尿中分泌型 IgA の研究

〔Ⅱ〕. 尿路疾患における検討

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 栗 山 学
(主任: 西浦常雄教授)

THE STUDY OF URINARY SECRETORY IgA

(II) SIgA Values in Various Urological Diseases

Manabu Kuriyama

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

(Director: Prof. Tsuneo Nishiura)

In a study of the local immunity in the urinary tract, we have reported on the urinary Immunoglobulin level in normal controls and the localization of urinary Secretory IgA in the urinary tract, using Enzyme-linked Immunosorbent Assay (E.L.I.S.A.) method as a detective method and Enzyme-antibody technique for the study of its localization on tissue. In this study, we observed the urinary SIgA level in various urological diseases and its changes in the course of diseases.

The summary of conclusion obtained were as follows:

1) The values of SIgA in 147 cases suffering from urological diseases were very high in the cured stage of acute cystitis and neurogenic bladder, especially at the stage of combination of urinary tract infection compared with 34-normal controls. But in acute pyelonephritis its values were very low. In the urological tumors, SIgA values were normal at the stage with tumor, but they decreased after operation, especially in bladder cancer its values were one-fifth of the stage before operation. In urolithiasis, the values of SIgA were very low regardless of presence of stone or not.

2) The relation between the values of SIgA and the course of diseases was studied. In 17 acute lower urinary tract infections, most cases revealed high values of SIgA at the infectious stage. The ratio of SIgA at the infectious and cured stage were divided into two groups, one was less than 10 times and another was about 1,000 times. But this difference was not related to either the infecting organism, the duration to the consultation or cure from onset. SIgA was not reactive in 2 acute upper urinary tract infections. In 10 infections of 8 cases of chronic urinary tract infections, SIgA was highly reactive at the lower one, but even in pyelonephritis its values were revealed about 10 times larger than those in the non-infected stage. The days needed from the onset of infection to the peak of SIgA values were longer than that from the peak to return, and reinfection due to the same organism and the second reaction of SIgA was observed, therefore it was thought to be a lack of immune memory at the urinary tract. In some cases, the normalization of the values of SIgA preceded the disappearance of the urinary tract infection, SIgA was thought to be used as the marker of infection. The values of SIgA observed in one case of renal cell carcinoma were about 1.8 mg/day before operation, and revealed high response after embolic infarction of renal artery and nephrectomy. But at 4 days after operation its value was suddenly decreased to 0.5 mg/day. At present, 1 year after surgery, it was 0.8 mg/day.

3) The localization of SIgA on the tissues were studied by the indirect method of Enzyme-antibody technique. The tissues studied were obtained from 3 patients with renal cell carcinoma, one with vesical cancer and one with testicular tumor. In renal cell carcinoma, SIgA was recognized at tumor cell cytoplasm and invaded lymphocytes as well as the normal tubular cells. SIgA was strongly localized in papillary tumor cell cytoplasm in vesical cancer. But in testicular tumor SIgA

was not found. We thought that, in the urological epithelial tumors, SIgA was secreted from the tumor cell itself or the normal epithelial cell was to be highly reactive against tumor antigens.

緒 言

分泌型 IgA (Secretory IgA, SIgA) は、粘膜表面における局所免疫機構の主役を演じているものと考えられている^{1)~3)}。尿路もまた外界から直接、侵入抗原にさらされる場であり、他の消化管・気道と同様に、局所免疫応答の場であることは周知の事実である。尿中に最初に SIgA の存在を認めたのは、1968年の Bienenstock & Tomasi⁴⁾ であるが、以後主として尿路感染症との関わりの面から、尿中 SIgA の研究が進められてきた^{5)~7)}。著者は、これまでに新しい Immunoassay 法である Enzyme-linked Immunosorbent Assay (E.L.I.S.A.) 法を用いて、尿中免疫グロブリン測定における有用性⁸⁾、SIgA の尿路における局在性⁹⁾についての検討を報告してきた。本測定法は、従来多用されてきた SRID (Single Radial Immunodiffusion) 法と異なり、感度上昇に伴って、都度尿という少量検体でも測定可能という利点を有していた。本論文では、現在までの報告にふまえて、種々な尿路疾患における SIgA の実態ならびに疾病の推移に伴った SIgA 値の変動に関する検討を行なつたので報告する。

実験方法

尿中分泌型 IgA の測定は、marker 酵素として Horseradish peroxidase (Sigma, Type VI, RZ 3, 以下 Pox と略す) を用いた E.L.I.S.A. 法の competitive reaction によつた。Pox と Free Secretory Component (FSC, 初乳由来) の結合、不溶化抗体としての anti SC (Dacopatts 社製) と BrCN-Sephadex 4B (生化学工業社製) の結合は、既報⁸⁾⁹⁾のように向島らの方法¹⁰⁾に準じて行なつた。また、SIgA の標準量には、初乳由来の精製 SIgA を SRID 法によつて測定して得た IgA-relative value を用いた。測定は、以下の手順で行なつた。試料尿は、あらかじめ 10,000rpm, 10分間遠心分離して、その上清を検体とした。まず、5ml 用の plastic tube に検体尿を 0.1M PB pH 7.0 で 2倍希釈したうちの 0.1ml と、anti SC-BrCN Sephadex 4B の 5倍希釈液 0.1ml を入れて、室温で 1時間 incubate した。次いで、50倍希釈の FSC-Pox 0.1ml を添加して、室温で 2時間・4℃で 12時間 incubation を行なつた。ここへ、0.7ml の PB を加えて 3,000rpm, 30分遠心分離後、上清 0.2ml を 3ml の Pox reagent (1% o-dianisidine 0.5ml, 0.3% H₂O₂

0.6ml, 1M PB pH 6.0 に蒸留水を加えて 60ml に調整して作製) に入れて、1時間室温で incubate 後、1N-HCl で反応を止めて、吸光度 (OD₄₀₈) を測定した。標準量の希釈液も、同様の操作を毎回行なつて、測定時毎の standard curve を作製した。なお、control として、(1) 試料尿及び不溶化抗体を PB 0.2ml で pass し、FSC-Pox 0.1ml のみ添加した tube と、(2) 試料尿添加時にのみ PB 0.1ml で pass して、Anti SC-BrCN Sephadex 4B と FSC-Pox はそのまま添加した tube をたてた。また、2例の測定済の検体を同時に測定して、再現性確認の working control とした。

一方、SIgA の組織内局在の検討には、既報⁹⁾と同様に、Nakane & Pierce の提唱した¹¹⁾¹²⁾酵素抗体法の間接法を用いた。第 1 抗体には anti SC (Dacopatts 社製) を、また第 2 抗体には、前述の方法で label した Pox-labelled anti rabbit γ -globulin (Gout 由来) を用いた。この際の Pox 呈色反応には、3, 3'-diaminobenzidine (Nakarai) を用い、1% NaN₃ で反応を止めた後、methylgreen で核染色を行なつて、光学顕微鏡で観察した。なお、第 1 抗体使用時に normal rabbit serum を、第 2 抗体使用時には non-labelled antiserum を用いて control とした。

以上の手技を用いて、まず尿路感染症 65 例、尿路腫瘍 60 例、尿路結石 22 例の尿中 SIgA 値を測定して、各疾患毎の比較を行なつた。次いで、尿路感染症 27 例については感染の経過との、また 1 例の腎細胞癌例では手術前後の経過との関連を検討した。さらに、腎細胞癌 3 例、膀胱癌、睪丸腫瘍各 1 例の組織内における SIgA 分布を酵素抗体法で観察した。

材 料

まず、尿路疾患各群間の SIgA 値を比較するため、当科外来・入院中の患者 147 例について検討を加えた。この疾患別内訳は、急性単純性膀胱炎 35 例 (罹患中 12 例、治癒後 23 例)、神経因性膀胱 24 例 (尿路感染症併発中 5 例、合併なし 19 例)、急性単純性腎盂腎炎 6 例、前立腺肥大症 (術前 19 例、術後 3 例)、前立腺癌 6 例、膀胱癌 19 例 (術前 14 例、膀胱部分切除または TUR の術後 5 例)、腎細胞癌 13 例 (術前 6 例、腎摘出術後 7 例)、腎・尿管結石 22 例 (術前 18 例、術後 4 例) であつた。試料尿は、尿路系各部における分泌量の多少⁹⁾を考慮して全て

自排尿とし、外来患者尿を用いる場合もあるという制約もあつて都度尿を用いた。採取時間は、日内変動による測定値のバラツキを抑えるために午前10時とした。また、腫瘍・結石群では、採尿時に尿路感染症のないことを確認した。

次いで、尿路感染症患者の疾病推移と SIgA 値の変動を検討する目的で、急性症19例は外来患者、慢性症8例では入院患者から、同様の理由で、午前10時に都度尿を採取した。また、腎細胞癌患者では、経日的な分泌量の多少をみるために、連日1日尿の1部を採取した。

SIgA の組織内局在検討に用いた例は、以下の患者である。腎細胞癌の第1例目は、46歳女性の剖検時に得られた右腎組織を用いたが、その1978年 UICC 分類は、 $T_4N_xM_1$ であつた。第2例目は、58歳女性で、手術時に左腎組織を得、その分類は $T_3N_xM_0G_2V_0$ であつた。第3例目は、51歳男性から手術時に採取した右腎で、分類は $T_xN_xM_0G_2V_0pT_2$ であつた。このうち、第2例目が、前述の手術前後の変動をみた症例である。膀胱癌例は、66歳男性の膀胱全摘術時に得られた組織で、 $T_2N_xM_0pT_3G_2L_0$ であつた。また、睾丸腫瘍例は、26歳男性の左睾丸高位除睾丸術時に得られた組織を用いた。この組織学的診断は、Sertoli細胞腫であつた。

採取した尿は、前述のように10,000rpm, 10分間遠心分離し、その上清を検体とした。測定時まで、 -70°C にて保存した。一方、得られた組織は、cold acetone で固定後、軟パラフィン包埋して、microtome で 40μ に薄切してプレパラートを作製し、反応を進めた。

結 果

1) 各疾患毎の平均 SIgA 値について

表1に、各疾患毎の測定平均値を、以前に報告した⁸⁾正常群のそれと合わせて示した。また、図1、2、3は、尿路感染症群、尿路腫瘍群、尿路結石群別に、実測分布を plot したものである。感染症群のうち、急性膀胱炎罹患中 $58\mu\text{g/dl}$ 、回復直後 $912\mu\text{g/dl}$ 、神経因性膀胱の感染合併期 $1,950\mu\text{g/dl}$ 、非合併期 $326\mu\text{g/dl}$ 、急性腎盂炎 $10\mu\text{g/dl}$ の平均値を示し、腫瘍群では、前立腺肥大症術前 $120\mu\text{g/dl}$ 、術後 $38\mu\text{g/dl}$ 、前立腺癌 $173\mu\text{g/dl}$ 、膀胱癌術前 $170\mu\text{g/dl}$ 、術後 $36\mu\text{g/dl}$ 、腎細胞癌の術前 $112\mu\text{g/dl}$ 、腎摘出術後 $60\mu\text{g/dl}$ であり、尿路結石では術前 $5.4\mu\text{g/dl}$ 、術後は $10.6\mu\text{g/dl}$ であつた。正常群に比して、感染症群では急性膀胱炎の回復期、神経因性膀胱では特に感染合併期に高値を示したが、逆に急性腎盂腎炎では低値となつた。次いで、腫瘍群では、腫瘍を保持している時には、ほぼ正常群と同じ level を示したが、除去すると著減し

表1 Urinary SIgA Level in Various Urological Diseases Detected with E.L.I.S.A. $\mu\text{g/dl}$

Diseases and Condition	Conc. of U-SIgA	(No. of Pt.)
Normal Controls	90	(34)
Urinary Tract Infections		
Acute Cystitis		
Contacted	58	(12)
Cured	912	(23)
Neurogenic Bladder		
Urinalysis Abnormal	1950	(5)
Normal	326	(19)
Acute Pyelonephritis	10	(6)
Urinary Tumors		
B. P. H.		
Pre-operation	120	(19)
Post-operation	38	(3)
Prostatic Cancer	173	(6)
Vesical Tumor		
Pre-operation	170	(14)
Post-operation	36	(5)
Grawitz Tumor		
Pre-operation	112	(6)
Post-operation	60	(7)
Urolithiasis		
Pre-operation	5.4	(18)
Post-operation	10.6	(4)

図1 Urinary SIgA Level in U.T.I.

た。特に膀胱癌では約1/5に低下した。また、結石群では、結石除去の有無に拘らず、低値のままであつた。しかし、以上のような結果も、実際の分布図上では明確な差とはならず、既に報告した⁹⁾ように、尿中 SIgA level に関しては、個々の人に固有の normal range があるものと考えられ、以下に個々の例で SIgA の動態に関する検討を行なつた。

2) 疾病の推移と SIgA 値について

図4は、急性単純性膀胱炎の2例の女性患者の膀胱尿

図2 Urinary SigA Level in Urinary Tumors

図3 Urinary SigA Level in Urolithiasis

での比較である。原因菌は、共に *E. coli* であった。発症前値は不明であったが、左の例では、感染極期に peak を示したのち、第 6 病日に急激に低下し、治療後では第 2 病日の 1/2 まで上昇を示した。以降 2 週間までは、再発を認めていないが、その後の経過は来院しておらず不明である。一方、右の例では、治療傾向と共に急激に低値を示し、第 15 病日以降はほぼ同一 level であった。図 5 の急性腎盂腎炎例の膀胱尿では、左のように治療後やや上昇する例、右のように不変例と、殆んど response は認めなかった。

そこで、19 例の急性尿路感染症の感染極期と回復期の

図4 Relation between Urinary SigA Level and Course of U.T.I.

図5 Relation between Urinary SigA Level and Course of U.T.I.

SigA 値の比較をしたのが、表 2 である。患者は全て女性で、うち 17 例が急性単純性膀胱炎、2 例が急性腎盂腎炎であった。また、判明した原因菌は、全て *E. coli* であった。前述のように、No. 18 と 19 の腎盂腎炎例では response は乏しかつたが、膀胱炎群では No. 1~10 までの比較的 response の弱い群と、No. 11~17 までの非常に強い群とに大別できた。この傾向と、発症から初診までの期間、治療までの期間との間に、特に関係は認めえなかつた。

次いで、慢性症における検討を行なつた。図 6 は、陰茎腫瘍を基疾患とした慢性複雑性尿道炎例であるが、GNB と *P. aeruginosa* の混合感染によつて 5μg/dl までの弱い response が 2 度あり、次いで 160μg/dl のこの例

表2 Relation between Urinary SIgA Level and Course of U.T.I.

(Summary)

1) Acute Urinary Tract Infections

No.	Patient, Diag				Day from onset to 1st. consult	at infection at recovery of SigA value	Days from onset to recovery	Infected organism
1.	M.T.	69	f	ASC	2	0.67	6	E. coli
2.	Y.Y.	30	f	ASC	2	1	5	E. coli
3.	T.N.	22	f	ASC	5	1	8	E. coli
4.	H.S.	25	f	ASC	2	1	5	E. coli
5.	E.T.	20	f	ASC	3	1.43	7	?
6.	T.T.	24	f	ASC	2	1.67	12	E. coli
7.	S.K.	39	f	ASC	10	2	14	(-)
8.	S.A.	45	f	ASC	2	2.22	5	E. coli
9.	I.I.	27	f	ASC	3	2.33	10	?
10.	M.I.	35	f	ASC	3	4.53	7	?
11.	T.S.	28	f	ASC	20	33.3	29	E. coli
12.	Y.Y.	45	f	ASC	2	108.3	5	?
13.	K.F.	48	f	ASC	7	666.7	13	E. coli
14.	T.M.	37	f	ASC	10	1200	20	E. coli
15.	H.N.	44	f	ASC	3	1250	6	E. coli
16.	M.F.	53	f	ASC	5	2250	12	?
17.	M.S.	31	f	ASC	2	2333	8	E. coli
18.	Y.H.	37	f	ASPN	3	0.44	8	?
19.	T.I.	33	f	ACPN	4	1	11	?

* ASC : Acute Simple Cystitis, ASPN : Acute Simple Pyelonephritis,
ACPN : Acute Complicated Pyelonephritis

Figure 6 Relation between Urinary SIgA Level and Course of U.T.I.

としては急激な response を認め、尿所見が正常化してゆくと共に、GNB, *P. aescuinosa* が尿培養で陽性であるにも拘らず低値のまま経過し、その後培養でも菌の陰性化をみた例である。一方、尿道外傷のため尿道形成術を

うけ、カテーテル留置中の慢性複雑性膀胱炎例（図7）では、*P. aeruginosa* 10^6 level の感染成立後10日目で1,000 μ g/dl の peak を示し、菌の陰転化と共に4日目で旧値に復した。このうち、*Enterobacter*, *P. aeruginosa*

図10 Relation between Urinary SIgA Level and Course of U.T.I.

による再感染後8日目で5,200 μ g/dlの強いresponseを認め、4日目で200 μ g/dl前後と、この患者の正常levelと思われる値に戻った。この時点では、菌は陰性化していたが、pyuriaは存続していた。図8は、前立腺摘除後の尿路感染症であるが、*Klebsiella*, *S. epidermidis*による感染成立後4日目で4.6mg/dlの鋭いpeakを示し、以降4日目で一端下降していたSIgA値は再び2mg/dlまで上昇し、その後10日で正常levelに復した。しかし、pyuriaは存続しつづけ、感染準備状態のためか、検討末期には再び高値となつた。神経因性膀胱を基疾患とする慢性複雑性膀胱炎(図9)では、入院中は常に*Klebsiella*が10⁷以上のlevelで分離されており、SIgA値も1~2mg/dlの間を変動していた。しかし、退院後残尿の著減と尿路感染症の消失と共に、200 μ g/dlとpeak時の1/10まで減少した。このSIgA値の低下傾向は、すでに入院中の感染を伴った時期から推測しえた。最後に、膀胱癌のため両側尿管皮膚瘻術施行患者の右腎尿を用いた慢性複雑性腎盂腎炎例での検討(図10)では、*P. aeruginosa*, *Enterobacter* 10⁶の混合感染、または*Serratia* 10⁷以上の感染から10日目で170 μ g/dlのpeakを認めたが、速やかに旧値へと下降した。この時点でも、*Serratia*, *Enterobacter*は存続したままであつた。

表3は、以上をまとめたものである。SIgA値のpeak時と正常levelの比は、概ね10倍前後で、極端なhigh responseは1感染(No. 1の第2感染)に認めたのみであつた。また、発症からpeakまでの期間は3~14日間(平均6.9日間)、peakから正常levelへ復するまでが2~10日間(平均4.3日間)と、立ちあがりよりもreturn

の方が急峻であることがうかがいえた。また、No. 3の2つの感染、No. 2, 5では、SIgAのnormalization時に、尿所見は正常化しておらず、感染の治癒に先行してSIgA値が正常化する例も存在することを確認できた。

次いで、58歳女性の腎細胞癌例での、手術前後の尿中SIgA値とIgG値の変動を追つた(図11)。尿路感染による影響のためか、術前のSIgA値は、2.1mg/dayから1.8mg/dayへと変動していたが、患側の左腎動脈の塞栓術後6日目で4.8mg/dayのpeakをとり、一旦下降後、再び腎摘出直後に6.2mg/dayの強いpeakを示したが、術後4日目から急激に低値となり、以降500 μ g/dayを越すことなくlow levelで経過した。術後1年2ヵ月余の現在も、やはり800 μ g/dayと低値であつた。尿中IgG値も、ほぼSIgAと同じような変動を示した。この間、MIF以外にはcell-mediated immunity markerに大きな変動はなかつた。

3) 腫瘍組織内のSIgA局在について

図12は、腎細胞癌の第1例(T₄N₂M₁)の非腫瘍部分の組織であるが、図の左側のnormal rabbit serumを用いたcontrolに比して、尿細管細胞のcytoplasm内にdark brownのSIgAのかなり強いspotを認めた。なお、他の部分も含め、慢性腎盂腎炎を示唆する円形細胞浸潤などの所見はみられなかつた。一方、腫瘍部分(図13)では、大小不同の核を有する癌細胞のcytoplasm内にも同様のspotを証明しえた。次いで、第2例目の腎細胞癌例(T₃N₂M₀G₂V₀)では、全体は腎動脈塞栓術のため広範な壊死となつていたが、腫瘍部分(図14)では、左のcontrolに比して、癌細胞内にSIgAの強い

表3 Relation between Urinary SIgA Level and Course of U.T.I.

(Summary)

2) Chronic Urinary Tract Infections

No.	Patient , Diag				Days from onset to peak	at peak/at return of SIgA value	Days from peak to return	Urinalysis at return	Infected organism
1	J.M.	66	m	CCU	6	5.4	2	?	GNB P.aerug.
					5	533	4	Normal	GNB P.aerug.
2	K.T.	69	m	CCC	?	2.9	7	* Normal	GNB P.aerug.
3	M.K.	26	m	CCC	10	5	4	Abnormal	P.aerug.
					8	26	5	Abnormal	P.aerug. Enterobacter
4	T.M.	72	m	CCC	6	7.1	2	?	P.aerug. Enterobacter S.epider.
5	T.M.	81	m	CCC	6	10.7	7	* Normal	Klebsiella S.faecalis
6	T.F.	77	m	CCC	4	13.5	10	Normal	Klebsiella
7	T.O.	56	f	CCC	3	15.6	1	Normal	GNB
8	M.T.	62	m	CCPN	14	5	2	?	P.aerug. Enterobacter

- 1) CCU : Chronic Complicated Urethritis.
CCC : Chronic Complicated Cystitis.
CCPN : Chronic Complicated Pyelonephritis.
2) * Nomal : Urinalysis turned to normal at that time.

図11 Renal tumor, and its Effect to the Level of U-SIgA & Cell-Mediated Immunity

spot を認めた。別の部位では、図15のようにリンパ球の侵潤を認め、この周辺にも強く SIgA の存在を証明した。さらに強拡大にすると、リンパ球表面に分布する部分(図16)と、リンパ球周辺部にむしろ強く染色される部分(図17)とが、認められた。第3例 (TxNxMxGxVx pT2) でも、癌細胞内に強い SIgA の染色性を証明した(図18)。一方、図19の膀胱癌例 (TxNxMx pT3GxLx) で

は、腎細胞癌の場合よりさらに強く、乳頭状の上皮細胞内に SIgA が分布していた。しかし、睪丸腫瘍例(Sertoli 細胞腫)では、全く control と同じで、SIgA 分泌を示唆する像は得られなかった(図20)。

考 察

分泌型 IgA (Secretory IgA, SIgA) は、2分子の IgA に Secretory Component (SC) 1コと I-chain 1コが結

図12 Case 1 of Renal Cell Carcinoma

図13 Case 1 of Renal Cell Carcinoma

図14 Case 2 of Renal Cell Carcinoma

図15 Case 2 of Renal Cell Carcinoma

図16 Case 2 of Renal Cell Carcinoma

図17 Case 2 of Renal Cell Carcinoma

図18 Case 3 of Renal Cell Carcinoma

図19 Case of Bladder Cancer

図20 Case of Testicular Tumor

合した形をしており、血清 IgA とは、その由来、機能を異にしている^{1) 3) 13) ~23)}。つまり SIgA は、唾液・胃腸液などの外分泌腺中の主要な免疫グロブリンとして、体の第一線防禦機能を果していると考えられている。一方、尿中にも SIgA の存在が証明され^{24) 25)}、その後主として尿路感染症との関わりという観点から、いくつかの報告がなされてきた。即ち、Jodal ら²⁶⁾は、尿路感染症時には、尿中免疫グロブリン値が約5倍になることを認め、Burdon⁵⁾も、IgG, IgA, Albumin, Siderophilin の clearance 値の上昇を証明している。また、Uehling & Steihm⁶⁾は、小児の感染例で SIgA 値の高値を認め、Kaufman ら⁷⁾も、同じく小児例で、非感染時の SIgA 値 0.78mg/day が感染に伴って 3.3mg/day に上昇したと報告している。しかし、いずれの報告でも、測定方法として、100~1,000倍程度の濃縮尿を検体とした SRID (Single Radial Immunodiffusion) 法を用いており、

操作上の煩雑さともあいまって、測定誤差を生じる一因ともなっている。また、個々の報告者間で用いる抗体も異なっており、一元的に比較するのは困難であつた。著者の使用した Enzyme-linked Immunosorbent Assay (E.L.I.S.A.) 法は、SIgA で 1μg/dl から 10mg/dl の間の測定範囲と、ほぼ尿中濃度を cover する感度を有し、尿の濃縮も殆んど不要で、操作も簡便という利点を持っていた。なお、今回の検討で使用した抗体は、前報で検討した結果^{8) 9)}に基づいて、anti SC を用いた。これは、Uehling & Steihm⁶⁾と同じであり、混在する FSC を含めて測定することとなるが、臨床的に SIgA 値の多少を論ずるには十分と思われた。また、試料尿として都度尿を用いたが、これは、著者の従来からの検討材料が都度尿であり、比較するのに便利であつたこと、腎尿や膀胱尿などの分離尿を用いた検討を必要とする場合があり、1日尿の採取が困難であること、外来患者からの採

取が便利であることなどの理由によつた。しかし、従来の他の報告^{4)~7)}では、SRID 法のためもあるが、多くは1日尿の1部で測定していること、前報の結果⁹⁾からも SIgA 分泌には、感染前状態の患者で約12時毎の相当量での日内変動を認めたこと、また尿の濃縮・希釈の影響など、都度尿を用いた検討にも問題が多いことも事実である。著者の preliminary な実験結果からは、同一患者での、1日尿の1部の連日測定値も、採取時間を一定にした都度尿での連日測定値も、各々ではほぼ同一に近い値をとることが、わかつており、SIgA 値の多少は都度尿でも十分に検討できると考えられた。しかし、上記の諸点を考慮して、都度尿採取時には極力一定時間（今回は午前10時）に行なうように努めた。なお、こうした一定時間の「濃度」と「1日分泌量」のいずれが、尿路の免疫反応をより正しく反映しているかという問題や、適当な物質で測定値を補正する問題などについては、さらに今後の検討を必要としよう。

まず、尿路疾患各群毎の平均 SIgA 値での検討では、急性膀胱炎の回復期、慢性膀胱炎の代表的基疾患である神経因性膀胱例の特に感染を合併した時期に、極端な高値を示した。その値は、正常レベルの3.6倍から22倍までにわたり、Uehling & Steihm⁶⁾ の報告にある、慢性再発性尿路感染症小児の男性例 4.6mg/day、女性例 610 µg/day、Kaufman ら⁷⁾ の 3.3mg/day と大差のない値であつた。一方、上部尿路感染症では、むしろ低値をとる結果となつた。この原因としては、勿論採取時期が immune reaction を生じる前であつたかも知れないという問題もあるが、1つには SIgA の主要な分泌部位が下部尿路であり⁹⁾、reaction が生じなかつたこと、2つめには、分泌された SIgA が細菌に coat している可能性があり²⁷⁾、見かけ上 free の SIgA が低値を示したとも考えられた。事実われわれの酵素抗体法を用いた antibody-coated bacteria (ACB) の検討²⁸⁾でも、上部尿路感染症で(卅)を示したのは IgG と SIgA で、この点の傍証ともなつた。一方、尿路腫瘍群では、tumor free となるとともに、術前値の1/2~1/5に低下した。この点についての解釈は、十分な例での検討がなされていないため明確な判断はできないが、tumor 細胞よりの分泌または tumor に触発されて近縁正常部分の response と考えられた。また、尿路結石群では、正常 level の1/8.5~1/17までの低い値を示したが、その機序は全く不明という他はない。しかし、これらの患者群の尿比重が特に低くなく、尿の希釈による影響とは考えにくく、

尿路結石生成因子が、SIgA 測定上の阻害物質となつている可能性、SIgA 分泌阻害の可能性などが考えられた。しかし、以上のような平均値での検討も、実際の分布図上で比較してみると、必ずしも明確な差とは言えず、正常 control でも測定値に大きなバラツキが認められ、この傾向は1日尿の1部を用いた測定でも同様であつた。このため、個々の患者の疾病の時期と SIgA 値の変動を追う必要性を感じ、その検討を行なつた。

尿路感染症のうち、急性症では各例毎の測定回数が必要しも多くなく、一定の制約はつくものの、先の平均値での検討結果と異なつて感染を伴つた時期に一致して SIgA の高値を認め、特に多くの下部尿路感染症での変動が目された。結果が異なつたのは、前の検討での採取時期に問題があつたのかもしれない。変動の程度は、low response の群と、回復後より1,000倍以上の高値を示した high response 群とにわけることができ、生体側因子として反応力の大小、感染菌の生体への攻撃力の強弱に差があるようであつた。また、感染極期に SIgA 値の low level を示す症例を認めたが、これは1つには多飲・多尿による見かけ上の low level とも考えられた。しかし、先述の ACB の検討では、通常下部尿路感染症では陰性と報告²⁷⁾²⁹⁾³⁰⁾が多いにも拘らず、われわれの検討結果²⁸⁾によれば SIgA のみ陽性所見を示し、この時期に細菌に coating している可能性を示唆した。次いで、慢性症での検討では、大部分入院患者尿を用いたこともあつて、頻回に採尿ができ、殆どどの例で感染症発症前の状態から測定できた。この結果、急性症の high response 群ほどではないが、非感染時に比して約10倍程度の反応を認めた。急性症と異なり、慢性腎盂腎炎例でも反応があつたのが注目された。また、感染成立から SIgA 値の peak までの期間が、peak から旧値へ復するまでの期間より長かつたこと、同一菌種による再燃例と SIgA の再度の response という例もあつて、immune memory の乏しいという local immunity の特徴的な所見²²⁾³¹⁾が認められた。さらに、検尿や細菌培養で依然として異常の認められる時期に、SIgA 値が正常 level へ復する傾向を示した症例も散見され、一定の例では尿路感染症の経過を追う marker として、SIgA が使用できうることも示唆された。

1例の腎細胞癌での経過観察では、初期の尿路感染症のある時期からやや下降し始め、腫瘍への feeding artery の塞栓術後、腎実質崩壊によるものと思われる SIgA の peak を示し、腎摘出術直後に再度高値を示した後、術

前値の約1/3以下に低下した。以前の検討⁹⁾では、全尿中 SIgA の腎における分泌割合は6.5%程度で、単なる片側摘出手術による分泌部位喪失ということにその減少の原因を求めるには無理があり、やはり腫瘍細胞からの分泌、または腫瘍抗原によつて触発された正常腎組織の high response と考えざるをえないようである。この患者は、術後1年2カ月を経て tumor free のまま健在であるが、現在も800 μ g/day と術直後の値から変動を示していない。一方、別の右腎腫瘍例での検討³²⁾でも、術前の右腎尿中の SIgA 値120 μ g/dl、左腎尿20 μ g/dl、膀胱尿190 μ g/dl、自排尿400 μ g/dl を示し、右腎尿の自排尿中に占める割合が30%と、対側の5%の実に6倍を占める結果を得ており、腫瘍患者においては、SIgA の尿路各部位での分泌比率に変動が生じていることを示唆した。

上記の腫瘍群における SIgA 値の変動を更に追求する手段として、手術時の摘出標本を用いて SIgA の局在を検討した。腎細胞癌例では、正常尿管細胞の cytoplasm 内にも SIgA を認める一方で、癌細胞内にも同様の spot を認めた。腎細胞癌が尿管細胞由来であると考え合わせると、腫瘍への分化過程で SIgA 分泌機能は保持され続けていると考えられる結果であった。また、腎実質内へ浸潤してきたリンパ球に一致して、SIgA の spot を証明した例もあり、腫瘍に反応して集合してきたリンパ球が IgA 産生能を持ち、局所で SIgA に合成されている可能性も示唆された。一方、膀胱癌では、その分泌量に比してか、強い SIgA の spot が癌細胞内に認められた。以上、尿路における上皮性腫瘍では、腫瘍細胞も SIgA 分泌能を保持していることをうかがわせた。しかし、非上皮性腫瘍である睾丸腫瘍例では、こうした所見は得られず、きわだつた差違を表した。

結 論

尿中分泌型 IgA (SIgA) の各種病態における反応を検討する目的で、種々な尿路疾患を対象として SIgA 値を測定し、さらに組織 level でその局在を検討した。SIgA の測定は、Peroxidase を marker とした Enzyme-linked Immunosorbent Assay (E.L.I.S.A.) 法の competitive reaction を用い、使用特異抗体は Anti SC、標準量には精製 SIgA (初乳由来) を使用した。また、組織内局在の検討には、酵素抗体法の間接法によつた。以上より得られた結論は以下のようであった。

1) 147例の尿路疾患別検討では、尿路感染症での response、腫瘍群での摘除後の low level、結石群での低

値が認められた。まず、感染症では、急性膀胱炎の回復期、神経因性膀胱、特に感染合併期に高値を示したが、逆に急性腎盂炎では反応が乏しかった。一方、腫瘍群では、腎、膀胱癌、前立腺肥大症共、術前値はほぼ正常 control と同じであつたが、tumor free になるとともに著減した。また、結石群では、結石の有無に拘らず低値のままであつた。

2) 主として尿路感染症患者尿を用いて、感染経過と経日的な SIgA 値の変動を検討した。急性下部尿路感染症では、先の平均値での検討結果と異なり、大部分の例で感染期に高値を示し、それと回復後の値との比率は、10倍以上の low response 群と、1,000倍にも及ぶ high response 群とに大別できた。この差と原因菌、発症から来院までの日数、治癒までの日数とは、特に関係を認めなかつた。一方、急性上部尿路感染症では、殆んど反応は認められなかつた。慢性尿路感染症での検討では、やはり下部尿路感染症で強い反応を示したが、腎盂腎炎例でも低値ながら約10倍程度の response を証明した。また、感染成立から SIgA 値の peak までの期間が、peak から旧値へ復するまでの期間より長かつたこと、同一菌種による再燃と再度の SIgA の反応など、local immunity の特色として immune memory の乏しさも示唆した。さらに、SIgA 値の正常化が、感染消失以前に認められる例もあり、感染経過の marker ともなりうる例が散見された。1例の腎細胞癌例での経過観察では、術前値1.8mg/day であつた分泌量が、embolic infarction, nephrectomy の結果、急激な反応を伴つたのち、術後には約1/3の500 μ g/day、1年後も800 μ g/day へと減少した。

3) 3例の腎細胞癌、1例の膀胱癌、1例の睾丸 Sertoli 細胞腫の組織を用いて、酵素抗体法で SIgA の局在を検討すると、上皮性腫瘍の腎、膀胱癌では正常上皮内の他、癌細胞の cytoplasm 内及び浸潤したリンパ球近辺に SIgA の spot を認めた。一方、睾丸腫瘍では、こうした所見は得られなかつた。先述の SIgA 値の変動結果と合わせて考えると、尿路の上皮性腫瘍群では、腫瘍細胞そのものが SIgA 分泌能を保持している可能性、または腫瘍抗原という刺激によつて正常部分が high response を起している可能性が示唆された。

稿を終るにあたり、研究の機会を与えられ、終始御援助・御助言をたまわりました恩師西浦常雄教授、並びに河田幸道助教授に深甚の謝意を表します。また、種々御協力をいただきました教室員各位に感謝いたします。

本論文の要旨は、第64回日本泌尿器科学会総会(1976

年, 鹿児島), 第24回日本化学療法学会総会(1976年, 東京)並びに, 第17回国際泌尿器科学会(1976年, Johanesburg)において発表した。

なお, 本研究の一部は, 文部省科学研究費(No. 137054, 尿路癌の免疫学的研究, 代表者: 西浦常雄)によつてなされたことを付記する。

文 献

- 1) Tomasi, T.B. Jr. and Grey, H.M.: Structure and function of Immunoglobulin A. *Progr. Allergy*, **16**, 81—213, 1972.
- 2) Waldman, R.H. and Ganguly, R.: The immunoglobulin A system, p. 283, Plenum Press, New York and London, 1974.
- 3) Burdon, D.W.: *Urinary Tract Infection*, p. 148, Oxford University Press, London, 1973.
- 4) Bienenstock, J. and Tomasi, T.B. Jr.: Secretory γ A in normal urine. *J. Clin. Invest.*, **47**, 1162—1172, 1968.
- 5) Burdon, D.W.: Quantitative studies of urinary immunoglobulins in hospital patients, including patients with urinary tract infection. *Clin. Exp. Immunol.*, **6**, 189—196, 1970.
- 6) Uehling, D.T. and Steihm, E.R.: Elevated urinary secretory IgA in children with urinary tract infection. *Pediatrics*, **47**, 40—46, 1971.
- 7) Kaufman, P.B., Katz, R. and McIntosh, R.H.: Secretory IgA in urinary tract infections. *Brit. Med. J.*, **4**, 463—465, 1970.
- 8) 栗山 学: E-L.I.S.A. 法による尿中免疫グロブリンの測定. *日泌尿会誌*, **70**, 228—234, 1979.
- 9) 栗山 学: 尿中分泌型 IgA の研究 [I] 尿路における局在性について. *日泌尿会誌*, **70**: 1129—1141, 1979.
- 10) 向島 達, 服部 信, 石津 勉, 栗山 学, 本間智恵子: Enzyme-linked Immunoassay 法による免疫グロブリン (IgG) の測定. *医学のあゆみ*, **91**, 207—208, 1974.
- 11) Nakane, P.K. and Pierce, G.B. Jr.: Enzyme-labelled antibodies; Preparation and application for the localization of antigens. *J. Histochem. Cytochem.*, **14**, 929—931, 1967.
- 12) Nakane, P.K. and Pierce, G.B. Jr.: Enzyme-labelled antibodies for the light and electronmicroscopic localization of tissue antigens. *J. Cell Biol.*, **33**, 307—318, 1967.
- 13) Chordirker, W.B. and Tomasi, T.B. Jr.: Gammaglobulins; Quantitative relationships in human serum and nonvascular fluids. *Science*, **142**, 1080—1081, 1963.
- 14) Tomasi, T.B. Jr., Tan, E.M., Solomon, A. and Prendergast, R.A.: Characteristics of an immune system common to certain external secretion. *J. Exp. Med.*, **121**, 101—125, 1965.
- 15) Crabbé, P.A. and Heremans, J.F.: The distribution of immunoglobulin cells along the human gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, **51**, 305—316, 1966.
- 16) Butler, W.T., Rossen, R.D. and Waldman, T.A.: The mechanism of appearance of immunoglobulin A in nasal secretion in man. *J. Clin. Invest.*, **46**, 1883—1893, 1967.
- 17) Newcomb, R.W., Normansell, D. and Stanworth, D.R.: A structural study of human exocrine IgA globulin. *J. Immunol.*, **101**, 905—914, 1968.
- 18) Brandtzaeg, P.: Glandular secretion of immunoglobulins. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **74**, 624, 1968.
- 19) Rossen, R.D., Morgan, C., Hsu, K.C., Butler, W.T. and Rose, H.M.: Localization of 11S external secretory IgA by immunofluorescence in tissue lining the oral and respiratory passage in man. *J. Immunol.*, **100**, 706—717, 1968.
- 20) Tomasi, T.B. Jr.: Secretory immunoglobulins. *N. Eng. J. Med.*, **287**, 500—506, 1972.
- 21) Ogra, P.L., Bernstein, J.M., Yurchak, A.M., Coppola, P.R. and Tomasi, T.B. Jr.: Characteristics of secretory immune system in human middle ear; Implication in otitis media. *J. Immunol.*, **112**, 488—495, 1974.
- 22) 小林邦彦: IgA の機能と構造. *最新医学*, **32**, 427—438, 1977.
- 23) 細田四郎, 馬場忠雄, 安芸宏信: 腸管の Secretory IgA dimer の産生機序とその異常. *日本臨床*, **61**, 1637—1644, 1977.
- 24) Tomasi, T.B. Jr. and Zigelbaum, S.: The selective occurrence of γ -A globulins in certain body fluids. *J. Clin. Invest.*, **42**, 1552—1560, 1963.
- 25) Turner, M.W. and Rowe, D.S.: Antibodies of IgA and IgG class in normal human urine. *Immunology*, **12**, 689—699, 1967.
- 26) Jodal, U., Hanson, L.A., Holmgren, J. and Kaijser, B.: Studies of antibodies and immunoglobulin levels in urine from children with urinary tract infections caused by *E. coli*. *Acta, Pediat. Scand.*, (Supple) **206**, 78—79, 1970.
- 27) Thomas, V., Shelokov, A. and Forland, M.: Antibody-coated bacteria in the urine and the site of urinary tract infection. *N. Eng. J. Med.*, **290**, 588—590, 1974.
- 28) 栗山 学, 堀江正宣, 蟹本雄右, 河田幸道, 西浦常雄: 酵素抗体法による antibody-coated bacteria の検出. *臨床免疫*, **10**, 887—892,

- 1978.
- 29) Jones, S.R., Smith, J.W. and Sanford, J.P.: Localization of urinary tract infection by detection of antibody-coated bacteria in urine sediment. *N. Eng. J. Med.*, **290**, 591—593, 1974.
- 30) 蟹本雄右, 栗山 学, 波多野絨一, 河田幸道, 西浦常雄: 尿中 antibody-coated bacteria の意義について. 第65回日本泌尿器科学会総会(演), 日泌尿会誌, **68**, 879, 1977.
- 31) Ogra, P.L. and Karzon, D.T.: The secretory immunoglobulin system. *The Secretory Immunologic System, Proc. Conf. Secretory Immune System*. 1969. US Dept. Health Education Welfare, NIH., 1971.
- 32) 栗山 学: 未発表.

(1979年4月10日受付)