

ループス腎炎の免疫学的研究

第 1 編

—Raji cell radioimmunoassay の基礎的検討—

岡山大学第3内科（主任：太田善介教授）指導

鬼 無 信

（昭和58年2月2日受稿）

Key Words：ループス腎炎，免疫複合体

ラージ細胞ラジオイムノアッセイ，
全身性エリテマトーデス

緒 言

ループス腎炎は，免疫複合体型腎炎と考えられている。第1の理由は，腎に大量の顆粒状沈着物が認められる事実である。第2の理由は，近年開発されつつある種々の血中免疫複合体測定法により，血中免疫複合体（以下I.C.と略す）が，高頻度，強度に陽性を示す事実である。

免疫複合体の測定法としては，補体との反応を利用する方法，抗グロブリンとの反応を利用する方法，細胞のFc又は補体レセプターとの反応を利用する方法がある。

WHOの集計結果によれば¹⁾，上記計18種の血中IC測定方法のうち，正常ヒト血清とリウマチ性疾患で，その血中I.C.値が有意な差を示し，かつ，標準標記値として用いられる変性IgG量に正比例した値を示す測定法は次の4つの方法である。

すなわち，Solid phase Clq radioimmuno assay, solid phase conglutinin binding assay, monoclonal rheumatoid factor (RF) binding radioimmuno assay, Raji cell radioimmuno assay である。

Raji cell radioimmuno assay（以下RCRIAと略す）は，Burkittリンパ腫由来のRaji cell上の補体レセプターを用いて，血中ICを検出する方法である。Raji cellはB cell由来の継代培養株でありながら，表面免疫グロブリンを持

たず，かつ表面に，主としてC3bに対するレセプターを持つために，ヒト血中ICの検出に用いられている。本法は，特異性，再現性にすぐれ，特に，全身性エリテマトーデス（以下SLEと略す）においては，高頻度に高値を示す血清が多いという報告が大半を占めている。

本論文は，ARA診断予備基準²⁾4項目以上を満足するSLEを対象として，腎にあきらかなICの沈着を認めるループス腎炎例の血中ICをRCRIAにて測定し，測定法，評価に関する問題点を基礎的に検討し，又，本法の臨床的意義につき検討した。

材料ならびに方法

1. Raji cell; Burkittリンパ腫由来のRaji cellは，10%胎児牛血清+RPMI 1640にて継代培養し，培地交換後72時間の時点で使用した。細胞生存率は95%以上であった。

2. 加熱凝集ヒトガンマグロブリン(AHG)；Cohn fraction IIを63℃20分間加熱凝集させ直ちに4℃に冷却し，AHGを作製した。

3. ¹²⁵I-抗血清；家兎にCohn fraction IIを免疫し，これに対する抗血清を得た。この後の，DEAE 52カラムにて抗血清を精製分離した。この後，¹²⁵IをChloramin T法にて抗血清に標識した。¹²⁵I-抗ヒトIgG家兎血清の放射能活性比は1μCi/μg蛋白であった。

4. Raji cell radioimmuno assay (RCRIA)；

Theofilopoulos らの方法³⁾に準じて測定した。すなわち、CO₂ incubator にて72時間培養した Raji cell を RPMI 1640 にて3回洗浄し、Raji cell $2 \times 10^6 / 50 \mu\text{l}$ RPMI 1640 の細胞浮遊液を $8 \text{ mm}\phi$ ガラス試験管に作製した。

被検血清は、生食リン酸緩衝液 (PBS) にて5倍に希釈後、 $25 \mu\text{l}$ をとり、Raji cell $2 \times 10^6 / 50 \mu\text{l}$ RPMI 1640 に加え、 37°C で45分間反応させた。この後、RPMI 1640 にて3回洗浄した。

これにより得られた Raji cell 沈渣に $50 \mu\text{l}$ の ^{125}I -抗ヒト IgG 家兎血清を加え、 4°C で30分間反応させた。この時の放射線比は、1試験管あたり $0.3 \mu\text{Ci} / 0.3 \mu\text{g}$ IgG であった。この後再び、1%ウシ血清アルブミン (BSA) を含む RPMI 1640 にて3回洗浄し、Raji cell に残存する放射能活性を測定した。

検体は、すべて duplicate で測定した。

5. 血中 IC の表現方法；血中 IC 量は、ヒト変性 IgG 相当量 (AHG eq/ml) で表現した。すなわち AHG 1 mg/ml から $0.1 \mu\text{g/ml}$ の10倍段階希釈液を作製した。これらに補体源として、それぞれ、正常ヒト血清 (NHS) を8単位/ml

(CH₅₀ 活性)となるように加え、 37°C で45分間反応させた。それぞれの補体加 AHG 希釈系例より $25 \mu\text{l}$ をとり、これを被検血清とした。それぞれの AHG 濃度による放射能活性から、標準曲線を作製し、カウント数を逆算することにより、ヒト血清中の IC 量を AHG eq/ml で表現した。

6. 血清操作による RCRIA 値の変化

a. 10例の SLE 血清を 56°C で30分間加熱非動化し、非動化前後の RCRIA 値を比較した。

b. CH₅₀ が20単位/ml 以下の SLE 12血清に、過剰の NHS を補体源として 37°C で45分間反応させた後の RCRIA 値を測定し、SLE の低補体が及ぼす RCRIA 値への影響を検討した。

(Fig. 1)

7. RPMI にて洗浄後の Raji cell に100%アセトンを加え、2分間転倒混和後、再び RPMI 1640 にて3回洗浄した。この操作後、Trypan blue 色素排泄試験にて細胞の生存状態を鏡検したところ、すべての細胞は形態は、よく保たれているが、全細胞が青染し、全ての Raji cell が死滅していることが判明した。これらの死滅

Method of Raji cell radioimmunoassay after addition of complement source

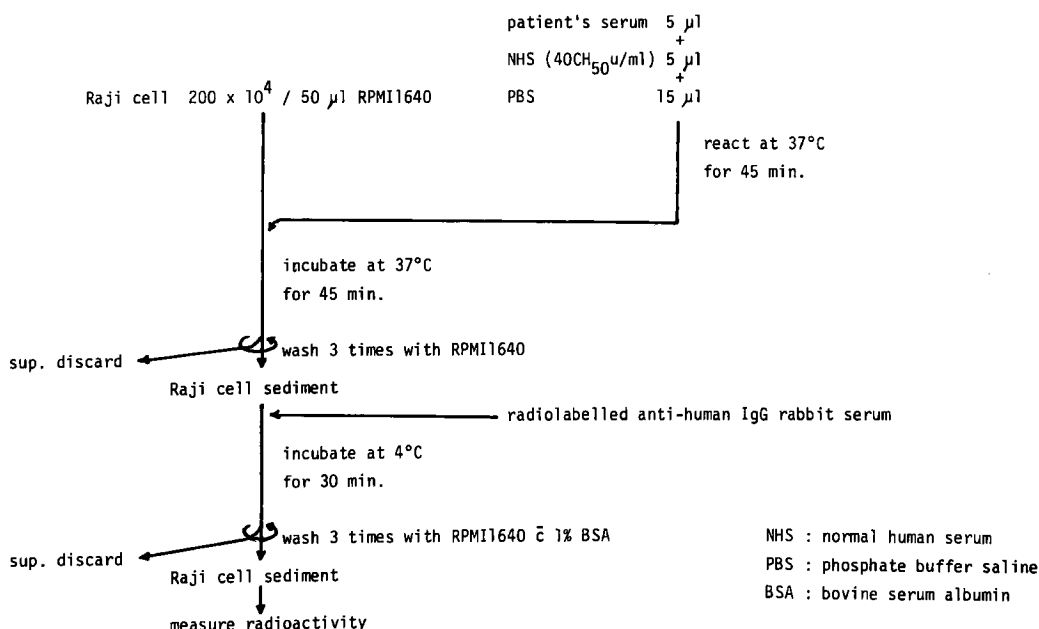


Fig. 1 Method of Raji cell radioimmunoassay of sera from SLE patients preincubated with excessive complement source.

細胞 (Killed Raji cell) を利用して killed RC-RIA 値を測定した。同時に同一 SLE 血清で RC-RIA 値も検討し、両者を比較した。これにより、Raji cell の死滅により影響をうける SLE 血清中の Raji cell 核への反応、すなわち、抗核抗体が RCRIA に与える影響につき検討した。

8. RCRIA 値と SLE の他の指標との比較；同一血清における RCRIA 値と $CH_{50}^{4)}$ 、ガンマグロブリン値、二本鎖 (ds) DNA 抗体⁵⁾、抗 RNP 抗体⁶⁾、抗リンパ球抗体⁷⁾ の関連につき検討した。

CH_{50} の正常値は、30~40 単位/ml であった。

ds-DNA 抗体は、% binding で表わし、20% 以上を陽性とした。

結 果

1. RCRIA の血中 IC 測定感度。

RCRIA による血中 IC の測定感度は、 $1\mu\text{g} \sim 1000\mu\text{g}$ AHG eq/ml の間が測定可能であった。(Fig. 2)

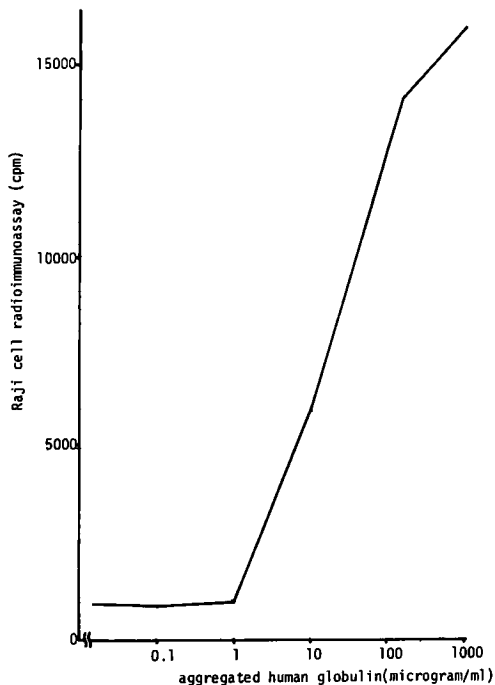


Fig. 2 Raji cell uptake of ^{125}I -anti-human IgG after incubation with increasing amount of AHG preincubated with fresh human sera as complement source.

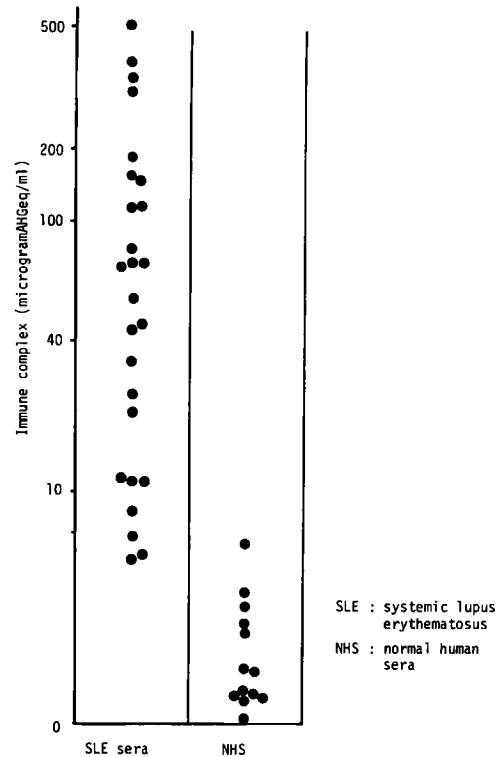


Fig. 3 Raji cell radioimmunoassay value(RCIA) in patients with SLE and normal human sera.

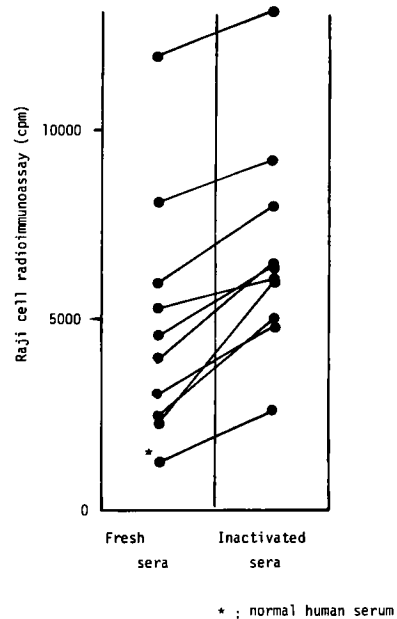


Fig. 4 RCRIA value of fresh sera and inactivated sera.

2 NHS と SLE 血清の RCRIA 値.

SLE 26血清中の RCRIA 値は, NHS に比較し有意に高く, 平均 $120.8 \pm 154.1 \mu\text{g AHG eq/ml}$ であった. NHS では, 平均 $1.76 \pm 1.52 \mu\text{g AHG eq/ml}$ であり, $10 \mu\text{g AHG eq/ml}$ を越える IC 値を示す血清は存在しなかった. (Fig. 3)

3. 血清非動化による RCRIA 値の変化.

非動化した SLE 血清は, 10例全例が処理前に比較し, より高い RCRIA 値を示した. NHS においても, 非動化後に RCRIA 値が上昇していた. (Fig. 4)

4. 補体源追加による RCRIA 値の変化.

CH_{50} が 20単位/ml 以下の 12 SLE 血清では 2 血清のみで, 補体源を過剰に追加した後に RCRIA 値の上昇をみた. 他の 10 SLE 血清では有意の変化がみられなかった. 上昇を示した SLE 血清は, いずれも CH_{50} が 10単位/ml 未満であった. (Fig. 5)

5. RCRIA 値と Killed RCRIA 値の比較.

SLE の 17血清での RCRIA 値と Killed RCRIA 値の比較では, すべての血清で Killed RCRIA が高値を示した. (Fig. 6)

同様な操作を蛍光抗体法を利用した Raji cell test でおこなったところ, Killed RCRIA では全ての細胞核が強く染色されていた.

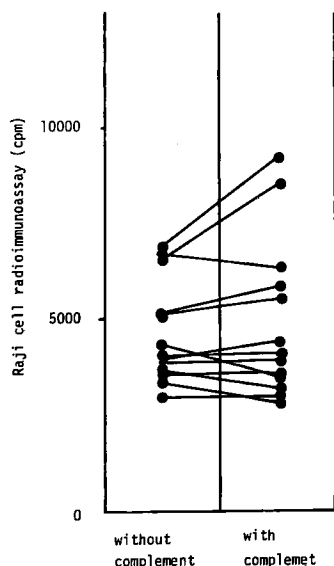


Fig. 5 Changes of RCRIA value of sera preincubated with excessive complement source.

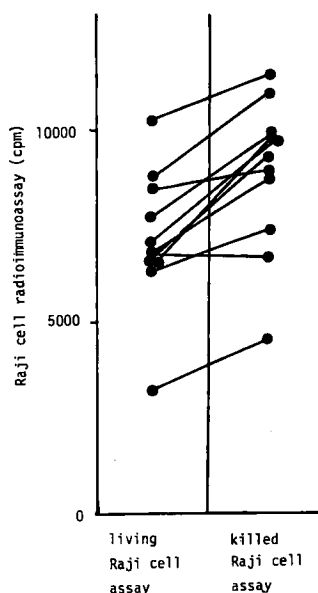


Fig. 6 RCRIA value using living and killed Raji cells.

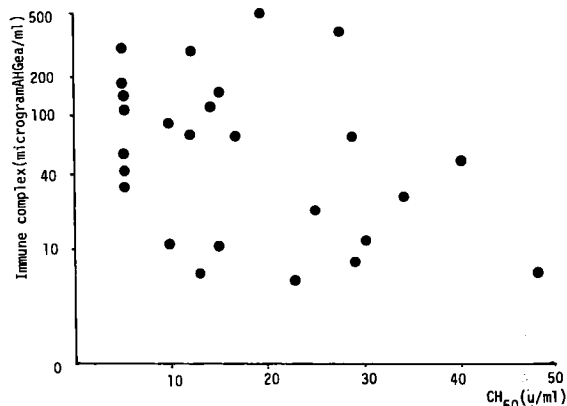


Fig. 7 RCRIA value in relation to serum CH_{50} .

6. RCRIA 値と SLE の活動性を示す血清指標との関連.

a) CH_{50} と RCRIA (Fig. 7)

RCRIA 値が $40 \mu\text{g AHG eq/ml}$ 以上の IC 著高例は

CH_{50} が 0 ~ 10単位/ml の 8 例中 6 例 (75%),

CH_{50} が 11 ~ 20単位/ml の 9 例中 7 例 (78%),

CH_{50} が 21 ~ 30単位/ml の 6 例中 2 例 (33%),

CH_{50} が 32単位/ml 以上の 3 例中 1 例 (33%),

であった. RCRIA 値と CH_{50} との相関係数は, $\gamma = -0.36$ ($0.2 < P < 0.3$) であった.

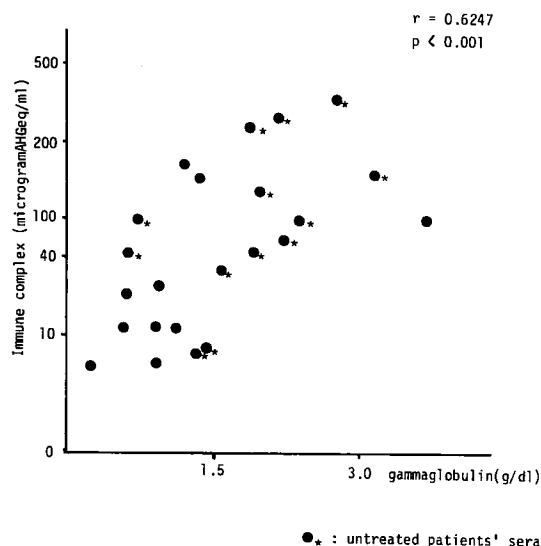


Fig. 8 RCRIA value in relation to serum globulin.

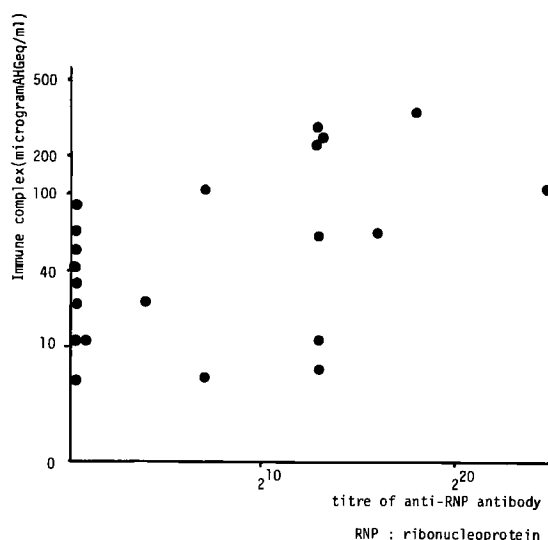


Fig. 10 RCRIA value in relation to titer of serum anti-nuclear ribonucleoprotein(RNP) antibody.

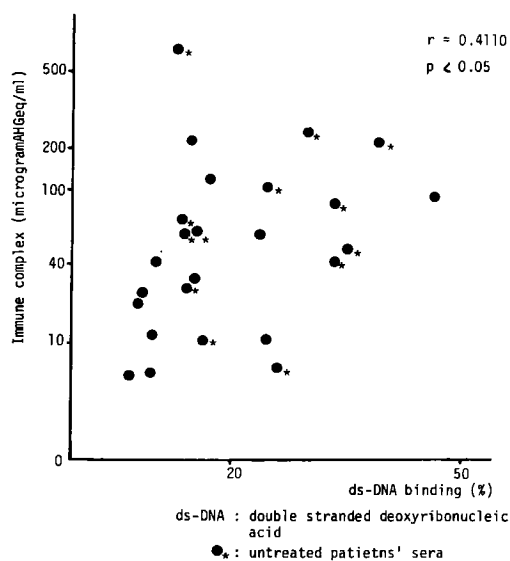


Fig. 9 RCRIA value in relation to double stranded DNA antibody.

b) ガンマグロブリン値とRCRIA (Fig. 8)

RCRIA と血清ガンマグロブリン値の間には、 $r=0.6247$ で有意の正の相関がみられた。しかし、血清ガンマグロブリンが1g 未満の例において、血中ICが著高の例が2例みられた。この2例は、いずれも未治療で、ネフローゼ症状を呈する活動性の激しいループス腎炎であった。

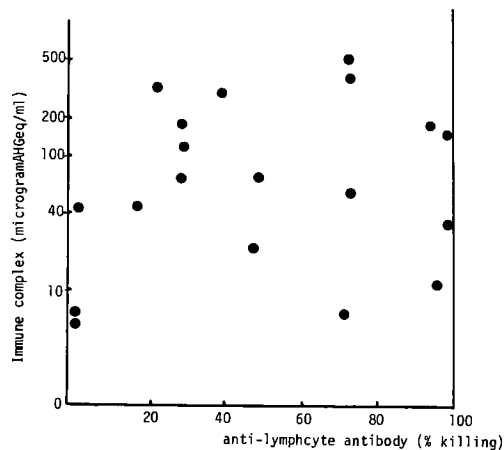


Fig. 11 RCRIA value in relation to anti-lymphocyte antibody.

c) ds-DNA抗体とRCRIA (Fig. 9)

ds-DNA 抗体陽性10中8例(80%)がIC著高例であり、両者間には $r=0.41$ で正の相関が認められた。しかしながら、ds-DNA 抗体陰性の15例中7例(47%)が、IC著高例であった。

未治療の13例においても、ds-DNA 抗体陰性の6例中4例(67%)がIC著高例であった。

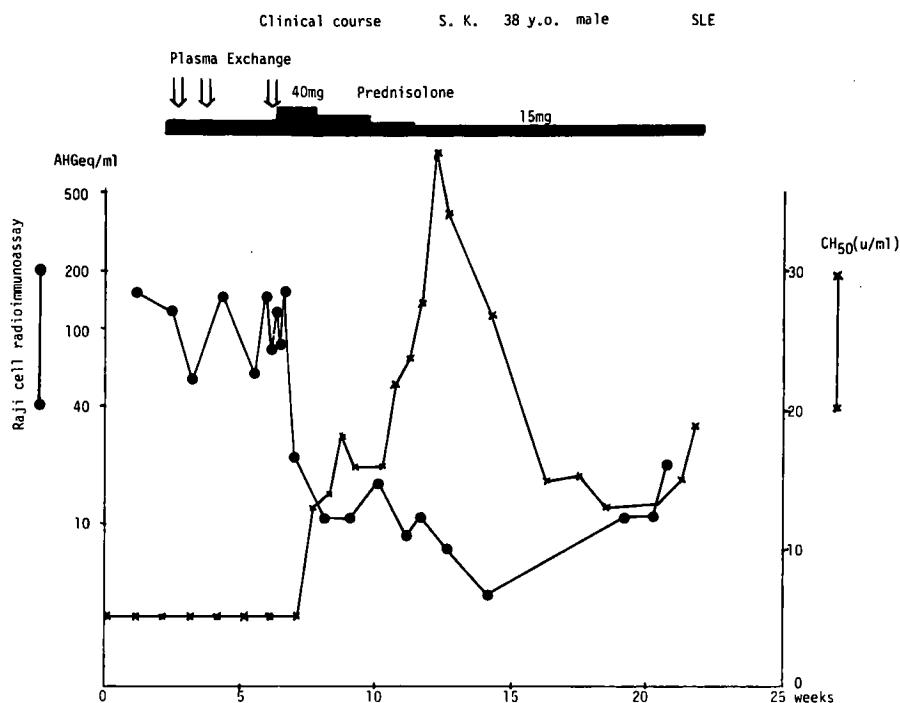


Fig. 12 Clinical course of patient S.K. and changes of RCRIA value.

d) 抗RNP抗体とRCRIA (Fig.10)

RCRIA値と抗RNP抗体間には有意の相関はなく、逆に抗RNP抗体陰性9例中5例でIC著高例がみられた。

e) 抗リンパ球抗体とRCRIA (Fig. 11)

抗リンパ球抗体が lymphocytotoxicity 60%以上の強陽性8例中3例(38%)がIC著高例であった。同じく lymphocytotoxicity 60%未満の11例では8例(73%)がIC著高例であり両者間には相関がなかった。

7. 血中ICの経時的変化 (Fig.12).

RCRIAによる血中IC値及び血清補体価を経過をおって見たら SLE の一症例を示す。

考 案

RCRIAは補体レセプターを利用しICを検出する方法の代表的なものである。WHOの検討では、本法は18種の代表的なIC検出法のうち感度、安定性の面で良好と考えられる5種の方法のうちの1つである。

しかしRCRIAは、Raji cellという継代培養細胞を常に必用とするため、培養設備のある施設でのみ可能な方法であり、この点でかなりの費用と労力を要するものである。

設でのみ可能な方法であり、この点でかなりの費用と労力を要するものである。

RCRIAに供したSLE血清は、そのいずれもが、腎に顆粒状沈着物が認められたループス腎炎例で、ICの存在が推測されるものである。これらの血清と、NHSのRCRIA値の比較では、前者は有意に高値を示している。この点ではRCRIAは、血中ICの測定方法として妥当であると思われる。

しかしSLEの一部症例では、RCRIA値と他の疾患活動性を示す指標とに比例関係をみいだせないものが存在した。

SLEの活動性の指標としては、現在血清補体価(CH₅₀)が重要視されている⁸⁾。

著しい低補体であった8血清のうちIC著高のものが6血清あったが、2血清は著明高値を示さなかった。この2血清のうちの1つは、血清、血漿間のCH₅₀値に解離のみられた症例で、血漿のCH₅₀は20単位/ml以上であった。この例では、臨床的に急性期SLE症状が全くなく、腎所見は、膜性ループス腎炎であった。本例のごとき症例は、血清補体価よりも血中IC値の経過を

みることが、よりよす病態を把握できると考える。このような点を考慮すれば、RCRIAは、特殊な条件下においても血清補体価とは別の意味で、SLEの活動性を反映すると思われる。

症例は、38才の男性である。発熱、関節痛、蛋白尿を主訴として入院。血清学的には低補体、ds-DNA抗体高値及びRCRIA高値を認めた。plasma exchange、小量副腎皮質ステロイド剤にて治療するも効果なく、副腎皮質ステロイド剤を増量して、上記検査所見及び臨床症状の改善をみた。本例でみられるがごとくRCRIA値は、病勢と共に著明に変動し、血清補体価との関連も密接である。(Fig.12)

補体価以外の血清所見とRCRIA値との関連は下記のごとくであった。

各種抗体成分を含むガンマグロブリン値とRCRIA値は、有意の正の相関を示すが、症例によっては、この関連がないものがあつた。すなわち、未治療でありながら血清ガンマグロブリン値が1g/dl未満であるにもかかわらず、低補体とともに、RCRIA値が著高を示す例が2例あつた。この2例の腎組織は、いずれも糸球体に大量のICの沈着がみられ、光顕では増殖病変が強く、ネフローゼ状態を呈していた。このような例では、血清ガンマグロブリンは必ずしもSLEの免疫学的活動性を示すとは考えられず、治療の指標としては、不適当である。RCRIA値、ならびに血性補体価が、よりよい指標になりうると考える。

さらに、血中ICの組成に関し検討した。ds-DNA抗体とRCRIA値の間に正の相関があるということは、血中ICの組成に、DNA・抗DNA抗体系の密接な関連を否定しがたい。しかし、4血清では、未治療時にds-DNA抗体が陰性であるにもかかわらず、血中ICが著高を示していた。これら4血清を、DNaseで処理後、ds-DNA抗体を検査したが、その値に変化はえられなかった。これらの血清の抗核抗体成分は、抗RNP抗体+Sm抗体が2例、抗RNP抗体単独が1例、Mu⁹抗体単独が1例であつた。これは、DNA・抗DNA抗体系以外のIC形成の可能性を示唆するものである。

著者らはすでに腎組織の顆粒状沈着物中に

RNP抗原の存在を報告した¹⁰⁾ただし、血中ICとこれらの抗核抗体成分の比較は、血中ICが抗体成分検出可能下の条件で形成された場合にのみ妥当である。

そこで、ds-DNA抗体以外の抗体成分として高い抗体力価を有する抗RNP抗体とRCRIA値につき検討した。又、抗RNP抗体は生細胞のFcレセプターと反応して、これを通過し、核と反応しうるといふ報告があり¹¹⁾この現象は、補体レセプターを利用しているRCRIA値が高くなる可能性を有する。すなわち、RCRIAの第1反応に、Raji cellと抗RNP抗体間でFcを介して通過反応が生じ、この間又は後に、Raji cellが死滅すれば、核内にまで到達した抗RNP抗体と第2抗体が反応可能となり、RCRIA値が補体レセプターに結合するIC以外の機序で高値を示す可能性が考えられる。しかし、高力価の抗RNP抗体を有しながらも、RCRIAが著高を示さない例が存在するという事実から、抗RNP抗体のRCRIAに及ぼす影響は少ないと考えられた。

さらに測定上の問題として、RCRIAに与えられる抗リンパ球抗体の影響がある。Raji cellはリンパ球由来の細胞である。そこでRCRIAに及ぼす抗リンパ球抗体の影響を検討したが、Terasakiらの方法により検出する抗リンパ球抗体とRCRIA値の間には全く関連性が見出せなかった。したがってRCRIAへ及ぼす抗リンパ球抗体の影響は少ないと考えられる。もっとも本法を用いて検出する抗リンパ球抗体が必ずしも37℃の条件下でRaji cellの表面に結合する抗体成分を検出していない可能性がありこの点を考慮せずにRCRIA値と抗リンパ球抗体を比較することは困難である。

さらに、RCRIA値の評価上の注意点としてSLE血清の場合には、抗核抗体の関与がある。Raji cellの死滅により、SLEの血清中に存在する抗核抗体が、死滅したRaji cellの核と反応していることは、蛍光抗体法にて明らかである。そこで、Raji cell死滅により、RCRIA値が、いかに変化するかを検討した。この検討では、100% Raji cellを死滅させ、被検血清が核と反応しうると条件下においた。結果は、100%の死

滅細胞を用いた RCRIA 値が生細胞を用いた、RCRIA 値に比べ、すべてで高いというものであった。このことは、Killed RCRIA 値の上昇分が、抗核抗体により影響されている可能性が強い。これは逆に、SLE血清では、生存率の悪いRaji cellを用いるとRCRIA値が強く抗核抗体に影響されるということであり、偽陽性の結果を招きかねない。

著者のおこなっているRCRIAは、95%以上の細胞生存率を有するが、この条件下ですらも高力価の抗体を有するSLE血清の場合には、抗核抗体の関与を念頭に入れ、RCRIA値を解釈しなければならない。

実際には、RCRIA値がSLE血清中の抗核抗体をどの程度偽陽性に検出しているかを知ることとは困難である。臨床では、血中IC、抗核抗体共に、病勢の増悪時に上昇し、消退時に低下するものゆえ、RCRIAによる血中ICの測定は、SLEの場合、病勢の把握、経過の観察には有用な一手段である。

次に測定上の問題として、血中ICとレセプターとの関係を検討する。RCRIAは少なくともC3bまで活性化した補体結合ICを検出していると考えられている。本法の血中IC測定の問題点は著明な低補体時にも生じる。すなわち著明な低補体を示すSLE症例では、血中ICが補体活性化能力をもちながらも補体を結合できずに、RCRIAでは検出されないICが存在する可能性がある。

そこでSLEで著しい低補体を示す13血清を選択し、過剰の補体を加えてRCRIA値の変化をみた。この操作では、大半の血清では処理前後で、RCRIA値の変化がみられず、わずかに2例のみ上昇がみられたにすぎなかった。確かに低補体条件下の小數例では、補体活性化能力をもつが、RCRIAにて検出され難たいICが存在するわけであり、著明な低補体時には、補体源を追加した後、RCRIAをおこなう操作も病態の解明に重要であると考ええる。

もう一つの問題は、RCRIAに関与するcellレセプターの面である。Raji cellに存在する補体レセプターとしては、C3dレセプター以外にC1qレセプターも存在するといわれる¹³⁾ 又、血中IC

がC3bレセプターに結合するという事実は、TheofilopoulosらのRaji cellからのICの抽出実験によりあきらかである¹³⁾。そこでC1qレセプターがRCRIAにいかに関与しているかにつき検討したのが、血清非動化実験である。C1qは非動化により、その活性を失う。そこでSLE血清の非動化前後のRCRIA値を検討した。この結果は非動化後のRCRIA値が非動化前よりも高値を示していた。この点は下記の2点に解釈される。すなわち、C1qレセプターはRCRIAでは関与が少なく、むしろ非動化により、さらに多くのC3bがつくられ測定値が上昇したとする解釈、もしくは、非動化という加熱操作により凝集したIgGが生成されRaji cellのFcレセプターにより強く新和性を増したとする解釈である。

RCRIAの長所としては、補体活性化ICの測定に関しては、偽陰性としてSLEの活動例を見逃すことはない点である。欠点としてはSLEにおいては、各種のRaji cellに反応する抗体を有するために偽陽性所見が時として出現しう点である。この点さえ考慮すれば、RCRIAはSLEの病態把握上、有力な一助となると考える。

結 論

腎に顆粒状沈着物を認め、血中にICの存在が推測されるループス腎炎26例に関し、主としてSLEとしての血清所見とRCRIA値の関連及びRCRIAの評価上の問題点に関して下記の結論をえた。

1. RCRIA値は、他の血清活動性を示す要素と相関し、SLEの活動性を表わす一指標になりうると考えられた。
2. RCRIA値とds-DNA抗体は正の相関があった。しかし未治療でRCRIA値が著明高値でありながら、ds-DNA抗体陰性例が13例中4例にみられ、ds-DNA係以外のICの関与が示唆された。
3. RCRIAはSLE血清では、抗RNP抗体をはじめとする各種抗核抗体を検出している可能性があり、Raji cellの生存率を高く保つことが必要である。
4. RCRIA値は、血中ICの測定方法として、SEL血清の場合には、偽陰性を示すことは少な

く、疾患活動性を示す指標の一つとなりうると考えられた。

ま と め

RCRIA によりループス腎炎患者血清中の IC を測定し、SEL 血清が RCRIA 値に与える影響を検討し、血中 IC の測定法としての RCRIA の

妥当性も検討した。本法は SLE の血中 IC の測定法及び疾患活動性の把握に有用であると思われる。

稿を終えるにあたり御指導いただきました大藤眞岡山大学学長、太田善介教授、倉田典之助手に深く謝いたします。

参 考 文 献

1. Lambert, P.H., Dixon, F.J., Zubler, R.H., Agnello, V., Cambiaso, C., Casali, P., Clarke, J., Cowdery, J.S., McDuffie, F.C., Hay, F.C., McLennan, I.C.M., Smith, M., Tappeiner, G., Theofilopoulos, A.N. and Verroust, P.: A WHO collaborative study for the evaluation of eighteen methods for detecting immune complexes in serum. *J. Clin. Lab. Immunol.* 1, 1-15, 1978.
2. Cohen, A.S., Reynolds, W.E. and Franklin, E.C.: Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.*, 21, 643, 1971
3. Theofilopoulos, A.N., Wilson, C.B. & Dixon, F.J.: The Raji cell radioimmunoassay for detecting immune complexes in human sera. *J. Clin. Invest.* 57, 169, 1976
4. Mayer, M.M.: *Experimental Immunochemistry* 2nd ed. edited by Kabat and Mayer, Springfield Thomas C.C. Illinois, 1964
5. Carr, R.I., Koffler, D., Agnello, V. and Kunkel, H.G.: Studies on DNA antibodies using DNA labelled with actinomycin D (^3H) or dimethyl (^3H) sulfate. *Clin. Exp. Immunol.* 4, 527, 1969.
6. Sharp, G.C., Irvin, W.S., La Rouque, R.L., Velez, C., Doly, V., Kaiser, A.D. and Holman, H.R.: Association of autoantibodies to different nuclear antigens with clinical patterns of rheumatic disease and responsiveness to therapy. *J. Clin. Invest.* 50, 350, 1971.
7. Terasaki, P.I. & McClelland, J.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 204, 998-1000, 1964.
8. Apple, A.E., Sabley, L.B. and Golden, R.A.: The effect of normalization of serum complement and anti-DNA antibody on the course of lupus nephritis. A two year prospective study. *Am. J. Med.* 64, 274-283, 1978.
9. Miyawaki, S., Kohmoto, K., Kurata, N. and Ofuji, T.: Identification and characterization of two soluble nuclear antigens reactive with sera of patients with connective tissue diseases. *Arthritis. Rheum.* 21, 803-810, 1978.
10. 倉田典之, 鬼無 信, 原 郁夫, 大藤 眞: ループス腎炎の免疫病理学的研究 (第12報) 一腎組織における nuclear ribonucleoprotein (RNP) 抗原の証明—日腎会予稿集 1980
11. Alarcon-Segovia, D., Rouiz Arguelles, A. & Fishbein, E.: Antibody to nuclear ribonucleoprotein penetrates living human mononuclear cells through Fc receptors. *Nature* 271, 67-69, 1978.
12. Gupta, R.C., McDuffie, F.C., Tappeiner, G. & Jordon, R.E.: Binding of soluble immune complexes to Raji lymphocytes. Role of receptors for complement components, C1q and C3-C3b. *Immunology* 34, 751-761, 1978.
13. Theofilopoulos, A.N., Eisenberg, R.A. & Dixon, F.J.: Isolation of circulating immune complexes using Raji cells. Separation of antigens from immune complexes and production of antiserum. *J. Clin. Invest.* 61, 1570-1581, 1978.

Immunological study of lupus nephritis.

Part 1. Basic study of Raji cell radioimmunoassay.

The third department of internal medicine, Okayama university school of medicine.

Makoto KINASHI

Using the Raji cell radioimmunoassay(RCIA) reported by Theofilopoulos et al., 26 serum samples from systemic lupus erythematosus(SLE) patients were evaluated. All of those patients had definite granular immune deposits in renal biopsy specimens, and the presence of circulating immune complex in these patients was also suspected. RCRIA values of these patients were generally higher than those of normal human sera.

RCRIA values were compared with other serological parameters of SLE including serum complement(CH50), serum gammaglobulin, anti-double stranded DNA antibody, anti-nuclear ribonucleoprotein(RNP) and anti-lymphocyte antibody. There was no correlation between the RCRIA values and anti-lymphocyte antibody. The correlation with CH50 was also rather negative. There was positive correlations between the RCRIA values and serum gammaglobulin and anti-ds DNA antibody. However there were four serum samples which were negative to anti-ds DNA antibody but high RCRIA values. Three samples had high anti-RNP antibody titers. The data suggest that not only the ds-DNA antigen-antibody system, but also other kinds of antigen-antibody systems may compose the circulating immune complex. The RCRIA values of sera from SLE patients using Raji cells killed by 100% acetone instead of living cells were generally higher. The increases in the RCRIA values were regarded as being due to the participation of anti-nuclear antibodies present in the patients' sera. Thus, in evaluating SLE sera, there is the possibility that the RCRIA may give false positive results due to the presence of antibodies, including anti-nuclear antibodies, which react with Raji cells. As long as this possibility is kept in mind, the RCRIA value may become a valuable serological index of SLE.