

台灣烏腳病患者血清免疫化學之研究

劉嘉斌 吉本秋雄* 呂鋒洲**

為瞭解台灣烏腳病患者血清免疫化學之變化，遂檢查免疫球蛋白（immunoglobulin），補體系蛋白（complements），輸送系蛋白（transferring protein）及其他相關之項目。

以烏腳病患者17名及非烏腳病患者但居住於烏腳病流行地區之居民22名為檢驗討論之對象。分析結果如下：由免疫電泳（immunoelectrophoresis）測定結果知烏腳病患者之C-反應蛋白帶（C-reactive protein band, CRP band）出現率為6/7，非烏腳病患者居民為1/23。而補體系蛋白（complements）中之C3及C4，則烏腳病患者較非烏腳病患者居民有較偏高之趨向，但兩者均較正常人高。至於免疫性蛋白（immunoproteins）之IgA, M, G, E兩者間並無特異現象，而且兩者也都在正常值範圍之內。

血清 β 2-微球蛋白（ β 2-microglobulin, BMG）測定結果知兩者均較常人為高，但烏腳病患者較非烏腳病患者居民之陽性率高。輸送性蛋白（transferring proteins）系之鐵蛋白（ferritin），烏腳病患者比非烏腳病患者居民均呈異常低值，比正常值低。其他抗DNA抗體（anti-DNA-Anti-body），干擾素-r（interferon-r），介白質- α （interleukin-1 α ）及組織多肽抗原（tissue polypeptide antigen, TPA）並無特異現象。

Key Words: Blackfoot disease, immunochemistry

（中山醫學 1: 27~32, 1990）

烏腳病（Blackfoot disease）是台灣西南沿海一帶地區特有的地方性疾病。該病之臨床症狀頗似血栓閉塞性脈管炎（thromboangiitis obliterans），有肢端麻木、冷感、疼痛或發生潰瘍及脫落現象(1)。根據流行病學上之研究，證明此病與患區居民飲用之井水有密切關係(2)。分析井水中的成分後，發現引起此病之物質可能是螢光腐植物質（fluorescent humic substances）(3)。有關該病發生之機轉雖已有臨床治療(4)，病理(1)，流行病學(2)，血管收縮和血小板凝集等報告(5)，但在血清免疫化學上之研究，則尚缺乏。

本研究之目的，在於分析烏腳病患者之血

清免疫化學變化，並由分析結果與烏腳病流行地區之非烏腳病居民之免疫化學變化互作比較，以期瞭解烏腳病患者之免疫機能，並希望能進一步發展更好的烏腳病治療方法，來減輕烏腳病患者的痛苦。

材料與方法

血清檢體（serum samples）：

經臨床診斷確定為烏腳病患者（BFP）男性11名（年齡52-83歲），女性6名（年齡64-82歲）共計17名（總平均年齡為68 \pm 9.0歲）。非烏腳病患者但居住於烏腳病流行地區之居民

中山醫學院醫技系

* 日本微研中央研究所R1研究室

** 國立台灣大學醫學院生化研究所

(non-BFP)，男性12名(年齡34-79歲；除34歲1名外，其餘均為50歲以下)，女性10名(年齡27-78歲；除27歲1名外，其餘均為50歲以上)共計21名。以上BFP及non-BFP合計39名。檢體經採血後所分離之血清供分析各種免疫化學成分。

血清免疫化學成分之測定 (Determination of serum immunochemistry)：

一、利用寒天支持體免疫電泳法 (agar immunoelectrophoresis, IEP) 分析血清中C-反應蛋白帶 (C-reactive protein band, CRP band)。

二、以Turbidimetric immunoassay (TIA) 法測定complements (BIC/BA-globulin: C3; B1E-globulin: C4)。

三、以TIA法測定immunoglobulins之IgA, M, G; 以Radio-Immunoassay (RIA, Pharmacia) 法測定immunoglobulins之IgE。

四、以Competitive Protein Binding Assay (CPBA, Daiichi, RI Lab) 測定total iron binding capacity (TIBC) 及unsaturated iron binding capacity (UIBC)。

五、利用PSAP法 (Hitachi 376) 測定serum-iron (Fe-S)。

六、利用RIA法測定下列項目：

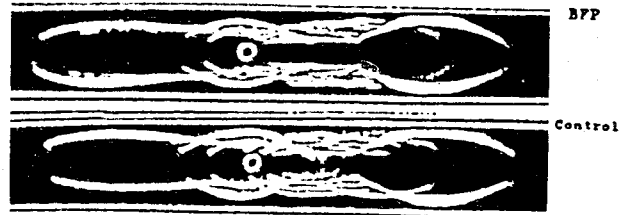
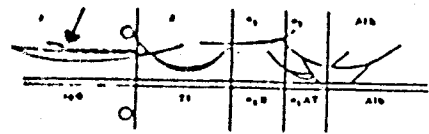
1. $\alpha 1$ -Microglobulin (AMG, Shionigi, LTD, CO)。
2. $\beta 2$ -Microglobulin (BMG, Pharmacia)。
3. Ferritin (Baxter)。
4. Tissue Polypeptide Antigen (TPA, Daiichi, RI Lab)。
5. Anti-DNA Antibody (anti-DNA-Ab, Amersham)。
6. Interferon-r (IFN-r, Centocor)。
7. Interleukin-1 α (IL-1 α , Amersham)。

結 果

一、C-反應蛋白帶 (CRP band)：

利用IEP分析7名BFP及23名non-BFP血清之結果，知7名BFP中6名出現CRP band (Fig 1箭頭指示)，出現率頗高；而23名non-BFP中只1名出現CRP band。

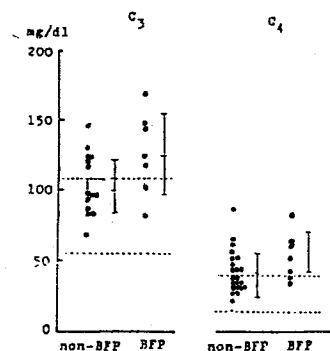
Fig 1. Immunoelectrophoresis of BFP



二、補體 (Complements)：

7名BFP之C3平均值為 125.96 ± 29.07 mg/dl，其中異常高值者有5名 (5/7)；而23名non-BFP之C3平均值為 103.86 ± 18.18 mg/dl，其中異常高值者有6名 (6/23)。7名BFP之C4平均值為 57.59 ± 14.87 mg/dl，其中異常高值者5名 (5/7)；而23名non-BFP之C4平均值為 41.16 ± 15.89 mg/dl，其中異常高值者10名 (10/23)。(Fig 2. 圖中點線範圍內為一般正常人之正常域)。由分析結果知，烏腳病患者較非烏腳病患者有偏高之趨向，而且兩者均較正常人高。

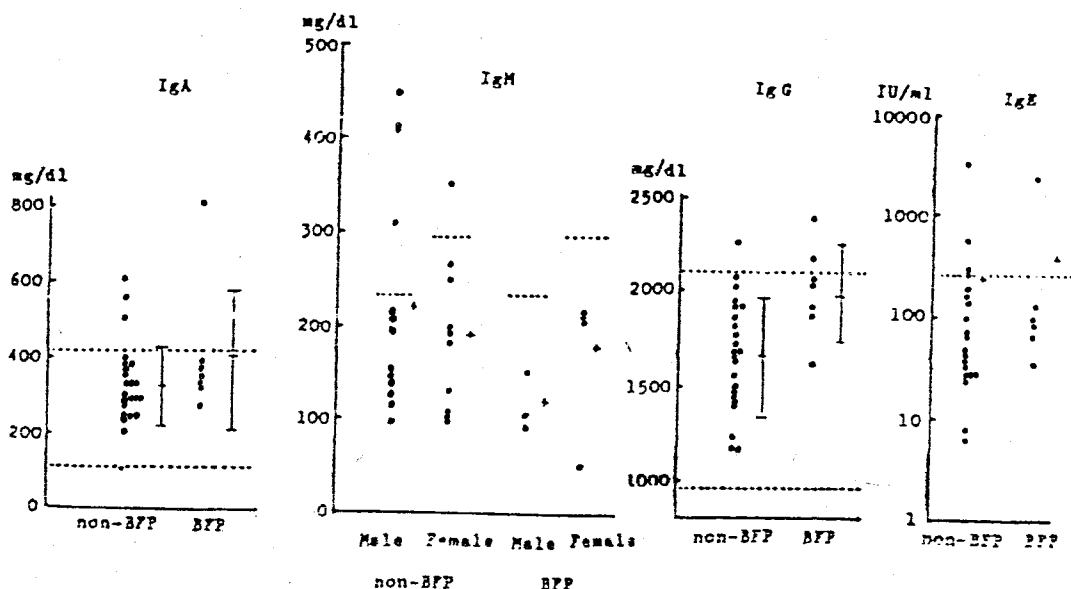
Fig 2. Serum levels of C3 and C4 in patients with Blackfoot disease (BFP) and non-Blackfoot disease but residence in endemic areas. (non-BFP)



三、免疫蛋白 (Immunoglobulins)：

免疫蛋白之IgA, M, G, E, 經測定結果如Fig 3所示。烏腳病患者除少部分有高值外，大部分均在正常值範圍內。(Fig 3)

Fig 3. Serum levels of IgA, IgM, IgG and IgE in patients with BFP

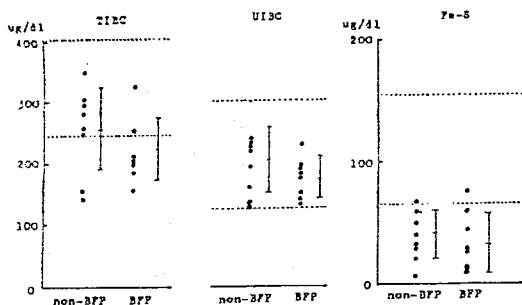


四、血清鐵相關項目(Serum iron associated):

8名BFP之TIBC平均值 $221.0 \pm 53.5 \mu\text{g/dl}$ ，其中5名呈異常低值(5/8)；UIBC之平均值為 $176.9 \pm 33.7 \mu\text{g/dl}$ ；Fe-S之平均值為 $33.4 \pm 24.4 \mu\text{g/dl}$ 。7名呈異常低值(7/8)。

9名non-BFP之TIBC平均值為 $257.6 \pm 67.9 \mu\text{g/dl}$ ，其中2名呈異常低值(2/9)；UIBC之平均值 $207.3 \pm 54.4 \mu\text{g/dl}$ ；Fe-S平均值為 $40.9 \pm 19.6 \mu\text{g/dl}$ ，其中8名呈異常低值(8/9)。由此項分析結果知BFP與non-BFP同樣呈Fe-S異常低值之傾向，比正常值低，(Fig 4)。

Fig 4. Serum levels of TIBC, UIBC and Fe-S in patients with BFP and non-BFP

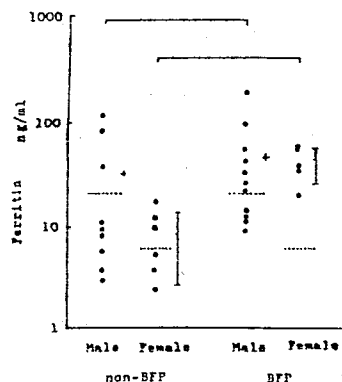


向，比正常值低，(Fig 4)。

16名BFP中(男性11名，女性5名)，7名男性之鐵蛋白(ferritin)呈異常高值，而5名女性之鐵蛋白全呈異常高值，平均值為男性 $464.8 \pm 547.2 \text{ng/ml}$ ；女性 $411.2 \pm 159.4 \text{ng/ml}$ 。(Fig 5)

15名non-BFP中(男性9名，女性6名)；3名女性之鐵蛋白呈異常高值，3名男性之鐵蛋白呈異常高值。平均值為男性 $306.4 \pm 404.4 \text{ng/ml}$ ；女性 $82.8 \pm 56.1 \text{ng/ml}$ 。明顯地，BFP之鐵蛋白較non-BFP為高。

Fig 5. Serum levels of Ferritin in patients with BFP and non-BFP

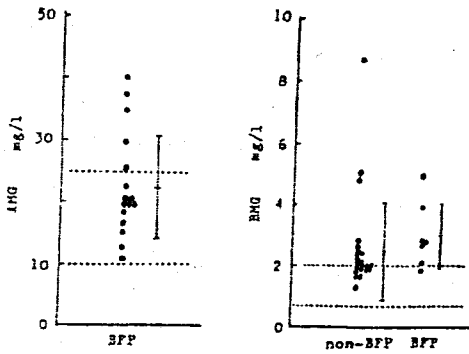


五、 $\alpha 1$ -微球蛋白($\alpha 1$ -Microglobulin, AMG)； $\beta 2$ -微球蛋白($\beta 2$ -Microglob

17名BFP中5名AMG呈異常高值，大部份為正常值。平均值為 $22.8 \pm 8.5\text{mg/l}$ 。7名BFP中之6名BMG呈異常高，平均值為 $3.06 \pm 1.08\text{mg/l}$ (Fig 6)。

23名non-BFP中11名BMG呈異常高值，平均值為 $2.53 \pm 1.54\text{mg/l}$ 。BFP及non-BFP之BMG值均有高值之傾向。(Fig 6)

Fig 6. Serum levels of AMG and BMG in patients with BFP and non-BFP



六、Anti-DNA-Ab, IFN-r, IL-1 α ,及TPA:

17名BFP之 Anti-DNA-Ab 均未發現有異常高值，其範圍為 $1.6 \mu\text{ml}$ 。(Fig 7)。8名BFP之IFN-r值均在測定感度以下，3名BFP之IL-1 α 值為1.6, 2.4, 2.3，無異常之例。15名BFP中僅2名及15名non-BFP中僅1名之TPA值為異常高值外。其平均值均在正常範圍內。(Fig 8)

Fig 7. Serum levels of anti-DNA-Ab with BFP

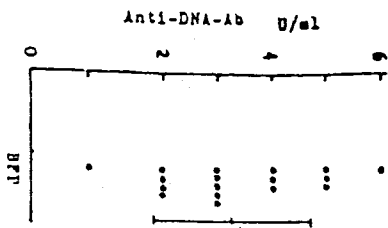
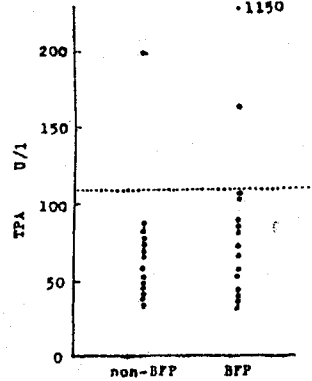


Fig 8. Serum levels of TPA in BFP and non-BFP



討 論

利用免疫電泳法分析BFP及non-BFP之血清後，發現BFP比non-BFP之C-反應蛋白帶 (CRP band) 出現率高，顯示BFP有高傾向之發炎症。進一步分析補體 (complements) 成分中之C3及C4，發現BFP及non-BFP之C3及C4均有較高值之傾向 (高過正常值)，即有補體之上昇，但是anti-DNA-Ab則屬正常，其他免疫蛋白如IgA, M, G, E, 亦無異常現象。

一般言，AMG及BMG值是用為判別金屬中毒及腎臟機能異常之指標。BFP之BMG有全般上昇之趨向，但AMG卻正常，此種病例按Ittoh(6)之解釋認為是非腎臟機能障害併合之疾病，例如惡性腫瘤、膠原病、肝癌、原發性骨髓腫及急性淋巴性白血病。在7名BFP中僅1名之AMG (40.1mg/l)及BMG (5.0mg/l)兩者均呈高值，此病例應屬腎機能障害、慢性腎不全、惡性腫瘤、膠原病或糖尿病之現象。

由消化管吸收之鐵或貯藏之鐵 (ferritin)，被送往骨髓以製造紅血球 (hemoglobin)。故分析血清中之TIBC, UIBC, Fe-S及ferritin均有其重要生理意義。BFP (包括男性及女性) 之血清ferritin大部份呈異常高值之傾向，可推測是因細胞破壞而使ferritin溶出於血清之故。另一項特殊的發現是BFP及non-BFP之血清鐵 (Fe-S) 都比正常值低。

BFP系末稍血管阻塞後而引起之潰瘍或壞疽與通常皮膚疾病之特徵不同，因而考慮利用IFN-r及IL-1 α 檢查是否與cytokine有關，結

果似無多大關連。

TPA為檢查消化器、呼吸器、婦人尿道系等之病症有關之指標。但檢查15名BFP僅1名；及檢查15名non-BFP僅1名之TPA為異常高值外，其平均值都在正常範圍內。

參考文獻

1. Yes S, How SW: A pathological study on the Blackfoot disease in Taiwan. Reports, Institute of Pathology, National Taiwan University. 1963; 14: 25-73.
2. Chen KP, Wu HY: Epidemiologic studies on Blackfoot disease: 2. A study of source of drinking water in relation to the disease. J Formosan Med Assoc 1962; 61: 611-618.
3. Lu FJ: Contribution of the fluorescent humic substances in well water at Black-foot disease epidemic area in the southwestern Taiwan to the study of Taiwan environmental toxicology. J Formosan Med Assoc 1989; 88(S): 76-83.
4. Tseng WP, Chen WY, Sing JL, et al: A clinical study of Blackfoot disease. Memoirs Coll Med NTU 1961; 7:1-8.
5. Shen MC, Tseng WP, Chen CS: Increased circulating platelet aggregates and coagulation factors in patients with Blackfoot disease. J Formosan Med Assoc 1983; 82: 816-821.
6. Itoh YY, Takagi K: Human α 1-microglobulin. Japanese J Clin Patho 1983; 31: 468-473.

Studies On Serum Immunochemistry of Blackfoot Disease Patients in Taiwan

*Akio Yoshimoto Chia Bin Liu **Fung Jou Lu

A study for the immunochemical changes of blackfoot disease patients (BFP) in Taiwan, We detected the levels of immunoglobulin-IgA, M, G, E, complements-C3, C4: transferring protein-ferritin and other related items included C-reactive protein (CRP); α_1 -microglobulin (AMG); β_2 -microglobulin (BMG); anti-DNA antibody; interferon-r; interleukin-1 α and tissue polypeptide antigen (TPA), etc.

We collected sera from 17 BFP and 22 non-BFP who lived in the same area, The results

were: the appearance rate of CRP band in BFP was 6/7, in non-BFP was 1/23. The levels of C3 and C4 in BFP were higher than in non-BFP, but both were higher than other healthy individuals. The level of BMG was higher in BFP than in non-BFP. The level of ferritin was lower in BFP than in non-BFP. The levels of IgA, M, C, E; AMG; anti DNA antibody; interferon-r; interleukin-1 α ; TPA were no significant difference between BFP and non-BFP. (CSMJ 1: 27-32, 1990)

Department of Medical Technology, Chung Shan Medical and Dental College, Taichung, Taiwan, R.O.C.

* Kotobiken Medical Laboratory, Biken Central Laboratory, Tsukuba, Japan.

** Department of Biochemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.