

Table 2. Oligonucleotide primer sequences.

PCR products		Oligonucleotide sequence	Product size (bp)	RT-PCR cycles
β-actin				
First PCR	5' sense	GGCATCCTCACCTGAAGTA	496	25
	3' anti-sense	CCATCTCTTGCTCGAAGTCC		
Nested PCR	5' sense	AAATCTGGCACCACACCTTC	262	25
	3' anti-sense	AGGGCATACCCCTCGTAGAT		
TCR-Cβ				
First PCR	5' sense	ACATAAGGAAGGCTGCATGG	249	30
	3' anti-sense	CGTTTTGATCATGGTGTGTGG		
Nested PCR	5' sense	ATCAGGTGTGTGGACTTTG	217	30
	3' anti-sense	GACTCAGGACAGTGACATCA		
IFN-γ				
First PCR	5' sense	TCTGCATCGTTTTGGGTTCTC	346	25
	3' anti-sense	TCAGCTTTTCGAAAGTCATCTC		
Nested PCR	5' sense	TGTTACTGCCAGGACCCATAT	242	30
	3' anti-sense	ACTCTTTTGATGCTCTGGTC		
IL-2				
First PCR	5' sense	ACTACCAGGATGCTCACATT	267	25
	3' anti-sense	AAGGTAATCCATCTGTTTCAGA		
Nested PCR	5' sense	GCCACAGAAGTAAACATCTT	201	30
	3' anti-sense	TTCTACAATGGTTGCTGTCTC		
IL-4				
First PCR	5' sense	CTTCCCCTCTGTTCTTCCT	318	25
	3' anti-sense	TTCTGTGCGAGCCGTTTCAG		
Nested PCR	5' sense	CTAGCATGTGCCGGCAACTTT	273	25
	3' anti-sense	TGGATCAGCTGCTTGTGCCT		
IL-10				
First PCR	5' sense	ACAGCTCAGCACTGCTCTGT	327	30
	3' anti-sense	AGTTCACATGCGCCTTGATG		
Nested PCR	5' sense	CCCAGTCTGAGAACAGCTGCAA	210	30
	3' anti-sense	CTGGGTCTTGGTTCTCAGCTT		
IL-13				
First PCR	5' sense	CTATGCATCCGCTCCTCAAT	391	30
	3' anti-sense	TTTACAAACTGGGCCACCTC		
Nested PCR	5' sense	ATTGCTCTCACTTGCCTTGG	229	25
	3' anti-sense	TCTGTGGGTCTTCTCGATC		
IL-17				
First PCR	5' sense	CTTACCTGTGGAACGAAT	262	30
	3' anti-sense	CGGAATTGGTTCTGGAGTGT		
Nested PCR	5' sense	GAGCACATGCACCACATAACC	170	25
	3' anti-sense	AGGAAACAGTCGCGGAGTGT		

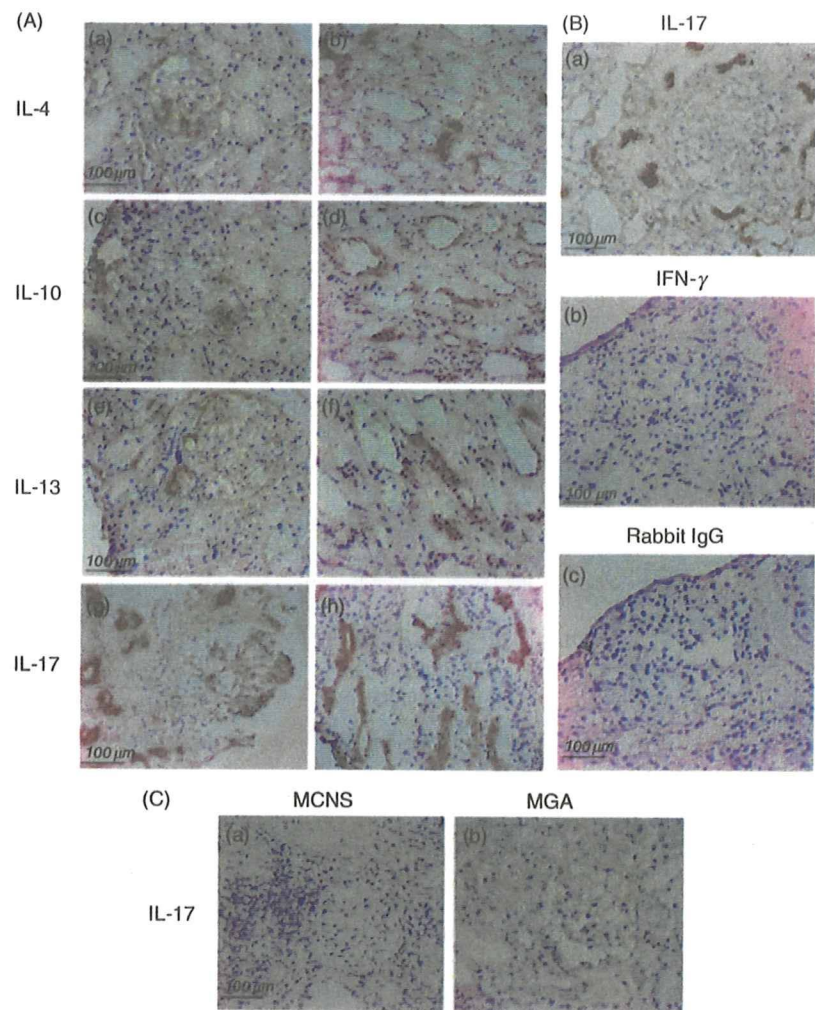
RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction; TCR-Cβ: T cell receptor β chain; IL: interleukin; IFN-γ: interferon-gamma; bp: base pairs.

Table 3. Positivity of cytokines in glomeruli and interstitium (%).

	Glomeruli			Interstitium		
	Class III predominant	Class IV predominant	Class V	Class III predominant	Class IV predominant	Class V
IL-2	19.7 ± 10.3	23.7 ± 20.3	44.6 ± 12.8	25.6 ± 10.5	2.8 ± 21.7	27.9 ± 12.3
IFN-γ	32.3 ± 12.9	n.d.	24.0 ± 10.0	3.1 ± 3.8	n.d.	1.3 ± 1.6
IL-4	88.6 ± 9.1	80.4 ± 13.5	85.7 ± 7.1	90.6 ± 7.5	84.6 ± 13.5	70.9 ± 16.7
IL-10	67.2 ± 5.1	67.7 ± 14.3	70.0 ± 10.3	70.5 ± 6.4	84.3 ± 6.5	79.8 ± 8.1
IL-13	60.6 ± 15.7	47.6 ± 20.5	62.3 ± 9.3	52.0 ± 9.2	41.5 ± 13.4	62.3 ± 7.6
IL-17	44.7 ± 5.9	64.7 ± 10.1*	70.7 ± 6.0*	48.0 ± 4.2	69.1 ± 8.9*	62.6 ± 12.3

**P* < 0.05 versus Class III-predominant groups. Results are expressed as mean ± standard error of the mean. Statistical significance was determined using the Mann-Whitney *U*-test. IL; interleukin; IFN-γ: interferon-gamma; n.d.: not determined.

Fig. 1. Detection of T cells in glomeruli and interstitium. (A) Stained interleukin (IL)-4, IL-10, IL-13 and IL-17 were observed in glomeruli and interstitium areas of the Class IV-predominant groups. Many IL-4 cells are observed prominently, mainly in the cells infiltrating into the glomeruli and interstitium areas, especially in intraglomerular infiltrating cells. There are only a few IL-4 cells in the tubular epithelial cells (TEC) (a, b). IL-10 and IL-13 cells are observed prominently in some of the cells infiltrating into the glomeruli and interstitium areas (c–f). Some stained IL-10 cells were observed in TEC (d). Many IL-17 cells are observed prominently, mainly in the cells infiltrating into the glomeruli, interstitium areas and TEC (g, h), especially in intraglomerular cells and TEC (g) (original magnification $\times 100$ in a–h). (B) In the Class III-predominant group, some stained IL-17 cells were observed in TEC but almost no IL-17-positive cells were observed in glomeruli (a). Interferon (IFN)- γ cells were not observed in all the specimens (b). Normal rabbit immunoglobulin (IgG) was stained as negative control (c) (original magnification $\times 100$). (C) IL-17-positive cells were not observed in all the specimens of minor glomerular abnormalities (MGA) and minimal change nephrotic syndrome (MCNS) (a, b) (original magnification $\times 100$).



cytokines and clinical parameters in SLE patients, such as the urine protein (UP) level, haematuria, blood urea nitrogen (BUN) level, serum creatinine (Cr) level, creatinine clearance (Ccr), 50% haemolytic unit of complement serum (CH50), anti-double-strand DNA (anti-ds DNA) antibodies, SLEDAI scores, histological AI and CI (Table 4). Good and significant correlation data are shown in Fig. 3.

Correlation between Th1 cytokine and clinical parameters. In glomeruli, as known from the tendency of the point distribution on the charts, the parameters, BUN ($r = 0.27$), Ccr ($r = 0.31$), AI ($r = -0.28$), CI ($r = 0.39$) and SLEDAI ($r = -0.21$) ($P < 0.05$) showed a weak correlation with the expression level of IL-2 (Table 4). The expression level of IL-2 showed a good correlation with anti-ds DNA antibodies ($r = -0.53$, Fig. 3Aa) and a significant correlation with CH50 ($r = 0.80$, $P < 0.001$, Fig. 3Ab). In the interstitium, haematuria ($r = -0.36$), BUN ($r = -0.24$), Cr ($r = -0.35$) and CH50 ($r = 0.37$) showed a weak correlation with the expression level of IL-2 (Table 4); Ccr ($r = 0.63$) and CI ($r = 0.404$)

showed a good correlation with the expression level of IL-2 (Fig. 3Ac, d).

Correlation between Th2 and clinical parameters. In the glomeruli, haematuria ($r = 0.44$), BUN ($r = -0.44$), Cr ($r = -0.41$) and CI ($r = -0.59$) showed a good correlation with the expression level of IL-4 (Fig. 3Ba–d); SLEDAI ($r = -0.36$) and AI ($r = -0.26$) showed a weak correlation with IL-4 (Table 4). The expression level of IL-10 showed a weak correlation with haematuria ($r = -0.23$), BUN ($r = -0.39$), Ccr ($r = 0.27$), CI ($r = 0.28$) and CH50 ($r = 0.31$). However, there was almost no finding that showed any correlation with the expression level of IL-13 except for BUN ($r = -0.21$), AI ($r = -0.32$) and CH50 (Table 4).

In the interstitium, there was a weak correlation in the expression level of IL-4 with haematuria ($r = 0.24$), CH50 ($r = -0.34$), AI ($r = 0.22$), CI ($r = -0.33$) and anti-ds DNA antibodies ($r = 0.28$) (Table 4). IL-10 showed a good correlation with UP ($r = 0.59$) (Fig. 3Be) and a weak correlation with SLEDAI ($r = -0.26$) (Table 4). The percentage of IL-13

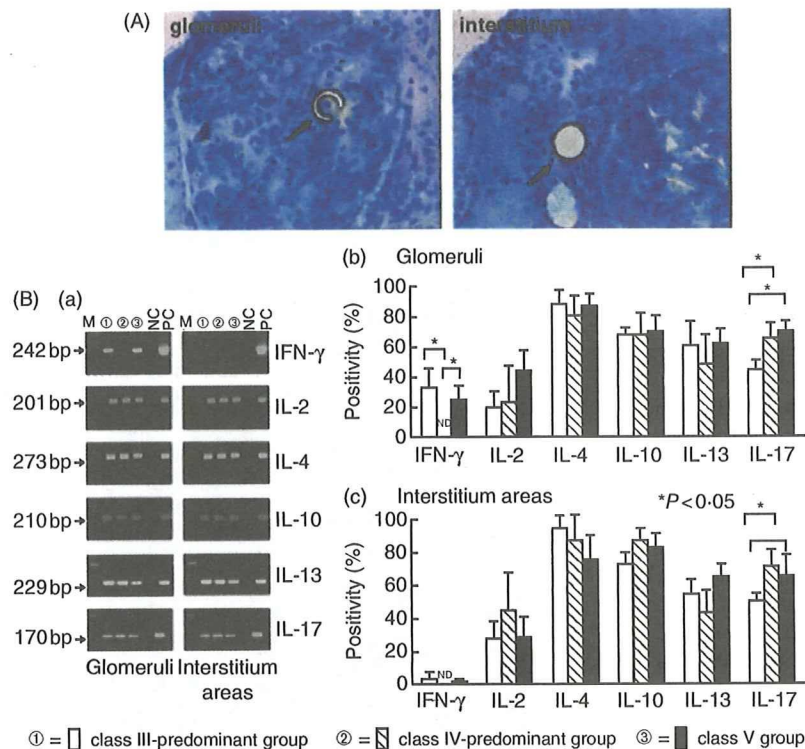


Fig. 2. (A) Targeted infiltrating cells selected and cut by laser microdissection (LMD). The glomeruli and interstitium areas of a single infiltrating cell (black arrows) were selected and dissected with a laser microbeam one by one. (B) Analysis of cytokine gene expression in lesions. (a) Detection of cytokines in the lesions of the renal biopsy specimens from the patients by nested polymerase chain reaction (PCR). Specific expression of interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-2, IL-4, IL-10, IL-13 and IL-17 were identified in the lesions of the glomeruli and interstitium areas from the renal biopsy specimens of the patients in the Class III-predominant groups ($n = 4$), Class IV-predominant groups ($n = 7$) and Class V groups ($n = 4$). M: molecular size marker; NC: negative control; PC: positive control cDNA clone. (b) Expression of IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 and IL-17 mRNAs in the glomeruli areas of the Class III-predominant (white bars), Class IV-predominant (hatched bars) and Class V (black bars) groups was analysed by nested reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). (c) Expression of IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 and IL-17 mRNAs in the interstitium areas of the Class III-predominant (white bars), Class IV-predominant (hatched bars) and Class V (black bars) groups was analysed by nested RT-PCR (n.d. = not determined). The number of positive samples is shown as a percentage. Error bars represent \pm standard error. $P < 0.05$, by Mann-Whitney U -test.

samples showed a weak correlation with UP ($r = -0.35$), haematuria ($r = -0.31$) and Ccr ($r = 0.37$) (Table 4), and a good correlation with BUN ($r = -0.68$), Cr ($r = -0.49$), CH50 ($r = 0.48$), AI ($r = -0.54$) and anti-ds DNA antibodies ($r = -0.43$) (Fig. 3C).

Correlation between Th17 and clinical parameters. In the glomeruli, UP ($r = 0.33$), AI ($r = 0.26$), CI ($r = -0.34$) and BUN ($r = 0.26$) showed a weak correlation with the expression level of IL-17 (Table 4). Haematuria ($r = 0.54$) and SLEDAI ($r = 0.54$) showed a significantly positive correlation with the expression level of IL-17 (Fig. 3Da, b). In the interstitium, the positive IL-17 samples showed a weak correlation with BUN ($r = 0.37$), Cr ($r = 0.38$), AI ($r = 0.29$), CI ($r = -0.27$) and Ccr ($r = -0.36$) (Table 4), and a good correlation with haematuria ($r = 0.47$) and SLEDAI ($r = 0.54$) (Fig. 3Da, b). In particular, focusing upon patients whose SLEDAI scores are more than 10, there is a highly significant

correlation between SLEDAI scores and the expression levels of IL-17 both in the glomeruli ($r = 0.81$, $P < 0.05$) and the interstitium ($r = 0.87$, $P < 0.001$) (Fig. 3Dc).

Discussion

A cytokine balance of T helper cells in the kidneys of LN patients has drawn a great deal of attention [5,6]. We analysed the single-cell cytokine profile of the samples from the LN patients, including IL-13 and IL-17, by LMD. We observed the predominance of the Th2 cytokine both in the glomeruli and the interstitium; this corresponds to the results of the study using whole kidneys by Murata *et al.* [6]. However, IFN- γ was observed only in the glomeruli of the ISN/RPS Class III-predominant and Class V groups. Chan *et al.* [19] reported that up-regulation of IFN- γ , IL-2 and T-bet (the Th1 transcription factor) was observed and no difference was observed in glomerular expression level of any

Table 4. Correlation between the levels of cytokines and clinical parameters.

	Glomeruli									
	SLEDAI	CH50	ADNA	haematuria	Cr	BUN	AI	CI	UP	Ccr
IL-2	-0.214*	0.795***	-0.53**	0.363*	0.114	-0.27*	-0.279*	0.387*	0.045	0.31*
	0.049	0.002	0.018	0.046	0.242	0.047	0.047	0.045	0.435	0.047
IL-4	-0.361*	-0.065	0.016	-0.437**	-0.405*	-0.441**	-0.262*	-0.591**	-0.115	-0.095
	0.046	0.592	0.47	0.042	0.041	0.044	-0.048	0.01	0.34	0.367
IL-10	-0.156	0.308*	0.194	-0.231*	0.019	-0.391*	-0.091	0.282*	0.187	0.265*
	0.268	0.047	0.143	0.048	0.472	0.045	0.626	0.046	0.049	0.047
IL-13	0.001	0.342*	-0.192	0.162	0.023	-0.213*	-0.319*	0.022	0.038	0.127
	0.499	0.047	0.045	0.146	0.467	0.049	0.047	0.531	0.445	0.325
IL-17	0.541**	0.123	-0.157	0.543**	0.029	0.264*	0.227*	-0.341*	0.333*	0.007
	0.017	0.33	0.278	0.018	0.458	0.049	0.049	0.046	0.047	0.488
	Interstitialium									
	SLEDAI	CH50	ADNA	haematuria	Cr	BUN	AI	CI	UP	Ccr
IL-2	-0.125	0.37*	-0.175	-0.362*	-0.348*	-0.24*	0.173	0.404**	0.154	0.63**
	0.327	0.045	0.265	0.046	0.046	0.048	0.268	0.037	0.29	0.016
IL-4	0.178	-0.34*	0.279*	-0.24*	-0.168	0.07	0.221*	-0.333*	-0.062	-0.084
	0.262	0.046	0.047	0.044	0.273	0.401	0.048	0.046	0.413	0.381
IL-10	-0.26*	-0.116	-0.02	-0.094	0.207	0.037	0.195	0.061	0.586**	-0.058
	0.047	0.339	0.471	0.369	0.059	0.447	0.091	0.414	0.012	0.418
IL-13	0.058	0.483**	-0.436**	0.31*	-0.486**	-0.675**	-0.541**	-0.117	-0.35*	0.371*
	0.418	0.033	0.025	0.047	0.039	0.002	0.018	0.338	0.047	0.046
IL-17	0.544**	-0.134	0.476*	0.471*	0.379*	0.374*	0.294*	-0.273*	-0.028	-0.364*
	0.018	0.316	0.036	0.038	0.045	0.042	0.047	0.048	0.459	0.047

Correlation between clinical parameters and cytokines was assessed by using the Pearson correlation coefficient test (r -value showed in up, $*r = 0.2-0.4$, weak correlation; $**r = 0.4-0.7$, good correlation; $***r = 0.7-0.9$, significant correlation. P -value showed in down). UP: urine protein; RBC/HPF: red blood cell/high power field; BUN: blood urea nitrogen; Cr: serum creatinine; Ccr: creatinine clearance; ADNA: anti-double-stranded DNA; CH50: 50% haemolytic unit of complement serum; SLEDAI: systemic lupus erythematosus Disease Activity Index; AI: activity index score; CI: chronicity index; IL: interleukin.

target genes between the WHO Classes. However, as they reported, they did not analyse at a single-cell level; therefore, they could not identify the cellular origin of the detected mRNA, which is likely to be the reason for the discrepancy between their results and our results. Morimoto *et al.* [8] reported that Th2 predominance in the peripheral blood might induce renal lesions, and the co-existence of Th1 and Th2 might cause haemolytic anaemia or pulmonary lesions in SLE patients. Our result demonstrates that Th1 has a role in protecting the kidneys of LN patients; this corresponds to the results of the experiments on the peripheral blood of the SLE patients reported by Morimoto *et al.* Although, conventionally, it was believed that enhanced Th1 cell activation and IFN- γ production might contribute to the development of autoimmune diseases [26,27], certain findings have exploded this general hypothesis. For example, experimental autoimmune nephritis and collagen-induced arthritis (CIA) was exacerbated in mice treated with anti-IFN- γ -neutralizing antibodies and in IFN- γ -deficient or IFN- γ receptor-deficient mice [28]. Haas *et al.* [29] reported that IFN- γ might play a key role in suppressing the development of nephritis in MRL/lpr mice (SLE models).

In addition to the helper T cells classified into Th1 and Th2 types, another helper T cell subset, Th17, has been discovered recently [9]. It has been observed that IL-17 has a proinflammatory role in many inflammatory conditions [9], contributing to the pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, including SLE [30].

Elevated concentrations of proinflammatory cytokines (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) in the SLE patients were reported [31]. Dong *et al.* [32] reported that the cultured peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of LN patients stimulated by IL-17 produced significantly high levels of IL-6, IgG and anti-ds DNA antibodies. However, IL-17 did not increase them in cultured PBMC of normal controls [32]. Crispin *et al.* [33] have demonstrated that CD3⁺ CD4⁺ CD8⁻ double-negative (DN) T cells from SLE patients produce significant amounts of IL-17 and IFN- γ . Furthermore, IL-17⁺ and DN T cells are found in renal biopsy specimens from LN patients. In our study, we have confirmed successfully the production of IL-17 in infiltrating T cells in the kidneys (glomeruli and interstitiums) of the LN patients at a single-cell level. This suggests that IL-17 may play an important role in the LN patients. It was reported

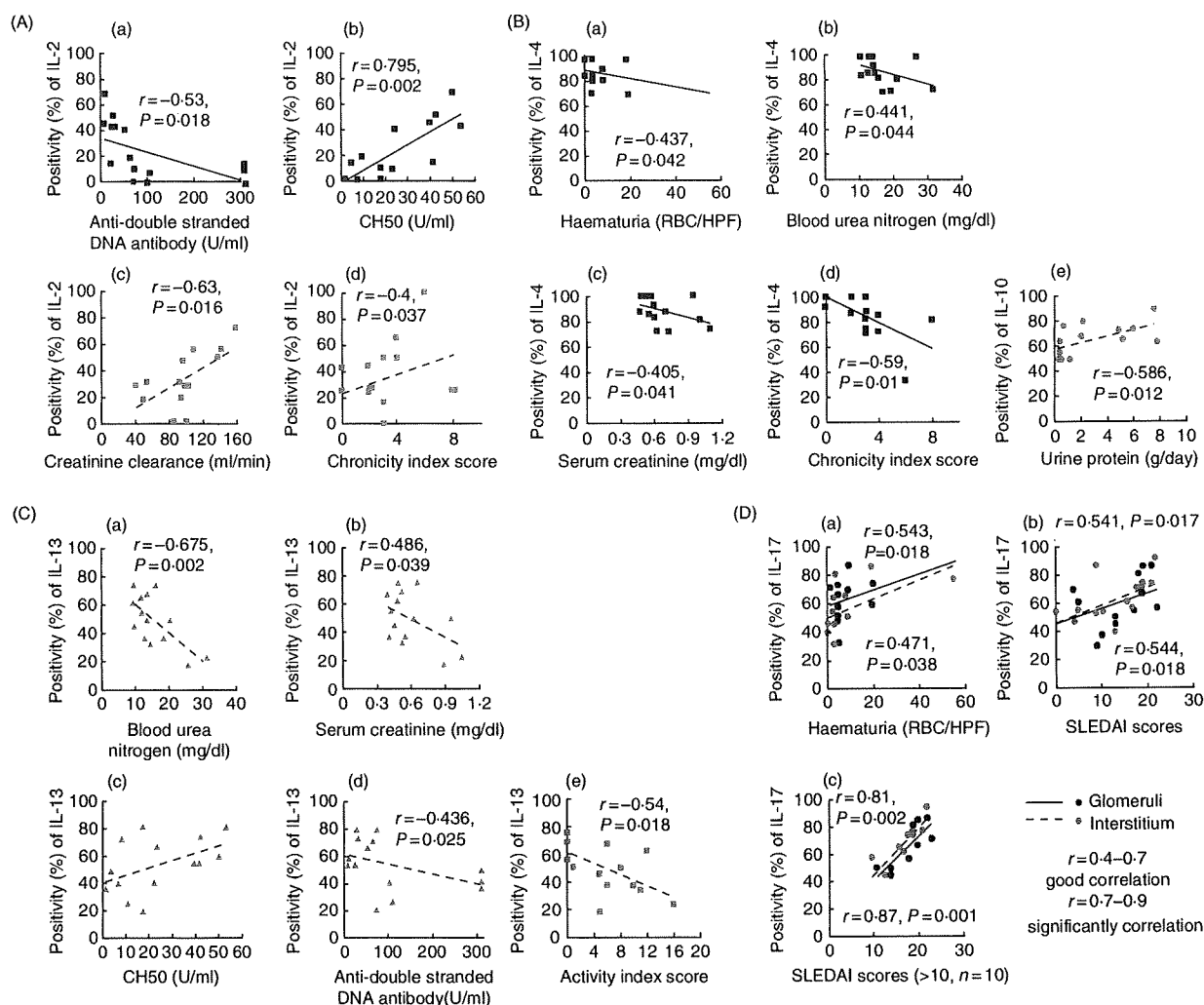


Fig. 3. Correlation between T helper type 1 (Th1), Th2 and Th17 cytokines and clinical and laboratory parameters in systemic lupus erythematosus (SLE). (A) Correlation between the levels of Th1 cytokine interleukin (IL)-2 and anti-double-strand (ds) DNA antibodies (a), 50% haemolytic unit of complement serum (CH50) (b), creatinine clearance (c) and chronicity index score (d) in glomeruli (black full line and points) and interstitium (black dashed line and grey points). (B) Correlation between the levels of Th2 cytokines—IL-4 and haematuria (a), blood urea nitrogen (b), serum creatinine (c) and chronicity index score (d) in glomeruli (black full line and points). Correlation between the levels of IL-10 and urine protein in interstitium (black dashed line and grey points). (C) Correlation between the levels of IL-13 and blood urea nitrogen (a), serum creatinine (b), 50% haemolytic unit of complement serum (CH50) (c), anti-ds DNA antibodies (d) and Activity Index scores (e) in interstitium. (D) Correlation between the levels of Th17 cytokine (IL-17), haematuria (a) and SLE Disease Activity Index (SLEDAI) scores (b) in glomeruli (black full line and points) and interstitium (black dashed line and grey points). Correlation between the level of IL-17 and SLEDAI scores (> 10) in glomeruli and interstitium (c). A simple linear regression analysis was used to evaluate the correlation between the two parameters, $P < 0.05$.

that cyclosporine A might inhibit the production of IL-17 in the healthy control and RA patient groups [34]. Cyclosporine A also inhibits IL-15-induced IL-17 production in the CD4⁺ T cells through down-regulation of PI3K/Akt and nuclear factor-kappa B (NF-κB) [35]. Inhibition of IL-15-induced IL-17 production by tacrolimus was also observed in CD4⁺ T cells [35]. It may be considered that the inhibition of IL-17 is an important mechanism of the efficacy of these two kinds of calcineurin inhibitors in the steroid-resistant LN patients.

To confirm cytokine production in the kidney by RT-PCR, we conducted immunohistochemical experiments. The production of IL-13 and IL-17 were also observed by immunohistochemistry. Stained IL-17-positive cells were observed not only in the glomeruli or interstitiums, but also in the tubular epitheliums of LN patients (Fig. 1). Crispin *et al.* [33] reported that IL-17-positive cells were found by immunofluorescence mainly in the tubule-interstitial zone, the area where cellular infiltration is mainly found. We made stains for IL-17-positive cells with anti-human IL-17 in

the specimens from MGA and MCNS patients; no IL-17-positive cells were observed (Fig. 1Ca, b). This has demonstrated that IL-17 may be produced preferentially in SLE patients. Matsumura *et al.* also found stained IL-17 in the tubular epitheliums of LN patients by immunohistochemistry (personal communication). Thus, production of IL-17 in the tubules was confirmed by the RT-PCR and LMD methods. We believe that the RT-PCR technique is more sensitive than immunohistochemistry and can be used for quantification of the production of each cytokine.

We analysed the correlation between the expression levels of Th1, Th2 and Th17 cytokines and clinical parameters. We found that the levels of IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 and IL-17 have a correlation with some clinical and laboratory parameters (Fig. 3). A negative correlation was found between the level of IL-2 and haematuria, BUN, Cr, anti-ds DNA antibody and SLEDAI, except for Ccr, CH50 and CI. However, the IL-17 level was correlated positively with UP, haematuria, BUN, Cr, AI and SLEDAI, while correlating negatively with CI and Ccr (Fig. 3). These findings indicate that IL-2 and IL-17 play opposite roles in SLE development. It is suggested that IL-2 may play a role in protecting against SLE development, while IL-17 might have a reverse effect. Wong *et al.* [36] showed significant and positive correlations of plasma IL-17 concentrations with SLEDAI scores in the patients without renal disease. Yang *et al.* [37] showed that patients with active SLE (SLEDAI > 6) exhibit an increased proportion of Th17 cells in CD3⁺CD8⁻ T cells from PBMC compared with healthy individuals by flow cytometric analysis, and a significant positive correlation between the percentage of Th17 cells and the SLEDAI score. Doreau *et al.* [38] also found that the serum of patients with SLE had higher concentrations of IL-17 than did the serum of healthy people, and that IL-17 abundance correlated with the disease severity of SLE. In our study, the level of IL-17 correlated positively and significantly with SLEDAI scores both in the glomeruli and the interstitium. A highly significant correlation was observed between SLEDAI scores and the level of IL-17 in both the glomeruli and the interstitium of active SLE patients (SLEDAI > 10) (Fig. 3D). We also found that the level of IL-17 has positive correlations with AI and negative correlations with CI in both glomerulus and interstitium, although correlations were weak (Table 4). This suggests that IL-17 may play an important role in the inflammatory process of a renal disease during the acute phase of SLE patients. With few IFN- γ -positive samples, we did not analyse the correlation between IFN- γ and the clinical and laboratory parameters. IFN- γ was observed only in the glomeruli of ISN/RPS Class III-predominant and Class V groups; accordingly, IFN- γ might play a role in protecting against the inflammatory process in LN patients, as with IL-2. The IL-2 level correlates good positively with CI, suggesting that IL-2 might act during the chronic stage of glomerulonephritis (Fig. 3A and Table 4). Nakae *et al.* [39] found that IL-17 can suppress Th1 cell differentiation in the presence of exogenous

IL-12 *in vitro*, and IFN- γ can down-regulate Th17 cell differentiation. Not only IFN- γ but also IL-4 can suppress IL-17 production *in vitro* [40,41]. Chu *et al.* [42] demonstrated further that IFN- γ might regulate susceptibility to CIA through suppression of IL-17, and IFN- γ and IL-4 together had a synergistic effect on suppression of type II collagen (CII)-specific IL-17 production during CII restimulation *in vitro*. This might be the reason why the expression levels of IFN- γ and IL-4 were higher in the ISN/RPS Class III-predominant group than those of other classes, whereas that of IL-17 was lower. Th2 cytokine showed inconsistent results, but it seems likely that IL-13 plays a protective role in lupus nephritis (Fig. 3C, Table 4).

In conclusion, we have shown that the glomerular infiltrating T cells might act as Th1, Th2 and Th17 cells, while the interstitial infiltrating T cells, as Th2 and Th17 cells in the Class III-predominant and Class V groups. In contrast, both the glomerular and interstitial infiltrating T cells might act as Th2 and Th17 cells in the Class IV-predominant group. The cytokine balances may be dependent on the classification of renal pathology and IL-17 might play a critical role in SLE development.

Acknowledgements

This study was supported by the Health and Labour Sciences Research Grants for Research on Intractable Diseases from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. We thank medical scientists of Chiba-East National Hospital (Department of Rheumatology, Allergy and Clinical Immunology National Hospital Organization Chiba-East National Hospital) for their helpful suggestions for this study.

Disclosure

None of the authors have any conflict of interest with the subject matter or materials discussed in the manuscript.

References

- 1 Funauchi M, Ikoma S, Enomoto H, Horiuchi A. Decreased Th-1 like and increased Th-2 like cells in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1998; 27:219–24.
- 2 Viallard JF, Pellegrin JL, Ranchin V *et al.* Th1 [IL-2, interferon-gamma (IFN- γ)] and Th2 (IL-10, IL-4) cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* 1999; 115:189–95.
- 3 Richaud-Patin Y, Alcocer-Verela J, Llorente L. High levels of TH2 cytokine gene expression in systemic lupus erythematosus. *Rev Invest Clin* 1995; 47:267–72.
- 4 Akahoshi M, Nakashima H, Tanaka Y *et al.* Th1/Th2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1644–8.
- 5 Masutani K, Akahoshi M, Tsuruya K *et al.* Predominance of Th1

- immune response in diffuse proliferative lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2001; **44**:2097–106.
- 6 Murata H, Matsumura R, Koyama A *et al.* T cell receptor repertoire of T cells in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2002; **46**:2141–7.
 - 7 Spadaro A, Rinaldi T, Ricciari V, Taccari E, Valesini G. Interleukin-13 in autoimmune rheumatic diseases: relationship with the autoantibody profile. *Clin Exp Rheumatol* 2002; **20**:213–6.
 - 8 Morimoto S, Tokano Y, Kaneko H, Nozawa K, Amano H, Hashimoto H. The increased interleukin-13 in patients with systemic lupus erythematosus: relations to other Th1-, Th2-related cytokines and clinical findings. *Autoimmunity* 2001; **34**:19–25.
 - 9 Afzari B, Lombardi G, Lechler R, Lord GM. The role of T helper (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007; **148**:32–46.
 - 10 Wang Y, Ito S, Sumida T *et al.* Use of laser microdissection in the analysis of renal-infiltrating T cells in MRL/lpr mice. *Mod Rheumatol* 2008; **18**:385–93.
 - 11 Lechner S, Muller-Landner U, Renke B, Scholmerich J, Ruschoff J, Kullmann F. Gene expression pattern of laser microdissected colonic crypts of adenomas with low grade dysplasia. *Gut* 2003; **52**:1148–53.
 - 12 Hong SH, Nah HY, Lee JY, Gye MC, Kim CH, Kim MK. Analysis of estrogen-regulated genes in mouse uterus using cDNA microarray and laser capture microdissection. *J Endocrinol* 2004; **181**:157–67.
 - 13 Shi X, Kleeff J, Zhu ZW *et al.* Gene-expression analysis of single cells-nested polymerase chain reaction after laser microdissection. *World J Gastroenterol* 2003; **9**:1337–41.
 - 14 Judex M, Neuman E, Gay S, Muller-Lander U. Laser-mediated microdissection as a tool for molecular analysis in arthritis. *Methods Mol Med* 2004; **101**:93–105.
 - 15 Hashimoto A, Tarner IH, Bohle RM *et al.* Analysis of vascular gene expression in arthritis synovium by laser-mediated microdissection. *Arthritis Rheum* 2007; **56**:1094–105.
 - 16 Hofbauer M, Wiesener S, Babbe H *et al.* Clonal tracking of autoaggressive T cells in polymyositis by combining laser microdissection, single-cell PCR, and CDR3-spectratype analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**:4090–5.
 - 17 Peterson KS, Huang JF, Zhu J *et al.* Characterization of heterogeneity in the molecular pathogenesis of lupus nephritis from transcriptional profiles of laser-captured glomeruli. *J Clin Invest* 2004; **113**:1722–33.
 - 18 Fries JW, Roth T, Dienes HP, Weber M, Odenthal M. A novel evaluation method for paraffinized human renal biopsies using quantitative analysis of microdissected glomeruli and VCAM-1 as marker of inflammatory mesangial cell activation. *Nephrol Dial Transplant* 2003; **18**:710–6.
 - 19 Chan RW, Lai FM, Li EK *et al.* Intrarenal cytokine gene expression in lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2007; **66**:886–92.
 - 20 Todd R, Margolin DH. Challenge of single-cell diagnostics: analysis of gene expression. *Trends Mol Med* 2002; **8**:254–7.
 - 21 Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM *et al.* The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revised. *J Am Soc Nephrol* 2004; **15**:241–50.
 - 22 Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM *et al.* The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revised. *Kidney Int* 2004; **65**:521–30.
 - 23 Churg J, Bernstein J, Glasscock RJ. Renal disease: classification and atlas of glomerular disease, 2nd edn. Tokyo: Igaku-Shoin, 1995.
 - 24 Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. *Arthritis Rheum* 1992; **35**:630–40.
 - 25 Austin HA 3rd, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TT, Balow JE. Diffuse proliferative lupus nephritis: identification of specific pathologic features affecting renal outcome. *Kidney Int* 1984; **25**:689–95.
 - 26 Wang B, Esche C, Mamelak A, Freed I, Watanabe H, Sauder DH. Cytokine knockouts in contact hypersensitivity research. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; **14**:381–9.
 - 27 Crane JJ, Forrester JV. Th1 and Th2 lymphocytes in autoimmune disease. *Crit Rev Immunol* 2005; **25**:75–102.
 - 28 Matthys P, Vermeire K, Heremans H, Billiau A. The protective effect of IFN-gamma in experimental autoimmune diseases: a central role of mycobacterial adjuvant-induced myelopoiesis. *J Leukoc Biol* 2000; **68**:447–54.
 - 29 Haas C, Ryffel B, Le Hir M. IFN-gamma is essential for the development of autoimmune glomerulonephritis in MRL/lpr mice. *J Immunol* 1997; **158**:5484–91.
 - 30 Bi Y, Liu G, Yang R. Th17 cell induction and immune regulatory effects. *J Cell Physiol* 2007; **211**:273–8.
 - 31 Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2000; **9**:589–93.
 - 32 Dong GF, Ye R, Shi W *et al.* IL-17 induces autoantibody overproduction and peripheral blood mononuclear cell overexpression of IL-6 in lupus nephritis patients. *Chin Med J* 2003; **116**:543–8.
 - 33 Crispin JC, Oukka M, Bayliss G *et al.* Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *J Immunol* 2008; **181**:8761–6.
 - 34 Zhang C, Zhang J, Yang B, Wu C. Cyclosporine A inhibits the production of IL-17 by healthy individuals and patients with rheumatoid arthritis. *Cytokine* 2008; **42**:345–52.
 - 35 Cho ML, Ju JH, Kim KW *et al.* Cyclosporine A inhibits IL-15-induced IL-17 production in CD4+ T cells via down-regulation of PI3K/Akt and NF- κ B. *Immunol Lett* 2007; **108**:88–96.
 - 36 Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Wong PT, Lam CW. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol* 2008; **127**:385–93.
 - 37 Yang J, Chu Y, Yang X *et al.* Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2009; **60**:1472–83.
 - 38 Doreau A, Belot A, Bastid J *et al.* Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus. *Nat Immunol* 2009; **10**:778–85.
 - 39 Nakae S, Iwakura Y, Suto H, Galli SJ. Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17. *J Leukoc Biol* 2007; **81**:1258–68.
 - 40 Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR *et al.* Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; **6**:1123–32.
 - 41 Park H, Li Z, Yang XO *et al.* A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005; **6**:1133–41.
 - 42 Chu CQ, Swart D, Alcorn D, Tocker J, Elkon KB. Interferon-gamma regulates susceptibility to collagen-induced arthritis through suppression of interleukin-17. *Arthritis Rheum* 2007; **56**:1145–51.

特集：急速進行性糸球体腎炎

わが国の RPGN の現状と将来の展望

白井 丈一 山縣 邦弘

はじめに

1990年代に入り rapidly progressive glomerulonephritis (以下, RPGN) 症例数の増加に呼応する形で, (旧)厚生省進行性腎障害研究班では平成6年度の全国予備調査を基に, 平成8年度より RPGN の状況把握を目的とした全国多施設アンケート調査をスタートさせ, 診療指針の刊行に着手した¹⁾。以後もこの全国調査は厚生労働省進行性腎障害研究班 RPGN 分科会の主導で継続され, 平成18年度の全国調査までに合計 1,772 例の登録がなされている。その結果, 後ろ向き調査研究ではあるものの, 諸外国を含め他に類をみない症例数が登録され, わが国の RPGN 症例の診療実態の把握に役立ち, 診療指針の刊行をするに至っている。

本稿では, まずこの全国調査の結果から判明した RPGN 症例の変遷および現状を解説させていただき, 次に RPGN 診療における今後の展望に関して追加解説を行う。

全国多施設アンケート調査にみる RPGN 症例の変遷

RPGN 全国多施設アンケート調査の結果, 登録症例数の年次推移は, 1990年代前半は経年的に増加しており, 調査を開始した1990年代中頃からは一定数で固定している。RPGN 全体の約65%を占める myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody (以下, MPO-ANCA) 型 RPGN の年次推移に関しては, 平成8年頃まで漸増し, 以降も増加幅は減じているものの増加傾向にある。その背景として, 平成10年の MPO-ANCA 検査の保険収載を契機に, 疾患認識や診療内容の変化したことが大きく影響している。現在,

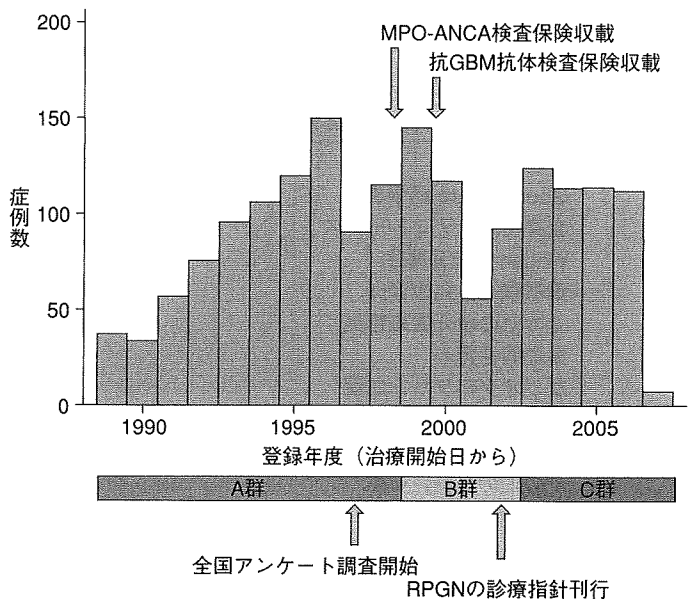


図1 全国多施設アンケート調査による RPGN 症例集積状況 (年別, 1,772 例)

厚生労働省進行性腎障害研究班 RPGN 分科会では RPGN の診療指針の改訂作業にあたり, わが国の RPGN の経年的変化をみるために, 登録症例の推移を各時代背景別に解析し, これに基づき RPGN の診療の変遷, 現状, 今後の改善点などを明らかにしている²⁾。すなわち RPGN 全国アンケート調査を実施するまでの期間を A 群, 調査開始から RPGN の診療指針の刊行までの期間を B 群, RPGN の診療指針刊行後の期間を C 群とし, 比較検討を行っている (図 1)。

臨床病型を表に示すが, 従来の報告通り, 最も多い病型は pauci-immune 型一次性半月体形成性糸球体腎炎であり, 次いで顕微鏡的多発血管炎であった。この両者を併せて約 60% を占めており, その多くが MPO-ANCA 陽性である点に変化はない。その他の臨床病型の内訳に関しても, 経年的に大きな変動はないようである。

Present status and future perspective of RPGN in Japan

筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻腎臓病態医学分野

表 わが国の RPGN の臨床病型と年次推移

	1998 年以前	1999～2001	2002～	全体
	症例数 (%)	症例数 (%)	症例数 (%)	症例数 (%)
一次性				
半月体形成性糸球体腎炎				
抗 GBM 抗体型半月体形成性腎炎	39 (4.4)	20 (6.2)	22 (3.9)	81 (4.6)
免疫複合体型半月体形成性糸球体腎炎	26 (2.9)	3 (0.9)	6 (1.1)	35 (2.0)
Pauci-immune 型半月体形成性糸球体腎炎	345 (39.0)	151 (47.0)	249 (43.9)	745 (42.0)
混合型半月体形成性糸球体腎炎	19 (2.1)	5 (1.6)	7 (1.2)	31 (1.7)
分類不能な一次性半月体形成性糸球体腎炎	14 (1.6)	2 (0.6)	12 (2.1)	28 (1.6)
半月体形成を伴う糸球体腎炎 (0.0)				
膜性増殖性糸球体腎炎	9 (1.0)	2 (0.6)	4 (0.7)	15 (0.8)
膜性腎症	2 (0.2)	2 (0.6)	1 (0.2)	5 (0.3)
IgA 腎症	25 (2.8)	9 (2.8)	9 (1.6)	43 (2.4)
非 IgA 型メサンギウム増殖性糸球体腎炎	4 (0.5)	2 (0.6)	2 (0.4)	8 (0.5)
その他の一次性糸球体腎炎	2 (0.2)	0 (0.0)	1 (0.2)	3 (0.2)
全身性				
Goodpasture 症候群	14 (1.6)	5 (1.6)	8 (1.4)	27 (1.5)
全身性エリテマトーデス	50 (5.7)	5 (1.6)	11 (1.9)	66 (3.7)
Wegener 肉芽腫症	23 (2.6)	9 (2.8)	14 (2.5)	46 (2.6)
顕微鏡的多発血管炎	157 (17.8)	58 (18.1)	129 (22.8)	344 (19.4)
その他の壊死性血管炎	6 (0.7)	5 (1.6)	4 (0.7)	15 (0.8)
紫斑病性腎炎	18 (2.0)	5 (1.6)	13 (2.3)	36 (2.0)
クリオグロブリン血症	5 (0.6)	3 (0.9)	4 (0.7)	12 (0.7)
関節リウマチ	18 (2.0)	2 (0.6)	4 (0.7)	24 (1.4)
悪性腫瘍	2 (0.2)	1 (0.3)	0 (0.0)	3 (0.2)
その他の全身性疾患	22 (2.5)	9 (2.8)	9 (1.6)	40 (2.3)
感染症				
溶連菌感染後糸球体腎炎	8 (0.9)	2 (0.6)	0 (0.0)	10 (0.6)
感染性心内膜炎, シヤント腎炎	1 (0.1)	2 (0.6)	3 (0.5)	6 (0.3)
C 型肝炎ウイルス	1 (0.1)	1 (0.3)	0 (0.0)	2 (0.1)
その他の感染性疾患	13 (1.5)	2 (0.6)	5 (0.9)	20 (1.1)
薬剤性				
その他	7 (0.8)	1 (0.3)	2 (0.4)	10 (0.6)
不明	7 (0.8)	1 (0.3)	9 (1.6)	17 (1.0)
不明	47 (5.3)	14 (4.4)	39 (6.9)	100 (5.6)
全体	884 (100.0)	321 (100.0)	567 (100.0)	1,772 (100.0)

性差に関しては女性に若干多く発症する傾向にあり、発症年齢に関しては高齢化が顕著である。MPO-ANCA 検査の保険取裁の結果、いままで腎生検の適応とならずに見逃されてきた高齢者を確実に診断できるようになってきていることの影響が大きい。しかし、高齢化は MPO-ANCA 型 RPGN のみならず、諸外国ではより若年発症とされる proteinase-3 (以下, PR3)-ANCA 型 RPGN や抗 glomerular basement membrane (以下, GBM) 抗体型 RPGN にもみられ、わが国の RPGN の特徴である可能性がある。わが国は世界一の長寿を誇り、人口の約 20% が 65 歳以上という高齢化社会である。近年の医療改革に伴い、特定健康診査から血

清クレアチニンが除外され、なおかつ 75 歳以上の超高齢者の健診体制が変更され、超高齢者の健診受診率の低下が懸念されている。RPGN 症例にとってその早期発見・早期治療は診療の要であり、かつ発症 65 歳以上が 52.6%、75 歳以上が 17.0% を占める高齢者病という側面から、RPGN の診療に少なからず影響する可能性が否定できず、今後注意が必要である。

近年 RPGN は軽症化しているとの印象を持っている腎臓専門医も決して少なくないと思われるが、全国アンケート調査の結果からは、RPGN 症例の治療開始時血清クレアチニン値はわずかではあるが低下傾向にあり、初発症状と

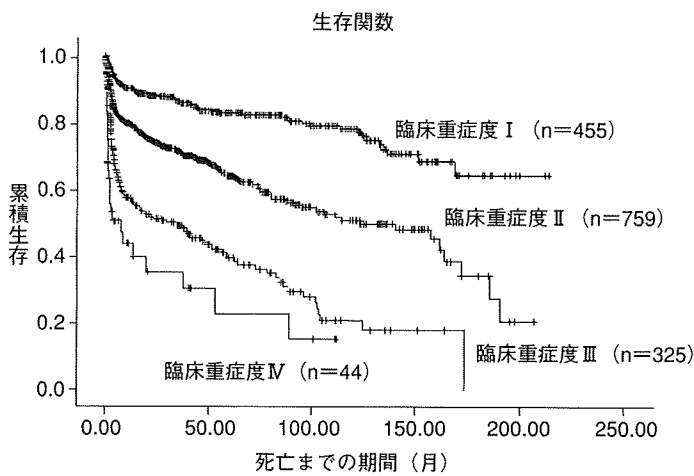


図 2 RPGN 症例臨床重症度別の生命予後(1,583 例)

してチャンス尿異常が約 60%と明らかに増加しており、患者の早期発見・早期治療が達成されていることが窺われる。すなわち、血清 MPO-ANCA 検査や抗 GBM 抗体検査の保険収載、全国アンケート調査実施による疾患の認知度の増加、平成 15 年に刊行された RPGN の診療指針の普及などが大きく寄与しているものと思われる。

治療効果や予後の指標は実地診療に欠かすことができない。RPGN の診療指針においても生命予後の指標として治療開始時の臨床重症度スコアが提唱されており、近年の症例であってもこのスコアは生命予後をよく反映していることが判明している(図 2)。一方で、腎予後の指標として病理組織スコアが提唱されている。近年、この病理組織スコアでは腎予後の層別判定が難しくなっていることが明らか

となっている。その理由として、早期発見に伴い、病初期の症例(巣状壊死性糸球体腎炎軽症例や尿細管間質性腎炎軽症例など)のようにびまん性半月体形成性糸球体腎炎を呈していない非典型的な腎炎像が増加していることが指摘されている。

また近年の特徴として、治療法と予後の変化があげられる。RPGN 全体の生命予後、腎予後は近年改善傾向にある(図 3a, b)。RPGN の診療指針にて提案された 3 つの診療アルゴリズム、なかでもわが国の RPGN の大部分を占める MPO-ANCA 型 RPGN の診療指針が成果をあげていることが示唆される。症例の重症度が許す限り、特にわが国に多い MPO-ANCA 型 RPGN の高齢者症例に対してマイルドな治療法選択を徹底し、過剰な免疫抑制療法を避けることで感染症死が減少したことが大きく影響しているものと思われる。その一方で再発・再燃症例の増加も明らかとなっており(図 4)、MPO-ANCA 型 RPGN の適切な寛解・維持療法プロトコルの開発が急務である。

厚生労働省進行性腎障害疫学ワーキンググループの平成 20 年度の全国調査では、平成 20 年 3 月時点での日本腎臓学会研修施設における RPGN の受療患者数は 3,800~5,700 人、平成 19 年度 1 年間の新規受療患者数は 1,200~1,800 人と推定され、過去の全国多施設アンケート調査には登録されていない多くの症例を発掘することができた³⁾。現在 RPGN 症例の二次調査を実施中であり、その解析成果が待たれる。また、これまでに実施されてきた全国アンケート調査は後ろ向き調査であり、エビデンスの面で課題を残している。今後、日本腎臓学会主導により運営が

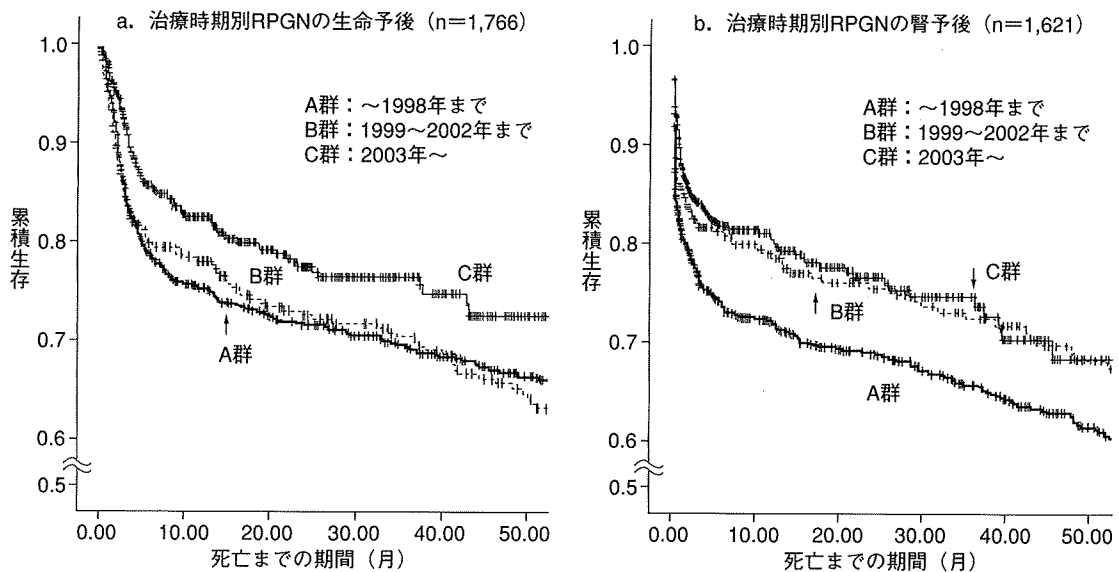


図 3 RPGN 全体の予後の推移

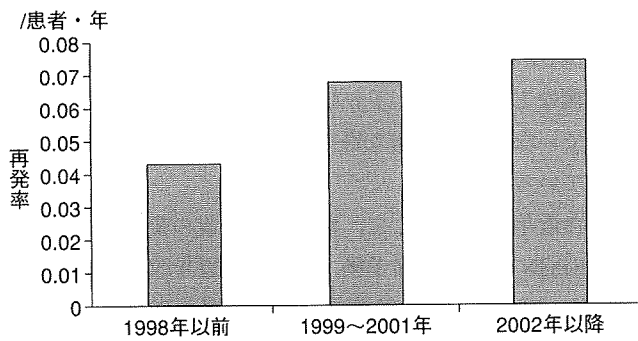


図4 MPO-ANCA型RPGNの経過観察中の再発率の推移

開始されている腎臓病総合レジストリ Japan Kidney Disease Registry (以下, JKDR)を用いたRPGNの非介入前向き観察研究が計画されており, これまでのアンケート調査の結果の前向き検証が計画されている。この前向き研究により, わが国のRPGNの診療実態の把握や推奨診療アルゴリズムの有効性の判定が可能となり, よりエビデンスレベルの高い診療指針作成につながるものと期待されている。

RPGNの将来の展望：各病型分類

RPGNは腎臨床症候に基づく疾患名であり, その原疾患は多岐にわたる。これらをまとめて診療指針を作成することには困難さと限界があることを知る必要がある。RPGN全体を検討する時代から, RPGN内の各原疾患を詳細に検討する時期にきているものと思われる。MPO-ANCA型RPGNとPR3-ANCA型RPGNとの臨床症候を過去の報告を基に比較してみると, 発症年齢, 重症度, 再発頻度, 予後などが大きく異なることが報告されている⁴⁾。そのため, RPGNの診療指針では, ANCAのサブタイプを重要視し, MPO-ANCA型, PR3-ANCA型で診療指針を作成してきた。しかし, 欧州の診断分類法ではANCAのサブタイプよりむしろ臨床症候を重要視する傾向にある。例えば, 研究成果の国際比較をする場合にも, RPGN, ANCA関連腎炎, ANCA関連血管炎いずれを検討対象とするのかにより, その基準は大きく異なることが指摘されている。その点では, わが国のRPGN症例の大半を占めるANCA関連血管炎に関してはその診療面で欧州に倣うことが多く, 血管炎先進国である欧州の分類法や診療指針を受け入れざるを得ない現状には皆が常に悩まされている。ANCA関連血管炎において, Wegener肉芽腫症の多い欧州, 顕微鏡的多発血管炎の多いわが国との間で, 果たして欧州の診断分類法, 治療法をわが国に適応することが可能であるのか, 早急な検討

が必要である。ANCA関連血管炎の病型分類に際しても, 腎限局型という病型はわが国を含めて広く認識されているが, 肺に限局する肺限局型(主に間質性肺炎)がわが国に特徴的な病型として存在する可能性が指摘されており, その病像の把握など多くの課題を残している。詳細に関しては, 他稿「RPGN, ANCA関連血管炎の疫学」, 「ANCA関連血管炎とRPGN」を参照していただきたい。

ANCA関連血管炎の場合, 腎予後の回復の可能性の判断材料として腎生検所見は重要である。先に述べたように, RPGNの診療指針に掲載されている病理組織スコアでは腎予後の層別化を反映しなくなっている。RPGNの診療指針に掲載されている腎病理医向けの評価法(重松分類)と欧州を中心としたスタディグループであるEuropean Vasculitis Study Group (以下, EUVAS)の腎病理評価法の両者を参考とし, 新しい腎病理組織のための評価シートが作成されている⁵⁾。今後, この評価シートを活用した新たな腎病理組織スコアの作成を検討中である。腎病理組織スコアの作成には, 腎予後や治療反応性の推測以外に, 利便性があり広く普及しうること, 臨床重症度との連結, などを念頭に置く必要がある。

RPGN症例全国アンケート調査の結果, pauci-immune型一次半月体形成性糸球体腎炎の約10%をANCA陰性型が占めていることが判明している¹⁾。しかし, その病像に関してはあまり知られておらず, その病像の把握, 診療の実際, 治療法の確立のためには今後の調査が必要である。

RPGNの将来の展望：治療法

全身性血管炎の治療として, 1970年代より副腎皮質ステロイド薬とシクロホスファミド(以下, CYC)の併用療法が標準的な寛解導入療法として用いられてきた。長期投与に伴う毒性の問題からCYCに代わる治療法が絶えず模索され, EUVASを中心にCYC以外の免疫抑制薬の有効性に関する前向き研究が実施されている。寛解導入療法では, メトトレキサート(以下, MTX, NORAM試験⁶⁾)やミコフェノール酸モフェチル(以下, MMF)の有効性が検討されているが, いずれもCYC使用困難例での選択肢的位置づけと捉えられているにすぎない。先に述べたように, マイルドな治療法の徹底と予後の改善により, MPO-ANCA型RPGNの再発症例は近年増加傾向にあり, 初期治療以降の寛解維持療法の重要性が指摘されている。寛解維持療法では, アザチオプリン(以下, AZA)がCYCと同等の効果を発揮することが報告され(CYCAZAREM試験⁷⁾), 2008年末に

は AZA と MTX が同等の効果と安全性を持つことも示された⁸⁾。さらに MMF と AZA の比較研究が EUVAS にて進行中である (IMPROVE 試験)。わが国からの報告では、観察研究ではあるが、RPGN の主要疾患である MPO-ANCA 関連腎炎を対象とした寛解維持療法におけるミゾリビン (以下、MZR) の有効性が報告されている⁹⁾。これに基づき、厚生労働省進行性腎障害研究班 RPGN 分科会では、寛解維持療法における MZR の有効性に関する多施設前向き無作為化比較試験を進行中であり、その成果が期待されている。

RPGN 全体の予後が改善している一方で、抗 GBM 抗体型 RPGN の予後は、腎予後、生命予後とも近年の調査でもほとんど改善がみられていない。治療開始時血清クレアチニン値 6.0 mg/dL 以上、腎生検所見での半月体形成率 50% 以上では腎死を回避することは困難であるとの報告を基に、RPGN の診療指針においてもこの報告に基づく診療アルゴリズムを採用している¹⁾。しかし、わが国の抗 GBM 抗体型 RPGN の多くにおいて治療開始時血清クレアチニン値はその基準を超え高値である。そのため、予後改善には早期発見・早期治療開始に結びつく根本的対策が必要であることは明らかである。また、抗 GBM 抗体型 RPGN の予後の改善に関してアフエリシスを含めた診療内容の選択は不可欠である。アフエリシスによる自己抗体の除去はわが国のみならず国際的にも標準的な治療として認識されている。腎病変以外にも、高炎症状態の早期改善が全身状態にもたらす好影響や肺出血の発症抑止効果など、RPGN 診療におけるアフエリシスに対する期待は大きい。しかし、依然としてアフエリシスの適応となる腎疾患は RPGN を呈したループス腎炎のみであり、抗 GBM 抗体型腎炎ですら保険適用外治療である。厚生労働省進行性腎障害研究班 RPGN 分科会を中心に、肺腎症候群に対する血漿交換療法の保険適用取組への努力を継続していく必要がある。

近年、血管炎に対してその有効性が検討されつつある治療法として、ガンマグロブリン大量療法と生物学的製剤があげられる。乳幼児に好発する血管炎である川崎病の治療として、ガンマグロブリン大量療法とアスピリンとの併用療法が第一選択とされている。ガンマグロブリン大量療法はその作用機序の不明確さがしばしば問題となるが、Fc レセプター阻害、炎症サイトカイン産生抑制、Th1/2 バランスの正常化、自己抗体産生抑制などの免疫修飾作用によるものと推察され、これらを考慮すると、ANCA 関連血管炎に対しても有効な治療法となる可能性が高い。RPGN の主要疾患である ANCA 関連血管炎に対して、標準的な免疫抑制療法の補助療法として、寛解導入療法および再発時治療

としての有効性が示唆されている。重篤な感染症を回避できる点で、再発と感染症との鑑別が困難な高齢者症例では良い適応となる可能性がある。また、腫瘍壊死因子阻害療法やリツキシマブなどの生物学的製剤が ANCA 関連血管炎の治療薬として注目されている。いずれの治療法も今後更なるエビデンスの確保が必要とされており、わが国においても、標準的免疫抑制療法に次ぐ第二段階の治療法として難治例を中心に検討が進められている。詳細に関しては、他稿「RPGN の治療」を参照していただきたい。

おわりに

全国多施設アンケート調査の結果を基に、わが国の RPGN 診療の変遷、現状、および今後の展望に関して概説した。腎疾患のなかでは稀な、生命予後改善という問題を抱える重症疾患であり、疾患分類や治療法を含めていまだ多くの課題が残されている。

最後に、長年の全国多施設アンケート調査のご協力に対し、各協力施設に深甚なる感謝の意を表す。

文 献

1. 堺 秀人, 黒川 清, 小山哲夫, 有村義宏, 木田 寛, 重松秀一, 鈴木理志, 二瓶 宏, 槇野博史, 上田尚彦, 川村哲也, 下条文武, 斉藤喬雄, 原田孝司, 比企能之, 吉田雅治. 急速進行性腎炎症候群の診療指針. 日腎会誌 2002; 44: 55-82.
2. 山縣邦弘, 槇野博史, 有村義宏, 新田孝作, 武曾恵理, 和田隆志, 田熊淑男, 小山哲夫. 急速進行性腎炎分科会分担研究報告書. 急速進行性腎炎症候群の診療指針 2007 年度改訂版の作成. 厚生労働省科学研究費補助金「進行性腎障害に関する調査研究」平成 17~19 年度総合研究報告書. 2008: 127-137.
3. 渡辺 毅, 今井裕一, 若井健志, 岩野正之, 白井丈一, 中西浩一, 井関邦敏. 疫学ワーキンググループ活動報告. 平成 20 年度厚生労働省科学研究費補助金「進行性腎障害に関する調査研究」研究成果発表会抄録集. 2008: 4-5.
4. Hogan SL, Nachman PH, Wilkman AS, Jennette JC, Falk RJ. Prognostic markers in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangitis and glomerulonephritis. J Am Soc Nephrol 1996; 7: 23-32.
5. Joh K, Muso E, Shigematsu H, Nose M, Nagata M, Arimura Y, Yumura K, Wada T, Nitta K, Makino H, Taguma Y, Kaneoka H, Suzuki Y, Kobayashi M, Koyama A, Usui J, Hashimoto H, Ozaki S, Tomino Y, Yamagata K. Renal pathology of ANCA-related vasculitis: proposal for standardization of pathological diagnosis in Japan. Clin Exp Nephrol 2008; 12: 277-291.

6. de Groot K, Rasmussen N, Bacon PA, Tervaert JWC, Feighery C, Gregorini G, Gross WL, Luqmani R, Jayne DRW. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005 ; 52 : 2461-2469.
7. Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, Bacon P, Tervaert JWC, Dadoniené J, Ekstrand A, Gaskin G, Gregorini G, de Groot K, Gross W, Hagen EC, Mirapeix E, Pettersson E, Siegert C, Sinico A, Tesar V, Westman K, Pusey C. A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 36-44.
8. Pagnoux C, Mahr A, Hamidou MA, Boffa JJ, Ruivard M, Ducroix JP, Kyndt X, Lifermann F, Papo T, Lambert M, Le Noach J, Khellaf M, Merrien D, Puéchal X, Vinzio S, Cohen P, Mouthon L, Cordier JF, Guillevin L. Azathioprine or methotrexate maintenance for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2008 ; 359 : 2790-2803.
9. Hirayama K, Kobayashi M, Hashimoto Y, Usui J, Shimizu Y, Hirayama A, Yoh K, Yamagata K, Nagase S, Nagata M, Koyama A. Treatment with the purine synthesis inhibitor mizoribine for ANCA-associated renal vasculitis. *Am J Kidney Dis* 2004 ; 44 : 57-63.

特集：急速進行性糸球体腎炎

免疫複合体型腎炎と RPGN

古城昭一郎*¹ 杉山 齊*² 榎野博史*¹

はじめに

急速進行性糸球体腎炎 (rapidly progressive glomerulonephritis : RPGN) の原因は多岐に及んでおり、一次性では pauci-immune 型、抗 GBM 抗体型、免疫複合体型に大別され、二次性では SLE、顕微鏡的多発血管炎、Wegener 肉芽腫症、Goodpasture 症候群、紫斑病性腎炎、クリオグロブリン血症、関節リウマチ、感染後急性糸球体腎炎、人工血管留置後などでみられる。厚生労働省特定疾患「進行性腎障害に関する調査研究班」急速進行性腎炎分科会による全国アンケート調査によると、RPGN における免疫複合体型腎炎の占める割合は、一次性免疫複合体型は 2.0 %、二次性のうち SLE は 3.7 %、紫斑病性腎炎は 2.0 %、クリオグロブリン血症は 0.7 % といずれも高くはないが、RPGN の鑑別上忘れてはならない疾患である。本稿では、一次性に加えて SLE、紫斑病性腎炎、クリオグロブリン血症性腎症などを含めた免疫複合体型腎炎について概説する。

一次性免疫複合体型腎炎

前述のアンケート調査によると、免疫複合体型半月体形成性腎炎は初診時血清クレアチニン値 1.9 ± 1.2 mg/dL と RPGN 全体と比べて低めである一方、尿蛋白量は 4.0 ± 3.2 g/日と多く、ネフローゼを呈する割合が高かった。一般的に免疫複合体型腎炎では血中免疫複合体が陽性であり、腎生検の蛍光抗体法で IgG や C3 の係蹄壁あるいはメサンギウム領域への顆粒状沈着がみられ、光顕で免疫複合体沈着と補体活性化による糸球体係蹄壁の壊死・断裂や、その結果として、フィブリンなどの血漿成分や細胞成分がボウマ

ン腔へ流入したことによる半月体形成がみられる。pauci-immune 型や抗 GBM 抗体型に比べ、免疫複合体型腎炎では病変の主座が末梢の係蹄壁にびまん性に及ぶことが多い。電顕では電子密度の高い沈着物 (electron-dense deposits) が基底膜の上皮側、膜内、メサンギウム領域に観察されることが多い。また、前述のアンケート調査によると、免疫複合体型半月体形成性腎炎のうち MPO-ANCA 陽性が 41.4 %、PR3-ANCA 陽性が 10.3 % を占めており、55 例の非 SLE 免疫複合体型腎炎のうち 3 例が ANCA 陽性であったとの報告¹⁾や、81 例の ANCA 陽性症例のうち 4 例が免疫複合体型腎炎の診断基準を満たしているとの報告もある。ANCA 陽性で免疫複合体を認めた例は重症化する傾向があり²⁾、ANCA のオーバーラップにも注意すべきと考えられる。

免疫複合体型 RPGN は症例数が少なく治療としては現在確立したものはないが、一般的には MPO-ANCA 型や PR3-ANCA 型に準じた治療がなされており、前述のアンケート調査では、生存率、腎生存率とも RPGN 全体と同程度である。

ループス腎炎

SLE が原因となって生じる腎病変を総称してループス腎炎といい、SLE 患者の 50~80 % に合併する。日本透析医学会の報告によると、わが国では SLE を原疾患として透析導入されている患者数は毎年 300 例程度認められており³⁾、ループス腎炎は SLE 患者の予後を大きく左右する病態の一つである。臨床症状は多彩で、無症候性の血尿のみものからネフローゼ症候群を呈するものまでさまざまであり、また、頻度は多くないが RPGN の形で発症することもある。

発症機序は自己免疫の活性化であり、流血中あるいは腎局所で形成された免疫複合体が糸球体病変、尿細管間質病

Immune complex glomerulonephritis and rapidly progressive glomerulonephritis

*¹ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

*² 同 慢性腎臓病対策腎不全治療学

表 1 ループス腎炎の病理組織分類(2004 ISN/RPS 分類)

I 型 微小メサンギウムループス腎炎
光顕では正常だが、蛍光抗体法・電顕でメサンギウムに免疫複合体が沈着
II 型 メサンギウム増殖性ループス腎炎
光顕でメサンギウム細胞または基質の拡大、メサンギウムに免疫複合体沈着 蛍光抗体法・電顕で内皮下・上皮化沈着を認めることもある。
III 型 巣状ループス腎炎
全糸球体の 50%未満に管内・管外病変が存在
A: 活動性病変, A/C: 活動性および慢性化病変, C: 慢性化病変
IV 型 びまん性ループス腎炎(S: 分節性 G: 全節性を記載)
全糸球体の 50%以上に管内・管外病変が存在
A: 活動性病変, A/C: 活動性および慢性化病変, C: 慢性化病変
V 型 膜性ループス腎炎
全節性または分節性の連続した上皮免疫沈着物
VI 型 進行性硬化性ループス腎炎
90%以上の糸球体が硬化

変, 血管病変を惹起するが, 組織所見としては糸球体病変が主であり, 免疫複合体がメサンギウム領域, 内皮側, 上皮側のいずれにも認められる。なかでも補体 C1q の沈着は特徴的であり, 免疫複合体に由来する古典的経路を介する補体の活性化を示唆している。

組織分類については以前から腎生検所見による分類が提案されており, 現在は 2004 年に提案された International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 分類(表 1)に従うのが一般的である。なかでも class IV は最も腎死と関連するといわれており, RPGN も多くはこのカテゴリーでみられる。class IV は全糸球体の 50%以上の糸球体に病変が認められるびまん性ループス腎炎と定義されており, 障害された糸球体のうち分節性病変が 50%以上を占めるびまん性分節性ループス腎炎(IV-S 型)と, 障害された糸球体のうち全節性病変が 50%以上を占めるびまん性全節性ループス腎炎(IV-G 型)とに細分されている。IV-S 型は典型的には毛細血管腔に達する分節性管内増殖を示すが, 壊死を伴う場合と伴わない場合があり, 同様の分布を示す糸球体硬化に重なっている場合もある。一方 IV-G 型は, びまん性かつ全節性の管内, 管外ないしメサンギウム, 毛細血管領域の細胞増殖, あるいは広範囲のワイヤーループを特徴とし, 核崩壊, 毛細血管係蹄壊死, および半月体形成などあらゆる活動性病変を認める(表 2)。また SLE 患者の約 20%は ANCA 陽性であり, ループス腎炎の腎生検所見で管内増殖, 内皮下沈着がみられず壊死や半月体形成を認める場合は ANCA を検索すべきである⁴⁾。

治療としては, class IV, 活動性病変が顕著な class III・V, 臨床的に RPGN を呈した場合は, ステロイドパルスに

表 2 活動性病変と慢性化病変の定義

活動性病変:
・白血球浸潤を伴うあるいは伴わない, 相当の管腔狭小化を伴う。
・管内細胞浸潤
・核崩壊
・フィブリノイド壊死
・糸球体基底膜の断裂
・細胞性・線維細胞性半月体
・ワイヤーループ病変
・管腔内免疫沈着物(ヒアリン血栓)
慢性化病変:
・糸球体硬化(分節性・全節性)
・線維性癒着
・線維性半月体

加えシクロホスファミドパルス療法などの免疫抑制薬の併用が行われる。抗 ds-DNA 抗体や免疫複合体の除去による寛解導入を目的に, 免疫吸着療法, 二重膜濾過血漿交換も行われている。また, RPGN のなかでループス腎炎は血漿交換療法が唯一保険適用となっている。

紫斑病性腎炎

紫斑病性腎炎(Henoch-Schönlein purpura nephritis: HSPN)は, IgA を主体とする免疫複合体が全身の小血管に沈着して起きる血管炎であるアレルギー性紫斑病(Henoch-Schönlein purpura: HSP)に伴う糸球体腎炎である。紫斑病の発症後, ほとんどは 1~2 週から数カ月以内, 80%は 1 カ月以内に発症するが, ときに尿異常が紫斑に先行するこ

表 3 紫斑病性腎炎の病理組織分類 (ISKDC 分類)

I 型: 微小変化のみ
II 型: メサングウム増殖のみ
III 型: 半月体形成ないし分節性の血栓・壊死・硬化病変を 50%未満の糸球体に認める。 さらにメサングウム増殖の程度によって, a. 巣状, b. びまん性 に分ける。
IV 型: 上記の半月体・分節性病変を 50~75%の糸球体に認める。 III型と同様に, a. 巣状, b. びまん性 に分ける。
V 型: 上記の半月体・分節性病変を 75%以上の糸球体に認める。
VI 型: 膜性増殖性糸球体腎炎類似病変

ともある。HSP の発症率は人口 10 万人に対して小児 15~22 例, 成人 1.3 例とされており, 圧倒的に小児例が多い。また, HSP 患者における HSPN の発症率は小児 20~28%, 成人 49~83%とされており, 成人のほうが腎炎合併率は高く, さらに成人 HSP250 例を対象としたコホート研究の報告⁵⁾によると, 平均 14.8 年の観察期間中に 11%は末期腎不全, 13%は高度の腎不全 (CCr<30 mL/分), 14%は中等度の腎不全 (CCr<50 mL/分) に至っており, 小児例と比べ腎予後不良である。HSPN では 80~90%は発症後 4 週以内になんらかの尿異常を呈するとされており, 多くは顕微鏡的血尿で発症するが, 肉眼的血尿, 急性腎炎症候群やネフローゼ症候群を呈する場合, さらには RPGN を呈する場合もある。

腎症の重症化は初期の腎機能障害の程度と腎組織所見に関連するとされており, 組織所見としては IgA と補体成分 C3 のメサングウムへの沈着を伴うメサングウム増殖性糸球体腎炎が典型例とされているが, メサングウム領域の巣状壊死性病変や半月体形成を伴う場合もある。腎生検所見の分類としては小児領域の ISKDC (国際小児腎臓病学会) 分類 (表 3) が有名であり, 成人領域でも使用されている。この分類は半月体と分節性病変を伴う糸球体の割合で決定され, 腎予後とも相関するとされている。成人例における腎生検所見と腎予後の相関を検討した報告では, 15 年後 CCr 30 mL/分以下となる割合は, 1) 微小変化 4%, 2) 分節性病変で半月体を伴う糸球体が 50%未満のもの 22%, 3) びまん性のメサングウム増殖性病変で半月体を伴う糸球体が 50%未満のもの 25%, 4) びまん性のメサングウム増殖性病変で半月体を伴う糸球体が 50%以上のもの 33%, 5) 全節性硬化性病変が 50%以上 100%, であったとしている。

RPGN を呈した場合の治療は, 成人ではエビデンスレベ

ルの高い報告は少ないが, 小児領域でのネフローゼ症候群もしくは 50%以上の糸球体に半月体形成が証明された HSPN 38 例にステロイドパルス後 PSL を経口投与し, さらに 80%以上の糸球体に半月体形成を認めた最重症例にはシクロホスファミドを経口投与し良好な結果を得たコホート研究の報告⁶⁾や, RPGN を呈した HSPN 12 例にカクテル療法を行い 11 例で寛解を得た報告⁷⁾から, ステロイドパルス療法を行うことが多い。シクロホスファミド併用の有効性については肯定する報告^{8,9)}がある一方, 否定する報告¹⁰⁾もあり一定の結論はでていない。また血漿交換療法は, 単独での有効性を示した報告¹¹⁾や循環免疫複合体を減少させたとの報告があり¹²⁾有効である可能性がある。

クリオグロブリン血症性腎症

クリオグロブリン (cryoglobulin: CG) とは, 空腹時に採取した血液を 37°C で凝固させた後血清に分離し, それを 4°C で 48~72 時間放置したときに沈殿し, さらに再度加温すると溶解する物質を言い, 本態は免疫複合体である。CG 陽性例ではさらに免疫電気泳動法などを行い, 異常蛋白の種類により型の分類を行う。3 群に分類され, 1 型はモノクローナルの免疫グロブリン (IgM, IgG の順で多い) であり, 2 型はポリクローナルの IgG とモノクローナルの Ig (IgMκ 型がほとんど) の結合型から成り, 3 型はポリクローナルの IgG とポリクローナルの IgM の結合型から成る¹³⁾。2 型・3 型の CG は, 基本的には免疫グロブリンと抗グロブリン抗体やリウマチ因子による免疫複合体であり, 2 型・3 型を混合型 CG 血症とも言う。2 型では HCV の関与が強く示唆されており, 3 型は SLE やほかの膠原病でみられることが多い。

腎病変に関しては, 1 型では特徴的なものはみられないが, 2 型では 31%, 3 型では 12%に CG に伴う腎病変がみられ¹³⁾, 主として腎障害の進行により生命予後が影響されるので重要である。臨床所見としては, CG 血症性腎症全体のうち無症候性蛋白尿・血尿症候群が約 50%, 急性腎炎症候群が約 25%, ネフローゼ症候群が約 20%でみられ, 腎不全に至るのは 5%以下と少ない。

腎生検所見としては 2 型が特徴的であり, 光顕では管内増殖性変化, メサングウム細胞や基質の増加, 基底膜の二重化などの膜性増殖性糸球体腎炎 (1 型) 様所見を認めることが多く, 管腔内血栓と呼ばれるエオジン好性の沈着物を糸球体係蹄内腔に認め, 蛍光では CG を構成する免疫グロブリン (IgG と IgM が主) や補体の糸球体係蹄壁への沈着,

電顕では内皮下に管状構造を有する高電子密度沈着物を認める。急性の臨床症状が強い場合、中・小型動脈に血管炎を認めることもある。3型はCG以外の免疫複合体の関与もみられるためさまざまな所見を呈する。

治療としては、まずCG産生抑制を狙ってステロイドと免疫抑制薬の併用療法を行う。免疫抑制薬はシクロホスファミド、シクロスポリンが選択される。CG除去を目的として血漿交換療法を行うこともある。急性腎不全を呈した症例で冷却濾過法とステロイド療法の併用が奏効したとの報告があり、RPGNの場合有効な可能性がある¹⁴⁾。また、HCV抗体陽性患者のうち約80%に2型CG血症が認められ、その30~65%に糸球体腎炎がみられ¹⁵⁾、この場合、IFN α とリパビリン併用療法の有効性が報告されている¹⁶⁾。また、本症でもANCA陽性例が散見され、主体となる病態の役割を検討するためには生検による組織診断が必要である。

おわりに

免疫複合体型腎炎の疫学・病態・治療について概説した。いずれの疾患にもANCA陽性例が相当数含まれており、寛解後のフォローアップのためにも臨床所見に影響を及ぼしている因子を正確に把握することが重要である。

文 献

- Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *Am J Pathol* 1989 ; 135 : 921-930.
- Neumann I, Regele H, Kain R, et al. Glomerular immune deposits are associated with increased proteinuria in patients with ANCA-associated crescentic nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 : 524-531.
- 日本透析医学会. 図説 わが国の慢性透析療法の現状 2006年12月31日現在, 2006
- Nasr SH, D'Agati VD, Park HR, et al. Necrotizing and crescentic lupus nephritis with antineutrophil cytoplasmic antibody seropositivity. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008 ; 3 : 682-690.
- Pillebout E, Thervet E, Hill G, et al. Henoch-Schönlein purpura in adults : outcome and prognostic factors. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 1271-1278.
- Niaudet P, Habib R. Methylprednisolone pulse therapy in the treatment of severe forms of Schönlein-Henoch purpura nephritis. *Pediatr Nephrol* 1998 ; 12 : 238-243.
- Oner A, Tinaztepe K, Erdogan O. The effect of triple therapy on rapidly progressive type of Henoch-Schönlein nephritis. *Pediatr Nephrol* 1995 ; 9 : 6-10.
- Flynn JT, Smoyer WE, Bunchman TE, et al. Treatment of Henoch-Schönlein purpura glomerulonephritis in children with high-dose corticosteroids plus oral cyclophosphamide. *Am J Nephrol* 2001 ; 21 : 128-133.
- Kawasaki Y, Suzuki J, Suzuki H. Efficacy of methylprednisolone and urokinase pulse therapy combined with or without cyclophosphamide in severe Henoch-Schönlein nephritis : a clinical and histopathological study. *Nephrol Dial Transplant* 2004 ; 19 : 858-864.
- Tarshish P, Bernstein J, Edelmann CM Jr. Henoch-Schönlein purpura nephritis : course of disease and efficacy of cyclophosphamide. *Pediatr Nephrol* 2004 ; 19 : 51-56.
- Hattori M, Ito K, Konomoto T, et al. Plasmapheresis as the sole therapy for rapidly progressive Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. *Am J Kidney Dis* 1999 ; 33 : 427-433.
- Kauffmann RH, Houwert DA. Plasmapheresis in rapidly progressive Henoch-Schönlein glomerulonephritis and the effect on circulating IgA immune complexes. *Clin Nephrol* 1981 ; 16 : 155-160.
- Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Am J Med* 1974 ; 57 : 775-788.
- 和田庸子, 他. ステロイド内服とクリオフィルトレーション併用が奏功した本態性クリオグロブリン血症による急性腎不全の1例. *日腎会誌* 1999 ; 41 : 29-33.
- Monti G, Galli M, Invernizzi F, et al. Cryoglobulinaemias : a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. GISC. Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias. *QJM* 1995 ; 88 : 115-126.
- Treichel U, Wandel E, Gerken G, et al. HCV-associated cryoglobulinaemia presenting with vasculitis, hepatitis, and glomerulonephritis—a therapeutic dilemma. *Nephrol Dial Transplant* 1996 ; 11 : 1168-1171.

特集：急速進行性糸球体腎炎

RPGN の治療

平山浩一*¹ 小林正貴*¹ 山縣邦弘*² 小山哲夫*³

はじめに

急速進行性糸球体腎炎 (rapidly progressive glomerulonephritis : RPGN) は WHO により、「急性あるいは潜在性に発症する肉眼的血尿、蛋白尿、貧血、急速に進行する腎不全症候群」と定義されている¹⁾。RPGN は病理学的には、多数の糸球体に細胞性から線維細胞性の半月体の形成を認める壊死性半月体形成性糸球体腎炎が典型像である。しかし、半月体形成性糸球体腎炎以外にも RPGN の臨床経過をたどる疾患もあり、腎炎様の尿所見を伴い、急速な腎機能の悪化により放置すれば末期腎不全まで進行する疾患も臨床的に RPGN として取り扱われる。また、抗好中球細胞質抗体 (antineutrophil cytoplasmic antibody : ANCA)、抗糸球体基底膜 (glomerular basement membrane : GBM) 抗体、抗 DNA 抗体、免疫複合体などの血清学的指標および腎組織所見を加味して、pauci-immune 型 RPGN、抗 GBM 抗体型 RPGN (Goodpasture 症候群を含む)、免疫複合体型 RPGN に大別され、さらに pauci-immune 型は ANCA の対応抗原である myeloperoxidase (MPO) と proteinase-3 (PR3) により、MPO-ANCA 型 RPGN (顕微鏡的多発動脈炎を含む) と PR3-ANCA 型 RPGN (Wegener 肉芽腫症を含む) に病型分類される。本稿では、免疫複合体型 RPGN を除く疾患について概説する。

ANCA 型 RPGN

腎疾患専門医療機関においては、血清学的指標や腎組織学的検討より RPGN の病型診断を行い、重症度や各種合併症を考慮しつつ、それに応じた治療を行う。通常、メチル

プレドニゾロンパルス療法を含めた副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬、抗血小板薬や抗凝固薬、血漿交換療法などを併用した治療が行われる。

1. 初期治療

米国の National Institute of Health より、ANCA 関連血管炎の導入期治療として、経口副腎皮質ステロイド薬 (oral corticosteroid : OCS) (1 mg/kg/日) + シクロホスファミド (cyclophosphamide : CYC) (2 mg/kg/日) を、また、劇症型には CYC 大量療法 (3~5 mg/kg) を寛解後 1 年間まで継続するという regimen が提唱された。本治療により 75% の患者に完全寛解を得たとの報告⁴⁾をはじめとし、欧州血管炎研究グループ (European Vasculitis Study Group : EUVAS) などによる ANCA 関連血管炎に対する前向き比較試験の検討⁵⁾なども含め、一般的な初期治療として OCS と CYC の併用療法が推奨されている。経口副腎皮質ステロイド薬の初期投与量は 1 mg/kg/日 (最大 80 mg/日) で、肺胞出血など重篤な合併症を伴う場合にはメチルプレドニゾロンパルス (methylprednisolone pulse : MP) 療法ないしは血漿交換療法を併用するとされている。CYC 療法に関しては、2 mg/kg 経口投与が主であるが、de Groot らはメタ解析の結果、経静脈的 CYC パルス療法 (intravenous cyclophosphamide : IVCY) は経口 CYC 療法と比較して、寛解率も高く、副作用も少なく有用であるとしている⁶⁾。EUVAS による経口 CYC 療法 (2 mg/kg/日) または IVCY (15 mg/kg × 2~3 週毎) を行う前向き比較検討試験 (試験名称 CYCLOPS : daily oral versus pulse cyclophosphamide for renal vasculitis) が新規発症 160 例を対象として施行され、完全寛解の期間、および死亡や副作用出現頻度に有意差は認められなかった⁷⁾。

このように、海外の検討では、OCS + CYC 併用療法が支持されているが、米国や欧州の RPGN 症例は PR3-ANCA 型 RPGN を多く含んでいることを考慮する必要がある。本邦では、より高齢者に発症する MPO-ANCA 型 RPGN が最

Treatments of rapidly progressive glomerulonephritis

*¹東京医科大学茨城医療センター腎臓内科、*²筑波大学大学院人間総合科学研究科 腎臓病態分野、*³茨城県立医療大学

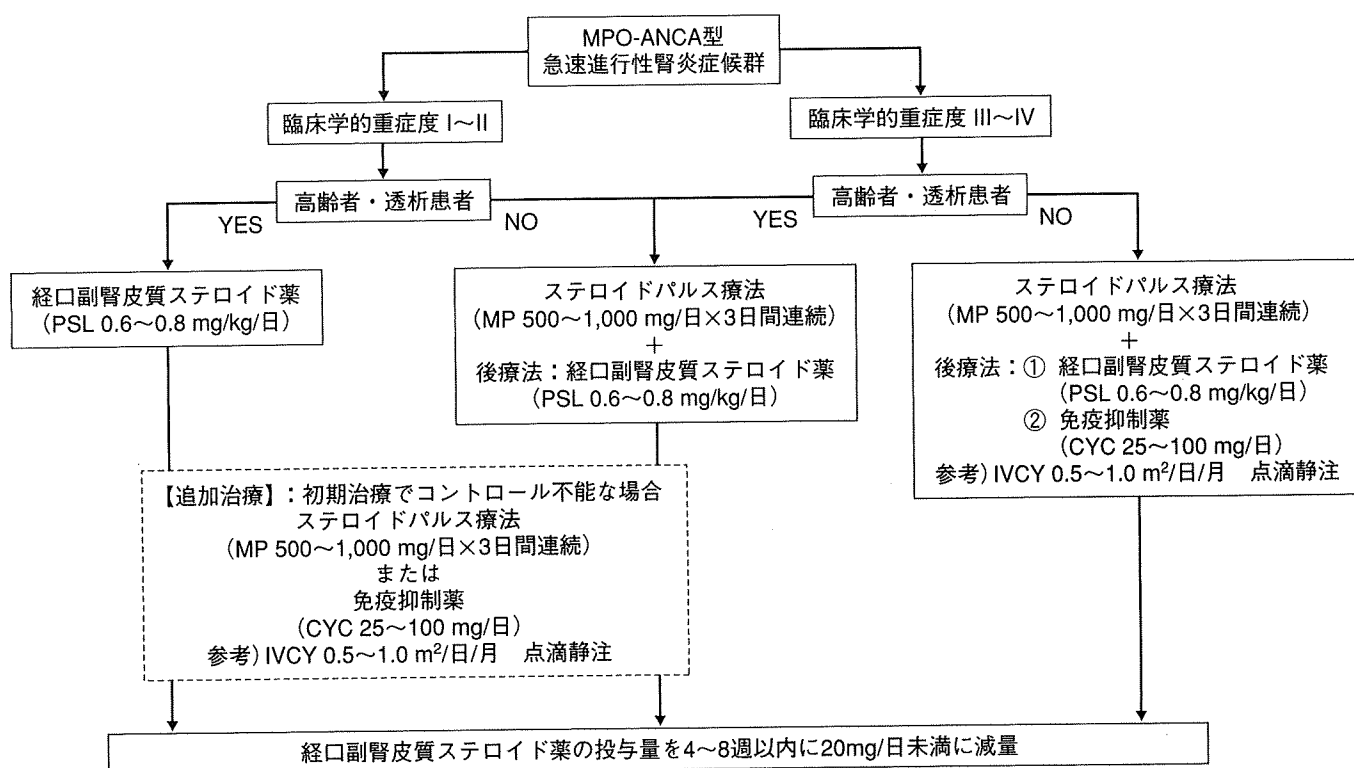


図 1 MPO-ANCA 型 RPGN の治療指針

PSL : prednisolone, MP : methylprednisolone pulse, CYC : cyclophosphamide, IVCY : intravenous cyclophosphamide

も頻度が高いことより、感染症の合併率が高く、生命予後不良となるため、高齢者の免疫抑制療法については慎重にならざるを得ない。本邦の検討では、OCS 0.8 mg/kg/日未満の症例は、それ以上投与した群と比較し、有意に生命予後を改善させ、腎予後も有意に良好であった²⁾。一方、MP療法とそれにCYCを併用した例の比較では、CYC併用例が予後不良の傾向であった。しかし、治療開始時血清クレアチニン値・血清CRP値の高値例や肺病変併発例でCYC併用率が高く、さらにCYC併用例では有意にOCS投与量も多いため、比較背景を揃えた検討を試みると、MP療法例に比べCYC併用例のほうが、腎生存率に有意差はないものの、生存率は有意に良好であった²⁾。

MPO-ANCA型RPGNにおける免疫抑制療法は、高度炎症所見や肺病変を併発した予後不良例には生命予後改善の可能性があるが、高齢者や日和見感染をきたしやすい症例、治療開始時すでに高度腎機能障害を伴う症例には注意すべきであるということを考慮して、「RPGN診療指針」(図1, 2)が作成されている²⁾。「進行性腎障害に関する調査研究」による再調査では、MPO-ANCA型RPGN 612例における平均OCS投与量は、1998年以前は0.84 mg/kg/日であったが、1999~2001年では0.75 mg/kg/日、2002年以降では

0.71 mg/kg/日と有意に減少していることが判明した³⁾。

2. 重症・劇症型ないし治療抵抗性症例に対する治療

肺胞出血など重篤な合併症を伴う場合には、前述のごとくMP療法ないしは血漿交換療法を併用することが一般的とされている。1970年代後半からMP療法が施行されるようになり、MP療法では腎機能改善度が良好で、透析離脱率も良好、有意に腎機能改善が認められたとの報告など、その有効性が示唆されている。

抗GBM抗体型RPGNにおける初期治療として有用である血漿交換療法もANCA関連血管炎に対して試みられている。本邦MPO-ANCA型RPGNで治療開始時に肺出血を合併していた79例についての解析では、21例にアフエレス療法が施行されていたものの、アフエレス療法施行の有無による最終予後には差がなかった。また、肺胞出血に高度腎機能障害(治療開始時血清クレアチニン6.0 mg/dL以上)例においてもアフエレス施行例のほうが若干予後不良であったが、治療開始時CRP 6.0 mg/dL以上の高度炎症を伴う症例でのみ、アフエレス療法施行による若干の生命予後改善が認められた⁸⁾。

EUVASによる血清クレアチニン値500 μmol/L(5.7 mg/dL)以上の高度腎障害151症例に対する、OCS+CYC療法

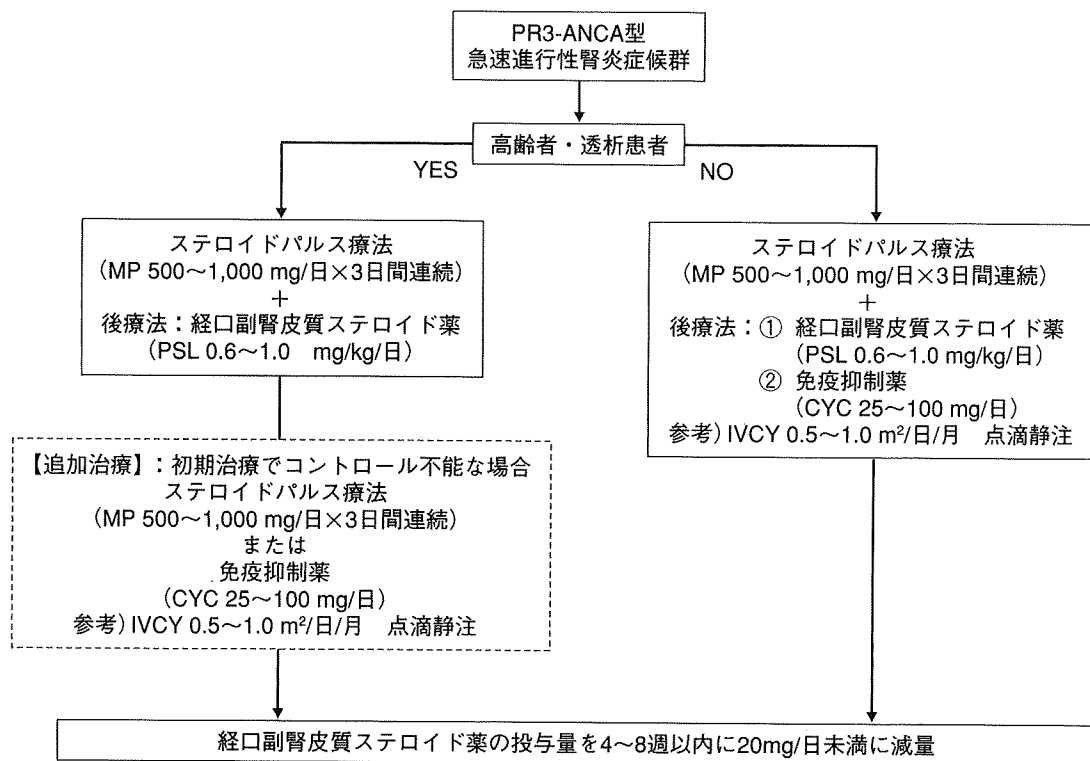


図 2 PR3-ANCA 型 RPGN の治療指針

に加え、MP 療法 (15 mg/kg/日×3 日間) または血漿交換療法 (60 mL/kg/回×7 回) を行う前向き比較検討試験 (試験名称 MEPEX: methylprednisolone or plasma exchange for severe renal vasculitis) では⁹⁾、3 カ月後の生存率または腎生存率は血漿交換療法群のほうが良好 (69 % vs. 49 %) であったが、全体の 2/3 の症例が透析導入となり、全体の 25 % の症例が治療法の種類に関連なく死亡したとの結果であった。

3. 維持療法

維持療法における比較検討試験としては、EUVAS による CYC とアザチオプリン (azathioprine: AZA) との前向き比較検討試験 (試験名称 CYCAZAREM: cyclophosphamide versus azathioprine for remission in generalized vasculitis) があり、OCS (60 mg/日) + CYC (2 mg/kg/日) 併用初期治療により寛解した 144 症例に対して、治療 3 カ月後に CYC (1.5 mg/kg/日) 継続群と AZA (2 mg/kg/日) に変更した群とで比較したものである。CYC 継続群と AZA 変更群との間に再発率に有意差はなく (11 % vs. 10 % ; p=0.94)、その安全性から AZA の有用性が報告されている¹⁰⁾。

本邦 MPO-ANCA 型 RPGN における初期治療終了後の維持 OCS 投与量については、「RPGN 治療指針」では 20 mg/日未満とした場合の生存率は 94.4 % で、20~30 mg/日

では 83.3 %、30 mg/日以上では 50.0 % と、20 mg/日未満とすることがその後の生命予後を有意に改善させるとしている²⁾。そのため、疾患活動性がコントロールされていれば、可能な限り速やかに OCS を 20 mg/日未満まで漸減し、ANCA 抗体価の高値が持続する場合には CYC 25~100 mg/日の併用を考慮するとしている。

4. その他の治療法

1) 他の免疫抑制薬

その他の免疫抑制薬としてメソトレキセート (methotrexate: MTX) やデオキシスパーガリンが寛解導入に有用であるとの報告もあり、EUVAS による MTX 治療群 (MTX 15~20 mg/週) と CYC 治療群 (CYC 2 mg/kg/日) との前向き比較検討試験 (試験名称 NORAM: methotrexate versus cyclophosphamide for early systemic disease) では¹¹⁾、治療開始 6 カ月後、MTX 治療群では再発率は高い (69 % vs. 42 %) もの、寛解導入率は同等 (83 % vs. 84 %) であり、また、発症時の障害臓器数が多い例や肺病変合併例では寛解持続期間が長いと報告している。

また、ミコフェノール酸モフェチル (mycophenolate mofetil: MMF) の CYC 療法抵抗性の際の寛解導入補助薬としての有用性や、維持療法に対する再発減少効果などの有用性が報告されている¹²⁾。現在、EUVAS により、OCS + CYC