

## 間接蛍光抗体法による抗平滑筋抗体、抗ミトコンドリア抗体の検索

山田, 巖  
九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科

澤江, 義郎  
九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科

<https://doi.org/10.15017/165>

---

出版情報：九州大学医療技術短期大学部紀要. 14, pp.23-28, 1987-02-28. 九州大学医療技術短期大学部  
バージョン：  
権利関係：

# 間接蛍光抗体法による抗平滑筋抗体、 抗ミトコンドリア抗体の検索

山田 巖\* 澤江 義郎\*

Detection of Anti-Smooth Muscle Antibody and  
Anti-Mitochondrial Antibody by Indirect Immuno-  
fluorescence Method

Iwao Yamada and Yoshiro Sawae

## まえがき

近年、多くの疾患で自己抗体の存在が指摘され、その臨床的意義づけもそれぞれの自己抗体について次第に確立されてきている。

肝疾患における自己抗体としては、抗平滑筋抗体 (ASMA) と抗ミトコンドリア抗体 (AMA) の存在が知られており、すでに鑑別診断や予後の判定などに利用されはじめている<sup>8)10)</sup>。

検出方法としては間接蛍光抗体法、補体結合反応、二重免疫拡散法などが知られているが、今回、著者らは間接蛍光抗体法を用いて、ASMA と AMA の検出を試み、肝疾患における臨床的意義について検討したので報告する。

## 実験対象

実験に供した患者血清は 52 例の 81 検体であった。これらの症例は治療継続中の肝疾患が 26 例 (55 検体) で、急性肝炎 4 例 (9 検体)、慢性肝炎 17 例 (36 検体)、肝硬変症 5 例 (10 検体) であった。なお、肝炎の活動性、非活動性の判定は生検と肝機能検査成績の推移により行ったが、一部の症例については肝機能検査成績のみにより行った。B 型と非 B 型の判定は HB 抗原、抗体の血清学的検査により、急性肝炎に

については A 型肝炎ウイルスに対する抗体検査を行い判定した。肝疾患以外のは 26 例 (26 検体) で、全身性エリテマトーデス (SLE) 6 例 (6 検体)、慢性関節リウマチ 3 例 (3 検体)、呼吸器系疾患 2 例 (2 検体) であった。そのほかに健常人コントロールとして、本学の学生より得た 15 例 (15 検体) の血清を用いた。

## 実験方法

ASMA, AMA の検査: Bio Dx 社の SMA テストと MA テスト試薬を用いた。すなわち、基質として SMA テストではラット胃組織切片を、MA テストではラット腎組織切片を用いた間接蛍光抗体法により ASMA および AMA を定量的に測定した。被検血清の 10 倍希釈液でスクリーニングを行ったのち、陽性を示したものについては倍数希釈列をつくり抗体価を測定した。

抗核抗体 (ANF) の検査: KW 社の LE 蛍光スライドキットを用い、被検血清の 10 倍希釈液でスクリーニングを行い、陽性のものについては倍数希釈列をつくり抗体価を測定した。

血中免疫複合体 (IC) の検査: Digeon ら<sup>3)</sup> の比色法に準じた。すなわち、被検血清に分子量 6,000 のポリエチレングリコール溶液を加え、沈殿したタンパクを 0.1 N の NaOH 5 ml に溶解

\*九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科

し，280 nm の吸光度を測定した。なお，健康人15例の平均値は0.02で，2標準偏差値を加えた0.03以下を正常値として評価した。

血清トランスアミナーゼ値の測定：Reitman—Frankel法<sup>14)</sup>に基づき，日本消化器病学会肝機能研究班が定めた標準操作法<sup>12)</sup>によるS.TA—Test（和光純薬）試薬を用いて，GOT,GPTの酵素活性を測定した。

成 績

1) ASMA 価と AMA 価の分布

図1に示すように，ASMAが10倍希釈血清で陽性のものは52例中15例(28.8%)で，すべて肝疾患であり，肝疾患26例中の57.7%に認められた。この15例中の8例(53.3%)では40倍以上の抗体価を示した。また，同一症例から得られた2ないし3検体ではほぼ同一の抗体価を示し，経過中に陰性化したものは認められなかった。

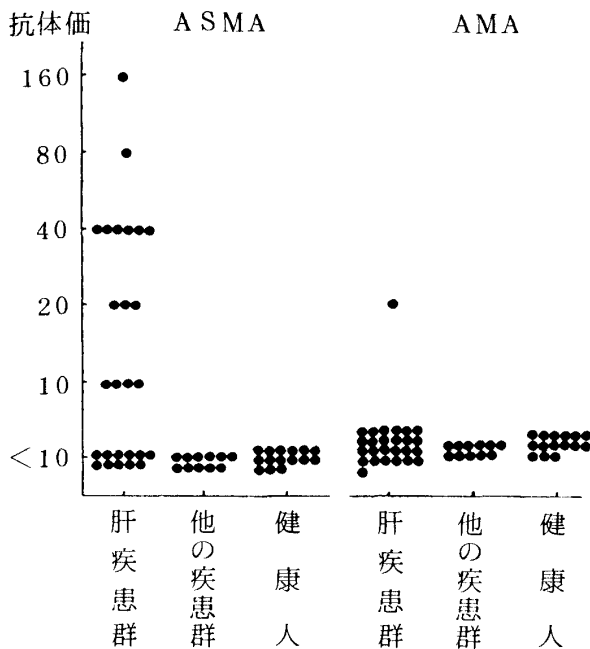


図1 ASMA 価と AMA 価の分布

一方，AMAは52例中肝疾患の1例(1.9%)に検出され，しかも肝疾患26例の55検体中の1検体(1.8%)にのみ認められた。

肝疾患以外の11例および健康人の15例では，ASMA,AMAはいずれも陰性であった。

2) 疾患別 ASMA と AMA の陽性率

表1に示したように，ASMAは急性肝炎の4例ではB型と非A非B型それぞれ1例ずつ陽性で，陽性率は50%であった。慢性肝炎では17例中11例(64.7%)が陽性で，とくにB型と非B型の活動性肝炎で100%の陽性率であった。また，非活動性肝炎ではB型66.7%，非B型50%で，両者を合わせたものでは57.1%で，肝硬変症ではB型50%，非B型33.3%で，両者の平均では40%のものが陽性であった。

表1 疾患別 ASMA と AMA の陽性率

疾 患	例 数	陽 性 率 (%)		
		ASMA	AMA	
急性肝炎	B型	50.0	0	
	非A非B型	50.0	0	
慢性肝炎	活動性	B型	100	50.0
		非活動性	66.7	0
	非B型	活動性	100	0
		非活動性	50.0	0
肝硬変症	B型	50.0	0	
	非B型	33.3	0	
その他の疾患群	11	0	0	
健 康 人	15	0	0	

一方，AMAは慢性肝炎17例中の1例(5.9%)のみ検出された。この陽性例は慢性活動性肝炎3例のうちのB型の1例であった。

3) 肝疾患患者の ASMA 価，AMA 価と ANF 価，IC 値，血清トランスアミナーゼ値

個々の肝疾患患者19例のASMA価，AMA価とANF価，IC値，血清トランスアミナーゼ値を表2に示した。

ANFはASMA陽性の14例中4例(28.6%)に認められ，それらは慢性活動性肝炎の3例すべてと，非活動性慢性肝炎の1例であった。しかし，その抗体価は10倍ないし20倍と低値であった。一方，ASMA陰性の肝疾患の中には，

表2 肝疾患患者の ASMA 価, AMA 価と ANF 価, IC 値, 血清トランスアミナーゼ値

患者	疾患名	ASMA 価	AMA 価	ANF 価	I C	トランスアミナーゼ*	
						GOT	GPT
a △	急性肝炎	40	< 10	< 10	0.04	42	18
b △	慢性肝炎	20	< 10	< 10	0.04	160	110
c △	慢性肝炎	10	< 10	< 10	0.04	178	250
d △	慢性肝炎	20	< 10	< 10	0.04	32	10
e	慢性肝炎	< 10	< 10	< 10	0.04	24	7
f △	慢性肝炎	40	< 10	< 10	0.04	26	12
Ⓞ	慢性肝炎	80	< 10	10	0.06	38	20
h △	慢性肝炎	40	< 10	< 10	0.03	21	10
i	慢性肝炎	20	< 10	10	0.05	63	55
j	慢性肝炎	10	< 10	< 10	0.03	68	55
k	慢性肝炎	< 10	< 10	< 10	0.03	28	37
l △	慢性肝炎	< 10	< 10	< 10	0.05	32	23
m	慢性肝炎	10	< 10	< 10	0.04	80	55
n	慢性肝炎	< 10	< 10	< 10	0.02	26	22
o	慢性肝炎	< 10	< 10	< 10	0.02	26	28
Ⓟ△	慢性肝炎	40	< 10	10	0.05	42	25
Ⓠ△	慢性肝炎	160	20	20	0.06	240	180
r	肝硬変症	40	< 10	< 10	0.03	73	43
s	肝硬変症	40	< 10	< 10	0.03	50	35

○印の症例は活動性肝炎 △印の症例はB型肝炎 \*Kermen 単位

ANF 陽性のものは認められなかった。また、

AMA 陽性の 1 例は ANF 陽性であった。

IC は測定値が 0.02 から 0.06 の間に分布しており、健常人測定値より求めた正常値の 0.03 より高値であったものは、19 例中 12 例 (63.2%) と高率に認められた。とくに ASMA, ANF 陽性の慢性活動性肝炎例では 0.05 以上の高値であった。一方、IC 値が 0.03 以下のものは 19 例中 2 例 (10.5%) にすぎず、ASMA, AMA のいずれも陰性であった。

血清トランスアミナーゼ値については、ASMA 陽性の 14 例中 8 例 (57.1%) が GOT40 単位、GPT35 単位以上の高値で、2 例 (14.3%) が GOT のみ高値となっていた。一方、ASMA 陰性の 5 例では慢性肝炎の 1 例の GPT が正常値よりもわずかに高い 37 単位であった。

### 考 察

肝疾患の自己抗体としては ASMA, AMA の存在が知られているが、いずれも種属、臓器特異性のない自己抗体といわれている。

ASMA は 1965 年に Johnson ら<sup>5)</sup> によりはじめて報告された平滑筋に対する自己抗体である。彼らによればルポイド肝炎で高率に出現し、SLE では陰性であるため、両者の鑑別診断に有効であるとしている。さらに最近では慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変症などでも検出されることから、それらの診断にも利用されている。

一方、AMA は 1958 年 Mackey<sup>7)</sup> がはじめて報告したミトコンドリアに対する自己抗体で、1965 年に Walker ら<sup>18)</sup>、1966 年に Doniach ら<sup>4)</sup> により原発性胆汁性肝硬変症で高率に出現す

ることが明らかにされ，比較的疾患特異性の高い自己抗体と考えられた。しかし，その後慢性活動性肝炎をはじめ他の疾患でも認められることが報告され<sup>2) 6)</sup>，抗体の多様性が示唆されてきた。

今回，著者らは ASMA と AMA の検出に間接蛍光抗体法を応用して検討したが，これまでの ANF 検出の経験から技術的には比較的容易であるといえた。それでも蛍光観察による判定の際に ANF 検出の場合よりも，より一層観察の熟達と慎重が要求された。すなわち，ASMA の場合，基質に用いたラット胃粘膜において筋層以外のガストリック層や周囲の血管，毛細管，細胞の核，結合組織などにも非特異的な蛍光が認められた。また，AMA の場合，ラット腎上皮の近位尿細管，遠位尿細管の細胞質が顆粒状に染色されるものが陽性であるが，核や平滑筋あるいは近位尿細管の管腔などに蛍光が観察されることがあり，判定の際，これらの点に十分な注意をはらう必要がある。

今回のわれわれの成績では ASMA は肝疾患の症例のみに陽性で，慢性肝炎の 64.7% に検出され，とくに活動性のものには 100% に認められた。ここでいう活動性か非活動性かという点については，活動性のものに ASMA が 100% 陽性であったことは非常に興味深い。同時に非活動性と診断されていたものにも 50% から 66.7% に陽性であったことは，一部の症例で臨床的経過により判定されたものであり，活動性である可能性が多分にあると思われる。何故ならば，ASMA 陽性例では非活動性とみられながら，GOT，GPT の高値のものが多くなっている。このことは肝硬変症についてもいえ，終末像になってもなお 40% 近いものには病像が活動性，進行性のものかも知れない。慢性活動性肝炎について Doniach ら<sup>4)</sup> は 58%，Andersen ら<sup>1)</sup> は 67% の陽性率であったと述べており，われわれの肝疾患全体での陽性率とほぼ同率であり，われわれの症例の活動性の判定が問題となるのかも知れない。また，急性肝炎でも半数のものに ASMA が認められており，急性期にも慢性

肝炎の悪化といった慢性肝炎と同様の発症機序の考えられるものがあるのかも知れない。しかし，このことは ASMA が慢性肝炎の活動性を示唆するものではあるが，すべてがそうとはいえないのかも知れない。それにはさらに数多くの症例での精細な検討が必要であろう。中田ら<sup>11)</sup> は急性肝炎で 62.7% の陽性率であったと報告している。同時に慢性肝炎では 28.6%，肝硬変症では 37.5% であったと述べている。いずれにしても，ASMA は慢性活動性肝炎の血清学的診断の一つの情報を提供するものと考えられる。

一方，AMA は本来原発性胆汁性肝硬変症で特異的に認められる抗体とされており，著者らの成績では慢性活動性肝炎の 3 例中 1 例に認められたにすぎなかった。そこで，ASMA とは明らかに抗体発生の機序が異なるものと考えられる。Berg ら<sup>2)</sup> は 26% に，宮地ら<sup>9)</sup> は 12.5% に慢性活動性肝炎で AMA が認められたと報告しているが，それほど陽性率に認められておらず，原発性胆汁性肝硬変症の診断にのみ有用な検査法であるかも知れない。それにしても陽性の場合には活動性のものといえるだろう。

つぎに，ASMA および AMA の測定に ANF の存在が影響するのかどうかをみるために，ANF 価 320 倍以上の SLE 患者血清 6 例を用いて，ASMA および AMA の測定を試みたが，いずれも 10 倍以下であった。このことから ANF の存在は同じ方法を用いての検査である ASMA および AMA 測定に何の影響も与えないものといえる。肝疾患における ANF の存在については，その臨床的意義づけは渡辺ら<sup>19)</sup> も述べているように明確でないが興味あるところで，われわれの例では明らかに IC 値の高いものに認められており，肝疾患の慢性化に何らかの働きをしているのかも知れない。

IC はこれまでとくに SLE と関連づけて考えられていたが，Shalman ら<sup>15)</sup> の報告以来，Nydegger ら<sup>13)</sup>，Thomas ら<sup>17)</sup> により肝疾患における IC の存在が報告された。著者らの成績でも肝疾患の 63.2% のものに異常値が認められており，手嶋ら<sup>16)</sup> はさらに高い 87.5% であったと述

べている。

以上のことから、肝疾患の中に自己抗体とくに ASMA が高頻度に存在することが示唆され、慢性活動性肝炎でとくに著明であった。したがって、肝疾患における ASMA, AMA 測定は、肝疾患の活動性の判定に参考となると考えられる。

## 結 語

間接蛍光抗体法により、ASMA および AMA の検出を試み、つぎのような成績を得た。

1) ASMA は肝疾患の 26 例中 15 例 (57.7%) に認められ、とくに慢性活動性肝炎では 100% の陽性率であった。肝疾患以外の 26 例ではいずれも陰性であった。

2) AMA は肝疾患および肝疾患以外の 52 例中 1 例 (1.9%) にのみ検出され、それは慢性活動性肝炎 3 例のうちの 1 例であった。

3) ASMA 陽性の肝疾患では IC 値、血清トランスアミナーゼ値に明らかな異常値を示すものが多かった。

## 文 献

- 1) Andersen, P.: Incidence and titer of smooth muscle antibodies in human sera. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 87:11~16, 1979
- 2) Berg, P. A., Doniach, D. and Roitt, I. M.: Immunologische Phänomene bei Leberkrankheiten, Die Bedeutung Mitochondrialer Antikörper. *Klin. Wschr.* 47:1297~1307, 1969
- 3) Digeon, M., Laver, M., Riza, J. and Bach, J. F.: Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assay with polyethylene glycol. *J. Immunol. Method.* 16:165~183, 1977
- 4) Doniach, O., Roitt, I. M. and Walker, J. G.: Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver disease and their clinical implications. *Clin. Exp. Immunol.* 1:237~262, 1966
- 5) Johnson, G. D., Holborow, E. J. and Glynn, L. E.: Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. *Lancet II*: 878~879, 1965
- 6) Klatsukin, G. and Kantor, F.: Mitochondrial antibody in primary biliary cirrhosis and other liver disease. *Ann. Intern. Med.* 77:533~541, 1972
- 7) Mackey, I. R.: Primary biliary cirrhosis showing a highly titer of autoantibody. *New Engl. J. Med.* 258:185~188, 1958
- 8) 前野芳正, 鈴木悦子, 宮地清光, 鳥飼勝隆: 抗ミトコンドリア抗体. *Medical Technology* 9:250~252, 1981
- 9) 宮地清光, 鳥飼勝隆, 梅田博道, 鈴木悦子, 本間光夫: 原発性胆汁性肝硬変症 (PBC) におけるミトコンドリア抗体の検討. *臨床免疫* 12:780~790, 1980
- 10) 長島秀夫, 小出典男, 小川 晃: 抗ミトコンドリア抗体, 抗平滑筋抗体. *Medical Technology* 13:1106~1107, 1985
- 11) 中田幸子, 栗原とも子: MBL 社の抗ミトコンドリア抗体, 抗平滑筋抗体検出用試薬 (AID-1 Test) の使用経験と臨床的意義. *衛生検査*: 33:679~683, 1984
- 12) 日本消化器病学会肝機能斑: 肝機能検査標準操作法. *日消誌* 61:621~631, 1964
- 13) Nydegger, V. E., Lambert, P. H., Gerber, H. and Miesher, P. H.: Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus and in carrier of hepatitis B antigen, Quantitation by binding to radiolabelled Clq. *J. Clin. Invest.* 54:297~309, 1974
- 14) Reitman, S. and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic

- pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Path.* 28: 56~63, 1957
- 15) Shulman, N. R. and Barker, L. F.:  
Virus-like antigen antibody and antigen-antibody complexes in hepatitis measured by complement fixation. *Science.* 165: 304~306, 1969
- 16) 手嶋秀毅, 吾郷晋浩, 友岡裕治, 宮崎澄雄, 平良雅裕, 重松信昭, 鳥巢要道: ポリエチレングリコール沈殿物補体消費試験(PEG-CC)による Circulating Immune Complex (CIC) の定量と臨床応用. *アレルギー* 30: 59~67, 1981
- 17) Thomas, H. C., Devilliers, D., Potter, B., Hodgson, H. and Jain, S.: Immune complexes in acute and chronic liver disease. *Clin. Exp. Immunol.* 31: 150~157, 1978
- 18) Walker, J. G., Doniach, O. and Roitt, I. M.: Serological test in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet I:* 827~830, 1965
- 19) 渡辺 進, 森藤隆夫, 武田尚寿, 村井隆夫, 吉田 浩, 粕川礼司: 各種肝疾患患者血清中の自己抗体について. *臨床免疫* 10: 1054~1058, 1978