D-penicillamine のリンパ球表面抗原に及ぼす影響

小野田卓男・三井忠夫・藤村圭祐・丹羽滋郎*, 小林枉樹・岸 孝彦・浅沼春樹**

Effect of D-penicillamine on the lymphocyte surface antigen
 Takuo Onoda・Tadao Mitsui・Keisuke Fujimura・
 Shigeo Niwa*, Masaki Kobayashi・Takahiko Kishi・
 Haruki Asanuma**

われわれは、各種抗リウマチ剤が慢性関節リウマチ(RA)患者の末梢血、関節液中のリンパ球表面抗原に及ぼす影響を調べるために、D-penicillamine (D-PC), sodium aurothiomalate (SA), 非ステロイド性消炎沈痛剤(非ス剤)の投与薬剤別症例について検討した。またD-PCが直接リンパ球に及ぼす影響を調べるために正常人リンパ球を用いた実験を行った。

材料と方法

classical または definite RA 35 例の末梢血リンパ球と同一症例の関節液リンパ球30例および手術時採取した滑膜中のリンパ球5例を用いた。対照としては、年齢分布を一致させたOA 13 例の末梢血リンパ球を用いた。投与薬剤は、D-PC 11例、SA 15 例、非ス剤のみ投与例9 例であった。なお、投与薬剤に6 カ月以上継続して投与の症例で臨床的に投与薬剤が有効と認められた症例であった。

方法は、末梢血リンパ球はスペクトラムⅢによる全血法で、関節液および手術時採取した滑膜はリンパ球を抽出後、同様にスペクトラムⅢにて検討した。

D-PC による影響を調べた実験は、健康人3 人の末梢血より Ficoll-Conray 比重遠心法によってリンパ球を分離¹⁾、PBS で洗浄後10% FCS を加えた RPMI 1640 中にリンパ球を $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し、その 1 ml を Falcon culture plate に分注した。D-PC の濃度は、浜井ら²⁾の報告を参考とし 30, 60, 125, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように溶解し使用した。mitogen は、PHA-P 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を用いた。培養は、5% CO₂ ふらん器内で 37°C 24 時間培養後 PBS で洗浄、反応を停止させたのちスペクトラムⅢにて OKIa 1 抗体を用いて Ia 様抗原陽性細胞数を検討した。

結 果

OKT 3, 4, 8 は、D-PC SA 剤投与例が非ス剤、OA 例よりも高い比率を示した(図1)。

Ia 様抗原陽性細胞の比率は、末梢血リンパ球で D-PC 投与の症例は、非ス剤投与症例とは 1% 以下の危険率で、SA 剤投与症例とは 5% 以下の危険率で有意に低値を示した(図2)。関節液中のリンパ球は、末梢血リンパ球とは同じ傾向を示さず、D-PC SA, 非ス剤投与例とも同程度の陽性率を示した(図2)。

実験の結果は、表3に示したように Ia 様抗原陽性細胞は、培養のみで PHA-P を添加しないコントロール群の $25.3 \pm 6.2\%$ に比して、PHA-P で刺激した群は $45.6 \pm 8.3\%$ と増加したが、D-PC の添加群は、D-PC 無添加で PHA-P で刺激した値と比較してほとんど差がみられなかった(図3)。

考 察

各種抗リウマチ剤のなかで現在もっとも使用される頻度が多いと思われる SA, D-PC について臨床的にコントロール中と考えられた症例のリンパ球表面抗原の変化を検討した。

末梢血リンパ球の T-cell, helper-inducer T-cell, suppressor-cytotoxic T-cell の比率は、D-PC, SA 投与例で高かったが、これは薬剤の影響よりはむしろ RA の activity の影響が強いと考えた。OKT 4/T 8 比は、各種薬剤投与例、OA 例ともすべて 2.0 であった。D-PC 有効例の末梢血リンパ球に Ia 様抗原陽性細胞の低下を認めたこの事実が D-PC 薬剤の直接作用なのか、病勢が低下した二次的結果なのか、を調べるため、正常人リンパ球に薬剤を添加して検討したが、D-PC 添加群において Ia 様抗原の発現は抑制されなかった。吉野ら³⁾は、D-PC は直接 T-cell 細胞膜に影響を与えると報告し、また倉持ら⁴⁾は、D-PC 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度では E rosette 形成能に影響を与えないが、2 μg の CuSO₄ を同時に加えると著明に抑制を示したと報告した。Lipsky^{5,6)} は、同様に CuSO₄ を同時に加えた実験系を用い、D-PC は T-cell function, 特に helper T-cell function を抑制すると報告している。今回われわれが行った実験方法では、D-PC が直接影響を与えリンパ球表面 Ia 様抗原の出現を抑制している結果は得られなかった。笠井らは、

* Department of Orthopedic Surgery, Aichi Medical University 愛知医科大学整形外科教室

** Department of Clinical Laboratory, Aichi Medical University 愛知医科大学病院中央検査部

図1 末梢血リンパ球の OKT 3, 4, 8 サブセット

図2 末梢血, 関節液リンパ球の OKIa1 抗体陽性細胞

図3 正常ヒトリンパ球に対する D-penicillamine の影響

96時間の培養にて D-PC は dose response に芽球化を抑制したと報告しており, 培養時間も検討する必要があると考えた。しかし臨床例にて Ia 様抗原陽性細胞の比率が低値を示す症例が多いことは, なんらかの機序で薬剤がリンパ球に作用している可能性が考えられ, 今後引き続き検討する予定である。

文 献

- 1) 辻 公美: 比重遠心法によるリンパ球の分離, 免疫実験操作法 A, 1975, p 443.
- 2) 浜井貴人・他: 遅効性抗リウマチ剤の正常人リンパ球芽球化現象に及ぼす影響に関する研究, リウマチ 23(4): 193-201, 1983.
- 3) 吉野 榎一・他: 各種抗リウマチ剤のヒト・リンパ球膜に対する影響, 臨床免疫 8(2): 221-225, 1976.
- 4) 倉持恒雄・他: D-penicillamine の細胞性免疫応答におよぼす影響, 臨床免疫 14(Suppl. 5): 218-230, 1982.
- 5) Lipsky, P.E. & Ziff, P.J.: Inhibition of human helper T cell function *in vitro* by D-penicillamine and CuSO_4 . J. Clin. Invest. 65: 1069-1076, 1983.
- 6) Lipsky P.E., et al.: Modulation of human antibody production *in vitro* by D-penicillamine and CuSO_4 ; inhibition of helper T cell function. J. Rheumatol. 8(Suppl. 7): 69-73, 1981.