自己免疫性肝疾患, とくに原発性胆汁性肝硬変症と 慢性活動性肝炎重複症例に出現する新しいマーカー抗体

宮 地 清 光・鷹野 佐恵子・松 嶋 広
樋 渡 恒 憲・唐 沢 英 偉*・三 木 亮*

Jpn. J. Clin. Immun., 11(3) : 216~223, 1988.

A new marker antibody (the MM antibody) for primary biliary cirrhosis-chronic active hepatitis overlap patient

Kiyomitsu Miyachi, Saeko Takano, Hiroshi Matsushima,
Tsunenori Hiwatashi, Eii Karasawa* and Makoto Miki*

Autoimmune Disease Center, Health Science Research Institute

** National Yokohama Higashi Hospital*

【Summary】

An uncharacterized antibody was found in a patient afflicted with primary biliary cirrhosis or chronic active hepatitis. This antibody (which we tentatively called the MM antibody) could be detected by means of double immunodiffusion using the microsomal fraction of rat liver as the antigen. However, cytoplasmic staining in both rat liver and kidney could not be obtained when viewed by indirect immunofluorescent microscopy. The MM antibody did not react with mitochondrial fraction of rat liver. The antibody showed non-identity with anti-liver kidney microsome antibodies when tested by means of double immunodiffusion. It was found in 5 of 5 PBC-CAH overlap patients who were diagnosed histopathologically, 3 of 19 PBC patient sera and in 2 of 14 CAH patient sera. However, it was not found in non-autoimmune hepatitis patients, nor in the healthy subjects. In conclusion, the detection of MM antibody might be useful for the diagnosis of autoimmune liver diseases particularly, PBC-CAH overlap patient.

Key words : PBC,
CAH,
double immunodiffusion,
MM antibody

【概 要】

原発性胆汁性肝硬変症 (PBC) と慢性活動性肝炎 (CAH) の定型的重複症例 MM の血清中に未同定の自己抗体を発見し、本抗体を MM 抗体と名付けた。本抗体はラット肝細胞質 3 分画を用いた二重免疫拡散 (DID) 法で検討するとミトコンドリア分画と反応せず、マイクロゾーム分画と強く反応した。抗ミトコンドリア抗体陰性で MM 抗体陽性血清を用いた間接蛍光抗体法で検索すると、ラット肝、腎の細胞質に特異蛍光は確認されなかった。DID 法では MM 抗体は抗 Liver Kidney Microsome 抗体と完全に交叉した。本抗体の陽性頻度は肝生検で確認された PBC-CAH 重複症例 5/5, PBC 3/19, CAH 2/14 に認められたが、非自己免疫性肝疾患、正常人には検出されなかった。本抗体は自己免疫性肝疾患、とくに PBC-CAH 重複症例の診断に役立つものと思われる。

I. はじめに

慢性活動性肝炎の原因には、B 型、non A non B 型、アルコール性、薬剤性の他、自己免疫性などが考えられている。自己免疫性肝疾患には、免疫抑制剤がとくに有効とされているので早期診断が必要である。自己免疫性肝疾患のマーカー抗体としては、原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis, PBC) の抗ミトコンドリア抗体 (anti-mitochondrial antibody, AMA)^{1,2)} や、ルポイド肝炎に出現する抗平滑筋抗体 (anti-smooth muscle antibody, ASMA)³⁾ や抗核抗体 (anti-nuclear antibody, ANA) がある。さらに、ルポイド肝炎と異なる慢性活動性肝炎 (chronic active hepatitis, CAH) に出現する抗 Liver Kidney Microsome (LKM) 抗体^{4,5)} などが報告されている。抗 LKM 抗体は、halothane⁶⁾ や tienilic acid⁷⁾ による薬剤性肝炎にも出現するといわれているが、本邦ではまったくその報告をみない。当研究所では PBC 患者血清の 20~30% に検出され、従来の AMA とは異なり、ラット肝細胞質のマイクロゾーム (Mic) 分画とおもに反応する新しいマーカー抗体を発見した。定型的 PBC-CAH 重複症例の患者 MM の頭文字をとり、MM 抗体と名付けた。ここに本抗体の臨床的意義、頻度について報告する。

II. 対象および方法

1. 対 象

対象は、PBC 19 例、PBC-CAH 重複症例 5 例、CAH 14 例、肝癌 (HCC) 3 例、肝硬変 (LC) 9 例、急性 B 型肝炎 (AVH) 5 例、正常人 25 例とした。その他、抗 LKM 抗体標準血清は Dr. Berg より分与された。抗 r-RNP 抗体、AMA 標準血清は本研究所で同定されたものを使用した。

PBC の診断は厚生省特定疾患「難治性の肝炎」調査研究班自己免疫性肝炎分科会で作成された基準によった⁸⁾。

① 組織学的には chronic non-suppurative destructive cholangitis (以下 CNSDC) を認めるもの。

② AMA が陽性で、組織学的には CNSDC の所見を認めないが、PBC に矛盾しない (compatible) 組織像を示すもの。

③ 組織学的観察の機会はないが、AMA が陽性で、しかし臨床像、および経過から PBC と考えられるもの。慢性肝炎の診断基準は、1968 年のヨーロッパ分類に従った⁹⁾。

また、PBC と CAH の重複症例の診断基準は、以下のごとく I~III 群に分別した^{10,11)}。

I 群：症候性 PBC で CAH の診断基準をも満たした重複例。

II 群：病理組織学的には CNSDC の所見を呈し、AMA も陽性であるが、臨床的には PBC の所見 (ビリルビン、Alp、コレステロールの上昇、痒痒感など) を欠いている例。

III 群：病理組織学的に CNSDC と同時に CAH の所見を呈し、AMA が検出されない。また、PBC としての臨床的検査成績 (IgM、Alp、コレステロールの上昇など) を呈さない例とした。

2. 組織抽出物の作製

ラット肝からのミトコンドリア (Mit) 抗原、マイクロゾーム (Mic) 抗原、上清 (Sup) 抗原の抽出は Schneider らの方法¹²⁾に従った。ラットを心採血によって放血した後、肝臓を摘出し、血管や結合組織を除去し、ハサミで細切し、9 倍量の 0.25 M ショ糖液を加え、Potter 型ホモジナイザーで、800 r.p.m. で 4 往復した。700 g、10 分の遠心にて核成分を沈澱除去した。その上清から 5,000 g、10 分の遠心にて得た沈澱を少量のショ糖液で洗浄し、24,000 g、10 分遠心し、沈澱に 0.25 M ショ糖液を加え、40 秒の超音波処理をし、Mit 分画とした。5,000 g、10 分、24,000 g、10 分の上清を集め、148,000 g、30

分の超遠心をして、沈渣に 0.25 M ショ糖液を加え、Mic 分画とした。148,000 g, 30 分の上清は限外濾過法にて濃縮し、Sup 分画とした。

3. 抗体の検出法

1) 間接蛍光抗体 (indirect immunofluorescence, IIF) 法

胃壁で包み込んだラット腎のクリオスタット切片 (MBL 社) とラット肝のクリオスタット切片 (MBL 社) の基質を使用した。5 倍および 20 倍希釈の被検血清でおい、45 分室温で反応後、PBS にて洗浄し、FITC 標識 antihuman IgGAM goat γ -globulin で 45 分室温で反応させた。PBS で洗浄し、90% 無蛍光グリセリン (pH 9.5) で封入し、落射型蛍光顕微鏡 (オリンパス BH2-RFK) で観察した。

2) 二重免疫拡散 (double immunodiffusion, DID) 法¹³⁾

0.1% NaN_3 加 PBS に溶解した 0.6% アガロース (半井化学) を直径 90 mm のシャーレに 12.5 ml ずつ分注し、平板を作製し、well の大きさは直径 4 mm、間隔は 3 mm とした。試料は 20 μl ずつ分注し、室温、湿潤箱中に放置し、5 日間にわたって観察を続けた。抗体の同定には、明瞭な沈降線を示す血清希釈倍数を求め、標準血清にて検討した。

4. 抗原の蛋白濃度の測定

抗原の蛋白濃度は Lowry 法で行った¹⁴⁾。

III. 成 績

1. 抗 MM 抗体の特異性

Mic 抗原を中心におき、MM 抗体、抗 LKM 抗体、抗 r-RNP 抗体を周囲におき、DID 法で検索した。その結果、MM 抗体は抗 LKM 抗体、抗 r-RNP 抗体と異なっていた (図 1)。抗 r-RNP 抗体は Mit 抗原でも検出されたが、MM 抗体は検索した条件下では認められな

った。

2. MM 抗体のラット肝細胞質 3 分画との反応性

表 1 に示したごとく、DID 法で MM 抗体と Mit 分画抗原との反応では検出困難で、Mic 分画抗原の最終濃度 12.5 mg/ml, Sup 分画抗原 25 mg/ml で検出が可能であった。抗ミトコンドリア抗体との反応は、Mic, Sup 抗原では検出されず、Mit 抗原 12.5 mg/ml で検出可能であった。抗 r-RNP 抗体は Mit 抗原 6.25 mg/ml, Mic 抗原 1.56 mg/ml, Sup 抗原 25 mg/ml とで沈降線を形成した (表 1)。

3. ラット腎、ラット肝を基質とした MM 抗体の間接蛍光抗体法

AMA 陰性、MM 抗体陽性の患者血清 (TF) を用いた検索では腎尿管細胞は染色されなかった。しかし本血清は、ASMA 陽性で、ラットの胃の粘膜筋板、筋層、血管壁が染色された。AMA 陽性血清 (MM) は他の AMA 陽性血清 (TT) と同様、遠位、近位尿管細胞細胞質がともに微細顆粒状に染色され、ASMA 陰性であった。抗 LKM 陽性血清は近位尿管細胞質が特異的に染色された (図 2)。

図 1 Double diffusion in agarose gel

The precipitin formed by MM antibody showed nonidentity with 2 other precipitins formed by anti-LKM antibody and anti-rRNP antibody.

表 1 Reactivity of MM antibody and two prototype sera against the cytoplasmic fraction of rat liver

Prototype sera	Antigen		
	Mitochondria	Microsome	Supernatant
MM antibody	(-)	12.5 mg*	25.0 mg
Mitochondria antibody	12.5 mg	(-)	(-)
rRNP antibody**	6.3 mg	1.6 mg	25.0 mg

*Values refer to the lowest concentration of antigen for positive reaction

**rRNP : ribosomal ribonucleoprotein

2-a : Rat kidney cortex treated with 1 : 20 diluted serum containing anti-liver kidney microsome antibody from patient with chronic active hepatitis was subsequently incubated with FITC-conjugated rabbit anti-human γ -globulin. The proximal tubule cytoplasm was uniformly stained. The distal tubule cytoplasm and mesenchymal cell cytoplasm were not stained ($\times 200$).

2-b : Rat liver treated as in 2-a.
Hepatocytes showed intense fine granular staining ($\times 400$).

2-c : Rat kidney cortex treated with 1 : 20 diluted serum containing MM antibody from a patient with liver cirrhosis. Both proximal and distal tubule cytoplasm remained unstained ($\times 200$).

2-d : Rat liver treated as in 2-c.
Hepatocytes showed no staining ($\times 400$).

図 2 Immunofluorescent staining

表 2 Incidence of the MM antibody in sera of patients with various liver diseases

Disease	No of patients	No of positive	Positive percent
PBC	19	3	16%
PBC-CAH	5	5	100%
CAH	14	2	14%
CH	11	0	0%
HCC	3	0	0%
LC	9	1	11%
AVH	5	0	0%
Normal	25	0	0%

PBC : primary biliary cirrhosis, CAH : chronic active hepatitis,

CH : chronic hepatitis, HCC : hepatic cell carcinoma,

LC : liver cirrhosis, AVH : acute viral hepatitis

表 3 Laboratory findings of 5 PBC-CAH overlap patients with MM antibody

Group	Name	CNSDC	ANA IIF	pattern	AMA IIF	AMA (DID)			other***	MM titer	IgG	IgA	IgM	GOT	GPT	T.B.	T.chol	Alp (K.A.)	γ -GPT
					M-A	M-B	M-C												
I	MM*	+	—		1,280	16	>32	—	—	1:8	1,679	819	1,068	157	124	8.4	354	67.6	426
II	TT	+	—		160	—	4	—	1	1:16	1,256	85	>400	84	143	1.2	336	27.4	200
	KN	+	—		80	2	8	—	—	1:4	1,750	375	>400	97	91	1.4	248	23.3	84
	YH	+	>1,280	Centro.	320	—	64	—	—	1:1	1,926	247	666	49	53	0.6	173	17.8	118
III	TS	+	320	Homo.	—	—	—	—	1	1:1	2,619	388	139	39	20	0.2	170	1,155**	266

CNSDC : chronic non suppurative destructive cholangitis

ANA : anti-nuclear antibody

AMA : anti-mitochondrial antibody

Centro. : centromere

Homo. : homogeneous

*deceased **IU/l ***unclassified precipitating AMA

4. MM 抗体の疾患別出現頻度

さまざまな肝疾患の患者血清につき Mic 抗原との反応をスクリーニング、同定し、その MM 抗体の陽性頻度を求めた。PBC は 19 例中 3 例 (16%), PBC-CAH は 5 例中 5 例 (100%), CAH は 14 例中 2 例 (14%), LC は 9 例中 1 例 (11%) に陽性が認められた。しかし, CH, HCC, AVH, 正常人血清には MM 抗体は認められなかった (表 2)。

5. MM 抗体陽性 5 症例

臨床症状、検査所見が十分に把握された 5 症例につき所見をまとめた (表 3)。肝生検は 5 例中全例施行され、病理組織学的に CNSDC があり、さらに CAH の像も呈していた。MM 例は定型的 PBC-CAH 重複例で肝機能異常が発見されてから 3 年目で死亡した。TT, KN, YH 例は CNSDC の所見は認められるが Alp も正常の上限値の 3 倍以下であり, TT 例を除きコレステロールも正常値であり, 定型的 PBC-CAH 重複症例でなく, II 群

と分類した。TS 例は慢性関節リウマチがあり, 5~6 年後, 肝機能異常が発見されたが, IIF 法で AMA は陰性, DID 法で未同定の AMA が原血清で陽性であった。IgM も低値, T.B. は正常, コレステロールの上昇もなく III 群と分類した。

IV. 考 按

PBC-CAH 重複症例に高頻度に出現するいまだ報告のない MM 抗体を報告した。本抗体はラット肝細胞質 3 分画を用いた DID 法で, Mit 分画と反応せず, Mic 分画と強く反応した。

本抗体陽性の TF 血清はラット肝, 腎を用いた IIF 法では陰性であった。しかし, 抗体価が低いことによる可能性も否定できない。また, 他の血清では共存する AMA のため, 判定できなかった。

Berg らは PBC のマーカー抗体と報告した抗 M2 抗体¹⁵⁾に, 抗 M4¹⁶⁾ さらに抗 M8¹⁷⁾ 抗体が出現すると, 肝実質障害著明となり, 予後不良であることを報告して

いる。そこで、MM 抗体が Berg らの報告する抗 M4、抗 M8 抗体との異同を検討するため、本血清を Dr. Berg に送り、検討して戴いた。その結果、MM 抗体は抗 M4、抗 M8 抗体とまったく異なるとの返事であった。また、抗 M4、抗 M8 抗体はミトコンドリアの外膜に対する抗体であり、しかも可溶性の蛋白ではなく、当研究所の超音波処理 Mit 分画を用いた DID 法では沈降抗体は検出されなかった¹⁸⁾。それに反して、MM 抗体は AMA 検索用の Mit 分画とはまったく反応せず、明らかに Mic 分画と反応し、沈降抗体を形成し、可溶性である点でも異なっていた。したがって、MM 抗体は抗 M4、抗 M8 抗体とは異なるものであると考えられた。なお、本抗体は弱いながら Sup 分画とも反応し、抗原の細胞内局在は明らかではない。

つぎに、MM 抗体の鑑別すべき抗体として、1973 年、Rizzetto が報告した抗 LKM 抗体がある^{4,5)}。抗 LKM 抗体は PBC 患者や、また ANA 陽性、ASMA 陽性の CAH (lupoid type) 患者血清中には検出されず、1つの CAH の subgroup の患者に出現することが報告されている¹⁹⁾。しかし、MM 抗体は、PBC 患者血清の 20~30% に検出されること。また、抗 LKM 抗体はラット肝細胞質、ラット腎の近位尿細管細胞細胞質を染色する特徴を認めるが、MM 抗体単独血清はいずれも特異染色しないこと。また、ラット肝の Mic 分画を用いた DID 法で、MM 抗体は抗 LKM 抗体の沈降抗体とは一致しないこと。以上の点から両者は異なるものであった。

本抗体陽性 PBC 例の一部は、早期より GOT、GPT や総ビリルビン値の上昇が著明であり、肝生検でグリソン鞘の線維化著明と破壊の認められる CAH 像を呈した。なお、腹腔鏡検査は 3 例に施行された。YH 例は肝表面に結節像を認めたが、TT 例、TS 例には結節像は認められなかった。

今回の報告では、CAH 症例 14 例中 2 例のみが、MM 抗体陽性を認めた。これらの症例は、ANA、ASMA 陽性であり、本抗体は抗 LKM 抗体陽性の CAH とは異なり、CAH (lupoid type) にも認められる抗体と考えられる。また、CAH (lupoid type) の重複例を含めた

PBC で MM 抗体陽性は 24 例中 8 例ほど認められたが、ASMA、ANA を有しているのは一部であり、MM 抗体は ANA や ASMA との相関は考えられなかった。

Meyer zum Büschenfelde らは、肝疾患患者血清中に liver specific membrane lipoprotein (LSP) 抗体や liver membrane (LM) 抗体を報告している²⁰⁾。抗 LSP 抗体は自己免疫性肝疾患とされる PBC より自己免疫性以外の CAH 患者血清中に高頻度に出現すること²¹⁾により MM 抗体とは異なると思われる。しかし、肝特異抗原は多数存在するものと考えられており²²⁾、これらの 1 つと同じものである可能性も否定できない。抗 LM 抗体は辻らが報告しているごとく²³⁾、HBs 抗体陽性の CAH やその他の自己免疫性肝疾患患者血清中にも高頻度に見られるとの報告があり鑑別が必要と思われる。しかし、MM 抗体は Schneider らの方法で分画した Mic 分画で容易に沈降抗体を証明できる点、MM 抗体陽性血清 (5 倍希釈) は肝細胞膜を蛍光染色しない点で異なっていた。

当研究室では PBC の AMA を M-A、M-B、M-C、M-D の 4 種に分析し²⁴⁻²⁶⁾、その対応抗原を immuno-blotting²⁷⁾ や免疫電顕¹⁸⁾ で検索してきた。しかし、これらの抗体と PBC の臨床症状と病理組織像との相関は明らかではない。今回の MM 抗体は現在までの検討では、肝実質障害が著明で、肝生検で CAH との重複例と考えられる患者に高頻度に出現していた。これまでの PBC の AMA の分析と MM 抗体の検索は、自己免疫性肝疾患の診断を容易にし、さらに PBC の病型ならびに予後に重要な手がかりとなる可能性がある。今後症例を積み重ねて検討していく予定である。

謝 辞

本要旨は、第 31 回日本リウマチ学会総会 (東京) および第 22 回日本肝臓学会東部会 (宇都宮) で報告した。稿を終えるにあたり、抗 LKM 抗体の標準血清を分与して下さった Tübingen 大学、教授 Dr. P.A. Berg ならびに Dr. E. Stechemesser に、また論文作成にあたり、御協力戴いた R.W. Hankins, Ph. D. に感謝します。

文 献

- 1) Walker, J.G., Doniach, D., Roitt, I.M. et al.: Serological tests in diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet*, i: 827~831, 1965.
- 2) Doniach, D., Roitt, I.M., Walker, J.D. et al.: Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenetic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implication. *Clin. Exp. Immunol.*, 1: 237~262, 1966.
- 3) Trenchev, P., Sneyd, P., Holborow, E.J.: Im-

- munofluorescent tracing of smooth muscle contractile protein antigens in tissues other than smooth muscle. *Clin. Exp. Immunol.*, 16 : 125~136, 1974.
- 4) Rizzetto, M., Swana, G.T., Doniach, D. : Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. *Clin. Exp. Immunol.*, 15 : 331~344, 1973.
 - 5) Rizzetto, M., Bianchi, F.B., Doniach, D. : Characterization of the microsomal antigen related to a subclass of active chronic hepatitis. *Immunology*, 26 : 589~601, 1974.
 - 6) Smith, M.G.M., Williams, R., Walker, G. et al. : Hepatic disorders associated with liver kidney microsomal antibodies. *Brit. Med. J.*, 2 : 80~84, 1974.
 - 7) Homberg, J.C., Andre, C., Abuaf, N. : A new anti-liver-kidney microsome antibody (anti-LKM-2) in tienilic acid-induced hepatitis. *Clin. Exp. Immunol.*, 55 : 561~570, 1984.
 - 8) 佐々木 博・他 : 原発性胆汁性肝硬変, 全国調査集計結果 (第3報), 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班, 昭和57年度研究報告, pp. 102.
 - 9) De Groote, J., Desmet, V.J., Gedigk, P. et al. : A classification of chronic hepatitis. *Lancet*, ii : 626, 1968.
 - 10) Popper, H., Schaffer, F. : Non suppurative destruction chronic cholangitis and chronic hepatitis. *Progress in Liver Disease*, vol. III, Edited by Popper, H. and Schaffner, F., Grune and Stratton, New York, 1970, pp. 336.
 - 11) Sherlock, S. : Primary biliary cirrhosis. *Progress in Liver Disease*, vol. V, Edited by Popper, H. and Schaffner, F., Grune and Stratton, New York, 1976, pp. 559.
 - 12) Schneider, W.C., Hogeboom, G.H. : Intracellular distribution of enzymes. V. Further studies on the distribution of cytochrome c in rat liver homogenates. *J. Biol. Chem.*, 183 : 123~128, 1950.
 - 13) Tan, E.M., Kunkel, H.G. : Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.*, 96 : 464~471, 1966.
 - 14) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.H., Farr, A.I. et al. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 : 265~275, 1951.
 - 15) Berg, P.A., Baum, H. : Serology of primary biliary cirrhosis. *Spr. Semi. Immunopathol.*, 3 : 355~373, 1980.
 - 16) Berg, P.A., Klein, R., Lindenborn-Fotinos, J. et al. : Marker antigen for serological diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet*, ii : 1423~1425, 1982.
 - 17) Berg, P.A., Weber, P., Oehring, J. et al. : Significance of different types of mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*, Edited by Brunner, H. and Thaler, H., Raven Press, New York, 1985, pp. 231~242.
 - 18) 松嶋 広・宮地清光・和泉伸一・他2名 : 抗ミトコンドリア抗体の分類と免疫電顕法によるミトコンドリア内の対応抗原局在の研究. 臨床免疫, 印刷中.
 - 19) Manns, M., Meyer zum Buschenfelde, K.H., Slusarczyk, J. et al. : Detection of liver kidney microsomal autoantibodies by radioimmunoassay and their relation to anti-mitochondrial antibodies in inflammatory liver diseases. *Clin. Exp. Immunol.*, 57 : 600~608, 1984.
 - 20) Mayer zum Buschenfelde, K.H., Miesher, P.A. : Liver specific antigens. Purification and characterization. *Clin. Exp. Immunol.*, 10 : 89~102, 1972.
 - 21) Kakumu, S., Arakawa, Y., Goji, H. et al. : Occurrence and significance of antibody to liver-specific membrane lipoprotein by double-antibody immunoprecipitation method in sera of patients with acute and chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 76 : 665~672, 1979.
 - 22) 森實敏夫・沢口健太郎・斉藤英胤・他5名 : モノクローナル抗体によるヒト肝特異抗原の解析, 肝胆膵, 13 : 677~684, 1986.
 - 23) 辻 孝夫 : 肝細胞膜抗体. 肝胆膵, 11 : 599~606, 1985.
 - 24) Miyachi, K., Gupta, R.C., Dickson, E.R. et al. : Precipitating antibodies to mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin. Exp. Immunol.*, 39 : 599~606, 1980.
 - 25) Miyachi, K., Watanabe, S., Yamashiki, M. et al. : Precipitating antimitochondrial antibodies

- in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Am. J. Gastro.*, 79: 704~709, 1984.
- 26) 神谷知至・本田孝也・鈴木 修・他 3 名: 慢性甲状腺炎, 慢性膵炎, Sicca 症候群を伴った原発性胆汁性肝硬変の男性症例. *肝臓*, 71: 759~765, 1985.
- 27) 松嶋 広・宮地清光・樋渡恒憲・他 2 名: 抗ミトコンドリア抗体の対応抗原の特性と精製. *日臨免誌*, 9: 487~475, 1986.
-