

慢性腎炎における大量静注ガンマグロブリン療法

日本大学医学部駿河台病院小児科 北川照男, 栖原 優, 吉川弓夫

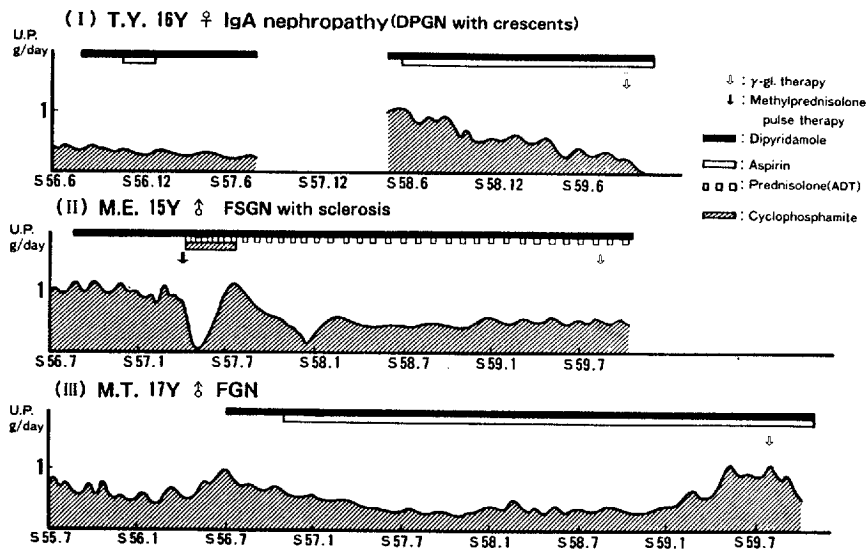
近年、免疫学のめざましい進歩により、慢性腎糸球体疾患に対する考え方も大きく変化し、新しい様々な治療法が試みられている。1981年 Imbach らが、I.T.P. に大量のガンマグロブリンを投与し、効果を見出し、以来、多くの疾患に使用され、現在、注目される治療法の一つとなっている。腎疾患においてもこの大量静注ガンマグロブリン療法が施行され、一部の腎炎に有効であるとの報告がある^{1,2)}。今回、我々はポリエチレングリコール処理免疫グロブリン製剤を、IgA 腎症1例及び non-IgA 慢性腎炎2例に使用する機会を得、臨床効果の共に、リンパ球サブセット、補体、免疫複合体及び免疫複合体可溶化能に及ぼす影響を検討したので、若干の考察を加えて報告する。

症 例

研究対象とした3症例の臨床経過は図1に示した如くである。

症例1は16歳の女兒。3年前の学校検尿にて蛋白尿及び血尿を指摘され、当科を同年6月に受診し、以後約1年間のブランクはあるものの蛋白尿、血尿が持続している症例である。昭和56年8月に腎生検を施行し、光学顕微鏡所見では diffuse mesangial proliferation を呈し、蛍光抗体法で mesangium に IgA を 3(+) に認め、IgA 腎症と診断した。治療は dipyridamole 及び Aspirin による抗血小板療法を行ってきた。昭和58年には一時尿蛋白量が一日1gを超えたが、今年は一日尿蛋白量0.4g前後となっている。症例2は15歳の男児で、6年前より尿異常を指摘されていたが放置し、3年前より当科にて経過観察していた。蛋白尿は methylprednisolone pulse 療法にて一時消失したが、prednisolone の隔日投与、cyclophosphamide, dipyridamole の後療法にもかかわらず、再び陽性化した。昭和57年3月の腎生検にて focal segmental proliferation, 蛍光抗体法

図1 症例



にて IgG(+), IgA(±), C₃(+) の所見を得ている。症例 3 は 17 歳の男児。4 年前より蛋白尿, 血尿が持続し, 腎生検は昭和 57 年 8 月に施行し, focal に mesangium cell の増加を軽度に認めた。この症例のみ血清クレアチニン値 1.7 mg/dl, Ccr 45~55 ml/min. と軽度の腎機能低下を認めている。

研究方法

これら 3 症例にポリエチレングリコール処理ガンマグロブリン製剤を一日, 体重 1 kg 当たり 300~400 mg を 4 日ないし 5 日間点滴静注にて連続投与し, 各々の症例について, モノクローナル抗体による OKT の検索を行なった。

血中免疫複合体は図 2 の如く ELISA による抗 C₃d 法にて測定した。すなわち, 抗ヒト C₃d 血清は Dako 社のものを使用し, その F(ab')₂ 分画を polystyrene microtiter plate に coating し, そこへ 0.1% bovin serum albumin 50 μl を加え, 37°C, 30 分間 incubation 後, 被検血清 50 μl を加え, 37°C, 30 分間反応させた。その後, Tago 社の peroxidase 標識抗ヒト α chain を加え, 37°C, 30 分間反応後, 基質として o-phenylenediamine, H₂O₂ を 37°C, 1 時間反応させた。

その後, 8N H₂SO₄ にて反応を止め, 蛍光分光光度計で測定した。C_{3c} は免疫拡散板により, C₃d

図 2 ELISA による Immune Complex の測定

1. Anti-C₃d rabbit IgG(F(ab')₂) の 10 μg/ml, 50 μl で polystyrene microtiter plate を evaporate
2. 50 μl 0.1% Bovine Serum Albumin in GVB²⁺ (37°C, 30min)
3. 50 μl serum diluted with 1.0% Bovine Serum Albumin in GVB²⁺ (37°C, 30min)
4. 50 μl Peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG(IgA) goat serum diluted with dilution buffer (37°C, 30min)
5. 300 μl o-phenylenediamine in H₂O (10mg/100ml) + 3% H₂O₂ 0.1 ml (37°C, 1hr)
6. 20 μl 8N H₂SO₄ read O.D. 490nm (500nm)

図 3 ロケット免疫電気泳動法による C₃d 測定

1. 被検血清に 15% polyethylene glycol 6000 を等量加え, 4°C で 3 時間静置後, 1400×g で 20 分間遠心分離した上清を測定に用いた。
2. C₃d 標準血清は日本人標準血清 (O.S 血清) に Zymosan 5mg/ml を加え, 37°C, 30 分間 incubate したものを 100 として補正した。
3. ロケット免疫電気泳動は 3.2 V/cm, 4 時間で施行した。
4. Breakdown Index は次の式にて計算した。

$$\frac{C_{3d} (\%) }{\beta_{1A} (\text{mg/dl})}$$

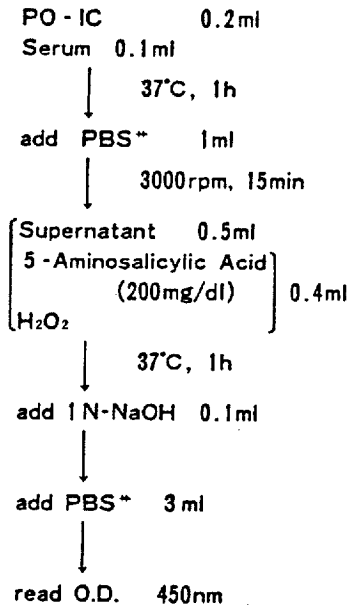
図 4 補体による組織沈着免疫複合体可溶化能

1. 小スライドガラスに付着した腎組織片を小シャーレに入れ, 被検血清 0.5 ml を加え, 37°C, 1 時間反応させた。
2. 腎組織片を PBS (pH 7.2) にて十分に洗浄後, FITC 標識抗ヒト IgA (IgG) 抗血清を加え, 4°C, overnight の染色を行った。
3. 蛍光強度は, (-), (±), 1 (+), 2 (+) および 3 (+) の 5 段階に分けて評価し, 被検血清のもつ免疫複合体可溶化能は, PBS 対照のそれと比較して判定した。

は図 3 の如く, ロケット免疫電気泳動法により測定した。C₃ の活性化の程度を表わす breakdown index は, C_{3c} より C₃d への分解率, C₃d/C_{3c} として算定した。組織沈着免疫複合体可溶化能は, ループス腎炎の患者より得た腎生検組織を用い, 富野らの方法により図 4 の如く施行した³⁾。

また, 一部の症例には, peroxidase-anti PO による試験管内免疫複合体可溶化能 (complex-release activity, 以下 C.R.A.) の測定を行なった⁴⁾ (図 5)。方法は 大藤らの方法を用い, horseradish peroxidase 免疫複合体 0.2 ml に被検血清 0.1 ml

図5 補体による peroxidase (PO)-anti-PO 免疫複合体の可溶性能 (CRA) の測定



を加えて、37°C、1時間反応させた後、PBS 1 ml を加えて3000回転15分間遠沈し、上清 0.5 ml を静かに採り、基質 5-aminosalicylic acid, H₂O₂ を加えて、可溶化した PO-I.C. を発色させ、比色計にて測定した吸光度の値を C.R.A. と表した。

結果

本療法にて IgA 腎症の症例 1 は、尿蛋白の消失を認めた。non-IgA 慢性腎炎の 2 症例では尿蛋白の消失は認められなかったが、focal G.N. の症例 3 では、一日 0.8 g 前後あった尿蛋白が本療法後 0.4 g 前後と減少傾向を示した (図 6)。

OKT 4/OKT 8 比では、症例 1 でやや減少傾向が見られ、他の 2 例とは異なる推移を示したが、明らかな変化とは言えなかった (図 7)。しかし、各々の実数を算定してみると OKT 4, OKT 8 共に著しい増加を認めた (図 8)。また、血中 I.C. において、IgA-I.C. は IgA 腎症の症例 1 (図 1 と図 9 では T.Y.) にわずかな減少を認めたが、明らかな変化とは言えなかった。しかし、IgG-I.C. では症例 1 (図では T.Y.) に減少を認めた (図 9)。

図6 各症例における High Dose γ -Globulin Therapy 前後の尿蛋白及び補体の推移

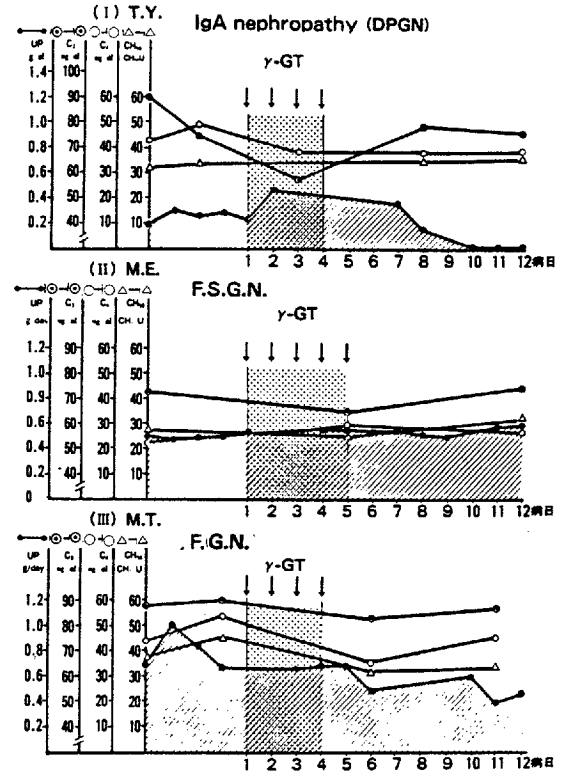
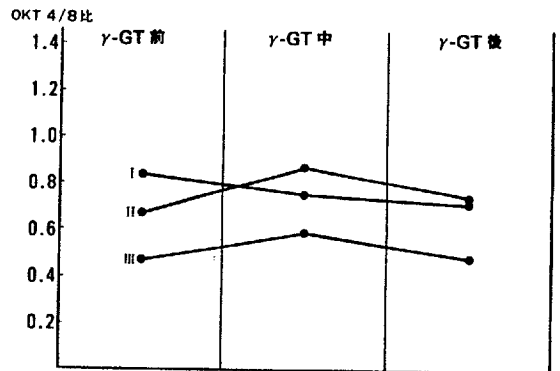


図7 High Dose γ -Globulin Therapy における OKT 4/OKT 8 比の推移



次に C_{3c}, C_{3d} についてみると、C_{3c} (closed circle, 実線) は一定の傾向は示さなかったが、C_{3d} (open circle, 破線) は本療法前 3 症例ともに明らかに活性化されていたのが、本療法によりその活性化が抑制され、正常化の傾向を認めた。breakdown index を見ても明らかに本療法後、減

図8 High Dose γ -Globulin Therapy における OKT 4 および OKT 8 の推移

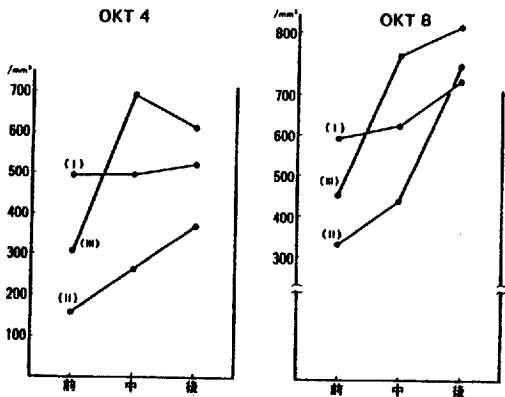


図9 酵素抗体法による血清中免疫複合体測定 (抗原 $40\times$, 二次抗体 $10^3\times$)

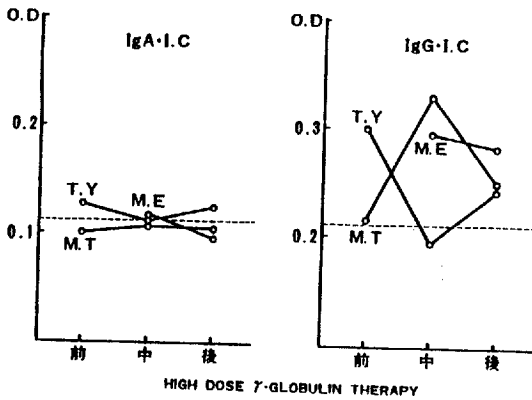
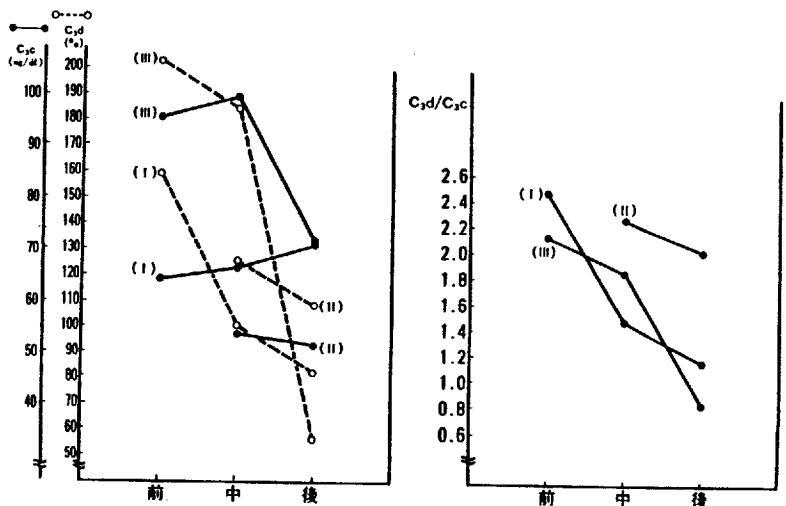


図10 High Dose γ -Globulin Therapy における C_{3c} , C_{3d} 及び C_{3d}/C_{3c} の推移



少していた(図10)。そこで、組織での免疫複合体可溶性能について検索した。IgA の可溶性能は症例1と症例3で本療法後回復したが、無効例であった症例2では、可溶性能においても改善を認めなかった。IgG の可溶性能については、本療法前よりその活性を有している症例があり、はっきりした傾向は認められなかった(表1)。

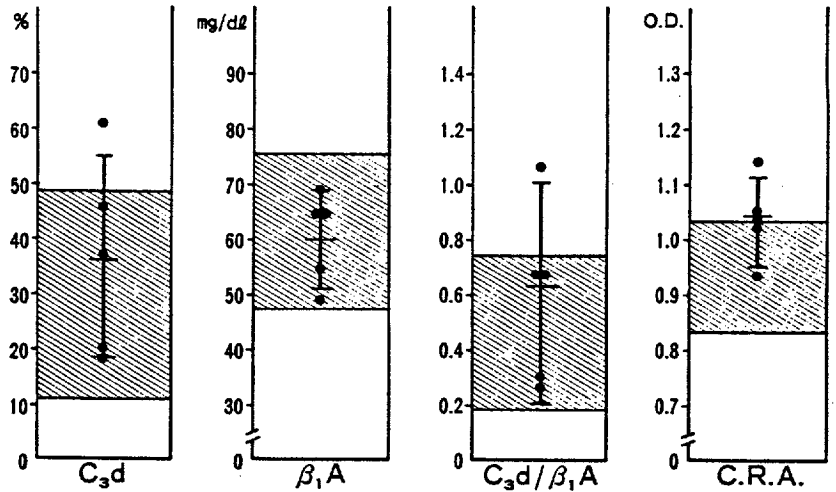
考 按

最近、IgA 腎症の腎生検組織に、 C_{3c} は染色されず C_{3d} が染色されるという報告がある。我々は、尿蛋白陽性の IgA 腎症 5 例について、血中の C_{3d} , C_{3c} , 試験管内の C.R.A. を測定したが、健常者のそれとほとんど差は認めなかった(図11)。その理由は明らかでないが、測定した時期などに問題があったのかもしれないと考えている。しかし、IgA

表1 High Dose γ -Globulin Therapy 前後の患者血清及び健康人血清による免疫複合体可溶性能

Case		treated with PBS	Sera obtained from patients	
			before high dose γ -GT	after high dose γ -GT
I	IgA	(++)	(+)	(-)
	IgG	(++)	(-)	(-)
II	IgA	(++)	(+)	(+)
	IgG	(++)	(+)	(±)
III	IgA	(++)	(+)	(-)
	IgG	(++)	(-)	(-)
健康人血清	IgA	(++)	(±) ~ (-)	
	IgG	(++)	(-)	

図11 IgA 腎症における
C₃d, β₁A, C₃d/
β₁A, C.R.A.



腎症の症例1はC₃d 160%, breakdown index 2.5と明らかに補体の alternative pathway の活性化が想定された。

堺らは、組織での免疫複合体可溶性能について、ヒトガンマグロブリン製剤で腎組織標本を処理後、IgAの染色態度は何ら変化しないが、IgGの蛍光は消失してしまうこと、また、血清を56°C 30分間加熱後、同様の処理をしてもIgGの可溶性能は失活しないことから、IgAの可溶性能は補体と密接な関係があるが、IgGのそれは補体に非依存的であると述べている³⁾。そして本研究において我々も全く同様の実験結果を得た。したがって、症例1及び3においてIgAの免疫複合体可溶性能が回復していることは、本療法により補体の消費が減少したと思われる。

結 語

(1) 慢性腎炎3症例に大量静注ガンマグロブリン療法を行ない、びまん性細胞増殖型を呈したIgA腎症1例に尿蛋白の消失を認めた。また、巣状糸球体腎炎の1例には尿蛋白の減少を認めたが、巣状分節状糸球体腎炎の1例には効果を認めなかった。

(2) これら3症例の本療法前後でのOKT4/OKT8比は明らかな変化を認めなかったが、OKT8の実数では著増を示した。これにより新たな免疫複合体の産生を抑制する可能性が推測された。

(3) 本療法有効例では、治療前のbreakdown indexは高値を示したが、治療後は著明に減少した。

(4) 本療法有効例において、IgAの免疫複合体可溶性能に明らかな改善を認めた。無効例では可溶性能の改善は充分とは言えなかった。

以上より、本療法は一部の腎炎に有効な治療法と思われた。また、その効果判定として、OKT, C₃d, C₃c, 免疫複合体可溶性能は有用な指標となりうると思われた。

§ 文 献

- 1) 河住 久, 他: 膜性腎症, 膜性増殖性腎炎, ループス腎炎における腎糸球体沈着抗原抗体結合物の研究. 日腎誌, 24; 625, 1982.
- 2) Sugisaki, T. et al.: High-dose gammaglobulin for membranous nephropathy, membranoproliferative glomerulonephritis and lupus nephritis. Fed. Proc., 41; 692, 1982.
- 3) 堺 秀人, 他: IgA腎症患者に対するDanzolの臨床効果について. 厚生省特定疾患進行性腎障害調査研究班, 昭和58年度研究業績集より; 512, 1984.
- 4) 大藤 真, 他: 全身性エリテマトーデスにおける補体による免疫複合体の可溶性能. 日本臨床免疫学会誌, vol.7, no.2; 77, 1984.
- 5) Yasuhiko, T. et al.: Impaired Solubilization of Glomerular Immune Deposits by Sera From Patients with IgA Nephropathy. Ame. J. Kid. Diseases, Vol. 111, No.1, July, 1983.



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



近年,免疫学のめざましい進歩により,慢性腎系球体疾患に対する考え方も大きく変化し,新しい様々な治療法が試みられている。1981年 Imbaech らが,I.T.P,に大量のガンマグロブリンを投与し,効果を見い出して以来,多くの疾患に使用され,現在,注目される治療法の一つとなっている。腎疾患においてもこの大量静注ガンマグロブリン療法が施行され,一部の腎炎に有効であるとの報告がある 1),2)。今回,我々はポリエチレングリコール処理免疫グロブリン製剤を,IgA 腎症 1 例及び non-IgA 慢性腎炎 2 例に使用する機会を得,臨床効果の共に,リンパ球サブセット,補体,免疫複合体及び免疫複合体可溶化能に及ぼす影響を検討したので,若干の考察を加えて報告する。