

慢性関節リウマチにおける証と血中免疫複合体の関連について

小野 孝彦,*^{a)} 松本 克彦,^{a)} 新井 喜正,^{b)} 吉田 光範,^{b)}
西本 隆,^{b)} 長瀬 千秋,^{b)} 田川 和光,^{a)} 藤岡 晨宏,^{b)}

^{a)}兵庫県立東洋医学研究所, ^{b)}兵庫県立尼崎病院東洋医学科

Relationship between symptom-complex of oriental medicine
and circulating immune complexes

Takahiko ONO,*^{a)} Katsuhiko MATSUMOTO,^{a)} Yoshimasa ARAI,^{b)} Mitsunori YOSHIDA,^{b)}
Takashi NISHIMOTO,^{b)} Chiaki NAGASE,^{b)} Kazumitsu TAGAWA^{a)} and Akihiro FUJIOKA^{b)}

^{a)}Institute for Oriental Medicine, Hyogo

^{b)}Department of Oriental Medicine, Amagasaki Hospital

(Received August 16, 1989. Accepted December 13, 1989.)

Abstract

Eighty-two patients with rheumatoid arthritis (RA) were studied on the relationship between the symptom-complex in traditional Chinese medicine and circulating immune complexes (CIC). Patients were divided in each two groups according to the symptom-complex Ki-shoh (Qi Zheng), Ketsu-shoh (Xue Zheng), and Sui-shoh (Shui Zheng). Pairs of each opposing group were consisted of 8 patients of Ki-shoh to 74 of non-Ki-shoh, 44 of Ketsu-shoh to 38 of non-Ketsu-shoh, and 50 of Sui-shoh to 32 non-Sui-shoh, respectively. No significant difference was observed between each opposing group in IgG, CRP, nor hemoglobin. In contrast, the value of CIC was significantly higher in Ketsu-shoh group than that in non-Ketsu-shoh group. And complement C3 and C4 were significantly lower in Ketsu-shoh group than in non-Ketsu-shoh group. Present data suggest that CIC participate in the expression of Ketsu-shoh and may activate the complement in classical pathway in RA patients.

Key words rheumatoid arthritis, circulating immune complex, complement.

Abbreviations RA, rheumatoid arthritis; CIC, circulating immune complex; Ki-shoh (Qi Zheng), 気証; Ketsu-shoh (Xue Zheng), 血証; Sui-shoh (Shui Zheng), 水証.

緒 言

病態を認識する東洋医学的な概念として、証がある。そのなかで気、血、水の概念^{1,2)}が知られている。証を生体が発現する背景には、疾病に対する生体の何らかの応答が存在しているものと思われる。実際の漢方治療においては、「証に随って」³⁾処方を選択することが多く、証と疾患の間のメカニズムを明らかにすることが望まれるが、現在の段階では必

ずしも十分ではない。我々は、慢性関節リウマチ (RA) における証の発現のメカニズムを明らかにすることを目的として、RA が免疫異常を呈する疾患であることから、血中免疫複合体 circulating immune complex (CIC) などの免疫学的な検討を行った。

対象と方法

(1) 対象：兵庫県立尼崎病院東洋医学科ならびに

*〒660 尼崎市東大物町1-1-1
1-1-1 Higashidaimotsu-cho, Amagasaki City,
Hyogo 660, Japan

兵庫県立東洋医学研究所に通院中または入院中で、アメリカリウマチ協会の診断基準（1958）において definite 以上の RA 患者82例であり、健常者19例についても対照として比較した。東洋医学的分類として、熱、寒、陰虚、水湿、血虚、瘀血、気虚、気滞の項目に分類した。証の弁別にあたっては中医学ならびに日本の漢方医学の教科書の記載^{1,2)}に基づき、東洋医学担当医師の四診により行った。そして、あらかじめ採血時にこれらの項目に相当するものを3個以内で選択した。同時に血液、生化学、血清学的検査を実施するとともに、血清の一部を-70℃にて保存した。

(2) 方法：全検体の CIC の測定は後日、Clq solid phase ELISA により同一時に行った。測定に用いた Clq は Yonemasu & Stroud⁴⁾ の方法により分離した。分離した Clq は免疫二重拡散法や免疫電気泳動法で純度を確認した。Clq solid phase ELISA は、Singii, V.K. ら⁵⁾ の方法を参考にし、一部改変して行った。96穴のマイクロタイタートレイの各ウェルに、30 μ g/ml の濃度の Clq を 100 μ l 加え、4℃ 22時間で付着させた。PBS-Tween で3回洗浄のち、PBS-Tween BSA (3%) で4℃ 3時間ブロック。吸引のち、standard としての熱凝集ヒト γ -globulin (AGG)、あるいは被検血清を 0.2 M EDTA-2Na (pH 7.5) とともに加えた。Incubation, 洗浄のち、一夜 PBS-Tween BSA でブロック。吸引のち、アルカリフォスファターゼ標識の抗ヒト IgG やギ F(ab')₂ 抗体を反応させた。Incubation, 洗浄のち、0.05 M 炭酸緩衝液 (pH 9.6) に溶解した *p*-nitrophenylphosphate (1 mg/ml) にて発色させ、405 nm における吸光度を Titertek Multiskan にて測定した。

IgG, 補体 C3, C4 は、レーザーネフェロメトリー法 (ハイランド社), CRP は毛細管法 (栄研化学), ヘモグロビンは CC-720 (東亜社) のシステムを用いて測定した。

(3) 統計学的検討：気虚と気滞、血虚と瘀血、陰虚と水湿はそれぞれ対応する概念であるが、単独ないしは、時として両者が同一患者において認められることしばしばであるので、今回の検討では、気証として気虚 and/or 気滞の項目の群とし、血証として血虚 and/or 瘀血の項目の群とし、水証として陰虚 and/or 水湿の項目の群とした。統計学的検討は *t* 検定および Wilcoxon の順位和検定を用いた。

結 果

82例の RA 患者群は、8例の気証群と74例の non

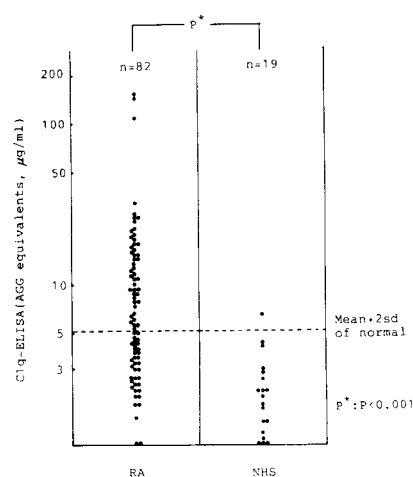


Fig. 1 Circulating immune complexes both in patients and healthy volunteers. The value in patients group is significantly higher than that in control group ($p < 0.01$). RA : rheumatoid arthritis, NHS : normal human serum, Clq-ELISA : value of circulating immune complexes detected by Clq solid phase ELISA.

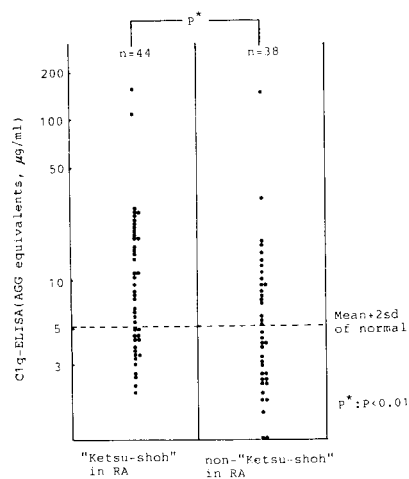


Fig. 2 Comparizon of the circulating immune complexes between Ketsu-shoh group and non-Ketsu-shoh group. The value in Ketsu-shoh group is significantly higher than that in non-Ketsu-shoh group ($p < 0.01$). RA : rheumatoid arthritis, Clq-ELISA : value of circulating immune complexes detected by Clq solid phase ELISA.

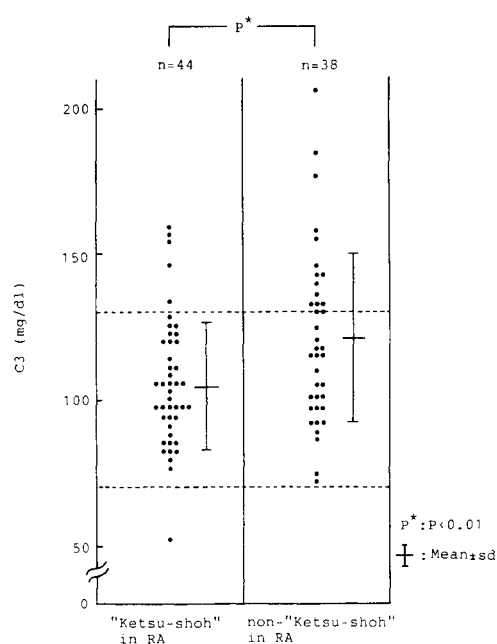


Fig. 3 Comparison of C3 between Ketsu-shoh group and non-Ketsu-shoh group. C3 in Ketsu-shoh group is significantly lower than that in non-Ketsu-shoh group ($p < 0.01$). C3 in non-Ketsu-shoh group in RA is rather elevated comparing with the normal range. The normal range is indicated with the dotted lines. RA : rheumatoid arthritis.

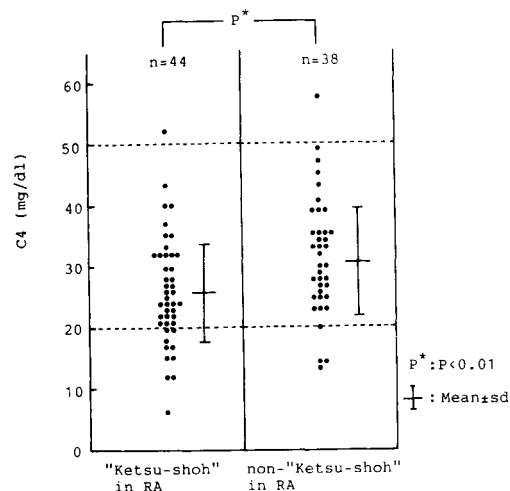


Fig. 4 Comparison of C4 between Ketsu-shoh group and non-Ketsu-shoh group. C4 in Ketsu-shoh group is significantly lower than that in non-Ketsu-shoh group ($p < 0.01$). C4 in Ketsu-shoh group in RA is also decreased comparing with the normal range. The normal range is indicated with the dotted lines. RA : rheumatoid arthritis.

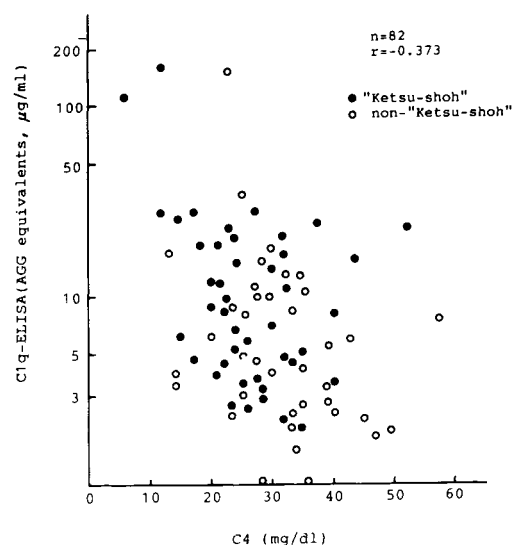


Fig. 5 The relationship between circulating immune complexes and C4 in RA. Patients with high value of immune complexes tend to have low value of C4. Clq-ELISA : value of circulating immune complexes detected by Clq solid phase ELISA.

気証群、44例の血証群と38例のnon血証群、50例の水証群と32例のnon水証群に分類された。

82例のRA患者群全体では、19例の健常者群に比べて、CIC値が有意に高かった ($p < 0.01$, Fig. 1)。健常者群における $m + 2sd$ は $5 \mu g eq AGG/ml$ であり、これを越えたものを陽性とすれば82例中46例 (56%) が陽性であった。

各群間におけるCIC値を比較してみると、血証群では、non血証群より有意に高値であった ($p < 0.01$, Fig. 2)。これに対し、気証群とnon気証群、水証群とnon水証群では、いずれも有意の差を認めなかった。

補体C3、C4は、血証群ではnon血証群よりも有意に低値であった (いずれも $p < 0.01$, Fig. 3, 4)。さらに、C3よりもC4において、血証群での低下が強い傾向にあった。正常範囲との比較ではnon血証群のC3がむしろ上昇していたのに対し、血証群のC4は低下していた。気証群とnon気証群、水証群とnon水証群では、いずれも有意の差を認めなかった。

補体C4とCICの間には、有意の相関関係は認められなかったものの、CIC高値を呈する症例では、C4は低値となる傾向があった (Fig. 5)。

IgG、CRP、ヘモグロビンは対応する各群間において有意の差を認めなかった。

考 察

抗原抗体結合物で形成される、免疫複合体を認める疾患は、膠原病、糸球体腎炎、悪性腫瘍など種々のものが知られ、これらの疾患における免疫複合体の病因論的役割について、今まで各種の報告がなされている^{6,7)}。また CIC は RA の disease activity と比較的によく相関し、また関節外症状を伴った RA では、伴わない RA に比べて CIC が高値であることなどが知られている⁸⁾。

一方、東洋医学的な気、血、水の病態は、患者の全身的な症状を反映しているものと考えられる。RA 患者の証の分布について森田らは⁹⁾、寒湿証を呈するものが多いと報告している。実際の臨床治療において Terasawa K. ら¹⁰⁾や長瀬らは¹¹⁾、麻黄、茯苓、蒼朮、薏苡仁といった駆水作用を持つ生薬を含んだ処方の治療効果を示し、さらに今田屋は¹²⁾ RA には瘀血を伴うさまざまな症状も多く併存しているので、桂枝茯苓丸や当帰芍薬散などの駆瘀血剤を適宜併用する必要性を述べている。

今回我々は、RA における東洋医学的な証と CIC の関連について検討した。なお、RA に関するアメリカリウマチ協会の診断基準については、1987年に新基準が出されているが、この基準が本邦でも受け入れられるのか否か、現在まだ検討の段階であり¹³⁾、今回の我々の検討においては、1958年の旧診断基準によった。

RA 患者群全体では、健常者群に比べて CIC 値が有意に高く、56%の陽性率であり、これは粕川¹⁴⁾の結果とよく一致した。

気証、血証、水証の各群と、これらに対応する non 気証、non 血証、non 水証の各群間において、IgG、CRP、ヘモグロビンは、有意の差を認めなかったにもかかわらず、CIC は血証群では non 血証群よりも有意に高く、C3、C4 は血証群においては non 血証群よりも有意に低かったことから、RA における血証の病態の発現に関し、免疫学的な異常が関与することが示唆された。血中ヘモグロビン濃度は血色素として、舌や皮膚、粘膜の色などに影響する可能性があるが、血証と non 血証の間では有意の差は認められなかった。

また、CIC が血証群と non 血証群の間で有意な違いを認めたにもかかわらず、IgG は両群間で差がなかった。このことは抗体としての IgG の総量よりも、抗原抗体結合物として活性を有する CIC の方が、病態の発現に関与するものと思われる。

さらに補体系は、正常範囲との比較では non 血証群の C3 はむしろ上昇していたのに対して、血証群の C4 は低下していた。血中の補体の量は、生産と消費の両者の間のバランスによって決まるとされているが、non 血証群では相対的に C3 の生産が亢進し、C4 は生産と消費がほぼ等しく、これに対し血証群では C3 の消費と生産がつりあい、C4 は消費が亢進しているものと考えられた。また、CIC 高値を呈する症例では、C4 は低値となる傾向があったことから、CIC による補体の活性化と消費、ことに classical pathway の活性化を伴った関与が考えられた。RA の特殊な型としては、血管炎を伴う悪性関節リウマチ (MRA) があるが、MRA では CIC が高値となることが知られており、また、C4 の低下も報告されている¹⁵⁾。我々が今回検討した症例の中にも、組織診断により確定診断を下した 2 例の MRA 患者が含まれており、いずれも血証群に属していた。血証を呈する RA 患者は、MRA の準備状態を呈しているとも考えられ、RA の臨床においては、証を検討することが、さらに RA の病態を理解し、適切な治療を行う手がかりの 1 つとなり得るものと思われる。

血証の病態の発現に関して、CIC が関与するメカニズムの可能性としては、血中の CIC が増加するとともに、それに直接、接している血管内皮の障害や、あるいは CIC が血液凝固の第 12 因子である Hageman 因子を活性化し、さらに、血液凝固を亢進させるトロンビン系の活性化を引き起こすことが考えられた。また Hageman 因子が血管の拡張や透過性亢進に関係するキニン系にも作用する¹⁶⁾ ことなども関与する可能性があると思われる。

漢方治療による CIC の動態について、花輪ら¹⁷⁾はネフローゼ症候群等に対する漢方治療により、CIC が減少もしくは消失した例を報告している。また我々もすでに、RA の漢方治療により CIC が減少する傾向を認めている¹⁸⁾。今後さらに、漢方治療による証の変動や、さらにそれに伴う CIC の挙動との関連についても検討を行いたい。

結 論

① CIC は血証群では non 血証群よりも有意に高かった。

② C3、C4 は血証群では non 血証群よりも有意に低かった。

③ RA における東洋医学的な血証の病態の発現に関して、CIC の関与が示唆された。

文 献

- 1) “中医学基礎”(上海中医学院編, 神戸中医学研究会訳), 燎原書店, 東京, pp. 46-58, 205-214, 255-275, 1977.
- 2) 藤平 健, 小倉重成: “漢方概論,” 創元社, 大阪, pp. 84-100, 1979.
- 3) 尾台榕堂: “類聚方廣義,” 燎原書房, 東京, p. 3, 1972 (復刻).
- 4) Yonemasu, K. and Stroud, R.M.: Clq: Rapid purification method for preparation of monospecific anticera and for biochemical studies. *J. Immunol.* **106**, 304-313, 1971.
- 5) Singii, V.K. and Tingle A.J.: Detection of circulating immune complexes by a Clq-microplate ELISA system. *J. Immunol. Methods* **50**, 109-114, 1982.
- 6) Dixon, F.J.: The role of antigen-antibody complexes in disease. *Harvey Lect.* **58**, 21-52, 1963.
- 7) Cochrane, C.G. and Koffler, D.: Immune complex disease in experimental animals and man. *Adv. Immunol.* **16**, 185-264, 1973.
- 8) Mallya, R.K., Vergani, D., Tee, D.E.H., Bevis, L., DeBeer, F.C., Berry, H., Hamilton, E.D.B., Mace, B.E. W. and Pepys, M.B.: Correlation in rheumatoid arthritis of concentrations of plasma C3d, serum rheumatoid factor, immune complexes and C-reactive protein with each other and with clinical features of disease activity. *Clin. exp. Immunol.* **48**, 747-753, 1982.
- 9) 森田瑞枝, 稲垣克彦, 金谷高志, 安倍政利, 荻田善一: リウマチ患者集団と健常者集団における証の分布の比較. 和漢医薬学会誌 **2**, 116-117, 1985.
- 10) Terasawa, K. and Imadaya A.: Therapeutic effect of Sino-Japanese (Kampoh) medicine on rheumatoid arthritis. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **2**, 439-445, 1985.
- 11) 長瀬千秋, 野々井康治: 慢性関節リウマチの漢方と鍼灸による治療の検討 (第1報). 日東洋医雑誌 **34**, 27-36, 1983.
- 12) 今田屋章: 慢性関節リウマチの漢方療法. 治療学 **17**, 490-495, 1986.
- 13) 廣瀬俊一: 慢性関節リウマチ. 現代医療 **21**, 1331-1334, 1989.
- 14) 粕川禮司: 免疫複合体の測定法—Clq および抗—抗体法を中心として—. 臨床病理 **33** (補冊), 72, 1985.
- 15) Franco, A.E. and Schur, P.H.: Hypocomplementemia in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **14**, 231-238, 1971.
- 16) 竹村周平, 近藤元治: 凝固・線溶・キニン系と補体. 日本臨床 **46**, 1981-1986, 1988.
- 17) 花輪寿彦, 田中盛久, 丁 宗鉄: 漢方治療と循環免疫複合体の動態 (1). 和漢医薬学会誌 **3**, 378-379, 1986.
- 18) 小野孝彦, 松本克彦, 甲斐千恵, 西本 隆, 新井喜正, 田川和光, 藤岡農宏: 慢性関節リウマチの漢方治療における血中免疫複合体の変動. 和漢医薬学会誌 **3**, 418-419, 1986.