

表1 抗SS-A抗体測定用7キットにおける測定法の特徴

製造会社	SS-A 抗原 52 kD	60 kD	標識抗体	基質	反応 時間 (分)	検体 希釈 倍数	標準物質	
							本数 (単位)	測定範囲 (単位)
Bio-Rad	—	ネイティブ	HRP ^a -ヤギポリクローナル 抗ヒトIgG	TMB ^b	90	41	EU ^c	
Cosmic	—	ネイティブ	HRP-ウサギポリクローナル 抗ヒトIgG	TMB	80	201	index	
INOVA	リコンビ ナント	ネイティブ	HRP-ヤギポリクローナル 抗ヒトIgG	TMB	90	101	units	
MBL (MESACUP)	—	ネイティブ	HRP-ヤギポリクローナル 抗ヒト免疫グロブリン	TMB	150	100	index	
MBL (STACIA)	—	ネイティブ	ALP ^d -ヤギポリクローナル 抗ヒト免疫グロブリン	CDP-Star ^e	19 ^f	1	5	1-1200 U/mL
Phadia	リコンビ ナント	リコンビ ナント	β -Gal ^g -マウスモノクローナル 抗ヒトIgG	^h MUG	97 ⁱ	100	6	0.5-240 U/mL
TFB	—	ネイティブ	HRP-ウサギポリクローナル 抗ヒトIgG	^j OPD	150	1000	7	6.3-800 U/mL

^aHRP, Horseradish peroxidase; ^bTMB, 3,3',5,5'-tetramethyl-benzidine; ^cEU, Enzyme unit; ^dALP, alkaline phosphatase; ^eCDP-Star, disodium 2-chloro-5-(4-methoxyspiro {1,2-dioxetane-3,2'-(5'-chloro)-tricyclo [3.3.1.1^{3,7}] decan}-4-yl)-1-phenyl phosphate·disodium; ^fSTACIAによる自動測定; ^g β -Gal, β -galactosidase; ^hMUG, 4-methyl-umbelliferyl- β -D-galactoside; ⁱPhadia 250による自動測定; ^jOPD, o-phenyldiamine.2HCl.

表2 抗SS-B抗体測定用7キットにおける測定法の特徴

製造会社	SS-B 抗原	標識抗体	基質	反応 時間 (分)	検体 希釈 倍数	標準物質	
						本数 (単位)	測定範囲 (単位)
Bio-Rad	ネイティブ	HRP ^a -ヤギポリクローナル 抗ヒトIgG	TMB ^b	90	41	EU ^c	
Cosmic	ネイティブ	HRP-ウサギポリクローナル 抗ヒトIgG	TMB	80	201	index	
INOVA	ネイティブ	HRP-ヤギポリクローナル 抗ヒトIgG	TMB	90	101	units	
MBL (MESACUP)	ネイティブ+ リコンビナント	HRP-ヤギポリクローナル 抗ヒト免疫グロブリン	TMB	150	100	index	
MBL (STACIA)	ネイティブ	ALP ^d -ヤギポリクローナル 抗ヒト免疫グロブリン	CDP-Star ^e	19 ^f	1	5	1-1200 U/mL
Phadia	リコンビナント	β -Gal ^g -マウスモノクローナル 抗ヒトIgG	^h MUG	97 ⁱ	100	6	0.5-320 U/mL
TFB	ネイティブ	HRP-ウサギポリクローナル 抗ヒトIgG	^j OPD	150	1000	7	6.3-800 U/mL

^aHRP, Horseradish peroxidase; ^bTMB, 3,3',5,5'-tetramethyl-benzidine; ^cEU, Enzyme unit; ^dALP, alkaline phosphatase; ^eCDP-Star, disodium 2-chloro-5-(4-methoxyspiro {1,2-dioxetane-3,2'-(5'-chloro)-tricyclo [3.3.1.1^{3,7}] decan}-4-yl)-1-phenyl phosphate·disodium; ^fSTACIAによる自動測定; ^g β -Gal, β -galactosidase; ^hMUG, 4-methyl-umbelliferyl- β -D-galactoside; ⁱPhadia 250による自動測定; ^jOPD, o-phenyldiamine.2HCl.

た。

3. CDC 標準抗体の測定

CDC 標準抗体を各試薬にて希釈測定し、最終力価を求めた。

CDC 標準抗体を1000 U/ml と仮定し、これを基準とし、表1, 2の各試薬での測定値との比率を換算係数として換算、換算前後の各試薬の測定値の一致性を評価した。

4. 臨床検体の測定

表1, 2の各試薬を用いて希釈測定し、最終力価を求めた。CDC 標準抗体の測定も同時に行われた。

各試薬による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、2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。

5. CHB との関連

臨床検体93例のうち、児のCHB発症群11例と非発症群82例の2群について、各試薬の測定値を比較した。

6. DID 法との互換性の検討

表1, 2の各試薬の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。

7. 統計解析

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

結 果

1. CHB との関連

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3では抗SS-A抗体の酵素免疫測定法におけるCHBと各キットのカットオフとの関係を示した。抗SS-A抗体はCHBですべて陽性であった。それに対して抗SS-B抗体はCHBでカットオフ以下の陰性の例もあった(表4)。抗Ro52抗体はPhadia, MBLいずれのキットでもCHBは全例陽性であった(表5)。一方、抗Ro60抗体はPhadiaのキットではCHBが全例陽性であるが、MBLのキットでは1例陰性であった(表6)。

抗SS-B抗体, 抗Ro52抗体, 抗Ro60抗体における各キットでの測定値は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

各社のキットによる測定結果から、各希釈倍数間における測定値が一定にな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(表7-1)。

抗SS-A抗体において補正後の各試薬の測定値は、補正前に比べて変動係数CV%, rangeとも小さくなり、試薬間差が改善された。また、抗SS-A抗体については、抗Ro52抗体を含むPool No. 2, 3では、試薬の使用抗原としてRo52を含む試薬(Phadia, INOVA)を除いたCV%は除く前の6割未満となり、試薬間差はより改善した。

抗SS-B抗体についても同様に比較したところ、最終力価の平均値からの補正係数を用い

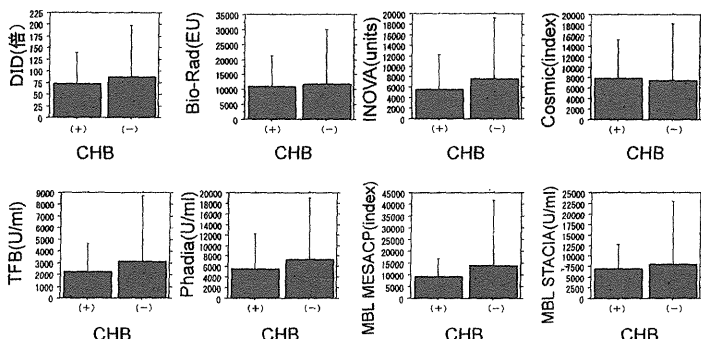


図1 抗SS-A抗体における各試薬測定値とCHBとの関係

(+ : congenital heart block 発症例, - : congenital heart block 非発症例)

表3 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 (INOVA 10例検体不足のため測定不可)
Bio-Rad (25 EU<) INOVA (20 units) Cosmic (30 index \leq)

test results	CHB		
	+	-	total
+	11	79	90
-	0	3	3
total	11	82	93

test results	CHB		
	+	-	total
+	9	73	82
-	0	1	1
total	9	74	83

test results	CHB		
	+	-	total
+	11	80	91
-	0	2	2
total	11	82	93

TFB(10 U/ml<)

test results	CHB		
	+	-	total
+	11	79	90
-	0	3	3
total	11	82	93

Phadia(10 U/ml<)

test results	CHB		
	+	-	total
+	11	79	90
-	0	3	3
total	11	82	93

MBL MESACUP(30 index \leq)

test results	CHB		
	+	-	total
+	11	79	90
-	0	3	3
total	11	82	93

MBL STACIA(10 U/ml \leq)

test results	CHB		
	+	-	total
+	11	79	90
-	0	3	3
total	11	82	93

表4 抗SS-B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 (INOVA 4例検体不足のため測定不可)
Bio-Rad (25 EU<) INOVA (20 units \leq) Cosmic (25 index \leq)

test results	CHB		
	+	-	total
+	3	21	24
-	5	16	21
total	8	37	45

test results	CHB		
	+	-	total
+	7	22	29
-	1	11	12
total	8	33	41

test results	CHB		
	+	-	total
+	3	22	25
-	5	15	20
total	8	37	45

TFB(10 U/ml<)

test results	CHB		
	+	-	total
+	2	18	20
-	6	19	25
total	8	37	45

Phadia(10 U/ml<)

test results	CHB		
	+	-	total
+	5	23	28
-	3	14	17
total	8	37	45

MBL MESACUP(25 index \leq)

test results	CHB		
	+	-	total
+	4	17	21
-	4	20	24
total	8	37	45

MBL STACIA(10 U/ml \leq)

test results	CHB		
	+	-	total
+	3	22	25
-	5	15	20
total	8	37	45

表5 抗SS-A 52k/Ro抗体酵素免疫測定法におけるCHBとカットオフとの関係

Phadia (10 U/ml<)				MBL MESACUP(5.1 index<)			
test results	CHB			test results	CHB		
	+	-	total		+	-	total
+	11	61	72	+	11	64	75
-	0	21	21	-	0	18	18
total	11	82	93	total	11	82	93
sensitivity	100.0%			sensitivity	100.0%		
specificity	25.6%			specificity	22.0%		
positive predictive value	15.3%			positive predictive value	14.7%		
negative predictive value	100.0%			negative predictive value	100.0%		

表6 抗SS-A 60k/Ro抗体酵素免疫測定法におけるCHBとカットオフとの関係

Phadia (10 U/ml<)				MBL MESACUP(5.9 index<)			
test results	CHB			test results	CHB		
	+	-	total		+	-	total
+	11	79	90	+	10	59	69
-	0	3	3	-	1	23	24
total	11	82	93	total	11	82	93
sensitivity	100.0%			sensitivity	90.9%		
specificity	3.7%			specificity	28.0%		
positive predictive value	12.2%			positive predictive value	14.5%		
negative predictive value	100.0%			negative predictive value	95.8%		

た補正にて試薬間差が改善されていた(データ非提示)。

3. CDC標準品による補正

CDC標準抗体の値を1000 U/mlと仮定し,表1, 2の各試薬でのCDC標準抗体の測定値との比率で補正係数を算出し,この補正值で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(表7-1)。

抗SS-A抗体Pool血清の測定値は,補正前に比べてCV%が小さくなり,Pool血清の測定値による補正同様,試薬間差は改善される傾向があった。また,Pool血清の場合と同様に試薬の使用抗原としてRo52を含む試薬(Phadia, INOVA)を除いたCV%は改善が認められた。しかし,Pool血清からの補正係数を用いた場合に比べ,改善効果は小さかった。

抗SS-B抗体についても同様にCDC標準抗体による補正効果は得られたが,Pool血清による補正に比べてその効果が小さい傾向があった(データ非提示)。

4. 臨床検体測定結果の補正効果

今回検討した表1, 2の試薬による臨床検体測定値の総平均値で,各試薬の測定平均値を除いた値を各試薬の補正係数(臨床検体平均値の補正係数)とした。この補正係数を各臨床検体に乗じて補正值とした。更に各臨床検体の各試薬の測定平均値を期待値とし,各試薬の測定値,及び補正值と期待値の最小二乗法によるx係数

表7-1 抗SS-A抗体におけるプール血清およびCDC標準品による補正効果の検証

	SS-A No. 1			SS-A No. 2			SS-A No. 3		
	補正前	Pool 補正	CDC 補正	補正前	Pool 補正	CDC 補正	補正前	Pool 補正	CDC 補正
mean	2091	2245	3492	13561	14114	21600	16265	16529	28429
SD	870	439	1273	5767	1875	5431	8674	5031	20151
CV(%)	41.6%	19.6%	36.5%	42.5%	13.3%	25.1%	53.3%	30.4%	70.9%
mean*	2220	2433	3150	13474	14679	18761	12892	13652	17486
SD*	1026	300	743	5836	1117	2833	6599	1320	3298
CV(%)*	46.2%	12.3%	23.6%	43.3%	7.6%	15.1%	51.2%	9.7%	18.9%

Pool補正:各試薬の最適直線性範囲からの最終力価からの集計
CDC補正: CDC標準血清を1000 U/mlとして補正

*: INOVA および Phadia を除外し算出

を比較した。

また、上述 Pool 血清及び CDC 標準抗体の補正係数を用いて各試薬の臨床検体測定値を補正し、補正值の平均値に対する各試薬の補正值との最小二乗法による x 係数を比較した。補正効果は x 係数の変動係数 (CV%) で評価した (表

7-2)。

臨床検体, Pool 血清あるいは CDC 標準抗体補正による補正值平均値と各試薬の最小二乗法による x 係数は、各臨床検体の実測平均値の各試薬間の x 係数より変動 CV% が小さく、補正による効果が確認された。補正効果は、臨床検体平均値での補正が最も効果的だった。

表 7-2 抗 SS-A 抗体における臨床検体における補正効果の検証

x 係数	実測値**	臨床検体 平均値	Pool 平均値	CDC 1000 u/ml
CV (%)	48.0%	10.8%	36.5%	44.3%
SD	0.479	0.108	0.364	0.443
mean	0.999	1.000	0.998	0.998
min	0.386	0.895	0.566	0.530
max	1.862	1.163	1.654	1.724
range	1.477	0.268	1.088	1.194
CV (%)*	51.0%	9.5%	32.0%	38.8%
SD*	0.555	0.099	0.357	0.357
mean*	1.090	1.041	1.117	0.919

補正係数	実測値**	臨床検体 平均値	Pool 平均値	CDC 1000 u/ml
Bio-Rad	1.345	0.71	0.72	1.10
Cosmic	0.819	1.10	1.10	1.09
INOVA	0.787	1.12	0.77	1.41
TFB	0.386	2.76	2.49	2.84
Phadia	0.757	1.16	1.28	3.69
MBL MESACUP	1.862	0.62	0.75	1.03
MBL STACIA	1.038	1.03	1.65	2.29

* : INOVA および Phadia を除外し算出
 ** : 実測値の平均値に対する相関 X 係数

5. DID 法との互換性の検討

各社試薬での測定値はおおむね DID 法の結果と相関した (図 2)。DID 法32倍以上であることが、CHB を推測する因子として抽出されている¹⁾¹⁸⁾。そこで DID 法の力価ごとに各試薬の平均測定値を求め、DID 法力価 1 倍に相当する測定値を求め、これを32倍して相当値とした (表 8)。すべての DID 法力価 (1~512倍すべて)、32倍±2 管 (8~128倍) からの相当値はほぼ一致しており、おおむね目安になる値と思われた。しかし、各 DID 法力価における試薬ごとの測定値は大きく変動しており、評価法を検討する必要があると思われた。測定時必要な希釈倍数を示したが、すべての試薬で希釈が必要である。また、DID 法16倍相当値でも各社 2 例から 3 例陰性と判定された (表 8)。さらに、酵素免疫測定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 (表 9)。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

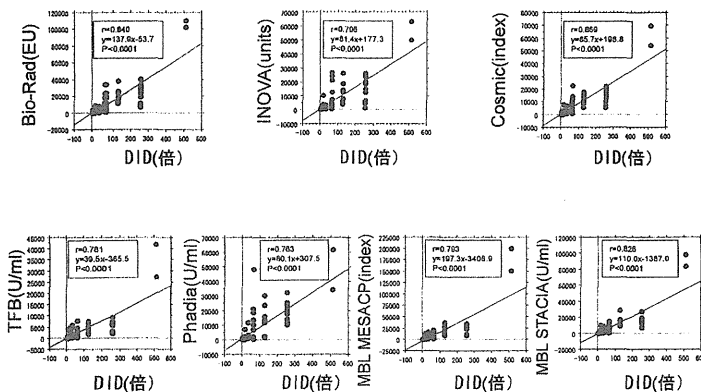


図 2 抗 SS-A 抗体における DID 法と酵素免疫測定法との相関 (DID : double immunodiffusion)

表 8 CHB(+)検体のみのデータにおける DID 法と各試薬測定値の関係

		Bio-Rad (EU)	INOVA (units)	Cosmic (index)	TFB (U/ml)	Phadia (U/ml)	MBL MESACP (index)	MBL STACIA (U/ml)
DID 法 32倍 相当値	全倍数対象	6419	3451	3930	1773	3190	6651	3258
	8~128倍を対象	6383	3124	3555	1578	3043	5792	3170

No	DID 法 (倍)	Bio-Rad (EU)	INOVA (units)	Cosmic (index)	TFB (U/ml)	Phadia (U/ml)	MBL MESACP (index)	MBL STACIA (U/ml)
		希釈換算値	希釈換算値	希釈換算値	希釈換算値	希釈換算値	希釈換算値	希釈換算値
1	16	3050	10300	1550	466	7009.0	2120	701
2	16	7270	■	3140	1139.2	1580.5	6000	3124
3	32	3700	1080	900	338.2	765.8	1640	564
4	32	5620	2120	2520	840.2	1172.0	3560	2606
5	64	2650	1840	1710	595.4	597.1	1900	1100
6	64	7940	3230	6100	1279.7	1574.5	7400	6759
7	64	8060	870	9100	1317.3	7045.1	7400	8537
8	64	8800	4530	8500	2430	2224.2	13600	12400
9	64	34200	21300	22800	7728	18729.4	17400	14800
10	128	13800	5640	11400	3411	2525.2	17400	11000
11	256	27600	■	19200	5661	17856.2	23500	15500

■ データなし

DID 法 8~128倍を対象 16倍相当値にて陽性

	Bio-Rad (EU)	INOVA (units)	Cosmic (index)	TFB (U/ml)	Phadia (U/ml)	MBL MESACP (index)	MBL STACIA (U/ml)
最適希釈倍数	200-1000	100-300	100-300	3-100	30-300	200-1000	3-300

表 9 DID 法での確認が必要な基準(案) (ctrl: コントロール)

	Bio-Rad	INOVA	Cosmic	TFB	Phadia	MBL MESACUP	MBL STACIA
測定範囲	—	—	—	6.3-800 U/mL	0.5-240 U/mL	—	1-1200 U/mL
その他の判断基準	標準 ctrl が 100 EU	強陽性 >80 units	—	—	—	標準血清 2 Index 値100	—
DID での確認が必要な基準(案)	100 EU	80 units	Index 値100	300 U/mL	240 U/mL	Index 値100	500 U/mL
備考(理由)	標準 ctrl の値を採用	強陽性の基準を採用	添付文書の表記を参考	338.2 U/mL を拾うため	測定上限を採用	標準血清 2 の値を採用	564 U/mL を拾うため

以上を示した検体については DID 法での確認が必要である。

考 察

我々は今回、Pool 血清、CDC 標準品、臨床検

体を用いて酵素免疫測定法による抗 SS-A/B 抗体の標準化を試みた。

今回の検討では CDC 標準抗体を用いた補正効果が Pool 血清を用いた補正に劣っていた。CDC 標準抗体は Single Donor から作成されて

おり、抗原特異性の多様な自己抗体検出における標準化を行うにあたっては、多数の特異陽性検体を Pool することで特性を平均化することの必要性を示唆する結果と考えられる。また、Phadia, INOVA など Ro52 を抗原に含む試薬と含まない試薬との差が認められたことから、標準化には試薬側の要素も統一することが必要であると考えられた。表 6 に示したように抗 Ro60 抗体において Phadia のキットでの測定では CHB 発症例の母親では全例陽性であったにも関わらず、MBL のキットでの測定では 1 例陰性がみられたことから抗 Ro52 抗体単独陽性例と診断されても Phadia の試薬では抗 Ro60 抗体も陽性になる可能性が示唆された。この試薬間差は MBL がリコンビナントに大腸菌を用いているのに対して、Phadia はバキュロウィルス・昆虫細胞発現系を用いていることに起因する可能性が考えられる。

Pool 血清と臨床検体での補正係数の差については、今回の検討だけで原因を特定できない。Pool 血清の作製条件、臨床検体の抗体力価分布などの検討が必要であると考えられた。

CHB 発症例の母親の血清において抗 SS-A 抗体はすべて陽性であったが、抗 SS-B 抗体は陰性の例もみられ、CHB の指標としては適していないと考えられた。

今回の研究において、抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体、抗 Ro52 抗体、抗 Ro60 抗体における各試薬測定値と CHB 発症の有無で有意な差は認められなかった。この原因のひとつに、血清が国立成育医療研究センター及び順天堂大学からのものであり、高度で適切な治療が施されていれば高力価の抗 SS-A 抗体価でも CHB が生じにくいのか、あるいは何らかの別の要因により低力価の抗 SS-A 抗体価でも CHB が生じる可能性があることを示唆するものと思われる。我々は以前、DID 法の結果が 8 倍であるにもかかわらず、CHB を生じた妊婦の 1 例を報告している¹⁹⁾。従って今回、表 9 で示した DID 法での確認が必要な基準値以下であっても CHB が生じる可能性がある。

DID 法が 32 倍付近の検体を酵素免疫測定法

のみで正確な値を求める場合は表 8 の希釈倍数を用いて希釈値で報告することが望ましい。

一般的には、自己抗体検査のスクリーニングは抗核抗体であり、各個別の ENA (extractable nuclear antigens) 抗体 (抗 SS-A/B 抗体を含む) の検査は同定検査としての位置づけと思われる。抗 SS-A/B 抗体以外の自己抗体の標準化に関して、抗 CCP 抗体 (抗シトルリン化ペプチド抗体) は抗原の供給元がひとつであるため日本国内では換算により標準化された。しかし、SS-A/Ro 抗原は 80-110 ヌクレオチドの RNA と Ro52 及び Ro60 の蛋白との複合体であり抗原性は両蛋白部分が担っているとされている⁶⁾。そのため、症例ごとに出現する抗体の多様性があることが予想され、標準化には①標準品の条件として陽性検体を Pool することによる多様性の平均化、②抗体検出系の条件として使用抗原の統一が必要であると考えられる。

抗核抗体は日本国内標準物質ができた³⁾。リウマトイド因子 (RF) に関しては、カットオフ値を 15 IU/ml とし、実測値に係数を加減して補正值とするガイドラインができた⁹⁾。抗 SS-A 抗体では日本国内標準物質はまだ存在しないが、今後このようなガイドラインができることが望まれる。

ま と め

自己抗体陽性女性の妊娠指針において新生児ループス、特に CHB の発症リスクを予測する目的で抗 SS-A 抗体を調べる場合、酵素免疫測定法をスクリーニング検査、DID 法による抗体力価を確認検査と考え、酵素免疫測定法において、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 以上を示した検体については DID 法での確認が必要である。

本研究を行うにあたり、サンプルを快くご提供いただいた順天堂大学膠原病内科 松平蘭先生、多大なご指導をいただきました高崎芳成先生、標準化委員会メンバーとしてご協力いただ

いた, アイ・エル・ジャパン 山岡耕志様, 医学微生物学研究所 金田誠様, コスミックコーポレーション 菊池強様, 田口了示様, テイエフビー 山本裕夫様, 倉持啓一様, 柴田みさと様, バイオ・ラッドラボラトリーズ 山口正之様, 吉山透様, ファディア 平田寛之様, 宮島雅行様, 国立成育医療研究センター 高貝マリコ様に心より深謝いたします。

本研究は「平成23年度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 自己抗体陽性女性の妊娠管理指針の作成及び新生児ループスの発症リスクの軽減に関する研究」による。

文 献

- 1) Anami, A., Fukushima, K., Takasaki, Y. et al. : The predictive value of anti-SS-A antibodies titration in pregnant women with fetal congenital heart block. *Mod. Rheumatol.*, 2012.
- 2) Buyon, J.P., Hiebert, R., Copel, J. et al. : Autoimmune-associated congenital heart block : demographics, mortality, morbidity and recurrence rates obtained from a national neonatal lupus registry. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 31 : 1658-1666, 1998.
- 3) 知的基盤創成・利用促進研究開発事業 臨床検査用標準物質の研究開発 平成19年度成果報告書 (独) 新エネルギー・産業技術総合開発機構, 238-252, 2008.
- 4) Feltkamp, T.E. : Standards for ANA and anti-DNA. *Clin. Rheumatol.*, 9 : 74-78, 1990.
- 5) Hayashi, N., Koshiba, M., Nishimura, K. et al. : Prevalence of disease-specific antinuclear antibodies in general population: estimates from annual physical examinations of residents of a small town over a 5-year period. *Mod. Rheumatol.*, 18 : 153-160, 2008.
- 6) 林 良夫 : シェーグレン症候群における自己抗原 α -fodrin の性状とその意義。自己抗体と自己免疫, 30 : 35-40, 1998.
- 7) 鎌倉洋樹, 山岸良匡, 村島温子 : 抗 SS-A 抗体陽性女性の妊娠症例の把握。日本医事新報, 4491 : 62-64, 2010.
- 8) Klauninger, R., Skog, A., Horvath, L. et al. : Serologic follow-up of children born to mothers with Ro/SSA autoantibodies. *Lupus.*, 18 : 792-798, 2009.
- 9) 熊谷俊一, 林 伸英, 河野誠司, 他 : リウマトイド因子 (RF) 標準化のガイドライン (日本臨床検査標準化協議会 JCCLS 認証)。臨床病理, 59補刷 : 374, 2011.
- 10) Miyagawa, S. : Neonatal lupus erythematosus : a review of the racial differences and similarities in clinical, serological and immunogenetic features of Japanese versus Caucasian patients. *J. Dermatol.*, 32 : 514-522, 2005.
- 11) 宮野 章, 中山雅弘, 和栗雅子, 他 : 新生児エリテマトーデスを伴った母親における SS-A 52-kDa と 60-kDa 蛋白に対する免疫反応。臨床病理, 56 : 1081-1085, 2008.
- 12) 宮野 章, 中山雅弘 : 妊婦における抗 SS-A 52-kDa と抗 SS-A 60-kDa avidity 抗体に関する研究。臨床病理, 59 : 219-225, 2011.
- 13) 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。臨床病理, 59補刷 : 264, 2011.
- 14) 酒井 寛, 森 勝志, 片山善章 : 胎児先天性心ブロックと抗 ENA 抗体の関連性 (第2報) ELISA 法を用いた解析。医学検査, 45 : 1602-1606, 1996.
- 15) Salomonsson, S., Sonesson, S.E., Ottosson, L. et al. : Ro/SSA autoantibodies directly bind cardiomyocytes, disturb calcium homeostasis, and mediate congenital heart block. *J. Exp. Med.*, 201 : 11-17, 2005.
- 16) Shiboski, S.C., Shiboski, C.H., Criswell, L. et al. : American College of

- Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis. Care. Res. (Hoboken.)*, 64 : 475-487, 2012.
- 17) Strandberg, L., Winqvist, O., Sonesson, S. E., et al.: Antibodies to amino acid 200-239 (p200) of Ro52 as serological markers for the risk of developing congenital heart block. *Clin. Exp. Immunol.*, 154 : 30-37, 2008.
- 18) 和氣徳夫, 福嶋恒太郎, 藤田恭之, 他: 自己抗体陽性女性の妊娠管理指針の作成及び新生児ループスの発症リスクの軽減に関する研究。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)平成22年度 総括・分担研究報告書, 24-31, 2011.
- 19) 矢原 健, 野田智恵子, 宮野 章, 他: 抗52kDSS-A/Ro 抗体陽性の妊婦から生まれた先天性完全心ブロックの1例。日本臨床免疫学会会誌, 20 : 437-441, 1997.
- 20) Yukiko, N.: Immune responses to SS-A 52-kDa and 60-kDa proteins and to SS-B 50-kDa protein in mothers of infants with neonatal lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.*, 142 : 908-912, 2000.

ABSTRACT

Investigation of anti-SS-A/B antibody standardization using enzyme immunoassay

Akira Miyano, Masahiro Nakayama, Jiro Arai*, Koushi Yamaguchi**, Atsuko Murashima**

Department of Laboratory Medicine, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health,

*Department of In Vitro Diagnostic Division, Medical & Biological Laboratories,

**Department of Women's Health, National Center for Health and Development

Currently, measurement of anti-SS-A and anti-SS-B antibodies has been carried out for most diagnostic reagents based on the principle of enzyme-linked immunosorbent assay. The results are reported as numerical data. However, values are not standardized because every reagent manufacturer uses different evaluation methods. We clarified the relationship between the measured values of seven reagents made by six companies. We then observed whether the measured value of each reagent could be matched by establishing a fixed standard. Standardization of anti-SS-A/B antibody using enzyme immunoassay was attempted using pooled serum, a CDC reference, and clinical samples, but this was difficult. Since more than a 32 times or higher titer of anti-SS-A antibody on double immunodiffusion (DID) was extracted as a factor suggesting congenital heart block (CHB), the values measured using various reagents corresponding to a DID titer of 32 times were estimated, but some cases were judged as negative based on the estimated value. Moreover, since the objective of the clinical use of an enzyme immunoassay is mainly 'qualitative judgment', many companies have not reported measured values of the reagents as the original antibody titers (particularly, for high-titer cases). Considering this current situation, a proposal for the standards requiring confirmation using DID was prepared: Confir-

mation using DID is necessary when the value is 100 EU or higher on measurement using Bio-Rad, 80 units or higher using INOVA, an index value of 100 or higher using Cosmic, 300 U/ml or higher using TFB, 240 U/ml or higher using Phadia, an index value of 100 or higher using MBL MESACUP, and 500 U/ml or higher using MBL STACIA.

