<Editorial>

膠原病における抗ミトコンドリア抗体 (AMA) と PBC の合併

石橋 大海*

索引用語: PBC anti-mitochondrial antibody collagen disease
pyruvate dehydrogenase complex scleroderma

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) は臓器特異的自己免疫疾患であり、膠原病を含む自己免疫疾患を合併することが特徴とされる¹⁾。ある米国の報告によると、シェーグレン症候群の合併は 25%、レイノー現象 24%、慢性甲状腺炎 23%、関節リウマチは 17%、強皮症・CREST 症候群は 8% であり、PBC 全症例における自己免疫疾患の合併頻度は 53% とかなり高頻度である²⁾。しかし我が国では、厚生労働省「難病の疫学調査班」による疫学調査³⁾によると、シェーグレン症候群、関節リウマチ、慢性甲状腺炎、強皮症が多いが、その頻度はそれぞれ 13.5%、7.3%、4.4%、2.0% と必ずしも高頻度とは言えない。他の調査による報告でもほぼ同様の数値である⁴⁾。一方、膠原病ではしばしば肝機能異常が観察されるが、実際にどのような肝病変、特に PBC を合併するかについての詳細な検討は少ない。この点で、本号掲載の岩澤ら⁵⁾の論文は貴重である。

岩澤ら⁵⁾は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、進行性強皮症、混合結合組織繊維病、多発性筋炎/皮膚筋炎、シェーグレン症候群を含む各種膠原病における PBC の合併頻度を検討した。PBC の診断のスクリーニングには間接蛍光抗体法 (IF 法) と ELISA による抗ミトコンドリア抗体 (Anti-mitochondrial antibodies: AMA) の測定を用い、陽性であった検体についてはさらに Western blot (WB 法) で対応抗原を解析した。その結果、計 302 例の膠原病症例中 14 例 (4.6%) で AMA が陽性であり、AMA が陽性であった 14 例のうち 9 例 (3.0%) で WB 法陽性、すなわち、PBC の合併がみられたとしている。

本研究では、PBC 症例を AMA (IF 法と ELISA 法) でスクリーニングしている。PBC 症例で AMA の出現

頻度は約 90% と高率である³⁾。しかし残る 10% は AMA 陰性の PBC であり、それらは肝病変を病理学的に検討し、慢性非化膿性破壊性胆管炎を特徴とする肝病変を病理学的に捉えることによって診断可能である。本研究では、IF 法で陰性であった 3 症例が ELISA 法で陽性であったため拾い上げられているが、約 10% にあたる AMA 陰性の PBC 症例が選択の対象外になっていることになる。

次に問題となるのは、AMA 陽性の全症例を PBC と診断可能かどうか、すなわち、抗体の疾患特異性である。AMA は PBC に対して特異度もかなり高いとされているが 100% ではない。自己免疫性肝炎など、他の肝疾患でも陽性になることが報告されている⁶⁾。この点、岩澤ら⁵⁾は AMA の精密測定法である WB 法を精密測定法として用いることで PBC 診断の特異性の上昇を図った。

AMA によって認識される対応抗原は、ミトコンドリア内膜に局在する成分である⁷⁾。Berg ら⁸⁾は、ウシ心筋のミトコンドリア分画を M1-M9 の 9 つに分画した。PBC 血清は M2 分画に特異的に反応することから、PBC に特異的な AMA は抗 M2 抗体とみなした。M2 分画を Immunoblot 法で検討すると、74, 52, 50, 41, 36kD の 5 つのバンドに分かれるが、74kD のバンドが主要対応抗原である。1987 年 Gershwin ら⁹⁾は 74 (70) kD に反応する対応抗原の cDNA をクローニングし、この主要バンドがピルビン酸脱水素酵素 (PDC) の E2 コンポーネント (PDC-E2) であることを同定した。その後、PDC の E3 結合蛋白 (E3BP)、PDC-E1 α サブユニット、2-オキシグルタル酸脱水素酵素 (OGDC-E2) および分枝鎖 2-オキソ酸脱水素酵素の E2 コンポーネント (BCOADC-E2) が対応抗原であることが明らかにされており⁷⁾、これらが PBC に特異性が高い AMA の対応抗原とされている。

これら対応抗原の測定法としては、現在、ラット胃/

腎組織凍結標本あるいは HEP-2 細胞を用いた IF 法, ウシミトコンドリア亜分画を用いた Western blot (WB 法), AMA 特異的リコンビナント蛋白を用いた ELISA 法, Immunoblot 法および特異酵素の酵素活性の抑制をみる Enzyme inhibition assay (EIA 法) が用いられている⁶⁾¹⁰⁾. これらのうち後者の 3 つが PBC に特異的なエピトープを検出するシステムであり, 抗 PDC 抗体の検出には EIA 法が最も特異的な方法とされている.

Muratori ら⁶⁾の検討によれば, ラット胃/腎組織凍結標本 (71%) あるいは HEP-2 (72%) を用いた IF 法よりも WB 法 (85%) の方が AMA の検出率が高い. 脂肪性肝障害を対照として用いた特異性の検討では, 100 例中 10 例 (10%) の症例で IF 法で陽性であったが, WB 法あるいは ELISA 法では陰性であり, AMA 特異的なエピトープを認識しているものはない. 一方, 166 例のタイプ 1AIIH のうち 12 例 (7.2%) が IF 法にて AMA 陽性であったが, そのうちの 6 例 (3.6%) が WB 法と ELISA 法で陽性であった. これら 6 症例は AMA が擬陽性というよりも, hepatic/cholestatic syndrome という一群を形成する疾患群である可能性が高いと彼らは結論している⁶⁾. このように, WB 法あるいは AMA 特異的リコンビナント蛋白を用いた ELISA 法により検出された抗体は極めて PBC に特異性が高いものと考えられる.

もう一つの問題は測定条件に関連する問題である. ELISA 法による特異抗原の測定は, 高免疫グロブリン血症を呈する被検検体では, 非特異的反応を惹起する可能性が指摘されており¹¹⁾, 特に多くの症例で高免疫グロブリン血症を呈する膠原病ではその可能性が危惧される. 岩澤ら⁵⁾は, AMA 特異的な recombinant 蛋白を抗原として用いるとともに, 抗原-抗体反応の至適条件の設定, 大腸菌抽出物など適切な blocking agents の使用等により, ELISA の感度・特異度を上げること成功している. このような対策によって, 彼らは AMA は陰性であるにもかかわらず ELISA 法で陽性の症例を 4 例検出し, いずれも WB 法で陽性であることを確認した.

膠原病に合併する肝病変は Matsumoto ら¹²⁾によると 3 つのカテゴリーに分類される. すなわち, ①血管炎, ②PBC, 自己免疫性肝炎, 結節性再生性過形成 (NRH) 等膠原病に特徴的な肝病変, および③その他の肝病変である. 彼らは, SLE73 症例, 関節リウマチ 32 症例, 多発性筋炎/皮膚筋炎 18 症例, 強皮症 15 症例, 混合性結合組織病 11 症例および結節性多発動脈炎 (PAN) 11

症例からなる膠原病の 160 症例 (120 剖検材料, 40 肝生検) を病理学的に検討し, 9 例 (5.6%) に PBC を認めた. うち 7 例 (強皮症 3 例, 関節リウマチ 2 例, 多発性筋炎/皮膚筋炎 1 例, 混合性結合組織病 1 例) は AMA 陽性で, 残り 2 例は SLE に合併した AMA 陰性の PBC であった. シェーグレン症候群と慢性甲状腺炎が対象に含まれていないのでそれらを除くと, 強皮症と関節リウマチがそれぞれ 3 例 (20%), 2 例 (6.25%) と多い.

岩澤ら⁵⁾の報告では, PBC の合併がみられた疾患としては強皮症 (14.8%), 血管炎 (11.8%), シェーグレン症候群 (10.0%) が多く, 他は SLE, 関節リウマチ, 多発性筋炎/皮膚筋炎が 10% 未満の頻度であった. 強皮症に合併する PBC の頻度はこれまでの報告では明白ではないが, CREST 症候群には 3-17% に PBC が併存することが報告されている¹³⁾. 抗セントロメア抗体は CREST 症候群に特徴的な自己抗体であるが, PBC 症例の 10-29% にも陽性となり, CREST 症候群と PBC が併存した症例では 100% 近く陽性となる.

シェーグレン症候群には肝障害が比較的多く経験される. 300 症例のシェーグレン症候群を検討した Skopouli¹⁴⁾によると 7% に肝機能異常が認められ, 6.6% は AMA が陽性で, AMA 陽性の症例のうち 92% は肝生検にてステージ I 期の PBC の病理像を呈していた. シェーグレン症候群に PBC を合併する正確な頻度は不明であるが, 免疫学的異常が類似しているため, 両疾患のオーバーラップは多いものと思われる¹⁵⁾.

膠原病に PBC が合併している場合, PBC は無症候であることも多いため膠原病の病態に隠れて PBC の存在がはっきりしない場合が多い. しかし, 膠原病患者を診療する場合は PBC の合併も念頭におき, 肝機能を調べる必要がある. そして, 膠原病で肝機能異常, 特に胆道系酵素の異常をみた場合は PBC を疑って AMA を測定し, 検出された場合は, 肝組織検査ができる場合は行い, できない場合は Western blot 法で特異性を確認することによって PBC の診断の確定を行う.

文 献

- 1) Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 1261-1273
- 2) Watt FE, James OF, Jones DE. Patterns of autoimmunity in primary biliary cirrhosis patients and their families: a population-based cohort study. *QJM* 2004; 97: 397-406
- 3) Sakauchi F, Mori M, Zeniya M, et al. A cross-

- sectional study of primary biliary cirrhosis in Japan: utilization of clinical data when patients applied to receive public financial aid. *J Epidemiol* 2005; 15: 24—28
- 4) Nakano T, Inoue K, Hirohara J, et al. Long-term prognosis of primary biliary cirrhosis (PBC) in Japan and analysis of the factors of stage progression in asymptomatic PBC (a-PBC). *Hepatol Res* 2002; 22: 250—260
 - 5) 岩澤絵里子, 宮川 浩, 菊池健太郎, 他. 各種膠原病における抗ミトコンドリア抗体の検出とその意義. *肝臓* 2007; 48: 210—218
 - 6) Muratori P, Muratori L, Gershwin ME, et al. 'True' antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis, low sensitivity of the routine assays, or both? *Clin Exp Immunol* 2004; 135: 154—158
 - 7) Ishibashi H, Shimoda S, Gershwin ME. The immune response to mitochondrial autoantigens. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 337—346
 - 8) Berg PA, Klein R. Mitochondrial antigens and autoantibodies: from anti-M1 to anti-M9. *Klin Wochenschr* 1986; 64: 897—909
 - 9) Gershwin ME, Mackay IR, Sturgess A, et al. Identification and specificity of a cDNA encoding the 70 kd mitochondrial antigen recognized in primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 1987; 138: 3525—3531
 - 10) Omagari K, Hazama H, Kohno S. Enzyme inhibition assay for pyruvate dehydrogenase complex: clinical utility for the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6735—6739
 - 11) Patel D, Egner W, Gleeson D, et al. Detection of serum M2 anti-mitochondrial antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay is potentially less specific than by immunofluorescence. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 304—307
 - 12) Matsumoto T, Kobayashi S, Shimizu H, et al. The liver in collagen diseases: pathologic study of 160 cases with particular reference to hepatic arteritis, primary biliary cirrhosis, autoimmune hepatitis and nodular regenerative hyperplasia of the liver. *Liver* 2000; 20: 366—373
 - 13) Powell FC, Schroeter AL, Dickson ER. Primary biliary cirrhosis and the CREST syndrome: a report of 22 cases. *Q J Med* 1987; 62 (237): 75—82
 - 14) Skopouli FN, Barbatis C, Moutsopoulos HM. Liver involvement in primary Sjogren's syndrome. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 745—748
 - 15) Whaley K, Goudie RB, Williamson J, et al. Liver disease in Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Lancet* 1970; 1 (7652): 861—863

Anti-mitochondrial antibodies in collagen diseases and the association of primary biliary cirrhosis

Hiromi Ishibashi*

Key words: PBC anti-mitochondrial antibody collagen disease
pyruvate dehydrogenase complex scleroderma

Kanzo 2007; 48: 204—206

Clinical Research Center, National Hospital Organization (NHO) Nagasaki Medical Center

*Corresponding author: hiishibashi-gi@umin.ac.jp