指尖潰瘍・壊死を伴う SLE における抗 dsDNA 抗体の免疫グロブリンクラスと補体結合性ならびに免疫複合体

橋本博史・津田裕士・高崎芳成・藤巻教子・鈴木三佐子・塩川優一*

Immunoglobulin classes/complement fixation of anti-dsDNA and immune complexes in SLE Patients with Digital ulcer and/or gangrene The immunoglobulin classes (Ig)/complement fixation (CF) of anti-dsDNA and immune complexes were studied in sera from 12 SLE patients with digital ulcer and/or gangrene. These immunological examinations were also done in sera from 41 SLE patients with other clinical manifestations of vasculitis including leg ulcer, livedo, thrombophlebitis, peripheral neuropathy, aseptic bone necrosis and Raynaud's phenomenon. The Ig classes and CF of anti-dsDNA in sera were assessed by Crithidia IF technique. The precipitation with polyethylene glycol and the C1q solid-phase enzyme immunoassay were used to detect circulating immune complexes. SLE patients with digital ulcer and/or gangrene had high titer and high positive rates of anti-dsDNA. IgG and IgA of anti-dsDNA were found to be significantly greater in the patients with digital ulcer and/or gangrene. The patients with digital ulcer and/or gangrene had also high titer of immune precipitates that included IgG and IgA. However, these patients had low incidences of CF of anti-dsDNA, low C1q binding activity, and nearly normal complement levels in sera. This result differed from the findings in active lupus nephritis. Almost all groups of clinical manifestations of vasculitis were normal or revealed high levels of complement in sera. Especially, in SLE patients with leg ulcer and livedo the complement in sera significantly increased more than that in sera from patients with other clinical manifestations of vasculitis.

Hiroshi Hashimoto・Hiroshi Tsuda・Yoshinari Takasaki・Noriko Fuzimaki・
Misako Suzuki・Yuichi Shiokawa*

* Juntendo University, School of Medicine, Department of Internal Medicine,
Division of Rheumatology

全身性エリテマトーデス (SLE) にみられる指尖潰瘍・壊死は血管病変によると考えられ、このほか、臨床的に認められる下腿潰瘍, livedo, 血栓性静脈炎, 末梢神経障害なども原疾患による血管病変が示唆される¹⁾。

一方, SLE における腎病変は DNA・抗 DNA 抗体免疫複合体の関与が強く示唆されている。SLE の血管炎もまた免疫複合体が関与していると考えられるが、臨床的にみられる血管病変の存在は、必ずしも腎病変と関連しない¹⁻²⁾。

そこで, SLE の血管病変を反映していると考えられる臨床病態と抗 dsDNA 抗体の免疫グロブリンクラス, 補体結合性および免疫複合体との関連性ととも、血清補体価, 他の自己抗体や臨床病態との関係について検討したので報告する。

方 法

ARA の診断基準³⁾を満足する SLE 53 例を検討の対象とした。SLE の血管病変を反映すると考えられる臨床病態を以下の 7 群に区分した。A 群: 指尖潰瘍・壊死 (12 例), B 群: 下腿潰瘍 (3 例), C 群: livedo (5 例), D 群: 血栓性静脈炎 (2 例), E 群: 末梢神経障害 (9 例), F 群: 無菌性骨壊死 (14 例), G 群: レイノー現象 (24 例) である。ループス腎炎は、尿所見, 腎機能検査, 腎生検により診断し、中枢神経症状を伴う SLE (CNS ループス) は、痙攣発作, 片麻痺, 脳神経障害, 脊髄障害, 精神症状により診断した。

抗 dsDNA 抗体の抗体価は Farr assay により、免疫グロブリンクラス (Ig) と補体結合性 (CF) は, Crithidia luciliae の kinetoplast を基質とする蛍光抗体間接法 (CL-IF 法) と補体結合法 (CL-CF 法) により検索した^{4,5)}。免疫複合体は PEG 法⁶⁾と C1q solid phase enzyme immunoassay (C1q 結合能)⁷⁾により検索した。

* 順天堂大学医学部膠原病内科学教室

表 1 anti-dsDNA titers in SLE patients with clinical manifestations of vasculitis

clinical manifestations	anti-dsDNA ($\bar{X} \pm SE$)	SD
A. digital ulcer or gangrene (n=12)	51.4 $\pm$ 12.7*	F,G P<0.05
B. leg ulcer (n=3)	57.0 $\pm$ 38.6*	F,G P<0.05
C. livedo (n=5)	39.4 $\pm$ 23.7	
D. thrombophlebitis (n=2)	12.7 $\pm$ 9.7	
E. peripheral neuropathy (n=9)	41.7 $\pm$ 15.0	
F. aseptic bone necrosis (n=14)	19.4 $\pm$ 3.0*	
G. Raynaud's phenomenon (n=24)	24.3 $\pm$ 3.8*	

表 2 Ig classes and CF of anti-dsDNA in SLE patients with clinical manifestations of vasculitis

clinical manifestations	anti-dsDNA	IgG	IgA	IgM	CF
A. digital ulcer or gangrene(n=12)	12*	10*	5*	3	3
B. leg ulcer (n=3)	2	2	1	0	0
C. livedo (n=5)	3	3	1	0	0
D. thrombophlebitis (n=2)	1	0	1	0	0
E. peripheral neuropathy (n=9)	6	4	1	3	0
F. aseptic bone necrosis (n=14)	4*	3*	0*	0	2
G. Raynaud's phenomenon (n=24)	9*	6*	1*	3	1
significant differences	A : F P<0.005 A : G P<0.005	A : F P<0.01 A : G P<0.005	A : F P<0.05 A : G P<0.025		

Ig: immunoglobulin, CF: complement fixing

抗 ENA 抗体は二重免疫拡散法と PHA 法により検索した⁶⁾。C3 と C4 は免疫拡散法により、CH₅₀ は 50% 溶血法により測定した。これら免疫血清学的検査に用いた被検血清の採取は、血管病変を反映する臨床病態がはじめて認められた時期に一致して行われた。すべてステロイド治療されている。

有意差検定は、 χ^2 検定、Yates の修正、T 検定を用いた。

結 果

(1) 血管病変の臨床病態と抗 dsDNA 抗体価、免疫グロブリンクラス、補体結合性 (表 1, 2)

表 1 に示すように、抗 dsDNA 抗体価は A, B 群が F, G 群に比べて有意に高いことを認めた。CL-IF 法による抗 dsDNA 抗体の陽性率は (表 2)、A 群が F, G 群に比べ有意に高いことを認めた。Ig クラスでは、A 群が F, G 群に比べ IgG と IgA 抗体が有意に陽性率が高いことを認めた。しかし、CF はいずれの群も陽性率低く、有意差は認められなかった。

(2) 血管病変の臨床病態と免疫複合体 (表 3, 4)

Clq 結合能では (表 3)、いずれの臨床病態も低く、有意差は認められなかった。他方、PEG 法による検索では (表 4)、IgG を含む免疫沈降物は F 群に比べ A, C, G 群が有意に多く、IgA を含む免疫沈降物は F 群に

表 3 Clq binding activity in SLE patients with clinical manifestations of vasculitis

clinical manifestations	Clq binding activity ($\bar{X} \pm SE$)
A. digital ulcer or gangrene(n=12)	5.0 $\pm$ 2.5
B. leg ulcer (n=3)	1.5 $\pm$ 0.0
C. livedo (n=5)	2.0 $\pm$ 0.5
D. thrombophlebitis (n=2)	1.6 $\pm$ 0.1
G. peripheral neuropathy (n=9)	2.0 $\pm$ 0.4
E. aseptic bone necrosis (n=14)	1.9 $\pm$ 0.3
F. Raynaud's phenomenon (n=24)	1.8 $\pm$ 0.2

比べ A, B 群が、D, G 群に比べ B 群が有意に多いことを認めた。IgM および C3 を含む免疫沈降物は、各臨床病態間で有意差は認められなかった。

(3) 血管病変の臨床病態と抗 ENA 抗体 (表 5)

G 群は F 群に比べ有意に抗 nRNP 抗体の陽性率が高いが、抗 Sm 抗体では各臨床病態間に有意差は認められなかった。

(4) 血管病変の臨床病態と血清補体価 (表 6)

C3, C4, CH₅₀ の著明な平均値の減少を認める臨床病態はなかった。C 群における C3 は、A, G 群に比べ有意に高く、B, C 群における CH₅₀ は、A, E, F, G 群に

表 4 immune precipitates in SLE patients with clinical manifestations of vasculitis

clinical manifestations	PEG PP index ($\bar{X} \pm SE$)			
	IgG	IgA	IgM	C3
A. digital ulcer or gangrene (n=12)	31.0 $\pm$ 2.1*	15.3 $\pm$ 1.2*	24.4 $\pm$ 2.3	38.3 $\pm$ 4.0
B. leg ulcer (n=3)	29.5 $\pm$ 4.5	18.9 $\pm$ 1.2*	21.6 $\pm$ 6.7	38.5 $\pm$ 5.9
C. livedo (n=5)	32.2 $\pm$ 4.1*	13.7 $\pm$ 2.6	22.3 $\pm$ 2.5	36.0 $\pm$ 6.4
D. thrombophlebitis (n=2)	23.4 $\pm$ 1.4	11.0 $\pm$ 2.6*	24.8 $\pm$ 6.1	43.4 $\pm$ 6.9
E. peripheral neuropathy (n=9)	27.6 $\pm$ 2.2	13.1 $\pm$ 1.8	21.8 $\pm$ 2.3	35.5 $\pm$ 4.0
F. aseptic bone necrosis (n=14)	23.1 $\pm$ 2.1*	11.4 $\pm$ 1.2*	24.4 $\pm$ 3.7	31.4 $\pm$ 5.4
G. Raynaud's phenomenon (n=24)	29.2 $\pm$ 1.7*	12.6 $\pm$ 1.0*	25.8 $\pm$ 2.0	40.4 $\pm$ 2.4
significant differences	A : F P < 0.05 C : F P < 0.05 F : G P < 0.05	A : F P < 0.05 B : D P < 0.05 B : G P < 0.05 B : F P < 0.01		

表 5 anti-ENA in SLE patients with clinical manifestations of vasculitis

clinical manifestations	anti-nRNP	anti-Sm
A. digital ulcer or gangrene (n=12)	5	5
B. leg ulcer (n=3)	1	2
C. livedo (n=5)	2	2
D. thrombophlebitis (n=2)	0	0
E. peripheral neuropathy (n=9)	3	1
F. aseptic bone necrosis (n=14)	2*	4
G. Raynaud's phenomenon (n=24)	19*	3
significant differences	F : G P < 0.025	

表 6 complement levels in SLE patients with clinical manifestations of vasculitis

clinical manifestations	C3 (mg/dl)	C4 (mg/dl)	CH ₅₀
A. digital ulcer or gangrene (n=12)	65.3 $\pm$ 8.2*	19.5 $\pm$ 2.7	31.1 $\pm$ 2.5*
B. leg ulcer (n=3)	100.0 $\pm$ 28.0	20.0 $\pm$ 7.5	49.1 $\pm$ 11.0*
C. livedo (n=5)	101.2 $\pm$ 16.2*	24.8 $\pm$ 5.0	41.2 $\pm$ 3.7*
D. thrombophlebitis (n=9)	90.5 $\pm$ 37.5	19.5 $\pm$ 1.5	34.1 $\pm$ 6.3
E. peripheral neuropathy (n=9)	73.2 $\pm$ 11.0	20.1 $\pm$ 2.2	32.9 $\pm$ 1.2*
F. aseptic bone necrosis (n=14)	81.9 $\pm$ 9.9	23.8 $\pm$ 2.5	33.9 $\pm$ 1.9*
G. Raynaud's phenomenon (n=24)	72.2 $\pm$ 4.9*	22.5 $\pm$ 1.3	33.2 $\pm$ 1.3*
significant differences	A : C P < 0.05 C : G P < 0.05		A : B,C P < 0.05 B : C,E,F P < 0.05 B : G P < 0.01 C : G P < 0.05

比べ有意に高いことを認めた。特に、B群はC群と比べても有意に高い。

(5) 血管病変の臨床病態とループス腎炎ならびにCNS ループスとの関係(表7)

結果は表7のごとくであるが、B、C群でループス腎

炎とCNS ループスを伴う率がやや高いが、有意差は認められなかった。

考 察

ループス腎炎は免疫複合体病の典型ともされ、免疫複

表 7 relationship of clinical manifestations of vasculitis to lupus nephritis and CNS lupus

clinical manifestations	lupus nephritis		CNS lupus	
A. digital ulcer or gangrene (n=12)	7	58.3%	2	16.7%
B. leg ulcer (n=3)	3	100.0	2	66.7
C. livedo (n=5)	4	80.0	3	60.0
D. thrombophlebitis (n=2)	0	0.0	0	0.0
E. peripheral neuropathy (n=9)	5	55.6	2	22.2
F. aseptic bone necrosis (n=14)	7	50.0	3	21.4
G. Raynaud's phenomenon (n=24)	8	33.3	4	16.7

合体として DNA・抗 DNA 抗体免疫複合体が強く示唆されている。血中抗 dsDNA 抗体高値と血清低補体価は、臨床的活動性ループス腎炎とよく相関することが知られている。さらに、抗 dsDNA 抗体の IgG クラスと補体結合性抗体もまた臨床的、組織学的活動性ループス腎炎とよく相関することが知られている^{5,9,10)}。

他方、SLE にみられる血管病変も免疫複合体による組織障害として考えられている¹¹⁾が、抗 dsDNA 抗体の量的、質的検討や免疫複合体に関する詳細な報告は少ない。臨床的にみられる SLE の血管病変は皮膚病変として認められやすい。しかしながら、皮膚における血管病変の存在は必ずしも内臓の血管病変や内臓病変の程度とは相関しないことが指摘されている^{1,2)}。むしろ、末梢動脈炎の存在とループス腎炎の間には逆相関するとの報告もあり、この解離は、抗 DNA 抗体の affinity の相違、免疫複合体沈着の variation の違いによることが示唆されている¹²⁾。

今回、筆者らは臨床的に血管病変を反映する 指 尖 潰瘍・壊死を伴う SLE 症例について、抗 dsDNA 抗体の Ig クラスと補体結合性ならびに免疫複合体を検索し、あわせて、同様に血管病変を反映すると考えられる下腿潰瘍、livedo、血栓性静脈炎、末梢神経障害、無菌性骨壊死、レイノー現象をそれぞれ伴う SLE についても検索し、比較検討した。その結果、指尖潰瘍・壊死を認める SLE は、抗 dsDNA 抗体価が高く、Ig クラスでは、IgG と IgA 抗体の陽性率が他の臨床病態に比べ高いことを認めた。このことは、PEG 法による免疫複合体の検討結果からも、IgG と IgA を含む免疫複合体がこの臨床病態に関与していることを示唆する。一方、抗 dsDNA 抗体の CF は陽性率が低く、また、PEG 法による C3 を含む免疫沈降物や C1q 結合能にも有意の増加がみられず、血清補体価もほぼ正常値を示したことから、補体の関与が少ないことが推察される。この点、活動性ループス腎炎では、IgG クラスと CF の抗 dsDNA 抗体が強く相関し、血清補体価が低下することと大きく態度を異にする。

DNA・抗 DNA 抗体免疫複合体が補体結合性を有す

るかどうかは抗原と抗体の量的比によるとされ、抗原過剰状態では、DNA 結合能により十分 DNA 抗体を測定することができるにもかかわらず、補体結合能を欠くとされている。半面、補体結合性の免疫複合体では、DNA を過剰に加えても抗原と抗体の解離には比較的安定性を示し、avidity が高いと考えられる¹³⁾。この観点からすると、指尖潰瘍・壊死を伴う SLE では抗原過剰状態の免疫複合体の関与が示唆され、avidity も低いことが推測される。このことが、活動性ループス腎炎と指尖潰瘍・壊死の存在が相関しないことの要因になっていると考えられる。

今回、流血中の抗体や免疫複合体と血管壁に沈着する免疫グロブリンとの関係について検討できなかったが、Kauffmann ら¹⁴⁾は、アレルギー性血管炎の症例を用いて、C1q 結合能と IgG 沈着、IgA を含む免疫複合体と IgA 沈着がそれぞれ相関することを認め、ある種の皮膚血管病変では流血中の免疫複合体の Ig クラスと血管壁に認められる Ig クラスが相関することを指摘した。

血清補体価の検討結果から、下腿潰瘍や livedo を伴う SLE では、むしろ血清補体価の増加が注目された。これは、たんに補体結合性抗体の有無や免疫複合体の抗原と抗体の量的比だけでは説明しえず、補体系の異化亢進状態よりも合成亢進の病態が存在すると考えられる。このような皮膚血管病変における補体の合成亢進がどのような機序によってもたらされているのかは不明であるが、補体成分は、肝のみならず、マクロファージ、線維芽細胞、腸管上皮などからも合成され、補体活性化は、免疫複合体のみならず、腫瘍ウイルス、腸内細菌の構成成分の脂質 A、ポリヌクレオチド、CRP などにより引き起こされる¹⁵⁾。少なくとも、SLE における皮膚血管病変と活動性ループス腎炎の補体系の態度に相違がみられ、今後の重要な課題と考えられた。

結 論

指尖潰瘍・壊死を認める SLE は、他の血管病変を反映する臨床病態に比べ、抗 dsDNA 抗体の陽性率、抗体価ともに有意に高く、Ig クラスでは、IgG と IgA 抗体

が有意に多いことを認めた。また、IgG と IgA を含む免疫沈降物も有意に高いことを認めた。他方、抗 dsDNA 抗体の CF の陽性率低く、C1q 結合能や C3 を含む免疫沈降物、血清低補体価は認めがたく、この点、活動性ループス腎炎にみられる所見と異にした。

下腿潰瘍、livedo を認める SLE では、補体系の異化亢進よりも合成促進の病態が存在すると考えられた。

本研究にあたり、厚生省特定疾患系統的血管病変に関する調査研究班の研究費を使用した。

文 献

- 1) Fan, P.T., Davis, J.A., Somer, T., Kaplan, L., Bluestone, R.: A clinical approach to systemic vasculitis. *Arthritis Rheum.* 9: 248-304, 1980.
- 2) Hughes, G.R.V.: *Connective tissue disease*, 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, 1979.
- 3) Cohen, A.S., Reynolds, W.E., Franklin, E.C., Kulka, J.P., Ropes, M.W., Shulman, L.E.: Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* 21: 643-648, 1971.
- 4) Aarden, L.A., deGroot, E.R., Feltkamp, T.E.W.: Immunology of DNA III. Crithidia luciliae, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. *Ann. NY Acad. Sci.* 254: 505-515, 1975.
- 5) 橋本博史, 歌川祐二, 山形寿太郎, 岡田孝男, 塩川優一, 鈴木重男, 富山哲雄: SLE における腎組織学的病変と血清中抗 native DNA 抗体の免疫グロブリンクラス, 補体結合性ならびに免疫複合体の組成について. *リウマチ* 21: 366-374, 1981.
- 6) Creighton, W.D., Lambert, P.H., Miescher, P.A.: Detection of antibodies and soluble antigen-antibodies complexes by precipitation with polyethylene glycol. *J. Immunology* 111: 1219-1227, 1973.
- 7) Tung, K.S.K., Woodroffe, A.J., Ahlin, T.D.: Application of the solid phase C1q and Raji cell radioimmune assays for the detection of circulating immune complexes in glomerulonephritis. *J. Clin. Invest.* 62: 61-72, 1978.
- 8) Nakamura, R.M., Greenwald, C.A., Peebles, C.L., Tan, E.M.: Autoantibodies to nuclear antigens (ANA). American Society of Clinical Pathologists, Chicago, 1978.
- 9) Beaulieu, A., Quismorio, F.P., Friou, G.J.: IgG antibodies to double-stranded DNA in systemic lupus erythematosus sera. *Arthritis Rheum.* 22: 565-570, 1979.
- 10) Minitzer, M.F., Stollar, B.D., Agnello, V.: Reassessment of the clinical significance of native DNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 22: 959-968, 1979.
- 11) Christian, C.L., Sergeant, J.S.: Vasculitis syndrome: Clinical and experimental models. *Am. J. Med.* 61: 385-392, 1976.
- 12) Johnson, G.D., Edmonds, J.P., Holborow, E.J.: Precipitating antibody to DNA detected by two stage electroimmunodiffusion. *Lancet* II: 883-885, 1973.
- 13) Pedersen, S.E., Taylor, R.P., Morley, K.W., Wright, E.L.: Stability of DNA/anti-DNA complexes. IV complement fixation. *J. Immunol. Method* 38: 269-280, 1980.
- 14) Kauffmann, R.H., Herrmann, W.A., Meijer, C.J.L.M., Daha, M.R., Vanes, L.A.: Circulating and tissue-bound immune complexes in allergic vasculitis: relationship between immunoglobulin class and clinical features. *Clin. Exp. Immunol.* 41: 459-470, 1980.
- 15) 米増国雄, 佐々木隆子: 補体と膠原病. *Minophagen Medical Review* 26: 227-238, 1981.