

総 説

SLE に対する抗 DNA 抗体吸着療法の効果

徳 田 道 昭

香川医科大学第一内科

The Effect of Immunoabsorption of Anti-DNA Antibodies in SLE Patients

Michiaki Tokuda

First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kagawa Medical University

Summary Anti-DNA antibody with high affinity to DNA or with cationic charge is suggested to bind to glomerular basement membrane and trigger the formation of immune complex *in situ*. This study was started with the objective of elucidating the effect of combining IA with immunosuppressive drugs on the disease activity of SLE. Fourteen patients were randomly assigned to two groups. At the starting point of therapy, every patient was treated with a steroid pulse therapy followed by 30 mg of oral prednisolone. In addition, 10 to 15 mg/kg of cyclophosphamide was given intravenously at the first and third week. In addition, 6 patients received 4 series of IA every week. IA was performed by processing 3,000 ml of plasma in a dextran-sulfate column. The change in parameters was evaluated at the fourth and eighth weeks. Two patients treated with IA dropped out because of flare-up of disease. Concerning changes in immunologic parameters, the titers of anti-DNA antibody and antinuclear antibody significantly decreased from baseline measurements in both groups. There were no significant differences in the improvement of the following parameters between the two groups; serum IgG level, complement components, SLEDAI, serum albumin level and daily excretion of urinary protein. Our findings strongly suggest that conventional immunosuppressive therapy might be sufficient not only to decrease the amount of anti-DNA antibody but also to reduce disease activity. Accordingly, cyclophosphamide pulse therapy should be omitted to elucidate the effect of IA more clearly.

Key words: systemic lupus erythematosus, anti-DNA antibody, immunoabsorption

1. は じ め に

膠原病に対するアフェレシス療法は、濾過器や吸着装置などを用いて血漿中の種々の成分を分別あるいは吸着除去する plasmapheresis と、遠心分離法やフィルターを用いて免疫担当細胞を除去する cytapheresis に大別される。これらのアフェレシス療法の免疫学的作用機序については、免疫複合体や免疫担当細胞、あるいは自己抗体などを直接除去することで、網内系機能を改善したり、免疫調節機能を高め、結果的に病態を改善すると考えられる。

全身性エリテマトーデス（以下 SLE）では、種々の自己抗体や免疫複合体が免疫調節機構の破綻によって血中に出現し、直接あるいは間接的に全身諸臓器に炎症を引き起こすとされ、アフェレシス療法のよい適応となる疾患である¹⁾。

本報告では、SLE におけるアフェレシス療法の変遷に触れながら、抗 DNA 抗体吸着療法の特徴と効果

について、われわれの検討結果も加えつつ紹介したい。

2. SLE に対するアフェレシス療法の変遷

SLE の病態における免疫複合体の関与については、多量に存在する血中免疫複合体（circulating IC）が組織内へ沈着した結果、血管炎をはじめとした種々の障害が惹起されると想定されている。したがって、ステロイド剤を代表とする免疫抑制療法の効果が十分に発現するまでの補助療法として、二重濾過膜血漿交換療法（DFPP）は有効な治療法であろう。特に、中枢神経症状、血管炎、漿膜炎、重症ループス腎炎などを伴う重症例では、発症早期において DFPP が病状の改善に有効であることは、われわれも含めて数多くの施設から報告されてきた。近年、Hanly ら²⁾は SLE に対して、ステロイド療法とシクロフォスファミドを併用した薬物療法に、さらに血漿交換療法を併用する方が、*in vitro* における免疫グロブリンの産生機能を良く抑制すると報告した。このように、血中の免疫複

合体を除去することによって、液性免疫や細胞性免疫までも修飾されるため、DFPPを中心とする plasma-pheresis は SLE に対して有望な治療法と思われる³⁾が、その実際の効果については異論も多く⁴⁾、詳細は本誌他稿にゆずる。

膠原病における cytappheresis については、循環血中のリンパ球を除去するリンパ球除去療法 (LCP) に代表される。しかし、慢性関節リウマチに対する LCP が胸管ドレナージに始まって遠心分離型 LCP、そして最近では白血球除去フィルターを用いた LCP と継続的に検討されているのに対し、SLE に対しては LCP の有効性を示唆する報告は少ない。この点について、われわれも以前に遠心分離型 LCP にて有効性を検討した経験があるがその効果は否定的であった⁵⁾。この背景には SLE に高率に伴う末梢血リンパ球の減少が存在している可能性もあり、今後、末梢血中の免疫担当細胞を除去する方法としては、たとえ少数であっても CD4 陽性 T 細胞や抗体産生 B 細胞など選択的に細胞を除去する cytappheresis を工夫する必要があるだろう。

SLE の病態における自己抗体の関与については、DNA に対して高親和性を有する抗 DNA 抗体がループス腎炎の病態形成に関与するという報告^{6,7)}がある。また、陽性に荷電した IgG 型抗 DNA 抗体が、生理的に陰性に荷電している糸球体基底膜に結合した結果、組織内 (*in situ*) で免疫複合体が形成され、腎炎を惹起あるいは増悪させるという報告⁸⁾もあり、抗 DNA 抗体の病原性は一層注目されてきた。あるいは、抗 DNA 抗体が DNA-ヒストン複合物と免疫複合体を形成し、さらにヘパラン硫酸 (糸球体基底膜の構成成分) に対して抗体活性を獲得すると報告され⁹⁾、抗 DNA 抗体が免疫複合体としてもループス腎炎の病態形成に深く関与していることが示唆された。

その後、SLE 患者の血中の陽性荷電抗 DNA 抗体を、陰性に荷電したデキストラン硫酸をリガンドとするカラムを用いて選択的に吸着によって除去しようとする試みがなされ¹⁰⁾、pilot study ではあるが同様のカラム (Selesorb, 鐘淵化学) を用いた免疫吸着療法 (immunoadsorption, 以下 IA) の有効性が報告され始めた^{11, 12)}。

ここで、免疫吸着という用語は元来、抗原あるいは抗体を高分子ビーズ上に固定して吸着剤とし、抗原-抗体反応を応用して血漿中から対応する抗体あるいは抗原を捕捉することを指す。その意味では、化学的に

処理したマイクロビーズに DNA そのものを固定させて血中の抗 DNA 抗体を吸着除去するという Denizli らの方法¹³⁾が、狭義での IA に該当するが、この方法を用いた SLE の治療成績は現時点では報告されていない。しかし、むしろ最近では、吸着剤として必ずしも抗原あるいは抗体を用いず、合成吸着剤によって免疫関連物質を吸着除去する場合にも、IA という用語が拡大解釈されて用いられている。阿岸ら¹⁴⁾は、後者の方法を「血漿吸着法」と呼んで前者と区別することを提唱している。

いずれにせよ、IA は SLE に対するアフェレシス療法の歴史に新たなページを加えたと言っても過言ではない。さらに IA は DFPP のように血漿成分 (特にアルブミン) の補給を要さず、循環動態が安定しやすいという利点もあり、今後とも積極的に応用されるべき治療法であると考ええる。

しかし、DFPP も IA も施行直後には一時的に自己抗体や免疫複合体の産生を高めて病状を増悪させる (rebound 現象)¹⁵⁾ため、併用する免疫抑制療法 (後療法) の強度が治療効果全体の決定的要因となる。しかし現時点では、併用療法ばかりか、IA が適応となる症例の選択基準や至適な施行回数などについても一定の見解は得られておらず、今後の検討課題である。

3. SLE に対する IA の効果の検討 — 自験例を中心に —

われわれの施設では上記の背景を考慮し、IA の免疫抑制効果と至適な併用薬物療法を検討する目的で、randomized trial を開始しており、症例数は少ないが現在までに得られた傾向について記載する。

対象は、アメリカリウマチ協会の SLE 分類基準を満たし、抗 DNA 抗体高値 (Farr assay にて 50 U 以上) を示す患者とした。なお、①本療法導入前 3 カ月以内に大量ステロイドなどの強力な免疫抑制療法を行ったもの、②妊婦、15 歳以下の若年者、70 歳以上の高齢者、③その他、主治医が不適当と判断するもの、については study から除外した。その後、文書あるいは口頭によるインフォームドコンセントを得たのち prospective randomized study を開始した。

治療法としては図 1 のごとく、IA 施行群と非施行群に分け、両群とも登録直後にメチルプレドニン 500 mg を 3 日間点滴し、以後はプレドニン一日量 30 mg を維持量とした。また、シクロフォスファミド (以下 CPA) 10~15 mg/kg を合計 2 回 (第 5, 19

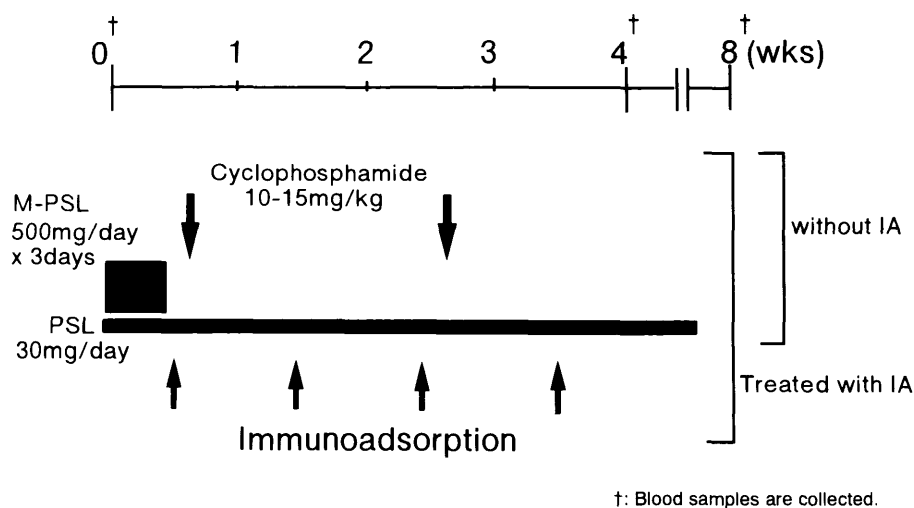


図1 プロトコール

表1 患者特徴表

		Treated with IA	without IA	<i>p</i> value ^{b)}
patient number		6 ^{c)}	6	
sex (male : female)		1 : 5	1 : 5	
Age	yr	27.1 ± 2.1	29.8 ± 3.1 ^{a)}	0.49
disease duration	yr	2.8 ± 0.8	3.5 ± 0.8	0.51
anti-DNA antibody	U/ml	139.8 ± 37.1	107.3 ± 46.1	0.59
CH 50	U/ml	17.8 ± 2.3	23.1 ± 4.7	0.33
C 3	mg/dl	30.5 ± 5.2	42.4 ± 7.1	0.21
IgG	mg/dl	1,643.3 ± 223.3	1,444.8 ± 290.3	0.60
WBC	× 10 ⁶ /L	3,916.7 ± 670.0	5,483.3 ± 1,479.5	0.36
Hemoglobin	g/dl	11.8 ± 0.8	12.1 ± 0.9	0.83
BUN	mg/dl	17.9 ± 1.7	19.2 ± 2.8	0.69
Creatinine	mg/dl	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.56
Urinary protein	g/day	2.3 ± 0.6	1.6 ± 0.7	0.47
T. Protein	g/dl	5.7 ± 0.2	6.0 ± 0.5	0.56
Albumin	g/dl	2.8 ± 0.3	3.1 ± 0.2	0.75

^{a)}Mean ± S.E., ^{b)}statistical analysis: two-sided unpaired *t*-test, ^{c)}two patients dropped out.

日) 点滴投与した。さらに IA 施行群では、第 4, 11, 18, 25 日に IA を施行し、4 週間 (合計 4 回) で終了した。なお、1 回の操作での血漿処理量は 3,000 ml とし、血漿流量は 50~60 ml/分とした。IA 終了後 4 週間は観察期間とし、合計 8 週終了後に治療効果を判定した。

効果の判定には、SLE 疾患活動指数 (SLE-DAI¹⁶⁾) を用い、その他の検査項目についても、治療開始前と開始後 4 週終了時点、8 週終了時点で検査値の推移を比較した。統計学的解析には、患者背景因子

の比較には two-tailed unpaired *t*-test を、各種検査値の推移の比較には分散分析を用いた。

1996 年 1 月までに合計 14 例が登録された。そのうち IA 施行 8 例中 2 例では、発熱に伴って全身状態の悪化が見られたため、疾患活動性の再燃と判断し脱落症例とした。その結果、両群とも 6 例ずつ合計 12 例が 8 週間の観察期間を終了し評価可能であった。

治療施行前の 2 群の背景比較 (表 1) では、年齢、罹病期間、免疫学的活動性 (抗 DNA 抗体価、血清補体価)、免疫グロブリン量、白血球数、腎機能、尿蛋

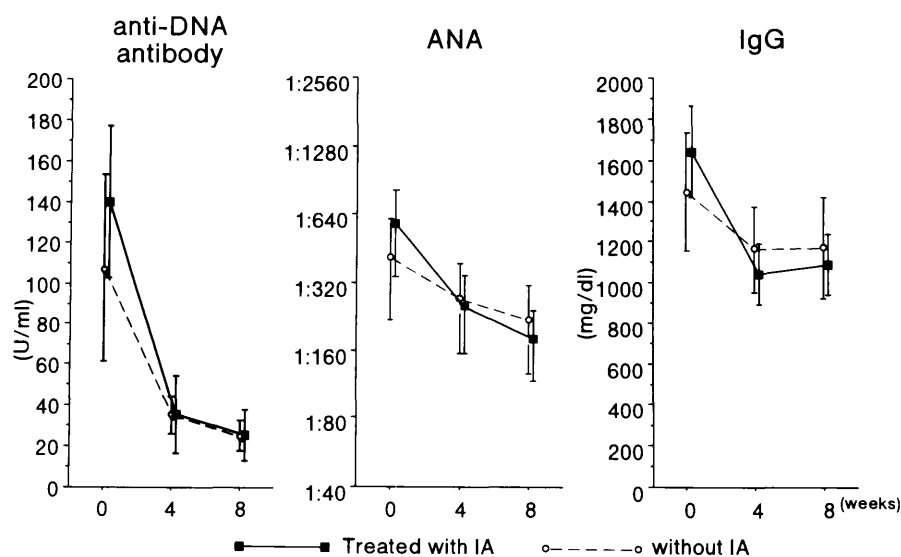


図2 2群間の効果の比較—DNA抗体, 抗核抗体, 血清IgG

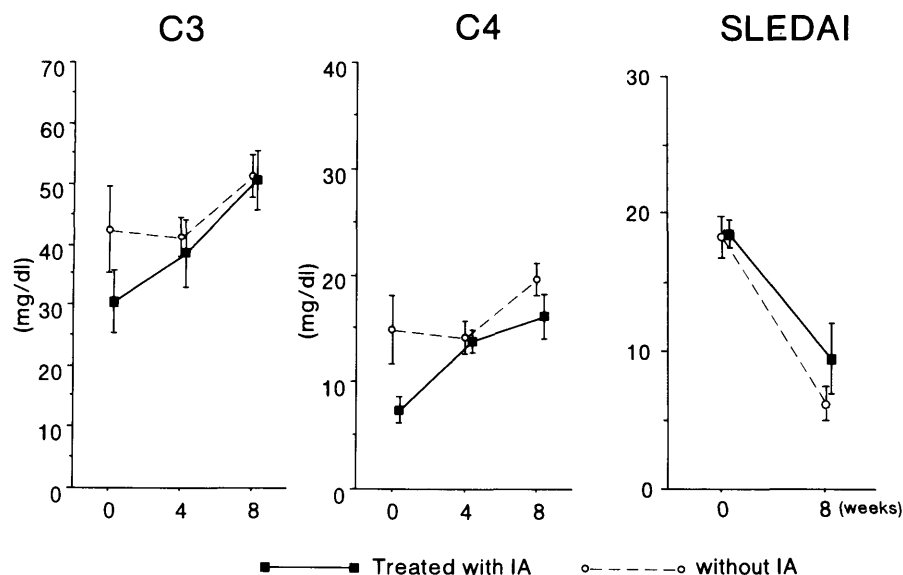


図3 2群間の効果の比較—血清補体価, SLEDAI

白量, 血清蛋白量に有意差を認めなかったが, IA 施行群で補体成分 (C3) と, 白血球数の低下傾向が認められた。SLEDAI の平均値は両群とも約 19 点であった。

治療効果の比較では, 開始時, 開始後 4 週, 8 週の時点で, 抗 DNA 抗体力価, 抗核抗体力価は 4 週目までに急激に低下したが, 4 週目以降の改善は軽度で再上昇傾向は認められなかった。血清 IgG 値は IA 施行群において 4 週目にかけての低下が大きい傾向を認めた (図 2)。補体成分 C3, C4 の上昇率は IA 施行群においてやや大きい傾向を認めたが有意ではなく, 両

群において 4 週目以降も継続的に改善した。SLEDAI は 8 週目の時点で両群とも低下し, 各群の低下率に有意差はなかった (図 3)。一日尿タンパク量については, 両群とも 4 週目以降も減少が持続し, 血清アルブミン値にも回復傾向を認めた。また, 血清クレアチニン値については 4 週目にかけて有意に改善し, 改善率において両群に有意差はなかった (図 4)。

4. SLE に対する IA の効果の検討 —今後の方針—

以上のわれわれの検討結果をまとめたものが表 2 で

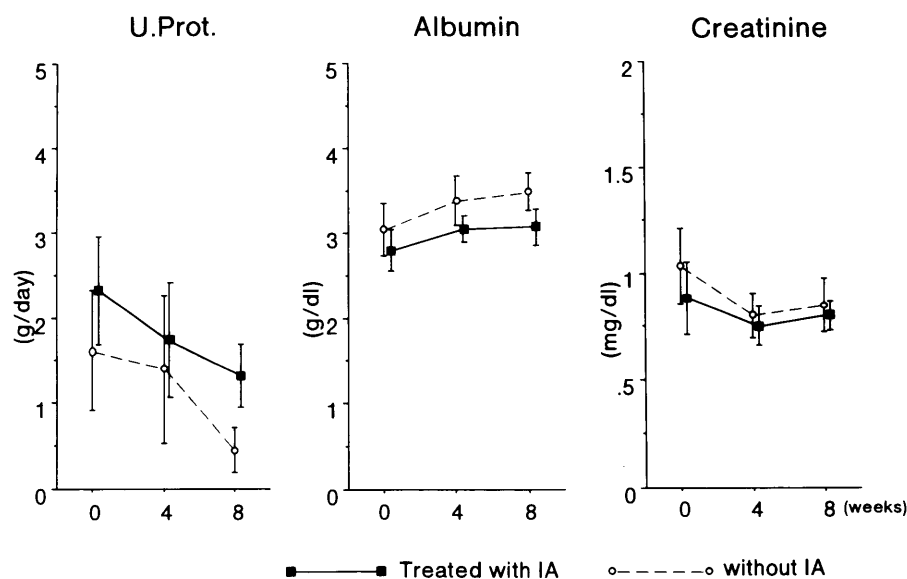


図4 2群間の効果の比較—一日尿中蛋白量, 血清アルブミン, クレアチニン

表2 2群間の効果のまとめ

	Treated with IA	without IA
anti-DNA ab	↓	↓
IgG	↓↓ ^{a)}	↓
Hypocomplementemia	↑↑ ^{a)}	↑
WBC	↑	↑
Proteinuria	↓	↓
Albumin	↑	↑
Creatinine	↓	↓

^{a)}Tendency, not significant.

ある。IA 施行群において血清 IgG 値と補体成分の改善率がやや大きい傾向を認めたが、検討したほぼすべての指標について、両群ともほぼ同等の効果を認めた。このことは、われわれが併用した薬物療法の免疫抑制効果が強力すぎたために、IA の評価が困難となった可能性を強く示唆する。ただしここで、CPA と plasmapheresis を併用した報告²⁾におけるような、*in vitro*でのガンマグロブリン産生能や、T 細胞分画での変化については今回の検討項目外であり、両群の臨床的な効果に有意差はなくても、IA の併用効果が乏しいとは決定できかねる。また、先述の石塚ら¹²⁾は Selesorb による IA には併用する免疫抑制療法の強度が重要であるとしているが、今回のわれわれの検討からは、IA 施行直後の rebound 現象を懸念して「CPA パルス療法」を施行した場合には IA の効果が判定しにくいことが示唆された。

CPA パルス療法については、近年、重症ループス腎炎に対するステロイド療法との併用療法の有効性が

報告¹⁷⁾されて以来、本邦でも積極的に試みられているが、腎機能や尿所見の改善効果と同様に免疫抑制効果も強力である。しかし、治療に伴って時に出現する白血球減少や、発癌性、さらに催奇形性などの危険性を考慮した場合、SLE 患者に多い若年女性に投与することには抵抗がある。

以上の理由から、今後 IA の効果をより明らかにするためには、ステロイド療法に加えて、IA を施行する群 (IA 治療群) と CPA パルス療法を施行する群 (CPA 治療群) の 2 群を設定して、臨床効果と *in vitro* の免疫学的効果について prospective に比較検討し、IA が CPA パルス療法と同等あるいはそれ以上の効果を有するかどうかを論じる必要があろう。

また、その場合の治療期間の設定について、われわれの今回の検討結果から考えられることは、両群とも抗 DNA 抗体価、抗核抗体価などの免疫抑制効果は 4 週目までが顕著であり、治療の強度が弱まる 5 週以降は効果が減弱する。その点、尿中蛋白の減少に代表されるループス腎炎の活動性の改善は 4 週目以降も持続しており、このことは自己免疫的異常を早期 (4 週間以内) に是正すれば、その後の免疫抑制療法の強度を弱めても、ループス腎炎の改善効果がしばらくの間は持続する可能性を示唆する。

免疫異常の早期是正という目的では、ステロイド療法と併用すれば、アフエレス療法は CPA の併用よりも適している可能性があり、現在われわれの施設では、先述の新しい randomized study の design に基づいた治験を検討中である。

5. SLE に対する IA

—他の適応と今後の動向—

ここまでは抗 DNA 抗体の吸着除去を中心に述べてきたが、Selesorb を用いた IA については、血中のリン脂質抗体をある程度除去する機能も報告されている¹⁸⁾。周知のように、抗リン脂質抗体症候群 (APLS) は血小板減少、動静脈血栓、習慣性流産を特徴とし、血中に抗リン脂質抗体が証明される疾患群であり、SLE に比較的高率に合併する。またときには短期間に重要臓器の梗塞症状を合併し、激的な症状を呈しながら死に到る場合があり、catastrophic APLS と呼ばれている¹⁹⁾。

そのような病態に対して、抗リン脂質抗体を含む免疫グロブリン分画や、抗リン脂質抗体と抗原の複合体を除去する DFPP は、他の免疫抑制療法と併用すれば効果的な治療方法であろう。しかし、上述したように、DFPP ではアルブミンを含む血漿蛋白分画の喪失や、一時的な体液の喪失に伴って循環動態が不安定になることが欠点であり、catastrophic APLS のように不安定な循環動態が予測されるような症例では第一選択になりにくいと考える。その点、循環動態が安定しやすい IA を併用した治療法の方が安全であろう。しかし、この方法における抗リン脂質抗体の除去率については、現時点では一定の結果が得られておらず、今後の検討課題である。

6. お わ り に

以上、SLE に対する IA の現況と課題について紹介してきた。病原と考えられる物質をしかも選択的に吸着除去することが、患者への身体的負担を最も軽減しつつ、病態の早期の改善に役立つであろうという推測には疑念の余地はない。しかし現況では、上述してきたように、IA 施行に際して至適な併用療法を設定することは、他のアフェレシス療法と同様に困難と言わざるを得ない。

また一般的に、アフェレシス療法の有効性は少数例での pilot study で示されているに過ぎず、他の免疫抑制療法との間での randomized study によって検討された報告が極端に少ない。このことが至適な併用療法の設定ばかりか、アフェレシス療法の適応の決定、ひいては治療法そのものの普及の妨げとなっていることは明らかであり、今後の課題であろう。

なお、この論文の一部は 1996 年 4 月に京都にて開催された World Apheresis 会議において発表した。

文 献

- 1) Jones JV, Robinson MF, Parcianny RK, et al: Therapeutic plasmapheresis in systemic lupus erythematosus. Effect on immune complexes and antibodies to DNA. *Arthritis Rheum* **24**: 1113-1120, 1981
- 2) Hanly JG, Hong C, Zayed E, Jones JV, et al: Immunomodulating effects of synchronized plasmapheresis and intravenous bolus cyclophosphamide in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **4**: 457-463, 1995
- 3) Euler HH, Guillemin L: Plasmapheresis and subsequent pulse cyclophosphamide in severe systemic lupus erythematosus. An interim report of the Lupus Plasmapheresis Study Group. *Am Med Interne Paris* **145**: 296-302, 1994
- 4) Lewis DJ, Hunsicker LG, Lan SP, et al: A controlled trial of plasmapheresis therapy in severe lupus nephritis. *New Engl J Med* **326**: 1373-1379, 1992
- 5) Tokuda M, Mizoguchi A, Kawakami I, et al: The effect of centrifugation-type lymphocytapheresis or lymphoplasmapheresis on the activities of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Therapeutic Plasmapheresis* **XII**: 93-99, 1993
- 6) Yoshida M, Yoshida H, Muso E, et al: Avidity of anti-DNA antibodies and its clinical significance in patients with SLE. *Jpn Arch Intern Med* **34**: 89-96, 1987
- 7) 宗像靖彦, 謝 佳, 畠山 明, 他: 高塩濃度下で検出される抗 DNA 抗体値とループス腎症との関連. *臨床免疫* **25**: 1672-1678, 1993
- 8) Suzuki N, Harada T, Mizushima Y, et al: Possible pathogenic role of cationic anti-DNA autoantibodies in the development of nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* **151**: 1128-1136, 1993
- 9) Kramers C, Termaat RM, ter Borg EJ, et al: Higher anti-heparan sulphate reactivity during systemic lupus erythematosus (SLE) disease exacerbations with renal manifestations; a long term prospective analysis. *Clin Exp Immunol* **93**: 34-38, 1993
- 10) Aotsuka S, Funakoshi T, Tani N, et al: Adsorption of anti-dsDNA antibodies by immobilized polyaionic compounds. *Clin Exp Immunol* **79**: 215-220, 1990
- 11) Hashimoto H, Tsuda H, Kanai Y, et al: Selective removal of anti-DNA and anticardiolipin antibodies by plasmapheresis using dextran sulfate column in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* **18**: 545-554, 1991
- 12) 石塚俊晶, 鈴木玉洋, 原まさ子, 他: 全身性エリテマトーデス患者に対する抗 DNA 抗体選択的吸着療法の臨床的応用および免疫学的検討. *臨床免疫学会誌* **14**: 267-275, 1991
- 13) Denizli A, Piskin E: DNA-immobilized polyhydroxyethylmethacrylate microbeads for affinity sorption of human immunoglobulin G and anti-DNA antibodies. *J Chromatogr B Biomed Appl* **666**: 215-222, 1995
- 14) 阿岸鉄三: 免疫吸着と人工レセプター吸着. *クリニカルエンジニアリング* **2**: 326-329, 1991
- 15) Shalansky R, Dehoratius RJ, Pincus T, et al: Plasmapheresis in systemic lupus erythematosus. A cautionary note. *Arthritis Rheum* **24**: 49-53, 1981

- 16) Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, et al: Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* **35**: 630-640, 1992
- 17) Steinberg AD, Steinberg SC: Long-term preservation of renal function in patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisone only. *Arthritis Rheum* **34**: 945-950, 1991
- 18) 津田裕士, 谷口 修, 奈野千穂, 他: 抗カルディオリピン抗体吸着への試みと応用. *人工臓器* **18**: 7-10, 1989
- 19) Asherson RA: The catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* **19**: 508-512, 1992