

原発性胆汁性肝硬変における自己抗体および抗ミトコンドリア 抗体サブタイプのプロファイルと病態との関連

小池和彦 高橋宏樹 天野克之
長田正久 銭谷幹男

東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科

(受付 平成 15 年 10 月 14 日)

CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANTIMITOCHONDRIAL ANTIBODY SUBTYPE PROFILE AND AUTOANTIBODY PROFILE IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Kazuhiko KOIKE, Hiroki TAKAHASHI, Katsuyuki AMANO,
Masahisa OSADA, and Mikiyo ZENIYA

*Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine*

Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic liver disease that causes immune-mediated destruction of hepatic bile ducts. A hallmark of PBC is the presence of antimitochondrial antibodies (AMAs). Each of the 9 AMA subtypes (M1 to M9) is related to distinct clinical entities in white patients. However, whether such a relation exists in Japanese patients is unclear. Therefore, we investigated the clinical significance of AMA subtypes and that of other autoantibodies, such as antinuclear antibody (ANA) and anti-smooth muscle antibody (ASMA), in 127 Japanese patients with PBC. The positive rate for AMA with the newly developed Euroassay was 84.3% and was higher than that with the conventional immunofluorescence method. The positive rates for M2, M4, and M9 were 82.7%, 37.0%, and 14.2%, respectively. Disease activity was more severe in M2-positive patients than in M2-negative patients. M4-positive patients did not have the distinctive clinical feature. The M9-positive rate was higher in symptomatic patients. The AMA subtype profile changed during ursodeoxycholic acid therapy in some patients, but no relation was found between sequential change in clinical features and AMA subtype profile. Disease activity was more mild in patients positive for ANA with a discrete speckled staining pattern than in patients with a speckled staining pattern or patients negative for ANA. Disease activity was more mild in ASMA-positive patients than in ASMA-negative patients. In conclusion, AMA subtype has less clinical significance in Japanese patients with PBC. Furthermore the presence of a discrete speckled staining pattern for ANA or ASMA and the absence of staining for AMA and ANA were associated with mild disease activity. In addition, Euroassay was much more sensitive than the conventional immunofluorescence method for detecting AMA.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2004 ; 119 : 51-62)

Key words : primary biliary cirrhosis, anti-mitochondrial antibody, antinuclear antibody, anti-smooth muscle antibody, anti-mitochondrial antibody subtype profile, autoantibody profile

I. 緒 言

原発性胆汁性肝硬変症 (primary biliary cirrhosis: PBC) は肝内小葉間胆管, 隔壁胆管の慢性非化膿性胆管炎 (chronic non-suppurative cholangitis: CNSDC) により病態が形成される, 中年女性に好発する自己免疫性肝疾患である。PBC では抗ミトコンドリア抗体 (anti-mitochondrial antibody: AMA) をはじめとする各種自己抗体が検出され, その病態形成には自己免疫機序が関与すると考えられている。とくに AMA は疾患特異性が高く診断に有用であり, PBC 発症への関与も示唆されている。

PBC は皮膚掻痒感, 黄疸, 門脈圧亢進症状などの自覚症状を伴い発症することが多く, 黄疸が1度出現すると消退すること無く増悪, 最終的には胆汁性肝硬変の像を呈する場合が多い。しかし近年では, 疾患概念の浸透や中年女性の健康診断受診率の向上により, 自覚症状が無いにもかかわらず血液検査でPBCと診断される無症候性PBC症例が増加している。これら無症候性PBC症例の中には, 診断後も長期にわたり自覚症状の出現を認めず無症候のまま経過する予後良好な症例も存在するが, 適切な治療を施したにもかかわらず胆汁性肝硬変まで進展する症例も存在する。こうした病態を予見することは臨床的に重要であるが, 残念ながら現時点ではPBC症例がどのような病態をとるか予測することは困難である。

これまでにPBCの病態, 臨床経過と自己抗体との関連についてさまざまな検討がなされてきた。疾患特異的自己抗体であるAMAに関しては, M1からM9までのサブタイプが存在し, このサブタイプと病態との関連が報告されている^{1)~4)}。抗核抗体(anti-nuclear antibody: ANA)に関しては, discrete speckled patternなどの特徴的な染色パターンを示すANA(多くの場合は抗セントロメア抗体 anti-centromere antibody: ACA)が出現する例は病初期で予後も良好な症例が多いと報告されている⁵⁾⁶⁾。しかし, これらの結果に相反する報告^{7)~9)}もみられ, 必ずしも一定の見解は得られていない。また, これらの検討は欧米人を対象に行われたもので, 遺伝的背景が異なる

日本人で同様の結果が得られるかは明らかでない。そこで本研究は日本人のPBC症例を対象に各種自己抗体, AMAサブタイプを測定し, 自己抗体プロファイル, AMAサブタイププロファイルとPBCの病態との関連について検討した。

II. 対象と方法

1. 対象

対象は当科にて臨床病理学的にPBCと診断した127例(男性12例, 女性115例, 平均年齢 50.2 ± 10.8 歳)である。

2. 方法

1) 自己抗体プロファイルの解析と病態との関連の検討

各症例の診断時の肝胆道系酵素値, 免疫グロブリン値, 各種自己抗体, 組織学進展度を測定, 自己抗体プロファイルと臨床検査値, 組織学進展度との関連を解析し, 自己抗体プロファイルとPBC病態との関連について検討した。さらに51例においては, 上記の各項目を診断から一定期間後(観察期間6-74カ月, 中央値28カ月)に再度測定し, 自己抗体プロファイルの経時的変化と病態変化との関連についても検討した。

肝胆道系酵素値はAST, ALT, ALP, γ -GTPを測定, 免疫グロブリン値はIgG, IgMを測定した。自己抗体はAMA, ANA, 抗平滑筋抗体(anti-smooth muscle antibody: ASMA)を測定した。AMA, ANA, ASMAはそれぞれラット腎臓細胞, Hep2細胞, ラット胃細胞を用いた間接蛍光抗体法(indirect immunofluorescence method: IF法)により測定した。組織学進展度の評価にはScheuer分類¹⁰⁾を用いた。

2) 抗ミトコンドリア抗体サブタイププロファイルの解析

AMAサブタイププロファイルの解析はEUR-OASSAYプロットキット(EUROIMMUN社)を用いておこなった。本キットはAMAサブタイプM2, M4, M9それぞれの対応抗原であるpyruvate dehydrogenase complex, sulfite oxidase, glycogen phosphorylaseのリコンビナント抗原をコートしたスライドを使用し, IgGおよびIgMクラスの抗体をブロッティングするものである。各抗原をコートしたスライドに50 μ lの患

者血清をそれぞれ分注し室温にて30分間反応させ、15分間洗浄後に50 μ lの抗ヒト血清IgGおよびIgMで処理、その後にalkaline phosphataseを各トレイに分注しスライドで覆い室温で30分間反応させた。さらに15分間洗浄後に50 μ lのsubstrate solutionで処理し、室温で30分間反応させた。最後に浄水で洗浄しスライドを数分間乾燥させ、青色のバンドが確認された検体を陽性として判定した。

3. 統計学的解析

検討した項目のデータはすべて平均値±標準偏差で示した。2群間の比較はt検定(Student's t-testあるいはWeich's t-test)を用い、 $p < 0.05$ をもって統計学的有意差ありと判定した。

III. 結 果

1. 対象症例の診断時の臨床的背景 (Table 1)

対象127例の診断時平均年齢は50.2±10.8歳で、約90%が女性であった。臨床検査値はトランスアミナーゼ値に比して胆道系酵素優位の肝機能障害を認め、IgM値の上昇を認めた。症候の有無による分類では、無症候性PBC (a-PBC) 症例が76例 (59.8%)、搔痒感を伴うPBC (s1-PBC) 症例が40例 (31.5%)、黄疸を伴うPBC (s2-PBC)

症例が11例 (8.7%)であった。Scheuer分類を用いた組織学進展度の検討では、Stage IからIII期が104例 (81.9%)、Stage IV期までの進展例が23例 (18.1%)であった。

2. 診断時の各種自己抗体の出現動態

AMAの陽性率はIF法を用いた検討では73.2% (93例)で、うち80倍以上の高力価例は66例、20から40倍の低力価例は27例であった。EUROASSAYプロットキットを用いた検討ではAMA陽性率は84.3% (107例)で、うちM2陽性

Table 1. Patient background

Age	50.2±10.8
Male : Female	12 : 115
AST	54.8±53.3 IU/l
ALT	55.9±72.5 IU/l
T. Bil	1.11±2.02 mg/dl
ALP	574.6±492.4 IU/l
γ -GTP	184.5±248.1 IU/l
IgG	1,718.6±508.4 mg/dl
IgM	386.9±330.1 mg/dl (mean±SD)
a-PBC : s1-PBC : s2-PBC	76 : 40 : 11
Scheuer Histological Classification	
I-III : IV	104 : 23

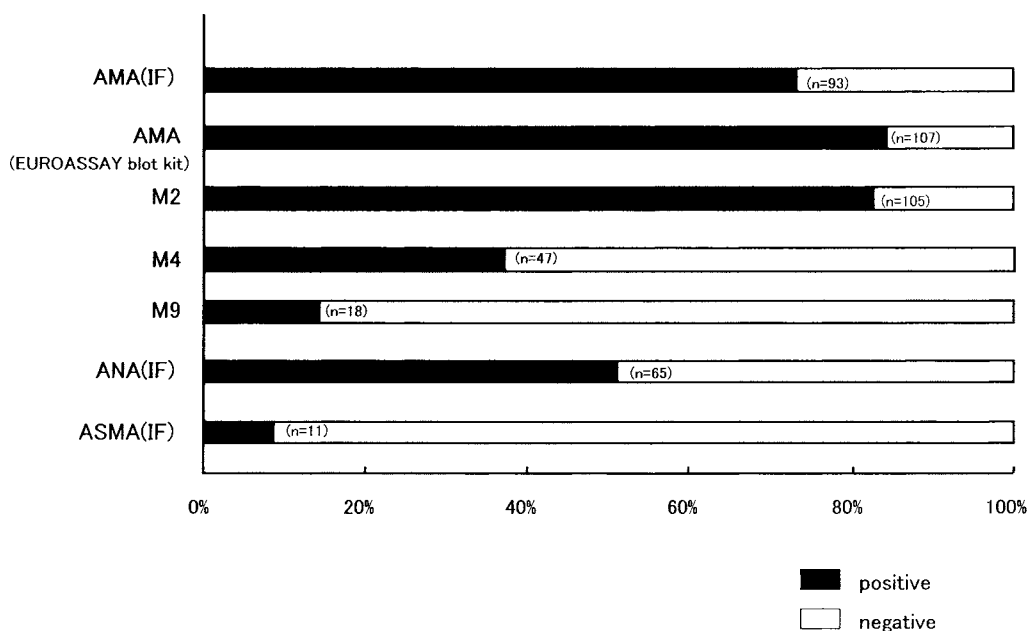


Fig. 1. Positive rate of autoantibodies

例は 105 例, M4 陽性例は 47 例, M9 陽性例は 18 例であった。

ANA の陽性率は 51.2% (65 例) で, 染色パターンは speckled pattern が 39 例, discrete speckled pattern が 26 例であった。ASMA の陽性率は 8.7% (11 例) であった (Fig. 1)。

IF 法 AMA, ANA, ASMA プロファイルは, AMA 単独陽性例が 52 例, ANA 単独陽性例が 22 例, ASMA 単独陽性例が 1 例, AMA+ANA 陽性例が 35 例, AMA+ASMA 陽性例が 2 例, ANA+ASMA 陽性例が 4 例, AMA+ANA+ASMA 陽性例が 4 例であった。また, 7 例は AMA, ANA, ASMA いずれも陰性であった (Fig. 2)。

EUROASSAY プロットキットを用いた AMA サブタイププロファイルは, M2 単独陽性例が 52 例, M4 単独陽性例が 1 例, M9 単独陽性例が 1 例, M2+M4 陽性例が 36 例, M2+M9 陽性例が 7 例, M2+M4+M9 陽性例が 10 例であった。また, 20 例は M2, M4, M9 いずれも陰性であった (Fig. 3)。

3. IF 法と EUROASSAY プロットキット間での AMA 陽性率の差異 (Table 2)

IF 法と EUROASSAY プロットキットを用いた AMA との両測定法間での AMA 陽性率を検討した。両測定でともに AMA 陽性例は 66.9% (85 例), 両法でともに陰性例は 9.5% (12 例), いずれかの測定法でのみ陽性例は 23.6% (30 例) であった。両法による測定結果の一致率は 76.4% (97 例) で, 両法を組み合わせることで 90.5% (115 例) の症例での AMA 陽性が確認された。

4. IF 法各種自己抗体と病態との関連

各種自己抗体それぞれの陽性, 陰性群間で臨床背景に差異があるか検討した。

IF 法による AMA 陽性群は陰性群に比して症候性 PBC 症例が占める割合が有意に多く, T. Bil 値が有意に高値であった。とくに AMA 力価が 80 倍以上の AMA 高力価陽性群では AMA 低力価および陰性群に比して T. Bil 値が有意に高値で, AMA 低力価群に比して組織学的に Stage IV 期の進展例が占める割合が有意に多かった (Table 3)。

ANA 陽性群と陰性群では各種臨床検査値に有

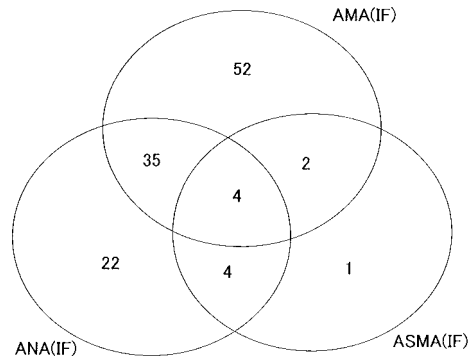


Fig. 2. Expression profile of autoantibodies

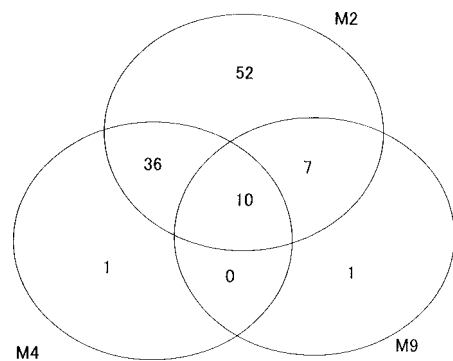


Fig. 3. AMA subtype profile assayed by EUROASSAY blot kit

Table 2. Positive rate of AMA assayed by EUROASSAY blot kit and IF method

		AMA (IF)	
		positive	negative
AMA (EUROASSAY blot kit)	positive	85	22
	negative	8	12

意差を認めなかった。しかし, ANA 陽性群を染色パターンにより speckled pattern 群, discrete speckled pattern 群に分け, ANA 陰性群との 3 群で群間比較すると, discrete speckled pattern 群では speckled pattern 群, ANA 陰性群に比して IgG 値, IgM 値が有意に低く, ANA 陰性群に比して T. Bil 値が有意に低かった (Table 4)。

ASMA 陽性群は陰性群に比して T. Bil, γ -GTP 値が有意に低値で, IgG 値は有意に高値であった (Table 5)。

Table 3. Relation between positivity of AMA, titer of AMA assayed by IF method and disease activity

AMA (IF)	AST	ALT	T. Bil	ALP	γ -GTP	IgG	IgM	itching	Stage IV
positive (n=93)	56.6±55.2	58.6±79.6	1.24±2.31	581.6±489.4	184.7±250.6	1,664.8±424.5	392.4±286.8	41*	18
80x≤ (n=66)	51.3±42.8	49.8±43.8	1.46±2.70	577.8±475.1	171.3±226.2	1,641.8±445.4	407.6±306.6	28	16*
20x≤ (n=27)	69.4±77.3	80.0±130.1	0.72±0.41	591.2±532.0	217.1±303.9	1,724.8±366.0	354.3±231.2	13	2
negative (n=34)	50.1±48.2	48.7±48.4	0.74±0.75	555.2±507.7	184.1±244.9	1,869.8±677.8	371.1±435.6	10	5

(mean±SD) *: p<0.05

Table 4. Relation between pattern of ANA and disease activity

ANA (IF)	AST	ALT	T. Bil	ALP	γ -GTP	IgG	IgM	itching	Stage IV
positive (n=65)	54.8±50.1	54.6±58.8	0.90±1.69	543.9±453.0	193.3±265.6	1,726.7±584.9	368.6±342.7	27	11
speckled pattern (n=39)	57.3±52.1	57.8±59.0	1.01±2.08	597.6±527.3	214.8±318.9	1,922.5±612.0	440.5±411.4	17	8
discrete speckled pattern (n=26)	51.1±47.6	49.8±59.3	0.74±0.82	463.3±302.5	161.1±155.5	1,436.9±401.4	259.2±147.2	10	3
negative (n=62)	54.9±56.9	57.3±85.0	1.31±2.32	606.7±532.5	175.2±229.8	1,710.2±419.8	406.1±318.2	24	12

(mean±SD) *: p<0.05

Table 5. Relation between positivity of ASMA and disease activity

ASMA (IF)	AST	ALT	T. Bil	ALP	γ -GTP	IgG	IgM	itching	Stage IV
positive (n=11)	60.1±63.2	66.5±86.7	0.53±0.14	417.5±291.3	87.1±69.5	2,078.7±621.0	301.4±149.1	3	1
negative (n=116)	54.3±52.6	54.9±71.4	1.16±2.10	589.5±505.7	193.9±257.0	1,682.9±484.8	395.2±342.0	48	22

(mean±SD) *: p<0.05

Table 6. Relation between positive of AMA assayed by EUROASSAY blot kit and disease activity

	AST	ALT	T. Bil	ALP	γ -GTP	IgG	IgM	itching	Stage IV
M2									
positive (n=105)	50.1±55.2 *	59.7±76.9 *	1.20±2.21 *	607.5±516.9 *	197.3±263.6 *	1,735.8±537.3	395.7±314.8	43	23 *
negative (n=22)	39.4±40.8	37.6±42.8	0.67±0.38	417.2±317.0	124.1±144.5	1,631.0±319.1	341.2±406.7	8	0
M4									
positive (n=47)	49.0±42.3	49.6±47.8	1.47±2.84	499.9±343.2	162.3±240.6	1,641.7±414.8	424.3±312.0	15	11
negative (n=80)	58.3±58.5	59.6±83.7	0.90±1.31	618.4±559.4	197.8±253.0	1,765.1±554.9	364.5±340.6	36	12
M9									
positive (n=18)	53.8±45.7	56.8±54.6	1.38±3.01	516.0±351.1	196.6±331.1	1,663.9±545.6	403.5±217.6	11 *	6
negative (n=109)	55.0±54.7	55.8±75.2	1.06±1.82	584.2±512.7	182.0±233.3	1,728.0±503.9	384.0±346.4	40	17
(mean±SD)									

* : $p < 0.05$

Table 7. Relation between AMA subtype profile and disease activity

	AST	ALT	T. Bil	ALP	γ -GTP	IgG	IgM	itching	Stage IV
M2+M4+M9 (n=10)	62.6±59.4	66.7±71.7	2.04±4.00	464.5±363.3	236.6±443.1	1,616.3±355.1	463.8±183.8	6	4 *
M2+M4 (n=36)	45.8±37.0	45.4±39.5	1.34±2.52	512.6±346.4	139.7±152.7	1,648.7±434.2	413.3±340.4	9 *	7 *
M2+M9 (n=7)	45.1±16.4 *	46.7±18.1	0.57±0.21	565.4±373.3	136.1±91.0 *	1,811.6±757.3	349.0±256.5	4	2
M2 (n=52)	67.4±66.3 *	70.1±98.7 *	1.03±1.59	706.4±634.2 *	238.7±292.4 *	1,813.3±599.1	376.0±327.6	24	10 *
M4 (n=1)	28	29	0.6	394	233	1,612	164	0	0
M9 (n=1)	27	29	0.5	685	273	1,107	182	1	0
all negative (n=20)	40.6±42.7	38.5±44.9	0.69±0.40	405.0±327.3	111.2±145.3	1,658.3±302.3	349.5±416.0	7	0
(mean±SD)									

* : $p < 0.05$

Table 8. Relation between expression profile of ANA, AMA and disease activity

	AST	ALT	T. Bil	ALP	γ -GTP	IgG	IgM	itching	Stage IV
AMA + ANA (n=39)	53.9±48.1 *	55.2±62.2 *	0.98±2.08	504.3±363.1	187.9±262.8	1,569.4±421.4 *	349.3±226.8	20	6 *
AMA (n=54)	58.5±60.2 *	61.0±90.5 *	1.43±2.46 *	637.5±560.0 *	182.4±243.8	1,731.4±417.8	423.2±321.6	21	12 *
ANA (n=26)	56.2±53.8 *	53.7±54.5 *	0.79±0.85 *	603.3±564.7	201.5±274.8	1,959.4±713.2	397.8±471.7	7	5 *
all negative (n=8)	30.3±5.6	32.6±7.2	0.59±0.23	398.8±199.3	127.4±90.8	1,549.4±431.1 *	275.9±277.2	3	0
(mean±SD)									

* : $p < 0.05$

5. AMA サブタイププロファイルによる病態の差異

EUROASSAY プロットキットでの M2 陽性群は陰性群に比して AST, ALT, T. Bil, ALP, γ -GTP 値が有意に高値であった。また、組織学的に Stage IV 期の進展例 23 例の全例が M2 陽性群で、逆に M2 陰性群で Stage IV 期の進展例は 1 例もいなかった。

M4 陽性群、陰性群間ではいずれの臨床検査値においても有意差は認めず、組織学進展度の差異は両群間で認めなかった。

M9 陽性群、陰性群間ではいずれの臨床検査値においても有意差は認めず、組織学進展度の差異は認めなかったが、M9 陽性群は陰性群に比して症候性 PBC 症例の占める割合が有意に多かった (Table 6)。

M2, M4, M9 の AMA サブタイププロファイルによる検討では、M2 単独陽性群はすべて陰性群に比して AST, ALT, ALP, γ -GTP 値が有意に高値であり、M2+M4 陽性群に比して AST, ALP, γ -GTP 値が有意に高値であり、さらに M2+M9 陽性群に比しても AST, T. Bil, γ -GTP 値が高値であった。M2+M9 陽性群は、M2+M4 陽性群に比して T. Bil 値が低値であった。

また、M2+M4 陽性群は M2+M4+M9 陽性群、M2 単独陽性群に比して症候性 PBC 症例の占める割合が少なかった (Table 7)。

6. AMA, ANA, ASMA 出現プロファイルと病態との関連

IF 法による AMA 測定と ANA 測定の結果により、AMA+ANA 陽性群、AMA 単独陽性群、ANA 単独陽性群、AMA+ANA 両陰性群の 4 群に分け、AMA, ANA 出現プロファイルと病態との関連を解析した。

AMA+ANA 両陰性群は他の 3 群に比して AST, ALT, T. Bil, ALP, IgG, IgM 値がいずれも低値であり、AST, ALT 値は他の 3 群に比して有意に低値であった。T. Bil 値は AMA 単独陽性群に比して、ALP 値は AMA 単独陽性群、ANA 単独陽性群に比して、IgG 値は ANA 単独陽性群に比して有意に低値であり、組織学的に全例 Scheuer 分類 Stage I から III 期であり、肝硬変

までの進展例は認めなかった。

AMA+ANA 陽性群は、AMA 単独陽性群および ANA 単独陽性群に比して IgG 値が有意に低値であり、ANA 単独陽性群に比して症候性 PBC 症例の占める割合が有意に多かった (Table 8)。

さらに IF 法 AMA, ANA に ASMA の結果を踏まえて細群化し、AMA, ANA, ASMA 出現プロファイルと病態との関連を解析したが、ASMA 陽性例が少ないためか、ASMA の陽性、陰性を含めての自己抗体プロファイルと病態との間には一定の傾向を認めなかった。

7. 各種自己抗体と病態との関連の経時的変化

各種自己抗体を複数回測定し得た 51 例を対象に、経時的な各種自己抗体出現の変化と経時的病態変化との関連について検討した。51 例中 49 例で観察期間中に UDCA 治療が行われ、肝機能検査値は ALP 値が 656.8 ± 616.7 IU/l から 476.3 ± 303.1 IU/l に低下していたが、その他の検査値に経時的変化を認めなかった。組織学進展度は Scheuer 分類 Stage I から III 期が 38 例、Stage IV 期が 13 例であったが、いずれの症例も観察期間中に肝硬変までの明らかな臨床的進展を認めなかった。

AMA は IF 法による検討では 4 例で陽性化した 6 例で陰性化した。

EUROASSAY プロットキットを用いた AMA サブタイププロファイルによる検討では、M2+M4+M9 陽性 5 例の経時的変化は M9 のみ陰性化した症例が 2 例、M4 と M9 がともに陰性化した症例が 1 例であった。M2+M4 陽性 14 例の経時的変化は、M9 が陽性化した症例が 10 例、M4 が陰性化した症例が 3 例であった。M2+M9 陽性 5 例の経時的変化は M4 が陽性化した症例が 1 例、M9 が陰性化した症例が 1 例であった。M2 単独陽性 23 例の経時的変化は、M4 と M9 がともに陽性化した症例が 2 例、M4 のみが陽性化した症例が 4 例、M9 のみが陽性化した症例が 1 例、M2 が陰性化した症例が 2 例であった。すべての AMA サブタイプが陰性であった 4 例の経時的変化は、4 例全例で M2 が陽性化した。AMA のサブタイプ別に検討すると、M2 は 4 例が陽性化、2 例が陰性化し、M4 は 5 例が陽性化、4 例が陰性化し、M9 は 13 例が陽性化、5 例が陰性化した。

ANA は 4 例が陰性化し 4 例が陽性化した。また染色パターンの変化は speckled pattern から discrete speckled pattern へ、discrete speckled pattern から speckled pattern へ、それぞれ 1 例ずつ認められた。ASMA は 5 例が陰性化し 2 例が陽性化した。

以上より、経過中に IF 法 AMA の出現が変化したのは 19.6% (10 例)、AMA サブタイプが変化したのは 60.8% (31 例)、ANA の出現が変化したのは 15.7% (8 例)、ASMA の出現が変化したのは 13.7% (7 例) であった。しかし、これら自己抗体出現プロファイルの変化と病態変化との間に一定の傾向はみられなかった。

IV. 考 察

PBC は自己免疫機序により肝内細小胆管が傷害されると考えられる中年女性に好発する代表的な自己免疫性肝疾患である。PBC の患者血清中には各種自己抗体が検出されるが、とくに AMA は約 90% の症例で認められ抗体価も高力価であることから、本疾患のスクリーニングならびに早期診断において重要な意義を有している^{11)~14)}。

筆者らは、同一症例の血清を用いて従来から施行されている IF 法に加え、EUROASSAY プロットキットにより AMA の検討をおこなった。AMA のスクリーニング検査として EUROASSAY プロットキットを用いた AMA 測定法は従来の IF 法に比して陽性率が高く、より有用であることが示唆された。

EUROASSAY プロットキットは IgG および IgM クラスの M2, M4, M9 抗体の標的リコンビナント抗原を用いプロット法を応用した測定法であるが、IF 法に比して AMA の陽性率は 84.3% と高かった。また AMA が IF 法で陰性、EUROASSAY プロットキットで陽性であった症例は 22 例で、うち 20 例が M2 陽性、3 例が M4 陽性、3 例が M9 陽性であった。

今回の EUROASSAY プロットキットを用いた包括的な AMA サブタイプの検討では、M2 陽性例は陰性例に比して肝機能検査値が高値で組織学進展度が高い症例が多いこと、M4 陽性例に特徴的な臨床的所見はみられなかったこと、M9 陽性例では陰性例に比して症候性 PBC 症例が多い

ことが明らかとなった。

AMA には現在 9 つのサブタイプの存在が確認されており、それぞれのサブタイプの対応抗原や関連が示唆される疾患群が確認されている²²⁾。この中で PBC と関連がみられる AMA サブタイプは M2¹⁾, M4²⁾, M8³⁾, M9⁴⁾ である。M2 は疾患特異性が高く、PBC の診断に有用であるが、M2 陽性例と陰性例との間に明らかな病態の差異は確認されていない。M4, M8, M9 はサブタイプの違いにより病態に差異がみられるとの報告があり、M9 は病初期の軽症例での陽性率が高く、M4 や M8 は組織学的に実質炎が強く、進展例での陽性例が多いとされている⁶⁾。しかし、この結果に相反する報告もみられ^{7)~9)}、AMA サブタイプと病態との関連についてはコンセンサスが得られるには至っていない。また、これらの報告はすべて欧米人を対象としたもので、遺伝的背景が異なる日本人における AMA サブタイプと病態との関連は明らかにされていない。上述したように欧米からの報告では M4 陽性例は進行例で多く M9 陽性例は初期例で多いとされていたが、今回の検討では M2 陽性例で進行例が多く、M4 陽性例に特徴的な臨床像はみられず、M9 陽性例に症候性 PBC 症例が多く、これまでの報告とは相反した結果が得られた。

EUROASSAY プロットキットを用いた AMA サブタイププロファイルの検索は、診断時の単回測定の結果よりは PBC の病態および予後との関連の可能性も示唆された。しかし、同時におこなった経時的複数回測定での AMA サブタイププロファイル変化と病態との関連では、AMA サブタイププロファイルの変化した症例において変化後のプロファイルと診断時に確認された特徴的病態との関連は確認できなかった。この結果より、EUROASSAY プロットキットを用いた AMA サブタイププロファイルの解析では病態および予後の予測は困難とも考えられた。

AMA 抗体価と病態との関連では、80 倍以上の高力価例では低力価例に比して肝機能検査値が高値を示す傾向を認めたが、治療効果と関連した AMA 力価の経時的変動、AMA サブタイププロファイルの経時的変化との関連を示す症例はなく、AMA 力価、サブタイププロファイルの変化と病態の変化には関連がないと考えられた。ウルソ

デオキシコール酸 (ursodeoxycholic acid: UDCA) は PBC 治療の第一選択薬であるが UDCA 治療後に AMA 抗体価が低下するとの報告^{23)–26)}があり、AMA 抗体価が UDCA 治療効果判定マーカーとして利用できる可能性も示されたが、多数例の検討にて AMA 力価と病態および治療効果との関連は認めない²⁷⁾²⁸⁾とされている。ANA の検討では、ANA 陽性、陰性例の間には病態の差異を認めなかったが、染色パターンを考慮して細分化すると、discrete speckled pattern 陽性例では speckled pattern 陽性例、ANA 陰性例に比して肝機能検査値、免疫グロブリン値が有意に低く、また組織学的に肝硬変例が占める割合も有意に低かった。このことより discrete speckled pattern を呈する ANA 陽性例、すなわち ACA 陽性例と軽症例 PBC との関連が示唆された。また AMA と ANA の出現プロファイルと病態との関連を検討したところ、AMA、ANA がともに陰性例は、AMA、ANA のいずれかが陽性例に比して AST、ALT、ALP、IgG、IgM 値が有意に低値であり、また組織学的に肝硬変まで進展している症例は 1 例もなく、AMA+ANA 両陰性例と軽症例 PBC との関連が示された。

ANA は PBC 症例の 50% 以上で検出されるが、この中で特に PBC との関連が示唆されている ANA には、ACA⁵⁾、抗 nuclear dot proteins 抗体³³⁾、抗 Sp100 抗体³⁴⁾、抗核膜抗体(anti-nuclear envelope antibodies: ANEA)³⁵⁾、抗 gp210 抗体³⁶⁾、抗 NPCs 抗体(anti-nuclear pore complexes antibodies)³⁷⁾、抗 ASGPR 抗体(anti-asialoglycoprotein receptor antibodies)³⁸⁾、抗 CA II 抗体(anti-carbonic anhydrase II antibodies)³⁹⁾、抗 CR 抗体(anti-calreticulin antibodies)⁴⁰⁾、抗 SO 抗体(anti-sulphite oxidase antibody)⁴⁰⁾などが報告されている。ACA は discrete speckled pattern の染色パターンを呈する ANA で、PBC では 10–40% の陽性率を呈するため IF 法 AMA 陰性 PBC 症例の診断に有用で、CREST 症候群、Sjogren 症候群などの自己免疫性疾患との合併例に多く認められる。また、軽症例 PBC に出現することが多く病態との関連が示唆されているが⁵⁾、一方では病態と必ずしも関連しないとの報告もみられている⁴²⁾。

ASMA の検討により ASMA 陽性例は陰性例に比して T. Bil, γ -GTP 値が低値を示すことが明らかになり、ASMA の出現と軽症例 PBC との関連が示された。ASMA は PBC では ANA ほど高頻度には出現せず、陽性率は 20% 前後と報告されている⁴⁵⁾。これまでに ASMA 陽性、陰性 PBC 症例の臨床像の差異は報告されていない。

このように、M2、M9 の AMA サブタイプ、discrete speckled pattern の ANA、ASMA などの自己抗体や、AMA と ANA 両陰性という自己抗体プロファイルと特定の PBC 病態との関連が示された。経過中に ANA、ASMA が経時的に変化する症例は少ないが AMA が変化する症例が多く認められた。とくに AMA サブタイプの変化率は高く、なかでも M9 は M2、M4 に比して経過中に陽性化する症例が多かった。

今回の検討では観察期間が短く、病態の著明な経時的変化がみられず、自己抗体出現プロファイルの変化と病態変化との間に一定の傾向は認められなかった。しかし、診断時の検討では M9 陽性例は陰性例に比して掻痒感などを呈する症候性 PBC 症例が多かったことから、経過中に M9 が陽性化した症例が症候性 PBC に進展する可能性もあり、さらなる検討が必要と思われる。

V. ま と め

PBC における自己抗体プロファイル、AMA サブタイププロファイルと病態との関連を解析し、1) AMA 検出には IF 法に比して EUROASSAY プロットキットを用いた測定法がより有用である、2) 欧米からの報告と異なり M2 陽性例は陰性例に比して肝機能検査値が高値で組織学進展度が高い症例が多い、3) 欧米からの報告と異なり M4 陽性例に特徴的な臨床像はみられない、4) 欧米からの報告と異なり M9 陽性例は症候性 PBC 症例が多い、5) UDCA 治療による AMA 力価、サブタイププロファイルの経時的変化はみられない、6) discrete speckled pattern の ANA 陽性例は軽症例が多い、7) AMA と ANA がともに陰性例は軽症例が多い、8) ASMA 陽性例は軽症例が多い、9) 経過中に M9 が陽性化する症例が多かった、といったことが明らかになった。これらのことから、AMA サブタイプと PBC

病態との関連が欧米と日本では異なり, M2, M9 などの AMA サブタイプ, ANA の染色パターン, ASMA といった自己抗体の測定が臨床的に有用であることが示唆された。

本稿を終えるにあたり, ご指導, ご校閲を賜りました東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科戸田剛太郎教授に深謝いたします。また, ご協力を賜りました消化器肝臓内科第2研究室の諸兄ならびに高木元子女史に深甚たる謝意を表します。

文 献

- 1) Berg PA, Klien R. Autoantibodies In primary biliary cirrhosis. *Spinger Semin Immunopathol* 1990; 12: 85-95.
- 2) Berg PA, Wiedmann KH, Saters T. Serological classification of chronic liver disease by the use of two different types of antimito-chondrial antibodies. *Lancet* 1980; 2: 1329-32.
- 3) Weber P, Brender J, Stechemesser E. Characterization and clinical relevance of a new complement fixing antibody-anti-M8-In patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1986; 6: 553-9.
- 4) Klein R, Berg PA. Organ specific antibodies against liver mitochondria (anti M9) in patients with primary biliary cirrhosis (PBC) and their relatives. *Hepatology* 1984; 4: 750.
- 5) 吉田直哉, 住野泰清, 上野幸久, 島田長樹, 柴田実, 定本貴明 ほか. 原発性胆汁性肝硬変(PBC)における抗セントロメア抗体 (ACA) の臨床的意義. *肝臓* 1989; 30: 1578-83.
- 6) Klein R, Pointner H, Zilly W, Glassner-Bittner B, Breuer N, Garbe W, et al. Antimitochondrial antibody profiles in primary biliary cirrhosis distinguish at early stages between a benign and a progressive course: a prospective study on 200 patients followed for 10 years. *Liver* 1997; 17: 119-28.
- 7) Joshi S, Cauch-Dudek K, Heathcote EJ, Lindor K, Jorgensen R, Klein R. Antimitochondrial antibody profiles: are they valid prognostic indicators in primary biliary cirrhosis? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 999-1002.
- 8) Palmer JM, Yeaman SJ, Bassendine MF, James OF. M4 and M9 autoantigens in primary biliary cirrhosis: a negative study. *J Hepatol* 1993; 18: 251-4.
- 9) Davis PA, Leung P, Manns M, Kaplan M, Munoz SJ, Gorin FA, et al. M4 and M9 antibodies in the overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and chronic active hepatitis: epitopes or epiphenomena? *Hepatology* 1992; 16: 1128-36.
- 10) Scheuer PJ. Primary biliary cirrhosis. *Proc R Soc Med* 1967; 60: 1257-60.
- 11) Ahrens EHJR. Primary biliary cirrhosis. *Medicine* 1950; 29: 299-364.
- 12) Mackey IR. Primary biliary cirrhosis showing a high titer of antoantibody. *N Engl J Med* 1958; 258: 185-8.
- 13) Walker JG. Serological test In diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1965; 1: 827-31.
- 14) Berg PA, Klien R. Autoantibodies In primary biliary cirrhosis. *Spinger Semin Immunopathol* 1990; 12: 85-95.
- 15) 小泉英子, 小野塚清, 柴田 実, 佐野欣一, 大島康男, 森實敏夫 ほか. 検診受診者における抗ミトコンドリア抗体陽性頻度. *臨病* 2000; 48: 966-70.
- 16) Metcalf JV, Mitchison HC, Palmer JM, Jones DE, Bassendine MF, James OF. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1996; 348: 1399-402.
- 17) Nakanuma Y, Tsuneyama K, Kono N, Hosono M, Van de Water J, Gershwin ME. Biliary epithelial expression of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: an immunohistochemical and immunoelectron microscopic study. *Hum Pathol* 1995; 26: 92-8.
- 18) Joplin R, Lindsay JG, Johnson GD, Strain A, Neuberger J. Membrane dihydrolipoamide acetyltransferase (E2) on human biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1992; 339: 93-4.
- 19) Van de Water J, Turchany J, Leung PS, Lake J, Munoz S, Surh CD, et al. Molecular mimicry in primary biliary cirrhosis. Evidence for biliary epithelial expression of a molecule cross-reactive with pyruvate dehydrogenase complex-E2. *J Clin Invest* 1993; 91: 2653-64.
- 20) Elkhalfi MY, Kiechle FL, Gordon SC, Chen J, Poulik MD. A flow cytometric method to detect anti-pyruvate dehydrogenase antibody in primary biliary cirrhosis. *Am J Clin Pathol*

- 1992 ; 97 : 202-8.
- 21) Leung PS, Chuang DT, Wynn RM, Cha S, Danner DJ, Ansari A, et al. Autoantibodies to BCOADC-E2 in patients with primary biliary cirrhosis recognize a conformational epitope. *Hepatology* 1995 ; 22 : 505-13.
 - 22) Berg PA, Klien R. Autoantibodies In primary biliary cirrhosis. *Spinger Semin Immunopathol* 1990 ; 12 : 85-95.
 - 23) Heseltine L, Turner IB, Fussey SP, Kelly PJ, James OF, Yeaman SJ, et al. Primary biliary cirrhosis. Quantitation of autoantibodies to purified mitochondrial enzymes and correlation with disease progression. *Gastroenterology* 1990 ; 99 : 1786-92.
 - 24) Kisand KE, Karvonen AL, Vuoristo M, Farkkila M, Lehtola J, Inkovaara J, et al. Ursodeoxycholic acid treatment lowers the serum level of antibodies against pyruvate dehydrogenase and influences their inhibitory capacity for the enzyme complex in patients with primary biliary cirrhosis. *J Mol Med* 1996 ; 74 : 269-72.
 - 25) Poupon RE, Balkau B, Eschwege E, Poupon R. A multicenter, controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. UDCA-PBC Study Group. *N Engl J Med* 1991 ; 324 : 1548-54.
 - 26) 山崎 潔, 中村篤志, 安倍 修, 阿部弘一, 鈴木一幸, 佐藤俊一. ウルソデオキシコール酸療法は原発性胆汁性肝硬変の抗ミトコンドリア抗体価を低下させる. *消化器と免疫* 1996 ; 33 : 169-72.
 - 27) Neuberger J, Thomson R. PBC and AMA : what is the connection? *Hepatology* 1999 ; 29 : 271-6.
 - 28) Leuschner U, Guldutuna S, Imhof M, Hubner K, Benjaminov A, Leuschner M. Effects of ursodeoxycholic acid after 4 to 12 years of therapy in early and late stages of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1994 ; 21 : 624-33.
 - 29) Ben-Ari Z, Dhillon AP, Sherlock S. Autoimmune cholangiopathy : part of the spectrum of autoimmune chronic active hepatitis. *Hepatology* 1993 ; 18 : 10-5.
 - 30) Masuda J, Omagari K, Matsuo I, Kinoshita H, Sakimura K, Hazama H, et al. Changes in titers of antimitochondrial and antinuclear antibodies during the course of primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2001 ; 16 : 239-43.
 - 31) Invernizzi P, Crosignani A, Battezzati PM, Covini G, De Valle G, et al. Comparison of the clinical features and clinical course of antimitochondrial antibody-positive and -negative primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1997 ; 25 : 1090-5.
 - 32) Goodman AD, McNally PR, Davis DR. Autoimmune Cholangitis: A variant of primary biliary cirrhosis. Clinicopathologic and serologic correlations in 200 cases. *Dig Dis Sci* 1995 ; 40 : 1232-42.
 - 33) Mackay IR. Autoimmunity and primary biliary cirrhosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000 ; 14 : 519-33.
 - 34) Kinoshita H, Omagari K, Whittingham S, Kato Y, Ishibashi H, Sugi K, et al. Autoimmune cholangitis and primary biliary cirrhosis: an autoimmune enigma. *Liver* 1999 ; 19 : 122-8.
 - 35) 川口直美, 小野塚靖, 永井美枝子, 米沢 仁, 上野幸久, 柴田 実 ほか. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) における抗核抗体 (ANA) の研究. *医学検査* 1995 ; 44 : 1971-4.
 - 36) 小野塚靖, 米沢 仁, 磯部宣子, 佐野欣一, 柴田実, 吉田直哉 ほか. 原発性胆汁性肝硬変における抗核膜抗体の解析. *医学検査* 1998 ; 47 : 985-9.
 - 37) Invernizzi P, Podda M, Battezzati PM, Crosignani A, Zuin M, Hitchman E, et al. Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2001 ; 34 : 366-72.
 - 38) Yoshioka M, Mizuno M, Morisue Y, Shimada M, Hirai M, Nasu J, et al. Anti-asialoglycoprotein receptor autoantibodies, detected by a capture-immunoassay, are associated with autoimmune liver diseases. *Acta Med Okayama* 2002 ; 56 : 99-105.
 - 39) Comay D, Cauch-Dudek K, Hemphill D, Diamandis E, Wanless I, Heathcote EJ. Are antibodies to carbonic anhydrase II specific for anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis? *Dig Dis Sci* 2000 ; 45 : 2018-21.
 - 40) Kreisel W, Siegel A, Bahler A, Spamer C, Schiltz E, Kist M, et al. High prevalence of antibodies to calreticulin of the IgA class in primary biliary cirrhosis: a possible role of gut-derived bacterial antigens in its aetiology? *Scand J Gastroenterol* 1999 ; 34 :

- 623-8.
- 41) Bunn CC, McMorrow M. Anti-M4 antibodies measured by a sulphite oxidase ELISA in patients with both anti-centromere and anti-M2 antibodies. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 131-6.
 - 42) 宮川 浩, 阿部和裕, 北澤絵里子, 松下昌直, 藤川博敏, 菊池健太郎 ほか. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) における抗セントロメア抗体. *帝京医誌* 1996; 19: 417-26.
 - 43) Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR. Prognosis in primary biliary cirrhosis: a model for decision making. *Hepatology* 1989; 10: 1-7.
 - 44) Murtaugh PA, Dickson ER, Van Dam GM. Primary biliary cirrhosis: prediction of short-term survival based on repeated patient visits. *Hepatology* 1994; 20: 126-34.
 - 45) Zamanou A, Tsirogianni A, Terzoglou C. Anti-smooth muscle antibodies (ASMAs) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA. *J Clin Lab Anal* 2002; 16: 194-201.