

13. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Horikoshi, M., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. Involvement of NK 1.1-positive $\gamma\delta$ T cells in interleukin-18 plus interleukin-2-induced interstitial lung disease. *Am. J. Res. Cell. Mol. Biol.* 45(3):659-666,2011.

14. Akashi, N., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Inoue, A., Yamamoto, K., Umeda, N., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Sekiguchi, K., and Sumida, T. Comparative suppressive effects of tyrosine kinase inhibitors imatinib and nilotinib in models of autoimmune arthritis. *Mod. Rheumatol.* 21:267-275,2011.

15. Hikami, K., Kawasaki, A., Koga, M., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Arinami, T., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 63:755-763, 2011.

16. Tsuboi, H., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Sugihara, M., Suzuki, T., Ogishima, H., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Matsumoto, I., and Sumida, T. Importance of serine727 phosphorylated STAT1 in IFN γ -induced signaling and apoptosis of human salivary gland cells. *Int. J. Rheum. Dis.* 14:86-91, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 母体の出産歴、臨床的特徴の比較

	CHB発症例(N=36)	CHB非発症例(N=632)	検定
出産時年齢(歳)	30.7±4.0	32.3±4.3	P<0.05*
出産歴(%)	47.2	40.8	N.S**
CHB発症の出産歴(%)	17.6	8.9	N.S**
妊娠症候(%)	22.2	26.2	N.S**
紅斑(%)	19.4	27.4	N.S**
紫斑(%)	2.8	2.5	N.S**
レイノー現象(%)	6.9	13.3	N.S**
関節痛(%)	19.4	19.6	N.S**
関節炎(%)	19.4	33.1	N.S**
腎臓炎(%)	8.3	6.9	P<0.05**
腎臓性腎炎(%)	0	3.3	N.S**
腎臓性肺炎(%)	0	2.1	N.S**
肺高血圧(%)	0	0.2	N.S**
血栓症(%)	0	0.8	N.S**
臨床症候(%)	55.6	74.1	P<0.05**
膠原病の診断(%)	58.3	81.5	P<0.05**
SSの診断(%)	33.3	38.6	N.S**

** Mann-Whitney's U-test ** Fisher's exact probability test

表2 母体の治療歴の比較

	CHB発症例(N=36)	CHB非発症例(N=632)	検定
妊娠前からの治療			
ステロイド投与率(%)	41.7	53.0	N.S*
免疫抑制薬投与率(%)	2.8	10.0	N.S*
妊娠前からの治療			
ステロイド投与率(%)	41.7	60.3	P<0.05*
妊娠前からのステロイド継続投与率(%)	27.8	46.4	P<0.05*
免疫抑制薬投与率(%)	0	1.4	N.S*
抗血小板薬・抗凝固薬投与率(%)	5.6	25.0	P<0.05*
血漿交換療法(%)	5.6	2.4	N.S*

** Fisher's exact probability test

表3 CHB発症に対する多重ロジスティック回帰分析

説明変数	オッズ比	P値	95%信頼区間	
			下限	上限
出産時年齢	0.8911	0.0087	0.8186	0.9685
出産歴	1.6823	0.1809	0.8130	3.4813
臨床症候	0.3635	0.0328	0.1381	0.9183
フライマウス	1.9766	0.1920	0.7102	5.5011
関節炎	33.6857	0.0001	6.0482	187.8142
膠原病の診断	0.3268	0.0160	0.1314	0.8118
妊娠前からのステロイド投与歴	2.0220	0.1100	0.6528	4.7942
妊娠前からの抗血小板薬・抗凝固薬投与	0.1787	0.0235	0.0403	0.7826
妊娠前からの血漿交換療法	3.9107	0.1091	0.7482	20.4418
妊娠前からのPSL10mg/日以上の継続投与	0.2162	0.0538	0.0466	1.0240

図1 妊娠前からのステロイド継続投与量

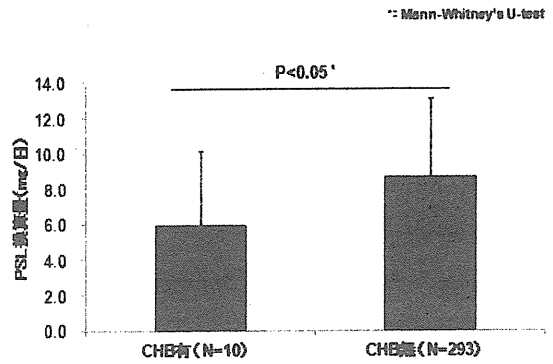


図2 リスク因子数別のCHB発生率

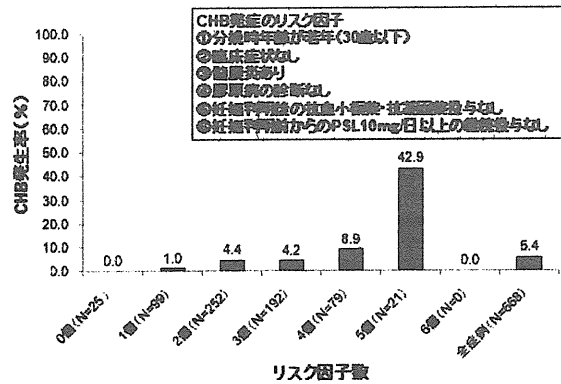
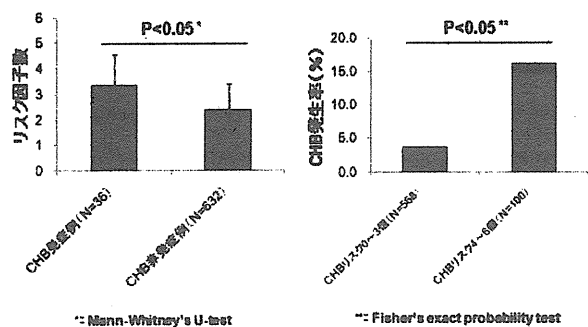


図3 リスク因子数とCHB発生の関連(リスク因子は図2と同一)



抗 SS-A 抗体陽性妊婦における抗体値と児完全房室ブロック罹病に関する検討

研究分担者

和氣 徳夫 九州大学医学研究院 生殖病態生理学 教授

研究協力者

福嶋恒太郎 九州大学病院 総合周産期母子医療センター 講師

藤田 恭之 同 助教

湯元 康夫 九州大学病院 産科婦人科 助教

穴見 愛 同 特任助教

研究要旨：抗 SS-A 抗体陽性妊婦は年間 1 万例と推測されるが、その児に心ブロックが発症する確率は 1%と稀で、単施設での経験に基づく研究は不可能であり、臨床現場から診療指針の作成が望まれてきた。本研究は、児に不可逆的な障害を残す可能性の高い抗 SS-A 抗体による新生児ループス（特に心ブロック）を対象とし、経験の多い施設の内科医、産科医、小児科医が共同で研究し、母体ならびに胎児の管理に関する指針を導き出すことを目的としている。

前年度の検討から、170 症例の抗 SS-A 抗体の抗体価 (DID 法) と心ブロック発症における Receiver Operating Characteristic Curve (ROC 曲線) は AUC 0.75 と比較的高い AUC 値と精度を有しており、抗体価 32 倍をカットオフ値として設定できることを示した。その後の検討として本年度は、①2012 年の症例データ (643 症例) を用いて DID 法と ELISA 法での抗 SS-A 抗体価と心ブロック発症の ROC 曲線の作成し、カットオフ値の設定の可否について検討を行った。その結果、DID 法と同様に ELISA 法でも比較的高い AUC 値 (0.680、0.756) を有した ROC 曲線が作成でき、抗 SS-A 抗体の抗体価と心ブロックの発症においてカットオフ値が設定できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

母体の自己抗体が胎児へ移行して引き起こす難治性の病態である新生

児ループスの実態を明らかにし、抗 SS-A 抗体陽性女性の妊娠中の管理（診断・治療）の指針を作成することが本

研究の目的である。この目的に沿い、本年は昨年度の結果から、さらに症例数を増やし、抗 SS-A 抗体抗体価に関する検討を加えた。

B. 研究方法

対象は研究者施設 5 施設(国立成育医療研究センター、大阪母子保健総合医療センター、順天堂大学病院、筑波大学病院、九州大学病院)における抗 SS-A 抗体陽性妊婦例 214 症例に、他施設からの抗 SS-A 抗体陽性妊婦例 449 症例を加えた 643 例を対象とした。抗 SS-A 抗体陽性妊婦例 643 例のうち、二重免疫拡散法(DID法)での抗体価が利用可能な 231 例、employed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA法)での抗体価が利用可能な 452 例において、抗体価と心ブロック(CHB)の発症の有無に対して Receiver Operating Characteristic Curve (ROC曲線)で検討した。

なお、本研究は、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会の承認(承認番号 21-71)を得て行った。

C. 研究結果

・抗 SS-A 抗体抗体価と CHB 発症における ROC 曲線での検討

本年度、集積された症例をもとに同様の検討を行った。DID 法での抗体価の利用可能な 231 例において、抗体価と CHB 発症の有無に対して ROC 曲線で検討した。ROC 曲線を図 3 に示す。AUC 値 0.680 (Moderate Accuracy) と比較的高く、感度 83%、特異度 48%という

精度であった。ROC 曲線より 2011 年度と同じく抗体価 32 倍をカットオフ値と設定することができた。ELISA 法での抗体価の利用可能な 452 例において、抗体価と CHB 発症の有無に対しての ROC 曲線を図 4 に示す。この結果、カットオフ値(抗体価 120~130U/ml)が設定できる可能性が示唆された。

D. 考察

1、抗 SS-A 抗体陽性妊婦において、CHB 発症を outcome とした場合、DID 法を用いた抗体価の ROC 曲線での検討では 2011 年度(症例数 170 例)と同様今年度(症例数 231 例)の検討においても、比較的高い AUC 値(0.75/0.68)と精度(感度 87/83%、特異度 53/48%)を有していた。ELISA 法を用いた抗体価の ROC 曲線での検討は、2011 年度(症例数 188 例)の結果からはカットオフ値の抽出は不能であったが、今年度症例数が 452 例まで集積された結果、ROC 曲線から抗体価 120~130U/ml 周辺にカットオフ値を設定できる可能性が示唆された。

E. 結論

本年度増加した症例を加えて、抗 SS-A 抗体価と CHB 発症における ROC 曲線について、カットオフ値設定の可否について再度、後方視的な検討を行った。

その結果、DID 法での抗体価に関しては 32 倍にカットオフ値が設定でき、昨年と同様の結果であった。ELISA 法に関しては、昨年の ROC 曲線からはカ

ットオフ値の抽出は不能であったが、本年度の集積された症例数で再検討することにより、120-130 周辺にカットオフ値の設定の可能性を示唆する結果が得られた。

今後は、この結果をもとに、DID 法での抗体価 32 倍以上の症例において、さらに母体への治療(ステロイド投与)の有無、投与されたステロイドの種類、投与されていた時期(妊娠前、妊娠判明後)による CHB 発症について、さらに比較検討をすすめていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1, 誌上発表

1) 穴見愛、福嶋恒太郎、湯元康夫、和氣徳夫：新生児ループス(心ブロック)を発症した抗 SS-A 抗体陽性妊婦の検討．産婦人科の実際 2011； 60, 929-939

2, 学会発表等

1) 穴見愛、湯元康夫、福嶋恒太郎、和氣徳夫、村島温子「新生児ループス(心ブロック)を発症した抗 SS-A 抗体陽性妊婦の検討」 日本周産期・新生児医学会 (平成23年7月、札幌市)

2) 穴見愛、湯元康夫、福嶋恒太郎、和氣徳夫、村島温子「新生児ループス(心ブロック)を発症した抗 SS-A 抗体陽性妊婦の検討」 日本産科婦人科学会学術集会 (平成23年8月、大阪府)

3) 穴見愛、湯元康夫、福嶋恒太郎、和氣徳夫、村島温子「抗 SS-A 抗体陽性妊婦における ベタメタゾンとプレドニゾロン投与の 胎児心ブロック発症予防効果に関する検討」日本胎児治療学会 (平成23年12月、福岡市)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

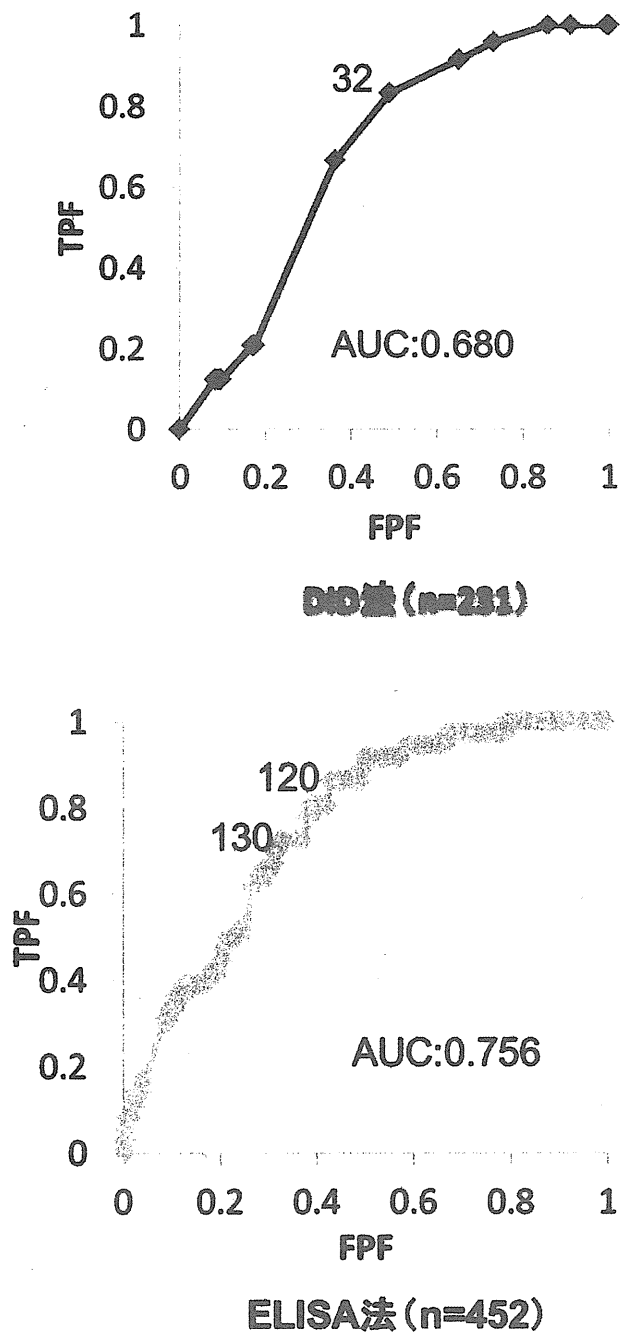


図1 抗SS-A抗体価とCHB発症におけるROC曲線での検討

DID法での抗体価の利用可能な231例(上)、ELISA法での抗体価の利用可能な452例(下)に関して、抗体価とCHB発症についてROC曲線を作成した。

CHB:胎児心ブロック

TPF:陽性率(True Positive Fraction)、FPF:偽陽性率(False Positive Fraction)

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
分担研究報告書

世界的研究状況の把握に関する研究

研究分担者：岸本 暢将 聖路加国際病院アレルギー・膠原病科 副医長

研究要旨：

米国リウマチ学会2011年総会において海外における新生児ループスのデータの収集を行った。今回は世界最大の心臓新生児ループス（NLE）のコホート研究である米国のResearch Registry for Neonatal Lupus (RRNL)およびステロイドの有用性を検討したPRIDE試験に参加した患者群を解析した研究の口頭発表があった。Ro蛋白上の 200-239アミノ酸（p200）に特に結合する抗体である抗p200抗体が既知の抗Ro抗体以上にNLEのリスク因子として有用であるかを母体血清と臍帯血（児血清）を測定し検討した。その結果抗p200抗体は抗Ro抗体と同様にリスク因子ではあるが抗Ro抗体以上の有用性は認められなかった。

A. 研究目的

海外における心臓新生児ループス（NLE）のデータの収集。

B. 研究方法

2011年米国リウマチ学会総会（11月4日から11月9日まで開催）に出席し情報収集をおこなった。

C. 研究結果

世界最大の心臓新生児ループス（NLE）のコホート研究である米国のResearch Registry for Neonatal Lupus (RRNL)および心臓NLEの発症頻度と心臓NLE発症時の母体ステロイド治療の有効性を検討したPRIDE研究に参加した患者を対象に研究が行われた。120人の臍帯血清サンプル（心臓NLE児58人、心臓NLE児を兄弟にもつ健常児34人、心臓NLE児を兄弟に持たない健常児28人）を検討したところ、すべての患者で抗Ro60抗体は陽性、抗full-length Ro52抗体は97%で陽性であった。抗p200抗体は、心臓NLE児で81%、心臓NLE児を兄

弟にもつ健常児で91%、心臓NLE児を兄弟に持たない健常児で79%と各群とも同程度に陽性であった。また、抗p200抗体の抗体価もそれぞれ 45.7 ± 3.7 、 59.8 ± 9.3 、 50.7 ± 18.1 と、有意差をみとめなかった。同様に、82人の母体血清サンプル（心臓NLE児を持つ患者37人、心臓NLE児を兄弟にもつ健常児を持つ患者21人、心臓NLE児を兄弟に持たない健常児を持つ患者24人）を検討したところ心臓NLE児を持つ患者と持たない患者で抗Ro抗体、抗p200抗体の出現頻度および抗体価に差は認められなかった。さらに、心臓NLE児および健常児をともに持つ母体の血清で抗Ro抗体、抗p200抗体の抗体価を解析したところ心臓NLE児（Ro52: 69.1 ± 23.5 , p200: 49.2 ± 34.1 ）、健常児（Ro52: 81.1 ± 24.3 , p200: 63.9 ± 29.2 ）と有意差を認めなかった。

D. 考察

心臓NLE発症のリスク（予測）因子として抗Ro抗体は知られているが、今回抗p200抗体がそれ以上のリスク因子となりえるか検討を行った。しか

し、特に有意差なく抗Ro抗体以上の有用性は認められなかった。

E. 結論

心臓NLE発症のリスク（予測）因子として抗Ro抗体は知られているが抗p200抗体はそれ以上のリスク因子とはならなかった。心臓NLE児および健常児をとともにもつ母体血清の解析では、抗Ro抗体および抗p200抗体の出現頻度や抗体価に有意差は認められなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
分担研究報告書

胎児心筋におけるSS-A抗原の発現

研究分担者 中山雅弘 大阪府立母子保健総合医療センター検査科 部長

研究要旨

前年度は、SS-A抗体に反応する物質が胎児の心筋等に存在するかの検討を行った。結果は、SS-A（60KD）抗体に反応する抗原が妊娠中期をピークとして発現していた。一方、SS-A（52KD）抗体については、胎児心筋で発現が見られなかった。今年度は、昨年度発現が見られなかったSS-A（52KD）抗体について抗体を変更し同様に胎児心筋で免疫染色において発現の検討を行った。結果はSS-A（60KD）抗体とほぼ同様に、SS-A（52KD）抗体関連の抗原が妊娠中期をピークとして発現していた。今回の検討でSS-A（52KD）SS-A（60KD）抗体ともに心筋と反応し、その後の心筋障害の基礎となるデータが確認できたと考える。伝導系の細胞や弁組織での発現確認を次年度以降に施行の予定である。

A. 研究目的

先天性 A-V ブロックの原因に関して、特に完全房室ブロックにおいては、その多くが母体の SS-A 抗体の関連が示唆されているが、その分画成分（52KD, 60KD）や SS-B 抗体との関連については、未だ解明に至らず国内外の専門家によって研究がなされている。A-V ブロックの発生に関しても刺激伝導系の障害とされているが、心筋病変の関与も示唆されており、その詳細な病理学的解析は少ない。剖検例での心臓の病理組織学的検索は発生メカニズム研究の基本である。

前年度は、SS-A 抗体に反応する物

質が胎児の心筋等に存在するかの検討を行った。結果は、SS-A（60KD）抗体に反応する抗原が妊娠中期をピークとして発現していた。一方、SS-A（52KD）抗体については、胎児心筋で発現が見られなかった。今年度は、昨年度発現が見られなかった SS-A（52KD）抗体について抗体を変更し同様に胎児心筋で免疫染色において発現の検討を行った。心臓の伝導系や心筋において SS-A 抗体に反応する物質の発現を見ることはその後起こる心筋障害や伝導障害の発症予防へつながる重要な基礎研究である。

B. 研究方法

剖検胎児の心筋等の組織を胎児の各週数においてパラフィン標本より、SSA(52KD)抗体を用いて免疫組織学的検討を行った。SS-A (52KD) 抗体は、ヒト 52kDa Ro/SSA(TRIM21)の C-末端 (CPLNIGSQGSTDY) 合成ペプチドに対するヤギのポリクローナル抗体--52kDa—LIFESPAN 社を用いた。更に、SS-A (52KD) 抗体優位の患者血清 1 例と、SS-A (60KD) 抗体優位の患者血清の 1 例を用いて同様の検討を行った。

対象は、16 週から 39 週までの胎児心筋組織で、16 週が 1 例、19 週、21 週、25 週、29 週、30 週、38 週、39 週が各 1 例、合計 8 例である。胎児重量は、121g から 3108g に分布している。児の奇形（心奇形、腎奇形、骨奇形など）は含まれているが、母体の異常は妊娠高血圧症以外に合併症はない。パラフィン切片から免疫染色施行時に、切片内に含まれていた他の組織（肺、肝、膵、消化管、子宮、胸腺など）についても付加的に検討した。

C. 研究結果

1. 各症例の染色結果を表 1 に示す。SS-A (52KD) 抗体は、16 週から 25 週まで 4 例で陽性となった。16 週と 21 週の症例では強い陽性所見を示した。29 週から 40 週の 4 例は陰性であった。比較のために昨年度行った SS-A (60KD) 抗体の結果も記す。16、21、25 週の心筋の染色結果を図 1、2、3 に示す。心筋全体に陽性であるが、局所的により強い陽性部分があり、昨

年度の SS-A (60KD) が瀰漫性に染色される傾向と異なっていた。心筋陰性症例(29 週)を図 4 に示す。

他の臓器でも陽性を示した。副次的に得られたもので、すべての週数での検討はできていないが、肺では肺胞上皮が 30 週症例で陽性であり、膵臓で腺組織が 21 週症例で陽性となった。興味ある所見として、消化管では腺上皮が 21 週症例で染色され、この所見は昨年の SS-A (60KD) 抗体の結果と同じであったが、消化管の神経叢においては、21 週症例において、SS-A (52KD) 抗体は強陽性であったが、SS-A (60KD) 抗体は陰性であった（図 5）。また、16 週症例においては、SS-A (52KD) 抗体は腺上皮、神経叢ともに陽性であったが、SS-A (60KD) 抗体は陰性であった（図 6）。

SS-A (52KD) 抗体優位の患者血清と、SS-A (60KD) 抗体優位の患者血清を用いた各週数の心筋組織の発現結果ではいずれも疑陽性のパターンであり、それぞれに有意な差異を認めなかった。

D. 考察

先天性房室ブロックは、SS-A、SS-B 抗体陽性者の 2-5%に発生するといわれている。胎児及び小児の死亡例における心臓病理の解析ではまとまった報告が少ない^{1),2)}。初年度に、当科において、SS-A 抗体にともなった先天性完全房室ブロックの剖検例で心臓病理の詳細な検索を行った。妊娠中期

においても同様の病変が房室結節に存在することが確認された。房室結節の病変に加えて、線維弾性症の所見も全例に認められた。心筋障害の可能性も強く疑われた。心筋の免疫組織学的な検討で IgG の広汎な沈着が心筋に見られた。これも移行抗体が心筋に障害を起こしている可能性を示唆する。

前年度は、母体合併症のない胎児心筋において SS-A 抗体に反応する物質が胎児の心筋等に存在するかの検討を行い、保存パラフィン切片において胎児中期の心筋細胞は SSA (60KD) を発現していた。初期 (16 週未満) の症例で検討できなかったため、初期の心筋細胞において 60kDa Ro/SSA 発現の有無は未定であるが、後期においては発現されなかった。臨床的にも心筋障害は SSA (52KD) よりも SSA (60KD) の陽性と相関しているデータもあり、また、心筋細胞の表面膜での検討で、SSA (60KD) のみしか発現が見られなかったとの報告もあり³⁾、心筋障害の発展に関しては、SSA (60KD) が主たる要因である可能性も考えられた。一方、昨年度の結果では、SSA (52KD) はどの週数においても発現がみられなかった。今年度は、SSA (52KD) の別の抗体を昨年と同様の方法で検討した。結果に示したごとく、昨年度の SSA (60KD) と似通った結果を示した。妊娠中期に反応する物質が発現しそれが後期になると消失していた。むしろ、SSA (60KD) よりも、心筋内においても局在性が強く、刺激伝導系の一部 (?) が染色されているような所見

も見られた。また、抗体価の異なる患者血清でも検討したが、全体に非特異的な所見が強く、この方法では、有意な結果を見出せなかった。

中期では、肺・消化管・生殖器など多くの組織でも SSA (52KD) を発現していた。心筋以外でも特に腺組織に発現が強かった。他の臓器障害の可能性も示唆される。興味ある所見として、消化管の神経叢においては、SS-A (52KD) 抗体は強陽性であったが、SS-A (60KD) 抗体は陰性であった。神経組織に対しては、SS-A (52KD) の親和性があり、刺激伝導系においても異なる作用を示す可能性も考えられる。

今年度の結果では、SSA (52KD) の発現パターンの概略が心筋組織において示されたので次年度は、以下のことを今後検討する予定である。

- 1) 伝導系(房室結節)の細胞に関しては、prospective な検討が必要である。
- 2) 16 週未満の症例に関しては今回行われておらず、症例の蓄積とともに検討予定。
- 3) Western blot や ISH など免疫染色以外の抗原検索。

E. 結論

SS-A 抗体に反応する物質が胎児の心筋等に存在するかの検討を行った。結果は、SS-A (52KD) 抗体に反応する抗原が妊娠中期をピークとして発現していた。今回の検討で SS-A (52KD) 抗体が心筋と反応し、SS-A

(60KD) 抗体とともにその後の心筋障害の基礎となるデータが確認できた。

F. 文献

- 1) Wahren-Herlenius M, Sonesson SE. Specificity and effector mechanisms of autoantibodies in congenital heart block. *Curr Opin Immunol* 2006;18:690-6
- 2) Boutjdir M, Chen L, Zhang Z-H et al Arrhythmogeneity of IgG and anti52-KD SSA/Ro affinity-purified antibodies from mothers of children with congenital heart block. *Circ Res* 1997;80:354-362
- 3) Reed JH, Neufing PJ, Jackson MW, et al Different temporal expression of immunodominant Ro60/60kDa-SSA and La/SSB epitopes. *Clin Exp Immunol* 2007 ; 148 : 153-160

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Baba S, Noda H, Nakayama M, Waguri M, Mitsuda N, Iso H. Risk factors of early spontaneous abortions among Japanese: a matched case-control study *Human Reproduction* 2011; 26: 466~472
2. Kanayama N, Inori J, Ishibashi-Ueda H, Takeuchi M, Nakayama M, Kimura S, Matsuda Y, Yoshimatsu J. Maternal death analysis from the Japanese autopsy registry for recent 16years: significance of amniotic fluid

embolism *Obsterics and Gynaecology Research* 2011; 37: 58~63

3. Ohata Y, Arahori H, Namba N, Kitaoka T, Hirai H, Wada K, Nakayama M, Michigami T, Imura A, Nabeshima Y, Yamazaki Y, Ozono K. Circulating Levels of Soluble α -Klotho Are Markedly Elevated in Human Umbilical Cord Blood *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 96: E943~E947
 4. 中山雅弘, 木本哲人, 植田初江. 羊水塞栓症における肺・子宮での組織および免疫組織学的検討 *産科と婦人科* 2011; 78: 178~185
 5. 宮野章, 中山雅弘. 妊婦における抗 SS-A60- kDa avidity 抗体に関する研究 *臨床病理* 2011; 59: 219~225
 6. 宮野章, 江口政志, 中山雅弘. EVOLIS による NIL-2R 測定試薬の検討 *医学検査* 2011; 60: 762~766
 7. 中山雅弘, 桑江優子, 松岡圭子. 胎盤病理からみた FGR,IUFD *産科と婦人科* 2011; 78: 664~670
- ##### 2) 学会発表
1. 若狭朋子, 新宅雅幸, 中山雅弘. 子宮型羊水栓症における胎児成分検出法の特異性についての検討 第 100 回日本病理学会

2011.4.28～30 横浜市

2. 中山雅弘、橘真紀子、松岡圭子、桑江優子. IUGR と胎盤病理
第 11 回新生児栄養フォーラム
2011.6.25～26 千里市 シンポジウム
3. 中山雅弘、松岡圭子. 染色体異常症の胎児死亡例の解析 — NT、hygroma の病理・発生 —
第 51 回日本先天異常学会学術集会 2011.7.22～24 東京都 シンポジウム
4. 宮野章、中山雅弘. 児に房室ブロックを伴った母親における 52-kDa SSA/Ro p200 peptide に対する免疫反応 第 58 回日本臨床検査学会学術集会
2001.11.17～20 岡山市

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

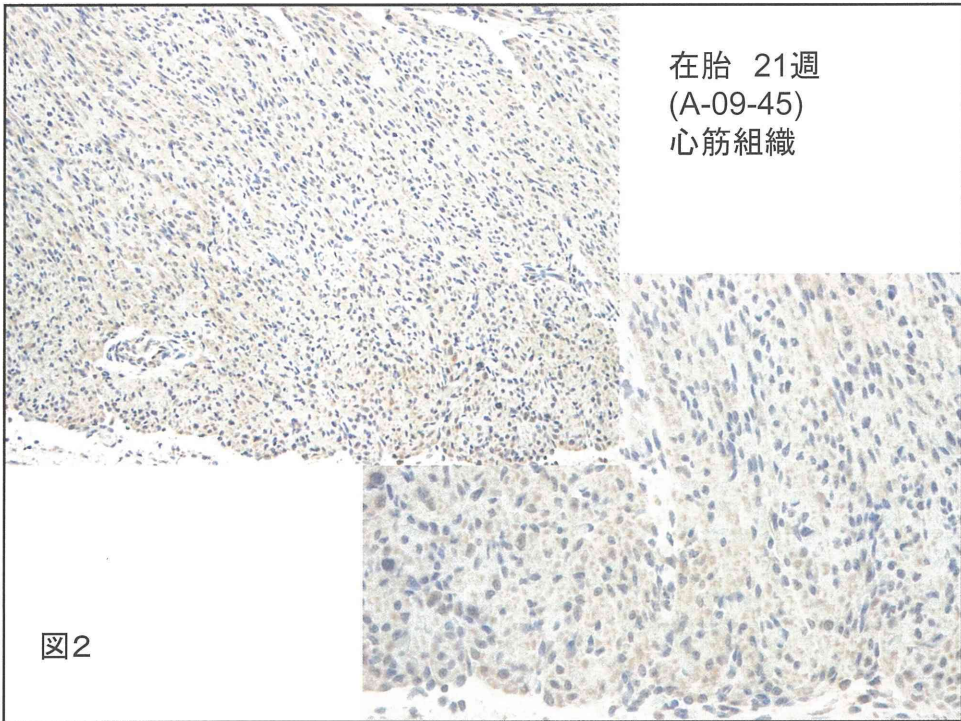
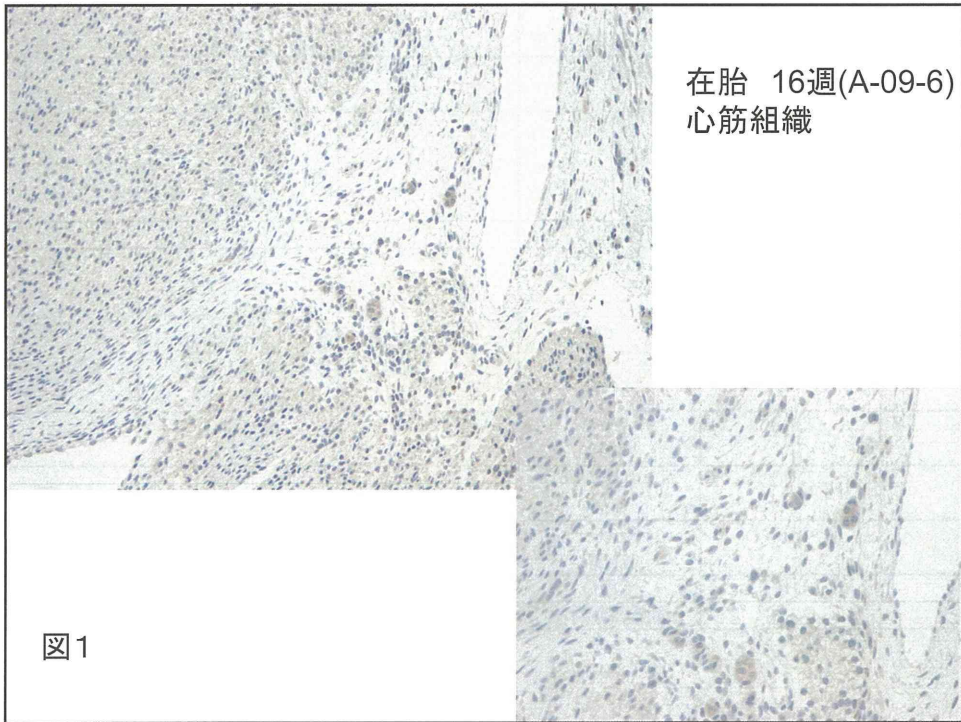
研究協力者

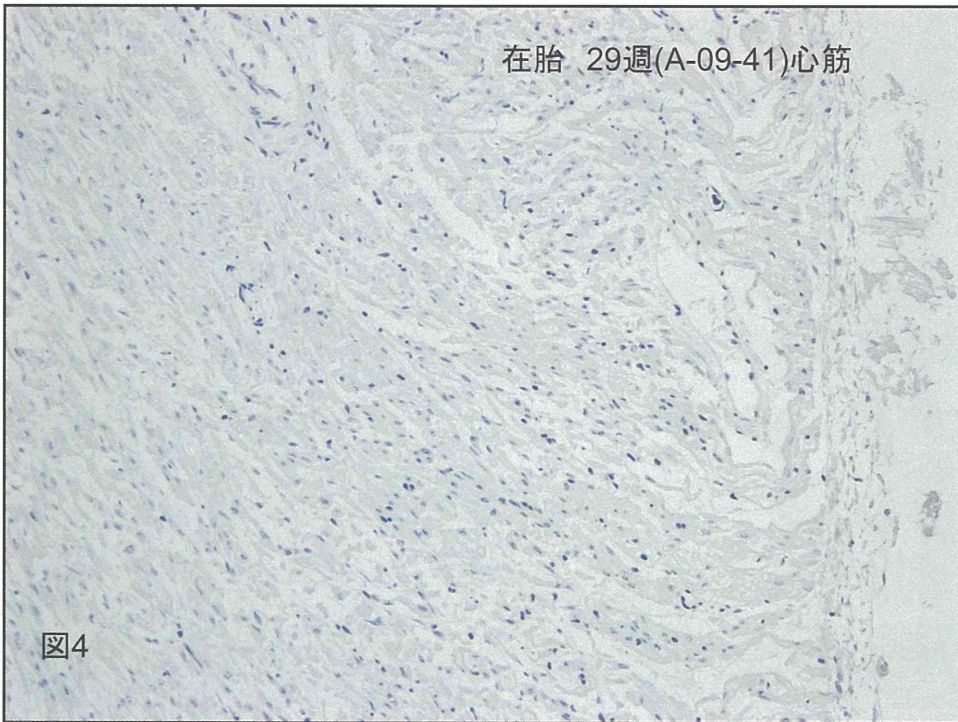
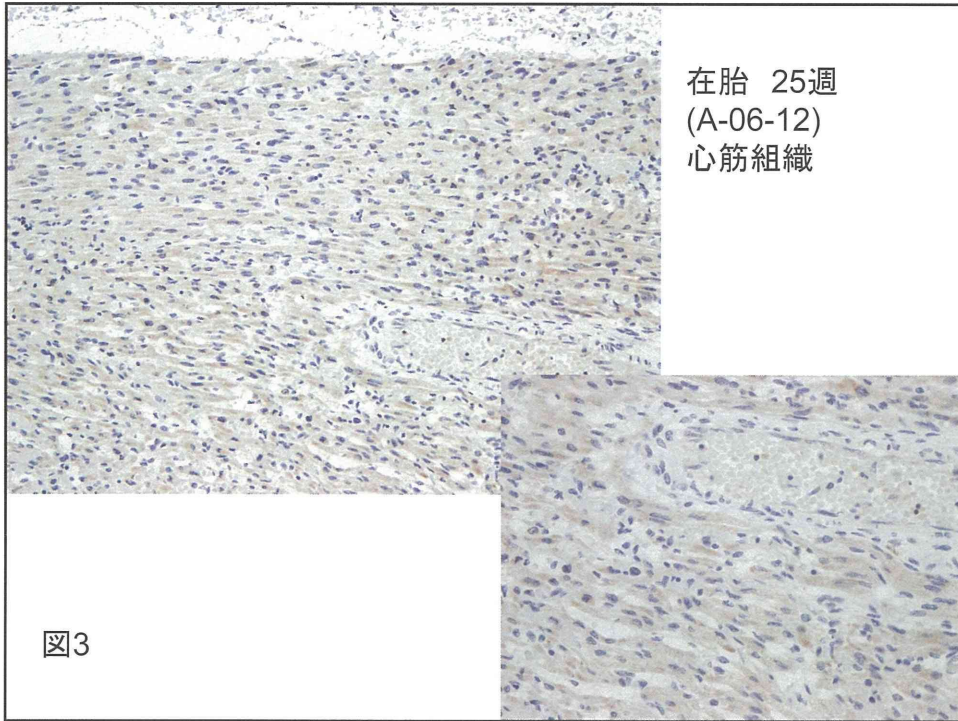
木本哲人（大阪府立母子保健総合医療センター検査科）

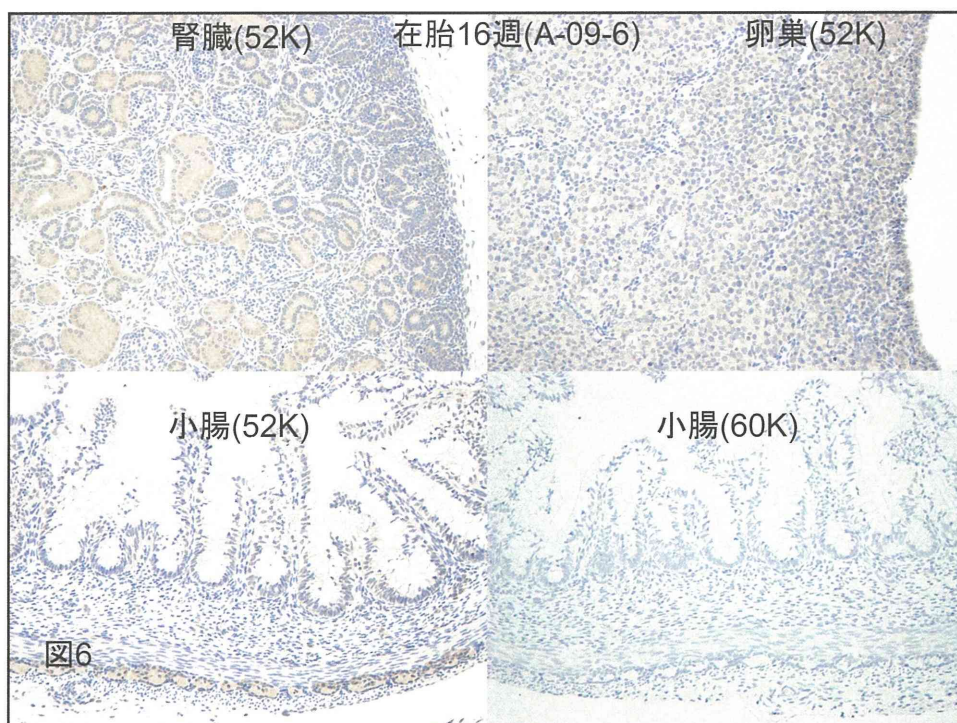
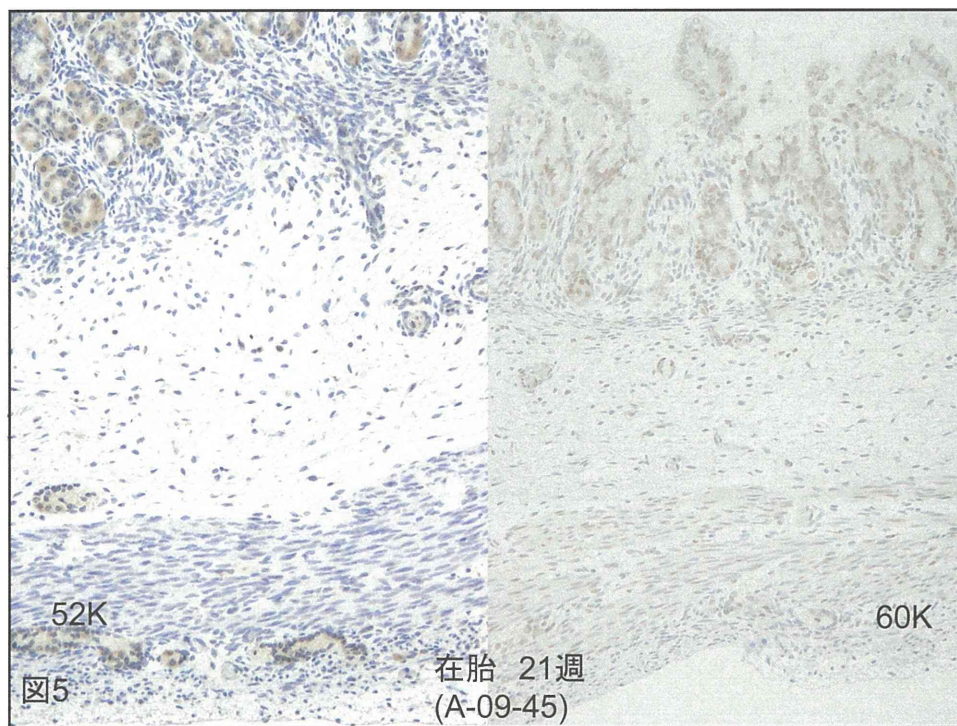
宮野 章（大阪府立母子保健総合医療センター検査科）

表1 2012年SS-A 52KD結果

症例番号	週数(w)	体重(g)	診断	SSA-A(52) 心筋	SS-A(52) その他	SS-A(60) 心筋	SS-A(60) その他
A-07-29	16	76	無頭蓋症	未	肝(未) 脾(未)	+	肝(++) 脾(+)
A-09-06	16	121	中絶	++	腎(+) 副腎(+) 腸(-),神経叢(+) 卵巢(+)	±	腎(+) 副腎(±) 腸粘膜,神経叢(-) 卵巢(-)~(±)
A-09-02	19	310	単心室	+	未	+	未
A-09-45	21	338	骨奇形	++	肺(-) 脾(+) 消化管 上皮(+) 消化管 神経叢(+) 子宮(未) 卵巢(未)	++	肺(+) 脾(++) 消化管 上皮(+) 消化管 神経叢(-) 子宮(+++) 卵巢(++)
A-06-12	25	348	PIH 中絶	+	肺(未)	-	肺(-)
A-09-41	29	320	IUGR PIH	-	肺(-) 胸腺(-)	±	肺(+) 胸腺(+)
A-09-53	30	504	Potter IUGR	-	肺(+) 細気管支(++)	±	肺(+)
A-06-08	38	3108	IUFD	-	肺(-)	-	肺(-)
A-07-52	39	2386	肺動脈閉鎖	-	肺(-)	-	肺(-)







抗 SS-A/B 抗体（ELISA 法ほか）の標準化の検討

研究分担者 宮野 章 大阪府立母子保健総合医療センター検査科主査
山口 晃史 国立成育医療研究センター
母性医療診療部膠原病・一般内科 医長

研究要旨

Pool 血清、CDC 標準品、臨床検体を用いて抗 SS-A/B 抗体（ELISA 法ほか）の標準化を試みたが現状では難しいことがわかった。そこで、抗 SS-A 抗体については、DID 法力価 32 倍（昨年の報告書で和氣らは DID 法 32 倍以上という因子が、CHB を推測する因子として抽出されたと報告したことに由来）に相当する各試薬の測定値を推定した。しかし、この推定値において陰性と判定される例があった。また、ELISA 法は主な臨床での使用目的が「定性判定」であるため、各社試薬での測定値が本来の抗体力価として報告されていないことが多い（特に高力価例について）現状を考え、DID 法での確認が必要な基準案を作成した。Bio-Rad で 100 EU 以上、INOVA で 80 units 以上、Cosmic で Index 値 100 以上、TFB で 300 U/mL 以上、Phadia で 240 U/mL 以上、MBL MESACUP で Index 値 100 以上、MBL STACIA で 500 U/mL 以上を示した場合は DID 法での確認が必要である。

A. 研究目的

現在日本国内での抗 SS-A 抗体及び抗 SS-B 抗体の測定は、ほとんどが ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) 法を原理とする検査試薬で行われており、数値データとして報告されている。しかし、その値は試薬メーカーごとに値付けが異なり、標準化されていない。このため多施設共同研究を行う場合、各施設から報告された測定値を用いた集計・解析ができない。

試薬メーカー6社7試薬の測定値の関係を明らかにし、一定の基準を設けることで各試薬の測定値を一致させることができるか検討する。また、抗 SS-A 抗体については、DID 法（二重免疫拡散法）力価 32 倍

（昨年の報告書で和氣らは DID 法 32 倍以上という因子が、CHB を推測する因子として抽出されたと報告したことに由来）に相当する各試薬の測定値を推定することを目的とする。

B. 研究方法

1. Pool 血清測定

国立成育医療研究センター及び順天堂大学からの検体を Pool し、以下の Pool 血清を作製した。

1) 抗 SS-A 抗体（抗 SS-A 52k, 60k/Ro 抗体含む）

SS-A No. 1 : 抗 SS-A 抗体陽性、抗 SS-B

抗体陰性かつ、抗 SS-A 52k/Ro 抗体陰性、弱陽性検体を Pool

SS-A No. 2 : 抗 SS-A 抗体陽性、抗 SS-B 抗体陰性かつ、抗 SS-A 52k/Ro 抗体陽性検体を Pool

SS-A No. 3 : 抗 SS-A 抗体陽性かつ抗 SS-B 抗体陽性検体を Pool

2) 抗 SS-B 抗体

SS-B No. 1、No. 2、No. 3 :

抗 SS-A 抗体陽性、抗 SS-B 抗体陽性かつ、抗 SS-A 52k/Ro 抗体陽性検体を Pool

上記 Pool 血清 6 種を各試薬にて希釈測定し、最終力価を求めた。

各試薬の最終力価の総平均値を基準とし、各試薬の測定値との比率を換算係数として換算し、換算前後の各試薬の測定値の一致性を評価した。

2. CDC (米国疾病予防管理センター) 標準品の測定

CDC 標準品を各試薬にて希釈測定し、最終力価を求めた。

各試薬の最終力価の総平均値を基準とし、各試薬の測定値との比率を換算係数として換算し、換算前後の各試薬の測定値の一致性を評価した。

CDC 標準品 :

抗 SS-A 抗体 ; ANA HUMAN REFERENCE SERUM #7

(Catalogue #IS2105 Lot #83-0026)

抗 SS-B 抗体 ; ANA HUMAN REFERENCE SERUM #2

(Catalogue #IS2073 Lot #82-0008)

3. 臨床検体の測定

国立成育医療研究センター及び順天堂大学からの臨床検体を大阪府立母子保健総合医療センターにて、各試薬にて希釈測定し、最終力価を求めた。

実施日 : 2011 年 10 月 31 日 ~ 11 月 7 日

なお、ファディア、MBL (STACIA、MESACUP 52k、60k/Ro) は、各社にて測定した。

(実施日 : 2011 年 11 月 8 日 ~ 18 日)

各試薬の測定値の総平均値を求め、さらにその平均値との比率を換算係数として各検体の測定値を換算し、換算前後の各試薬の測定値の一致性を評価した。

また、1. にて計算した換算係数を用いて各検体の測定値を換算し、換算前後の各試薬の測定値の一致性を評価した。

臨床検体 :

抗 SS-A 抗体 ; 93 例

抗 SS-B 抗体 ; 45 例

4. DID 法との互換性の検討

各試薬の DID 法 32 倍に相当する測定値を臨床検体の測定結果から推定した。

5. CHB (complete heart block) との関連

臨床検体 93 件のうち、CHB 発症群 11 件と非発症群 82 件を比較した。

6. 標準化委員会

平成 23 年 9 月 14 日と 11 月 29 日の 2 回の標準化委員会が国立成育医療研究センターにて行われた。構成メンバーは以下の通りである。

研究代表者 :

国立成育医療研究センター

村島 温子

研究分担者：

国立成育医療研究センター

山口 晃史

研究協力者：

大阪府立母子保健総合医療センター

宮野 章

アイ・エル・ジャパン

山岡 耕志

医学生物学研究所

新井 次郎、金田 誠

コスミック

菊池 強、田口 了示

テイエフビー

山本 裕夫、倉持 啓一、柴田みさと

バイオラッド ラボラトリーズ

山口 正之、吉山 透

ファディア

平田 寛之、宮島 雅行

事務担当：

国立成育医療研究センター

高貝マリコ

7. 測定試薬

表1に抗SS-A抗体測定用7キットにおける測定法の特徴を示した。アイ・エル・ジャパン (INOVA)、医学生物学研究所 (MBL MESACUP)、コスミック、バイオラッドが定量法ではなく、テイエフビー、ファディア、医学生物学研究所 (MBL STACIA)が定量法である。

8. 統計解析

Mann-Whitney's U Test を用い、危険率5%以下を有意差ありとした。

C. 研究結果

1. CHB との関係

図1に抗SS-A抗体における各試薬測定値とCHBとの関係を示した。CHBの有無で有意差は認められなかった。表2に抗SS-A抗体の酵素免疫測定法におけるCHBとカットオフとの関係を示した。抗SS-A抗体ではCHBですべて陽性であった。それに対して抗SS-B抗体においてCHBで陰性の例も見られた(表3)。抗SS-A 52k/Ro抗体を見るとファディア、MBLともにCHB全例陽性であった(表4)。対して、抗SS-A 60k/Ro抗体を見るとファディアは全例陽性であるが、MBLは1例陰性であった(表5)。

抗SS-B抗体、抗SS-A 52k/Ro抗体、抗SS-A 60k/Ro抗体における各試薬測定値とCHBの有無で有意差は認められなかった。

2. Pool血清の測定結果による補正

各社測定結果から、各希釈倍数間における測定値がおおむね理論通りになっている範囲の測定値に希釈倍数を乗じ、最終力価とした。

Pool No. 1, 2, 3の最終力価の平均値を基準として各試薬の補正係数を計算し、それぞれの試薬のPool No. 1, 2, 3の測定値を補正し、補正前後の試薬間のばらつきを変動係数(CV%)で比較した。

Pool血清の測定値は、補正前に比べて改善された(CV%が小さくなった)。

また、抗SS-A抗体については、抗SS-A 52k/Ro抗体を含むPool No. 2, 3では、試薬の使用抗原として52k/Roを含む試薬(ファディア、INOVA)を除いたほうがCV%