体内動態、(2)浮腫組織内に出現する免疫系細胞の種類、(3)免疫反応を制御する血中液性因子の変化、(4)コロイダル・カーボン・クリアランス試験法による細網内皮系の異物貪食能、などを検討した。

本研究で明らかにされた点は以下のごとくである。

1. 胸管ドレナージ5日目のリンパ液より採取した細胞が有効であり、 1×10^6 以上以上の投与数で有意の浮腫軽減がみられた。また、同系及び半同系リンパ球投与の効果には差は認められなかった。
2. 注入リンパ球のT細胞とB細胞の混合比率が60:40のとき最も強い浮腫軽減効果が認められ、熱傷側鼠径リンパ節と胸腺の重量の有意の増加がみられた。
3. 標識リンパ球は静注24時間後に末梢性リンパ組織(脾、リンパ節)に選択的に分布、48時間後では浮腫局所に集積する傾向がみられた。この時期には脾及び頸リンパ節内で約45%に減少、末梢血中では比較的高値を示した。72時間後になると血中の標識リンパ球は減少し、再び脾及び頸リンパ節などの末梢性リンパ性組織に集まる事が判明した。
4. リンパ球投与3日後、熱傷浮腫組織の真皮乳頭部にT細胞とB細胞が散在的に分布し、真皮から皮下結合組織内には好中球とマクロファージが認められた。
5. 免疫制御因子である血中cortisol値やhistamine値は熱傷浮腫群では無処置正常対照群と比較して有意に上昇したが、熱傷浮腫群のうちリンパ球非投与群と投与群間には差が認められなかった。
6. 浮腫ラット細網内皮系の異物貪食能の低下、補体(CH₅₀値)産生の増加が認められた。

以上より申請者は同系の投与リンパ球は浮腫局所において貪食性細胞との相互作用によって浮腫軽減作用を発揮する可能性を主張した。

以上の結果に対して、

1. 臨床で用いるリンパ球浮遊液の細胞構成、
2. 臨床では原発性と続発性リンパ浮腫に対しこの療法を適用した場合、両者の間に治療効果の差があるか、
3. Thompson手術法とこの療法との治療効果の比較、
4. 熱傷浮腫ラットを高蛋白質リンパ浮腫実験のモデルとして選んだ理由、
5. 半同系由来リンパ球を選んだ理由、及び自家リンパ球混合培養反応がin vivoでおきているという根拠、
6. リンパ球投与は臨床では動脈内注入で、ラットでは静脈内注入で実施した理由、及び効果の違い、
7. 自家リンパ球の再注入による効果の意味、
8. 浮腫軽減について同系の投与リンパ球と活性化マクロファージの相互作用、

等々の質問が出された。残された問題点としては浮腫軽減過程における免疫組織学的解析が指摘された。

臨床では動脈内注入法が実施されているが、本実験で静脈内注入でも効果があることが明らかにされ、臨床応用する上で示唆に富む基礎的情報を提供するものであると評価された。

以上の審査の結果、本審査委員会では全員一致でこの研究が学位授与にふさわしいものと判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉田	孝人				
	副査	教授	井上	哲郎	副査	教授	原田	幸雄
	副査	教授	山下	昭	副査	教授	山田	瑞穂