

# 全身性エリテマトーデスにおける補体による 免疫沈降抑制能に関する研究

— 抗原に Peroxidase を使用して —

岡山大学第三内科 (主任：太田善介教授)

桑 島 紀 夫

(昭和63年2月10日受理)

**Key words** : 全身性エリテマトーデス, immune complex, classical complement pathway, 免疫沈降抑制現象

## 緒 言

多彩な免疫複合体病変を有する全身性エリテマトーデス (SLE) の病態に補体系が深く関与している事は周知の事実である。そしてその関与の仕方として、補体は免疫複合体 (IC) と反応し、局所に炎症性病変を形成することにより病因的に働くと考えられていたが、近年、ICに及ぼす補体の新しい機能が発見されて以来、補体系の生体内における役割も病因的のみではないことが再認識されようとしている。

即ち、1977年、Miller & Nussenzweig により発見された補体による IC の可溶化現象<sup>1)</sup>は補体の alternative pathway を介して大分子の沈降性 IC が小分子の IC に変化するというものであり、もしこの現象が生体内でも認められれば、補体系は IC 病変の修復に関与すると考えられる<sup>2)</sup>。この点に関しては筆者らは SLE において、補体による IC の可溶化能を測定し、腎病変の推移とを比較検討し、補体による IC の可溶化現象は生体内においても起こりうる可能性を報告した<sup>3)</sup>。

更に1980年、Schifferli らは至適量の抗原と抗体が反応する際、補体が存在すると、補体 classical pathway を介して、沈降性の高分子 IC の形成が阻止されて、小分子の可溶性 IC が形成されるという、補体による免疫沈降抑制現象<sup>4)</sup>を報告した。本現象も生体内で起こりうれば、補体系

は IC 病変の発生を抑制していると考えられる。この可能性は補体 classical pathway の early component である C 1, C 4, C 2 の欠損症に IC 病変、特に SLE が多発しているという事実<sup>5)</sup>からも支持される。以上の観点より酵素である horseradish peroxidase を用いた簡便な補体による免疫沈降抑制能の測定法を考案して、SLE における沈降抑制能と IC 病変との関連につき検討を加えた。

## 材 料 と 方 法

### 1. 緩衝液

- 1) PBS : pH7.4, 0.02M phosphate buffered saline,
- 2) PBS-Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup> (PBS<sup>++</sup>) : 0.00015M CaCl<sub>2</sub>, 0.0005M MgCl<sub>2</sub>-PBS,
- 3) EGTA-Mg<sup>++</sup>-PBS : pH7.5, 0.03M ethylen glycoltetraacetic acid, 0.0035M MgCl<sub>2</sub> PBS,
- 4) EDTA-PBS : pH7.5, 0.04M ethylene diaminetetraacetic acid-PBS,

### 2. 抗原, 抗体

免疫沈降反応における抗原は horseradish peroxidase (254U/mg, TOYOBO 社), 抗体は抗 PO ウサギ 1 gG (Cappel 社) を使用した。

### 3. 基 質

発色基質は 5 aminosalicylic acid (ASA, 東京化成) を PBS にて 0.2% に溶解して不溶物を

濾過後、酵素基質  $H_2O_2$  を最終濃度0.016%となるように加えて使用した。以下 ASA ( $H_2O_2$ ) と略す。

#### 4. 被検血清

正常人12名, 全身性エリテマトーデス48名, 慢性関節リウマチ18名, 多発筋炎 8名, 強皮症13名, 混合結合織病 6名, ベーチェット病 7名, 膜性増殖性糸球体腎炎 5名, 1 gA 腎症17名, 膜性腎症11名以上145名の検体を使用した。

#### 5. Factor B を欠く血清 (Reagent Factor B : RB)

正常人新鮮血清を  $50^{\circ}C$  30分間加温して使用した<sup>6)</sup>。

#### 6. 補体価, C 3, C 4, Factor B の測定

補体価 (CH50) は Mayer 原法で測定した。正常値は  $35 \pm 5$  U/ml ( $M \pm 1$  SD) である。C 3, C 4, Factor B は各測定用のプレート (Behring 社) を使用し一次元免疫拡散法により蛋白量を求め、プールした正常人血清における蛋白量に対する百分率 (% NHS) で表した。

#### 7. リウマチ因子 (rheumatoid factor ; RF)

変性ヒト 1 gG を吸着させた polystyren latex (イムニス社製) に検体を加え凝集を肉眼的に判定した。

#### 8. 抗 DNA 抗体価

actinomycin D-DNA 法により判定した。正常値は10%以下である。

#### 9. 抗核抗体 (ANF)

染色パターンは宮脇らの方法<sup>7)</sup>により判定した。

#### 10. 免疫複合体 (CIC)

C 1 q binding assay を用いて測定した。正常値は  $2 \mu g/ml$  以下である。

#### 11. IC の可溶化能 (complex-release activity ; CRA)

天野らの方法<sup>8)</sup>に従った。正常値は  $0.617 \pm 0.106$  ( $M \pm 1$  SD) である。

#### 12. 補体による IC の沈降抑制現象の観察

スピッツグラスに種々希釈した PO 0.1ml と、同様に希釈した至適量の抗 POIgG 0.1ml と被検血清とを同時に加え、 $37^{\circ}C$  で一定時間反応させた後に PBS 6 ml を加え、3000rpm 15分遠沈しその上清 0.5ml を静かにとり基質液 ASA ( $H_2O_2$ ) 0.4ml を加えて  $37^{\circ}C$ 、1 時間発色させ、その後

1 N-NaOH 0.1ml を加えて反応を止め、更に PBS 3 ml を加えて比色計 (OD450nm) にてその吸光度を測定した。

## 結 果

### 1. 免疫沈降反応への各種処理血清の経時的影響

PO ( $0.4 \mu g/ml$ ) 0.1ml と至適量の抗 POIgG 0.1 ml に正常新鮮血清,  $56^{\circ}C$ , 30分非働化血清, EDTA 加新鮮血清, EGTA 加新鮮血清を同時に加えて反応させ、経時的に遠沈上清中の PO 活性 (吸光度) を測定すると図 1 の如くなった。

1) 正常新鮮血清を加えた場合は上清の PO 活性は 0 ~ 120 分にわたって不変であり、RB の場合も同様であり、PO-抗 PO IC の沈降の抑制が認められた。

2) 非働化血清の場合は新鮮血清に比較して、上清の PO 活性は時間と共に低下した。しかし、対照とした PBS のみの場合よりは PO 活性は高かった。PBS の場合は PO 活性は 15 分迄に急激に低下し以後は不変であった。

3) EGTA 加血清と EDTA 加血清を比較すると、30分迄は同様に PO 活性は低下するが、EDTA 加血清の場合は 120 分迄に対照と同程度に低下するの比べ、EGTA 加血清の場合はやや回復する傾向が見られた。

### 2. 新鮮血清と非働化血清の免疫沈降抑制反応

新鮮血清と非働化血清を変量して 1 時間反応

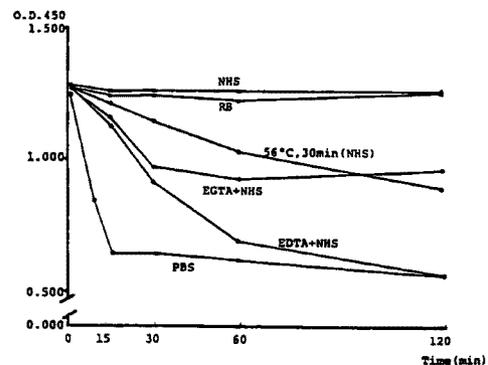


図 1 Kinetics of immune precipitation in serum and buffer.

させ免疫沈降抑制反応を観察すると図2の如く、両者には明らかな差が認められ、その差は血清量により変化する事が明かとなった。

3. 免疫沈降反応に影響を及ぼす血清中因子の検討

1) Rheumatoid factor (RF)

被検血清を0.05mlとして種々検体の免疫沈降抑制反応を観察し、血清中のRFの有無との関係と比較すると新鮮血清でも非働化血清でも共にRFが陽性の方のPO活性が明らかに低値を示した。(p<0.01). 即ちRFは免疫沈降に促進的に関与していると考えられる。しかし同様の試みを被検血清量を0.02mlとして行くとRFの影響は新鮮血、非働化血清共に認められなかった(図3)。

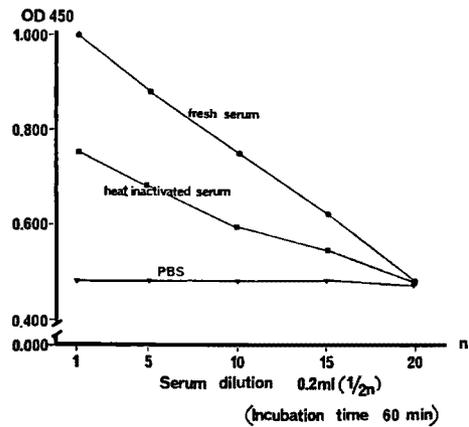


図2 Inhibition of precipitation with various concentration of fresh and heat inactivated serum.

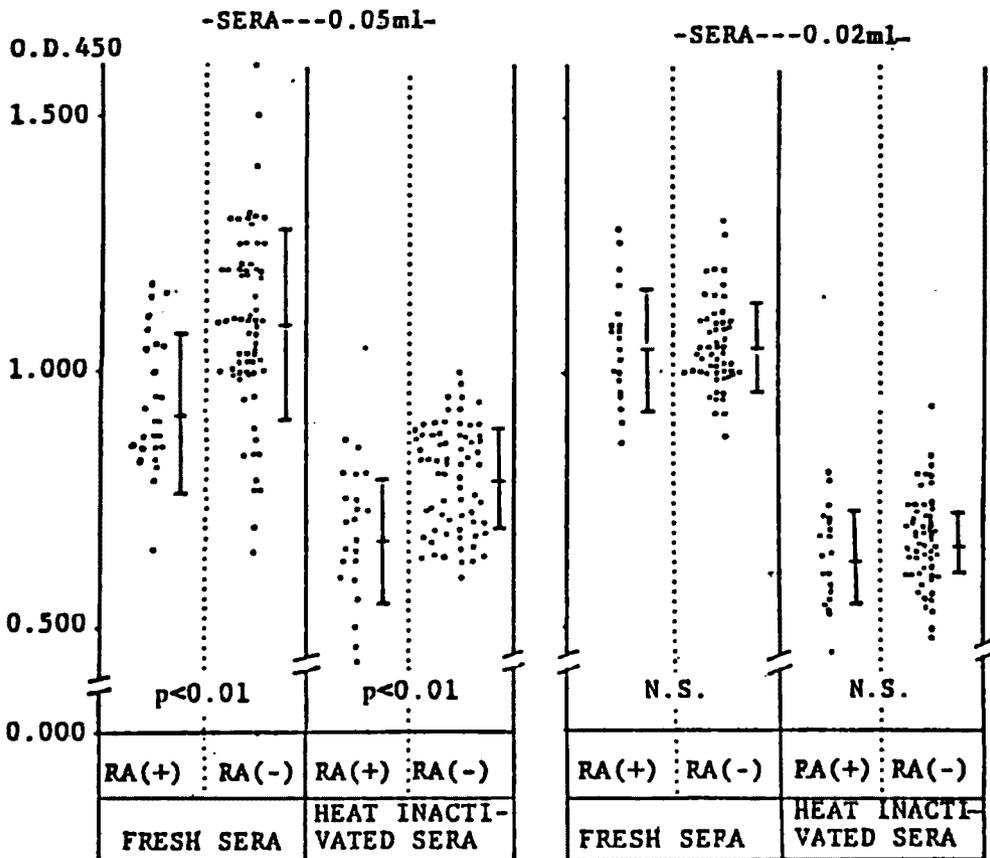


図3 Effect of rheumatoid factor on inhibition of immune precipitation.

次に補体によって沈降抑制させて得た可溶性 PO-IC に RA test 強陽性の非働化血清を正常非働化血清で種々希釈し加え、37°C、1 時間反応後、3000rpm 遠沈し上清の PO 活性 (PO-IC) を測定すると図 4 の如く、RA test 強陽性の血清量が多いほど、PO 活性が低下している結果が得られた。

2) Albumin, Globulin, A/G 比

硫酸法で分画した Albumin, Globulin 量を変量し、同様に免疫沈降抑制反応を観察すると、共に抑制作用が認められた (図 5)。

次に最終蛋白量を一定として Albumin,

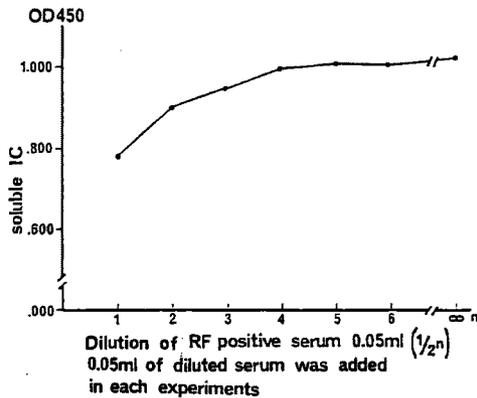


図 4 Effect of rheumatoid factor (RF) on inhibition of immune precipitation by complement.

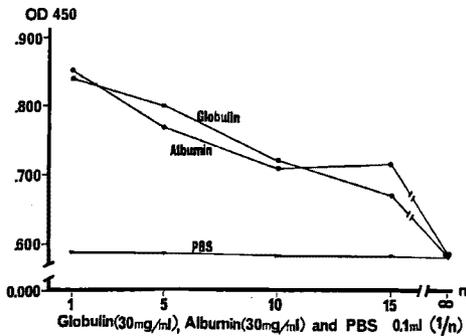


図 5 Effect of albumin and globulin on inhibition of immune precipitation.

Globulin 量の比を変えて、免疫沈降抑制反応を観察すると、A/G 比による抑制作用への影響は認めなかった (図 6)

4. 補体による免疫沈降抑制能の測定法

以上の結果から抗原、抗体、被検血清量、反応時間を以下の如く決定して補体による免疫沈降抑制能を測定した (図 7)。即ち、PO (0.4μg/ml) 0.1ml と抗 PO 抗体 (10μg/ml) 0.1ml に新鮮血清或は非働化血清 0.02ml を混合し、37°C、1 時間反応後 PBS 1 ml を加えて 3000rpm、15 分遠沈し、その上清 0.5ml に基質液 ASA (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 0.4 ml を加えて 37°C、1 時間発色させた後、1 N-

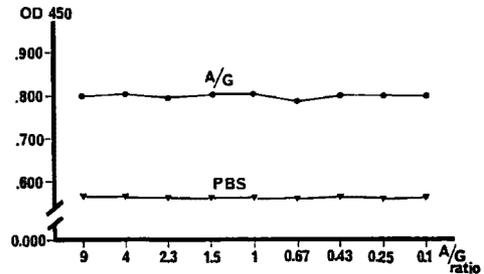


図 6 Effect of A/G ratio on inhibition of immune precipitation.

Inhibition of Immune Precipitation (IIP)

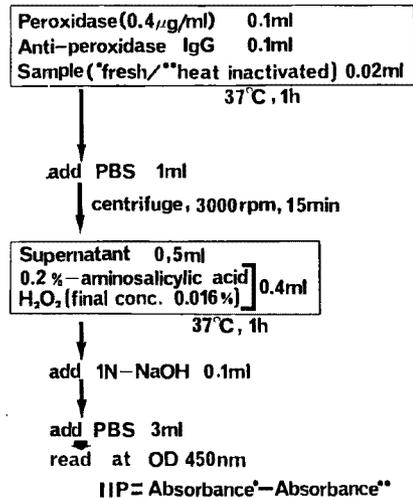


図 7 IIP assay.

NaOH0.1mlを加えて反応を止め、更に PBS 3 mlを加えて比色計 (OD450nm) で吸光度を測定し、新鮮血清の場合の吸光度から非働化血清の場合の吸光度を差し引いた値を、補体による IC の沈降抑制能 (inhibition of immune precipitation ; IIP) と表した。

5. 各種疾患の IIP 値

12名の正常人の IIP 値は $0.428 \pm 0.063$  (M $\pm$ 1 SD)であった。SLE の IIP 値は $0.329 \pm 0.151$ であり他の疾患に比して低下傾向を認めた ( $p < 0.01$ )。又、他疾患の中で血清・血漿補体価解離現象を表す検体の IIP 値は極めて低値を示す事が認められた (図 8, 9)。

6. 各種検体における IIP と CH50

SLE48検体を含む各種疾患の134検体における IIP と CH50の関連をみると図10の如く、両者には全く相関関係は認められなかった。ただし、血清・血漿補体価解離現象を示す症例や SLE の憎悪期の症例に於て、CH50に比べ、IIP が著明に低値を示すことが認められた。

7. 各種検体における IIP と CRA

IIP と CRA の関連をみると両者の間には弱い

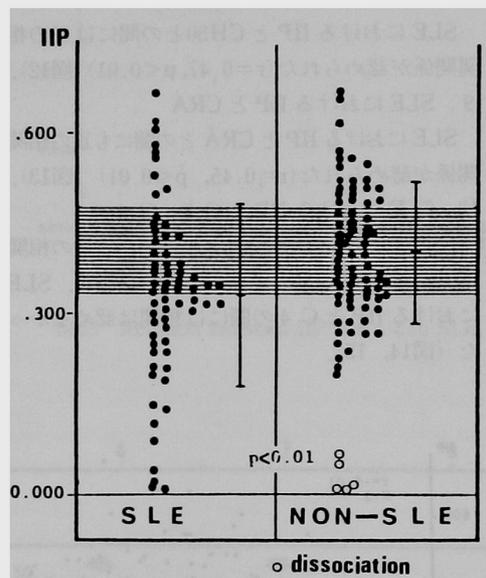


図 9 IIP in SLE and non-SLE.

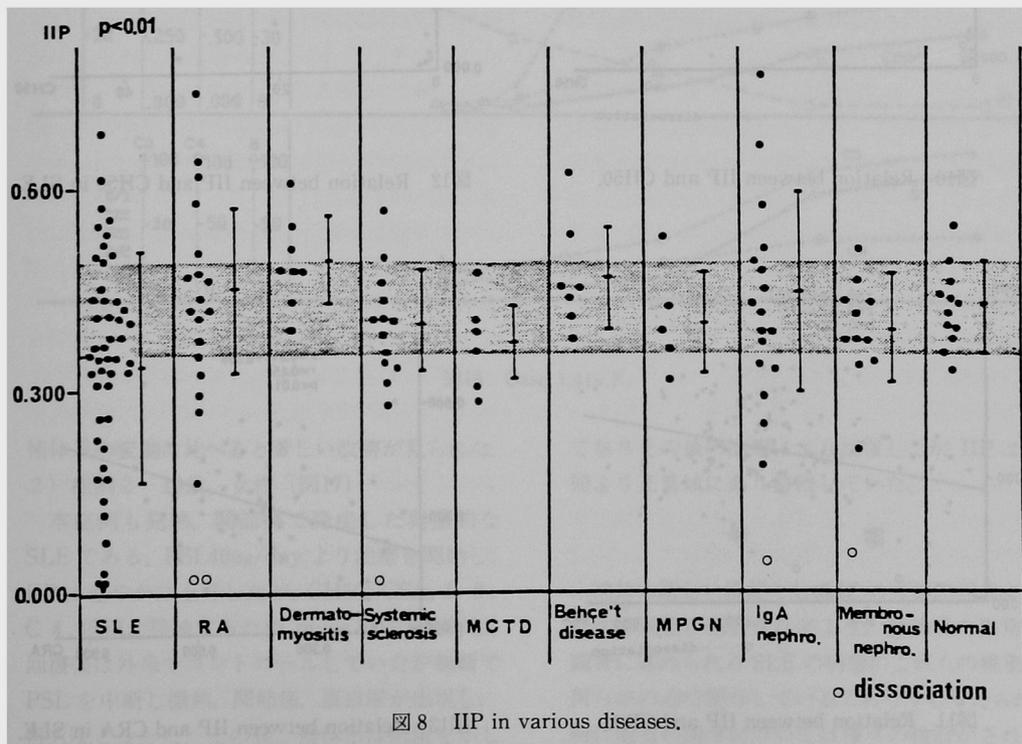


図 8 IIP in various diseases.

ながら正の相関関係が認められた( $r=0.32$ ,  $p<0.01$ ) (図11).

#### 8. SLEにおけるIIPとCH50

SLEにおけるIIPとCH50の間には正の相関関係が認められた( $r=0.47$ ,  $p<0.01$ ) (図12).

#### 9. SLEにおけるIIPとCRA

SLEにおけるIIPとCRAの間にも正の相関関係が認められた( $r=0.45$ ,  $p<0.01$ ) (図13).

#### 10. SLEにおけるIIPとC3, C4

SLEにおけるIIPとC3の間には正の相関関係が認められた( $r=0.67$ ,  $p<0.01$ ). SLEにおけるIIPとC4の間には相関は認めなかった (図14, 15).

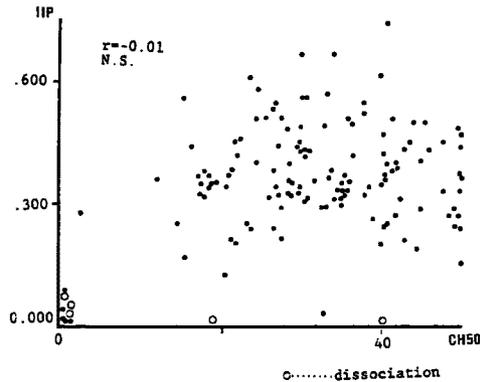


図10 Relation between IIP and CH50.

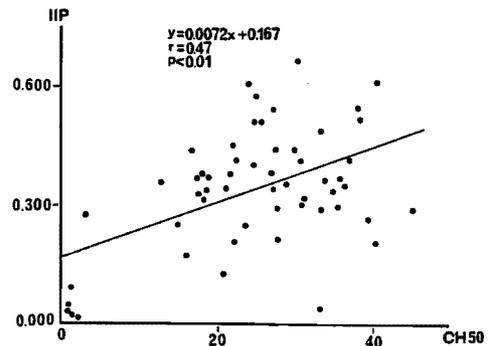


図12 Relation between IIP and CH50 in SLE.

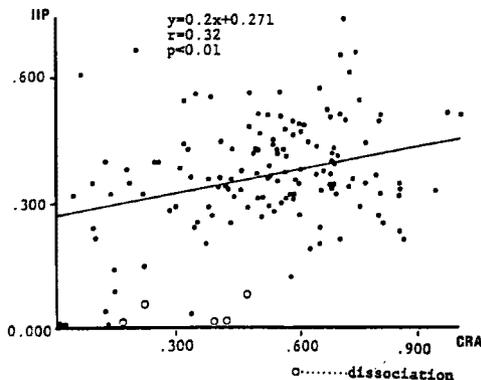


図11 Relation between IIP and CRA.

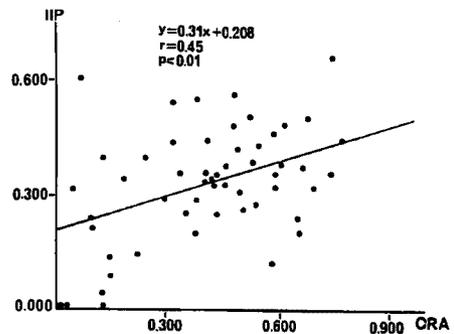


図13 Relation between IIP and CRA in SLE.

#### 11. SLE 症例におけるIIPの変動

活動期より経時的にIIPを測定したSLE 2例の経過を示す。

##### 1) 症例1 41歳, 女性 (図16)

発熱, 顔面紅斑, 関節痛にて発症した. CH50, CRAの低下と抗DNA抗体価, 血中ICの上昇が認められ, prednisolone (PSL) 30mg/day投与により発熱, 関節痛等の症状は軽減したが, 血清学的所見の改善が見られず prednisolone (PSL) 50mg/dayへの増量と共に pulse療法を施行し, 図の如く改善した. IIPの経時的変動は病初期には低値であったが, PSL30mg/day投与10日目にはすでに正常域に回復しており, 他の

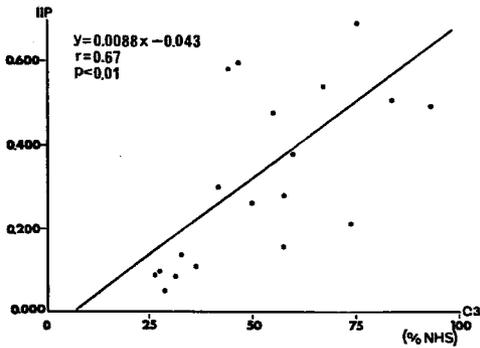


図14 Relation between IIP and C3 in SLE.

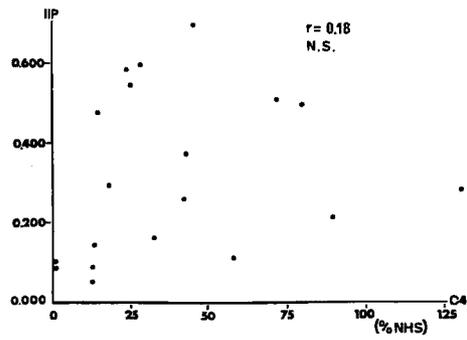


図15 Relation between IIP and C4 in SLE.

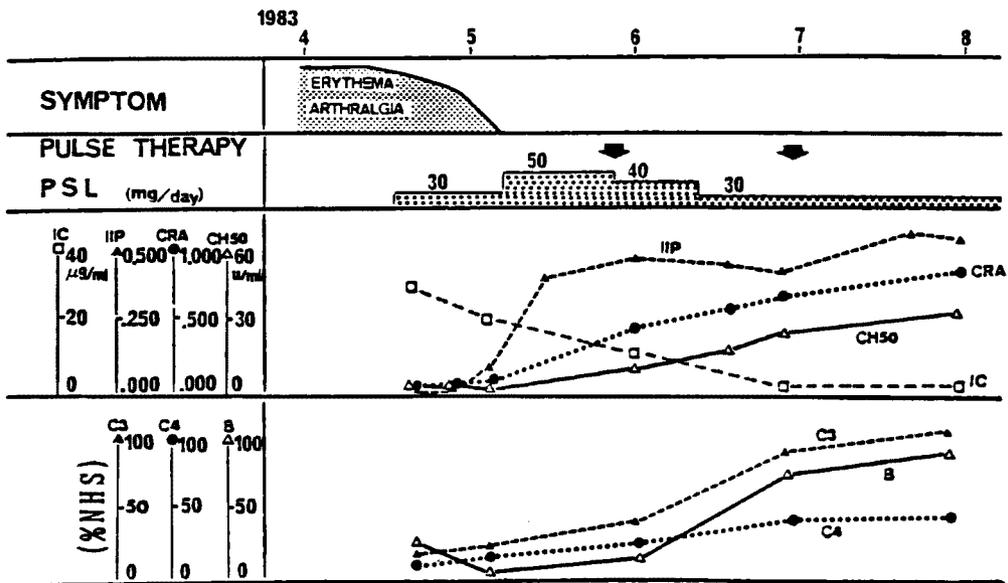


図16 Case 1,41y.F.

補体系の変動に比べると著しい改善が見られた。

2) 症例2 19歳, 女性 (図17)

本症例も発熱, 関節痛で発症した典型的な SLE である。PSL40mg/day より治療を開始し, IIP は速やかに上昇したが, CH50, CSA, C 3, C 4, 低値が持続するため, pulse 療法を施行し, 回復後は外来でコントロールしていたが無断で PSL を中断し微熱, 関節痛, 蛋白尿が出現し, 再入院となった。その後, 補体系は低値を示し

ておりその後の治療により回復したが, IIP は最初より正常域にあり持続していた。

考 案

補体の新しい機能として IC の可溶化現象と免疫沈降現象が報告されてより, 補体系の異常が顕著に認められる SLE の病態にこれらの現象が何らかの点で関与しているであろうと考えられ, 特に前者の関与については種々の検討がされて

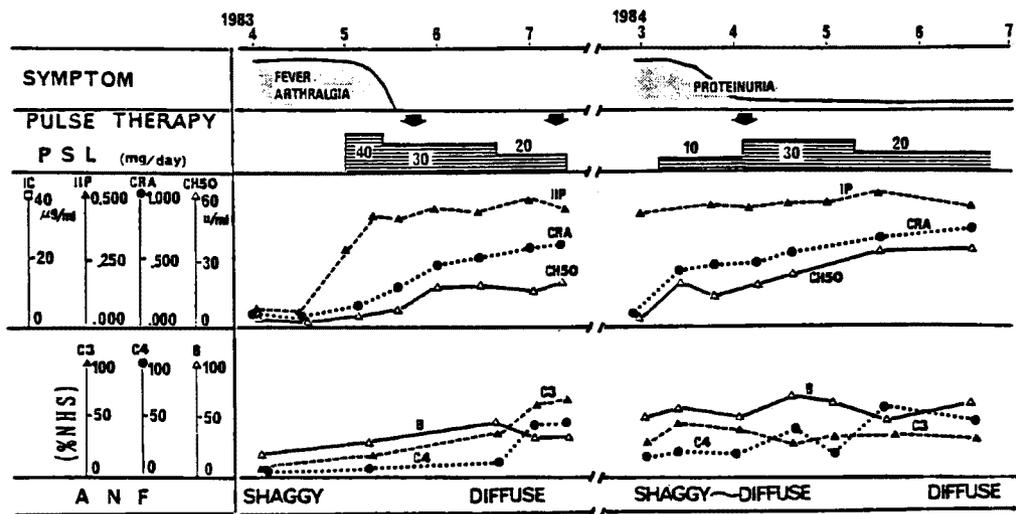


図17 Case 2,19y.F.

いる<sup>3)9)10)11)12)13)14)15)</sup>。しかし、生体内でICが形成される際にはすでに補体系は存在している訳であるから、SLEのIC病変形成には後者の免疫沈降抑制現象の方がより関与しているように考えられる。又、補体のearly componentであるC1, C4, C2, の欠損症にSLEが発症する頻度が高率である事も報告されている。この事実の一つの説明として、これらの個体においてはclassical pathwayを介する免疫沈降抑制現象がおこらない為、容易に大分子のICが出来、これらは網内系のICに対するreceptorを飽和させて局所に到達して沈着しIC病変を形成するが、このICは一部classical pathwayも関与するICの可溶化現象の影響を受けにくい為、局所に長期に沈着し、IC病変は持続するのであろうというものである。

このように考えるとSLE病変の形成に補体による免疫沈降抑制能は密接に関与すると推察されるので、これらを証明する為に先ず抗原に酵素であるhorseradish peroxidase (PO)、抗体に抗POウサギIgGを利用する簡便な免疫沈降抑制能の測定法を考案し基礎的検討を試みた。

至適量のPOと抗PO抗体に種々処理した血清を同時に加えて反応させた後の遠沈上清のPO活性 (freeのPOと可溶化PO-IC)を測定した

ところ図1に示すように新鮮血清では完全な沈降反応の抑制が認められたが、非働化血清やEGTA, EDTAを加えた血清では沈降反応の抑制が認められなかった。又、Factor Bを欠く血清では沈降反応の抑制が認められた。更に図9に示すようにC4, C2が極端に低値を示す血清・血漿補体価解離現象を示す血清<sup>16)</sup>でも沈降抑制能が極めて低値である事より、免疫沈降抑制現象は補体のclassical pathwayを介するものである事が確認された。

次に非働化血清にも免疫沈降抑制作用が認められたが、EDTA, EGTA加血清の場合、非働化血清より免疫沈降作用が強く、この原因としては血清中の易熱性因子であるC1q等の関与が推察された。EDTA加血清の場合は経時的に沈降するがEGTA加血清では60分より沈降反応が止まりむしろ120分では沈降反応が抑制されたような結果が得られたが、これは一度出来た大分子のICがalternative pathwayによって再可溶化されたものと考えられた<sup>17)</sup>。

非働化血清にも沈降抑制作用がある為、真の補体による免疫沈降抑制能の測定は新鮮血清による場合の遠沈上清のPO活性より同非働化血清の場合の遠沈上清のPO活性を引いて求めるのが妥当と考えられる。この差は血清量に依存

することは図2に示されており、本法の妥当性は証明されたが、補体系以外に本法による測定値に影響を与える因子としてはSLE血清中に高率に出現するリウマチ因子(RF)<sup>19)</sup>とA/G比が推察される。

RFは図3, 4のように沈降抑制現象に影響を与えており、特に血清量が多い程、PO活性値が低い傾向が認められた。これはPOと抗PO抗体と補体が反応して出来た可溶性ICにRFが結合して大分子となり沈降しやすくなった結果と考えられる。このため、被検血清量を0.05mlと0.02mlとしてRFの有無との関係を見ると0.05mlの場合にはRFの影響が認められるが0.02mlとするとRFの影響は除外出来た。又、A/G比については沈降抑制能に影響を与えない事も明かとなった。

以上の検討から抗原、抗体、被検血清量、反応時間を決定して補体による免疫沈降抑制能(IIP)の測定法を図7のように決定した。

SLEのIIPは正常人に比して低下していたがその程度は軽く、極めて低値を示す検体は全て活動期のものであった。その他のIC病変を有すると考えられる膠原病や腎炎等ではSLEの活動期にみられるような低値は認められなかった。

種々の疾患におけるIIPとCH50やCRAとの関連をみるとIIPとCH50の間には全く相関関係は認められないが、CRAとの間に弱い相関がある事が明らかとなった。IIPとCRAとの間の相関は図11に示されるようにIIPには一部可溶性現象も含まれることにより説明は可能であるが、共にclassical pathwayを介するIIPとCH50との間に全く相関がない事に疑問が生ずる。しかし、活動期以外のSLEではIIPの低下は軽度である事や、SLE症例のみの検討ではIIPはCH50やC3とも相関する事からIIPの特性としてCH50やCRAに比べて少量の補体(early component)で十分な活動性を有するものと考えらる。

個々の症例を経時的に観察すると症例1, 2で示したように未治療の活動期には他の補体系と同様に著明に低値を示したが治療後CH50やCRAがまだ低値で、抗DNA抗体価やIC値が高い時期にもかかわらず、IIPは速やかに正常に

回復していた。又、再燃時には症状に相関して他の補体系は低下していたが、IIPは正常値のままであった。これらの傾向は他の未治療期より観察し得た症例でも同様に認められた。以上に述べたようにSLEにおいては補体による免疫沈降抑制能は当初予想されたように常時低値ではなく、又、SLEの発症以前にも低値であったとは考えにくい事が明らかとなったので、SLE患者は補体による免疫沈降抑制能が低下している為に、生体内にICが出来やすく、その結果IC病変が形成されるのではないかという推論は否定された。SLEの免疫沈降抑制能の低下は急性期の極く初期のみであるが、これはこの時期に形成された大量のICによって補体classical pathwayが活性化され消費された結果と考えられる。この低下は一時的なもので、補体価や補体によるICの可溶化能が低値で血中のIC値が高値で持続する急性期にもかかわらず早急に正常化しており、生体内で免疫沈降反応を抑制して可溶性のICを形成していると考えられる。免疫沈降抑制現象で生じたICは補体によるICの可溶化現象で生じるICより分子量も大きく<sup>19)</sup>、RFとの反応性もあるので、病因的な活性はあると思われる。これらが局所に沈着してIC病変を形成すると考えられる。他の自己抗体が証明される疾患群と比して何故SLEでは高度のIC病変が出現するかについては推察の域を出ないが、補体結合性の強い抗DNA抗体等が抗原として反応して補体を活性化・消費させ、一時的にでも免疫沈降抑制能を低下させた結果大分子のICが生じ、このICが網内系のICレセプターを疲弊させる<sup>20)</sup>事によって、その後に出てくる可溶性のICの網内系へのとり込みを阻止し、最終的にこれらは局所に沈着してIC病変が形成されるのかもしれない。

いずれにしても少量の補体系で十分な免疫沈降抑制現象が認められるという事は、本現象が生体にとって重要な機能である事を示唆すると考えられ、これらの機能が欠損した個体には極めて重篤なIC病変が発生するであろう事は想像に難くない。

## 結 語

補体の新しい機能である免疫沈降抑制現象に着目し、免疫沈降抑制能 (IIP) の簡便な測定を考察、検討して全身性エリテマトーデス (SLE) において IIP を測定し次の結果を得た。

- 1) 抗原に酵素 horseradish peroxidase (PO), 抗体に抗 PO 抗体を利用し、至適量の抗原・抗体に新鮮血清を加えると抗原・抗体による沈降反応は血清量に比例して抑制された。
- 2) この沈降抑制作用は補体 classical pathway を介する現象である。
- 3) 非働化血清にも沈降抑制作用がある為、補体による免疫沈降抑制能 (IIP) は新鮮血清の IIP より非働化血清の IIP を差し引いて求められた。
- 4) 本法による IIP 値にはリウマチ因子や血清 A/G 比は影響を与えなかった。
- 5) SLE の IIP 値は正常人や他の疾患に比して有意な低下 ( $p < 0.01$ ) を示したが、経時的に

観察すると低下は急性期の極く初期のみで、急速に正常化する為、IIP と補体価 ( $r = 0.47$ ,  $p < 0.01$ ), C 3 ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.01$ ) や補体による免疫複合体の可溶化能 ( $r = 0.45$ ,  $p < 0.01$ ) の間には比較的弱い相関しか認められなかった。

以上より SLE の免疫複合体病変の出現は補体による免疫沈降抑制能の持続的な低下に起因するものではない事が明かとなった。しかし、急性期初期の免疫沈降抑制能の低下は SLE の生体内で大分子の免疫複合体の形成を許し、結果的には免疫沈降抑制現象によって生じた比較的大分子の可溶性免疫複合体を局所に沈着せしめて免疫複合体病変を形成しうる可能性を示唆させる。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜った恩師太田善介教授ならびに鈴木信也助教授に深甚の謝意を表すと同時に、終始御懇篤なる御指導を賜った天野哲基講師に深謝します。

## 文 献

- 1) Miller GW and Nussenzweig V : A new complement function. Solubilization of antigen-antibody aggregates. Proc Natl Acad Sci USA (1975) **72**, 418—422.
- 2) 太田善介, 天野哲基 : 免疫複合体病の病理と臨床. 日本臨床 (1983) **41** (4), 889—894.
- 3) 相原泰, 桑島紀夫, 天野哲基, 鈴木信也, 太田善介, 大藤真 : 全身性エリテマトーデスにおける補体による免疫複合体の可溶化能. 日臨免誌 (1984) **7** (2), 76—83.
- 4) Shifferli JA, Bartolotti SR and Peters DK : Inhibition of immune precipitation by complement. Clin exp Immunol (1980) **42**, 387—394.
- 5) Agnells V : Complement deficiency states. Medicine (1978) **57**, 1—23.
- 6) Goodkofsky I and Lepow IH : Functional relationship of Factor B in the properdin system to C3 proactivator of human serum. J Immunol (1971) **107**, 1200—1204.
- 7) 宮脇昌二, 倉田典之, 西村隆夫, 大藤真 : 抗核抗体の staining pattern に関する研究. アレルギー (1970) **19**, 282—293.
- 8) Amano T, Aibara Y, Kuwajima N, Suzuki S and Ota Z : A simplified quantification method of complex-release activity using peroxidase as immune complex antigen. Acta Med Okayama (1983) **37** (6), 519—520.
- 9) Sakurai T, Fujita T, Kono I, Kabashima T, Yamane K, Tamura N and Kashiwagi H : Complement-mediated solubilization of immune complexes in SLE. Clin Exp Immunol (1982) **48**, 37—42.
- 10) Naylor JF, Ward SA, Moore SE and Smiley JD : Decreased complement solubilization of immune complexes in sera containing high titers of rheumatoid factor. Arthritis Rheum (1979) **22**, 642.

(Abstr).

- 11) Zeiz HJ, Miller GW, Lint TF, Ali MA and Gewurz H : Deficiency of C7 with systemic lupus erythematosus. Solubilization of immune complexes in compleent-deficient sera. *Arthritis Rheum* (1981) **24**, 87—93.
- 12) Aguado MT, Perrin LH, Miescher PA and Lambert PH : Decreased capacity to solubilize immune complexes im sera from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (1981) **24**, 1225—1229.
- 13) Schifferli JA, Morris SM, Dash A and Peters DK : Complement mediated solubilization in patients with systemic lupus erythematosus, nephritis or vasculitis *Clin Exp Immunol* (1981) **46**, 557—564.
- 14) Baatrup G, Petersen I, Jensenius JC and Svehag SE : Reduced complement mediated immune complex solubilizing capacity and the presence of incompletely solubilized immune complexes in SLE sera. *Cli Exp Immunol* (1983) **54**, 439—447.
- 15) Baatrup G, Petersen I, Svehag SE and Brandslund I : A standardized method for quantitating the complement mediated immune complex solubilizing copacity of human serum. *J Immunol Methods* (1983) **59**, 369—380.
- 16) 天野哲基, 西下駿三, 河野勝昭, 吉野内猛夫, 三橋康彦, 石田俊彦, 三好正規, 鈴木信也, 大藤真 : 凝固系による補体の活性化. *臨床免疫* (1975) **7**, 533—538.
- 17) Naama JK, Holme E, Hamilton E and Whaley K : Prevention of immune precipitation by purified components of the alternative pathway. *Clin Exp Immunol* (1985) **60**, 169—177.
- 18) 三橋康彦, 天野哲基, 吉野内猛夫, 宮島啓人, 大藤真 : 全身性エリテマトーデスにおける IgG-Rheumatoid Factor. *リウマチ* (1978) **18** (2), 89—96.
- 19) Schifferli JA and Peters DK : Complement-mediated inhibition of immune precipitation. II. Analysis by sucrose density gradient ultracentrifugation. *Clin Exp Immunol* (1981) **47**, 563—569.
- 20) Frank MM, Hamburger ML, Lawley TJ, Kimberly RP and Pjotz PH : Defective reticuloendothelial system Fc receptor function in systemic lupus erythematosus. *New Engl J Med* (1979) **300**, 518—523.

**Studies on complement-mediated inhibition of immune precipitation  
in systemic lupus erythematosus**

— Using peroxidase as an antigen —

**Norio KUWAJIMA**

**Third Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. Z. Ota)**

A simplified method for measuring complement-mediated inhibition of immune precipitation (IIP) using peroxidase (PO) as an antigen was studied. IIP was measured in 48 patients with systemic lupus erythematosus (SLE). Immune precipitation of PO and anti-PO rabbit IgG at equivalence was inhibited principally via the classical complement pathway in the serum. When the substrates  $H_2O_2$  and 5-aminosalicylic acid were added to the supernatants (soluble PO immune complex and free PO) of antigen, antibody and fresh or heat-inactivated serum mixture, their absorbance (O.D.) at 450nm increased in a dose-dependent manner. The IIP of the complement in the serum was shown by the difference in absorbance between fresh serum and heat-inactivated serum. The IIP in SLE was lower than that in normal subjects and patients with other collagen diseases. There were correlations between IIP and CH50 ( $r=0.47$ ,  $p<0.01$ ), C3 ( $r=0.67$ ,  $p<0.01$ ) and complement-mediated solubilization of immune complex ( $r=0.45$ ,  $p<0.01$ ). The IIP in SLE was reduced only in the earlier active state and normalized very rapidly.

The above results suggest that the formation of an immune complex lesion in SLE is not due to the acquired depression of complement-mediated inhibition of immune precipitation as seen in the complement deficiency state.