〔報 告〕

IgG, IgA, IgM, いずれとも結合した
LDH アノマリーの解析

和田典子*・宮本元昭*・須藤加代子**・安藤泰彦***

はじめに

LDH 結合性免疫グロブリンの報告は、多数されているが¹⁾、結合している免疫グロブリンは、IgG 結合型^{2,3)} IgA 結合型⁴⁻⁶⁾ のように単独であることが多く、IgM 結合型の報告はまれである⁷⁾。また、複数の免疫グロブリンと結合している場合も、IgG+IgA 型をとるものが多い。L鎖のタイプに関しても、 κ 型か λ 型のどちらか1種と結合する例がほとんどである⁸⁾。われわれは、LDH に結合している免疫グロブリンが、IgG, IgA, IgM, κ , λ 型であるという症例に遭遇した。このような例は、戸沢⁹⁾ のマスキングにおいても、非常にまれな症例と思われるので、これを報告する。

症 例

50 歳、女性、1976 年頃、多飲・多尿が出現し血液検査を施行したところ、300 mg/dl 台の高血糖を指摘され、近医にて糖尿病として治療を受けた。経口剤（オイグルコン 5mg）で暫く通院を続けたが、糖尿病のコントロールが不良となり、1987 年インスリン使用目的にて当院を受診し、同目的にて入院となった。現在は、外来にてインスリン治療を行い、1 カ月に 1 度の通院を続けている。既往歴では、34 歳時に慢性関節リウマチと診断され、約 1 カ月の服薬にて自覚症状（両手指の腫脹・疼痛）は消失したが、1987 年 4 月より再び症状が出現し、再度服薬を開始した。その後自覚症状は 1991 年 9 月より消えている。

LDH 活性が、最も高値であった 1991 年 3 月の患者臨床検査値を、Table 1 に示した。

実験方法

LDH 活性値は日立 736-60 型分析機を用い、専用試薬 LDH-HR (和光純薬(株)) にて Wróblewski-La Due 法に基づいて測定した。IgG, IgA, IgM は、Behring Nephelometer-Analyzer を用い、比濁法によって測定した。LDH アイソザイムの分析は、支持体にセルロゲル (Chemetron 社) を用い、活性染色は、イアトロセット iso-LDH (ヤトロン社) を用いた。LDH 結合性免疫グロブリンの型の同定には、タイタン III (Helena Laboratories) を支持体とした免疫固定法を行った。患者免疫グロブリンの分離は、まず血清を 50 mmol/l のグリシン塩酸緩衝液 (pH 3.4) に 3 時間透析させ、結合している LDH を免疫グロブリンから分離した。次いで Sephadex G 200 (ファルマシア社) カラム (カラム径 2.5×90 cm) にてゲル濾過分離をした。分離後、1 mol/l のトリス塩酸緩衝液 (pH 7.2) で分離溶液を中和し、各フラクションの IgG, IgA, IgM 濃度を測定後、1 ml ずつ凍結乾燥して冷蔵保存した。カラム分離した各フラクションは、IgG, IgA, IgM の各免疫グロブリンのきわめて豊富な分画であるが、わずかに、その他の免疫グロブリンが混入していた。したがって、単一の免疫グロブリンにするために、抗血清 (Dako 社) を用い、他の免疫グロブリンを吸収した。再結合試験は、このように分画した患者の IgG, IgA, IgM に、LDH 1, 2, 3 およ

Analysis of LDH anomaly linked to IgG, IgA and IgM.

* Noriko Wada, Motoaki Miyamoto; 東海大学医学部附属病院中央臨床検査部生化学

** Kayoko Sudo; 東京慈恵会医科大学第 3 病院臨床検査医学教室

*** Yasuhiko Ando; 東海大学医学部臨床病理学教室

Correspondence address: Noriko Wada, Department of Clinical Biochemistry, Tokai University School of Medicine, The Hospital, Bohseidai, Isehara 259-11, Japan.

(受付 1993 年 8 月 4 日, 受理 1993 年 11 月 1 日)

Table 1. Clinical data (March, 1991).

ITEMS	NORMAL RANGE	UNIT	OBSERVED VALUES	ITEMS	NORMAL RANGE	UNIT	OBSERVED VALUES
Biochemical test				Blood test			
Glucose	70-110	mg/dl	108	WBC	4 - 8	$\times 10^3/\mu\text{l}$	5.8
Urea-N	8.7-20.6	mg/dl	9.8	RBC	3.8-4.8	$\times 10^6/\mu\text{l}$	4.53
Creatinine	0.5-0.8	mg/dl	0.5	HGB	12-16	g/dl	12.1
Uric-Acid	3.5-5.1	mg/dl	3.7	HCT	34-42	%	37.3
Total protein	6.5-8.0	g/dl	7.4	PLT	14-40	$\times 10^4/\mu\text{l}$	32.4
Albumin	4.1-5.0	g/dl	3.4	Urinalysis test			
Cholinesterase	3500-7200	U/l	3300	protein	(-)		(-)
AST	10-25	U/l	10	Glucose	(-)		(-)
ALT	5-22	U/l	5	Ketone	(-)		(-)
LDH	221-412	U/l	1680	Serological test			
ALP	73-189	U/l	145	IgG	1110-1820	mg/dl	3530
γ -GTP	6-27	U/l	6	IgA	140-350	mg/dl	562
T.Cholesterol	140-219	mg/dl	131	IgM	50-180	mg/dl	357
Triglyceride	50-149	mg/dl	78	RF	≤ 20	IU/ml	69
Fe	50-116	$\mu\text{g/dl}$	27	ANA	(-)		(2+) Diffuse
TIBC	211-390	$\mu\text{g/dl}$	192	n-DNA	(-)		(+) 1:40
UIBC	161-274	$\mu\text{g/dl}$	165	Insurin Ab	≤ 12	%	6
HbA _{1c}	5.2-6.7	%	9.0				

び5型のアイソザイム血清 (Sigma 社) をおのおの添加し、実験を行った。NADH の添加解離試験は、分離した患者 IgG と NADH を等量混和したものに、LDH 1, 2, 3 型をそれぞれ 1:1 の割合で加え、3時間室温で反応させた後に電気泳動した。このとき、NADH の最終濃度は、20 mmol/l になるように調整した。

実験結果

1. 患者 LDH アイソザイム

患者血清 LDH アイソザイムは、1, 2, 3 型の分画が認められず、4~5型の位置に長いテーリングが染色された。デンストメトリーの波形は、一峰性であり各分画が区別できなかった (Fig. 1)。赤血球アイソザイムパターンは、正常人と同様なパターンであった。正常血清と患者血清の等量混合試験は、アイソザイム分画は一峰性を示し、LDH 活性の失活はなかった。

2. LDH 結合性免疫グロブリンの型

免疫固定法によりH鎖は、IgG, IgA, IgM, L鎖は κ , λ と結合していた。

3. 分離免疫グロブリンの再結合試験

① IgG の結合状態: LDH 1, 2, 3 型とも陰極側へ長いテーリングが起き、5型は4型のほうへテーリングが起きた (Fig. 2-(a))。

(a)

NS
PS

(b)

(+)

(-)

Fig. 1. LDH isozyme in serum.

(a) NS, Electrophoresis of a normal serum. PS, Electrophoresis of the patient serum. (b) Densitometric tracings of LDH isozyme pattern of the patient serum.

② IgA の結合状態: LDH 1型は正常アイソザイム分画の1~2型の間に、2型は2~3型の間に、3型は3~4型の間にテーリングが起きた (Fig. 2-(b))。

③ IgM の結合状態: LDH 3型は正常アイソザイム分画の3~4型の間にテーリングが起きた。1型、2型の結合は若干、もしくはないように思われた (Fig. 2-

Fig. 2. LDH isozyme zymograms after reaction of isolated from the patient serum, IgG (a), IgA (b) or IgM (c), and pure LDH isozyme 1, 2, 3 or 5.

(a) isolated IgG, (b) isolated IgA, (c) isolated IgM. NS: normal serum. LDH₁: (H₄) isoenzyme (Sigma), LDH₂: (H₃M) isoenzyme (Sigma), LDH₃: (H₂M₂) isoenzyme (Sigma), LDH₅: (M₄) isoenzyme (Sigma). Each LDH isozyme was diluted by 4g/dl human albumin (Miles).

(c)).

4. NADH との添加解離試験

NADH の最終濃度が、20 mmol/l になるように混和された患者 IgG と、LDH 1, 2, 3 型の LDH アイソザイムパターンは、それぞれテーリングが抑制された。

考 察

LDH 結合性免疫グロブリンは、Ganrot¹⁰⁾ が 1967 年に LDH アイソザイム分画の異常として発見して以来、いままでに数多くの報告がなされている。本症例は、LDH 活性の異常高値のため LDH アイソザイムを検査し、異常泳動パターンが分画された。精査の結果 IgG, IgA, IgM, κ , λ 型いずれの免疫グロブリンとも結合が確認された。今回のように 3 種の免疫グロブリンと結合している例は、数多い報告のなかでも、過去に 3 件あるのみである⁸⁾。本症例は、これら免疫グロブリンとの結

合により、LDH 活性は変化せず、いわゆる失活因子ではなかった。これにより、酵素の基質結合部位と免疫グロブリンが直接結合しているとは考えられない。予備的実験ではあるが、還元アルキル化実験を行ったところ、これら免疫グロブリンの結合は、H鎖のほうがL鎖よりも強く反応していることが推定され、H鎖、L鎖とも単独で強く LDH との結合力をもった藤田らの報告¹¹⁾とは異なる可能性が考えられた。

自己免疫疾患においては、LDH 結合性免疫グロブリンの例は比較的多い。本症例も、50 歳の慢性関節リウマチおよび糖尿病患者であり、自己免疫との関与を示唆しているようにも思われる。今後さらに検索を続け明らかにしていきたい。

結 語

慢性関節リウマチと糖尿病の疾病をもつ患者の、LDH 活性が高値なため、アイソザイム検査をしたところ、異常アイソザイムパターンを示した。LDH は、IgG, IgA, IgM, κ , λ 型のすべてに結合している免疫グロブリンであることが確認された。分離した患者の免疫グロブリンは、正常ヒト LDH アイソザイムと再結合した。本例は結合により LDH 活性は失活せず、また NADH 添加により結合は阻害された。

本報告において、患者検体を提供していただいた、当院内科学教室、谷亀光則講師に感謝いたします。

文 献

- 1) 長嶺光隆. LDH 結合性免疫グロブリン. 生物物理化学 1982; 26: 415-22.
- 2) Sudo K, Maekawa M, Watanabe H, Matsumoto K, Mori Y, Sasaki T, Kanno T. A case of immunoglobulin G conjugated with lactate dehydrogenase, producing both loss of enzyme activity and an abnormal isoenzyme pattern. Clin Chem 1986; 32: 1420-2.
- 3) Gorus F, Aelbrecht W, Camp B. Circulating IgG-LD complex, dissociable by addition of NAD⁺. Clin Chem 1982; 28: 236-9.
- 4) Weijers RNM, Mulder J, Kruijswijk H. Partial characterization, properties, and clinical significance of a lactate dehydrogenase-immunoglobulin A κ complex in serum. Clin Chem 1983; 29: 272-8.
- 5) Biewenga J, Feltkamp TEW. LDH-IgA immunoglobulin complexes in human serum. Clin Chim Acta 1975; 58: 239-49.
- 6) Biewenga J, Loghem E. Antigenic analysis of

- the IgA component of LDH-IgA immunoglobulin complexes. Clin Chim Acta 1978; 82: 201-4.
- 7) Fujita K, Takeya C, Saito T, Sakurabayashi I. Macro lactate dehydrogenase: an LDH-immunoglobulin M complex that inhibits lactate dehydrogenase activity in a patient's serum. Clin Chim Acta 1984; 140: 183-95.
- 8) 菅野剛史. 酵素アノマリー. 臨床検査 1988; 32: 1201-5.
- 9) 戸沢辰雄. マスクリーニングからとらえた酵素結合性免疫グロブリンの臨床的研究. 生物物理化学 1986; 30: 379-85.
- 10) Ganrot PO. Lupoid cirrhosis with serum lactic acid dehydrogenase linked to a γ A immunoglobulin. Experientia 1967; 23: 593.
- 11) Fujita K, Sakurabayashi I, Kusanagi M, Kawai T. A lactate dehydrogenase-immunoglobulin G₁ complex, not blocked by anti-idiotypic antibody in a patient with IgG₁- λ type M-proteinemia. Clin Chem 1987; 33: 1478-83.