

される。いずれにせよ、PAH が極めて重症であることを示す所見として注意すべきであろう。

PAH の治療法は確立されておらず、血管拡張剤が注目されてはいるが、満足すべき結果を得るには至っておらず、より有効な治療法の開発が望まれる。同時に、PAH が比較的軽度な時期に治療を開始することも、予後を改善する上で意味があると思われる。

今後、小児科領域においても、ことに、Raynaud 現象や RNP 抗体陽性例においては、PAH の合併を念頭において、理学的所見、胸部レントゲン、心電図などに加えて、心エコー図所見の経過を注意深く追跡する必要があると考える。

Fluorescentimmunoassay - 赤血球法を用いた SLE 血清中の免疫複合体の定量と、可溶化 能および遊離能の検討

研究協力者 兵頭行夫 (神奈川県立こども医療センター感染免疫科)
共同研究者 横田俊平 (横浜市立大学小児科)

はじめに

SLE をはじめとする自己免疫疾患では流血中に可溶性免疫複合体 (IC) が種々の方法で検出される。血管炎やループス腎炎の局所にこの IC の沈着が証明され、病因としての意義が論議されており、また疾患活動性のマーカーとして役立つとの報告もある。

IC は生体内で形成された抗原抗体複合物である。この複合物はそれ自体新しい生物活性を有し、補体系を活性化する。活性化した補体系は、lattice 形成に傾く抗原抗体反応に関与し複合物を離断し可溶化する。また IC と細胞表面のレセプターにも影響を与え、レセプターに結合した IC を遊離させる。

このような血清の可溶化能、遊離能は IC の代謝、生体外への排除に重要な意義があるものと考えられる。ところで SLE の高 IC 血症は低補体血症を伴うことが知られており、補体系機能と密接な関係にある可溶化能、遊離能の傷害が高 IC 血症をまねき、免疫複合体病の発症に関与している可能性が考えられる。今回われわれは新しく開発した fluore-

scentimmunoassay-RBC 法を用いて SLE 血清中の IC を定量化し同時に可溶化能および遊離能を計測する方法を考案し若干の知見を得たので報告する。

方法と材料

1) 熱凝集ヒト IgG の作製 (AHG): 正常人プール血清を硫酸塩析し, DEAE クロマトグラフィにより精製したヒト Ig G を 63°C, 20分熱凝集した。粗大凝集物を遠心により除去し, ついで monomeric Ig G を除去するため, EDTA-polyethylene glycol 液 (最終濃度 3.5%) と 4°C, 90分反応させ, 遠心により沈渣を得た。この沈渣を加温した PBS に充分溶解後, ミリポアメンブレインフィルターを通し, dye-binding assay により蛋白量を測定した。蛋白量としての recovery rate は平均 33.9% であった。

この AHG と新鮮ヒト血清とを 1:7 の割合で混じ, 37°C, 30分反応後分注し, -70°C 保存した。各々のチューブは, 標準曲線の作製または IC モデルとして 1 回のみ使用した。(AHG-C')。

2) IC の定量法-fluoroimmunoassay を応用したヒト赤血球法¹⁾(FIA-RBC 法): C3-fixing IC を特異的に定量する目的で FIA-RBC 法を開発した。ヒト O 型赤血球を PBS にて洗浄後, 2×10^8 /ml に調製し, その 100 μ l を各チューブに分注した。PBS にて希釈した AHG-C' または検体血清を 50 μ l 加え, 4°C, 60分静置後 3 回洗浄し, ついで FITC-抗ヒト Ig G 100 μ l (100倍希釈液) 加え, 再び 4°C, 60分静置した。PBS にて 5 回洗浄後, IC 感作 RBC を 2ml PBS に浮遊させその蛍光量を photon-counting fluorometer にて測定し, 標準曲線より IC 量を算定した。

3) 可溶化能の測定: AHG-C' 希釈液を 10 μ l/tube とし, 1/2 希釈検体血清を 100 μ l 加え 37°C, 60分加温後, チューブを 0°C に冷却し反応を停止させた。RBC 100 μ l 加え, 4°C, 60分静置後洗浄し, ついで FITC-抗ヒト Ig G 100 μ l 加えた。以後 FIA-RBC 法に述べた操作により, 血清による可溶化後の AHG-C' 残量を測定し, 反応前値と比較して血清の可溶化能とした。

4) 遊離能の測定: あらかじめ AHG-C' 希釈液 50 μ l と RBC 100 μ l とを 4°C, 60分反応させ, AHG-C' 感作 RBC を作製した。充分洗浄後, 1/2 希釈した検体血清 100 μ l 加え, 37°C, 30分反応させた。洗浄後 FITC 抗ヒト Ig G 100 μ l 加え, 4°C, 60分静置後, RBC に結合した AHG-C' 量を測定し, 血清との反応前値と比較して, 血清の遊離能とした。

結果

①新しく開発した FIA-RBC 法は, 各種濃度の AHG-C', IC の定量化にすぐれており, 先天性 C3 欠損症の血清を用いての検討で C3-bearing IC のみをとらえていることが明

らかにされた(図略)。②同法を、血清の可溶化能および遊離能の定量化にも応用可能なことも示された。③ SLE 血清 6 検体について IC 量を定量すると 7~467 AHG eq μ g/ml に分布し、川崎病、若年性慢性関節リウマチに比較し、きわめて高値をとるもののあることが特徴と思われた。④被検血清の可溶化能、遊離能とも、IC 低値をとるものでは正常血清に近い値を示し、これら機能が保たれていることが示されたが、IC が高値をとるものほどこれらの機能低下が著明に認められた。⑤ IC 高値の被検血清に正常人新鮮血清を加えると、可溶化能は再建されることが明らかにされ、血清 IC 値の低下を認めた。

図 1 FIA-RBC 法による SLE 血清中の免疫複合体の定量と可溶化能、遊離能

SLE 血清	免疫複合体 (AHG eq- μ g/ml)	可溶化能 (%)	遊離能 (%)
1	15	86.7	60.0
2	7	53.2	37.4
3	120	-24.8	18.3
4	100	-53.2	31.7
5	467	-497.8	-172.4
6	451	-454.3	-263.6
正常新鮮血清	0	77.1	74.6
非働化血清	0	-209.7	12.3

図 2 新鮮正常人血清による SLE 血清可溶化能の再建

SLE 血清	可溶化に用いた血清	Δ FIA カウント	可溶化能
# 6	正常人新鮮血清	131000	63.3 %
	正常人非働化血清	319555	10.5 %
	P B S	356920	

考 案

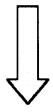
FIA-RBC 法による SLE 血清中の C3-fixing IC の測定を行なった。また同時に血清の可溶化能、遊離能を同法により定量化が可能であることを示し、IC 高値の SLE 血清ではこれら機能が傷害されていることが明らかになった。さらに新鮮正常血清により SLE 血清の可溶化能が再建されることから、SLE 血清における高 IC 血症はこれら機能の障害のために流血中からの IC 排除が困難であるために生じていることが示唆された。

ICは生体内で生じる抗原抗体複合物であり、形成の過程と排除の過程の機能的バランスの結果として流血中可溶性免疫複合体量が決定されているものと考えられる。IC形成には、抗原の分子量、抗原抗体量比、抗体のIgクラス、補体結合能などの条件が関与し²⁾、排除機構は補体系機能、赤血球・マクロファージ・リンパ球などの流血中細胞のレセプター機能、脾・肝を中心とする網内系機能などの過程が総合的に含まれる。したがってIC測定値は、「net」としての意味しかもたず、その実際的評価はこれら複合体形成と排除の評価がなされてはじめて完結し、疾患の本態にも近付き得るものと考えられる。

SLEにおいてはこれまで、網内系機能の低下、赤血球IA(C3)レセプターの遺伝的欠損³⁾等が指摘されており、補体系関連機能としての可溶化能はLambertらのグループ⁴⁾により、¹²⁵I-BSA-抗BSA沈降物に対するSLE血清の可溶化能低下の報告をみるにすぎない。今回のわれわれの報告は、FIA-RBC法を応用することで、IC、可溶化能、遊離能を同時にかつ容易に測定し定量化することが可能であることを示し、これらを総合的に比較検討する可能性を示した。

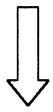
文 献

- 1) Tsuda, F., et al : Application of human erythrocytes to a radioimmune assay of immune complexes in serum. Immunology, 37:681, 1979.
- 2) Theofilopoulos, A.N., et al : The biology and detection of immune complexes. Adv. Immunol. 28:89, 1979
- 3) Miyakawa, Y., et al : Defective immune adherence (C3b) receptor on erythrocytes from patients with systemic lupus erythematosus : Lancet, Sep. 5:493, 1981.
- 4) Aguado, M.T., et al. : Decreased capacity of solubilize immune complexes in sera from patients with systemic lupus erythematosus. Arth. Rheum. 24:1225, 1981.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



はじめに

SLE をはじめとする自己免疫疾患では流血中に可溶性免疫複合体(IC)が種々の方法で検出される。血管炎やループス腎炎の局所にこの IC の沈着が証明され、病因としての意義が論議されており、また疾患活動性のマーカーとして役立つとの報告もある。IC は生体内で形成された抗原抗体複合物であらこの複合物はそれ自体新しい生物活性を有し、補体系を活性化する。活性化した補体系は、lattice 形成に傾く抗原抗体反応に関与し複合物を離断し可溶化する。また IC と細胞表面のレセプターにも影響を与え、レセプターに結合した IC を遊離させる。

このような血清の可溶化能、遊離能は IC の代謝、生体外への排除に重要な意義があるものと考えられる。ところで SLE の高 IC 血症は低補体血症を伴うことが知られており、補体系機能と密接な関係にある可溶化能、遊離能の傷害が高 IC 血症をまねき、免疫複合体病の発症に関与している可能性が考えられる。今回われわれは新しく開発した fluorescent immunoassay-RBC 法を用いて SLE 血清中の IC を定量化し同時に可溶化能および遊離能を計測する方法を考案し若干の知見を得たので報告する。