トピックス

II. 病態

3. 自己抗体

村上 孝作¹⁾ 藤井 隆夫²⁾ 三森 経世³⁾

要 旨

関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) は種々の自己抗体の出現を特徴とする代表的な全身性自己免疫疾患である。自己抗体の中でリウマトイド因子 (RF) と抗CCP抗体は、関節リウマチの診断のみならず、治療反応性や骨破壊進行を予測するための重要な血清学的マーカーである。しかし、抗体価と疾患活動性との相関については両者で異なる可能性があり、臨床的意義の異同について概説する。

〔日内会誌 101 : 2844~2850, 2012〕

Key words リウマトイド因子, 抗CCP抗体, 抗体価

はじめに

関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) は骨軟骨を破壊する慢性多発性関節炎を特徴とする炎症性疾患であるが、また代表的な自己免疫疾患でもある。すなわち、何らかの理由で自己免疫寛容の破綻が生じ、その結果として自己抗体が産生される。

RAでは70年以上前にリウマトイド因子 (rheumatoid factor : RF) が発見され、近年までRAにおいて臨床的に利用される唯一の自己抗体であった。しかし、RFは他疾患でも検出されるため、RAの早期診断に役立つ特異的自己抗体の発見が望まれ、種々の新たなRA関連抗体が報告さ

れた(表1)¹⁾。これらの対応抗原は軟骨の基質やストレス蛋白、各種酵素など様々であり、更に、個々の症例でも検出される自己抗体の種類に統一性は無い。また、シトルリン化されることによって初めて抗原性を獲得するものがある。従って、関節リウマチの自己免疫応答は単一の抗原に対するものではないことが示唆される。

これらの中で、現時点で臨床的に有用とされているのはリウマトイド因子と抗環状シトルリン化ペプチド抗体 (Anti-cyclic citrullinated peptide antibody : 抗CCP抗体) である。2007年より抗CCP抗体の測定が本邦で保険収載されてから、RAの診断における血清学的マーカーの重要性が再認識されている。

本稿では、RAの診断において重要な自己抗体

1) 大阪赤十字病院リウマチ膠原病内科, 2) 京都大学附属病院リウマチセンター, 3) 同 免疫・膠原病内科

Rheumatoid Arthritis : Progress in Diagnosis and Treatment. Topics : II. Pathophysiology ; 3. Autoantibodies in rheumatoid arthritis.

Kosaku Murakami¹⁾, Takao Fujii²⁾ and Tsuneyo Mimori³⁾ : ¹⁾ Department of Clinical Immunology and Rheumatology, Osaka Red Cross Hospital, Japan, ²⁾ Department of the Control for Rheumatic Diseases, Kyoto University Hospital, Japan and ³⁾ Department of Rheumatology and Clinical Immunology, Kyoto University Hospital, Japan.

表 1. 関節リウマチにおける自己抗体の対応抗原 (文献 1 より, 一部改変)

関節軟骨の基質	ビメンチン, コラーゲン (type II)
血清中の蛋白	RF, フィブリノーゲン, プラスミノーゲン, フェリチン, FRP
核内蛋白	RA33/hnRNP A2
ストレス蛋白	BiP, HSP-65, -70 or -90
炎症・免疫関連因子	B7-H1, IL-1 α , IL-8, MBP
各種酵素	カルバスタチン, α -エノラーゼ, アルドラーゼ-A, DPP-4, オステオボンチン, G6PI, PAD4
膜蛋白	アネキシンA1, gp130

下線: シトルリン化蛋白抗原としても同定されているもの

RF: rheumatoid factor, FRP: follistatin related protein, BiP: immunoglobulin binding protein, HSP: heat shock protein, IL: interleukin, MBP: Myelin basic protein, DPP-4: dipeptidyl peptidase-4, G6PI: glucose-6-phosphate isomerase, PAD4: peptidylarginine deiminase type 4, gp130: Glycoprotein 130

であるRFと抗CCP抗体の意義を中心に解説する。

1. リウマトイド因子

RFはIgGのFc部分と反応する自己抗体であり、ラテックス凝集法 (RAテスト) や血球凝集反応 (RAHA), 免疫比濁法などのRF定量法で測定される。RF定量法のカットオフ値はこれまで測定法や施設間での統一がなされていなかったが、「健常人での陽性率が5% となる値をカットオフ値 15 IU/mlとする」ことで標準化することが提唱され、2011 年 8 月より日本リウマチ学会において認証された。

RFはRA全体の約 70% で検出されるが、早期関節リウマチでは陽性率は 50% 以下に低下する。また、RFは健常人でも数%程度で陽性を示し、特に高齢者では陽性率が増加する。RA以外の膠原病 (特に Sjögren 症候群, 全身性エリテマトーデス, 強皮症, 混合性結合組織病) や慢性肝炎 (ウイルス性肝炎)・肝硬変, 慢性感染症 (感染性心内膜炎や結核) など多数の疾患で陽性となるため、疾患特異性は必ずしも高くない (表 2)。またRFの力価がRAの活動性と相関する症例は必ずしも多くないため、一部の症例をのぞいて頻回に測定する必要はない。

2. 抗ガラクトース欠損IgG抗体

RA患者血清中のIgGは、健常者のIgGと比較し糖鎖末端のガラクトースの欠損が高頻度であることが明らかとなり、この糖鎖異常がRAの発症やRFの産生に関与する可能性が示唆された。そこで、ガラクトース欠損IgGを抗原として、これに結合する抗体の測定法が開発されている。本抗体は従来のRFよりもRAにおける感度が高く、早期RAやRF陰性患者での陽性率も高い。しかし特異度も低下するため、現在はRF陰性時の補助的なマーカーとして使用されることが多い。

3. IgG型リウマトイド因子 (IgG-RF)

通常の方法 (凝集反応) で測定されるRFはIgM型のみ (IgM-RF) であるが、IgG型RFを測定する方法が開発されている。IgG-RFはIgM-RFに比しRAでの陽性率は 20~30% と低いものの特異度は高い。IgM-RFが陰性であればIgG-RFはほとんどのすべての症例で陰性であり測定する意義がない。ただし、関節液中ではIgG-RFの陽性率は高いとされている。なお両者が陽性の場合にはIgM-RFよりIgG-RFのほうがより疾患活動性

トピックス

表 2. RFが陽性となり得る疾患

関節リウマチ (RA)	
膠原病および類縁疾患	Sjögren症候群, 全身性エリテマトーデス, 強皮症, 多発性筋炎/皮膚筋炎, 混合性結合組織病, Churg-Strauss症候群
肺疾患	間質性肺炎, 珪肺症, 肺アスベスト症
肝疾患	肝硬変, 原発性胆汁性肝硬変
感染症	B型肝炎・C型肝炎, 結核, パルボウイルス, HIV, 梅毒, 感染性心内膜炎, ハンセン病, 寄生虫疾患 感染性心内膜炎
蛋白異常症	クリオグロブリン血症, マクロプロブリン血症
その他	回帰性リウマチ, サルコイドーシス, ワクチン接種後, 一部の悪性腫瘍, 高齢者

と並行しやすい。

IgG-RFは、高度の関節炎のみでなくRAに認められる血管炎や間質性肺炎などの関節外症状と相関すると考えられている。

4. 抗CCP抗体

抗CCP抗体は、RAの対応抗原として同定されたシトルリン化フィラグリンの主要抗原エピトープペプチドを人工的に環状化させた分子(CCP)に対する自己抗体である²⁾。その後、ランダムペプチドライブラリーから反応性の高い複数のペプチド(アミノ酸配列は公開されていない)を選択して抗原とした第2世代のキットが開発され、世界中で広く利用されている。他にも種々の抗シトルリン化蛋白がRAの自己抗原として知られているが(表1)、現時点において本邦で保険収載されている抗シトルリン化蛋白抗体(Anti-citrullinated protein antibody: ACPA)は抗CCP抗体のみである。

抗CCP抗体はRAにおける血清マーカーの中で最も特異度が高く、RA診断における有用性が確立している。これまでの報告を集積したメタア

ナリシスによれば³⁾、抗CCP抗体について、29報告・11,821症例で感度67%(95%信頼区間: 65~68)、特異度95%(95%信頼区間: 95~98)であり、RFと比較した場合、感度は同等かやや高く、特異度は非常に高いことが確認された。また、陽性尤度比(RA症例の中で検査結果が陽性となる割合)が12.77、陰性尤度比(非RA症例の中で検査結果が陽性となる割合)が0.32であり、RAは非RAよりも抗CCP抗体が陽性となる頻度が特に高いことが確認された。

また、抗CCP抗体を始めとするACPAはRA高感受性のHLA shared epitopeと相関し、抗体陽性患者においては喫煙により疾患活動性が増悪することが報告されている。

2007年に報告されたPROMPT試験⁴⁾では、抗CCP抗体陽性の診断未確定関節炎患者にメトトレキサート(MTX)を投与した場合、1年後にRAと診断確定される割合が約20%と、プラセボ群の90%と比較し有意に低かったが($p=0.0002$)、抗CCP抗体陰性例では両群間で差が認められず、3年後の診断確定率はいずれも40%程度であった。X線所見の進行についても同様で、抗CCP抗体陽性例ではMTX投与によって進行が

遅れたが、陰性例では有意差がなかった。以上の成績から、抗CCP抗体陽性のUA患者におけるMTX療法は、RAと確定診断される患者数を有意に減らし、関節破壊の進行を有意に遅らせるが、抗CCP抗体陰性例ではその意義は少ないものと考えられる。

5. 新RA分類基準におけるRFと抗CCP抗体の意義

2010年にACR(米国リウマチ学会)とEULAR(欧州リウマチ学会)の共同作成による新たなRAの分類基準(以下、新基準)が上梓された⁵⁾。新基準では、他疾患では説明のつかない、少なくとも1カ所以上の関節腫脹を認める患者を対象として、関節症状の分布と数、血清学的因子、炎症反応の有無、滑膜炎の持続期間の4項目からスコアを算出し、10点満点中6点以上であればRAと分類する。その中でも特に血清学的因子(RFもしくはACPA)では基準値上限より3倍以下であれば低力価として2点、3倍を超えれば高力価として3点と、他の項目と比較しても高い配点となっている。

従って、例えばRFとACPAが共に陰性であれば他項目が満点でなければならず、その有無が診断に大きく関わっている。しかし一方で、特異度の異なるRFとACPAとを同等とみなす点について批判もある。

最近、新基準におけるRF抗体価の意義についての検証が報告された⁶⁾。ライデン大学、ベルリン、ノルウェーの3施設において未分化関節炎(Undifferentiated arthritis: UA)を選択し、RF抗体価と1987年改訂RA分類基準によるRA診断との関連について検討された。例えばベルリンのコホート($n=154$, RF基準値: 24 U/ml以下)では、RFのcut off値を24 U/mlからその3倍である72 U/ml(新基準における高力価相当)に引き上げた場合、陽性尤度比は68.4から79.1と上

昇したが、同コホートでACPA陰性/陽性をRAとの判断基準にした場合の陽性尤度比は93.2と比較的高い傾向にあった。また、ACPA陰性患者における高力価RFの陽性尤度比は46.7であったのに対し、RFが高力価でない患者におけるACPA陽性の場合は87.5と2倍近くに上昇した。すなわち早期関節炎を予測する指標として、RFのcut off値を変更してもACPA陰性/陽性には及ばないことが示唆された。一方、同報告ではライデン大学のコホートにおいて、骨破壊進行は高力価RFで予測したほうがACPA陽性よりも将来の関節破壊を良く予測することを付け加えている。もちろん高力価RF患者のほとんどはACPA陽性と考えられることから解釈に注意は必要であるが、両抗体の特徴を比較する上で興味深い。

6. 抗CCP抗体とRAの臨床経過との関連

抗CCP抗体価とRAの臨床活動性との関連を示した報告は少ない。筆者らは、発症1年以内に受診し、2年以上外来に通院したRA患者98例について初診時のRFと抗CCP抗体価がその後の臨床経過や骨破壊に影響を及ぼすかどうかを検討した。このコホートでは、抗CCP抗体が基準値を超えるが3倍以下であった患者がきわめて少なかったため、陰性群(RF<11.7 IU/ml, 抗CCP抗体<4.5 U/ml)、低力価陽性群(RF 11.7~100, 抗CCP抗体 4.5~100)、高力価陽性群(ともに100以上)に分類した。

図1に示すように、RF・抗CCP抗体いずれにおいてもどちらかが高力価であった場合には初診から2年後のDAS28の平均値が陰性群と比較して有意に高く、臨床的寛解に至らない割合が高かった。

また、手部についてLarsen scoreによる骨破壊の進行度(Yearly Progression score: YP-score)を各患者群で比較したところ、図2で示すように抗CCP抗体は力価によらず陽性例で骨破壊の

トピックス

図 1. 初診時のRFと抗CCP抗体により分類されたRA患者のDAS28の推移

対象を初診時のRF (左) もしくは抗CCP抗体 (右) で分類し, DAS28 の推移を検討した. negative: 抗体陰性, low: 低力価陽性, high: 高力価陽性. 各々のcut off値は本文中に記載.

図 2. 初診時のRFと抗CCP抗体により分類されたRA患者の骨破壊

対象を初診時のRF (左) もしくは抗CCP抗体 (右) で分類し, 骨破壊の年間進行度を手部の Larsen score (Yearly progression: YP-score) を用いて検討した. neg: 抗体陰性, low: 低力価陽性, high: 高力価陽性. 各々のcut off値は本文中に記載.

進行が明らかであったのに対し, RFでは高力価症例に限り他群と比較して有意な進行が示された. したがって, RF高力価が関節破壊の強いリスクであり, RF低力価の症例では骨破壊が緩徐である可能性が示唆された.

なお, 初診時から2年後までで使用されていたRA治療薬については, 抗体陰性群ではNSAIDs (非ステロイド性抗リウマチ薬) のみで経過観察

されていた症例や, オーラノフィンやアクタリットなど効果が比較的弱い抗リウマチ薬が使用されている症例の割合が高かった. 一方, 抗体高値陽性群は, メトトレキサート (MTX) 単独あるいはMTXと他の抗リウマチ薬との併用率が低値陽性群よりも高い傾向にあった.

以上の検討から, 早期RAの診断時において, RFのみが低力価陽性であった場合と抗CCP抗体

のみが低力価陽性であった場合とではその後の臨床経過が異なる可能性が示唆される。

7. その他の自己抗体

表1に示したRAの自己抗体の中で, RF, 抗CCP抗体以外にもいくつかの自己抗体について, その病因的意義, 臨床的意義が報告されている。

1) 抗カルパスタチン抗体

カルパスタチン (calpastatin) はカルシウム依存性システインプロテアーゼの一つであるカルパイン (calpain) の内在性阻害分子である。カルパインは軟骨破壊をきたすシステインプロテアーゼと考えられており, RAの病態にカルパインが関与する可能性を示す多くの報告がある。カルパスタチンに対する自己抗体は1995年に2つのグループから独立して報告された⁷⁾。抗カルパスタチン抗体の陽性率はRA 57%であったが, 他の膠原病でも陽性例が認められた。患者血清中のIgGはカルパスタチンのカルパイン阻害作用を抑制し, 病態形成に関与する可能性が示唆された。

2) 抗ホリスタチン関連蛋白 (FRP) 抗体

RA患者滑膜cDNAライブラリーよりRA患者血清中のIgGが認識する抗原がクローニングされ, ホリスタチン関連蛋白 (follistatin-related protein : FRP) が同定された。FRPは滑膜で高発現しており, RA患者血清中の30%, 滑液中の44%に抗FRP抗体が認められた⁸⁾。抗FRP陽性患者は陰性患者と比較しCRPと赤沈が有意に高く, 抗リウマチ薬の治療強化が必要となる例が多かったことから, FRPに対する自己免疫応答がRAの病態を修飾している可能性が示唆された。

3) 抗ミエリン塩基性蛋白 (MBP) 抗体

日本人における990人のRA患者と1,236人の健常人DNAを対象として, 一塩基多型 (SNP) を用いた全ゲノム関連解析により, ミエリン塩基性蛋白 (myelin basic protein : MBP) がRAの疾

患感受性遺伝子であることが見出された⁹⁾。さらに, MBP蛋白の発現上昇にリスクアレルが関連していること, RA滑膜にはMBP蛋白が発現していること, RA患者血清中に抗MBP抗体が高頻度に検出されシトルリン化MBPを主に認識することが明らかにされている。

4) 抗glucose-6-phosphate isomerase (GPI) 抗体

関節炎を自然発症するK/BxNマウスの解析により, 解糖系酵素であるglucose-6-phosphate isomerase (GPI) に対する自己抗体産生が関節炎発症の機序であることが明らかにされた。抗GPI抗体は単独で関節炎を発症させることから, 病原性自己抗体であることが示唆される。ヒトRA患者においては抗GPI抗体が約15%に検出され, 陽性患者では関節炎の病勢を反映すること, 関節外症状を伴う重度のRAに陽性者が多いことが報告されている¹⁰⁾。

おわりに

抗CCP抗体とRFはいずれもRAの診断マーカーとして利用されるが, 診断特異度や関節破壊予測因子としては抗CCP抗体の有用性が上回る。一方, RF力価は(抗CCP抗体とは異なり)RAの治療反応性と並行し, その高力価が予後や治療反応性を予測するマーカーと考えられる。RA新分類基準では, 両抗体ともに正常上限の3倍を低力価-高力価のcut off lineと定めているが, その妥当性について引き続き評価が必要と思われる。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示 : 本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Mewar D, et al : Autoantibodies in rheumatoid arthritis : a review. *Biomed Pharmacother* 60 : 648-655, 2006.
- 2) 三森経世 : 【膠原病 診断と治療の進歩】新しい検査の

トピックス

- 意義と使い方 抗CCP抗体. 日内会誌 96:2132-2137, 2007.
- 3) Nishimura K, et al: Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 146: 797-808, 2007.
 - 4) van Dongen H, et al: Efficacy of methotrexate treatment in patients with probable rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 56: 1424-1432, 2007.
 - 5) Aletaha D, et al: 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 62: 2569-2581, 2010.
 - 6) van der Linden MP, et al: Toward a data-driven evaluation of the 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria for rheumatoid arthritis: is it sensible to look at levels of rheumatoid factor? *Arthritis Rheum* 63: 1190-1199, 2011.
 - 7) Mimori T, et al: Autoantibodies to calpastatin (an endogenous inhibitor for calcium-dependent neutral protease, calpain) in systemic rheumatic diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 7267-7271, 1995.
 - 8) Tanaka M, et al: Potential preventive effects of follistatin-related protein/TSC-36 on joint destruction and antagonistic modulation of its autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Int Immunol* 15: 71-77, 2003.
 - 9) Terao C, et al: Myelin basic protein as a novel genetic risk factor in rheumatoid arthritis—a genome-wide study combined with immunological analyses. *PLoS One* 6: e20457, 2011.
 - 10) 松本 功: 【総説】関節リウマチにおける自己抗体の産生機序と病因性. *日本免疫学会雑誌* 28: 365-371, 2005.