

- 最終講義 -

動脈硬化症および糖尿病腎症, 網膜症をきたす抗 ACE
(アンジオテンシン変換酵素) 自己抗体の発見

川崎医科大学内科学 (内分泌) 教授 西 田 聖 幸

Introduction & Abstract

本研究は Bartter 症候群患者に ACE 阻害があることを発見したことに端緒を開いた。ひき続き本疾患におけるこの酵素活性の阻害は ACE 自己抗体によるものであることをあきらかにした。さらに, 糖尿病, 動脈硬化性疾患において高頻度に本抗体の存在を見いだした。これらの疾患に共通する特徴は高い動脈硬化指数 (高脂血症) である。

Clinical studies: 無作為の200例の type II 糖尿病患者の129例 (64.5%) に抗 ACE 抗体 (IgG and/or IgM) が陽性であり, そのうち糖尿病腎症初期の患者では83.3%に同抗体が検出された。ほとんどの例で動脈硬化性疾患が主病である循環器内科受診患者200例では53.5%に同抗体は陽性であり, IgG 陽性者は年齢と有意に相関して増加していた。これらの成績から, 高脂血症により直接的に血管内皮細胞が阻害され, 内皮細胞に存在する ACE が抗原性を獲得し, 抗 ACE 自己抗体が産生される可能性が示唆された。

Experimental studies: New Zealand white ウサギ9頭をウサギ lung ACE で免疫した。死亡した1頭を除く8頭中5頭に腎への ACE 免疫複合体の沈着とともに糸球体結節性病変をはじめとする多彩な腎障害がみられた。4頭では網膜への同免疫複合体の沈着とともに網膜血管の動脈硬化性病変がみられた。ヒト糖尿病腎症に類似

した腎症をおこす糖尿病自然発症 OLETF ラットおよび control の LETO ラットも同様にウサギ lung ACE で免疫した。LETO ラット, OLETF ラットともに全く同様な腎への ACE 免疫複合体の沈着がみられたが, OLETF ラットにのみ糖尿病腎症病変が発症した。これらの成績から, 抗 ACE 抗体が, 腎糸球体および網膜血管に多彩な病変をきたし, その病変に高血糖 (糖代謝障害) が重積されれば糖尿病腎症, 網膜症が発症することが示された。

Methods

Clinical studies: 血中抗 ACE 抗体は ELISA 法で, 一部は Scatchard 解析で, ウサギ lung ACE 抗体として測定した。 2^{1x} 以上の希釈をもって陽性と判定した。動脈硬化指数 (atherogenic index, AI) は (総コレステロール) - (HDL コレステロール) / HDL コレステロール計算式で求めた。血中 ACE 活性, プラジキニン, アンジオテンシン濃度, 血漿レニン活性 (PRA) などは SRL (Special Reference Laboratories, Tokyo) で測定した。

Experimental studies: ウサギは毎月1回 $150 \mu\text{g}$ のウサギ lung ACE を back と sole の, ラットは毎月1回 $100 \mu\text{g}$ を back の皮内数ヶ所に注射免疫した。さらに, ウサギ, ラットともに毎2週間1回 $10 \mu\text{g}$ の ACE をウサギは耳静脈に, ラットは尾静脈に booster として静注した。摘

出した腎はPAS染色後、あるいは電顕で組織診断を行い、immunoperoxidase stainingで免疫染色を行って糸球体への免疫複合体の沈着を観察した。Fundus photography, FAG (fluorescein angiography) で網膜血管を撮影後、摘出した眼球から網膜を取り出し、同様に免疫染色を行い網膜への免疫複合体の沈着を検索した。

Results & Discussion

Clinical studies : Table 1 と Table

2に示すように、循環器内科受診患者200例中175例でAI(動脈硬化指数)を測定・計算した。その値は 3.3 ± 1.3 であった。なお、40歳以上のcontrol 30例ではAIは 2.1 ± 0.8 であり、21歳から40歳までのcontrolでは 2.0 ± 0.7 であった。200例中、糖尿病があった43例を除いた157例中

Table 2. AntiACE autoantibody and atherogenic index in 157 patients who visited to the cardiology division*

Age, years	Patients with antiACE antibody(s)	Patients with IgM antibody	Patients with IgG antibody	Patients with IgM & IgG antibodies	Atherogenic index	**Atherogenic index
31-40	1/4 (25.0%)	1/1 (100%)			3.9 ± 0.6 *** (n=5)	3.9 ± 0.6 (n=5)
41-50	8/17 (47.1%)	5/8 (62.5%)		3/8 (37.5%)	3.4 ± 1.3 (n=17)	3.3 ± 1.4 (n=12)
51-60	15/36 (41.7%)	10/15 (66.7%)	2/15 (13.3%)	3/15 (20.0%)	3.6 ± 1.3 (n=39)	3.4 ± 1.2 (n=29)
61-70	40/65 (61.5%)	22/40 (55.0%)	10/40 (25.0%)	8/40 (20.0%)	3.2 ± 1.2 (n=70)	3.0 ± 1.2 (n=54)
71-80	19/29 (65.5%)	8/19 (42.1%)	4/19 (21.1%)	7/19 (36.8%)	3.0 ± 1.4 (n=37)	2.6 ± 0.9 (n=27)
81-90	3/6 (50.0%)	2/3 (66.7%)	1/3 (33.3%)		2.9 ± 1.1 (n=7)	2.6 ± 0.8 (n=6)
Total	86/157 (54.8%)	48/86 (55.8%)	17/86 (19.8%)	21/86 (24.4%)	3.3 ± 1.3 (n=175)	3.0 ± 1.2 (n=133)

* Patients with diabetes mellitus (43 patients) were excluded from the 200 patients.

** Atherogenic index (AI) in patients who were not administered with antihyperlipidemic medicine.

*** Number of patients tested

の86例(54.8%)に抗ACE自己抗体が陽性であった。そのうち、IgM持った症例は48例(55.8%)、IgGを持った症例は17例(19.8%)、両者を持った症例は21例(24.4%)であった。IgG

抗体の出現は年齢と関連していたが、性別、AI値、高血圧とは関連を認めなかった。40歳以上30例のcontrolでは3例に本抗体が検出された。

Table 3とTable 4に示すように、200例のtype II糖尿病患者を早朝第一尿中albumin index (mg/g・creatinine) 値により、すなわち糖尿病腎症の重症度により5つのstageに分類した。No nephropathy患者ではalbumin indexは11 mg/g・Cr以下、overt-nephropathy IIでは300 mg/g・Cr以上である。200例中129例(64.5%)に抗ACE抗体が陽性であり、incipient-nephropathyでは83.3%に陽性が認められた。抗体保有者では糖尿病発症の10年以内に50%の症例で、20年までに90%の症例で陽性で

Table 1. AntiACE autoantibody and atherogenic index in 200 patients who visited to the cardiology division

	Patients with no antibody	Patients with IgM antibody	Patients with IgG antibody	Patients with IgM & IgG antibodies
Number of patients (% to 200)	93 (46.5%)	61 (30.5%)	19 (9.5%)	27 (13.5%)
		107 (53.5%)		
Atherogenic index	$*3.3 \pm 1.2$ (n=83)	$*3.1 \pm 1.2$ (n=57)	$*3.3 \pm 1.6$ (n=14)	$*3.2 \pm 1.5$ (n=21)
		$*3.2 \pm 1.4$ (n=92)		
		$*3.3 \pm 1.3$ (n=175)		
Patients with diabetes mellitus	22 (23.7% to 93 pts)		21 (19.6% to 107 pts)	
	3.8 ± 1.4 (n=17)		3.9 ± 1.6 (n=13)	
		$**3.8 \pm 1.5$ (n=30)		
Patients with no diabetes mellitus	3.2 ± 1.1 (n=66)		3.1 ± 1.3 (n=79)	
		$**3.1 \pm 1.2$ (n=145)		
Patients with hypertension	52 (55.9% to 93 pts)		67 (62.6% to 107 pts)	
	3.4 ± 1.2 (n=46)		3.0 ± 1.3 (n=55)	
		$***3.2 \pm 1.2$ (n=101)		
Patients with no hypertension;	3.3 ± 1.2 (n=37)		3.4 ± 1.5 (n=37)	
		$***3.3 \pm 1.4$ (n=74)		

* Significant vs. control subjects

() Number of patients tested, and same to the following parentheses in the Table

** There was a significant difference between the two means.

*** There was no significant difference between the two means.

Table 3. AntiACE autoantibodies in 200 patients with type II diabetes mellitus

Stage	Stage 1 (n=70)	Stage 2 (n=39)	Stage 3 (n=36)	Stage 4 (n=21)	Stage 5 (n=34)
Urinary albumin index (mg/g creatinine)	below 11	11-30	30-100	100-300	over 300
Nephropathy	no-	pre-	incipient-	overt-nephropathy	
Patients with no antibody	29/70 (41.4%)	11/39 (28.2%)	6/36 (16.7%)	6/21 (28.6%)	19/34 (55.9%)
71/200 (35.5%)	40/109 (36.7%)		31/91 (34.1%)		
Patients with IgM antibody	19/70 (27.1%)	10/39 (25.6%)	11/36 (30.6%)	8/21 (38.1%)	8/34 (23.5%)
56/200 (28.0%)	29/109 (26.6%)		27/91 (29.7%)		
Patients with IgG antibody	8/70 (11.4%)	6/39 (15.4%)	13/36 (36.1%)	5/21 (23.8%)	3/34 (8.8%)
35/200 (17.5%)	14/109 (12.8%)		21/91 (23.1%)		
Patients with IgM & IgG antibodies	14/70 (20.0%)	12/39 (30.8%)	6/36 (16.7%)	2/21 (9.5%)	4/34 (11.8%)
38/200 (19.0%)	26/109 (23.9%)		12/91 (13.2%)		

Table 4. Hypertension in 200 patients with type II diabetes mellitus

Stage	Stage 1 (n=70)	Stage 2 (n=39)	Stage 3 (n=36)	Stage 4 (n=21)	Stage 5 (n=34)
Urinary albumin index (mg/g creatinine)	below 11	11-30	30-100	100-300	over 300
Nephropathy	no-	pre-	incipient-	overt-nephropathy	
Hypertensive patients accompanied by no antiACE antibody	8/29 (27.6%)	6/11 (54.5%)	5/6 (83.3%)	5/6 (83.3%)	19/19 (100%)
43/71 (60.6%)	14/40 (35.0%)		29/31 (93.5%)		
Hypertensive patients accompanied by antiACE antibodies	17/41 (41.5%)	17/28 (60.7%)	16/30 (53.3%)	11/15 (73.3%)	12/15 (80.0%)
73/129 (56.6%)	34/69 (49.3%)		39/60 (65.0%)		
Total patients with hypertension	25/70 (35.7%)	23/39 (59.0%)	21/36 (58.3%)	16/21 (76.2%)	31/34 (91.1%)

あった。さらに、incipient-nephropathyでは尿中 albumin index の値と抗体をもった総患者の数あるいは IgG 抗体を持った患者の数との間には有意の相関がみられた。Nephropathy の stage 3, 4, 5 では高血圧者の数は albumin index 値と有意に正の相関、ACE 抗体保有者数とは負の相関を示した。

われわれは Bartter 症候群に ACE 活性の阻害があることを見出したので、この活性の阻害と抗 ACE 抗体との関連を検索するために、4 例の未発症例を含めて、14 例の Bartter 症候群、あるいはその亜型である Gitelman 症候群患者で抗 ACE 抗体を測定したが、未発症の 1 例以外において抗体は陽性であった (Table 5)。な

お Gitelman 症候群では IgG 抗体が陰性であったことは興味深い。これは両疾患の間の病態の違いによるものか、あるいは、前述のように IgG 抗体の産生は年齢と相関するので、Gitelman 症候群にも少し遅れて IgG 抗体が出現するのか明らかでない。Table 5 に示すように、これらの疾患群に高い AI 値が認められるのは極めて興味深い。これらの疾患は若年に発症するとはいえ、その高脂血症により ACE 自己抗体が産生され、それにより ACE 阻害その他の多彩な症状が発生すると考えられる。しかし、これらの患者においてこの抗体により血管の動脈硬化性変化がおこるにはまだ長い年月を要するものと考えられる。Bartter 症候群の 17 歳男の一症例にのみ網膜血管の動脈硬化性変化が報告されている。

この臨床研究に関連して、ウサギを ACE で免疫し、抗体の産生の有無、Bartter 症候群の臨床症状に一致する血中の parameter の病態の有無を検索した。Table 6 に

示すように、ウサギを ACE で免疫すると、4 回免疫以後に血中に抗体が陽性になり ACE 活性は著明に減少する。それに続き血清 Na 値も減少し、PRA (血漿レニン活性) は増加する。これらの症状は Bartter 症候群に一致するものである。血清 K 値の減少が明らかでないのは、恐らくアルドステロン分泌の減少によるものと考えられる。抗 ACE 抗体を含有するそのウサギ血清を正常ヒト血清と混合すると、ヒト血清 ACE 活性は、ウサギ血清の濃度依存性に、減少する (Table 7)。これらの成績は、抗 ACE 抗体の産生で ACE 活性が阻害され、さらに共通の epitope により認識された ACE 抗体がヒトとウサギでその酵素活性の阻害をきたす事を意

Table 5. Circulating antiACE autoantibodies in patients with Bartter's syndrome and Gitelman's syndrome

Patient no., sex, and age (yr)	PRA ng/(L·s)	ANG I pg/mL	ANG II pg/mL	ANG I/II ratio	IgM antibody	IgG antibody	a)Atherogenic index (AI)
Bartter's syndrome							
1. M 43	6.34	2700	180	15.0	positive	positive	4.5
2. F 21	4.12	1400	59	23.7	positive	positive	4.0
3. M 20	4.17	635	14	45.4	positive	positive	
4. M 15	4.00		65		positive	positive	
5. F 46	5.13				positive	positive	
Gitelman's syndrome							
Family 1							
6. F 12 sibling	8.33	2900	83	34.9	positive	negative	2.7
7. M 11 sibling	12.53	3600	120	30.0	positive	negative	2.7
8. F 9 sibling	6.12	1500	85	17.6	positive	negative	2.9
Family 2							
9. M 41 proband	2.47	630	57	11.1	positive	negative	5.1
10. M 70 father	0.31	56	7	8.0	negative	positive	9.0
11. F 64 mother	0.17	49	5	9.8	positive	negative	5.8
12. M 39 sibling	4.17	740	27	27.4	positive	negative	10.8
13. F 12 daughter	1.31	180	11	16.4	negative	negative	5.0
14. F 9 daughter	1.10	130	14	9.3	positive	negative	4.1
Normal range at rest	0.14-0.83	below 110	below 22				

Cases 10, 11, 13 and 14 are latent.

a) : cf. text.

Table 6. Serum ACE activity, sodium and potassium concentrations and PRA in rabbits after immunization with ACE

Control values	ACE activity 78.0 ± 3.8 IU/l/37°C (n = 20)	Serum Na 145 ± 0.5 mEq/l (n = 20)	Serum K 4.4 ± 0.1 mEq/l (n = 20)	PRA 7.3 ± 0.5 ng/ml/hr (n = 10)
After 3 months	68.7 No. 1 No. 2 No. 4 No. 5 (63.7, 70.3, 62.7, 78.1)			
After 4 months	59.9 (57.6, 62.6, 54.0, 65.3)	144 (145, 143, 143, 143)	4.0 (3.8, 4.0, 4.2, 4.0)	
After 6 months	46.0 (48.4, 49.9, 41.6, 44.2)	143 (144, 144, 143, 141)	4.1 (3.9, 4.1, 4.1, 4.2)	27.4 (23.9, 25.0, 26.7, 34.2)
After 7 months	42.0 (46.2, 29.6, 36.2, 55.9)	141 (144, 137, 142, 140)	4.5 (3.6, 5.7, 4.6, 4.2)	
After 8 months	33.3 (39.5, 22.3, 39.1, 32.1)	142 (143, 143, 141, 141)	4.7 (3.9, 5.9, 4.6, 4.5)	14.4 (18.3, 5.6, 9.7, 23.9)
After 9 months	40.1 No. 1 No. 5 (31.7, 48.4)	141 (143, 139)	4.0 (3.6, 4.4)	23.2 (18.6, 27.8)

味している。

以上、臨床的には高脂血症への被曝により血管内皮細胞で抗原性を獲得した ACE に自己抗体が産生され、それが加齢とともに血管の動脈硬化性変化をきたし、さらに糖尿病患者で

は高血糖（糖代謝の異常）が重積されると糖尿病血管合併症（腎症）が発症、進展することが示唆された。さらに ACE 自己抗体が存在する Bartter 症候群、Gitelman 症候群では、その抗体による ACE 活性の障害により、典型的な症状が発症することが、ウサギ実験により明らかになった。

ひき続き、正常ウサギと糖尿病自然発症ラットを ACE で免役し、動脈硬化性病変、糖尿病合併症（腎症、網膜症）の誘発に成功し、臨床面からの仮説を支持することができたが、紙面の都合上、残念ながらその部は割愛し、次回の機会を待つこととする。

本研究は以下の研究者との共同研究によりなされたものである（敬称略）。

腎臓内科：佐々木環

眼科：木村 久

循環器内科：田中淳二

内分泌内科：廣川泰嗣，松木道裕，

住友正治，高淵和恵

分子生物学：濃野 勉

検査診断学：市原清志

小児科：片岡直樹

医用生物センター：小郷 哲

組織・電子顕微鏡センター：上平賢三

Table 7. ACE activity in the pooled serum from normal subjects after addition of the rabbit anti-ACE antisera

Rabbit antisera added (v/v)	0 % (control)	20 % (v/v)	50 % (v/v)	70 % (v/v)
		ACE activity, % remaining		
After 3 months	100 %	Rabbits 98.5% No. 1 No. 2 No. 4 No. 5 (100, 99.0, 98.6, 96.4)	94.2 % (100, 98.0, 91.9, 86.9)	91.3 % (100, 96.0, 84.0, 85.3)
After 4 months	100 %	96.7 % (93.8, 100, 95.5, 97.3)	84.0 % (82.1, 83.2, 82.1, 88.4)	76.5 % (74.1, 76.5, 74.1, 81.2)
After 6 months	100 %	94.6 % (92.0, 94.2, 94.9, 97.1)	85.3 % (79.8, 86.2, 81.7, 93.6)	76.3 % (69.1, 78.4, 69.1, 88.7)
After 8 months	100 %	99.2 % (100, 98.4, 98.4, 100)	87.1 % (87.1, 79.6, 84.9, 96.8)	76.9 % (75.3, 66.2, 71.4, 94.8)

略 歴

昭和48年10月 川崎医科大学内分泌内科 助教授
平成3年7月 川崎医科大学内分泌内科 教授
平成12年3月 川崎医科大学内分泌内科 退職
平成12年4月 川崎医療短期大学(第一看護科)教授
現在に至る



所属学会：日本内科学会
日本内分泌学会
日本糖尿病学会