

# 慢性関節リウマチにおける金療法に関する研究

## 第 三 編

### 慢性関節リウマチにおけるリウマチ因子の病 因的意義と金塩のリウマチ因子に及ぼす影響

岡山大学医学部大藤内科教室（主任：大藤真教授）

大 原 敦

（昭和51年4月15日受稿）

#### I 緒 言

リウマチ因子(以下 RF)は慢性関節リウマチ(以下 RA)を始め、その他慢性疾患等の患者血清中にしばしば証明され、特に RA においては RF の病因的意義が疑われてきた。RF の研究は、1930年 Cecil らが<sup>1)</sup> RA 患者血清中に A 群溶連菌凝集能力を認めたことに始まるが、1940年 Waaler は<sup>2)</sup>ウサギ抗体で感作したヒツジ赤血球が RA 血清で凝集することを報告し、1948年 Rose が<sup>3)</sup>本反応を臨床応用し、RA の診断に有用であるとして以来、Waalser-Rose 反応として広く用いられるようになった。一方、1954年 Heller は<sup>4)</sup> RA 患者血清中の凝集因子である RF と感作血球の凝集反応が  $\gamma$  グロブリンを加えることにより抑制されることから、凝集因子は  $\gamma$  グロブリンに対する抗体であるとした。以後、蛋白吸収能力を有する polystyren latex<sup>5)</sup> や Bentonite<sup>6)</sup> 等に  $\gamma$  グロブリンを吸着させた RF 検出法が種々考案される中で、latex 粒子を用いた簡便法は、RA テストとして前記の Waaler-Rose 反応とともに広く使用せられてきている。RA における RA テストおよび Waaler-Rose 反応の陽性率はそれぞれ 60%~89.2%、41.5%~77.5%といわれているが<sup>7)</sup> これらの方法で検出される RF の大部分は免疫グロブリンの IgM に属する。ところで、IgM 型の RF (IgM RF) が認められない所謂 seronegative RA 患者においても骨破壊の進展する症例がしばしば経験されるが、近年、RF は IgM のみならず IgG、IgA にも存在することが知られるようになった<sup>8)</sup> 特に IgG 型の RF

(IgG RF)は、血管炎を伴う RA において、その病因としての役割が注目されている<sup>9)</sup>

さて、Persellin ら<sup>10)</sup>によれば、金塩の免疫抑制作用は否定的ではあるが、金塩が臨床的に著効を呈した場合、Waalser-Rose 反応や、RA テストで検出される RF の力価が減弱ないし陰転化することが知られている。一方、Liebelt ら<sup>11)</sup>によれば、金塩はマウスにおける悪性腫瘍の発育を抑制するという。これらの事実から考えると、金塩の免疫抑制作用も完全には否定し得ないように思われる。

そこで、著者は RA における RF の病因的意義を調査するとともに、IgG RF の測定を試み、更に前編に引き続き、金塩の RF に対する影響を臨床的に調査した。

#### II 慢性関節リウマチ患者の血清ならびに滑液中 のリウマチ因子の力価

##### (1) 実験対象及び実験方法

実験対象は、アメリカリウマチ協会の診断基準による definite 以上の RA 39例(男子10例、女子29例)、健康人男子10例、変形性関節症(以下 OA)患者16例(男子4例、女子12例)である。RA 患者血清は健康人血清を、RA 滑液は OA 患者滑液をそれぞれ対照としたが、滑液は、採取後直ちに細胞数と RA 細胞数を計測しスプレーゼ処理後、2000rpm 10分間遠沈し、その上清を用いた。実験方法は、採取した血清と滑液に関し、リウマチ因子の力価は RA テスト(Hyland 社製)と Heller F II 法及び Heller 変法で測定し、Heller F II 法と Heller 変法の判定は、8

倍以下を陰性、16倍を疑陽性、32倍以上を陽性とした。

(2) 結 果

正常人血清のRAテストは全例陰性で、Heller F II法、Heller変法でも全例それぞれ8倍以下の陰性を示した。RA血清における各検査の陽性率は、RAテスト78.9%、Heller F II法90.9%、Heller変法72.7%、RA滑液では、RAテスト94.7%、Heller F II法100%、Heller変法94.4%となり、一方OA滑液では、RAテスト14.3%、Heller F II法、Heller変法とも33.3%であった。(表1)

表1 リウマチ因子陽性率

	RA test	HellerF II法	Heller 変法
RA 血清	78.9%	90.9%	72.7%
RA 滑液	94.7%	100.0%	94.4%
OA 滑液	14.3%	33.3%	33.3%

同一のRA血清について、そのRF力価をHeller F II法とHeller変法で比較してみると、力価の等しい症例が8例、Heller変法に比しHeller F II法の力価の高い症例が22例で、このうち1管差が8例、2管差が8例、3管差が4例、4管以上の差を認める症例は2例であった。一方、Heller変法に高力価を示した3例は、1ないし2管の差であった。

RAテストとHeller F II法、Heller変法による

RFの力価を比較するに、RAテスト(-)群にHeller F II法で32倍以上の陽性を示した症例が、8例中4例に、(±)群に256倍陽性1例、(+)群では64倍から1024倍、(++)群では64倍から4096倍の陽性例が、それぞれ7例、17例認められた。一方、Heller変法との関係では、RAテスト(-)群に8例中1例の陽性、(±)群では64倍陽性1例、(+)群では8倍陰性例から512倍陽性例8例、(++)群では17例全例Heller変法で32倍以上の陽性例であった。(図1)

RA、OA滑液中のRF力価をHeller F II法とHeller変法で比較するに、RA滑液では、Heller F II法によるRF力価とHeller変法によるそれに有意差はなく、OA滑液では、両者ともRA滑液に比し低値であり、この間にも有意差は認めなかった。

(図2)

RA患者より同時に採取した血清及び滑液中のRFがRAテストにおいて同じ反応を示したものが、21例中16例76.2%で、一致率は76.2%となり、不一致例中には、血清中のRAテストが陰性で、滑液で陽性例が4例19%に認められた。(表2)

尚、Heller F II法、Heller変法による一致率はそれぞれ、90.9%、75%であり、血清RFが陰性で滑液陽性例は前者が10%、後者で25%であった。

RA、OA滑液中のRF力価をHeller F II法、Heller変法によるRF力価と細胞数の関係をみる

図1 RA血清のRA-TestとRF力価

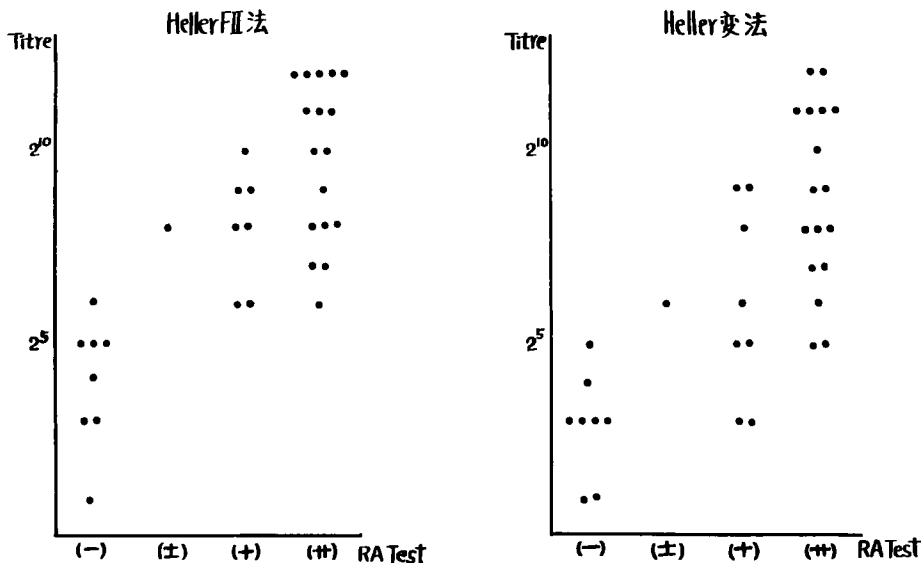


図2 滑液のRF力価

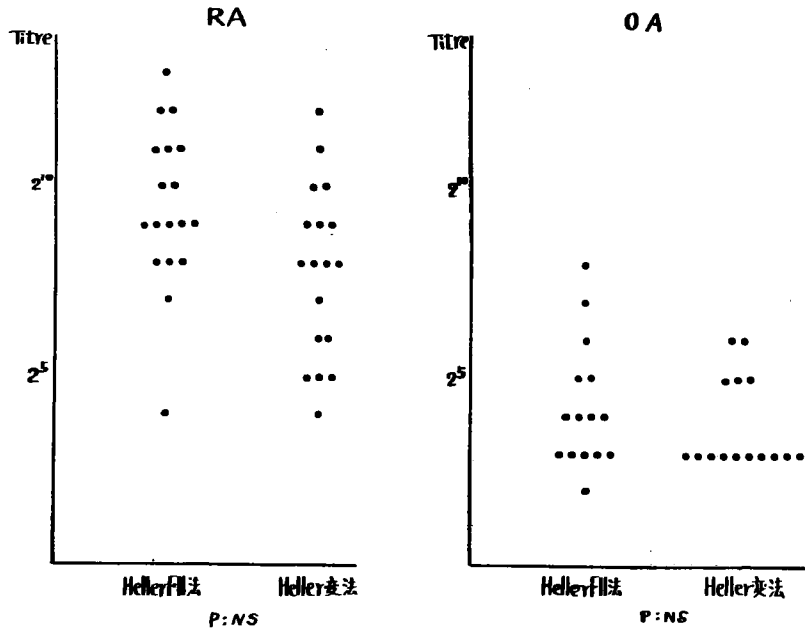


表2 血清・滑液のRA Test

血清 \ 滑液	-	+	計
-	1	1	2
+	4	15	19
計	5	16	21

$X^2=0.0017$   
P : N. S

に、両者間に相関を認めなかった。(図3, 4)

RA細胞の出現率をHeller F II法, Heller変法によるRF力価と比較するに、両者間に相関はみられなかった。(図5)

III RA血清ならびに滑液中のAntiglobulin factor とRAの活動性

(1) 実験対象及び実験

図3 滑液中の細胞数とRF力価 (Heller変法)

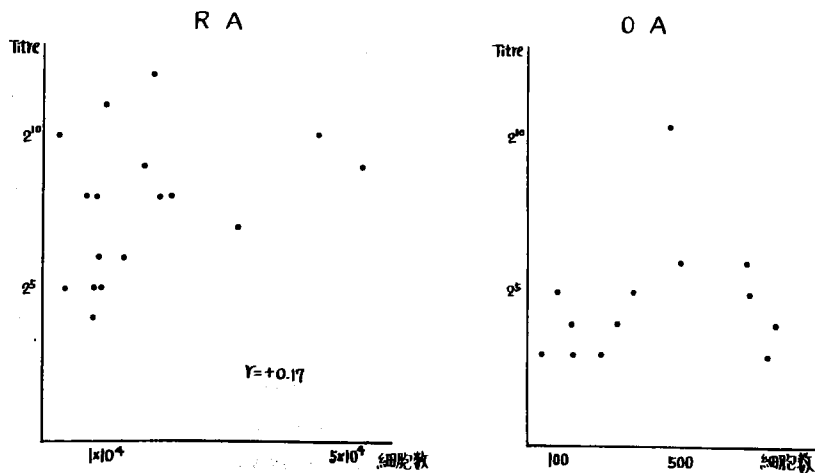


図4 滑液中の細胞数とRF力価 (HellerFll法)

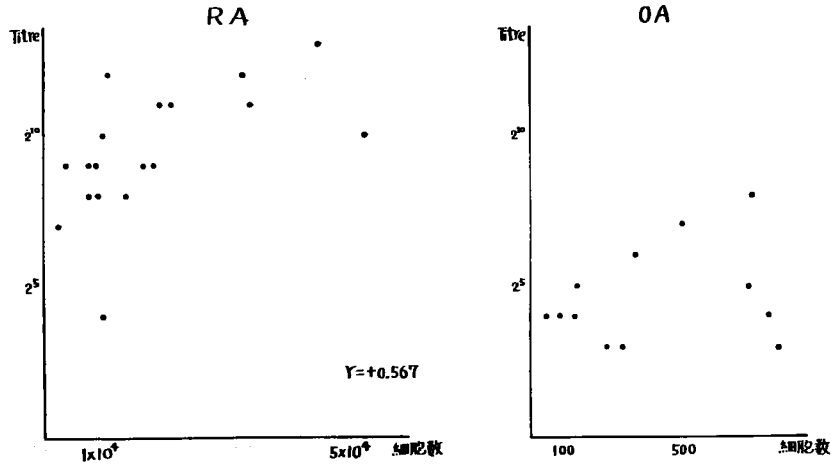
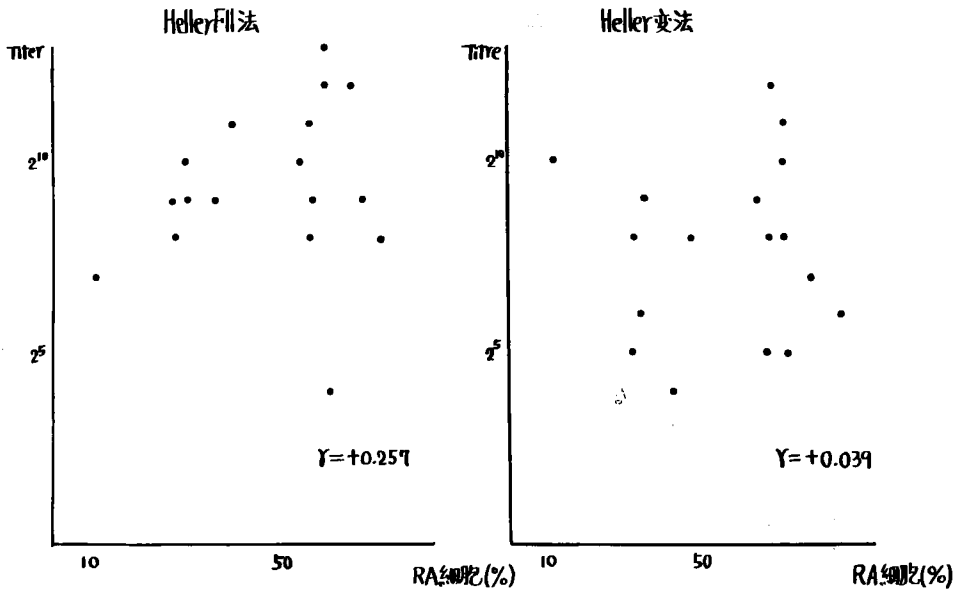


図5 RA滑液中RA細胞とRF力価



実験対象は、当科入院及びリウマチ外来の definite 以上の RA 患者で、男子14例と女子58例の計72例であり、血清コントロールは正常人10例より、滑液のそれは OA 患者23例より得た検体をそれぞれを使用した。滑液は主に膝関節より採取し、その後直ちにスプレーゼ処理し2000rpm 10分間遠沈して上清を使用した。実験方法は、各検体に関し RA テストにて RF の力価を測定し、滑液に関しては、塚本氏法による  $\beta$ -glucuronidase 総活性値を測定し、更に、

Torrighiani の方法に<sup>12)</sup>準じて Antiglobulin factor を IgG, A, M 別に測定した。即ち、2.2×18cm の DEAE セルロースカラムを用いて得たヒト IgG (160 mg) に Bisdiazotized Benzidine (BDB) 0.72ml を加え、30分 4℃ で攪拌後、更に 8N 炭酸カリウム 0.1 ml を攪拌しつつ加え、不溶性 IgG を作成し 4℃ の生食で洗滌。1M glycine buffer を加え 4℃ 一夜放置後遠沈し、沈渣を 0.1M glycine-HCl buffer で一回洗滌後、更に、生食で十分洗滌した後これを

抗原とした。尚、BDB液は、180mgのベンチジンを6N塩酸1.87mlで溶解し、蒸留水7.9mlを加え5分間振盪混和後、亜硝酸液（蒸留水32mlに亜硝酸1.3gを含む）7mlを追加し、更に、酢酸ナトリウム10ml（蒸留水10mlに酢酸ナトリウム4.15gを含む）を攪拌混和しつつ加え作成した。

Antiglobulin factorは、抗原となる不溶性のBDB処理IgG 4ml（1ml中にIgG 40mgを含む）に、56℃30分で非動化した血清又は滑液を加え1時間 incubateし4℃で一晩放置後、2000rpm 5分間遠沈し、上清中の蛋白が日立分光光度計139型を使用し、OD 280 mμで全く認められなくなるまで4℃の0.11M PBS PH 7.2で十分洗滌後、0.1M グリシン塩酸バッファ-2mlに suspensionし、0.8×2cmのカラムに充てんし、溶出液を直ちに0.5N水酸化ナトリウム0.4ccで中和後一定量に調節し、溶出液中のIgG, M, をHyland社製の low level immunoplate で測定した。測定時 low level immunoplate の検出可能値は、IgG 2.3mg/dl, IgA 5.75mg/dl, IgM 4.5mg/dlであったため、4倍に濃縮した試料を使用し、沈降輪より求めた各免疫グロブリン量を4で除し元の血清中に含まれる Antiglobulin factor のIgG, A, M量とした。従って、IgGは0.575mg/dl, IgAは1.125mg/dl, IgMは0.825mg/dl以下は測定不能であった。

## (2) 結果

コントロールにおいては、血清、滑液とも Antiglobulin factor は検出不能であった。

RA血清に関しRAテスト(+)群と(-)群に分けて、Antiglobulin factorをIgG, A, M別に比較検討するに、両群ともIgG, IgMにかなりのばらつきがみられるが、その平均値はRAテスト(+)群のIgGが4.66mg/dl, IgA 1.1mg/dl, IgM 4.28mg/dl, 一方、RAテスト(-)群では、IgG 4.27mg/dl, IgA 0.69mg/dl, IgM 1.20mg/dlで、IgG Antiglobulin factorは、その平均値において両群ほぼ同様となり、IgM, IgAはRAテスト(+)群に高値の傾向を示したが、両群の各Ig間には有意差は認めなかった。

尚、平均値は検出不能例のAntiglobulin factorを0mg/dlとみなし算出した。(図6)

RA活動性について全身所見を、血沈、CRP反応及び生活機能状態を示すclass、骨破壊の進行を示すSteinbrocker分類のstageを指標として、血清中のAntiglobulin factorを比較してみると、血沈との間には、血沈1時間値50mm以下群に比し50mm以上群において、Antiglobulin factorのIgG, A, Mの

図6 RA test and anti-humanglobulin factors

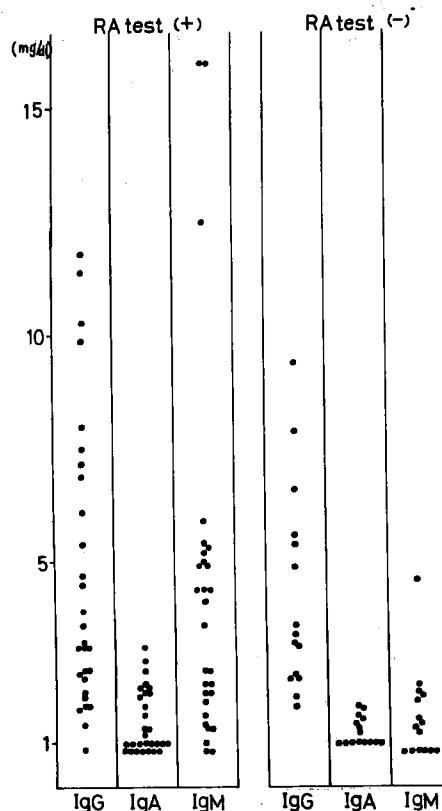


図7 CRP and antiglobulin factors

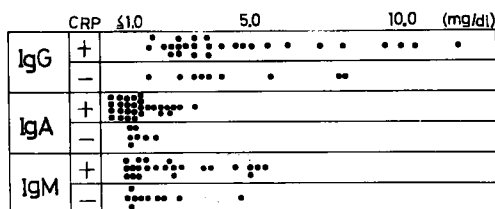


表3 Relationship between level of ESR and Antiglobulin factors

ESR (mm/h)	50未満	50以上	P
IgG	4.53未満 4.53以上	13 2	6 13 P < 0.05
IgA	0.96未満 0.96以上	10 5	4 15 P < 0.05
IgM	3.23未満 3.23以上	14 1	10 9 P < 0.05

全てが有意に高値であった。(表3)

CRP 反応の陽性群と陰性群では、両群とも各 Ig Antglobulin factor に差をみなかった。(図7)

次に、対象となった全 RA 患者血清の各 Ig Antglobulin factor 平均値を基準として、平均値以上群と平均値以下群に分け、各 class 及び stage 間を fourfold table 法で検討するに、class との間では IgM Antglobulin factor が、class I と class II 以上の間において、class II 以上の群に有意に高値を示したが、他の Antglobulin の各 class 間には有意差を認めず(表4)、stage の間では、IgG Antig-

表4 Relationship between Class and level of antiglobulin factors

Class :	1	2	3	4	
IgG	4.53未満	9	9	0	0
	4.53以上	3	10	4	1
P		ns	ns	ns	
IgA	0.96未満	7	6	1	0
	0.96以上	5	13	3	1
P		ns	ns	ns	
IgM	3.23未満	12	9	3	1
	3.23以上	0	10	1	0
P		<0.05	ns	ns	

表5 Relationship between Stage and level of antiglobulin factors

Stage :	1	2	3	4	
IgG	4.53未満	7	3	4	5
	4.53以上	0	1	2	14
P		<0.05	<0.01	<0.005	
IgA	0.96未満	3	3	3	5
	0.96以上	4	1	3	14
P		ns	ns	ns	
IgM	3.23未満	6	4	5	10
	3.23以上	1	0	1	9
P		ns	ns	ns	

表6 Level of Antglobulin Factors compared in RA test positive and RA test negative RA Serum

	RA test(+)	RA test(-)	P
IgG	4.66±0.42	4.27±0.41	n.s
IgA	1.10±0.13	0.69±0.14	n.s
IgM	4.28±0.53	1.20±0.23	n.s
Synovial fluid			
IgG	10.47±1.13	4.45±0.31	n.s
IgA	0.90±0.08	0.58±0.13	n.s
IgM	3.81±0.33	2.36±0.24	n.s

Mean ± SE (mg/dl)

lobulin factor のみが各 stage 間で骨破壊の進行した症例に有意に高値を示したが、その他の Ig の各 stage 間には有意差をみなかった。(表5)

一方、滑液中の Antglobulin factor を血清に関して行つたと同様、RA テスト(+)群と(-)群に分け比較するに、IgG Antglobulin factor は、RA テスト(+)群が平均値において RA テスト(-)群の約2倍と高値を示したが、分布が大で推計学的に有意差はなかった。IgA、IgM は、血清と同様 RA テスト(+)群に高値の傾向であった。(表6)

次に、各 class 及び stage について検討するに、class では、IgG Antglobulin factor は class I と II 以上の群の間に、IgM Antglobulin factor は class II 以下と class III 以上の群の間に、それぞれ生活機能状態の増悪群に有意に高値であった。IgA Antglobulin factor は各 class 間に差をみない。(表7)

stage との間には血清におけると同様、IgG Antglobulin factor は、stage の進行した症例に有意に高値を示したが、更に、IgM Antglobulin factor の stage II 以下と III 以上群の間にも、有意に骨破壊の進行した例に高値であった。(表8)

関節局所の炎症程度を  $\beta$  glucuronidase 総活性

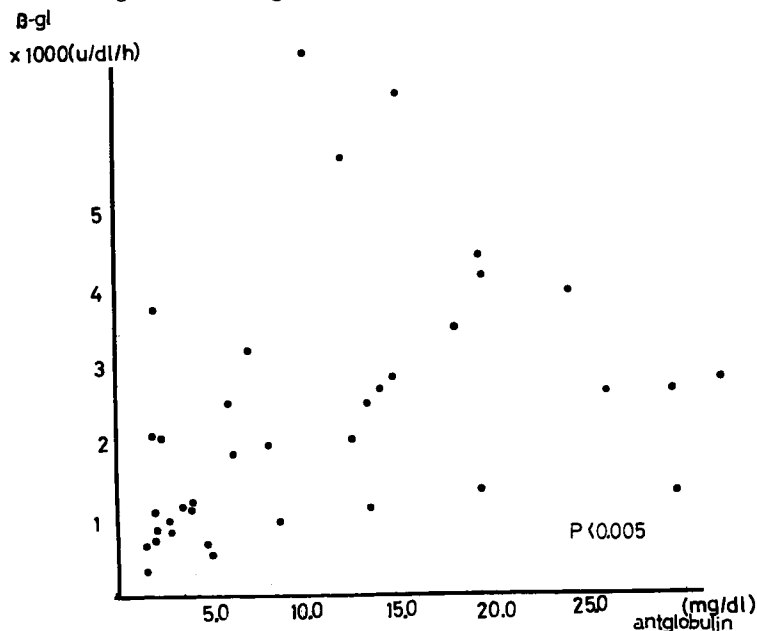
表7 Relationship between Class and level of antiglobulin factors

Class :	1	2	3	4	
IgG	9.16未満	7	25	1	0
	9.16以上	0	21	4	0
P		<0.05	ns	ns	
IgA	0.83未満	3	24	0	0
	0.83以上	4	21	5	0
P		ns	ns	ns	
IgM	3.45未満	5	27	0	0
	3.45以上	2	18	5	0
P		ns	<0.05	ns	

表8 Relationship between Stage and level of antiglobulin factors

Stage :	1	2	3	4	
IgG	9.16未満	7	8	14	3
	9.16以上	0	2	4	19
P		<0.05	<0.005	≒0	
IgA	0.83未満	3	3	11	9
	0.83以上	4	7	7	13
P		ns	ns	ns	
IgM	3.45未満	6	9	9	9
	3.45以上	1	1	9	13
P		ns	<0.01	ns	

図8 Relationship between beta-glucuronidase activity and IgG anti-human globulin level in RA



値を指標として、IgG Antiglobulin level を比較するに、両者の間には有意な正の相関を示した。(図8)

#### IV RA 血清及び滑液中 Antiglobulin factor に及ぼす金塩の影響

##### (1) 実験対象及び実験方法

実験対象は、当科リウマチ外来及び入院の definite 以上の RA 男子3例、女子16例の計19例である。全例金塩投与中の症例で、3ヶ月間以上の間隔で前後2回にわたり採血し、同時に膝関節水腫の認められた症例は関節より滑液を採取した。

血清は、19例全例前後2回とも採取したが同時期に滑液を採取し得た例は15例であった。RAの活動性は、採血時の血沈、CRPを指標とした。採取した検体に関して、金濃度は日立の原子吸光度計で、Antiglobulin factor は前記の方法を用いそれぞれ測定し、治療経過中における金濃度と Antiglobulin factor level を比較検討した。

##### (2) 結果

実験対象19例中、金療法により自覚的臨床所見の改善を認めた症例は9例であり、残りの症例は、経過観察中金塩の効果が認められなかった。さて、改善群をみるに(表9)、実験開始時、既に20ないし

表9 金療法有効例の金濃度および各 RF の推移 Serum

	before	after	P
gold level ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	203 $\pm$ 27	196 $\pm$ 29	ns
IgGRF (mg/dl)	4.73 $\pm$ 2.13	3.54 $\pm$ 1.19	ns
IgARF (mg/dl)	1.07 $\pm$ 0.16	0.77 $\pm$ 0.10	ns
IgMRF (mg/dl)	1.74 $\pm$ 0.29	1.06 $\pm$ 0.12	ns

##### Synovial fluid

	before	after	P
gold level ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	105 $\pm$ 17	140 $\pm$ 34	ns
IgGRF (mg/dl)	5.98 $\pm$ 0.91	4.92 $\pm$ 0.57	ns
IgARF (mg/dl)	0.83 $\pm$ 0.32	0.44 $\pm$ 0.19	ns
IgMRF (mg/dl)	1.68 $\pm$ 0.32	1.46 $\pm$ 0.22	ns

(M $\pm$ SE)

1200mg の金塩が投与されており、開始時の血中金濃度は平均203.3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ を示した。血中 Antiglobulin factor に関しては、IgG の平均値が4.73mg/dl、IgA のそれは0.97mg/dl、IgM で1.74mg/dlであった。3ヶ月以上経過した時点では、金塩投与総量は125ないし1325mg で、血中金濃度の平均は195.6 $\mu\text{g}/\text{dl}$ とはほぼ一定していた。また、血中 Antiglobulin factor は、IgG が3.54mg/dl、IgM 1.06mg/dlとなったが、IgA は全例検出不能であり経過とともに減少してい

た。

改善症例中、採血と同時期に前後2回にわたり滑液を採取し得た症例は6例であったが、初回における滑液中金濃度の平均は、 $105 \mu\text{g}/\text{dl}$ 、各 Antiglobulin factor の平均では、IgG が  $5.98 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgA  $0.83 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgM  $1.68 \text{ mg}/\text{dl}$ 、であった。3ヶ月以上経過した時点においては、滑液中の金濃度は、平均  $140 \mu\text{g}/\text{dl}$  と上昇傾向を示し、各 Antiglobulin factor の平均は、IgG が  $4.92 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgA  $0.44 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgM  $1.46 \text{ mg}/\text{dl}$  と減少した。しかし、血中、滑液中の金濃度および各 Antiglobulin level は、測定前後において推計学的に有意な増減は認めなかった。

一方、金療法の効果が見られなかった症例10例

表10 金療法無効例の金濃度および各 RF の推移 Serum

	before	after	P
gold level ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	$199 \pm 29$	$162 \pm 20$	ns
IgGRF (mg/dl)	$6.43 \pm 0.22$	$7.48 \pm 0.60$	ns
IgARF (mg/dl)	$0.80 \pm 0.23$	$0.76 \pm 0.22$	ns
IgMRF (mg/dl)	$2.08 \pm 0.27$	$2.24 \pm 0.28$	ns

#### Synovial fluid

	before	after	P
gold level ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	$111 \pm 13$	$82 \pm 13$	ns
IgGRF (mg/dl)	$8.20 \pm 1.19$	$9.90 \pm 1.22$	ns
IgARF (mg/dl)	$0.86 \pm 0.08$	$0.79 \pm 0.18$	ns
IgMRF (mg/dl)	$2.62 \pm 0.45$	$2.27 \pm 0.40$	ns

(M $\pm$ SE)

(表10)について同様に比較検討するに、実験開始時の金塩総投与量は、 $20 \sim 1200 \text{ mg}$  で、同時期における血中金濃度の平均は、 $199 \mu\text{g}/\text{dl}$ 、IgG Antiglobulin level の平均は、 $6.43 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgA のそれは  $0.80 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgM は  $2.08 \text{ mg}/\text{dl}$  であった。3ヶ月以上経過した時点では、金塩総投与量  $80 \sim 1400 \text{ mg}$  となったが、血中金濃度は、平均  $162 \mu\text{g}/\text{dl}$  と減少し、Antiglobulin level は、IgG が  $7.48 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgA  $0.76 \text{ mg}/\text{dl}$ 、IgM  $2.24 \text{ mg}/\text{dl}$  とそれぞれ上昇していた。採血と同時期に採取し得た10例中9例の滑液をみるに、実験開始時金濃度の平均が  $111 \mu\text{g}/\text{dl}$  であったものが  $82 \mu\text{g}/\text{dl}$  と減少し、各 Antiglobulin factor では、IgG が  $8.20 \text{ mg}/\text{dl}$  から  $9.91 \text{ mg}/\text{dl}$  へ、IgA は  $0.27 \text{ mg}/\text{dl}$  から  $0.79 \text{ mg}/\text{dl}$  へ上昇傾向を示した。IgM は  $2.62 \text{ mg}/\text{dl}$  が  $2.27 \text{ mg}/\text{dl}$  と平均値においてわずかに減少していた。しかし、改善群におけると同様に、治療効果の認められなかった群においても、血中および滑液中の金濃度と各 Antiglobulin level の平均

値は、測定前後において有意な増減は認めなかった。

## V 考 察

RF は、RA をはじめその他膠原病や結核、梅毒、サルコイドーシス、肝疾患、マクログロブリン血症等の患者血清中にしばしば出現し、変性  $\gamma$  グロブリンに対する自己抗体と考えられている。その検出方法は数多くあるが、Singer は<sup>13)</sup> これらを immune sensitized と nonimmune sensitized system の2つに大別した。即ち、immune sensitized system は、 $\gamma$  グロブリンを特異的免疫学的親和性にもとづき粒子に結合させ、この粒子と RF との間に凝集反応を生ぜしめる方法であり、これには、Waalser-Rose 反応、Heller 変法等<sup>14)</sup> の感作羊血球法と、ヒト O 型 Rh(D) 陽性血球に抗 D 不完全抗体を感作した感作ヒト血球法<sup>15)</sup> が含まれる。一方、nonimmune sensitized system は、reactant としての  $\gamma$  グロブリンを粒子に非免疫学的、非特異的に吸着せしめ、これを RF で凝集させる反応であり、粒子としてタンニン酸処理羊血球を用いヒト  $\gamma$  グロブリンを被覆して患者血清との間の凝集反応をみる Heller F II 法<sup>16)</sup> や、赤血球の代りに Latex 粒子、Bentonite 粒子、この他近年では、イオン交換樹脂を用い全血のまま RF の検出可能な方法<sup>17)</sup> 等、多数が含まれる。これら検出法の中で、著者は、Heller 変法、Heller F II 法、及びラテックステストである RA テストを用い、RA 血清と滑液及び OA 滑液中に含まれる RF 力価を測定した。従来より Waalser-Rose 反応は、他の RF 検出法に比し、その検出率が低いといわれている<sup>7)</sup> が、著者の RA 血清における陽性率も、Waalser-Rose 反応の改良型である Heller 変法を用いた場合が最も低く、同一血清を両方で測定した結果でも、Heller 変法による RF 力価が Heller F II 法を用いてのそれに比し、より高値を示した症例は33例中3例にすぎなかった。抗原が同じヒト IgG である RA テスト、Heller F II 法の間においても検出率の差がみられ、RA テスト陰性群の半数に Heller F II 法による陽性例が認められた。一方、RA 滑液中の RF 力価に関して、Huskiisson ら<sup>18)</sup> の報告によれば、Waalser-Rose 反応では、definite 以上の seronegative RA 患者滑液の42%が、また OA 患者滑液の37%がそれぞれ陽性であり、一方、ラテックステストでは seronegative RA 滑液の63%に、OA 患者滑液の26%に陽性を認め、この結果より、RF の滑膜局所の産生を推論するとともに、滑液においては、



Waalser-Rose 反応よりはむしろラテックステストが RA 滑液か否かの判定に有用であるとし、その他 Rodnan ら<sup>19</sup> Guariglia ら<sup>20</sup> も同様な報告をしている。

著者の Heller 変法と Heller F II 法による RA 滑液中の RF 力価には差を認めなかったが、OA 滑液では、両測定法ともに15例中5例が RF 陽性であり、また seronegative RA 患者滑液中の RF も RA テストで5例中4例が陽性を示し、彼らの報告と同様の結果を得た。

RA 滑液中には、好中球を主とした白血球増多がみられる。Borel ら<sup>21</sup>によれば、RF には、ヒト又はウサギ血清の存在下で白血球遊走作用が認められ、特にウサギ血清の場合その作用がより著しいとしているが、著者の結果によれば、RF 力価が高くても白血球数の上昇が著しくない症例もみられ、白血球数と RF 力価の間には相関は認められなかった。

これらの白血球中には、細胞質内に直径0.5~1.5  $\mu$  の封入体を有す所謂 RA 細胞が出現するが、Hollander ら<sup>22-24</sup>によれば、この細胞は、関節腔内で生じた RF と変性 IgG の複合体が好中球により貪食されてきたものであると考えられている。彼らは、RA 関節炎の発症原因を、この RA 細胞の崩壊により lysosomal enzyme が活性化されて放出されるためであるとしているが、この細胞が RA 滑液中に高率に存在することは他に多くの報告がみられる<sup>25-28</sup>。著者は、RA 滑液の生標本を用い、RA 細胞の出現率と滑液中 RF 力価の相関の有無を検査したが、両者の間には相関は認められなかった。

以上、検討した RF は、大部分が免疫グロブリン IgM に属する RF であるが、Chodirker ら<sup>29</sup>や堀内ら<sup>30</sup>により、IgG、IgA に属する RF (IgG RF、IgA RF) の報告がみられるようになり、RF が他の免疫グロブリンにも属することが明らかとなってきた。そこで、著者は、Torrighiani ら<sup>31</sup>の方法を一部修正し、RA 血清及び滑液中の RF をヒト IgG を抗原として、IgG、A、M 別に検討を加えた。RA 血清中には、RF 以外に抗 IgG 抗体が種々存在することが報告されている<sup>32</sup>が、本法では、ヒト IgG を BDB で aggregate せしめたヒト変性 IgG を抗原とし、また BDB によって aggregate せずに抗原と結合した残留 IgG を酸性溶液で分離除去する操作を加え、検体を非動化しておくことから、この抗原に付着する抗体は大部分が検体中の RF 活性を示すものと考えられる。IgG 分子中の RF に対する抗原決定基の発現

機序に関して定説はないが、invitro において、IgG に BDB や尿素処理および加熱等の操作を加えた場合、IgG が本来有している抗原決定基が曝露した結果なのか、または、変性により高次構造の変化で新しく創られたものなのか等の可能性が考えられるが、広瀬<sup>33</sup>は、後者によるものではなかろうかとしている。最近、血管炎を伴う RA、所謂悪性関節リウマチが注目されるようになり、本症患者血清中において、IgG RF や IgM の subunit である 7S IgM に属する RF が高値に存在するといわれるようになり、Theofilopoulos ら<sup>34</sup>によれば、血管炎を伴う RA の67%に IgG RF が、80%に 7S IgM RF が認められるという。一方、組織学的に血管炎の認められない普通の RA の中で、seronegative RA といわれている例においても、Torrighiani<sup>32</sup>によれば、40例中34例に IgG Antigl obulin factor (IgG rheumatoid factor) を認めており、従来から言われている seronegative RA という定義が曖昧になってきつつある感を持つ。

さて、著者の結果では、対照として用いた正常人血清10例中の Antigl obulin factor は、IgG、A、M ともに全例認められず、RA 患者血清を RA テスト陽性群と陰性群に分け、RF を IgG、A、M 別に比較するに、IgG RF の平均値は両群ともほぼ同様であるが、IgA RF と IgM RF は、seropositive RA 群の平均値が seronegative RA 群の1.6倍及び3.5倍の値を示した。特に、seronegative RA でも IgG RF の平均値が高値を示したことは、Torrighiani<sup>32</sup>や Danish<sup>35</sup>らの報告と同様であった。従来より、IgM RF と RA の活動性に関する報告は多数みられ、また最近では、前述した如く、悪性関節リウマチにおける IgG RF や 7S IgM RF の病因的意義についての報告は散見されるが、RF を IgG、A、M 別に分けて、それらと RA の活動性との相関を検討した報告は少ないようである。山本は<sup>36</sup> Antigl obulin augmentation technique による IgG RF の検出を試み、IgG RF 力価と臨床症状、検査所見等との間に一定の関係はなかったとしているが、著者は、血清 RF の各 IgG、A、M と血沈、CRP、class、stage を指標とした RA の活動性とを比較検討した結果、IgG RF が、stage 即ち骨破壊程度の進行した症例に有意に増加し、滑液においても血清と同様、IgG Antigl obulin level が stage の進行とともに上昇し、また、リゾソーム酵素の一つである  $\beta$ -glucuronidase 値の上昇に伴って、即ち、関節局所炎症の増悪とと

もに有意に増加していた。

RF への補体結合能に関し、谷本ら<sup>25)</sup>は、直接溶血法で IgM RF が IgG RF に比しより強力であるとしているが、鈴木は<sup>26)</sup>純化した RF が reactant と結合した場合、IgM RF よりむしろ IgG RF に著るしくその作用が強力であるとしている。著者の得た結果は、鈴木の説を臨床的に裏付けるものである。

さて、RA の金療法中に RF の力価が減弱ないし陰転化することが知られているが、吉沢によれば<sup>27)</sup>その割合は金治療群の 37.3% であり、対照群の 11.3% に比し有意差を認めたとしている。著者は、金療法施行中の RA 患者について、3ヶ月以上の間隔で前後 2 回にわたり、RF 力価と IgG, A, M 別に測定したが、血中および滑液中の金濃度が減少傾向を示さず、経過観察中、自他覚的に臨床所見の改善した症例では、血中、滑液中ともに、各 Antiglobulin factor は、経過とともに軽度減少した。一方、金塩の継続投与中にもかかわらず、血中、滑液中金濃度の維持が不十分で関節炎症の持続している症例では、各 class の Antiglobulin level は、血中、滑液中ともに不変ないしは増加する傾向にあった。RA においては、免疫グロブリンの特に IgG および IgM の turnover は亢進しているといわれているが<sup>28)</sup> Mouridsen らは<sup>29)</sup>金療法の有効例では IgG の turnover の軽度の改善を示したとしている。著者の得た結果と彼らの報告を併せ考えるに、金療法有効症例の RF 力価の減弱ないし陰転化は、金塩の免疫抑制作用によるとするよりは、むしろ、金塩による消炎の結果二次的に生じた現象であると考えられるが、著者の臨床成績からは、その詳細を窺い知ることはできなかった。

## VI 結 語

慢性関節リウマチ (RA) におけるリウマチ因子 (RF) の病因的意義を調査するとともに、IgG 型 RF の測定を試み、更に金塩の RF に対する影響を臨床的に検討し下記の結果を得た。

(1) RA 血清の RF 陽性率は RA テストで 78.9%、Heller F II 法で 90.9%、Heller 変法では 72.7% であり、RA 滑液では RA テストで 94.7%、Heller F II 法で 100%、Heller 変法で 94.4% となり、変形性関

節症 (OA) 患者滑液中でも、RF は RA テストで 14.3%、Heller F II 法および Heller 変法では 33.3% に認められた。

(2) 同一の RA 血清を用い、RF 力価を Heller F II 法と Heller 変法と比較するに、Heller F II 法がより高い力価を示す傾向にあった。

(3) 同一の RA 患者より同時に採取した血清と滑液中 RA テストの一致率は 76.2% であり、一方、不一致例中血清の RA テストが陰性で滑液中のそれが陽性を示した症例は全体の 19% に認められた。Heller 変法と Heller F II 法を用いた場合でも同様の傾向を示した。

(4) RA, OA 滑液中の RF 力価と細胞数、および、RF 力価と RA 細胞数の間には相関はなかった。

(5) seropositive RA と seronegative RA 患者における血清中の IgG antiglobulin factor (rheumatoid factor) の平均値は、両者ともほぼ同様であった。

(6) RA 患者の血沈亢進症例では、亢進していない症例に比し、有意に、IgG, A, M の各 antiglobulin factor が増加していた。

(7) RA 患者の CRP 陽性群と CRP 陰性群の間には各 antiglobulin level に差を認めなかった。

(8) RA 患者における骨破壊の進行した症例では、血中および滑液中ともに、IgG antiglobulin factor が有意に増加していた。

(9) RA 滑液中の IgG antiglobulin factor と  $\beta$ -glucuronidase 総活性値は有意な正の相関を示した。

(10) RA 患者の金療法有効例では、血中および滑液中の金濃度はほぼ一定ないしは増加の傾向がみられ、各 antiglobulin factor は経過とともに軽度減少した。

(11) 金療法の無効例では、血中および滑液中の金濃度は経過とともに減少する傾向にあり、一方各 antiglobulin factor は不変ないしは増加するようであった。

稿を終るに臨み御指導、御校閲いただいた恩師大藤真教授、江沢英光講師に深く感謝致します。

(本論文の一部は第 19 回日本リウマチ学会 (1975, 京都) で発表した。)

## 文 献

- 1) Cecil, R. I., Nicholls, E. E., and Stainby, W. J.: Characteristics of streptococci isolated from patients with rheumatic fever and chronic infectious arthritis. *Proc. Am. Pathologists and Bacteriologist, Am. J. Path.*, **6** : 619, 1930.
- 2) Waaler, E.: On the occurrence of a factor in human sera activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles *Acta Path. Microbiol. Scandinav.*, **17** : 172, 1940.
- 3) Rose, H. W., Rogan, C., Pearce, E., and Lipman, M. O.: Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **68** : 1, 1948.
- 4) Heller, G., Jacobson, A. L., Kolodny, M. H. and Kammerer, W. H.: The hemagglutination test for rheumatoid arthritis. II. The influence of human plasma fraction II. (gamma globulin) on the reaction. *J. Immunology*, **72** : 66, 1954.
- 5) Singer, J. M., and Plotz, C. M.: The latex fixation test I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am. J. Med.*, **21** : 888, 1956.
- 6) Bozicevich, J., Bunim, J. J., Freund, J., and Ward, S. B.: Bentonite flocculation test for rheumatoid arthritis. *Proc. Exp. Biol. Med.*, **97** : 180, 1958.
- 7) 川上保雄, 高橋昭三, 坂本孝雄, 鳥越公造: リウマチ血清反応. *綜合臨床*, **12** : 463, 1963.
- 8) Adachi, M., Atsumi, T., Saito, N., Nakamura, M., and Horiuchi, Y.: Detection of IgA- and IgG-rheumatoid factors by antiglobulin augmentation technique. *Int. Arth. Allergy*, **35** : 77, 1969.
- 9) Theofilopoulos, A. N., Burtonboy, G., Lospalluto, J. J., and Ziff, M.: IgM rheumatoid factor and low molecular weight IgM. An association with vasculitis. *Arth. Rheum.*, **17** : 272, 1974.
- 10) Persellin, R. H., Hess, E. V., and Ziff, M.: Effect of a gold salt on the immune response. *Arth. Rheum.*, **10** : 99, 1967.
- 11) Liebelt, R. A., and Liebelt, A. G.: Inhibition of leukenogenesis in goldthioglucoese-obese mice. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*. **3** : 4, 1962.
- 12) Torrigiani, G., and Roitt, I. M.: Antiglobulin factors in sera from patients with rheumatoid arthritis and normal subjects. Quantitative estimation in different immunoglobulin classes. *Ann. Rheum. Dis.*, **26** : 334, 1967.
- 13) Singer, J. M.: The latex fixation test in rheumatic disease. *Am. J. Med.*, **31** : 766, 1961.
- 14) 前田晃: Waaler-Rose 反応について. *臨床病理*, **10** : 22, 1962.
- 15) Grubb, R.: Agglutination of erythrocytes coated with "incomplete" anti-RH by certain rheumatoid arthritis sera and some other sera. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.*, **39** : 195, 1956.
- 16) 進藤宙二(監): 免疫学アレルギー学実験法. 文光堂, 東京. 1971
- 17) 江沢英光, 土橋康男, 業天洋三, 大原敦: 全血を用いたリウマチ因子検出法と内科疾患におけるその陽性率について. *綜合臨床*, **19** : 2501, 1970.
- 18) Huskisson, E. C., Hart, F. D., and Lacey, B. W.: Synovial fluid Waaler-Rose and latex tests. *Ann. Rheum. Dis.*, **30** : 67, 1971.
- 19) Rodnan, G. P., Eisenbeis, C. H., and Creighton, A. S.: The occurrence of rheumatoid factor in synovial fluid. *Am. J. Med.*, **35** : 187, 1963.
- 20) Guariglia, E., Berkowitz, S., and Steinbrocker, O.: Latex agglutination in serum and synovial fluid. *Arth. Rheum.*, **3** : 477, 1960.

- 21) Borel, J. F., Sorkin, E., and Loewi, G.: Neutrophil chemotaxis mediated by rheumatoid factor. *Immunology*, **21**: 165, 1971.
- 22) Hollander, J. L., Mccarty, D. J., Astorga, G., and Gastro-Murillo, E.: Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation. I. The "RA cell" and a working hypothesis. *Ann. Intern. Med.*, **62**: 271, 1965.
- 23) Rawson, A. J., Abelson, N. M., and Hollander, J. L.: Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation. II. Intracytoplasmic particulate complexes in rheumatoid synovial fluid. *Ann. Intern. Med.*, **62**: 281, 1965.
- 24) Restifo, R. A., Lussier, A. J., Rawson, A. J., Rockey, J. H., and Hollander, J. L.: Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation. *Ann. Intern. Med.*, **62**: 285, 1965.
- 25) Vojtisek, O., Havelka, S., and Vilimex, P.: Leucocytes in rheumatoid arthritis. *Lancet*, **1**: 1325, 1966.
- 26) Willkens, R. F., and Healey, L. A.: The nonspecificity of synovial leucocyte inclusions. *J. Lab. Clin. Med.*, **68**: 628, 1966.
- 27) Peltier, A., Delbarre, F., and Krassinine, G.: Hemolytic complement level and ragocyte (RA cell) concentration in synovial fluid. *Ann. Rheum. Dis.*, **26**: 528, 1967.
- 28) Sones, D. A., Mcduffie, F. C., and Hunder, G. G.: The clinical significance of the RA cell. *Arth. Rheum.*, **11**: 400, 1968.
- 29) Chodirker, W. B., and Tomasi, T. B.: Low-molecular-weight rheumatoid factor. *J. Clin. Invest.*, **42**: 876, 1963.
- 30) Witebsky, E.: Experimental production of rheumatoid factor. *Arth. Rheum.*, **6**: 402, 1963.
- 31) 広瀬俊一: リウマトイド因子. *臨床免疫*, **5**: 1189, 1973.
- 32) Torrigiani, G., Roitt, I. M., Lloyd, K. N., and Corbett, M.: Elevated IgG antiglobulins in patients with seronegative rheumatoid arthritis. *Lancet*, **1**: 14, 1970.
- 33) Panush, R. S., Bianco, N. E., and Shur, P. H.: Serum and synovial fluid IgG, IgA and IgM antigammaglobulins in rheumatoid arthritis. *Arth. Rheum.*, **14**: 737, 1971.
- 34) 山本栄司: IgG リウマトイド因子の研究. *リウマチ*, **10**: 272, 1970.
- 35) 谷本潔昭, Cooper, N. R., Johnson, J. S., and Vaughan, J. H.: リウマトイド因子の補体総合能力の新しい検出方法とその応用. *臨床免疫*, **6**: 567, 1974.
- 36) 鈴木達男: リウマチ因子の抗体依存性細胞に与える影響について. 厚生省特定疾患悪性関節リウマチ・結節性動脈周囲炎研究班昭和49年度研究報告書. **113**, 1975.
- 37) 吉沢久嘉, 東威, 大坪謙吾: 外来における慢性関節リウマチの臨床. *リウマチ* **9**: 43, 1969.
- 38) 勝田保男: 慢性関節リウマチと自己免疫. *臨床科学*, **7**: 421, 1971.
- 39) Mouridsen, H. T., Baerentsen, O., Rossing, N., and Jensen, B.: Lack of effect of gold therapy on abnormal IgG and IgM metabolism in rheumatoid arthritis. *Arth. Rheum.*, **17**: 391, 1974.

**Studies on chrysotherapy in rheumatoid arthritis**  
**Part III**  
**Pathogenesis of rheumatoid factor in rheumatoid arthritis**  
**and influence of gold salt on rheumatoid factor**  
**by**  
**Atushi OOHARA**

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Tadashi Ofuji)

The pathogenesis of rheumatoid factor (RF), especially IgG RF, in rheumatoid arthritis (RA) and the influence of gold salt on RF were studied clinically. The following results were obtained.

1) The incidence of RF sera was 78.9% by the RA test, 90.9% by the Heller FII method and 72.7% by the Heller Svartz method. In RA synovial fluid, the incidence of RF was 94% by the RA test, 100% by the Heller FII method and 72.7% by the Heller Svartz method. In osteoarthritis (OA) synovial fluid, the incidence of RF was 14.3% by the RA test and 33.3% by both the Heller FII and Heller Svartz method.

2) The RF titer of same RA serum was higher by the Heller FII method than by the Heller Svartz method.

3) RF response in RA serum and synovial fluid was identical in 76.2% of cases by the RA test. In 19% of the subjects, RA test was positive in synovial fluid but negative in serum.

4) No relationships were found between RF titer and white cell count or RA cell count in RA and OA synovial fluid.

5) The mean value of IgG RF was almost equal in seronegative and seropositive RA.

6) A statistically significant relationship was present between higher erythrocyte sedimentation rate and higher RF titer in RA patients.

7) No relationships were found in positive and negative C-reactive protein in the three RF subtypes in RA patients.

8) A correlation was present between a high grade of bone destruction and IgG RF value above the mean in RA serum and synovial fluid.

9) In RA synovial fluid, IgG RF level was parallel to total beta glucuronidase activity.

10) In effective cases of chrysotherapy in RA, serum and synovial fluid gold concentration did not decrease but the IgG RF level decreased slightly.

11) In non-effective cases of chrysotherapy in RA, serum and synovial fluid gold concentration decreased slightly but the IgG RF level was stationary or increased slightly.