

〔Ⅲ〕

業績目録

平成 16 年度 研究成果(原著、総説)

著者氏名・発表論文名・学会雑誌名・巻号・最初と最後のページ・発表年

(主任研究者)

1. N. Hayashi, M. Koshiba, T. Nakamura, S. Morinobu, M. Mukai, S. Kawano, S. Kumagai: Anti-SSA/Ro and Anti-centromere Antibodies Are Commonly Found in the Japanese Population: Estimation from Annual Physical Examinations of Residents in a Small Town. Submitted
2. 河本智子、林 伸英、向井正彦、近藤信一、前川宗一郎、熊谷俊一: ELISA 法による血清中マトリックスメタロプロテイナーゼ-3 (MMP-3). 医学と薬学、印刷中.
3. K. Saigo, S. Imoto, M. Hashimoto, H. Mito, J. Moriya, T. Chinzei, Y. Kubota, S. Numada, T. Ozawa, S. Kumagai. Non-invasive monitoring of hemoglobin; the effects of leukocyte counts on measurement. American Journal of Clinical Pathology 121:51-55, 2004.
4. G. Kageyama, S. Kawano, S. Kanagawa, S. Kondo, M. Sugita, T. Nakanishi, A. Shimizu, S. Kumagai: Effect of mutated transporters associated with antigen processing 2 on characteristic major histocompatibility complex binding peptides, an analysis of Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry. Rapid Commun Mass SP, 18:995-1000, 2004..
5. M. Takenokuchi, C. Yashuda, K. Takeuchi, Y. Nakamachi, M. Mukai, S. Kondo, S. Kumagai, K. Saigo, T. Murayama, T. Koizumi, E. Tatsumi: Quantitative nested reverse transcriptase PCR vs. real-time PCR for measuring AML1/ETO (MTG8) transcripts. Clin Lab Haem, 26:107-114, 2004.
6. S. Kumagai, F. Komada, T. Kita, A. Morinobu, S. Ozaki, H. Ishida, H. Sano, T. Matsubara, K. Okumura .: N-acetyltransferase 2 genotype-related efficacy of sulfasalazine in patients with rheumatoid arthritis. Pharm Res. 21(2):324-9, 2004.
7. 荒木智奈美、林 伸秀、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、52 (12) : 966-972、2004.
8. 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 91 ; 783-90 : 2003
9. 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 51:030-1035 : 2003
10. 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 52:836-843:2004
11. 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 52 ; 966-972 : 2003

(分担研究者)

1. 大田俊行, SLE にて発症し関節リウマチ様の高度の骨破壊に至った一例. 九州リウマチ. 24(1);60-65 : 2004
2. 池田勝義, 自己抗体検査に関する地域精度保証の検討 (I). 九州リウマチ. 23(2);211-226 : 2004
3. Yusaku Kanoh, Analysis of the oligosaccharide chain of human serum immunoglobulin G. Oncology 66;365-370:2004

4. Yusaku Kanoh, Changes in serum IgG oligosaccharide chains with prostate cancer progression. Anticancer research. 24:3135-3140:2004
5. Takashi Satoh. Novel autoantibodies against 7SL RNA in patients with Polymyositis/ Dermatomyositis. 投稿中
6. Hiroyuki Watabe, Anti-inflammatory roles of liver X, receptor (LXR) in monosodium urate monohydrate crystals 投稿中
7. Yousuke Murakami, Induction of triggering receptor expressed on myeloid cells-1. 投稿中
8. 赤星 透, 関節リウマチと抗 CCP 抗体. Medical Practice. 21:1756:2004
9. 赤星 透, 膠原病 (RA 以外). 臨床病理. 52:743-750:2004
10. 赤星 透, インターロイキン-8. 日本臨床. 63:163-166:2004
11. 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.

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
赤星透	抗リン脂質抗体症候群		今日の治療指針ー私 はこう治療しているー	医学書院		2004	580-581

[IV]

平成 16 年度構成員名簿

平成 16 年度 厚生労働科学研究費補助金 医療技術評価総合研究事業

「自己免疫検査の効率的利用法の研究」 構成員名簿

	氏名	職名	所属	勤務先住所	TEL	FAX	E-MAIL
主任研究者	熊谷 俊一	教授	神戸大学大学院医学系研究科 臨床病態免疫学	〒 650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-1	078(382)6190	078(382)6209	kumagais@kobe-u.ac.jp
分担研究者	大田 俊行	教授	産業医科大学 中央臨床検査部	〒 807-8555 北九州市八幡西区 医生ヶ丘 1-1	093(603)1611	093(692)4703	t-ota@clinc.uoeh-u.ac.jp
	赤星 透	教授	北里大学医学部 臨床検査診断学	〒 228-8555 相模原市北里 1-15-1	042(778)9119	042(778)9119	akahoshi@med.kitasato-u.ac.jp

〔V〕

平成 16 年度第一回班会議

プログラム・議事録

平成16年度厚生労働科学研究（医療技術評価総合研究事業）

「自己免疫検査の効率的利用法の研究」平成16年度第一回班会議プログラム

日時：平成16年9月4日（土）10：00から12：00まで

場所：京王プラザホテル「本館4階 かえで1」

10：00-11：00

1) 各個研究のこれまでの紹介と今後の計画（司会 小柴賢洋）

大田俊行先生（産業医大）

赤星 透先生（北里大学）

林 伸英先生（神戸大学）

11：00-11：30

2) 全体研究計画案についての討論（司会 熊谷俊一）

今福裕司、吉田 浩（福島医大） RF標準化に向けて

西村邦宏（神戸大学） EBLM的方法論について

小柴賢洋、熊谷俊一（神戸大学） 今後の計画案

11：30-12：00

3) 研究計画作成

全体研究計画の具体化

同一検体の測定、進め方

研究協力者など

主任研究者 熊谷俊一

事務局 小柴賢洋、阪本純子

平成16年度厚生労働科学研究（医療技術評価総合研究事業）

「自己免疫検査の効率的利用法の研究」平成16年度第一回班会議議事録

日時：平成16年9月4日（土）10：00～12：20

場所：京王プラザホテル「本館4階 かえで1」

出席者（敬称略）：

神戸大学 熊谷 俊一（主任研究者）、小柴 賢洋（事務局）、林 伸英、西村 邦宏
産業医科大学 大田 俊行（研究分担者）
北里大学 赤星 透（研究分担者）
福島県立医科大学 吉田 浩、今福 祐司
国立保健医療科学院 杉山 大典

1. はじめに熊谷 俊一（主任研究者）より本研究班の研究目的の紹介があった。
2. 次いで今後の研究計画案等についての討議がなされ、以下の様に進めていくこととなった。

- 1) 福島県立医科大学の吉田 浩教授（実務担当：今福祐司先生）に来年度の研究分担者として参加していただく。
- 2) 吉田教授を中心にアンケート調査を行う。アンケートはリウマトイド因子（RF）、IgG-RF、MMP-3、抗CCP抗体、蛍光抗核抗体（FANA）、ならびに疾患特異的抗核抗体について、まずリウマチ学会認定教育施設（約400施設）においてアンケートを実施し、その結果を踏まえて一般病院へと対象を広げることとなった。
- 3) 標準品の策定について
検査の標準化に際しては、標準品を用いた補正を行うことによるRF定量検査結果の標準化の可能性が吉田教授より提示された。そこで
 - i) RFについて：ACR基準を満たすRA患者のプール血清を使用する。検査時に余った血清をプールし、1患者あたり2～3ml（複数回の検査血清をプールして良い）、1施設あたり50人を目安とする。
 - ii) FANAについて：各膠原病について疾患毎に血清を収集する。血清の評価については、可能な限り同一の検査は同一条件下で行うことが望ましい（たとえばDID法は北里大学で一括して検査するなど）。ことが提示された。またリウマチ学会や標準化協議会と連絡をとり協調していくことが望まれるとの意見が出された。
- 4) CCP抗体について：早期RAにおける抗CCP抗体の意義について検討するために、まず「早期RA」を発症何年以内とするかを決定する必要がある。またリウマチ学会で長崎大学江口教授を中心に検討委員会が設けられているはずなので、そちらとの連携について大田教授より申し入れをしていただく。必要に応じ神戸大学で検体を一括測定することも考慮する。
- 5) 健常者検体も収集する必要がある。検診検体あるいは学生ボランティアなどを利用する。
- 6) 健常者、患者いずれの場合も個々人のインフォームド・コンセントは必要であるが、残存血清を用いて、匿名化ないしプール化することで個人を特定出来なくすれば、倫理委員会の承認は不要とされていることから、大田教授が以前に作成された様式を改変し本班研究用の統一フォーマットを作成することとした（神戸大学の小柴が担当）。

（文責）班研究事務局 小柴

〔VI〕

平成 16 年度第二回班会議
プログラム・議事録

平成 16 年度厚生労働科学研究(医療技術評価総合研究事業)
「自己免疫検査の効率的利用法の研究」平成 16 年度第二回班会議プログラム

日時:平成 17 年2月 25 日(金)9:30-12:30

場所:日本臨床検査医学会会議室

主任研究者 熊谷 俊一 よりご挨拶 9:30-9:35

9:35-11:15

I.自己免疫検査の標準化にむけて

[A]リウマトイド因子(司会:大田 俊行先生)

1)現在までの調査結果と現状(アンケート調査結果)の報告(10分)

吉田 浩先生、今福 裕司先生(福島医大)

2)九州地域での RF の現状と、リウマトイド因子の標準化のための計画提示ならびに
討論(40分)

大田 俊行先生(産業医大)

[B]抗核抗体(司会:赤星 透先生)

1)現状(アンケート調査結果)報告と FANA の問題点(10分)

林 伸英先生(神戸大学)

2)抗核抗体の標準化のための計画提示ならびに討論(40分)

赤星 透先生(北里大学)

休憩(15分)

11:30-12:30

II. 診断のための自己免疫検査法の性能評価(司会:熊谷 俊一)

1) RA を疑う場合の検査法:早期 RA について

「抗 CCP 抗体と早期 RA 分類基準について」

江口 勝美先生(長崎大学)

2) 膠原病を疑う場合の検査法(RF 関連、FANA ならびに疾患特異的自己抗体の性能
評価)・ガイドライン作成にむけての研究計画の事務局案の提示、具体的なサーベイ方
法などについて

西村 邦宏、小柴 賢洋(神戸大学)

3) 自己抗体検査を利用したリウマチ・膠原病の補助診断について

主任研究者 熊谷俊一

事務局 小柴賢洋、阪本純子

平成 16 年度厚生労働科学研究（医療技術評価総合研究事業）

「自己免疫検査の効率的利用法の研究」平成 16 年度第二回班会議議事録

日時：平成 17 年 2 月 25 日（金）9：30～12：30

場所：日本臨床検査医学会会議室

出席者（敬称略）：

神戸大学：熊谷 俊一（主任研究者）、小柴 賢洋（事務局）、西村 邦宏（事務局）、
林 伸英

産業医科大学：大田 俊行（分担研究者）、池田 勝義

北里大学：赤星 透（分担研究者）

福島県立医科大学：吉田 浩、今福 祐司

長崎大学：江口 勝美

1. はじめに熊谷俊一（主任研究者）より、本年度の研究成果を踏まえて来年度の班研究継続申請を行っていること、来年度の継続が認められれば今福先生、江口先生が分担研究者として参画予定であることが紹介され、さらに来年度末には自己免疫検査の効率的利用法について指針を作成して研究成果を広く一般に知らしめる予定であることが再度確認された。
2. プログラム進行次第に則り、まず「自己免疫検査の標準化」について大田俊行教授、赤星透教授の司会により、今までの研究結果の発表と今後の研究計画案等についての討議が以下の様になされた。
 - 1) アンケート調査結果のうち、まずリウマトイド因子（RF）について今福祐司助教授より解析結果が発表された。多くの異なる検査方法や使用機器が用いられていること、そのために基準値もまちまちであることなどの問題点が明らかにされた。
 - 2) 次に池田勝義先生から、九州地区でのミニサーベイの結果でも、測定値の系統的關係は高めと低めの 2 群に分かれており測定値の差は約 1.5 倍あり、実際の施設間差は測定値の開きが 2～3 倍であったが、系統的な誤差は、校正の際に標準化係数やキャリブレーター表示値を工夫することである程度改善が期待できることが発表された。
 - 3) これらを踏まえて、大田教授から RF 標準化に向けた全国サーベイ法についての計画案の発表があり、産業医大が中心となってサーベイ用検体を準備し、アンケート調査にてサーベイに協力可能との返事を得た施設に検体を配布し測定していただくこと、また将来的にリウマチ学会等と協力して標準物質の策定・保管を行い、さらに外部精度管理のための基幹施設とサテライト施設の設定が必要との認識が示された。
 - 4) 次に、抗核抗体についてのアンケート調査結果の解析と、従来行われている国際的サーベイ（CAP サーベイ）結果ならびに市販管理血清使用の有無による検査結果変動等について林伸英により報告がなされた。
 - 5) これらを踏まえて、赤星教授から標準化の方法について計画案が提示され、市販管理血清と北里大学で準備した患者由来血清を用い、測定感度の測定と補正補正係数を算出を行って検査法や顕微鏡による施設間格差を解析・解消し、管理検体（160 倍力価）の平均測定値 ± 1 管内に 90%以上の施設が含まれることを目標とすることが提案された。さらに今後の検討課題として JCCLS 認証の国内標準品の作製、健常者（小児、高齢者も含め）の基準値設定、臓器特異的自己免疫疾患などにおける抗核抗体の意義の評価などが挙げられた。
3. 次に、「診断のための自己免疫検査法の性能評価」方法について熊谷 俊一の司会で検

討された。RA を疑う患者が外来受診した場合と、RA 以外の膠原病を疑う患者が受診した場合に分けて、指針を提示するのが良いということが、まず決定された。

- 6) 江口教授から「早期関節リウマチ (RA) 分類基準」についての提唱が報告された。これは MRI を利用する基準であるため、RA を疑う患者が外来受診した場合に、今後いわゆる臨床検査が MRI の代替となりうるかどうかを検討することとなった。
- 7) 次いで膠原病を疑う場合についての案が、西村 邦宏、小柴 賢洋から報告された。各膠原病患者の診断時の血清を収集し、抗核抗体、疾患特異的自己抗体をそれぞれ測定し、診断性能を統計的に検討することとなった。また抗 CCP 抗体についても現時点では保険収載されていないが、RA に対する特異性が良いと報告されていることから、検討項目に加えることとなった。

(文責) 班研究事務局 小柴賢洋

〔VII〕

別刷

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

荒木 智奈美*1 林 伸 英*2 森 山 雅 子*3
森 信 早穂子*4 向 井 正 彦*5 小 柴 賢 洋*6
河 野 誠 司*7 熊 谷 俊 一*8

Usefulness of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibodies (Anti-CCP)
for the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis

*Chinami ARAKI*1, Nobuhide HAYASHI, PhD*2, Masako MORIYAMA*3,
Sahoko MORINOBU, MD*4, Masahiko MUKAI*5, Masahiro KOSHIBA, MD, PhD*6,
Seiji KAWANO, MD, PhD*7 and Shunichi KUMAGAI, MD, PhD*8*

Rheumatoid factor (RF) has been commonly used as a marker of rheumatoid arthritis (RA). RF can be detected in 60~80% of RA patients, but the specificity is low against other rheumatic diseases patients. We evaluated the diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP), a new diagnostic test for RA. Anti-CCP demonstrated higher sensitivity (81.0%) and specificity (92.4%). By the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, anti-CCP was superior to other markers (ie. RF, CARF, IgG-RF, and MMP-3). In early RA patients (RA patients who had had disease symptoms for <2 years), sensitivity was 68.8%. Positivities of anti-CCP in RA patients became higher as the advance of stage defined by the Steinbrocker classification.

We concluded that anti-CCP is a very valuable tool for the diagnosis of RA. Moreover, anti-CCP is a useful for finding RA of recent onset.

[Rinsho Byori 52 : 966~972, 2004]

*1Department of Clinical Laboratory, Kobe University Hospital, Kobe 650-0017

【Key Words】 anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (抗 CCP 抗体), rheumatoid arthritis (関節リウマチ), rheumatoid factor (リウマトイド因子), receiver operating characteristic curve analysis (ROC 分析)

受付 2004 年 8 月 23 日・受理 2004 年 11 月 15 日

*1-3,5,7,8 神戸大学医学部附属病院検査部 (〒650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-2)

*4,6,8 神戸大学大学院医学系研究科生態情報医学講座臨床病態・免疫学 (〒650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-1)

従来より、関節リウマチ(RA)の検査としてリウマトイド因子(RF)が用いられているが、RA以外のリウマチ性疾患での陽性率が高く、また肝疾患や慢性炎症患者、高齢者でも陽性となることが指摘されている¹⁾。RAに特異的な自己抗体として抗ケラチン抗体や抗核周因子抗体などの種々の自己抗体が検出されていたが²⁾³⁾、近年、これらの対応抗原が上皮組織に存在するフィラグリンと呼ばれる分子であることがわかった⁴⁾。フィラグリンは peptidylarginine deiminase (PADI) によってアルギニンがシトルリンに変換されており、RA患者に特異的であるためにはフィラグリン分子上のシトルリン残基が自己抗体の認識するエピトープの形成に重要であると考えられている⁵⁾。Schellekensらはフィラグリン配列からシトルリンを含んだ環状合成ペプチドを調べ、その抗体がRA患者に特異的であることを報告した⁶⁾。

今回、我々は新しく開発された検査である抗環状シトルリン化ペプチド抗体(抗CCP抗体)と他のRA検査との比較により抗CCP抗体のRA検査における有用性を評価し、早期RAでの比較検討も行った。

I. 対象および方法

A. 対 象

診断の確定した膠原病患者^{7)~12)}、関節リウマチ(RA)患者79例(男性10例、女性69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)、混合性結合組織病(MCTD)13例(女性のみ)、および本院職員健診検体の中で特に異常のみとめられなかったもの(健常者)202例(男性101例、女性101例)を対象とした。試料は血清分離後、-40°Cで保存した。

B. 測定原理および方法

抗原として合成シトルリン化ペプチドを固相化したマイクロプレートに、リン酸緩衝液にて101倍希釈した検体を添加して抗原抗体反応(一次反応)させる。洗浄後、アルカリフォスファターゼ標識抗ヒトIgGモノクローナル抗体(マウス)を添加して反応(二次反応)させ、抗原・抗体・酵素標識抗体の複合物を形成させる。洗浄後、基質としてフェノールフタレインモノフォスフェイトを添加し、酵素により

発色させた。反応停止後、吸光度(550nm)を測定し、同時に測定した標準物質から作成した検量線より血清中の抗CCP抗体濃度を算出した。試薬としてDIASTAT® Anti-CCP(MBL社)を用い、マイクロプレートELISA自動測定装置(BEP-III:デイドベアリング社)により測定した。操作手順書に記載のカットオフ値により、5.0U/ml以上を陽性とした。

また他のRAマーカーについて、RFはN-ラテックスRFキットII(デイドベアリング社)を用い、ベアリングネフェロメーターII(BNII:デイドベアリング社)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、BEP-IIIにて測定した。

II. 結 果

A. 各疾患群および健常者における抗CCP抗体の濃度分布

抗CCP抗体の各疾患群および健常者での抗体価の濃度分布を示した(Fig. 1)。中央値(Q1-Q3)はRA 268.40(58.43-567.00)、SLE 1.29(1.05-1.62)、SjS 1.21(0.91-1.92)、PSS 1.10(0.82-1.69)、PM/DM 1.48(1.18-2.57)、MCTD 1.37(1.08-2.10)、健常者 0.90(0.70-1.10)であった。RAでは高濃度に分布し、その中央値は他の疾患群での抗体価の中央値の約100倍と高値であった($p < 0.001$)。

B. 各疾患群および健常者における抗CCP抗体の陽性率

抗CCP抗体の各疾患群における陽性率はRA 81.0%(64/79)、SLE 2.7%(1/37)、SjS 11.1%(3/27)、PSS 11.8%(2/17)、PM/DM 18.2%(2/11)、MCTD 0.0%(0/13)と、RA以外のリウマチ性疾患と比較してRAでは有意に高い陽性率を示した($p < 0.001$)。

また、健常者における陽性率は男性2%(2/101)、女性4%(4/101)、全体で3%であった。

C. RAマーカーの感度、特異度の比較

それぞれのマーカーの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(Table 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。

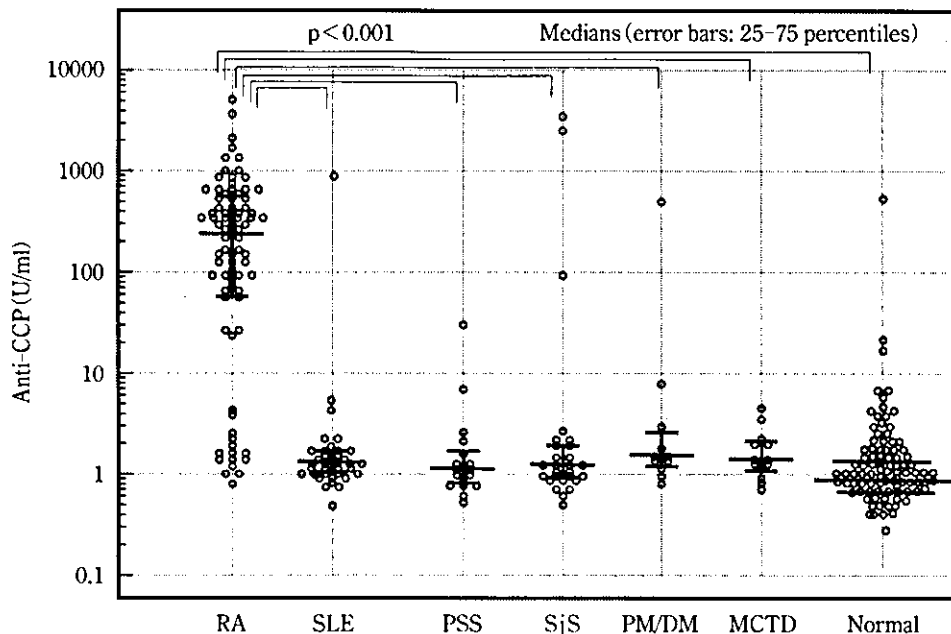


Figure 1 Levels of anti-CCP in various rheumatic disease patients.

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)

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と比較して有意に高率であった ($p < 0.002$)。

D. ROC 分析によるカットオフ値の評価と他のマーカーとの比較

RA を疾患群、non-RA を対照群として、ROC 分析を行い抗 CCP 抗体のカットオフ値の評価を行った (Fig. 2)。最も適切なカットオフ値は 7.8 U/ml (感度 81.0%、特異度 95.2%) で、操作手順書によるカットオフ値 5.0 U/ml の近くに位置していたことから、カットオフ値 5.0 U/ml は適切に設定されていた (感度 81.0%、特異度 93.3%)。次に抗 CCP 抗体と他のマーカーとの比較を行った (Fig. 3)。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。

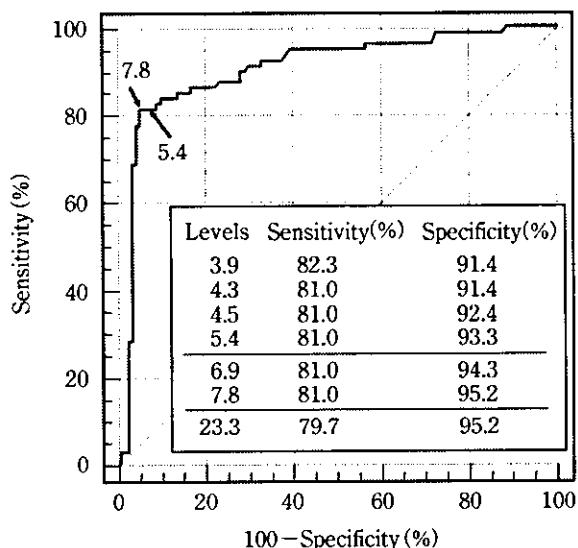


Figure 2 Evaluation of cut off values of anti-CCP when used to discriminate between the patients with RA and those with other rheumatic diseases.

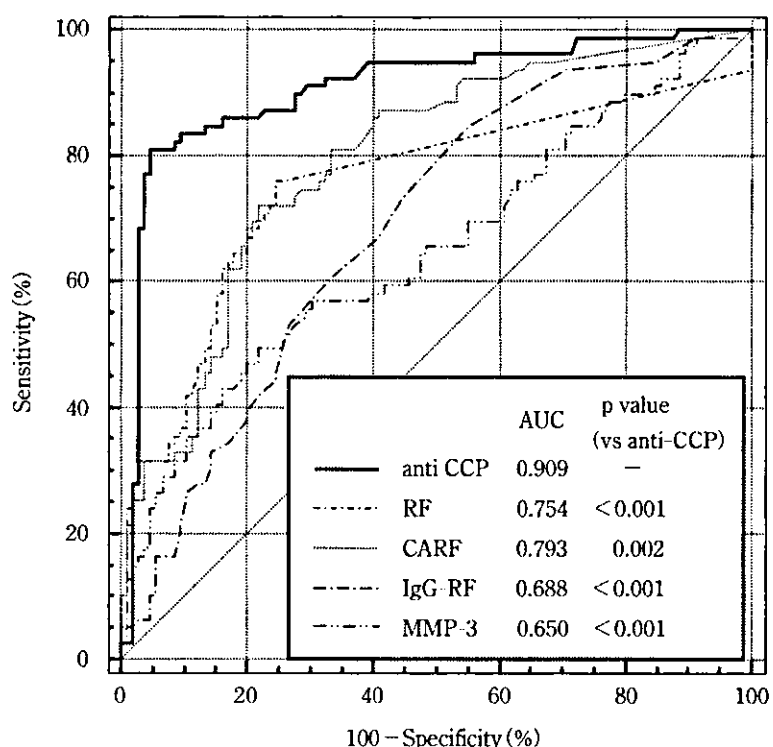


Figure 3 Receiver operating characteristic curves of RF, IgG-RF, CARF, and anti-CCP when used to discriminate between the patients with RA and those with other rheumatic diseases. AUC: the Areas under the curve.

Table 2 Sensitivity of RF, IgG-RF, CARF, MMP-3 and anti-CCP in Non-early RA and Early RA (%)

	Early RA (n=16)	Non-early RA (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 >2 years.

E. RA での感度比較

RA 79 例について、発症 2 年未満の早期 RA 16 例と、発症 2 年以上の RA 63 例とに分け、それぞれの感度を比較した (Table 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 および MMP-3 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。

F. 病期ステージ分類別における抗 CCP 抗体の陽性率

RA 患者のスタインブロッカーの病期ステージ分類別における抗 CCP 抗体の陽性率を分類が可能であった 66 例について調べた (Fig. 4)。病期ステージが I 期から IV 期に上がるに従って抗 CCP 抗体の陽性率は 64.3%, 86.9%, 90.9%, 94.4% と有意に上昇した (p<0.05)。

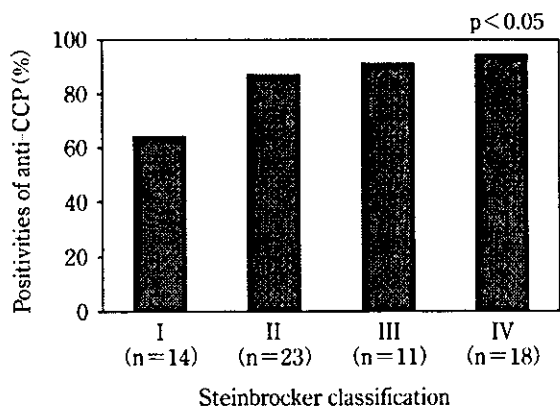


Figure 4 Positivities of anti-CCP in RA patients distinguished with Steinbrocker classification.

III. 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できる検査や、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。最近、RAの新たな自己抗体として抗CCP抗体が注目されている。

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¹³⁾。今回、我々の行った検討においても、各疾患群との比較においてRAでの抗体価は有意に高値を示した。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%と他のマーカーと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およびMMP-3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¹⁴⁾、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⁶⁾¹⁵⁾、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¹⁵⁾¹⁶⁾。また、抗CCP抗体のRAでの重症度の関係については、発症1年未満のRA患者において抗CCP抗体陽性例は陰性例に比較して6年後のX線像の所見は重症化していたという報告があり、骨破壊の進行予測因子である可能性が高いといわれている¹⁷⁾。我々が行った病期ステージ分類別における抗CCP抗体の陽性率の検討では、抗CCP抗体の陽性率は病期ステージが上がるに従って有意に上昇した。また抗CCP抗体とRAの病態との関連については、RAを発症する数年前から抗CCP抗体が出現していたことから、RA発症を予測できることが報告されている¹⁸⁾。今回の我々が用いた対象においても、SjSの患者で抗CCP抗体が陽性であったもののうち2年後にアメリカリウマチ協会(ACR)の分類基準を満たしRAと診断された患者が1例(抗CCP抗体92U/ml)、同様に2年後にACRの分類基準は満たさないが臨床所見やX線像によりRAと診断された患者が1例(抗CCP抗体2528U/ml)存在した(他の1例は以後の受診歴がなく、調査不可能であった)。

RA発症以前に抗CCP抗体が検出されることは、関節炎発症以前から自己抗体が産生されていることを示している。RA患者の血清および関節液を測定した結果や関節滑膜液および末梢血液からのB細胞の抗CCP抗体の産生を解析した結果などから、抗CCP抗体は炎症関節から抗原刺激を受けたB細胞により局所的に産生されるとされている¹⁹⁾²⁰⁾。また、PADIはフィブリンの α 鎖および β 鎖など滑膜に存在する蛋白をシトルリン化することから、これらの蛋白が自己抗原となる可能性も報告されている²¹⁾。したがって、RAにおいてはシトルリン化された蛋白に対する自己免疫反応が起こっているものと考えられ、抗CCP抗体はRAの病因・病態を考える上でも重要である。

IV. 結 語

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く、ROC分析による検討においても他のマーカーに比較して最も優れていた。また、RAの早期診断や関節破壊の予後予測因子である可能性も示唆されており、RAにおける臨床的診断検査として有用であると考

えられる。今後、早期 RA でのより大規模な検討や、抗 CCP 抗体の臨床経過との関連の検討を行う必要がある。

本研究の一部は第 50 回日本臨床検査医学会総会(2003)で報告した。

文 献

- 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) Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ: Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979; 2: 97-9.
- 3) Nienhuis RLF, Mandema EA. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964; 23: 302-5.
- 4) Simon M, Girbal E, Sebbag M, Gomes-Daudrix V, Vincent C, Salama G, et al. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin antibodies," autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1993; 92: 1387-93.
- 5) Schellekens GA, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential consistent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-81.
- 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) Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
- 8) Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-7.
- 9) Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome: results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 340-7.
- 10) Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-90.
- 11) Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis: part 1 and 2. *N Engl J Med* 1975; 292: 344-7, 403-7.
- 12) Porter JF, Kingsland LC III, Lindberg DAB, Shah I, Benge JM, Hazelwood SE, et al. The AI/RHEUM knowledge-based computer consultant system in rheumatology: performance in the diagnosis of 59 connective tissue disease patients from Japan. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 219-26.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) Jansen ALMA, van der Horst Bruinsma IE, van Schaardenburg D, van de Stadt RJ, de Koning MHMT, 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.
- 16) 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.
- 17) Kroot EJ, de Jong BAW, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FHJ, van't HOF M, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-5.
- 18) Markus MJN, van Schaardenburg D, HW Reesink, van de Stadt RJ, van der Horst Bruinsma IE, de Koning MHMT, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*

2004; 50: 380-6.

- 19) Masson-bisserie C, Sebbag M, Durieux JJ, Nogueira L, Vincent E, Girbal-Neuhauser, et al. In the rheumatoid pannus, anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than synovial fluid and serum. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 544-52.
- 20) Reparon-Schuijt CC, van Esch WJE, van Kooten C, Schellekens GA, de Jong BAW, van Venrooij WJ, et al. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 41-7.
- 21) Masson-Bisserie C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, et al. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta- chains of fibrin. *J Immunol* 2001; 166: 4177-84.