

全身性エリテマトーデスにおける 尿中の低分子蛋白

第 2 編

尿中 β_2 ミクログロブリンに関する検討

岡山大学医学部第三内科（主任：大藤 眞教授）

難 波 義 夫

（昭和55年11月12日受稿）

Key words：全身性エリテマトーデス

β_2 ミクログロブリン

結 言

β_2 ミクログロブリン（以下 β_2 -m）は、低分子蛋白で、Wilson 病やカドニウム中毒等の尿細管性蛋白尿をきたす疾患患者の尿中より分離された¹⁾。また、種々の体液中にも微量存在し、それは有核細胞や血小板に由来するものと考えられている。また、リンパ球でも β_2 -m が産生されており、細胞の活動性が盛んな程、 β_2 -m の産生が増加するといわれている^{2),3),4)}。さらに、 β_2 -m は細胞表面上で HLA 抗原と密接な関連を有しており^{5),6)}、免疫学的にも注目を集めている。

著者は、前報⁷⁾で、低分子蛋白である遊離 L 鎖を全身性エリテマトーデス（以下 SLE）の尿中で測定し、尿中遊離 L 鎖が SLE の活動性の一指標となり得ることを報告した。今回、同じ低分子蛋白である β_2 -m を SLE 患者の尿中で測定し、血清所見、臨床像との関連について観察し、さらに、腎生検所見、ならびに、尿中遊離 L 鎖との関連についても検討を加え、尿中 β_2 -m 測定の臨床的意義を明らかにしたので報告する。

対 象 と 方 法

1) 対象

岡山大学医学部第三内科にてコントロール中の ARA の予備診断基準⁸⁾を4項目以上満たした definite の SLE 患者49例、対照として健康人37例を用いた。

2) β_2 ミクログロブリンの測定

¹²⁵I を用いた radioimmunoassay 法（Pharmacia, Sweden, K.K. 第1ラジオアイソトープ研究所扱い^{9),10)}を用いた。尿は、早朝尿をさけ、pH を6.5~7.0に調整し、-20℃に凍結保存し、測定時に10倍に希釈した後、本試験をおこなった。定量測定には、2重測定法を採用した。

3) 遊離 L 鎖の測定

前報⁷⁾の如く、抗遊離 L 鎖抗血清を作成し、2%アガロース（ペナロール緩衝液、pH 8.6, 0.05M）に約30%の割にまぜてイムノプレートを作成し、Single Radial Immunodiffusion 法にて測定した。尿は、新鮮尿を濃縮しないまま使用した。

4) 抗核抗体、抗 DNA 抗体価、血清補体価

前報⁷⁾で報告した。

5) 生検腎の蛍光抗体法による染色

腎生検にて得た腎組織は-70℃ドライアイス・アセトンで迅速に凍結後-20℃のクリオスタット内で4 μ の切片とし、風乾・未固定の状態でF-ITC 標識抗ヒト γ -chain ウサギ血清を用い、蛍光抗体直接法にて染色をおこない、腎糸球体の染色形態を lumpy, granular, mesangial, linear の4つの pattern に分類した¹¹⁾。

6) 生検腎の光顕所見

腎生検にて得た腎組織切片をヘマトキシリン・エオジン染色、PAS 染色、マッソン・トリクローム染色、PAM染色をおこなった。

結 果

1) SLE と正常人における尿中 β_2 -m 値(図1)

SLE 患者の尿中 β_2 -m 値は、 $440 \pm 779 \mu\text{g/L}$ 、
対照の正常人の尿中 β_2 -m 値は、 $40.2 \pm 33.0 \mu\text{g/L}$
と SLE 患者の方が危険率1%未満で有意に高
値を示した。

2) SLE 患者における血清学的所見と尿中 β_2 -m
値(表1)

表1のごとく、尿中 β_2 -m 値は、抗核抗体、

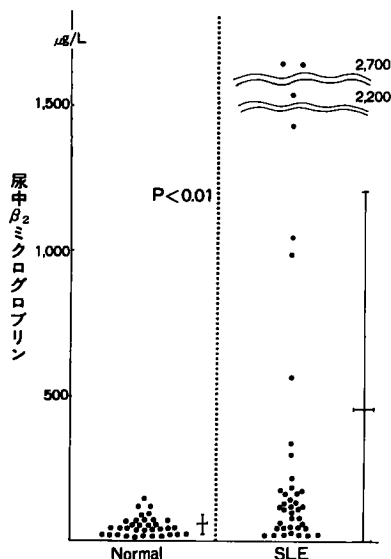


図1 全身性エリテマトーデス患者と正常人
における尿中 β_2 ミクログロブリン値

表1 全身性エリテマトーデス患者における血清学的所見、
尿蛋白と尿中 β_2 ミクログロブリン値

| | | (ug/L) | |
|-------------------------------|-----------------------|------------------------|--|
| | | 尿中 β_2 ミクログロブリン値 | |
| 1. 抗核抗体 | Shaggy パターン | 514 ± 810 | |
| | Diffuse-Speckled パターン | 386 ± 774 | |
| 2. 抗 DNA 抗体価 (DNA binding) | 15%以上 | 843 ± 941 | |
| | 15%未満 | 404 ± 764 | |
| 3. 血清補体価 (CH50) | 25以下 | 538 ± 842 | |
| | 26以上 | 338 ± 711 | |
| 4. 血清 γ -グロブリン | 1.5g/dl以上 | 487 ± 814 | |
| | 1.5g/dl未満 | 397 ± 777 | |
| 5. 尿蛋白量 | 300mg/dl以上 | 696 ± 892 | |
| | 300mg/dl未満 | 374 ± 746 | |
| | 100mg/dl以上 | 773 ± 971 | |
| | 100mg/dl未満 | 210 ± 516 | |

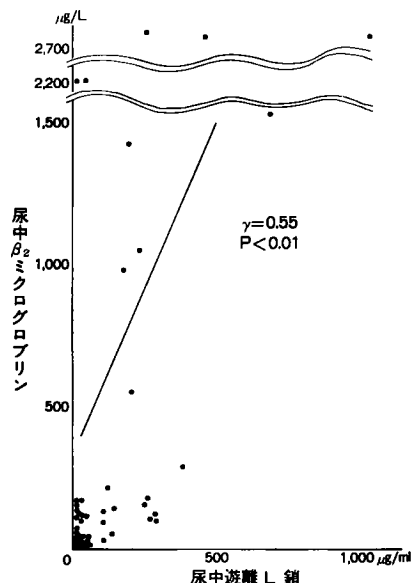


図2 全身性エリテマトーデス患者における
尿中 β_2 ミクログロブリン値と
尿中遊離 L 鎖の相関

抗 DNA 抗体価、血清補体価、血清 γ -グロブリン
値、以上のいずれとも有意の相関を示さなかつた。

3) SLE 患者における尿蛋白量と尿中 β_2 -m 値
(表1)

尿蛋白量を300mg/dl以上とそれ未満、100mg/
dl以上とそれ未満の2通りで検討してみた。尿
蛋白量300mg/dl以上の群では、尿中 β_2 -m 値は、
 $696 \pm 892 \mu\text{g/L}$ 、300mg/dl未満の群では 374 ± 746

$\mu\text{g/L}$ で、両者の間に有意差を
認めなかった。しかし、尿蛋白
量100mg/dl以上の群では、尿中
 β_2 -m 値 $773 \pm 971 \mu\text{g/L}$ 、100mg/
dl未満の群では、 $210 \pm 516 \mu\text{g/L}$
と危険率5%未満で、尿蛋白100
mg/dl以上の群が有意に高値を示
した。

4) 尿中 β_2 -m 値と尿中遊離 L
鎖値との相関(図2)

図2のごとく、相関係数0.55で、
危険率1%未満で両者には正の
相関が認められた。

5) 蛍光抗体法による腎糸球体
染色形態と尿中 β_2 -m、尿中遊離

| 尿中 β_2 -ミクログロブリン | 腎間質の 変化 | 中等度以上 | 軽度 | |
|---------------------------|-----------------|-------|----|----|
| | 500 μ g/L以上 | | 5 | 2 |
| 500 μ g/L未満 | | 6 | 14 | 20 |
| | | 11 | 16 | 27 |

P<0.05

表2 全身性エリテマトーデス患者における尿中 β_2 ミクログロブリン値と腎間質の変化

L鎖との関係

①尿中 β_2 -m

Granular or Lumpy群では、尿中 β_2 -m値は649 \pm 909 μ g/L、Linear or Mesangial群では169 \pm 276 μ g/Lで、両者の間に有意の差を認めなかった。

②尿中遊離L鎖

Granular or Lumpy群では、尿中遊離L鎖は、100 \pm 99 μ g/ml、Linear or Mesangial群では、73 \pm 113 μ g/mlで、やはり両者の間に有意の差を認めなかった。

6) 光顕所見による腎間質変化と尿中 β_2 -m、尿中遊離L鎖との関係

①尿中 β_2 -m(表2)

間質の変化が中等度以上の群では、尿中 β_2 -m値500 μ g/L以上の症例の出現率が有意に高かった(P<0.05)。

②尿中遊離L鎖(表3)

間質の変化と尿中遊離L鎖の間には有意の相関は認めなかった。

考 按

β_2 -mは、分子量11,800の低分子蛋白で、最初、Berggårdらが尿細管障害の患者尿より単離した。その後、アミノ酸組成の研究からヒトのIgG constant regionとの類似性が証明されている¹²⁾¹³⁾。 β_2 -mは、有核細胞と血小板の表面にHLA抗原と非共価結合して存在しており¹⁴⁾¹⁵⁾、血液、尿、髄液のみならず唾液や初乳などの種々の体液にも検出され、多くは遊離したmonomerとして存在している⁹⁾¹⁶⁾。各体液中の β_2 -mは種々の有核細胞や血小板の細胞表面の β_2 -mに由来するものと考えられている。

β_2 -mは、前報⁷⁾の遊離L鎖と同様に分子量が小さく腎糸球体を容易に通過し尿細管で大部分は再吸収され異化される。腎における β_2 -mの処理については、Hallらの実験でヒト β_2 -mをラットに静注して血中、尿中の β_2 -mを測定すると血中濃度の低下は急速

におこるが、尿中には排出されないという結果が示されており、これは β_2 -mが腎で異化されるためと推定された。しかし、両腎摘出をおこなっても血中の β_2 -m濃度は軽度ながら低下するため、一部は腎以外での臓器での異化も考えられている¹⁷⁾。

今回の研究では、SLEにおいて尿中 β_2 -mが対照群に比し有意に高値を示していた。SLEにおいては腎をはじめとして全身の臓器の組織障害があり、種々の細胞表面に存在している β_2 -mが組織障害の結果遊離し、血中のレベルが上昇する可能性があり、実際SLEにおいて、血中 β_2 -mが上昇している報告もある¹⁸⁾。そして、血中 β_2 -mが上昇したため尿細管での再吸収、異化の極量を越えて尿中の β_2 -mが上昇する機序も考えられる。しかし、本研究では、抗核抗体、抗DNA抗体価、血清補体価、血清 γ -グロブリン値などのSLE活動性を示す所見と尿中 β_2 -mとの間には相関が認められなかった。すなわち、全身の組織破壊がすすんでいるとおもわれる時期に、とくに尿中 β_2 -m値が高値を示していない点より、全身の炎症による血中ならびに尿中 β_2 -mの増加という機序は考え難かった。

Governaら¹⁹⁾の間接蛍光抗体法によるヒトの正常臓器の β_2 -mの分布の研究では、lymphoid, macrophage, endothelial cellsに多くの β_2 -m

表3 全身性エリテマトーデス患者における尿中遊離L鎖と腎間質の変化

| 尿中 遊離L鎖 | 腎間質の 変化 | 中等度以上 | 軽度 | |
|------------|------------|-------|----|----|
| | 陽性 | | 5 | 7 |
| 陰性 | | 6 | 9 | 15 |
| | | 11 | 16 | 27 |

の分布が認められ、endothelial cellの蛍光は、腎糸球体のような毛細管で特に強くみられたと報告している。SLEの腎障害は、糸球体の変化が主であり、糸球体へのImmune Complexの沈着が主なものである。しかし、今回の研究では、腎糸球体の蛍光染色パターンと尿中 β_2 -mとの間には、有意の相関は認められず、また、尿蛋白と尿中 β_2 -mとの間にもはっきりとした有意の相関が見出されなかったことより、尿中 β_2 -mは腎糸球体の変化を必ずしも充分には反映していないと思われた。

SLEでは、腎糸球体の変化が主であるが、腎間質にも、細胞浸潤、尿管管のatrophy, fibrosisなどの変化がみられ、本研究においては、腎間質の変化が中等度以上では、尿中 β_2 -m500 μ g/L以上の高値を示す症例の出現率が有意に高かった。そして、この原因として、第1に、尿管管障害による再吸収、異化の低下、第2に、腎組織の破壊による β_2 -mの遊離、また、浸潤細胞からの遊離などが考えられた。このような局所浸潤細胞からの β_2 -mの遊離の報告として、Sjögren症候群の唾液、慢性関節リウマチの関節液の β_2 -mの増加がみられ、その濃度は、病変部炎症の強さの程度と関連が認められ、このような炎症局所の分泌液や浸出液中の β_2 -m濃度の増加は、病巣に浸潤したリンパ球によって産生されたためであろうと考えられている^{20),21)}。しかし、この2点のいずれであるのかということは、血中 β_2 -m値の測定、尿管管機能テストなどをおこなっていないので、はっきりとしない。しかし、いずれにしても尿中 β_2 -mは腎間質の変化を反映しているものと考えられる。

前報⁷⁾の遊離L鎖と今回の β_2 -mとは、同じ低分子蛋白であり、いずれもSLEでは対照に比し、尿中に有意に高濃度を示し、両者は危険率1%以下の正の相関を示した。しかし、尿中遊離L鎖は、抗核抗体、抗DNA抗体価、血清補体価などSLEの活動性の指標となるものと有意の相関を示したのに対して、尿中 β_2 -mは、血清学的活動性とは有意の相関を示さなかった。他方、尿中 β_2 -mは、腎間質の変化が中等度以上であると、高値を示す症例の出現率が高くなり、腎間質の病変を反映しているものと思われたが、

尿中遊離L鎖は、腎間質の変化と関連性を示していなかった。また、腎糸球体の変化をみると、腎糸球体の蛍光パターンと尿中遊離L鎖、尿中 β_2 -mとのいずれの間にも有意の相関は認めなかった。

遊離L鎖も β_2 -mも同じ低分子蛋白であるが、尿中遊離L鎖の上昇は、前報⁷⁾のごとく、intactの免疫グロブリンの破壊によるもの、あるいは、腎糸球体蛍光染色パターン、腎間質の変化、尿蛋白と相関がないことから、腎障害による異化率の低下のためというより、何らかの免疫異常の結果、遊離L鎖の産生増加がおり、血中レベルが尿管管再吸収極量を超えたためにおこったと考えられ、尿中遊離L鎖は、抗核抗体、血清補体価、抗DNA抗体価などと同様に、SLEの活動性の一指標となり得る。一方、尿中 β_2 -mは、SLEの血清学的所見とは相関を認めず、腎間質の局所炎症所見の変化を反映していることから、尿中 β_2 -mの上昇は、腎の尿管管障害による再吸収、異化の低下、あるいは、腎間質への浸潤細胞からの遊離、または、腎間質細胞の破壊などによる尿中への β_2 -mの遊離が主な原因と考えられる。しかし、尿中 β_2 -mが、SLEの活動性と相関をもつ尿中遊離L鎖と相関することから、尿中 β_2 -mの上昇はある程度SLEの免疫異常にも関連を有するものと考えられる。

このように、同じ低分子蛋白でありながら遊離L鎖と β_2 -mは、SLEにおいては、その動態が異なるものと判明した。

結 論

- 1) SLE患者における尿中 β_2 -m値は $440 \pm 779 \mu\text{g/L}$ 、正常人は $40.2 \pm 33.0 \mu\text{g/L}$ で、SLE患者の方が有意に高値を示した($P < 0.01$)。
- 2) SLE患者における尿中 β_2 -m値は、抗核抗体、抗DNA抗体価、血清補体価、血清 γ -gl値とは、有意の相関を示さなかった。
- 3) SLE患者において、腎間質のの変化が中等度以上の群に $500 \mu\text{g/L}$ 以上の尿中 β_2 -m値を示す症例の出現率が有意に高く($P < 0.05$)、一方、腎糸球体の変化とは相関を示さなかったことより、尿中 β_2 -mの増量は、腎間質病変の程度を反

映する所見と考えられた。

尿中遊離L鎖は、腎糸球体および腎間質病変の程度とは相関を示さなかった。

稿を終るにあたり御指導と御校閲を賜った恩師大

藤眞教授に深甚の謝意を表します。また終始多大の御指導と御援助をいただいた宮脇昌二講師に深謝いたします。なお本論文の要旨は1979年第7回日本臨床免疫学会総会にて発表した。

文 献

1. Berggård, I. and Bearn, A.G.: Isolation and properties of a low molecular weight β_2 -globulin occurring in human biological fluids. *J. Biol. Chem.* **243**, 4095—4103, 1968.
2. Poulik, M.D. and Bloom, A.D.: β_2 -microglobulin production and secretion by lymphocytes in culture. *J. Immunol.* **110**, 1430—1433, 1973.
3. Nilsson, K., Evrin, P.E. and Berggård, I.: Involvement of lymphoid and non lymphoid cells in the production of beta 2-microglobulin a homologue of the constant domains of IgG. *Nature (New Biol.)* **244**, 44—45, 1973.
4. Evrin, P.E. and Nilsson, K.: Beta 2-microglobulin production in vitro by human hematopoietic, mesenchymal, and epithelial cells. *J. Immunol.* **112**, 137—144, 1974.
5. Grey, H.M., Kubo, R.T., Colon, S.M., Poulik, M.D., Creswell, D., Springer, T., Turner, M. and Strominger, J.L.: The small subunit of HL-A antigens is β_2 -microglobulin. *J. Exp. Med.* **138**, 1608—1612, 1973.
6. Peterson, P.A., Rask, L. and Lindblom, J.B.: Highly purified papain-solubilized HL-A antigens contain β_2 -microglobulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **71**, 35—39, 1974.
7. 難波義夫：全身性エリテマトーデスにおける尿中の低分子蛋白，第1編尿中遊離 light chain に関する検討。岡山医学会雑誌，**92**，1107—1114，1980。
8. Cohen, A.S., Reynolds, W.E., Franklin, E.C., Kulka, J.P., Ropes, M.W., Shulman, L.E. and Wallace, S.L.: Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* **21**, 643—648, 1971.
9. Evrin, P.E., Peterson, P.A., Wide, L. and Berggård, I.: Radioimmunoassay of β_2 -microglobulin in human biological fluids. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **28**, 439—443, 1971.
10. Phadebas β_2 -micro Test. Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden.
11. 倉田典之，大藤 真：SLE腎炎，臨床免疫，**4**，207—218，1972。
12. Peterson, P.A., Cunningham, B.A., Berggård, I. and Edelman, G.M.: β_2 -microglobulin—a free immunoglobulin domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **69**, 1697—1701, 1972.
13. Cunningham, B.A., Wang, J.L., Berggård, I. and Peterson, P.A.: The complete amino acid sequence of β_2 -microglobulin. *Biochemistry.* **12**, 4811—4822, 1973.
14. Nilson, K., Evrin, R.E. and Welsh, K.I.: Production of β_2 -microglobulin by normal and malignant human cell lines and peripheral lymphocytes. *Transplant. Rev.* **21**, 53—84, 1974.
15. Evrin, R.E. and Pertoft, M.: β_2 -microglobulin in human blood cells. *J. Immunol.* **111**, 1147—1154, 1973.
16. Karlson, F.A.: Physical-chemical properties of beta 2-microglobulins. *Immunochemistry* **11**, 111—114, 1974.
17. Hall, P.W. and Vasiljevic, M.: Beta 2-microglobulin excreted as an index of renal tubular disorders with special reference to endemic Balkman nephropathy. *J. Lab. Clin. Med.* **81**, 897—904, 1973.
18. Evrin, P.E. and Wibell, L.: Serum β_2 -microglobulin in various disorders. *Clin. Chim. Acta.* **43**, 183—186, 1973.

19. Governa, M. and Biguzzi, S.: β_2 -microglobulin distribution in human normal tissues. *Eur. J. Immunol.* **6**, 830—832, 1976.
20. Talal, N., Grey, H.M., Zveifler, N., Michalski, J.P. and Daniels, T.E.: Elevated salivary and Synovial fluid β_2 -microglobulin in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Science* **187**, 1196—1198, 1975.
21. Michalski, J.P., Daniels, T.E., Talal, N., and Grey, H.M.: Beta 2-microglobulin and lymphocytes infiltration in Sjögren's syndrome. *N. Engl. J. Med.* **293**, 1228—1231, 1975.

**Low molecular proteins in the urine of patients
with systemic lupus erythematosus**

Part 2. Measurement of urinary β_2 -microglobulin

Yoshio NAMBA

The Third Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. T. Ofuji)

By the use of radioimmunoassay, urinary β_2 -microglobulin concentration was measured in 49 patients with systemic lupus erythematosus (SLE). The urinary β_2 -microglobulin was significantly elevated in SLE ($p < 0.01$). The level of urinary β_2 -microglobulin did not correlate with the level of serum complement, antibody to DNA or the massive proteinuria. It was associated with urinary free light chain and the degree of renal tubular damage, but not with the glomerular lesions observed in renal biopsy specimens. The elevated level of β_2 -microglobulin in urine was most likely due to increased excretion of β_2 -microglobulin from involved tubulus or direct secretion from lymphocytes infiltrating the interstitium. The measurement of the level of urinary β_2 -microglobulin is useful for estimating the extent of renal interstitial damage in patients with SLE.