



Title	Enzyme-linked immunosorbent assay for anti-tropomyosin antibodies and its clinical application to various heart diseases
Author(s)	藤田, 綾
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42733
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	藤田 純
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15804 号
学位授与年月日	平成12年12月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Enzyme-linked immunosorbent assay for anti-tropomyosin antibodies and its clinical application to various heart diseases (ELISAによる抗トロポミオシン抗体の測定と各種心疾患への臨床応用)
論文審査委員	(主査) 教授 網野 信行
	(副査) 教授 堀 正二 教授 松田 嘉

論文内容の要旨

〔目的〕

古くからリウマチ熱やリウマチ性心疾患における抗心筋抗体の出現が報告されており、近年では、拡張型心筋症などの種々の心疾患においても蛍光抗体法による抗心筋抗体の報告がなされ、心筋における自己免疫機序の可能性が示唆されているが、その対応抗原は明らかにされていない。著者らは、心筋蛋白の中でもトロポミオシンに注目し、抗トロポミオシン抗体を各種心疾患および膠原病についてELISAで測定し、臨床像について検討した。

〔方法〕

1) 対象は、148名の患者と53名の健常人で、患者群は、弁膜症27名、虚血性心疾患36名、拡張型心筋症28名、肥大型心筋症19名、膠原病38名が含まれる。虚血性心疾患には、急性心筋梗塞9名、陳旧性心筋梗塞17名、狭心症10名が含まれ、膠原病には、SLE 14名、PSS 6名、MCTD 8名、慢性関節リウマチ8名、多発性筋炎2名が含まれる。

2) ELISAによる抗体の測定

トロポミオシン抗体は、ブタ骨格筋トロポミオシンを用いたELISAで測定した。蛋白濃度 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ に調整した抗原をプレートに固相し、トリ血清で室温に一晩ブロッキングしたものを用いた。測定はブロックエースと50%トリ血清を加え100倍希釈した血清をウエルに分注し、25°C120分で反応させた後洗浄し、10000倍希釈したペルオキシダーゼ標識抗ヒトヤギIgG抗体を25°C60分反応させた。洗浄後ペルオキシダーゼ基質をかけて25°C30分反応させ、405nmで測定した。ブタ心筋ミオシンを抗原に用いた同じELISA系で抗ミオシン抗体も測定し比較した。また、ブタ心筋ミオシンとブタ骨格筋トロポミオシンを用いて吸収試験も行った。OD値の解析は、Mann-WhitneyU検定を用いた。

3) 蛍光抗体法による抗心筋抗体の測定

抗心筋抗体の測定はラット心筋を用い、10倍希釈した血清を25°Cで30分間反応させ、洗浄後FITC標識抗ヒトイムノグロブリンを25°Cで30分反応させた。洗浄後、封入剤で固定し蛍光顕微鏡で検鏡した。蛍光染色像により、心筋形質がびまん性に染まるものを抗心筋抗体陽性とした。

〔成績〕

各疾患群と健常人コントロール群のトロポミオシン抗体のOD値の比較をした。虚血性心疾患 (0.043 ± 0.018 、 $P < 0.001$)、拡張型心筋症 (0.041 ± 0.022 、 $P < 0.01$)、心臓弁膜症 (0.044 ± 0.027 、 $P < 0.05$)、膠原病 (0.039 ± 0.015 、

$P<0.05$ ）では健常人（ 0.032 ± 0.009 ）に比し有意に高値であった。肥大型心筋症では、健常人と有意差は認められなかった。健常人コントロール群は対数正規を示し、 0.053 以上（平均+ $2SD$ ）をトロポミオシン抗体陽性としたところ、虚血性心疾患では 19.4% 、心臓弁膜症では 18.5% 、膠原病では 15.8% 、拡張型心筋症では 7.1% で陽性であった。虚血性心疾患で抗体陽性であった7人は心筋梗塞患者であった。

さらに、ブタ骨格筋トロポミオシンおよびブタ心筋ミオシンによる吸収試験を行ったところトロポミオシン抗体は、ミオシンでも一部吸収されることがわかった。ミオシン抗体と、トロポミオシン抗体のOD値を比較したところ、弱い相関関係が認められた。蛍光抗体法における抗心筋抗体との比較では、両者にはあまり相関はみられなかった。

心疾患群において、トロポミオシン抗体陽性となったのは16例であったが、心疾患の家族歴、心機能や罹病期間、手術歴や急性心不全の有無、高血圧、肝障害、糖尿病の合併症の有無などの臨床像とトロポミオシン抗体の陽性率には有意な関連を認めなかった。膠原病では10例に心合併症を認めたが、トロポミオシン抗体の陽性率との関連はなかった。

〔総括〕

トロポミオシン抗体は、虚血性心疾患、拡張型心筋症、心臓弁膜症、膠原病で健常人に比し有意にOD値が高値であった。心臓弁膜症では、古くから溶連菌感染を契機とした自己免疫機序が示唆されており、拡張型心筋症においてもウイルスの持続感染による自己免疫の可能性が推測されている。また、家族歴のある虚血性心疾患では、抗心筋抗体が高頻度に見られたとの報告もあり、これらの疾患では、自己免疫と関連している可能性が示唆された。トロポミオシン抗体と蛍光抗体法での抗心筋抗体が相関しなかったことより、心筋における抗原は、単一のものではないと考えられる。一方、ミオシン抗体と弱い相関を認めたことより、同じ免疫学的背景によってこれらの抗体が産生される可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

抗トロポミオシン抗体のELISA法を開発し、各種心疾患、膠原病および健常人を対象として測定した。患者群は、弁膜症27名、虚血性心疾患36名、拡張型心筋症28名、肥大型心筋症19名、膠原病38名が含まれる。

各疾患群と健常人コントロール群のトロポミオシン抗体のOD値の比較をすると、虚血性心疾患、拡張型心筋症、心臓弁膜症、膠原病では健常人に比し有意にOD値が高値であった。肥大型心筋症では、健常人と有意差は認められなかった。健常人コントロール群のOD値の平均+ $2SD$ をカットオフ値に設定すると、虚血性心疾患では 19.4% 、拡張型心筋症では 7.1% 、心臓弁膜症では 18.5% 、膠原病では 15.8% で抗体陽性であった。ミオシン抗体とトロポミオシン抗体とのOD値を比較したところ、弱い相関関係が認められた。蛍光抗体法による抗心筋抗体とトロポミオシン抗体との間には、相関がみられなかった。

抗トロポミオシン抗体が、虚血性心疾患、拡張型心筋症、心臓弁膜症の心疾患の一部でみられることがわかった。これらの心疾患において自己免疫が関与している可能性が示唆された。

以上の結果は、学位の授与に値するものと考えられる。