

シクロスポリン G 及び D の実験的自己免疫性ぶどう膜炎に  
 対する抑制効果及び腎障害について (図10, 表4)

川島 秀俊・奥村 敦司・藤野雄次郎 (東京大学眼科)  
 丹 下 剛 (東京大学病理)  
 東 原 英 二・堀 内 大太郎 (東京大学泌尿器科)  
 望 月 学 (東京大学分院眼科)

The Effects of Cyclosporine G and D Treatment  
 on EAU and Kidney in Rats

Hidetoshi Kawashima, Atsushi Okumura, Yhujiro Fujino,  
 Tsuyoshi Tange\*, Daitaro Horiuchi\*\*, Eiji Higashihara\*\*,  
 and Manabu Mochizuki\*\*\*

*Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine*

*\*Department of Pathology, University of Tokyo School of Medicine*

*\*\*Department of Urology, University of Tokyo School of Medicine*

*\*\*\*Department of Ophthalmology, Branch Hospital, University of Tokyo School of Medicine*

要 約

ラットを用いた実験的自己免疫性ぶどう膜炎において、次の結果を得た。(1) ぶどう膜炎に対する抑制効果は CsA が最も強く、次いで CsG, D の順だった。CsD では、ほとんど効果が認められなかったが、CsG では dose dependent な一定の効果が認められた。(2) CsG のぶどう膜炎に対する抑制効果は、CsA と同様に細胞性免疫を抑制することによると考えられた。(3) 腎障害の程度は、CsA が最も強く、CsG 及び D では、比較的高用量まで組織学的に障害を認めなかった。(4) 以上のことより、CsG は、実験動物でのぶどう膜炎に対し抑制効果があり、腎毒性も CsA に比べて非常に少ないことより、将来ぶどう膜炎治療への臨床応用の可能性があることを示唆された。(日眼 91: 940-950, 1987)

キーワード：シクロスポリン G, シクロスポリン A, 腎障害, 実験的自己免疫性ぶどう膜炎, 細胞性免疫

Abstract

Cyclosporine G and D were tested for their effects on the development of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) and immune responses to S-antigen in rats immunized with this retinal antigen and the results were compared to those of Cyclosporin A (CsA). When administered daily from day 0~14 after immunization, Cyclosporine A (CsA) was most effective in inhibiting the development of EAU. CsG was also effective, and from a clinical point of view, 20~30mg/kg/day of CsG appeared to be almost the equivalent of 5mg/kg/day of CsA. The effect of CsD was minimal. Even when administered as late as from day seven after immunization, CsA and G were both effective in inhibiting the development of EAU. On the other hand, CsA was most nephrotoxic in rats, with toxic changes found at as little as 10mg/kg/day of CsA. CsG and D were not nephrotoxic even at 30mg/kg/day. CsG

別刷請求先：112 東京都文京区目白台 3-28-6 東京大学分院眼科 望月 学

Reprint requests to: Manabu Mochizuki, M.D. Department of Ophthalmology, Branch Hospital University of Tokyo School of Medicine

3-28-6 Mejirodai, Bunkyo-ku, Tokyo 113 Japan

(昭和62年5月18日受付) (Accepted May 18, 1987)

had the same effect on the immune responses of the rats as CsA, namely selective inhibition of the specific T-cell mediated responses to S-antigen (delayed type skin response), while having no effect on antibody production response (Arthus type skin response). CsD had no specific effects. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91 : 940—950, 1987)

**Key words :** Cyclosporine G (CsG), Cyclosporine A (CsA), Renal toxicity, Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU), Cellur immunity

## I 緒 言

シクロスポリン(サイクロスポリンA, 以下CsA)は, ある種のカビの代謝産物より抽出された抗生物質の一つで<sup>1)2)</sup>, その特異な免疫抑制作用, 即ち, Tリンパ球機能を選択的に抑制する事により<sup>3)~5)</sup>, 免疫学, 臨床医学の各分野で, 広く興味のもたれている新しい世代の免疫抑制剤である。CsAは, 遅延型皮内反応, Tリンパ球依存抗原に対する抗体産生, 移植臓器に対する免疫反応など, Tリンパ球により媒介される様々な免疫反応を著明に抑制することが知られ<sup>3)~5)</sup>, しかも, 従来の細胞毒性作用を有する免疫抑制剤と異なり, 骨髄抑制がほとんどみられないので, さまざまな臓器移植に臨床応用され拒絶反応抑制に効果を上げている<sup>6)7)</sup>。CsAは, さらに, 自己免疫病の治療にも臨床応用され, 特にその病因にTリンパ球が深く関与している実験的自己免疫病において, 本剤は, その発症を抑制あるいはその病勢を軽減する効果を有することが報告されている<sup>8)</sup>。

眼科領域における自己免疫疾患としては, 網膜可溶性抗原(S抗原)を免疫することにより, 種々の実験動物にひきおこされる実験的自己免疫性ぶどう膜炎(experimental autoimmune uveoretinitis, 以下EAU)があり<sup>9)~12)</sup>, 本症の発症機構にTリンパ球が不可欠であることが明らかにされている<sup>13)~15)</sup>。Nussenblattらは, S抗原免疫ラットにCsA治療を行い, CsAがEAUの発症を極めて強く抑制する事を初めて報告し<sup>14)16)17)</sup>, その後Mochizukiらにより, CsAによるEAUの抑制作用機序の解析が行われ, CsAは, ステロイドをはじめとする他の免疫抑制剤とことなり, S抗原免疫ラットにおいて, S抗原に対する細胞性免疫反応のみを選択的に強く抑制し, EAUの発症を抑えることが判明した<sup>18)</sup>。これらの事にもとづき, 難治性ぶどう膜炎やベーチェット病に対して, CsAが臨床応用され, 従来の治療が無効であった症例においても, 治療効果が認められている<sup>19)</sup>。一方, 臨床例が集積されるに

したがって, さまざまな副作用の発生, 特に, 高頻度の腎障害の発生が臨床上の大きな問題となっている<sup>20)21)</sup>。当初は, CsAの腎障害は, 可逆的なもので, 用量を減ずれば, 完全に回復するものと考えられていたが, 最近, CsAを臨床的に使用されていた患者からの腎生検を行った報告によると<sup>21)</sup>, CsA投与により腎に形態学的変化が生じており, 非可逆的变化を生じることも示唆されている。ベーチェット病などの難治性ぶどう膜炎に対する治療は, 長期間薬剤投与を続ける必要があり, 従って, 腎障害の低い薬剤の開発が望まれていた。最近開発されたシクロスポリンG(CsG)及びD(CsD)は, CsAの構造類似体であり, CsAと同様の免疫抑制作用を持ち, 腎障害はCsAに比べて低いと報告されている<sup>22)23)</sup>。そこで本研究では, CsG及びCsDの難治性ぶどう膜炎の臨床応用への可能性についての基礎的知識を得る目的で, これらの薬剤のEAUに対する治療効果, 及び腎障害につき検討した。

## II 実験方法

### 1. 実験動物

近交系ルイスラット(雄, 8週齢から12週齢, 平均体重250g:日本生物材料研究所)を, ラミナフローケージにて1週間飼育し環境に慣れさせたのちに使用した。

### 2. 免疫

牛眼球(東京芝浦臓器株式会社, 東京, 品川)より採取した牛網膜を材料として, Doreyらの方法に準じてS抗原を分離精製し使用した<sup>24)</sup>。アジュバンドとしては, 不完全フロイドアジュバンド(Difco co, ltd., Detroit, USA)にMycobacterium tuberculosis H37Raが2mg/ml含有される完全フロイドアジュバンド(CFA)を自家調整して用いた。S抗原とCFAを容量比1:1で混和乳液とし, 一匹あたり0.1ml(30 $\mu$ gのS抗原を含有する)を足跡に1回免疫した。

### 3. 薬物治療

本実験に使用した薬物は, CsA, CsG, CsD(Sandoz

co. ltd., Bazel, Switzerland)であり、いずれも水に溶解しないため、45~50℃の温浴中でスターラーで攪拌しながら、純性オリーブ油に溶解させた。CsGは、これによっても溶解がよくないため、さらにエタノールが10W/V%加えられた。投与方法は、下腿大腿部あるいは背中筋肉内に25G針で注射したが、S抗原を免疫した側の下肢への薬物筋注は、免疫後1週間は避けるようにした。

治療計画は、(1) S抗原免疫当日 (Day 0) から免疫後14日目 (Day 14) まで、毎日、筋注する、(2) S抗原免疫後7日目 (Day 7) からDay 14まで毎日筋注する、の2通りであった。薬剤の用量は、(1) Day 0~14の治療では、各薬剤5, 10, 20, 30, 40mg/kg/day、(2) Day 7~14の治療では、40mg/kg/dayであった。これらの薬物治療を受けた群に対する対照群としては、S抗原免疫後、全く薬物投与を受けなかったラットを用いた。

#### 4. EAU 及び腎障害の評価

各薬剤のEAUの発症に対する効果は、眼内炎症の臨床症状の肉眼的観察と、病理組織学的検査を全例に行って判定した。腎障害の程度は、腎の病理組織学的検査を全例に行い、又、一部のラットでは、後述のごとく、メタボリックケージを用いて、24時間尿を採取して、腎機能検査も行って判定した。

具体的には、免疫7日目以降、毎日、EAUの発生状況を肉眼的に観察し、EAUの臨床症状が初めて生じた日を、発症日とした。免疫後18日目に、全てのラットを断頭により殺処分し、ただちに両眼と両腎を摘出した。眼球は、2.5%グルタル2%フォルムアルデヒドにて固定し、腎臓は10%ホルマリンにて固定の後に、パラフィン切片とし、それぞれ3μmの厚さに切り出し、Hematoxylin-eosin染色並びにPAS染色を行って、光学顕微鏡にて観察した。EAUの病理変化の程度は、炎症細胞の浸潤の程度と眼内組織の破壊の程度により、4段階に分類して評価した。即ち、炎症を全く認めないものを(0)とし、炎症細胞が前眼部及び視細胞層に軽度認められ、視細胞が部分的に破壊消失しているものを(+1)、炎症細胞の浸潤がさらに強く視細胞層の破壊が全体の半分を越え、部分的に網膜剝離も形成されているものを(+2)、急性炎症所見が高度なもの、あるいは急性炎症所見は認めないが、視細胞層がすでにほぼ消失し網膜の変性の著しいものを(+3)とした。腎臓の病理変化については、腎小体、近位及び遠位尿管の形態学的変化に基づいて、下記

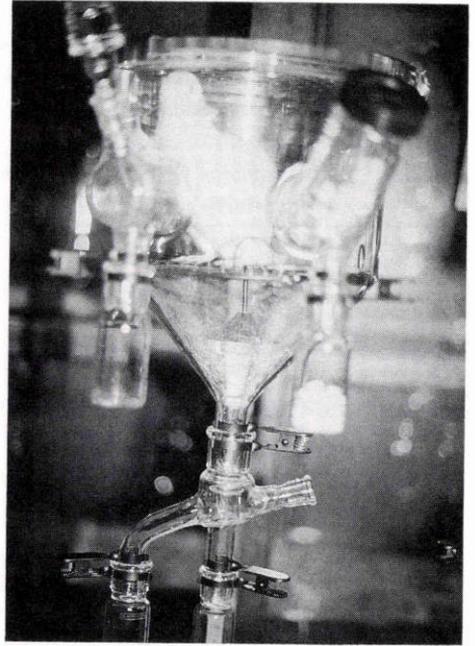


図1a メタボリックケージにて実験中のラットの外観

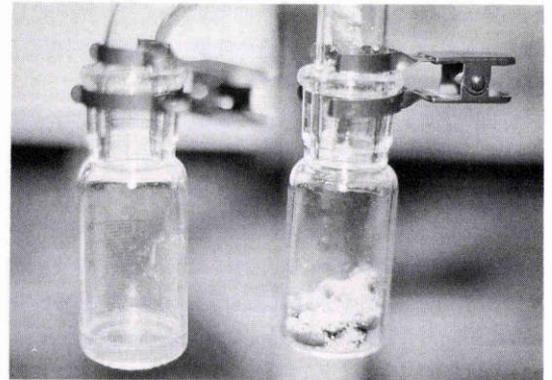


図1b メタボリックケージの尿と糞の採取ビン

の4段階に分類して評価した。即ち、上記の腎構築に形態学的に全く異常を認めないものを(0)とし、ごく軽度に尿管細胞の空胞変性を認め、腎皮質内には不規則に層状萎縮変性を認めるものを(+1)、それらを中等度に認めるものを(+2)、さらに高度に、かつ全皮質にわたって多数認めるものを(+3)とした。眼球及び腎臓の形態学的所見を上記の基準に基づいて各ラットにスコアをつけて、各治療群での平均値を結果に記した。

腎機能検査は、CsA及びCsGを30mg/kg/day、Day

0~14において治療を受けたラットについて、ラット用メタボリックケージを用いて、24時間尿を採取して行った。メタボリックケージは、実験動物の代謝機能を解析するために使われるケージで、食餌したエサと水の量が測定され、かつ、尿と糞とが別々に採取されるようになっている(図1a, b)。薬物治療開始前(0日)、治療終了直後(14日)、治療終了後2週間目(28日)の3つの時点でラットを個別にメタボリックケージに24時間入れ、24時間尿を採取し、同時に少量の静脈血をヘマトクリット管を使用し採血し、次の項目について測定した。即ち、24時間尿量、尿浸透圧、尿中 $\beta_2$ -microglobulin量、尿中クレアチニン濃度、血清クレアチニン濃度、及びクレアチニンクリアランスである。

5. S抗原に対する皮内反応

Day 0~14においてCsA, D又はGを10mg/kg/day投与治療を受けたラットと、対照群のラットのの一部を用いて、免疫後17日目に、S抗原に対する皮内反応を施行した。腹部の毛を剃髪した後、S抗原を100 $\mu$ g含むリン酸生理食塩水(PBS) 0.1ml、あるいは、PBS単独0.1mlを腹部の皮内に27G針にて注射した。3時間後(アルサス型反応)及び24時間後(遅延型反応)に、皮下硬結の直径をmm単位で計測し表示した。

III 結 果

1. CsA, D及びG治療のEAUに対する抑制効果

1) Day 0~14の治療

表1 CsA, D又はGによる治療(0-14日目)のEAU抑制効果

Drug	Dose (mg/kg/day)	EAU		
		EAU rat/total	Days of onset	Severity
None	—	11/11	10.3 $\pm$ 0.8	3.0
CsA	5	1/9	14.0	0.1 $\pm$ 0.2
	10	0/7	—	0
	20	0/9	—	0
	30	0/10	—	0
	40	0/5	—	0
CsG	5	9/9	12.7 $\pm$ 1.4	2.8 $\pm$ 0.4
	10	5/7	13.6 $\pm$ 2.0	1.7 $\pm$ 1.2
	20	2/9	16.0	0.6 $\pm$ 0.9
	30	1/10	15.0	0.2 $\pm$ 0.6
	40	0/5	—	0
CsD	5	5/5	10.8 $\pm$ 0.7	3.0
	10	5/5	11.8 $\pm$ 2.1	2.8 $\pm$ 0.4
	20	5/5	12.8 $\pm$ 0.7	2.6 $\pm$ 0.4
	40	4/5	12.5 $\pm$ 0.5	2.3 $\pm$ 0.4

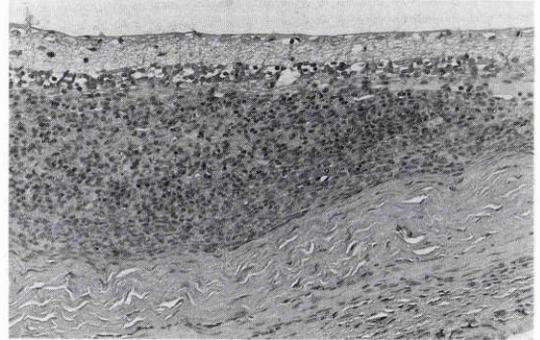


図2 未治療のコントロールラットの眼病理像：網膜構造の破壊及び炎症性細胞の浸潤が著しい。hematoxylin-eosin 染色 $\times$ 66

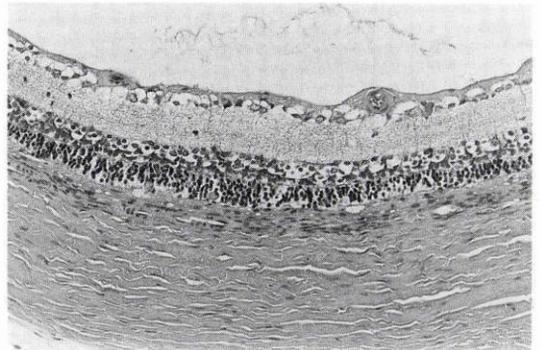


図3 CsA 5mg/kg/dayにより治療を受けたラットの眼病理像：網脈絡膜構造の破壊及び炎症性細胞の浸潤が軽度に認められる。hematoxylin-eosin 染色 $\times$ 66

表1に未治療の対照ラット群とS抗原免疫当日から免疫後14日目まで、CsA, D又はGのいずれかを各用量で治療されたラット群のEAU発生状況及びEAUの病理組織学的変化のスコアを示す。対照ラット群では11匹全例が免疫後平均10.3日目にEAUを発生し、その病理変化は極めて強く、視細胞層の破壊も激しく、網膜はほぼ全剝離を起こし、炎症細胞の脈絡膜、硝子体腔への浸潤も顕著であった(図2)。CsA治療群は、5mg/kg/dayで9匹中1匹に、免疫後14日目に認めたが、その病理組織学的変化は対照に比べて軽度であった(図3)。10mg/kg/day以上の用量CsAでは全例において、肉眼的にも組織学的にもEAUの発症は認められなかった。一方CsG治療群は、5mg/kg/dayの用量では、9匹全例が平均12.7日目に、又、10mg/kg/dayでは7匹中5匹が平均13.6日目にEAU

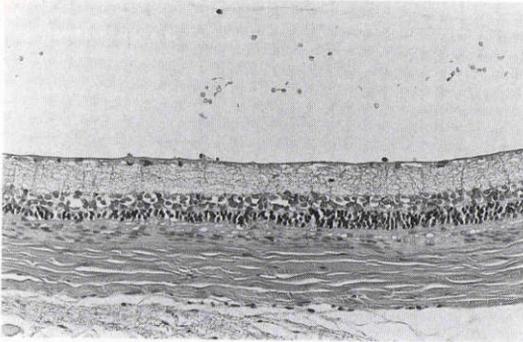


図4 CsG 20mg/kg/day により治療を受けたラットの眼病理像：網脈絡膜構造の破壊及び炎症性細胞の浸潤を認めるが、コントロールに比べるとその程度は軽い。hematoxylin-eosin 染色×66

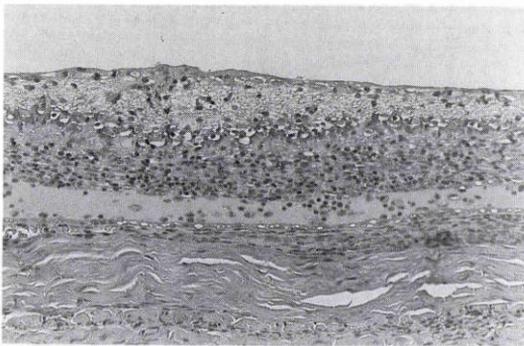


図5 CsD 40mg/kg/day により治療を受けたラットの眼病理像：網膜構造の破壊及び炎症性細胞の浸潤は、コントロールのそれと変りがないほど著しい。hematoxylin-eosin 染色×66

を発症した。しかし、20mg/kg/day では9匹中わずかに1匹に16.0日目に、又、30mg/kg/day でも10匹中1匹に15.0日目にEAUを発症したにすぎず、40mg/kg/day のCsGにて治療された5匹では、全例EAUを発症しなかった。CsG 5mg/kg/day の用量で治療され発症したEAUの病理変化は、対照群のそれとほぼ同程度に強いものであったが、20mg/kg/day 以上のCsGの治療を受けたラットのEAUの病理変化は、全ての対照群のそれと比べて、軽微であった。1例として、CsG 20mg/kg/day にて治療されてEAUを生じたラットの眼病理組織像を図4に示す。ところが、CsD治療群は、5、10、20mg/kg/day の各用量で治療されたラットは、全例EAUを対照群とほぼ同じ時期に発症し、40mg/kg/day の高用量でも、5匹中4匹に

表2 CsA 又はGによる治療（7-14日目）のEAU抑制効果

Drug	Dose (mg/kg/day)	EAU		
		EAU rat/total	Days of onset	Severity
None	—	11/11	10.3±0.8	3.0
CsA	40	0/4	—	0
CsG	40	2/4	11.5±1.5	1.0±1.0

表3 CsA, D 又はGによる治療（0-14日目）を受けたラットの腎障害の程度

Drug	Dose (mg/kg/day)	Intensity of pathologic changes in the kidney
None	—	0
CsA	5	0.5±0.7
	10	1.5±0.5
	20	2.0
	30	2.5±0.5
	40	3.0
CsG	5	0
	10	0
	20	0.4±0.3
	30	0
	40	1.3±0.5
CsD	5	0
	10	0
	20	0
	40	0.1±0.2

EAUが発症した。5~20mg/kg/day のCsD治療群のEAUの病理変化は、対照群のそれとほぼ同様に強く、40mg/kg/day の用量でも、その病理変化は、対照のそれに比し、やや軽い程度であった(図5)。

2) Day 7~14の治療

Day 0からDay 14の治療でCsDは、EAUの発症をほとんど抑制しないことが判明したので、Day 7からDay 14の治療は、CsAとCsGについてのみ、40mg/kg/day の用量で検討した。その結果のまとめを、表2に示す。未治療の対照群は、4匹全例が平均10.5日目に激しいEAUを発症した。CsA治療群では、4匹中EAUを発症したラットはなく、一方、CsG治療群では、4匹中2匹が平均11.5日目にEAUを発症した。

2. CsA, D及びG治療の腎障害

腎障害に対する検討は、全てのDay 0からDay 14までの治療を受けたラットにおいて行った。表3に、各群のラットの腎病理所見のスコアを記す。全く薬剤により治療を受けていない未治療の対照群ラットの腎で

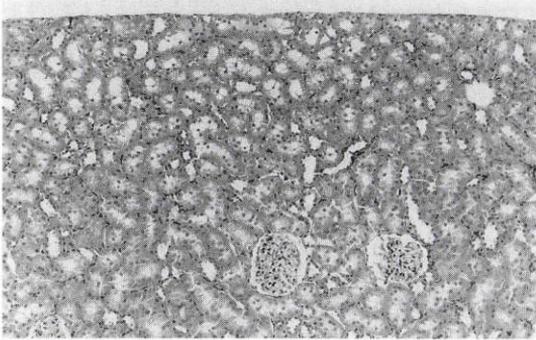


図6 未治療のコントロールのラットの腎病理像：正常の糸球体及び尿細管を認める，hematoxylin-eosin 染色×33

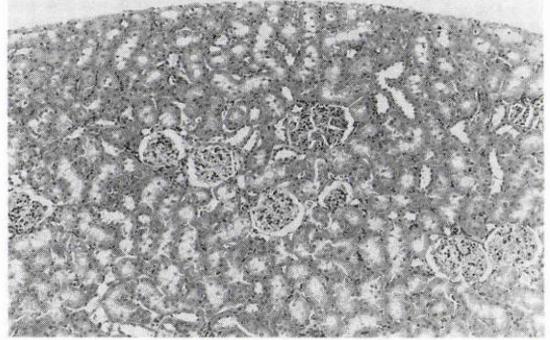


図8a CsG 30mg/kg/day により治療を受けたラットの腎病理像：正常の糸球体及び尿細管を認め、障害を全く認めない，hematoxylin-eosin 染色×33

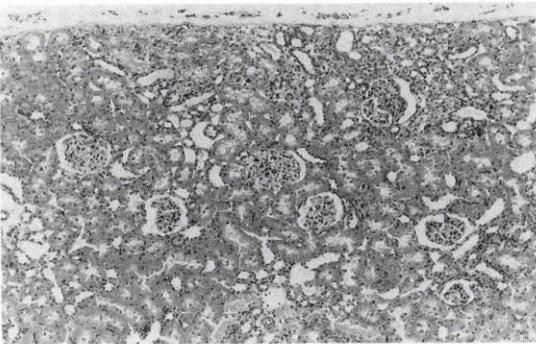


図7a CsA 10mg/kg/day により治療を受けたラットの腎病理像：尿細管は、空胞変性をおこしており、細胞質の染色性が一部で変化しており、さらに線維症と思われるところも認められる，hematoxylin-eosin 染色×33

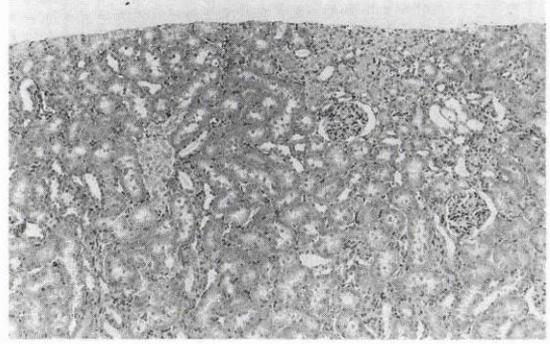


図8b CsG 40mg/kg/day により治療を受けたラットの腎病理像：尿細管の空胞変性及び間質の線維症と思われるところも認められるが、その程度は軽い，hematoxylin-eosin 染色×33

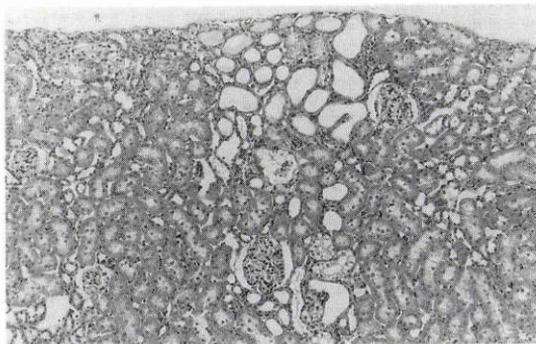


図7b CsA 30mg/kg/day により治療を受けたラットの腎病理像：尿細管の空胞変性及び間質における線維症は、著しく認められる，hematoxylin-eosin 染色×33

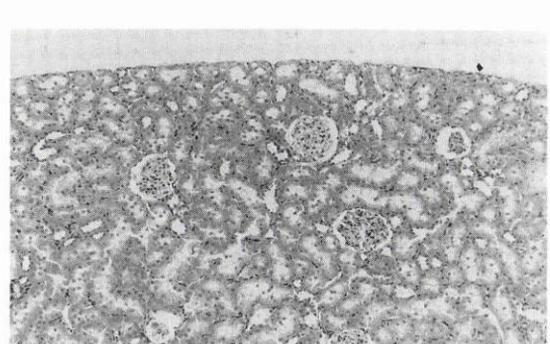
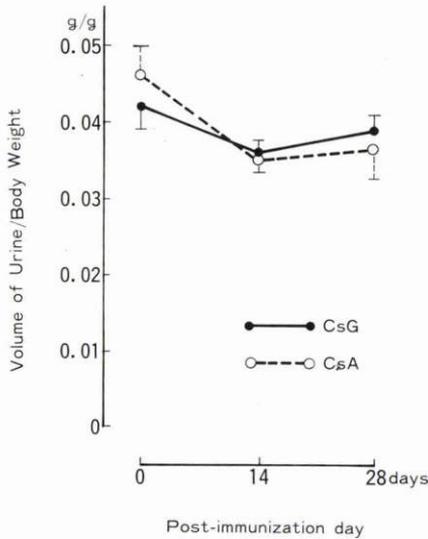


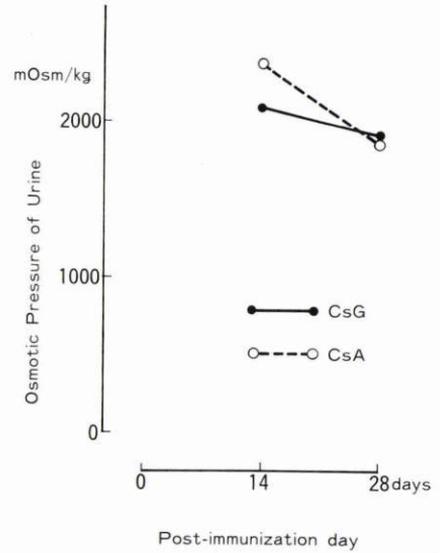
図9 CsD 40mg/kg/day により治療を受けたラットの腎病理像：正常の糸球体及び尿細管を認め、障害をほとんど認めない，hematoxylin-eosin 染色×33

は、全て腎組織所見は正常で、皮質表層部に、腎小体と近位及び遠位尿細管の正常構築をみることができる(図6)。一方、CsA治療群では、5mg/kg/dayではコントロールのラットとほぼ同様の正常構造を認めたが、10mg/kg/dayにて治療されたラットの腎では、既に、皮質表層部の近位及び遠位尿細管では空腔変性を

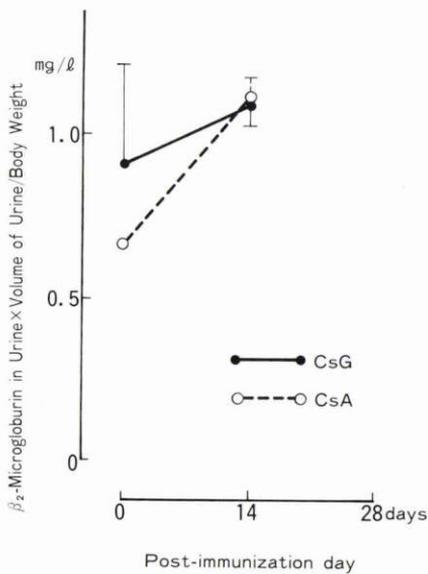
おこし、その周囲の間質には巣状萎縮変性を認めた(図7a)。CsA 20~40mg/kg/dayとより高用量にて治療されたラット腎では、その程度が非常に強かった(図7b)。ところが、CsGでは5~30mg/kg/dayにて治療されたラットの腎においては、対照群と同じく、腎小体と近位及び遠位尿細管の正常構築をみることができた



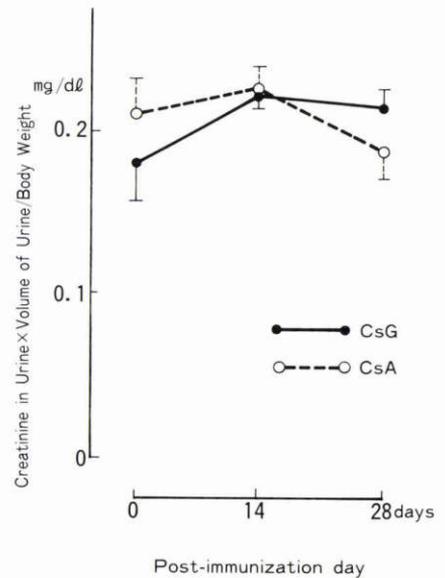
a 縦軸は、体重(g)当たりの尿重量(g)を示す。又、以下において、この体重(g)当たりの尿重量(g)をU/Bとする。



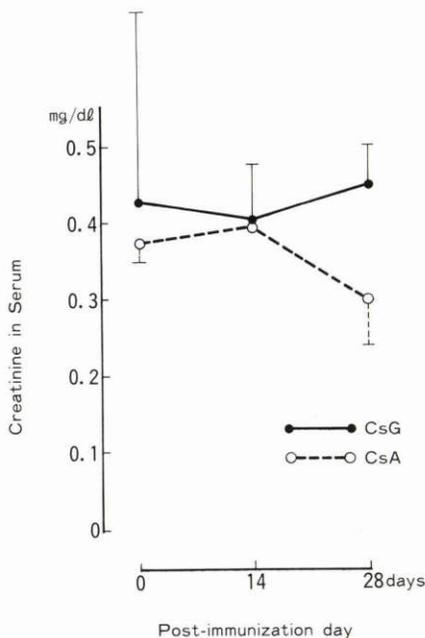
b 縦軸は、尿浸透圧(mOsm/kg)を示す。



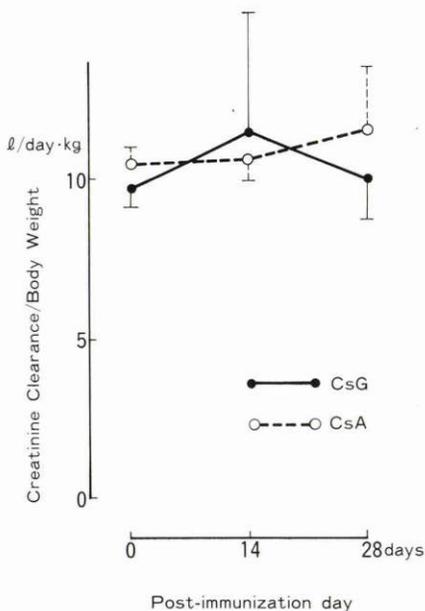
c 縦軸は、尿中の $\beta_2$ -microglobulin濃度(mg/l)にU/Bを乗じた値を示す。



d 縦軸は、尿中クレアチニン濃度(mg/dl)にU/Bを乗じた値を示す。



e 縦軸は、血清クレアチニン濃度 (mg/dl) の値を示す。



f 縦軸は、クレアチニンクリアランス (l/day) を体重 (kg) で除した値を示す。

図10 CsA 又は G 30mg/kg/day により治療を受けたラットの尿及び血清の臨床データ：横軸はすべて 0 日目 = 治療前, 14 日目 = 治療直後, 28 日目 = 治療終了後 2 週間ということを示している。又、パーは、標準誤差を示す。

(図 8a). CsG 40mg/kg/day にて治療されたラットの腎においてわずかに、CsA 治療群において認められたような変化を認めた(図 8b). CsD にて治療されたラットの腎には全く障害を認めず、対照群と同じであった(図 9).

図10に、メタボリックケージにより採取した24時間尿と静脈血を用いて測定した腎機能の各検査のデータを示す。図では、治療前(0日目)と治療直後(14日目)、及び治療終了後2週間(28日目)の値の推移を示した。まず、体重当たりの尿量と尿浸透圧は、CsA, CsG 治療両群において、やや減少傾向にあったが、大きな差は認められなかった(図 10a, b)。しかし、尿中  $\beta_2$ -microglobulin は、治療直後においていずれの群においても上昇しており、尿細管機能のかなりの障害が引き起こされていることが予想される(図 10c)。尿中及び血清クレアチニンの濃度は、特に一定の動向をみせず、従って、クレアチニンクリアランスも、治療前後において変化は少なかった(図 10d, e, f)。

### 3. S 抗原に対する皮内反応

CsA, D 及び G 治療が、投与を受けたラットの免疫

表 4 S 抗原に対する免疫反応 (アルサス型及び遅延型反応)

Drug	Dose (mg/kg/day)	Skin responses to S-antigen (mm in diameter)	
		Arthus	DTH
None	—	27.5±1.3	25.0±0.1
CsA	10	17.5±2.5	0.0±0.0
CsG	10	28.0±5.6	6.3±1.9
CsD	10	23.7±2.2	17.5±2.5

応答系に与える影響を知る目的で、S 抗原に対する皮内反応を検討した結果を表 4 に示す。表中の数字は硬結の直径を mm で表示したもので、10mm 以上を陽性とする。S 抗原免疫後、未治療のコントロール群では、強いアルサス型及び DTH 反応を示している。一方 CsA 及び G にて治療されたラットは、S 抗原に対する遅延型反応のみが強く抑制されている。一方 CsD には、このような特徴的な抑制は認められなかった。

## IV 考 按

CsA は、T リンパ球を選択的に抑制するとされ、S 抗原による EAU 及びヒトのぶどう膜炎に対し、優れた治療効果が認められているが<sup>14)16)17)19)</sup>、臨床使用の上で、高頻度の腎障害等の副作用が認められる<sup>20)21)</sup>。しかし、CsA の構造類似体である CsG 及び D は、CsA と同様の免疫抑制作用を持ち、腎障害は CsA に比べて低いと報告されている<sup>22)23)</sup>。我々は、このことを検討するために、CsA、D 及び G のラットの EAU に対する抑制効果と、腎障害の程度を実験解析した。

その結果は、既に臨床的にも使用が試みられ、ペーチェット病に対して効果のあることが報告されている<sup>19)</sup>CsA が、その EAU 抑制効果においては最も強力であった。例えば、CsA 5mg/kg/day は、CsG 20~30 mg/kg/day とおおよそ同等の効力を示して、EAU の発症の大部分を抑制し、さらに、CsA 10mg/kg/day 以上、CsG 40mg/kg/day の用量においては、EAU の発症を100%抑えた。又、CsA や G を使用されたラットでは、EAU を発症しても、その程度は軽度であった。CsD は、抑制効果は最も少なかった。又、CsA 及び G においては、免疫後7日目よりの投与で一定の EAU 抑制効果が得られた。このことは、Induction phase からの投与のみならず、effector phase から投与でも、EAU 抑制効果が十分得られるということである。このように、EAU 発症抑制効果に大きな差があり、又、後述するような腎障害の程度の差異があった原因として、もちろん各薬剤の薬効、あるいは性状の差異があると考えられるが、その他に、薬剤の生体内への吸収に差異のある可能性もあると思われる。この点については、現在、各薬剤を投与したラットの血中の薬剤の濃度を測定解析しているところであり、別報にて報告の予定である。

CsA による腎の障害は、CsA が臨床的に使用され始められた当初は、可逆的で一時的な障害であると考えられていたが、多くの臨床使用例が集積するに従って、一部には、不可逆の腎障害をきたした症例も散見されるようになった。器質的障害によって引き起こされる変化の主たる部位は、尿細管においての変化であるが、糸球体にもその変化が及ぶことがある<sup>21)25)</sup>。その障害のマーカーとしては、尿中  $\beta_2$ -microglobulin やクレアチニン、及び血清クレアチニン濃度、さらにクレアチンクリアランスの推移が注目されている。即ち、長期に大量の CsA を使用することによる腎障害により、

これらの臨床値が一時的又は恒常的に正常値を越えるようになったら、こうした器質的障害を疑う必要がある。こうした障害を引き起こすことが少ないとの期待が CsG にもたれているわけである。しかしこの CsG の腎障害の程度についても、高用量 (50mg/kg/day) の投与で CsA と同様の腎障害、即ち血清クレアチニン値の上昇及びクレアチンクリアランスの低下をきたしたとの報告<sup>26)</sup>がある。今回の我々の結果においては、CsG は少なくとも30mg/kg/day までは、器質的障害を全く引き起こさないか、おこしても極めて軽微であった。即ち、腎障害の程度においては、CsG の20~30 mg/kg/day は、CsA の5mg/kg/day に、又 CsG の40 mg/kg/day は、CsA の10mg/kg/day におおよそ相当すると考えられる。CsD による障害は、40mg/kg/day においても極めて少なかった。

今回のメタボリックケージを使つての実験において、器質的にかなりの変化をきたしていた CsA 治療群ラットにおいても、その臨床的データにおいては明らかな変化を示さなかった。これは、そもそも腎そのものが、かなりの予備機能をもっているため、臨床的データにおいても変化を来すには、相当の器質的障害が必要とされるからであると思われ、常に念頭においておかなければならない。逆に言えば、臨床的データにおいても変化を来す頃には、既に不可逆の器質的腎障害をきたしている可能性があるということであり、このことは、十分に注意すべき事である。

今回の S 抗原に対する皮内反応の結果から、CsG は CsA<sup>3)~5)</sup>と同様に細胞性免疫のみを抑制すると考えられた。即ち、CsA 又は CsG にて治療されたラットにおいては、S 抗原に対するアルサス型反応はコントロールのそれと差はなかったが、遅延型反応がコントロールに比してかなり抑制されていた。又、このアルサス型反応の抑制が少ないことが、同じく免疫反応を抑制する作用を有するステロイドとは大きく異なる一つの特徴であると思われる<sup>18)</sup>。In vitro の免疫反応においても、CsG は CsA と同様に、リンパ球活性化抑制能をもつことが報告されている<sup>27)28)</sup>。

将来において、CsG は CsA と同様に、臨床的に有用な薬剤としての可能性があると思われる。即ち、シャープで迅速な効果を期待するときには CsA を用い、患者に腎障害を認めたり、又はそれが疑われる時などには、CsG を使用するという使い分けが可能と思われる。又、点眼薬としての使用にも一定の効果が認められ<sup>23)</sup>、考慮されるべき投与方法であると思われる。

本論文の要旨は、第90回日本眼科学総会にて発表した。本研究は文部省一般研究 A60440079の援助を受けた。本研究の御指導を賜りました三島済一教授に深謝致します。ラットの眼、腎の組織標本を作製して下さった石井康男氏、メタボリックケージの実験の援助をして下さった栗本祐紀子氏と小松京子氏に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) **Borel JF**: Cyclosporine-Historical Perspectives. Preclinical Research 3—13, Sandoz Ltd, Basel, Switzerland, 1983.
- 2) **塩原信太郎**: 新しい免疫抑制剤 Cyclosporine A の基礎的研究. 金沢大学十全医学会雑誌 91: 546—560, 1982.
- 3) **Borel JF, Feurer C, Magnee C**, et al: Effects of the new anti-lymphocytic peptide cyclosporine A in animals. *Immunol* 32: 1017, 1977.
- 4) **Britton S, Palacios R**: Cyclosporine A-usefulness, risks and mechanisms of action. *Immunol Rev* 65: 5, 1982.
- 5) **Hess AD, Tutschka PJ, Santos GW**: Effects of cyclosporine on induction of cytotoxic T lymphocytes: Role of interleukin-1 and interleukin-2. *Transplant Proc* 15: 2248, 1983.
- 6) **Tutschka PJ, Beschorner WE, Allison AC**, et al: Use of cyclosporine A in allogeneic bone marrow transplantation in the rat. *Nature* 280: 148, 1980.
- 7) **Clane RY, Rolles K, White DJG, Thiru S**, et al: Cyclosporine A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet* ii: 1033, 1979.
- 8) **Bolton C, Borel JF, Cuzner ML**, et al: Autoimmunity: Cyclosporine A therapy in experimental allergic encephalomyelitis. In Cyclosporine A. White DJG, editor. Amsterdam, Elsevier Biomedical Press, 1982, p135—142.
- 9) **Wacker WB, Donoso LA, Kalsow CM**, et al: Experimental allergic uveitis. Isolation, characterization, and localization of a soluble uveitopathogenic antigen from bovine retina. *The Journal of Immunology* 119: 1949—1958, 1977.
- 10) **Faure JP**: Autoimmunity and the retina. *Curr Top Eye Res* 2: 215, 1980.
- 11) **Nussenblatt RB, Kuwabara T, DeMonasterio FM**, et al: S-antigen uveitis in primates. A new model for human disease. *Arch Ophthalmol* 99: 1090—1092, 1981.
- 12) **Gery I, Mochizuki M, Nussenblatt RB**: Retinal specific antigens and immunopathogenic processes they provoke. *Progress in Retinal Research*, p75—109, Pergmon Press, Oxford and New York, 1986.
- 13) **Salinas-Carmona MC, Nuccenblatt RB, Geryl I**: Experimental autoimmune uveitis in the athymic nude rat. *Eur J Immunol* 12: 480—484, 1982.
- 14) **Nussenblatt RB, Rodrigues MM, Wacker WB**, et al: Cyclosporine A. Inhibition of experimental autoimmune uveitis in lewis rats. *J Clin Invest* 67: 1228—1231, 1981.
- 15) **Mochizuki M, Kuwabara T, McAllister C**, et al: Adoptive transfer of experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26: 1—9, 1985.
- 16) **Nussenblatt RB, Rodrigues MM, Salinas-Carmona MC**, et al: Modulation of experimental autoimmune uveitis with cyclosporine A. *Arch Ophthal* 100: 1146—1149, 1982.
- 17) **Nussenblatt RB, Palestine AG, Rock AH**, et al: Treatment of intraocular inflammatory disease with cyclosporine A. *The Lancet* Saturday 30 July 1983.
- 18) **Mochizuki M, Nussenblatt RB, Kuwabara T**, et al: Effects of cyclosporine and other immunosuppressive drugs on experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26: 226—232, 1985.
- 19) **Masuda K, Nakajima A**: Cyclosporine in Autoimmune Diseases, edited by Schindler R, p162—164, Springer-Verlag, Berlin, 1985.
- 20) **山下英俊, 林 清文, 中川和美**他: 難治性ベーチェット病のシクロスポリンによる長期治療. *臨眼* 40: 465—468, 1986.
- 21) **Palestine AG, Austin HA, Balow JE**, et al: Renal histopathologic alternations in patients treated with cyclosporine for uveitis. *N Engl J Med* 314: 1293—1298, 1986.
- 22) **Hiestand PC, Ryffel GB, Borel JF**: Comparison of the pharmacological profiles of cyclosporine, (Nva2)-cyclosporine and (Va12)-cyclosporine. *Immunology* 55: 249—255, 1985.
- 23) **Nussenblatt RB, Caspe RR, Dinning WJ**, et al: A comparison of effectiveness of cyclosporine A, D and G in the treatment of experimental autoimmune uveitis in rats. In press.
- 24) **Dorey C, Cozeette J, Faure JP**: A simple and rapid method for isolation of retinal S-antigen. *Ophthalmic Res* 14: 249—245, 1982.
- 25) **阿曾佳郎, 田島 淳, 鈴木和雄**他: サイクロスポリ

- ン投与ラットにおける腎毒性—生化学的, 形態学的検討. 日泌尿会誌 76: 1454—1459, 1985.
- 26) **Duncan JI, Whiting PH, Simpson JG**, et al: Nephrotoxicity of cyclosporine G in rats. *Lancet* ii: 1004—1005, 1985.
- 27) **Shevach EM**: The effects of cyclosporine A on the immune system. *Ann Rev Immunol* 3: 399, 1985.
- 28) **Nussenblatt RB, Salinas-Carmona MC, Waksman BH**, et al: Cyclosporine A-cellular immune alterations in S-antigen induced experimental autoimmune uveitis. *Int Archs Allergy Appl Immun* 70: 289—294, 1983.

(第90回日眼総会原著)