

図 5. RF 定量法 - 測定法分布

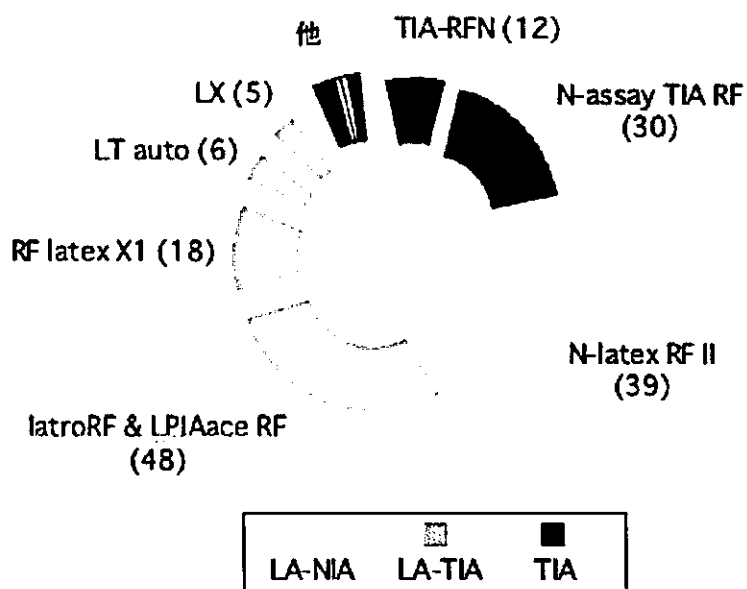
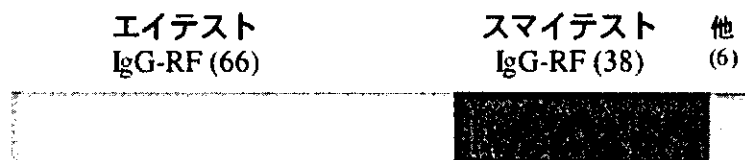
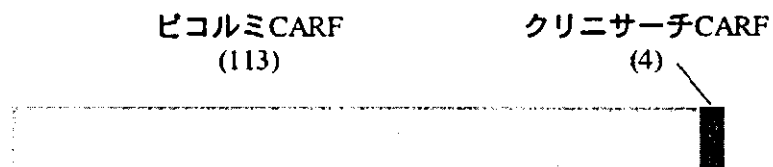


図 6. IgG-RF



【 院 内 : 0 , 外 注 : 1 2 5 】

図 7. CARF



【 院 内 : 6 , 外 注 : 1 6 0 】

図 8. 外来患者 RF 平均検査頻度

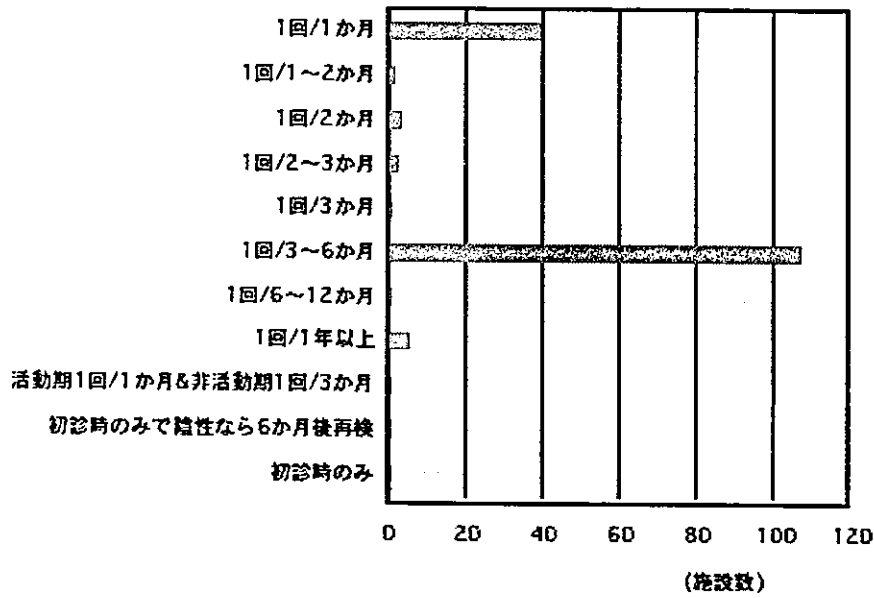
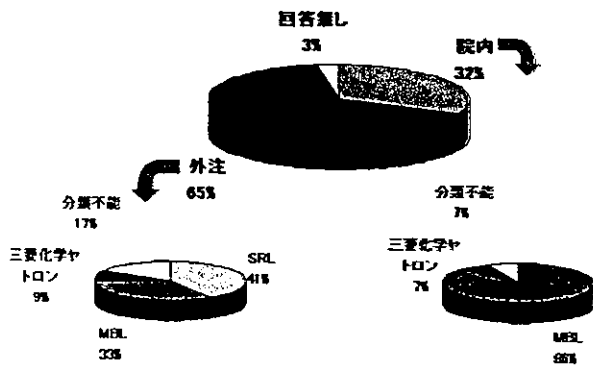
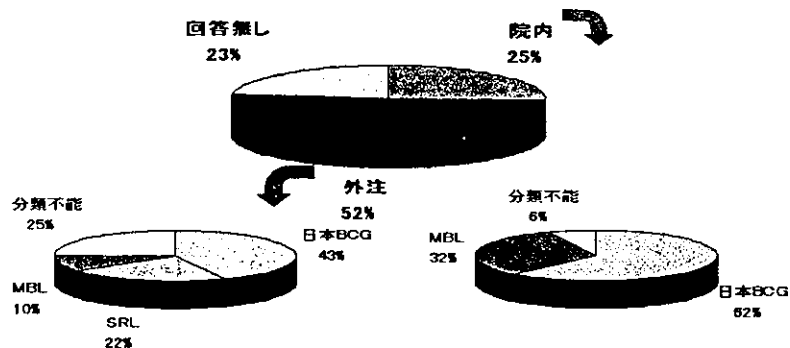


図 9. 抗核抗体 (半定量) 蛍光抗体法



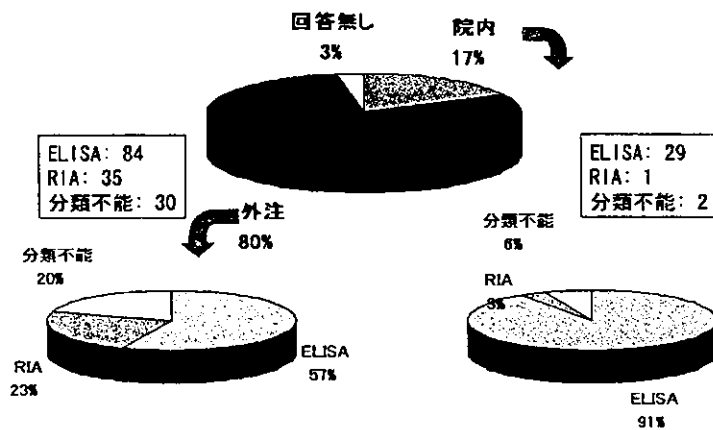
【 院内 : 59 , 外注 : 122 , 回答無し : 5 】

図 10. 抗核抗体 (LEテスト) ラテックス凝集法



【院内 47, 外注 97, 回答無し: 42】

図 11. dsDNA 抗体



【院内: 32, 外注: 149, 回答無し: 5】

図 12.

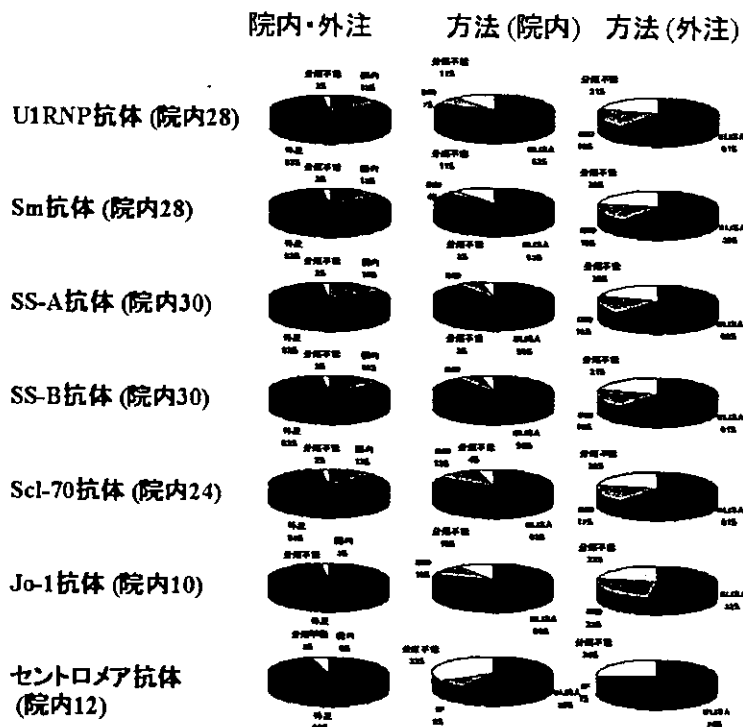
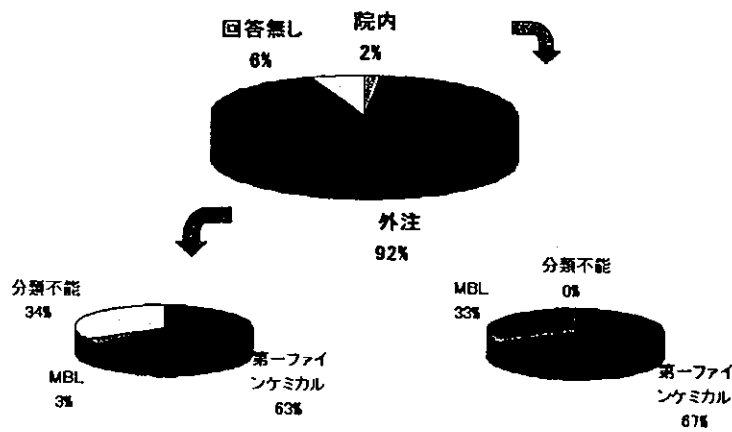


図 13. MMP-3

【院内: 3, 外注 173, 回答無し: 11】



〔Ⅱ〕

分担研究報告

# 厚生労働科学研究費補助金 (医療技術評価総合研究事業) 分担研究報告書

## 関節リウマチ診断における各種検査の有用性の研究

分担研究者 熊谷俊一 神戸大学大学院医学系研究科 臨床病態・免疫学 (職名) 教授

研究要旨 RA マーカー検査について receiver operating characteristic curve analysis (ROC 解析) による比較を行い、RA 診断における有用性を評価した。また、早期 RA やコンビネーション検査での有用性も検討した。各種 RA マーカーの中で抗 CCP 抗体は RA における感度が高率であり、特に RA 以外のリウマチ性疾患に対する特異度が高かった。ROC 解析による検討においても他のマーカーに比較して抗 CCP 抗体が最も優れていた。さらに RA マーカーを組み合わせることでより高い感度、特異度で RA との鑑別が可能であることが、明らかとなった。

### A. 研究目的

関節リウマチ (RA) を診断するためには、従来 diagnostic tests としては IgM クラスのリウマトイド因子 (RF) が用いられてきたが、IgG クラスの RF (IgG-RF) や抗ガラクトース欠損 IgG 抗体 (CA・RF) も開発使用されている<sup>1)</sup>。evaluative tests としては、赤沈や CRP などの炎症マーカーが用いられてきたが、これらの炎症検査は必ずしも関節の機能的予後を反映していないことから、マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP-3) が注目されている<sup>2)</sup>。さらに、RA に特異性が高い diagnostic test として、抗環状シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体) が新しく開発された<sup>3)</sup>。

これらの RA マーカー検査について receiver operating characteristic curve analysis (ROC 解析) による比較を行い、RA 診断における有用性を評価した。また、早期 RA やコンビネーション検査での有用性も検討した。

### B. 研究方法

#### 1. 対象

診断の確定した膠原病患者、RA 患者 79 例 (発症 2 年未満の早期 RA 患者 16 例、発症 2 年以上の RA 患者 63 例、全身性エリテマトーデス (SLE) 37 例 (男性 4 例、女性 33 例)、強皮症 (PSS) 17 例 (男性 2 例、女性 15 例)、シェーグレン症候群 (SjS) 27 例 (男性 1 例、女性 26 例)、多発性筋炎/皮膚筋炎 (PM/DM) 11 例 (男性 7 例、女性 4 例) および混合性結合組織病 (MCTD) 13 例 (女性のみ) を対象とした。試料は血清分離後、 $-40^{\circ}\text{C}$  で保存した。

#### 2. 方法

RF は N-ラテックス RF キット II (デイドベーリング社) を用い、ベーリングネフェロメーター II (BN II : デイドベーリング社) にて、ガラクトース欠損 IgG 抗体 (CARF) はピコルミ® CA・RF (三光純薬) を用い、ピコルミ® 8220 (三光純薬) にて、IgG クラス RF (IgG-RF) はエイテスト® IgG-RF (三光純薬)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-3 (MMP-3) はパナクリア® MMP-3「プレート」(第一化学薬品) を用い、マイクロプレート ELISA 自動測定装置 (BEP-III : デイドベーリ

ング社)にて、抗CCP抗体はDIASSTAT® Anti-CCP (MBL社)を用い、BEP-IIIにより測定した。

### C. 研究結果

#### 1. RA マーカーの感度, 特異度の比較

各種マーカーのRAでの感度, RA以外のリウマチ性疾患患者 (non-RA) における特異度を比較した(表1)。RAでの感度は抗CCP抗体が81.0%と他のマーカーに比較して最も高率であった。non-RAにおける特異度においても, 抗CCP抗体では92.4%とIgG-RFを除く他のマーカーに比較して有意に高率であった ( $P < 0.002$ )。

#### 2. ROC解析による各種マーカーとの比較

RAを疾患群, non-RAを対照群としてROC解析を行い, 各種マーカーの比較を行った(図1)。抗CCP抗体の曲線が最も左上に位置し, ROC曲線下面積(AUC)は抗CCP抗体 0.909, RF 0.754, CARF 0.793, IgG-RF 0.688, MMP-3 0.650と, 抗CCP抗体は他のマーカーより有意に高値で( $P < 0.05$ ), RAの鑑別検査として抗CCP抗体が最も優れていることがわかった。

#### 3. 早期RAでの感度比較

RA79例について, 発症2年未満の早期RA16例と, 発症2年以上のRA63例とに分け, それぞれの感度を比較した(表2)。抗CCP抗体の発症2年以上のRAでの感度84.1%に比べて, 早期RAでの感度は68.8%と若干低値であった。また, 早期RAでの抗CCP抗体と各マーカーの比較ではCARFの感度75.0%が最も高率で, それに次いで抗CCP抗体の感度は高率であった。

#### 4. コンビネーションでの感度・特異度

5種類の検査がすべて行うことができたRA75例について, これらの検査を組み合わせ, RA患者の診断のための効率を検討した。RF, CA・RF, IgG-RFの三つはオーバーラップが多かった。RA75例中49例はRF, CA・RFおよび抗CCP抗体のいずれもが陽性であり, RF (+) 抗CCP

抗体 (-)は3例しか認めなかったのに対して抗CCP抗体 (+) RF (-)は8例存在した。一方, RF, 抗CCP抗体, MMP-3の3者が陽性の患者は75例中36例と少なく, 抗CCP抗体 (-) でMMP-3 (+)の患者は8例, RF (-)でMMP-3 (+)の患者は12例存在した。図2に示すように, 抗CCP抗体は単独でも特異度は高い検査であるが, RFはMMP-3と併用することにより両者陽性の場合特異度が92%と高くなる。

### D. 考察

RAは関節滑膜の炎症と増殖による骨軟骨の破壊を特徴とする慢性炎症性疾患である。RAに対する治療においては早期診断によって関節破壊や機能障害を防ぐことが重要であり, 感度・特異度がともに優れた早期診断が確実に行なえる検査や, RAの進行性や関節の予後判定が可能な検査の開発が望まれてきた。いくつかのRAの診断のための新しい優れた検査法が開発され, RAの血清診断や血液検査による予後推定が可能となりつつある。

鈴木らの報告によると, RAにおける抗CCP抗体の感度は87.2%, 特異度は96.7%であり, RF, MMP-3, IgG-RFと比較して最も優れていたと報告している<sup>4)</sup>。今回, 我々の行なった検討においても, RAにおける感度は抗CCP抗体では81.0%と最も高率であり, non-RAにおける特異度においても92.4%と他のマーカーに比較して最も高率であった。また, RF陽性のRA患者55例では抗CCP抗体はすべて陽性で, RF陰性のRA患者24例中9例(37.5%)で抗CCP抗体が陽性であった。

早期RAでの抗CCP抗体の感度は68.8%とCARFの感度75.0%に比較して低値であった。CARFについてはRFよりも高い感度が得られ, 早期RA診断に有用であるとされているが<sup>5)</sup>, RA以外のリウマチ性疾患に対する特異度が低い

ことが問題となっている。早期 RA における抗 CCP 抗体の陽性率は40～60%と報告されており<sup>6,7)</sup>、RA 以外のリウマチ性疾患に対する特異度も高いことから、早期 RA 診断においても有用であるといわれている。さらに抗 CCP 抗体と RF を組み合わせることでより高い感度、特異度で早期関節炎患者における RA との鑑別が可能であるとしている<sup>7,8)</sup>。

これらの検査をどのように組み合わせて使うのが良いのかは大変重要であり、臨床疫学的なエビデンスに基づき、臨床的エビデンスの収集と対費用効果を考えた検査診断の検証によるガイドラインの作製が重要である<sup>9,10)</sup>。RA 診断のためにはまず RF 検査を行い、陽性なら MMP-3 を検査し、陰性なら抗 CCP 抗体を検査することにより、効率よく血清診断ができると考えている。

## E. 結論

各種 RA マーカーの中で抗 CCP 抗体は RA における感度が高率であり、特に RA 以外のリウマチ性疾患に対する特異度が高かった。ROC 解析による検討においても他のマーカーに比較して抗 CCP 抗体が最も優れていた。さらに RA マーカーを組み合わせることでより高い感度、特異度で RA との鑑別が可能であることから、エビデンスに基づいたガイドラインの作製は必須である

## 引用論文：

- 1) 林 伸英、熊谷俊一：リウマチ診断のための新しい検査。臨床病理 51(10):1030-1035, 2003.
- 2) Ward MM: Evaluative laboratory testing. Assessing tests that assess disease activity. Arthritis Rheum 1995; 38: 1555-63.

3) Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Arthritis Rheum 2000; 43:155-63.

4) Suzuki K, Sawada T, Matsui T, Toshihiro M, Shigeto T, Kiyoshi N, et al. Antibodies to deiminated antigens, cyclic citrullinated peptides (CCP) and citrullinated filaggrin, are useful serological markers for the diagnosis of rheumatoid arthritis [abstract]. Arthritis Rheum 2002;46:S543.

5) 田窪伸夫, 山本純己, 仲田三平. 早期 RA 患者における抗ガラクトース欠損 IgG 抗体測定の意義. リウマチ科 1997;17:228-34

6) Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, Hazes JMW, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Arthritis Rheum 2000; 43:155-63.

7) Jansen ALMA, van der Horst Bruinsma IE, van Schaardenburg D, van de Stadt RJ, de Koning MGMT, Dijkmans BAC. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. J Rheumatol 2002;29:2074-6.

8) Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic Accuracy of the anti-citrulline antibody Assay for Rheumatoid Arthritis. Clinical Chemistry 2001;47:1089-93.



9) 熊谷俊一、中澤 隆: エビデンスに基づく  
リウマチ性疾患の診断と治療の考え方. リウ  
マチ科, 28:62-70, 2002.

10) 熊谷俊一: EBMと膠原病診断. 日本醫事新  
報 3997:1-7, 2000.

#### F. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

論文発表 論文発表

1) 熊谷俊一, 林伸英. RAの早期診断 RAの免  
疫学的検査. 診断と治療2003;91:783-90

2) 林伸英, 熊谷俊一. リウマチ診断のための  
新しい検査. 臨床病理2003;51:1030-1035

3) 熊谷俊一, 西村邦宏, 林伸英. 免疫検査の  
最近の話題(2) 関節リウマチ(RA). 臨床病理  
2004;52:836-843

4) 荒木智奈美, 林伸英, 森山雅子, 森信早穂  
子, 向井正彦, 小柴賢洋, 河野誠司, 熊谷俊一.  
関節リウマチ検査である抗環状シトルリン化  
ペプチド抗体(抗CCP抗体)の有用性. 臨床病  
理2004;52:966-972

#### 2. 学会発表

1) 荒木智奈美, 林伸英, 森山雅子, 辻剛, 向  
井正彦, 小柴賢洋, 河野誠司, 熊谷俊一. 新し  
い関節リウマチ検査である抗環状シトルリン  
化ペプチド(CCP)抗体. 第50回日本臨床検査医  
学会総会(2003)

2) 林伸英, 荒木智奈美, 森山雅子, 金川寿賀  
代, 辻剛, 森信暁雄, 小柴賢洋, 河野誠司, 熊  
谷俊一. 新しい関節リウマチ検査である抗環状  
シトルリン化ペプチド(CCP)抗体の評価. 第  
31回日本臨床免疫学会総会(2003)

3) 関節リウマチにおける抗環状シトルリン化  
ペプチド(CCP)抗体の評価

林伸英, 金川寿賀代, 辻剛, 森信早穂子, 小  
柴賢洋, 河野誠司, 熊谷俊一. 第48回日本リ  
ウマチ学会(2004)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定含む。)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

図1. ROC 解析による各種マーカーとの比較

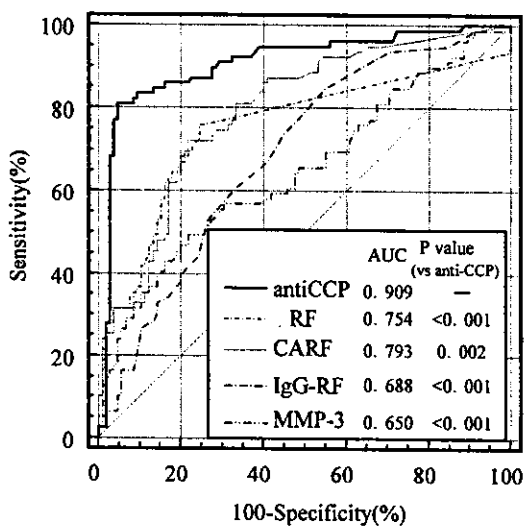


Figure 1

図2.各種マーカーのコンビネーションでの感度・特異度

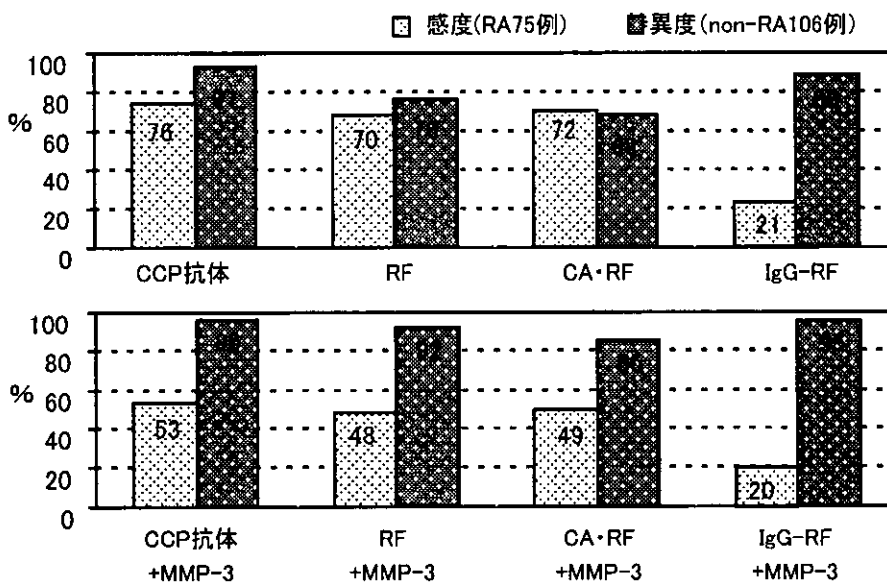


Figure 2. Sensitivity and specificity of combinatory tests. Sensitivity and specificity of anti-CCP Abs, RF, CARF, and IgG-RF for RA and non-RA were compared when MMP-3 was combined. Numbers in the bars indicate %.

Table 1

Sensitivity and specificity of RF, IgG-RF, CARF, MMP-3 and anti-CCP in RA.

	(%)				
RA	anti-CCP	RF	CARF	IgGRF	MMP-3
Sensitivity	81.0	69.6	75.9	27.8*	69.6
Specificity	92.4	77.1*	68.6*	87.6	42.9*

\*P<0.05(Compared with anti-CCP)

Table 2

Sensitivity of RF, IgG-RF, CARF, MMP-3 and anti-CCP in Non-early RA and Early RA.

	(%)	
	Early RA	Non-early RA
	(n=16)	(n=63)
anti-CCP	68.8	84.1
RF	56.3	73.0
CARF	75.0	76.2
IgG-RF	43.8	23.8*
MMP-3	75.0	68.3*

\*P<0.05 (Compared with anti-CCP)

Early RA;RA patients who had had disease symptoms for <2years.

Non-early RA;RA patients who had had disease symptoms for >2years.

# 厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業） 分担研究報告書

## リウマトイド因子測定値の標準化に向けての基礎的検討

分担研究者 大田俊行 産業医科大学 臨床検査・輸血部 （職名）教授

研究要旨 リウマトイド因子（RF）測定値の標準化に向けて、現時点における試薬間差と九州地区の大学病院を主体とした 11 施設における施設間差を調査・検討した。試薬間差に関して産業医科大学病院において 4 種類の試薬（TIA 用 1 試薬、LAIA 用 2 試薬、NIA 用 1 試薬）を用いて測定したところそれぞれの試薬で得た測定値間にばらつきを認め試薬間差の実態を把握できた。次に施設間差について検討したところ施設間における測定値は RF 測定値が高くなるにつれて広がる傾向を認めた。また試薬間差および施設間差の検討から測定結果の不一致がかなり生じることも判明し、見過ごすことのできない問題として早急な対策が必要と考える。

### B. 研究目的

リウマチ・膠原病疾患において自己抗体をはじめとする自己免疫検査は診断、疾患活動性の把握、予後判定などに重要とされる。しかし、検査方法が複数存在し、測定試薬や測定機器も同一でないため検査結果のばらつきが生じていることが指摘されてきた。そのため検査結果の解釈の誤りによる誤診や再検査による医療費の増大といった問題が発生している。

リウマトイド因子（RF）は発見されて 50 年以上経過する自己抗体であり、関節リウマチ（RA）の診断をおこなうための分類基準（米国リウマチ学会）の 1 項目である。長らく定性検査（RA テスト）や半定量検査（RAHA, RAPA）が用いられてきたが近年、定量検査が増加し主流となってきた。しかし、定量検査も生化学検査用汎用機を用いる免疫比濁法（TIA）およびラテックス免疫比濁法（LAIA）、専

用機（BN-II）を用いる免疫比濁法（NIA）の他 ELISA 法、電気化学発光法（ECLIA）などが存在し、試薬間差/施設間差を生ずる可能性が指摘されている。このような状況にもかかわらず RF 検査の精度管理は近年実施されておらず、実情がつかみきれない。

そこで、RF の定量検査の施設間差および試薬間差の実態を把握することを目的に九州地区の大学病院を主としたミニサーベイを実施した。

### B. 研究方法

#### 1. RF 定量測定用市販試薬間差の検討

TIA 試薬として日東紡社製試薬（A 試薬）、LAIA 試薬としてヤトロン社製試薬「エルピアエース」（B 試薬）、日水製薬社製試薬「オートLIA-RF」（C 試薬）、NIA 試薬としてデードベアリング社製「N-ラテックス」（D 試薬）を用いた。測定機器として前 3 試薬は生化学検査用自動分析機（東芝社製

TBA-200FR) を、後の1試薬はデードベアリング社製専用機 BN-II を使用した。測定検体は産業医科大学病院の入院または外来患者のうち RF 定量検査の測定依頼のあった 30 名の患者からの 124 血清を用いた。

## 2. RF 定量値の施設間差の検討

九州・山口の大学病院を中心にした 11 施設を対象に、インフォームドコンセントの得られた 2 名のリウマチ・膠原病疾患患者 (SLE, RA) の血清を送付しそれぞれの施設内での RF 定量試薬・機器を用いて測定した。また産業医科大学病院で RF の値の付けをした低〜高値の 7 種類のプール血清も同時に送付した。

## 3. 統計解析

相関性、回帰分析は解析ソフト「StatView」(米国 Abacus 社製) を用いて解析した。

### (倫理面への配慮)

他施設へ血清を送付した 2 名の患者には今回のミニサーベイに関する意義等を研究分担者が説明し、血清を今回の施設間差の検討に用いて良いとする同意書を得た。また送付時連結可能匿名化をおこない試料 1, 試料 2 と書いたラベル情報以外の情報 (姓名、年齢、疾患名、ID 番号など) は他施設へは与えなかった。

## C. 研究結果

### 1. RF 測定値の試薬間差に関して

4 つの試薬に関して 124 検体の RF 定量値の相関は TIA 用試薬である A 試薬と LAIA 用試薬である B 試薬、C 試薬のそれぞれの間の相関性は図 1 の散布図に示す様に相関係数 0.923、0.956、0.958 と比較的良好であった。特に 70 IU/ml 以下では直線的な相関を示した。一方、NIA 用試薬である試薬 D と試薬 A-C の間の相関は各測定値間に比較的大きなばらつきを認めた (相関係数: 0.882, 0.908, 0.926)。次に、各試薬で測定した RF の結果を試薬の添付文書に記載されていたカットオフ値によって陽性、陰

性に分類し一致率を計算した。表 1 に示すように最も悪い一致率 (A 試薬で得た RF 結果と D 試薬で得た結果) は 84% であった。このことは、用いる試薬によって RF の陽性・陰性判定が誤ってなされる可能性を示唆している。

### 2. RF 測定値の施設間差について

2 種類の患者血清 (試料 1 は RF 陰性血清、試料 2 は RF 陽性血清) を 11 施設に送付し、それぞれの施設でのカットオフ値により陽性・陰性を判定した。試料 1 は 11 施設中 10 施設で陰性、1 施設で陽性と判定され、試料 2 は 11 施設全てで陽性と判定された。RF の低〜高値の 7 種類の試料の測定を施設間で測定したところ、RF は濃度が高値となると施設間差が広がる傾向を認めた (図 2)。

## G. 考察

RF 検査は定量法が広く普及してきたが、その外部精度管理は現在全くおこなわれていない。しかし、過去には精度管理調査がおこなわれていた。1996 年の日本医師会精度管理調査 (平成 8 年度臨床検査精度管理調査結果報告書、日本医師会 1997) において RF 定量検査は LAIA と TIA の変動係数は 30% 以上であり、施設間差が大きい実態を示したが改善策を見いだせないまま今日を迎えている。今回のミニサーベイにおいても RF 定量値の小さくない施設間差が依然として存在し、陰性を陽性とするような誤判定もみとめられたことより、施設間差や結果判断の不一致などの是正に向けた早急な取り組みが必要である。

RF 測定値の標準化に関して 1) RF 定量値のよりどころである標準血清がない (国内の WHO 標準品は 1995 年枯渇?)、2) 測定法・測定機器が多く存在する、3) 測定試薬も多く試薬メーカーが製造し IgG 分子上の抗原決定基に一貫性がないなどの問題点が指摘されてきた。このうち、1) に関しては各試薬メーカーは現在 WHO 標準血清を基準に作製した標準品を用いてキャリブレーションをおこ

なっており、トレーサビリティは確保されているの骨破壊に至った一例 九州リウマチ 24(1): 60-65, 2004.

測定値の標準化を阻止する大きな障害は試薬間差・ 2.学会発表

機器間差であろう。今後、試薬メーカーとの連携の ・大田俊行：抗シトルリン化フィブリノゲン抗体測定法の開発とその有用性の検討。第51回日本臨床検査医学会総会（2004年9月、東京）

たことは見過ごすことのできないこととしてカット ・野原正信、高嶋聡子、田中真典、田中明美、比嘉幸枝、中田浩一、大田俊行：非溶血性副作用発生状況の変遷について。第51回日本輸血学会九州支部総会（2004年11月、宮崎）

#### H. 結論

RF 測定値の標準化に向けて試薬間差、施設間差の現状を調査・検討した。現在も測定値の試薬間差、施設間差が見過ごすことのできない程度に存在することが明らかとなった。

#### I. 健康危険情報

なし。

#### J. 研究発表

##### 1.論文発表

・池田勝義、坂栗まゆみ、藤井久美子、大田俊行：自己抗体検査に関する地域精度保証の検討（1）九州リウマチ 23(2):211-216, 2004.

・大田俊行：関節リウマチ診断の最新マーカー情報 Medical Technology 32(9): 895-898, 2004.

・大田俊行：SLE にて発症し関節リウマチ様の高度

#### K. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む。)

##### 1.特許取得

なし

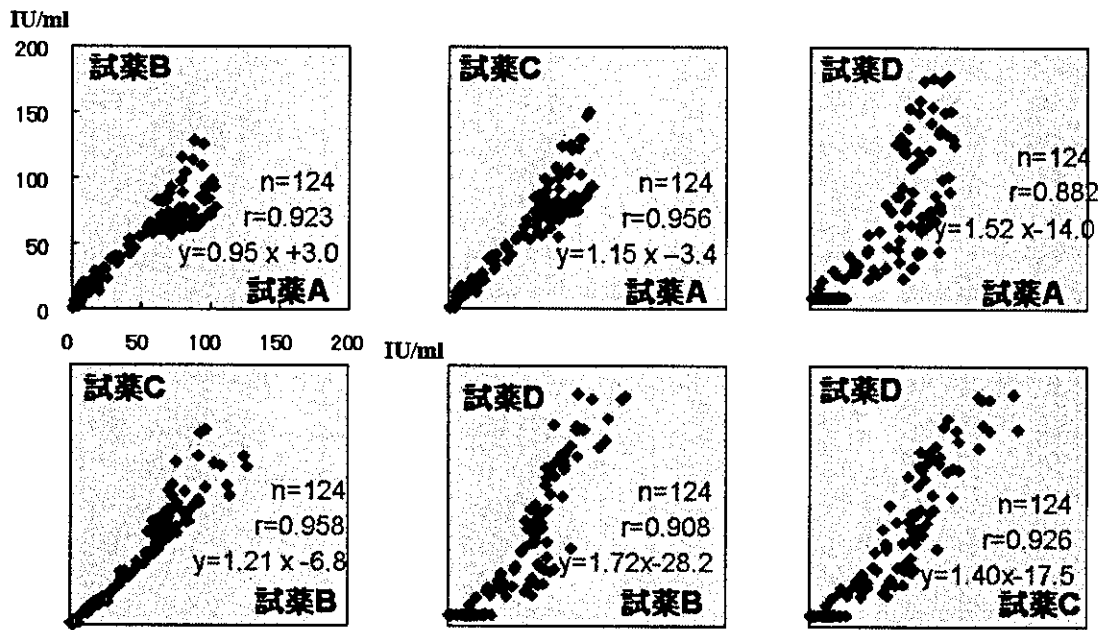
##### 2.実用新案登録

なし

##### 3.その他

なし

図1 RF測定値の試薬間差



# 厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）

## 分担研究報告書

### 抗核抗体検査標準化のための基礎的検討と新規抗核抗体に関する研究

分担研究者 赤星 透 北里大学医学部 臨床検査診断学（職名）教授

#### 研究要旨

膠原病患者を対象として、2種類の抗核抗体検査試薬（EIA法）の試薬間格差を解析したところ、大きな試薬間格差が存在することが明らかになった。この結果は、自己免疫疾患における免疫検査の効率的な利用を推進するためには、免疫検査の標準化とその結果に基づいた検査ガイドラインの整備が極めて重要であることを示唆している。また、多発性筋炎・皮膚筋炎患者における抗SRP抗体について解析したところ、7SL RNAのみを認識する抗7SL RNA抗体が存在することが証明された。

#### A. 研究目的

膠原病などの自己免疫疾患患者の診療において、抗核抗体の測定は必要不可欠な臨床検査である。日常診療においては、間接蛍光抗体法による抗核抗体検査（FANA）がスクリーニング法として実施され、その結果も踏まえて各種の抗核抗体検査が実施される。特に、疾患標識抗体と総称される自己抗体の検索は疾患特異性が高いため、診断的価値の高い検査に位置づけされている。しかし、これらの抗核抗体検査の標準化が行われていないことから、測定法により精度やカットオフ値に検査間格差が生じている。そこで、抗核抗体検査標準化のための基礎的検討として、わが国で用いられている2種類のEIA法による抗核抗体検査試薬を対象として、抗核抗体検査結果の比較検

討を行った。

多発性筋炎・皮膚筋炎（PM/DM）ではシグナル認識粒子（SRP）に対する自己抗体（抗SRP抗体）がしばしば認められる。従来、抗SRP抗体は7SL RNAと蛋白の複合体を認識すると報告されていたが、7SL RNA自体に対する自己抗体の有無については不明であった。そこで、本研究では、PM/DM患者血清における抗7SL RNA抗体の存在とその性状について解析した。

#### B. 研究方法

北里大学病院に通院中の膠原病患者93名より、informed consentのもとに血清を採取した。これらの血清について、2種類の市販のEIA法試薬キットに加え、IPP法、DID法、RIA法により各種の抗



核抗体（抗 U1-RNP 抗体、抗 Sm 抗体、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Scl-70 抗体、抗 Jo-1 抗体、抗 dsDNA 抗体）を測定し、その結果を相互に比較検討した。IPP 法は、血清を添加した protein A sepharose CL-4B に HeLa 細胞の可溶性抽出物を反応させた後に、付着した核酸を電気泳動にて評価した。

北里大学病院にて診断・加療された 32 名の PM/DM 患者、ならびに米国ピッツバーク大学にて診断・加療された抗 SRP 抗体陽性の 22 名の PM/DM 患者より、informed consent のもとに血清を採取した。抗 SRP 抗体は、HeLa 細胞の可溶性抽出物および脱蛋白抽出物を用いた IPP 法によって解析した。

#### C. 研究結果

93 名の膠原病患者について、IPP 法による抗核抗体検査結果と 2 種類の EIA 法による抗核抗体検査結果を比較検討した（表 1）。IPP 法の検査結果をもとに、2 種類の EIA キットによる 7 種類の自己抗体の測定結果を比較すると、感度（陽性率一致率）は 61.1%から 100%、特異度（陰性一致率）も 64.9%から 100%、全体一致率も 68.0%から 100%までと、予想以上に幅広く乖離していた。この差異は、市販 EIA キットに用いられている抗原の性状が異なること（リコンビナント蛋白または核抽出蛋白）などに由来する可能性が示唆された。

IPP 法による解析により、32 名の患者（日本人 10 名、アメリカ人 22 名）に抗 SRP 抗体が検出された。フェノール抽出法ならびに蛋白分解酵素を用いて完全に脱蛋白された抽出物を用いて検討した

ところ、7SL RNA のみを認識する抗 7SL RNA 抗体が 6 名（日本人 5 名、アメリカ人 1 名）の PM/DM 患者血清中に存在することが確認された（表 2）。この新規抗核抗体は、手指腫脹などの臨床症状を呈する PM/DM 患者や冬期に発症する PM/DM 患者に多く認められることが明らかとなった。

#### D. 考察

疾患標識抗体は疾患特異性が高いため、診断的価値に優れた検査であると考えられている。しかしながら、わが国で使用されている 2 種類の抗核抗体検査キットを比較検討すると、試薬間格差が極めて大きいことが明らかになった。この原因としては、抗原の性状が異なることに加え、カットオフ値の設定がメーカーに任せられ、設定基準が一貫していないことなどが挙げられる。この現状への理解がないままに検査結果を過信することは誤診にも繋がりかねない。試薬間の格差をなくすための標準化が是非とも必要であると考えられた。

本研究により、7SL RNA のみを認識する新規の自己抗体である抗 7SL RNA 抗体の存在が初めて証明された。この抗体が RNA のみを認識し、従来から報告されていた RNA・蛋白複合体を認識する自己抗体とは異なることは証明されたが、この抗体に認識するエピトープは未だ不明である。また、抗 7SL RNA 抗体の出現における人種差の有無や臨床症状との相関性などについても、さらに検討する必要があると考えられた。

#### E. 結論

FANA による抗核抗体検査のみならず、

疾患標識抗体についても標準化を行うことが、免疫検査の効率的な利用を推進するために重要であることが確認された。また、新規の自己抗体である抗 7SL RNA 抗体が PM/DM 患者血清中に存在することが証明された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Yusaku Kanoh, Takahisa Mashiko, Mihio Danbara, Yoshinaga Takayama, Shinnichi Ohtani, Tadashi Imasaki, Takashi Abe, Tohru Akahoshi: Analysis of the oligosaccharide chain of human serum immunoglobulin G in patients with localized or metastatic cancer.

Oncology. 66:365-370,2004

2) Yusaku Kanoh, Takahisa Mashiko, Yoshinaga Takayama, Shinichi Ohtani, Shuichi Egawa, Shirou Baba, Tohru Akahoshi. Changes in serum IgG oligosaccharide chains with prostate cancer progression. Anticancer research 24: 3135-3140, 2004.

3) Takashi Satoh, Tetsuroh Okano, Toshimichi Matsui, Hiroyuki Watabe, Takashi Ogasawara, Kouya Kubo, Masataka Kuwana, Noreen Fertig, Chester V. Oddis, Hirobumi Kondo, Tohru Akahoshi: Novel autoantibodies against 7SL RNA in patients with Polymyositis/Dermatomyositis.

(In submission)

4) Hiroyuki Watabe Hiroshi Matsui, Rie Hasegawa, Yohsuke Murakami, Yoshinaga Takayama, Mikio Danbara, Shinichi Ohtani, Yusaku Kanoh, Tohru Akahoshi:

Anti-inflammatory roles of liver X receptor (LXR) in monosodium urate monohydrate crystal-induced acute inflammation.

(In submission)

5) Yousuke Murakami, Tohru Akahoshi, Izumi Hayashi, Hirahito Endo, Shinichi Kawai, Matsushisa Inoue, Hirobumi Kondo, Hidero Kitasato Induction of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 expression in murine resident macrophages by monosodium urate monohydrate crystals.

(in submission)

6) 赤星 透: 抗リン脂質抗体症候群、今日の治療指針—私はこう治療している— 2004年版、医学書院、p580-581、2004.

7) 赤星 透: 膠原病 (RA 以外)、臨床病理、52 : 743-750, 2004.

8) 赤星 透: インターロイキン-8、日本臨床、63 : 163-166, 2005.

### 2. 学会発表

1) 佐藤隆司、岡野哲郎、渡部洋行、近藤啓文、赤星 透: 抗 SRP 抗体陽性筋炎患者における抗 7SL-RNA 抗体と人種的背景との関連、第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2004、岡山。(第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 2004 号、: 189、2004)

2) Satoh T, Okano T, Matsui T, Watabe H, Ogasawara T, Kubo K, Kuwana M, N.Fertig, C.V.Oddis, Kondo H, Akahoshi T.: Novel autoantibodies against 7SL RNA in patients with polymyositis/dermatomyositis(PM/DM). American College of Rheumatology

68th National Scientific Meeting, 2004,  
San Antonio, Texas. (Arthritis Rheum.  
50, Suppl.9: S103)

3) Akahoshi T, Matsui H, Murakami Y,  
Takayama Y, Watabe H, Kitasato H.: Liver X  
receptor $\alpha$  (LXR $\alpha$ ) in monocytes induced by  
monosodium urate monohydrate (MSU)  
crystals negatively regulates the crystal-induced  
acute inflammation. American College of  
Rheumatology 68th National Scientific  
Meeting, 2004, San Antonio, Texas. (Arthritis  
Rheum. 50, Suppl.9: S541)

表1

	抗U1-RNP抗体			抗Sm抗体		
	感度	特異度	全体一致率	感度	特異度	全体一致率
A社	86.00%	90.60%	88.00%	77.80%	64.90%	68.00%
B社	83.70%	93.80%	88.00%	61.10%	91.20%	84.00%

	抗SSA抗体			抗SSB抗体		
	感度	特異度	全体一致率	感度	特異度	全体一致率
A社	96.40%	75.00%	90.70%	100.00%	73.70%	80.00%
B社	96.40%	85.00%	93.30%	94.40%	86.00%	88.00%

	抗Scl-70抗体			抗Jo-1抗体		
	感度	特異度	全体一致率	感度	特異度	全体一致率
A社	100.00%	100.00%	100.00%	93.80%	81.40%	84.00%
B社	90.00%	100.00%	90.00%	75.00%	98.30%	93.30%

	抗dsDNA抗体		
	感度	特異度	全体一致率
A社	87.50%	100.00%	87.50%
B社	87.50%	100.00%	87.50%

表2

