トピックス

I. 診断法の進歩

1. 自己抗体

藤井 隆夫

要 旨

膠原病において臨床的意義を有する自己抗体は多く報告されてきた。多発性筋炎/皮膚筋炎では自己抗体により予後推定が可能で、しばしば致命的となる急性～亜急性間質性肺炎と抗MDA5抗体、癌合併皮膚筋炎と抗TIF1- γ 抗体との関連が明確に示され、治療方針に強く影響を与えるマーカーとなっている。また、中枢神経ループスでは脳脊髄液中の自己抗体（抗NR2抗体、抗U1RNP抗体）が重要であり、病因的意義が示唆されている。

〔日内会誌 103：2395～2400, 2014〕

Key words 抗核抗体, 疾患標識自己抗体, 抗MDA5抗体, 抗U1RNP抗体

はじめに

関節リウマチ（rheumatoid arthritis：RA）や膠原病において自己抗体の測定は極めて重要である。臨床的意義を有する自己抗体は、①疾患の診断に重要な疾患標識自己抗体（マーカー抗体）、②重篤な内臓病変・病態とリンクする自己抗体、そして③疾患活動性と相関する自己抗体に大別して考えることができる。本稿では、これらの自己抗体に関して概説し、病態との関わりを一部紹介する。

1. 抗核抗体のスクリーニング

自覚症状、身体所見およびスクリーニング検

査所見から膠原病が疑われた場合、抗核抗体（anti-nuclear antibody：ANA）の測定は必須である。通常そのスクリーニングは間接蛍光抗体法（fluorescent ANA：FANA）により行う。表1に、その染色パターンに関連する自己抗体の対応抗原と疾患を挙げた。FANAの結果のみで診断を確定することは困難であるが、高力価陽性であった場合には膠原病を疑う根拠となる。2010年のRA分類基準では、その関節障害が他疾患により説明可能なものであれば除外するとの記載があり、膠原病の関節症状は常に注意する必要がある。そのためRAが疑われても、一度はFANAを測定すべきである。RAではFANA陽性と判断されても希釈倍率が320倍以上で陽性になる症例は極めて少ない¹⁾ので、高力価陽性の場合にはその関節症状が膠原病によるものではないか、

京都大学大学院医学研究科リウマチ性疾患制御学講座

Rheumatology：Progress in Diagnosis and Treatments. Topics：I. Progress in Diagnostic Method；1. Autoantibodies in systemic rheumatic diseases.

Takao Fujii：Department of the Control for Rheumatic Diseases, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Japan.

トピックス

表 1. 間接蛍光抗体法の染色パターンに関連する対応抗原と疾患

		関連する自己抗原	注意すべき疾患
核型	homogeneous	dsDNA, histones, chromatin/nucleosomes, HMG	SLE, drug-induced LE/vasculitis, JIA
	coarse speckled	U1RNP, Sm	MCTD, SLE, SSc, UCTD
	fine speckled	Ro/SS-A, La/SS-B, topoisomerase I, など	SLE, SS, SSc, IM
	centromere nucleolar	kinetochore : CEMP-A, B, C, F PM/Scl, RNA polymerases, U3RNP, To/Th, B23 phosphoprotein/numatrin	SSc (limited) SSc, IM, overlap syndrome
細胞質型	diffuse	risosomal P, Jo-1, その他のアミノアシル tRNA合成酵素, SRP	SLE, IM, interstitial lung disease
	fine speckled	Jo-1, SRP, mitochondria	IM, PBC

CEMP : centromere protein, dsDNA : double-stranded DNA, HMG : high mobility group, IM : inflammatory myopathies, JIA : juvenile idiopathic arthritis, MCTD : mixed connective tissue disease, PBC : primary biliary cirrhosis, PM/Scl : polymyositis/scleroderma, RNP : ribonucleoprotein, SLE : systemic lupus erythematosus, SRP : signal recognition particle, SS : Sjögren's syndrome, SSc : systemic sclerosis, UCTD : undifferentiated connective tissue disease

文献 2) より引用改変

あるいはRAに膠原病が合併している可能性がないか検討する必要がある。

最近, ANA測定に関する25項目のリコメンデーションが欧州リウマチ学会から示された²⁾。そこでは, ①臨床の現場で汎用されているHEp-2細胞(ヒト喉頭癌由来培養細胞)を基質としたFANAでは160倍以上を陽性とする, ②FANA結果の記載には必ず陽性と判断した希釈倍率と染色型を併記すること, ③特異的なANAの場合, 測定した抗体がどのような方法により測定されたかを併記すること, ④全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus : SLE)における抗DNA抗体など繰り返し測定する抗体は同じ方法で行うこと, ⑤FANAの結果に関わらず, 病態と関連が報告されている自己抗体(SLEの妊娠合併症と抗Ro/SS-A抗体や抗リン脂質抗体など)は必要に応じて別途測定することなどが記載されている。FANAは, 本邦では健常人の26.8%が40倍希釈で陽性となるが, ほとんどが低力価(<160倍)である。一方, 膠原病患者の大部分は160倍以上の高抗体価に分布する³⁾。ただし, FANAが陰性と判断されても

全ての膠原病を否定することにはならない。抗Ro/SS-A抗体単独陽性ではしばしば陰性と判断され, 抗Jo-1抗体ではその対応抗原が細胞質に局在するため, 抗「核」抗体は陰性との結果を受けることがある。FANAの結果と臨床診断が一致しないようであれば, 疑っている疾患に特異的自己抗体を測定すべきである。

2. 疾患の診断に重要な自己抗体

国際的な分類基準の項目にその抗体が含まれ, 診断をするうえで測定が必須のものを表2に挙げた。これらは全て保険診療で測定できるため, その疾患を疑う場合, FANAとは別に必ずオーダーすべきものである。このように膠原病では疾患標識自己抗体(マーカー抗体)が数多く報告されている。これら抗体の感度は必ずしも高くないが, 特異度が極めて高い。一方, 表2に挙げられている自己抗体でもリウマトイド因子(rheumatoid factor : RF)や抗リン脂質抗体, 抗Ro/SS-A抗体は他疾患でも陽性になるため, マーカー抗体とは言えない。なお, 他のマーカー抗

表 2. 国際的な分類基準に含まれ診断を確定するために測定すべき自己抗体

疾患	自己抗体
関節リウマチ	リウマトイド因子 <u>抗CCP抗体</u>
全身性エリテマトーデス	<u>抗二本鎖DNA抗体</u> <u>抗Sm抗体</u> 抗リン脂質抗体
強皮症	<u>抗トポイソメラーゼⅠ抗体</u> <u>抗セントロメア抗体</u> <u>抗RNAポリメラーゼⅢ抗体</u>
Sjögren症候群	抗Ro/SS-A抗体 <u>抗La/SS-B抗体</u> リウマトイド因子

下線は疾患標識自己抗体

CCP：cyclic citrullinated protein/peptide

体として抗PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 抗体 (SLE), 抗U3RNP抗体 (強皮症), 抗SRP抗体 (多発性筋炎), 抗リボゾームP抗体 (SLE) などがあるが, 保険診療では測定できない。

3. 病態や予後の推定に重要な自己抗体

SLE患者で抗Sm抗体陽性が判明しても, 診断がより確定的になったというのみですぐに治療方針を見直す必要はない。しかし, その一方で, 病態と強く相関し, 治療方針に強く影響する自己抗体が存在する。多発性筋炎(polymyositis: PM)/皮膚筋炎(dermatomyositis: DM)では, 検出される自己抗体によりある程度病態・予後の推定ができるようになった⁴⁾。抗melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) 抗体陽性者は, 致命的な急性・亜急性間質性肺炎(図1)を合併するclinically amyopathic dermatomyositis (CADM)の可能性が高い(表3)。実際にはCADMの疾患標識自己抗体とも言えるが, この抗体が検出され特徴的な肺障害がある場合

には, すぐに強力な免疫抑制療法を導入すべきである。また抗transcription intermediary factor 1- γ (TIF1- γ) 抗体陽性例では, 悪性腫瘍合併皮膚筋炎の可能性が高い(表3)ため, 免疫抑制療法を開始する前に全身的に腫瘍性疾患の合併がないかを十分に精査すべきである。

多発性筋炎ではアミノアシルtRNA合成酵素(aminoacyl-tRNA synthetase: ARS)に対する自己抗体が検出されることが多い(30~40%)。抗ヒスチジルtRNA合成酵素抗体である抗Jo-1抗体が代表的であるが, 他の抗ARS抗体も含めた陽性例では, 発熱, Raynaud現象, 多関節炎, 機械工の手, 間質性肺炎などの特徴を有する多発性筋炎症例が多い。抗ARS抗体が陽性にも関わらず筋炎がない症例も存在するが, その場合は抗ARS抗体症候群と呼び, 間質性肺炎に要注意である。最近, 5種類の抗ARS抗体(抗Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, KS抗体)を一括して保険診療で測定できるようになった(MESACUP[®] anti-ARSテスト)ので活用されたい。

4. 疾患活動性をみる上で重要な自己抗体

代表的なものはSLEにおける抗(ds)DNA抗体と抗好中球細胞質抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody: ANCA)関連血管炎におけるmyeloperoxidaseあるいはproteinase-3-ANCAであろう。CRP(C-reactive protein)値など非特異的な炎症反応とは異なり, 疾患に特異的なマーカーであるため, 治療開始後は定期的に測定するのがよい。SLEでは数多くの自己抗体が報告されているが, 定期的に再検する必要がある抗体は抗(ds)DNA抗体のみである。また寛解導入療法後もANCAが完全に陰性化しない多発血管炎性肉芽腫症例では寛解維持療法中に再燃が多いこと⁵⁾にも留意する。

トピックス

図 1. 抗MDA5 抗体陽性急性間質性肺炎（CADM）

皮疹と肝機能異常で当院紹介受診（初診時，2014 年 1 月中旬）。CADM が強く疑われ，即日入院を勧めたが自己都合で 1 週間後に入院（初診より 7 日後）。同日よりステロイドパルス療法やシクロホスファミドを含めた強力な免疫抑制療法を施行するも悪化（初診より 15 日後）。呼吸不全となり ICU（intensive care unit）で永眠された（初診より 43 日後）。保存血清を用いた検討で，後に抗 MDA5 陽性が判明した。

表 3. 重篤な合併症と関連する自己抗体（皮膚筋炎）

	平均年齢	男女比	患者数	抗MDA5 抗体陽性率 (%)	抗TIF1-γ 抗体陽性率 (%)
皮膚筋炎	50	24 : 58	82	26	15
CADM	48	7 : 24	31	65	10
腫瘍合併皮膚筋炎	66	5 : 7	12	0	58
腫瘍合併のない皮膚筋炎	47	12 : 27	39	3	5
多発性筋炎	57	0 : 6	6	0	0
全身性エリテマトーデス	50	5 : 16	21	0	0
間質性肺炎を有する強皮症	58	3 : 23	26	4	0
健常人	54	4 : 16	20	0	0
癌患者	58	5 : 15	21	ND	0

MDA5 : melanoma differentiation-associated gene 5, TIF1-γ : transcription intermediary factor 1-γ.

CADM : clinically amyopathic dermatomyositis

ND : not determined

文献 4) より引用改変

図 2. NPSLEにおけるCSF-抗U1RNP抗体（自験例）

A. central NPSLE (+) (SLEによる中枢神経症状) 患者は, central NPSLE (-) (原疾患とは関連のない中枢神経症状) 患者に比し, 血清中抗U1RNP抗体陽性症例のうちCSF中でも同抗体が陽性であった比率が有意に高かった. しかし, 抗Ro/SS-A (SSA) 抗体や抗DNA抗体では同様の差はなかった. CSF中の抗U1RNP抗体はRNA-免疫沈降法で測定した. (文献9) より引用)

B. CSF中抗U1RNP抗体陽性症例では, コントロール群 (非SLEで非炎症性の中枢神経障害を来した症例) に比し, CSF中のIFN- α が有意に高濃度となっていた. (文献10) より引用)

5. 自己抗体の病原性について

臓器特異的自己免疫疾患と異なり, RAや膠原病では自己抗体の病原性が明らかでないことが多い. 対応抗原が多く細胞に存在し, かつ細胞内に存在するANAがその対応抗原に反応する状態が想定しにくいことが原因であるが, 病原性が発揮される状況として

1) 本来の対応抗原と構造に近い異なる自己抗原に対して反応し, それが直接的な病原性を有する場合

抗DNA抗体と交差反応する抗NR2抗体⁶⁾は, 少なくとも動物モデルでは海馬の神経細胞に反応し, 神経障害を起こすと考えられている. な

お, ヒトSLEでも血清中ではなく脳脊髄液(cerebrospinal fluid: CSF)中の抗NR2抗体がneuropsychiatric SLE (NPSLE) の特に精神障害と関連すると報告されている⁷⁾.

2) (ある種の刺激によって) 自己抗原が細胞表面に出現する場合

ANAが細胞表面に反応する結果として起こる病態は報告が乏しい. 一方, RAに特異性が高く, また骨破壊のリスク因子として重要なシトルリン化蛋白/ペプチドに対する自己抗体 (anti-citrullinated protein/peptide antibodies: ACPA) について, シトルリン化されたビメンチンは破骨細胞の表面に出現するとされ, 抗シトルリン化ビメンチン抗体が破骨細胞を活性化させ, 骨吸収を亢進させるという報告がある⁸⁾.

トピックス

3) 自己抗体が直接的に病原性を持たないが、その免疫複合体が組織に沈着するかサイトカインなどの液性因子の誘導に関わり、病原性を有する場合

ループス腎炎は代表的な免疫複合体性腎炎であり、その免疫複合体には抗DNA抗体が含まれるとされる。一方、ANCA関連血管炎では急速進行性糸球体腎炎(rapidly progressive glomerulonephritis: RPGN)を合併することがあるが、免疫複合体沈着が局所に証明されない。したがって、サイトカインを介した機序が考えられる(ANCA-サイトカイン仮説)。我々は、NPSLE患者のCSFにおける抗U1RNP抗体の臨床的意義を示してきた(図2A)。当科のNPSLE症例ではCSF-抗U1RNP抗体の存在がCSF中のIFN- α (interferon- α)の活性化と関連した(図2B)ため、CSF-抗U1RNP抗体(あるいはその免疫複合体)はIFN- α を介して脳障害に関与する可能性があると考えている。

おわりに

数多くの抗核抗体が測定できるようになったが、その解釈を誤らないことが重要である。抗体が陽性であっても特異的な臨床症状が伴わないときには治療は不要である。臨床的意義を有する自己抗体についてはその産生機序をより明確にし、産生に関わるT細胞やB細胞抑制療法を包括的に行うことが根治的治療になると考えられる。また血清あるいは病態局所に高濃度となる自己抗体とサイトカインなどの液性因子との相関がより明確となれば、生物学的製剤を用いた標的治療が選択できる可能性がある。RAの薬物治療に比し、膠原病の治療の進歩は停滞しているように思えるが、難治性病態の抑制のため

にも今後の自己抗体研究に期待したい。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：藤井隆夫：講演料(ファイザー、 Bristol-Myers)、研究費・助成金(ファイザー)、寄付金(アステラス製薬、アッヴィ)、寄付講座(エーザイ、田辺三菱製薬、中外製薬、 Bristol-Myers)

文 献

- 1) Tan EM, et al: Range of antinuclear antibodies in 'healthy' individuals. *Arthritis Rheum* 40:1601-1611, 1997.
- 2) Agmon-Levin N, et al: International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 73:17-23, 2013.
- 3) Kumagai S, et al: Immunofluorescence- still the 'good standard' in ANA testing? *Scand J Clin Lab Invest* 61:77-83, 2001.
- 4) Hoshino K, et al: Anti-MDA5 and anti-TIF1- γ antibodies have clinical significance for patients with dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)* 49:1726-1733, 2010.
- 5) Slot MC, et al: Positive classic antineutrophil cytoplasmic antibody (C-ANCA) titer at switch to azathioprine therapy associated with relapse in proteinase 3-related vasculitis. *Arthritis Rheum* 51:269-273, 2004.
- 6) DeGiorgio LA, et al: A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat Med* 7:1189-1193, 2001.
- 7) Yoshio T, et al: Association of IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 54:675-678, 2006.
- 8) Harre U, et al: Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest* 122:1791-1802, 2012.
- 9) Sato T, et al: Anti-U1 RNP antibodies in cerebrospinal fluid are associated with central neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum* 62:3730-3740, 2012.
- 10) Yokoyama T, et al: Association between anti-U1 ribonucleoprotein antibodies and inflammatory mediators in cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 23:635-642, 2014.