慢性血液透析患者の血清 immunosuppressive acidic protein 値

曾 和 信 正 松 島 宗 弘 森 本 泰 介 安 田 和 弘
 澤 西 謙 次 野 田 春 夫* 岡 田 茂 樹* 浜 田 勝 生*
 宮 崎 重* 上 山 秀 麿**

京都大学人工腎臓部 大阪医科大学泌尿器科* 京都市立病院泌尿器科**
 (平成 1 年 1 月 27 日受付)

key words : cell-mediated immunity, chronic hemodialysis patients, immunosuppressive acidic protein (IAP), monoclonal antibody, T cell subset

〈要旨〉

血液透析導入前より導入後 1 年までの慢性腎不全患者 160 例を対象として、血清 IAP 値、血清免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM) 値、PHA および Con A による末梢血リンパ球の幼若化能およびモノクローナル抗体を用いた末梢血リンパ球 subset の解析を行った。なお健常者 31 例を対照群とした。

慢性腎不全患者群の血清 IAP 値は血液透析導入前では $717 \pm 49 \mu\text{g/ml}$ であり、対照群の $424 \pm 51 \mu\text{g/ml}$ に比し有意に ($P < 0.001$) 高値であったが、血液透析導入後次第に低下し導入後 4 か月では $509 \pm 39 \mu\text{g/ml}$ で対照群との間に有意差は認められず、以後 1 年目まで著明な変動は認められなかった。

慢性腎不全患者の血清免疫グロブリン (IgG・IgA・IgM) 値は、血液透析導入前後において有意の変動は認められず、対照群との間にも有意差は認められなかった。また血清 IAP 値と血清 IgG・IgA・IgM 値の間には有意な相関は得られなかった。

血清 IAP 値と細胞性免疫能との関係を見ると、血清 IAP 値と T cell mitogen による末梢血リンパ球幼若化能とのあいだには有意な負の相関関係を認めたが、OKT-4/OKT-8 陽性細胞比との間には有意な相関は認められなかった。

これらの結果から、慢性腎不全患者において、血液透析導入による血清 IAP 値の低下と細胞性免疫能との関連性が示唆された。

Serial changes in serum immunosuppressive acidic protein in chronic hemodialysis patients

Nobumasa Sowa, M. D., Munehiro Matsushima, M. D., Taisuke Morimoto, M.D., Kazuhiro Yasuda, M. D., Kenji Sawanishi, M. D., Haruo Noda, M. D.*, Shigeki Okada M. D.*, Katsuo Hamada, M. D.*, Shigeru Miyazaki, M. D.*, Hidemaro Ueyama, M. D.**

Division of Artificial Kidney, Kyoto University ; Department of Urology, Osaka Medical College* ; Department of Urology, Kyoto City Hospital**

We studied levels of serum immunosuppressive acidic protein (IAP), serum immunoglobulin levels (IgG, IgA, IgM). Mitogen-induced blastoid formation and subsets of peripheral blood lymphocytes in 160 patients with chronic renal failure not yet treated with intermittent maintenance hemodialysis or under treatment with hemodialysis and healthy control volunteers.

Phytohemagglutinin (PHA) and concanavalin A (Con A) were used as nonspecific T cell mitogens. Monoclonal antibodies conjugated with fluorescence isothiocyanate and specific for helper/inducer T cells (OKT-4) or suppressor/cytotoxic T cells (OKT-8) were used to analyze the stained cells.

Serum IAP levels in the patients not yet on hemodialysis and in the controls were $717 \pm 49 \mu\text{g/ml}$ and $424 \pm 51 \mu\text{g/ml}$ respectively, a significant difference. Mean serum IAP decreased after the first hemodialysis therapy

曾 和 信 正 京都大学人工腎臓部
 〒 606 京都市左京区聖護院川原町 54 (075-751-3641)

reaching $509 \pm 39 \mu\text{g/ml}$ at 4 months after the initial therapy. A level not significantly different from the

controls. Thereafter serum IAP showed little change during the period of the observation until one year after the first hemodialysis treatment.

Serum IgG, IgA and IgM levels did not change significantly from the first hemodialysis to the end of the period of observation and were not significantly different from control levels. There was therefore no relationship between levels of serum IAP and serum IgG, IgA or IgM in patients with chronic renal failure. There was a relationship between serum IAP level and T-cell activity expressed in terms of response to one of the mitogens. But there was no relationship between serum IAP level and the OKT-4 to/OKT-8 ratio in these patients.

These results suggest that cell-mediated immunity in patients with chronic renal failure improves as serum IAP decreases after intermittent maintenance hemodialysis is started.

緒言

近年、担癌宿主の血清や腹水中には各種免疫応答系を著しく抑制する酸性蛋白が見い出され、immunosuppressive acidic protein (IAP) と名付けられている。IAP は癌患者のみでなく、慢性腎不全患者の血清中でも高値を示すことが報告されている。一方、慢性腎不全患者では易感染性が認められ免疫能が低下していると言われていたが、ツベルクリン反応に代表される遅延型皮膚反応の低下および移植片生着期間の延長などが認められることから、特に細胞性免疫能の低下が示唆されている。そこで、我々は 160 例の慢性腎不全患者を対象として血清 IAP 値と液性および細胞性免疫能との関連性について検討した。

対象および方法

京都大学人工腎臓部、大阪医科大学泌尿器科およびそれぞれの関連施設で血液透析導入が予想される慢性腎不全患者および導入後 1 年以内の患者のうち、基礎疾患に慢性糸球体腎炎を有し、感染症および悪性腫瘍に罹患しておらず、また免疫能に影響を与えるとされている薬剤の投与を受けていない患者 160 例（男 96，女 64）を本研究の対象とした。患者の年齢は 26 歳より 80 歳。平均は 53.9 歳であった。なお、正常な腎機能を有する者 31 例（男 20，女 11）を対照群としたが、その年齢は 20 歳から 76 歳、平均 50.1 歳であって、患者群と対照群との間で年齢に有意差は認められなかった。

方法

検査に用いた血液は透析患者では血液透析の開始直前に採取した。また透析導入前の患者および対照群では透析患者とはほぼ同時刻に採取した。

1. 血清 IAP 値の測定

抗 IAP ヤギ血清含有寒天板を用いた single radial immunodiffusion 法で被検血清 5 μ l を添加し、37°C、48 時間の incubation 後、IAP 濃度を判定した。なお検量線は測定日ごとに作成した。

2. 血清 IgG・IgA・IgM 値の測定

抗 IgG・抗 IgA・抗 IgM 血清 (Beckman 社) を用

図 1 Induction of blastoid formation with mitogens and counting

い、Nephrometry にて測定した。

3. リンパ球幼若化能の測定

ヘパリン加末梢血から比重遠沈法によってリンパ球を採取しリン酸緩衝液 (PBS) にて洗浄した後、10%牛胎児血清を含む HEPES 加 RPMI 1640 培養液を用いてリンパ球数を 5×10^5 個/ml に調整した。次に、この細胞浮遊液を Falcon 社製 microtestplate II に 1 well あたり 200 μ l ずつ分注し、PHA 反応では Pharmacia Fine Chemical 社製 PHA-P を 1 well に 1 μ g, Con A 反応では同社製 Con A を 1 well に 5 μ g ずつそれぞれ添加した。37°C、5% CO₂ の条件下で PHA 反応では 72 時間、Con A 反応では 96 時間 incubate した後、³H-thymidine 1 μ Ci/well を加えて、さらに 24 時間 incubate した後リンパ球を harvest し、液体シンチレーションカウンター (The TRI-CARB 300C and 300 CD Liquid Scintilla-

図2 Lymphocyte population analysis with monoclonal antibodies (whole blood used)

tion System. Packard 社, Illinois. U. S. A.) で ^3H -thymidine の uptake を測定し, 3 検体の平均値をもって実験成績とした (図1)。

4. モノクローナル抗体を用いたリンパ球 subset の測定

蛍光物質である fluorescein を結合させたモノクローナル抗体と全血とを氷冷下にて 30 分間 incubate し, NH_4Cl を主成分とする lysing reagent にて赤血球を破壊し, flow cytometer (Ortho-Spectrum III) を用いてリンパ球 5,000 個以上を測定した。モノクローナル抗体としては Ortho Pharmaceutical 社製 OKT series で helper/inducer cell を標識する OKT-4, suppressor/cytotoxic cell を標識する OKT-8 を用いた (図2)。

結果

以下に記す実験成績の数値は mean $\pm$ SEM によって示し, 有意差検定には Student t test を用いた。

1) 血清 IAP 値

血清 IAP 値は, 血液透析導入前の慢性腎不全患者群では $717 \pm 49 \mu\text{g/ml}$ であり, 健常群の $424 \pm 25 \mu\text{g/ml}$ に比し有意に ($P < 0.001$) 高かった。血液透析導入後は低下傾向を示し, 導入後 4 か月の患者群では $509 \pm 39 \mu\text{g/ml}$ で, 対照群との間に有意差は認められず, 以後導入 1 年まで著明な変動は認められなかった (図3)。

2) 血清 IgG 値

血清 IgG 値は, 血液透析導入前の慢性腎不全患者群では $1038 \pm 69 \text{ mg/dl}$ であり, 対照群の $1469 \pm 96 \text{ mg/dl}$ に

図3 Changes in serum concentration of IAP

図4 Changes in serum concentration of IgG

比し有意に ($P < 0.001$) 低かった。しかし導入 2 週間後より上昇し, 導入 2 か月では $1420 \pm 148 \text{ mg/dl}$ となり, 対照群との間に有意差は認められず, 以後導入 1 年後まで著明な変動は認められなかった (図4)。

3) 血清 IgA 値

血清 IgA 値は, 僅かながら低値の傾向がみられたが, 慢性腎不全患者のいずれの時期においても対照群の $254 \pm 84 \text{ mg/dl}$ との間に有意差は認められなかった (図5)。

4) 血清 IgM 値

血清 IgM 値も, 慢性腎不全患者のいずれの時期においても対照群の $114 \pm 51 \text{ mg/dl}$ との間に有意差は認められなかった (図6)。

5) 慢性腎不全患者における血清 IAP 値と血清 IgG・IgA・IgM 値との関係

血清 IAP 値と血清 IgG・IgA・IgM 値の間には有意な相関関係は認められなかった (図7)。

6) 慢性腎不全患者における血清 IAP 値と末梢血リンパ球幼若化能との関係

血清 IAP 値と PHA および Con A による末梢血リンパ球幼若化能との間にはそれぞれ有意な負の相関関係 ($r = -0.6672$, $r = -0.5629$) を認めた (図8, 9)

図 5 Changes in serum concentration of IgA

図 6 Changes in serum concentration of IgM

7) 慢性腎不全患者における血清 IAP 値と OKT-4/OKT-8 陽性細胞比との関係

血清 IAP 値と OKT-4/OKT-8 陽性細胞比との間には有意な相関は認められなかった (図 10)。

考察

慢性腎不全患者においては従来から感染症の発生頻度が高いことが知られており、現在においても、慢性腎不全患者の死亡原因として感染症が上位を占めている。従って、慢性腎不全患者の免疫能の正確な評価と、それにかかわる因子の解析は予後の改善のために重要であると考えられる。慢性腎不全患者における免疫能の低下は、遅延型皮膚反応陽性率の低下¹⁾、移植片生着期間の延長²⁾、結核や癌の罹患率が高いこと^{3,4)}などが認められていることから、主に細胞性免疫能の低下によるものと考えられている。一方、慢性腎不全患者の免疫能の低下にかかわる因子としては、低栄養状態、血清中の免疫抑制物質、体液バランスの異常、透析回路から溶出する免疫抑制物質⁵⁾など種々のものがあげられている。

IAP は、in vitro においては、mitogen に対するリンパ球幼若化反応の抑制作用^{6,7)}、リンパ球混合培養反応の抑制作用³⁾、また in vivo では遅延型アレルギー反応の抑制作用⁷⁾、液性抗体産生の抑制作用⁹⁾、suppressor T 細胞の誘導作用¹⁰⁾、腫瘍増殖促進作用¹¹⁾などを有していると

図 7 Relationship between serum IAP and serum IgG・IgA・IgM

報告されている。IAP の産出部位としては、ヒト末梢血中の細胞ではマクロファージと多核白血球が考えられており、培養肝細胞も IAP を産生することが報告されている。

玉置¹³⁾および石田ら¹⁴⁾は慢性腎不全患者で血液透析導入前の患者の血清 IAP 値は健常群に比し有意に高いことを報告している。今回の我々の測定においても、血液透析導入前の慢性腎不全患者群の血清 IAP 値は、健常群に比し有意に高く諸家の報告と一致していた。血液透析患者群の血清 IAP 値は、健常群に比し有意に高いとする報告¹⁵⁻¹⁷⁾が多いが、透析導入前後の血清 IAP 値の変動については、宮谷ら¹⁵⁾および宮井ら¹⁷⁾は有意差はないが導入後、やや低下傾向を認めたと報告している。今回の我々の測定においては、導入前の患者群では明らかに高値を示したが血液透析導入によって低下しており、血液透析導入後 4 か月の患者群と健常群との間には有意差は認められず、諸家の報告と一致した結果が得られた。IAP は分子量 59,000 の高分子蛋白⁹⁾であり、通常の血液透析

図 8 Relationship between serum IAP and activity of peripheral lymphocyte blastoid formation by PHA

図 10 Relationship between serum IAP and OKT-4/OKT-8 ratio of peripheral lymphocytes

図 9 Relationship between serum IAP and activity of peripheral lymphocyte blastoid formation by ConA

では除去されずにむしろ体内に蓄積されると考えられるが、今回の我々の成績で、導入後有意の低下がみられたことは、血液透析導入にともなう全身状態および尿毒症状態の改善によって血清 IAP 値が低下する可能性を示唆するものである。

以前に、著者は血液透析療法に導入した慢性腎不全患者の細胞性免疫能を末梢血リンパ球幼若化能および末梢血リンパ球 subset について経時的に測定し、導入後 2～3 か月の間に著明な改善を認めたことを報告した。今

回、慢性腎不全患者の血清 IAP 値と PHA および Con A による末梢血リンパ球幼若化能との関係を調べたところ、有意の相関関係が認められ、慢性腎不全患者の細胞性免疫能の低下に血清 IAP 値が関与している可能性が示唆された。

一方、慢性腎不全患者の液性免疫能は著変なしとする報告が多い。宮井ら¹⁷⁾は、血清 IAP 値と血清 IgG・IgA・IgM 値との間はいずれも有意の相関はないと報告し、宮井ら¹⁵⁾は、血清 IAP 高値の患者群では、血清 IgG・IgA・IgM 値の低下傾向が認められたと報告している。今回の我々の成績では、血清 IAP 値と血清 IgG・IgA・IgM 値との間には有意の相関関係は認められず、血清 IgG・IgA・IgM 値を透析歴別に調べた成績においても一定の傾向はみられなかった。すなわち、血液透析療法が慢性腎不全患者の液性免疫能に与える影響は少ないものと考えられる。

今回の我々の研究から、慢性腎不全患者の血清 IAP 値と細胞性免疫能との関連性が示唆されたが、今後は慢性腎不全患者の細胞性免疫能に与える血液透析療法の影響についてさらに詳細な検討が必要であると考えられる。

結語

1. 慢性腎不全患者の血清 IAP 値は、血液透析導入前は高値であったが導入後は低下し、血清 IAP が慢性腎不全患者の細胞性免疫能の抑制因子の一つとなっている可能性が示唆された。

2. 慢性腎不全患者の血清免疫グロブリン値は、血液透析導入前後で有意の変動は認められず、血清 IAP 値と

血清免疫グロブリン値との間にも有意の相関は認められなかった。

本文の要旨は第32回日本透析療法学会総会において発表した。

文献

- 1) 猪芳 亮, 稲本 元, 稲本伸子, 甘 慶華, 相沢 紘, 北本 清, 和田孝雄, 小川 勝, 山吉 亘, 加藤英夫：透析患者における遅延型皮膚反応の低下。腎と透析 3：333-339, 1977
- 2) Dammin G I, Couch N P, Murray I E：Prolonged survival of skin homograft in uremic patients. Ann NY Acad Sci 64：967-976, 1956
- 3) 稲本 元, 猪芳 亮：慢性透析患者結核症 10 例の臨床的検討。結核 56：117-122, 1981
- 4) 池之上昇平, 太田和夫：悪性腫瘍発生の頻度。臨床透析 11：1572-1578, 1988
- 5) 瀬川智一, 国頭一也, 佐多和子, 稲本 元：透析器材由来の免疫抑制。透析会誌 19：117-118, 1986
- 6) 石田名香雄, 田村啓二, 柴田芳実：免疫抑制酸性蛋白の症状と癌患者における検出意義。医学のあゆみ 115：423-433, 1979
- 7) 佐藤 真, 山崎忠光, 菊嶋慶昭, 白沢光太郎, 堀江健司, 鈴木正明, 望月智行, 市川純二, 奥山輝之, 辻本安雄, 城所働：胃癌患者における術前, 術後の免疫抑制酸性蛋白 (IAP) と各種免疫指標の関連について。癌と化学療法 8：1053-1059, 1981
- 8) 宮本 宏, 井上勝一, 村尾 誠：肺癌疾患における血清中の免疫抑制酸性蛋白 (IAP) 測定の意義について。診療と新薬 17：2854-2859, 1980
- 9) 松田好史, 本木広昭, 北目文郎, 石田名香雄：癌患者血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の症状と免疫抑制活性。医学のあゆみ 105：154-157, 1978
- 10) 柴田芳実, 田村啓二, 上永吉敏, 渡部寿夫, 石田名香雄：癌患者血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) について III. IAP による癌増殖促進作用。日本免疫学会総会 9：189-190, 1979
- 11) 柴田吉実, 田村啓二, 土屋 滋, 石田名香雄：癌患者血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) について III. IAP による癌増殖促進作用。日本免疫学会総会 9：189-190, 1979
- 12) Shibata Y, Tamura K, Ishida M：Cultured human monocytes, granulocytes and monoblastoid cell line (THP-1) synthesize and secrete immunosuppressive acidic protein (a type of α -acidic glycoprotein). J Immunol (submitted.)
- 13) 玉置俊晃：IAP の問題点。腎不全患者の IAP 値について。西日泌尿 45：207-306, 1982
- 14) 石田美久, 東間 紘, 伊藤克巳, 太田和夫：各種腎疾患における血中免疫抑制酸性蛋白 (IAP) 濃度と易感染性との関連について。腎と透析 19：77-80, 1985
- 15) 宮谷和男, 普天間新生, 中村伸也, 加藤克巳, 沢木二：血液透析患者における免疫抑制酸性蛋白濃度の推移と意義。腎と透析 20：69-72, 1986
- 16) 酒本貞昭, 塵岡 寛, 上村才司, 福井博義, 緒方二郎：血液透析患者における免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の検討。医学のあゆみ 123：869-870, 1982
- 17) 宮井美和, 西川 治, 宮井利彦, 湯川 進, 野本 拓, 奥田林三郎, 西出 巖：慢性血液透析患者の血清 immunosuppressive acidic protein (IAP) 濃度。腎と透析 18：39-42, 1985
- 18) 曾和信正：血液透析療法に導入した慢性腎不全患者における細胞性免疫能の経時的変化に関する研究。透析会誌 20：975-984, 1987