〔原 著〕

酵素結合性免疫 glob 例における 血中自己抗体の検出*

戸沢辰雄・二見多美子・柴田 宏

SUMMARY

A relationship between enzyme-linked immunoglobulins and autoantibodies were studied.

Twenty-two patients with *Ulcerative colitis* (UC) who were positive for enzyme-linked immunoglobulins (E-Igs), 75 cases with non-autoimmune diseases who were positive for E-Igs, 10 healthy individuals positive for E-Igs and 28 E-Igs negative patients with UC were subjected to the screening of the eight types of autoantibodies, i.e., Rheumatoid antibody (RA), Lupus erythematoses antibody (LE), Anti-nuclear antibody (ANA), Anti-deoxyribonucleotide antibody (DNA), Antithyroglobulin antibody (ATG), Anti-microsome antibody (AMC), Anti-mitochondrial antibody (AMA), and Anti-smooth muscle antibody (ASMA).

At least one type of these autoantibodies was found in 68% of the E-Igs positive UC patients, 60% of the cases with non-autoimmune diseases, 30% of healthy individuals and in 46% of the UC patients negative for E-Igs.

The detection rates of autoantibodies in terms of respective E-Igs were 67% in the CK-Ig cases, 48% in the amylase-Ig patients, 59% in the AP-Ig cases and 66% in the LD-Ig patients.

When compared with the UC cases negative for E-Igs, significantly higher rates of detection were observed in such autoantibodies as RA in the CK-Ig positive UC cases, AMA in the AP-Ig positive UC patients and ANA in the UC cases positive for LD-Ig ($p < 0.05$).

The results of the present studies suggested a relationship between E-Igs and autoantibodies in patients with ulcerative colitis.

Key words: enzyme-linked immunoglobulin, *Ulcerative colitis*, autoantibody

アミラーゼ結合性免疫 glob による血中アミラーゼの高分子化現象を Levitt¹⁾が報告して以来、多くの酵素結合性免疫 glob が報告された。これらの酵素結合性免疫 glob は自己抗体の可能性が示唆されていることから、臨床的には自己免疫疾患との関連性が注目されるようになった。しかし、密接な関連性^{2,3)}が確認されているのは、潰瘍性大腸炎 (UC と略す) と alkaline

phosphatase (AP), lactate dehydrogenase (LD) あるいは creatine kinase (CK) 結合性免疫 glob だけで、他の自己免疫疾患との関連性はどの酵素結合性免疫 glob にも認められていない。さらに、酵素結合性免疫 glob と自己抗体の関連性を目的にした研究は、AP 結合性免疫 glob 例における免疫複合体と自己抗体を検索した Crofton⁴⁾の報告があるにすぎない。

* Detection of autoantibodies in serum of subjects with enzyme-linked immunoglobulin

** Tatsuo Tozawa, Tamiko Futami and Hiroshi Shibata, 兵庫医科大学病院 中央臨床検査部

Correspondence address: Tamiko Futami, Clinical Laboratory, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya-shi, Hyogo 663, Japan

(受付 1985年8月2日, 受理 1985年9月13日)

今回、酵素結合性免疫 glob と自己抗体との関連性を確認する目的で、LD、AP、CK、アミラーゼ結合性免疫 glob 例について 8 種類の血清中の自己抗体の検索を行った。

材 料

酵素結合性免疫 glob の検出された22例の UC 患者 (CK 結合性免疫 glob 例, 3 例; AP 結合性免疫 glob 例, 11例; LD 結合性免疫 glob 例, 6 例; CK および LD 結合性免疫 glob 重複例, 1 例; CK および AP 結合性免疫 glob 重複例, 1 例) を UC (+) 群とした。いずれの酵素結合性免疫 glob も検出されなかった28 例の UC 患者を UC (-) 群とした。酵素結合性免疫 glob の検出された患者群のうち自己免疫疾患を除外した75例 (CK 結合性免疫 glob 例, 17例; アミラーゼ結合性免疫 glob 例, 29例; AP 結合性免疫 glob 例, 9 例; LD 結合性免疫 glob 例, 20例) を非自己免疫疾患群とし Non AID (+) 群と略した。酵素結合性免疫 glob の検出された10例の献血者 (CK 結合性免疫 glob 例, 5 例; アミラーゼ結合性免疫 glob 例, 2 例; AP 結合性免疫 glob 例, 1 例; LD 結合性免疫 glob 例, 2 例) を健常者 (+) 群とした。

酵素結合性免疫 glob 例は入院、外来患者および献血者を無作為に選んでスクリーニングした。

試薬と方法

LD およびアミラーゼ結合性免疫 glob のスクリー

ニングは、電気泳動法によるアイソザイム分析で行った。免疫 glob の検出は免疫混合法^{5,6)}で行った。CK および AP 結合性免疫 glob のスクリーニングは免疫浸透法⁷⁾によった。CK 結合性免疫 glob の同定は免疫混合法⁸⁾, AP 結合性免疫 glob の同定は免疫浸透法⁷⁾で行った。

自己抗体の検出には市販キットを用いた。リウマチ因子 (RA) はラテックス凝集反応「RA-S (KW)」(協和薬品) を、LE 因子 (LE) はラテックス凝集反応「LE ラテックステスト (KW)」(協和薬品) を、抗核抗体 (ANA) は間接蛍光抗体法「ANA (IFA) Kit」(国際試薬) を、抗 DNA 抗体 (DNA) は赤血球凝集反応「DNA-HA」(協和薬品) を、抗サイログロブリン抗体 (ATG) は間接凝集法「セロディア ATG」(富士レビオ) を、抗マイクロゾーム抗体 (AMC) は間接凝集法「セロディア AMC」(富士レビオ) を使用した。また抗ミトコンドリア抗体 (AMA) および抗平滑筋抗体 (ASMA) は間接蛍光抗体法「FLORO AID-1 TEST」(MBL) を用いて同時に検出した。それぞれの操作手順と判定基準は添付書に従って行った。

成 績

1. 各対象群における自己抗体の検出成績

各群における 8 種の自己抗体の検出率を Table 1 に示した。どの自己抗体の検出率も各群間で有意差は認められなかった。各群ともに 2 ないし 3 種類の自己抗体の検出された例があるが (Table 2), 一つでも自

Table 1. Detection of autoantibodies in groups with and without enzyme-linked immunoglobulin.

Group	(n)	Number of autoantibody-detected case (%)						
		RA	LE	ANA	DNA	ATG	AMC	AMA ASMA
UC	(-) (28)	3 (11)	1 (4)	2 (7)	4 (14)	0 (0)	2 (7)	3 (11)
UC	(+) (22)	6 (27)	0 (0)	3 (14)	3 (14)	0 (0)	0 (0)	6 (27)
Healthy	(+) (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (20)	2 (20)	1 (10)	0 (0)
Non AID	(+) (75)	13 (17)	0 (0)	9 (12)	13 (17)	8 (11)	9 (12)	10 (13)

(-) : Without enzyme-linked immunoglobulins

(+) : With enzyme-linked immunoglobulins

UC : *Ulcerative colitis*

Non.AID : Miscellaneous disease except for autoimmune disease

Table 2. Incidence of at least one type of autoantibody in groups with and without enzyme-linked immunoglobulin.

Group (n)	Number of autoantibody - detected case(%)			
	3*	2*	1*	total(%)
UC (-) (28)	0	4	9	13 (46)
UC (+) (22)	0	5	10	15 (68)
Healthy (+) (10)	1	0	2	3 (30)
Non AID (+) (75)	5	9	31	45 (60)

† $\chi^2 > 3.84$, $p < 0.05$

* Numbers of types of autoantibody in serum

己抗体を検出された率は、UC (+) 群で68%、非自己免疫疾患群でも60%と高率であった。自己抗体検出率に推計学的な有意差の認められたのはUC (+) 群と健康者群間だけであったが ($P < 0.05$)、UC (+) 群 (68%) に比べてUC (-) 群での自己抗体検出率は低かった (46%)。以上の成績から、UC (+) 群における高い自己抗体検出率は、UC の背景にある免疫産生異常

に起因しているのではなく酵素結合性免疫 glob の保有に起因していると推定された。

2. 各対象群における自己抗体の酵素結合性免疫 glob 種類別検出成績 (Table 3)

UC 患者において、CK 結合性免疫 glob 例では RA, AP 結合性免疫 glob 例では AMA, LD 結合性免疫 glob 例では ANA の各検出率は UC (-) 群よりも高率であった ($P < 0.05$)。各酵素結合性免疫 glob に関連性のある自己抗体の種類は異なっていたが、UC 群に限った場合、CK 結合性免疫 glob 例の RA 検出率は AP, LD 結合性免疫 glob 例の RA 検出率に比べて差は認められなかった。同様に、AP 結合性免疫 glob 例の AMA および LD 結合性免疫 glob 例の ANA の検出率が高率でないことから、これらの酵素結合性免疫 glob と関連する自己抗体が異なることに意味があるかどうかは不明である。なお、Table 1 で UC (+) 例が22例であるのに、Table 3 で酵素結合性免疫 glob 陽性の UC 例の総数が24例であるのは、CK 結合性 IgG と LD 結合性 IgG, CK 結合性 IgG と AP 結合性 IgG 例が1例ずつ存在し、これらの例が重複しているからである。

Table 3. Detection of autoantibodies in patients with E-Igs.

Group (n)	Number of autoantibody-detected case (%)							
	RA	LE	ANA	DNA	ATG	AMC	AMA	ASMA
U C (-) (28)	3 (11)	1 (4)	2 (7)	4 (14)	0	2 (7)	3 (11)	3 (11)
UC (5)	3 (60)	0	0	1 (20)	0	0	1 (20)	0
CK-Ig Healthy (5)	0	0	0	1 (20)	2 (40)	1 (20)	0	0
Non AID (17)	4 (24)	0	2 (12)	1 (24)	2 (12)	3 (18)	1 (6)	0
UC (0)	—	—	—	—	—	—	—	—
Amylase Healthy (2)	0	0	0	1 (50)	0	0	0	0
-Ig Non AID (29)	6 (21)	0	5 (17)	4 (14)	2 (7)	1 (3)	2 (7)	1 (3)
UC (12*)	2 (17)	0	0	2 (17)	0	0	5 (42)	2 (17)
AP-Ig Healthy (1)	0	0	0	0	0	0	0	0
Non AID (9)	0	0	1 (11)	1 (11)	1 (11)	1 (11)	3 (33)	1 (11)
UC (7**)	2 (29)	0	3 (43)	0	0	0	1 (14)	0
LD-Ig Healthy (2)	0	0	0	0	0	0	0	0
Non AID (20)	3 (15)	0	1 (5)	4 (20)	3 (15)	4 (20)	4 (20)	0

† $\chi^2 > 3.84$ $p < 0.05$

* A case with overlapping of CK-IgG and AP-IgG was included

** A case with overlapping of CK-IgG and LD-IgG was included

3. 酵素結合性免疫 glob 別の各群における自己抗体の検出数と検出率 (Table 4)

アミラーゼ結合性免疫 glob 例に UC 例はないので不明であるが、残りの3種の酵素結合性免疫 glob 例では UC (+) 群と非自己免疫疾患群間の自己抗体検出率はいずれも高率であった。健康者例は CK 結合性免疫 glob 以外は少数例のため対比できなかったが、CK 結合性免疫 glob 例では他の2群に比べて自己抗体の検出率は低率であった。酵素結合性免疫 glob 例の各群の総例数に対する自己抗体検出率は CK, LD 結合性免疫 glob 例では、それぞれ67%, 66%と高率であり、最も低いアミラーゼ結合性免疫 glob 例では48%であった。この成績から、アミラーゼ結合性免疫 glob を除く酵素結合性免疫 glob 存在例では、自己免疫疾患である UC, 非自己免疫疾患でも、過半数の例に何らかの自己抗体が産生されていた。

Table 4. Incidence of at least one type of autoantibody in patients with E-Igs.

Group (n)		Number of autoantibody-detected case(%)			
		3*	2*	1*	total
CK-Ig	UC (5)	0	1(20)	3(60)	4(80)
	Healthy (5)	1(20)	0	1(20)	2(40)
	Non AID (17)	1(6)	2(12)	9(53)	12(70)
	total (27)	2(7)	3(11)	13(48)	18(67)
Amylase -Ig	UC (0)	—	—	—	—
	Healthy (2)	0	0	1(50)	1(50)
	Non AID (29)	1(3)	5(17)	8(28)	14(48)
	total (31)	1(3)	5(16)	9(29)	15(48)
AP-Ig	UC (12)	0	3(25)	5(42)	8(67)
	Healthy (1)	0	0	0	0
	Non AID (9)	1(11)	1(11)	3(33)	5(56)
	total (22)	1(5)	4(18)	8(36)	13(59)
LD-Ig	UC (7)	0	1(14)	4(51)	5(65)
	Healthy (2)	0	0	0	0
	Non AID (20)	2(10)	1(5)	11(55)	14(70)
	total (29)	2(7)	2(7)	15(52)	19(66)

* Numbers of types of autoantibody in serum

考 案

任意患者集団のスクリーニング調査により得た、酵素結合性免疫 glob 例における自己免疫疾患患者の占める率は、AP 結合性免疫 glob 例の24%⁹⁾, LD 結合性免疫 glob 例の13%⁹⁾, CK 結合性免疫 glob 例の11%¹⁰⁾, アミラーゼ結合性免疫 glob 例の2.5%¹¹⁾であり、酵素結合性免疫 glob と自己免疫疾患の両者間に関連性があるとはいい難い。特に、アミラーゼ結合性免疫 glob 例については、屋形¹²⁾も55例中1例しか自己免疫疾患例はなかったと報告していることから、自己免疫疾患との関連性は極めて乏しい。しかし AP および LD 結合性免疫 glob は加齢とともに出現頻度が増加すること⁹⁾, LD 結合性免疫 glob 例では LD 結合性 IgG 例に限ってみれば、疾患の成立または病態に免疫機構の異常が深く関連づけられる疾患が多い¹³⁾こと、UC 患者には AP, LD, CK-IgG が高率に検出される^{2,3)}こと、これらの成績から、酵素結合性免疫 glob の出現背景に免疫異常の存在が示唆される。

Crofton らは AP 結合性免疫 glob 例: 17例につき、thyroid antibodies, gastric parietal antibody, smooth muscle antibody, antinuclear factor, rheumatoid factor の5種の自己抗体を検索し、9例(53%)に何らかの自己抗体が検出され、16例中14例(88%)に免疫複合体の存在を証明した。

今回の研究では8種の血清中の自己抗体の検索を行ったが、AP 結合性免疫 glob 例での自己抗体の検出率は59% (22例中13例) であり Crofton の成績よりも少し高頻度であった。さらに、CK 結合性免疫 glob 例でも LD 結合性免疫 glob 例でも自己抗体を保有する率は、AP 結合性免疫 glob 例よりも高率であった今回の成績から、自己抗体との高い関連性は、全ての酵素結合性免疫 glob について同様の現象であることが判明した。

さらに、自己抗体と酵素結合性免疫 glob の関連性を示唆する成績は、①自己免疫疾患との関連性が最も乏しいとされていたアミラーゼ結合性免疫 glob 例でも、自己免疫疾患でない患者と健康者群の約半数例に、何らかの自己抗体を検出したこと、②酵素結合性免疫 glob を有する健康者群でも30%の例に自己抗体を検出したこと、③自己免疫疾患と考えられる UC 患者のうち CK 結合性免疫 glob 例では RA, AP 結合性免疫 glob 例では AMA, そして LD 結合性免疫 glob 例で

はANAの検出率が、UC(一)例に比べて有意に高率であったこと($P<0.05$)である。しかし、UC患者に高率に出現する3種の酵素結合性免疫globと関連あった自己抗体がそれぞれ異なったことに意味があるか否かは、全く不明であった。

今回、UC患者に限って酵素結合性免疫glob陰性対照例の検索を行ったが、今後、他の疾患について酵素結合性免疫globと自己抗体の関連性の検討と今回検索した8種以外の自己抗体と酵素結合性免疫globの関連性の追求は、酵素結合性免疫globと自己抗体の関連性をより明らかにするために有用と考えられる。

要 旨

酵素結合性免疫glob(E-Igs)と流血性自己抗体の関連性を知ることが目的とした。

E-Igs陽性潰瘍性大腸炎(UC)22例・E-Igs陽性非自己免疫疾患75例・E-Igs陽性健常者10例とE-Igs陰性UC28例を対象に8種の自己抗体(RA, LE, ANA, DNA, ATG, AMC, AMA, ASMA)を検索した。一つでも自己抗体の検出された率はE-Igs陽性UC例が68%, 非自己免疫疾患例の60%, 健常者が30%, E-Igs陰性UC例が46%であった。E-Igs別の自己抗体検出率は、CK-Igs例が67%, Amylase-Igs例が48%, AP-Igs例が59%, LD-Igs例が66%であった。E-Igs陰性UC例との比較からCK-Igs陽性UC例の

RA, AP-Igs陽性UC例のAMA, LD-Igs陽性UC例のANAの検出率は有意に高率であった。($P<0.05$)

今回の成績から潰瘍性大腸炎患者においてはE-Igsと自己抗体の関連性が示唆された。

本論文の要旨は、第35回電気泳動学会において発表した。

文 献

- 1) Levitt, M.D. and Cooperhand, S.R.: New Engl. J. Med., **278**: 474, 1968.
- 2) 戸沢辰雄他: 最新医学, **38**: 1533, 1983.
- 3) 林 景子他: 生物物理化学, **28**: 142, 1984.
- 4) Crofton, P.M. et al.: Clin. Clim. Acta, **111**, 275, 1981.
- 5) 戸沢辰雄他: 生物物理化学, **26**: 243, 1982.
- 6) 戸沢辰雄, 佐藤仁美: 生物物理化学, **27**: 189, 1983.
- 7) 戸沢辰雄, 柴田 宏: 生物物理化学, **27**: 195, 1983.
- 8) 林 景子他: 生物物理化学, **27**: 58, 1983.
- 9) Shibata, H. et al.: Electrophoresis 83, (Ed. H. Hirai) Berlin: Walter de Gruyter Co. p. 409, 1984.
- 10) 林 景子他: 生物物理化学, **28**: 142, 1984.
- 11) 戸沢辰雄: 臨床病理, 特集**60号**(増刊), 98, 1984.
- 12) 屋形 稔, 杉田 収: 生物物理化学, **26**: 411, 1982.
- 13) 長嶺光隆: 生物物理化学, **26**: 415, 1982.