

総説

各種血液浄化療法による Free light chains (FLC) 除去

金 山 恭 子^{*1}・大 橋 篤^{*2}・長谷川 みどり^{*1}・湯 澤 由 紀 夫^{*1}^{*1} 藤田保健衛生大学腎内科, ^{*2} 同医療科学部

Evaluation of Free Light Chain Removal by Various Blood Purification Methods

Kyoko Kanayama^{*1}, Atsushi Ohashi^{*2}, Midori Hasegawa^{*1} and Yukio Yuzawa^{*1}^{*1} Department of Nephrology, Fujita Health University School of Medicine and ^{*2} Division of Clinical Engineering Technology, Fujita Health University

Summary In this clinical study, the reduction rate of FLCs by hemodiafiltration (HDF) using protein leaking dialyzer and hemodialysis using PMMA membrane were measured. The removal rates of κ FLC were 20.8-71.6% by HDF and 54.7% by PMMA hemodialysis (HD). The removal rates of λ FLC were 48.5-60.2% by HDF and 39.4% by PMMA HD. In an *in vitro* study, high cut-off membrane Theralite2100TM, protein leaking dialyzer PES210DaTM, plasma separator Evacure1A20TM and β 2 microglobulin adsorption column LixelleS-35 were compared in their FLC removal rate. Dialysis using Theralite2100TM or Evacure1A20TM, diafiltration using PES210DaTM and adsorption using LixelleS-35TM were performed in an *in vitro* circuit. The highest removal rate was obtained by Theralite2100 dialysis among the four blood purification methods. PES210DaTM diafiltration has the second best removal rate. In conclusion, Theralite2100TM dialysis was the best in removal of FLCs. In countries where Theralite2100TM is not available, HDF using protein leaking dialyzer could become an alternative option.

Key words: free light chains, blood purification

1. は じ め に

多発性骨髄腫の約半数で、経過中に何らかの形の腎障害を合併する。この中で、形質細胞から産生される免疫グロブリン単クローン性蛋白 (M 蛋白) の尿中排泄に起因する myeloma cast nephropathy が最も高頻度に認められ、狭義の骨髄腫腎と呼ばれる。免疫グロブリン軽鎖は重鎖より約 40% 多く産生されるため重鎖と結合せず余剰となった軽鎖は遊離軽鎖 (free light chain: FLC) として血清中に放出される。骨髄腫腎では FLC が、Henle 上行脚の尿細管細胞より分泌される Tamm-Horsfall 蛋白と特異的に結合し、遠位尿細管や集合管内で凝集し、cast 形成を起こして尿細管を閉塞する¹⁾。閉塞以外に、FLC の尿細管上皮細胞内への取り込みにより IL-6, IL-8, TNF- α などの炎症性サイトカインが誘導される機序、細胞内クリスタル形成などによる機序が提唱されている^{1,2)}。骨髄腫腎は急性腎障害 (Acute kidney injury: AKI) の臨床像をとることがあり、この場合、FLC の血中濃度、尿中排泄量を低下させることが腎機能回復のために不可欠である。治療の基本は化学療法であるが、化

学療法が奏功するまでの期間、血液浄化療法により FLC を除去することで、FLC による腎毒性を軽減させることが期待できる。多発性骨髄腫に対する血液浄化療法として、従来から血漿交換療法 (Plasma Exchange: PE) が施行されており、欧州では分子量のカットオフ値が高い high cut off (HCO) 膜による血液透析 (Hemodialysis: HD) を多発性骨髄腫の治療として行っている。ここでは各種血液浄化療法による FLC 除去能について、当院で検討した臨床結果と体外実験の結果を紹介する。

2. 多発性骨髄腫の腎不全患者における FLC 除去率の比較

2.1 対象と方法

2.1.1 対 象

対象は多発性骨髄腫による腎不全 4 例、患者背景を表 1 に示す。新鮮凍結血漿置換による PE、ポリメタクリル酸メチル樹脂 (PMMA) 膜による HD、V 型透析膜による血液透析濾過 (Hemodiafiltration: HDF) を施行した。

表 1 患者背景

	A	B	C	D
年齢 (歳)	58	56	76	71
性別	男	男	女	男
タイプ	IgGκ	IgGκ	IgGλ	IgGλ
血清 FLC (mg/L)	27,100	36,300	4,140	3,190
血清 Cr (mg/dL)	9.65	8.65	5.28	7.8
stage				
DS	IIIB	IIIB	IIIB	IIIB
ISS	III	III	III	II
腎生検	cast nephropathy	未施行	cast nephropathy	未施
化学療法	HDD	HDD	HDD	HDD
	→BOR/DEX	→BOR 単独	→BOR/DEX	→VAD →Tahlidomide

DS, Durie Salmon 病期分類 ; ISS, International Stageing System 病期分類 ; HDD, High dose dexamethasone ; BOR, bortezomib ; DEX, dexamethasone ; VAD, vincristine doxorubicine dexamethasone.

表 2 κ free light chain 除去効率

患者	方法	FFP 置換量 (L)	PE 前血清濃度 (mg/L)	排液中濃度 (mg/L)	低下率 (%)	
A	PE	3.66	22,800 (18,500~27,100)	11,400 (10,300~12,500)	45.8 (42.1~49.5)	
	PE	5.47	7,420 (6,310~9,140)	3,457 (2,610~4,780)	66.9 (63.4~73.6)	

患者	透析膜/方法/ 透析時間 (h)	透析液流量 (mL/min)/ 置換液量 (L)	HD/HDF 前 血清濃度 (mg/L)	透析液中濃度 (mg/L)	低下率 (%)	透析液基準 CL (mL/min)
A	BK-F2.1/HD/6	500/~	4,420 (4,230~4,610)	未測定	54.7 (38.3~71.0)	未測定
	PES210D α /HDF/5	500/15	1,026 (79~2,720)	15 (2~37)	71.6 (49.7~87.7)	44.7 (38.3~51.0)
	FB210UH β /HDF/5	500/15	1,487 (102~3,330)	4 (2~6)	66.9 (57.1~75.7)	30.0 (16.3~43.7)
B	PES210D α /HDF/4	450/12	30,100 (27,890~41,000)	342 (301~410)	20.8 (19.4~28.6)	8.4

中央値 (範囲)

PE, plasma exchange ; FFP, fresh frozen plasma ; HD, hemodialysis ; HDF, hemodiafiltration.

低下率 (%) = $\{1 - [(\text{浄化療法後血清 FLC 濃度} / \text{浄化療法前血清 FLC 濃度}) \times (100 - \text{浄化療法後 Ht}) / (100 - \text{浄化療法前 Ht})] \times \text{浄化療法前 Ht} / \text{浄化療法後 Ht}\} \times 100$.

CL : Clearance rate (mL/min) = (透析排液 FLC 濃度 / 透析前 FLC 濃度) × (透析液流量 + 濾過液流量).

2.1.2 測定方法

FLC の測定には, FREELITE™ Human Kappa Free kit 及び Human Lambda Free kit (製造元: THE BINDING SITE LTD., 販売元: (株)医学生物学研究所) (FREELITETM) を用いた.

測定は, レーザーネフェロメトリー法を検出原理とする全自動免疫化学分析装置 BNII (シーメンスヘルケア・ダイアグノスティクス(株)) で測定した³⁾. 正常基準値範囲は, κFLC 3.3~19.4 mg/L, λFLC 5.7~26.3 mg/L で, 測定感度は 1 mg/L である⁴⁾.

2.2 結果

2.2.1 κFLC 除去率

PE 3.66 L 置換の κFLC 低下率は 45.8% であり, 置換液量を 5.47 L に増量後は, 低下率 66.9% であった. III 型 PMMA 透析膜 BK-F2.1 膜を用いた HD による

κFLC 低下率は 54.7 (38.3~71.0) % であったが, 透析中に回路凝血を生じることがあった. ポリネフロン V 型透析膜 PES210Da™ による HDF について, 前の κFLC が 1,026 (79~2,720) mg/L では, κFLC 低下率 71.6 (49.7~87.7) %, クリアランス 44.7 (38.3~51.0) mL/min であり, 前の κFLC が 30,100 (27,890~41,000) mg/L と高値の時に施行した HDF では κFLC 低下率 20.82 (19.38~28.63) %, クリアランス 8.4 mL/min であった. セルローストリアセテート V 型透析膜 FB210UHβ™ を用いた HDF は, 前の κFLC が 1,487 (102~3,330) mg/L において κFLC 低下率 66.9 (57.1~75.7) %, クリアランス 30.0 (16.3~43.7) mL/min であった (表 2).

2.2.2 λFLC 除去率

ポリスルホン V 型透析膜 FXS140™ を用いた HDF

表3 λ free light chain 除去効率

患者	透析膜/方法/透析時間 (h)	透析液流量 (mL/min)/ 置換液量 (L)	HD/HDF 前 血清濃度 (mg/L)	透析液中濃度 (mg/L)	低下率 (%)	透析液基準 CL (mL/min)
C	FXS140/HDF/5	500/15	3,010 (2,620~3,400)	31 (25~37)	60.2 (59.7~61.0)	10.5 (9~12)
	PES210Da/HDF/4	500/15	3,205 (2,820~3,820)	25.5 (22.7~39.2)	48.5 (41.1~61.3)	9.03*
	BGPQ2.1F/HD/4	500/~	3,370 (3,170~3,470)	1.5 (2.47~2.59)	39.4 (29.6~45.6)	未測定
D	PES210Da/HDF/4	500/15	3,175	未測定	53.1	未測定

中央値 (範囲), * 平均値

HD, hemodialysis; HDF, hemodiafiltration.

$$\text{低下率 (\%)} = \{1 - [\text{浄化療法後血清 FLC 濃度} / \text{浄化療法前血清 LC 濃度}] \times (100 - \text{浄化療法後 Ht}) / (100 - \text{浄化療法前 Ht})\} \times 100.$$

$$\text{CL: Clearance rate (mL/min)} = (\text{透析排液 FLC 濃度} / \text{透析前 FLC 濃度}) \times (\text{透析液流量} + \text{濾過液流量}).$$

は前の λ FLC 3,010 (2,620~3,400) mg/L において λ FLC 下率 60.2 (59.7~61.0) %, クリアランス 9.03 mL/min, PES210DaTM HDF は前の λ FLC 3,205 (2,820~3,820) mg/L において λ FLC 下率 48.5 (41.1~61.3) %, クリアランス 9.03 mL/min, 前の λ FLC 3,175 mg/L において λ FLC 下率 53.1%, IV 型 PMMA 透析膜 BGPQ2.1FTM による HD では前の λ FLC 3,370 (3,170~3,470) mg/L において低下率 39.4 (29.6~45.6) % であった (表3).

3. 体外実験における FLC 除去効率の比較

3.1 方法

図1に還流システム回路図を示す. 他疾患による PE の廃液に, 多発性骨髄腫患者の HDF 時の廃液及び尿を濃縮したものを混注して, 1 回の還流実験あたり κ FLC 2,450~4,077 mg/L, λ FLC 1,203~1,400 mg/L を含む 1.5 L のプール血漿を還流液として用いた. 還流液を流量 120 mL/min にてモジュールへ送液し, 元のタンクへ還流した. 充填量 110 mL, 透析液流量 500 mL/min, 濾過速度 50 mL/min で施行した. 検体は, 試験液入口, 出口及び排液を試験液出入口近傍ポートから採取した.

使用した膜と血液浄化モードは PES210DaTM での透析濾過, Theralite2100TM の透析, 膜型血漿分離器 Evacure 1A20TM での透析, 吸着型血液浄化器 LixelleS-35TM での吸着 (Plasma adsorption: PA) であり, 各々 180 分間, 3 回ずつ施行した. 透析装置は個人用透析装置 DBB-72 (NIKKISO Co., Ltd. Tokyo) を使用した.

FLC のクリアランスは体外循環開始時, 15 分, 30 分, 60 分, 120 分の時点で以下の計算式を用いて算出した⁵⁾.

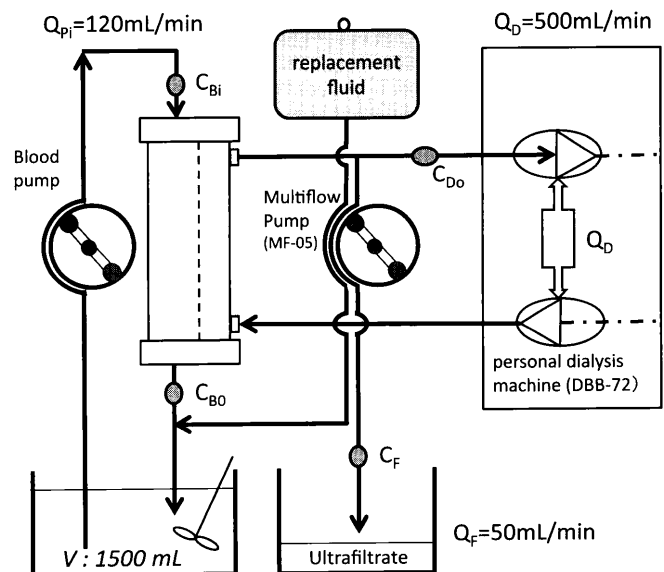
Q_{pi}, 血漿流量; Q_d, 透析液流量; Q_f, 濾過速度

図1 In Vitro 回路図

血漿基準クリアランス (mL/min)

$$= -\ln \{C_B(t)/C_B(0)\} \times V/t$$

(C_B, 溶質濃度; V, プール液量 mL; t, 時間 min)(Single-compartment モデル式 $C_B(t) = C_B(0) \exp(-Kt/V)$ より変形^{6,7)})

体外実験では一定の FLC 濃度のプールの FLC 除去特性を扱っており, Single-compartment モデルが成り立つと判断して, 上記の式を用いた.

3.2 結果

図2に FLC 除去率の経時変化を示す. 体外実験 180 分経過後の κ FLC 除去率は Theralite2100TM 透析 96.9%, PES210DaTM 透析濾過 86.5%, Evacure 1A20TM 透析 59.0%, LixelleS-35TM 吸着 49.0% であり, λ FLC 除去率は Theralite2100TM 透析 95.3%, PES210DaTM 透析

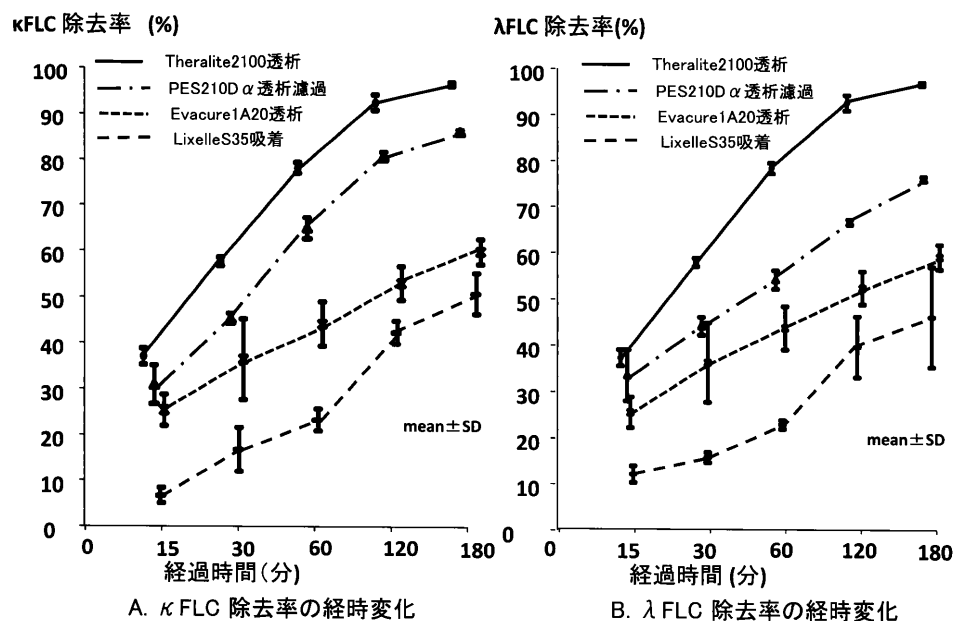


図2 FLC 除去率の経時変化

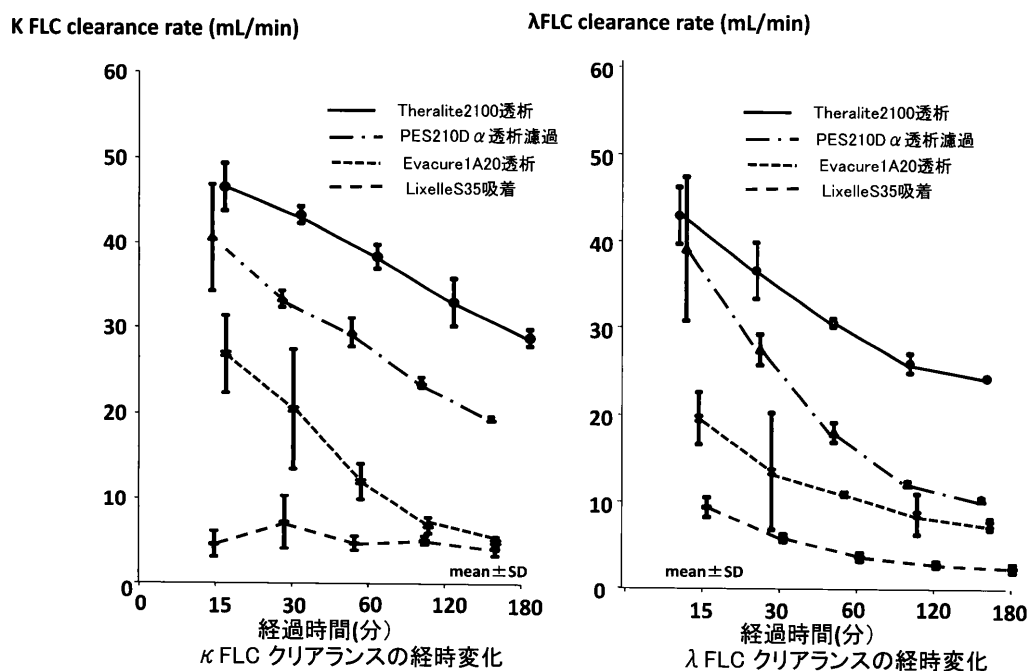


図3 FLC クリアランスの経時変化

濾過 76.1%, Evacure 1A20TM 透析 56.3%, LixelleS-35TM 吸着 44.0%であった。図3に FLC クリアランスの経時変化を示す。 κ FLC クリアランスについて、LixelleS-35TM 吸着以外はいずれも経時的に低下し、15分後と180分後の値は各々 Theralite2100TM 透析 46.3% $\Rightarrow$ 28.9%, PES210D α TM 透析濾過 41.7% $\Rightarrow$ 16.7%, Evacure 1A20TM 透析 26.0% $\Rightarrow$ 7.4%, LixelleS-35TM 吸着 6.8% $\Rightarrow$ 5.8%であった。 λ FLC クリアランスはいずれも経時的に低下し、15分後と180分後の値は各々

Theralite2100TM 透析 42.8% $\Rightarrow$ 25.4%, PES210D α TM 透析濾過 39.0% $\Rightarrow$ 11.9%, Evacure 1A20TM 透析 41.7% $\Rightarrow$ 16.7%, Evacure 1A20TM 透析 20.4% $\Rightarrow$ 6.9%, LixelleS-35TM 吸着 8.4% $\Rightarrow$ 3.8%であった。アルブミン濃度の経時変化を図4に示す。Theralite2100TM 透析は最も低下が著しく、180分後に前値 3.0 g/dL から 1.8 g/dL へ低下、次いで Evacure 1A20TM 透析は 3.0 g/dL から 2.4 g/dL へ低下した。PES210D α TM 透析濾過は180分後 2.6 g/dL であり軽度低下であった。Theralite2100TM

と PES210D α TM について、ふるい係数を測定した。Theralite2100TM は κ FLC 0.42, λ FLC 0.36, PES-210210D α TM は κ FLC 0.15, λ FLC 0.08 であった。

4. 考 察

多発性骨髄腫に対するアフエリシスとして、本邦の保険診療では PE が、1 週間に 1 回を限度として 3 か月まで可能とされている。2008 年 Leung らにより、FLC を測定した 28 人において PE の効果を評価した論文が出され、cast nephropathy の患者に PE を施行して、50% 以上 FLC が低下した場合には有意に腎機

能が改善したとの結果が報告された⁸⁾。当科での IgG κ 型多発性骨髄腫症例では、PE の処理量を 1 容量から 1.5 容量に増やすことにより 50% 以上の FLC 低下率を達成させることができた。FLC は血管内外に分布しているため、PE 後に血中濃度が再上昇することが報告されており、週 1 回の PE では持続的な血中 FLC の低下は期待できない。さらに PE では血液製剤を使用しなければならないという問題がある。PE 以外の血液浄化療法として、欧州で多発性骨髄腫に臨床使用が認められている HCO 膜は^{9,10)}、国内では使用認可されていないため、当科では V 型透析膜を使用した HDF と吸着特性が強い PMMA 透析膜による HD により治療を行った。PMMA 透析膜による HD では κ FLC 54.7 (38.3~71.0) %, λ FLC 39.4 (29.6~45.6) % の低下率が得られたが、回路の凝血、残血が問題となった。V 型透析膜を使用した HDF では FLC の血中濃度が 4,000 mg/L 以下の時には κ FLC, λ FLC いずれも 50% 以上の低下率をえることができた。一方 FLC の血中濃度が 30,000 mg/L 以上の症例では V 型透析膜 HDF による κ FLC 除去率は約 20% であり fouling による影響が一因であると考えられた。

体外実験により HCO 膜と国内で施行可能な血液浄化療法の FLC 除去率を比較した。Theralite2100TM 透析、PES210D α TM 透析濾過、Evacure 1A20TM 透析、LixelleS-35TM 吸着の中で FLC 除去率は Theralite-2100TM 透析が最も良かった。Theralite2100TM は膜面積が 2.1 m² の HCO 膜であり、通常の透析に使用する

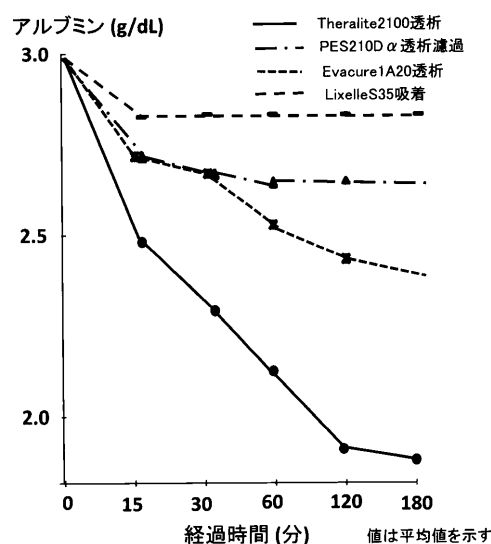
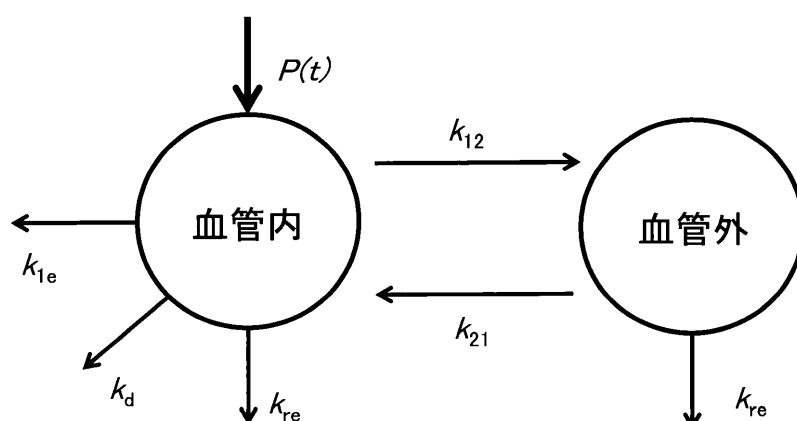


図4 アルブミン濃度の経時変化



$P(t)$, FLC 産生率; k_{1e} , 腎機能による除去率
 k_d , 透析による除去率
 k_{12} , FLCの血管内外移動の定常率
 k_{21} , FLCの血管内外移動の定常率
 k_{re} , 網内系代謝による除去率

(2007, J Am Soc Nephrol 18:886-895より一部改変)

図5 Hutchison らによる FLC の compartment model

high flux 膜に比して、より大きい分子量の物質を通過させることができる。体内 FLC の compartment model は図 5 のように考えられており¹¹⁾、本実験は閉鎖プールのため、血管内外移行、産生による FLC の変動が含まれていない点が限界である。HCO 膜の臨床使用に関しては、頻回なアルブミン補給が必要とされており、今回の体外実験でもアルブミン低下率は 4 種類の浄化療法中でもっとも著しかった。PES210DaTM は、低分子蛋白質をより積極的に除去することを目的に開発された V 型透析膜である。ふるい係数 κ FLC 0.15, λ FLC 0.08 の実験結果は、FLC 除去のためには透析モードではなく、透析濾過モードが必要であることを裏付けるものであった。クリアランスが経時的に低下した結果からは 1 回の HDF 時間を長くするより、急性期治療としては回数を増やして施行したほうが、除去率の点からも、血管内外の FLC 移行の点からも望ましいと考えられた。Evacure1A20TM は膜型血漿分離器であり、血液透析では認可されていないが、膜孔が透析膜に比して大きいので、FLC 除去目的の臨床応用についての可否を検討するために体外実験で評価した。アルブミンのふるい係数は Theralite2100TM 0.2 よりやや大きい 0.36 であり、体外実験では 180 分後にアルブミンは 3.0 g/dL から 2.4 g/dL へ低下した。FLC クリアランス、除去率とも PES210DaTM 透析に比して低く、FLC 除去を目的とした透析モードでの有益性は今回の体外実験からは示されなかった。LixelleS-35TM は β 2 ミクログロブリンの他に IL-1 β , IL-6, TNF- α などの炎症性サイトカインも吸着されることが報告されている¹²⁾。FLC 低下率は他の浄化療法に比して低かったが、LixelleS-35TM 使用に伴い FLC が同時に除去されることを確認できた。透析患者では健常者に比して血中 FLC 濃度が高く、FLC は uremic toxin として好中球機能障害に関与するとの報告がある^{13,14)}。透析アミロイド症に LixelleS-35TM を施行する毎に uremic toxin としての FLC が吸着されることは意義あることと考えられた。

5. お わ り に

ボルテゾミブなどの新規薬剤の導入後、より速い治療効果の発現と腎機能の改善が望めるようになってきた。FLC を除去する血液浄化療法を併用することが予後改善に寄与するか否かに関しての randomized

controlled phase III trial (EuLITE) が欧州で行われており結果が待たれる。

著者の利益相反 (conflict of interest: COI) 開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし。

文 献

- 1) Decourt A, Rocca F, Bridouxet, et al: Mutational analysis in murine models for myeloma-associated Fanconi's syndrome or cast myeloma nephropathy. *Blood* 1999; **4**: 3559-66
- 2) Serrum free light chain analysis (plus hevylyte), Fifth edition, The Binding site.
- 3) Ritz E: Plasma exchange for acute renal failure of Myeloma-Logical, yet ineffective. *J Am Soc Nephrol* 2006; **17**: 914-6
- 4) Kastiris E, Anagnostopoulos A, Roussou M, et al: Reversibility of renal failure in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with high dose dexamethasone-containing regimes and the impact of novel agents. *Haematologica* 2007; **92**: 546-9
- 5) Lee W, Uchino S, Fealy N, et al: β 2 microglobulin clearance with super high flux hemodialysis: An ex vivo study. *Artif Kidney Dial* 2003; **26**: 723-7
- 6) Gotch FA, Sargent JA: A mechanistic analysis of the National Cooperative Dialysis Study (NCDS). *Kidney Int* 1985; **28**: 526-34
- 7) Sargent J, Gotch F, Borah M, et al: Urea kinetics: a guide to nutritional management of renal failure. *Am J Clin* 1978; **31**: 1696-702
- 8) Leung N, Gertz MA, Zeldenrust SR, et al: Improvement of cast nephropathy with plasma exchange depends on the diagnosis and on reduction of serum free light chains. *Kidney Int* 2008; **73**(11): 1282-8
- 9) Colin AH, Arthur RB, Mark C, et al: Treatment of acute renal failure secondary to multiple myeloma with chemotherapy and extended high cut-off hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; **4**: 745-54
- 10) Hutchison CA, Harding S, Mead G, et al: Serum free light chain removal by high cut-off hemodialysis: Optimising removal and supportive care. *Artif Organs* 2008; **32**: 910-7
- 11) Colin AH, Paul C, Steven R, et al: Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: In vitro and in vivo studies. *J Am Soc Nephrol* 2007; **18**: 886-95
- 12) Nakatani T, Tsuchida K, Fu O, et al: Effects of direct hemoperfusion with a beta2-microglobulin adsorption column on hypercytokinemia in rats. *Blood Purif* 2003; **21**: 145-51
- 13) Cohen G, Haag-Weber M, Mai B, et al: Effect of immunoglobulin light chains from hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients on polymorphonuclear leukocyte functions. *J Am Soc Nephrol* 1995; **6**(6): 1592-9
- 14) Cohen G: Immunoglobulin light chains in uremia. *Kidney Int* 2003; **84**(Suppl): S15-8