

抗リン脂質抗体症候群(APS)におけるホスファチジルセリン依存性抗プロトンピン抗体 測定キット間の比較

研究分担者 渥美達也 北海道大学 大学院医学研究科免疫代謝内科学分野 教授

研究要旨

ホスファチジルセリン依存性抗プロトンピン抗体(aPS/PT)は、抗リン脂質抗体症候群(APS)の診断において重要な自己抗体であるとの認識が広がっている。しかしこれまで、測定系による抗体検出能の違いが示唆されていた。そこで今回、当科を受診した111例の患者保存血漿を用い、aPS/PT IgG/IgM測定に用いられる計4種のEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA)キットの抗体測定能を検定した。その結果、IgG、IgMの陽性一致率はそれぞれ98%、82%と高い一致率を認めた。乖離例もあり、その原因は精査が必要であるが、基本的にはキットによらず aPS/PT は APS のマーカー抗体となりうる事が確認された。

A. 研究目的

ホスファチジルセリン依存性抗プロトンピン抗体(aPS/PT)の抗リン脂質抗体症候群(APS)診断における重要性は認識されるようになってきている。習慣流産ではヘパリン製剤が治療に用いられることが多いが、その際、ループスアンチコアグラント(LA)は測定できない。機能的(凝固検査により)に検出される抗リン脂質抗体だからである。aPS/PT は、このように制限が多く、測定が煩雑である LA の責任抗体と考えられる為、その代替として測定することで産科的APSの診断確度を上げることができる。

一方、aPS/PT の測定系による抗体検出能の違いが示唆され、その為、再現性を持って aPS/PT の発現や抗体価の高低を検討することができないとの危惧があった。

今回、我々は aPS/PT の測定に用いられる4種のEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA)キットを用いて本抗体測定の標準化を試みた

B. 研究方法

保存患者血漿111検体を用い、各種ELISAを用いて aPS/PT を測定した。61検体に対して in-house ELISA と QUANTA Lite™ aPS/PT IgG ELISA kit(Inova Diagnostics, Inc, USA)を用いて aPS/PT IgG を測定した。50検体に対して in-house ELISA と QUANTA Lite™ aPS/PT IgM ELISA kit(Inova Diagnostics)を用いて aPS/PT IgM を測定した。

aPS/PT IgG,IgM についてそれぞれ異なる

ELISA により検出された抗体価の一致率を統計学的に検定した。

(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言(「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」)に則り倫理面への配慮を行い、北海道大学病院倫理審査委員会の承認を得た(第12-0010号)。本研究は、他の研究に使用する目的で既に採取し、保存していた血漿検体を用いた為、研究対象者に対する不利益はない。検体保存に同意頂いた対象には、将来保存検体を他の研究に用いることを同意得ていたが、今回の研究にあたって、面接可能な対象には改めて対面での同意を得、また情報公開文書を作成して本研究の周知を行った。

C. 研究結果

異なる ELISA 間での陽性一致率は aPS/PT IgG において98%、aPS/PT IgM において82%であり、Cohen の 係数はそれぞれ0.962、0.597と異なる ELISA による測定は良好な一致率を示した。また、異なる ELISA 間における抗体価の相関は $r=0.749$, $r=0.622$ (それぞれ aPS/PT IgG 及び IgM, $p<0.001$)と良好であった。

D. 考察

aPS/PT 測定の標準化が乏しいことが、これまで同抗体が APS 診断に用いられにくい主因であった。今回、aPS/PT IgG, IgM に用いられるそれ

ぞれ2種のELISA測定系の一致率が十分に高値であったことは、aPS/PT測定 of 臨床応用を進める重要な根拠になると考えられる。

E. 結論

aPS/PT IgG, IgM の出現や抗体価は異なるELISAを用いても高い一致率で測定可能であることが判明した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Nagaoka S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, Takeuchi T. A merged presentation of clinical and radiographic data using probability plots in a clinical trial, the JESMR study. *Ann Rheum Dis* 72:310-2, 2013
2. Harigai M, Takamura A, Atsumi T, Dohi M, Hirata S, Kameda H, Nagasawa H, Seto Y, Koike T, Miyasaka N. Elevation of KL-6 serum levels in clinical trials of tumor necrosis factor inhibitors in patients with rheumatoid arthritis: a report from the Japan College of Rheumatology Ad Hoc Committee for Safety of Biological DMARDs. *Mod Rheumatol* 23:284-96, 2013
3. Takamura A, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Seto Y, Atsumi T, Dohi M, Koike T, Miyasaka N, Harigai M. A retrospective study of serum KL-6 levels during treatment with biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis patients: a report from the Ad Hoc Committee for Safety of Biological DMARDs of the Japan College of Rheumatology. *Mod Rheumatol* 23:297-303, 2013.
4. Amengual O, Atsumi T, Oku K, Suzuki E, Horita T, Yasuda S, Koike T. Phospholipid scramblase 1 expression is enhanced in patients with antiphospholipid syndrome. *Mod Rheumatol* 23:81-8, 2013.
5. Fukaya S, Matsui Y, Tomaru U, Kawakami A, Sogo S, Bohgaki T, Atsumi T, Koike T, Kasahara M, Ishizu A. Overexpression of TNF- α -converting enzyme in fibroblasts augments dermal fibrosis after inflammation. *Lab Invest* 93. 72-80, 2013.
6. Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsushashi M, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Positive synovial vascularity in patients with low disease activity indicates smouldering inflammation leading to joint damage in rheumatoid arthritis: time-integrated joint inflammation estimated by synovial vascularity in each finger joint. *Rheumatology* 52:523-8, 2013
7. Oku K, Amengual O, Zigon P, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Essential role of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in the tissue factor gene expression by the phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody. *Rheumatol* 52: 1775-84, 2013
8. Kato M, Atsumi T, Oku K, Amengual O, Nakagawa H, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Yasuda S, Koike T. The involvement of CD36 in the monocyte activation by antiphospholipid antibodies. *Lupus* 22:761-71, 2013
9. Ishizu A, Tomaru U, Murai T, Yamamoto T, Atsumi T, Yoshiki T, Yumura W, Yamagata K, Yamada H, Kumagai S, Kurokawa MS, Suka M, Makino H, Ozaki S. Prediction of response to treatment by gene expression profiling of peripheral blood in patients with microscopic polyangiitis. *PLoS One* 8. e63182, 2013.
10. Nakazawa D, Shida H, Tomaru U, Yoshida M, Nishio S, Atsumi T, Ishizu A. Enhanced formation and disordered regulation of NETs in MPO-ANCA-associated microscopic polyangiitis. *J Am Soc Nephrol* (in press)
11. Jin H, Arase N, Hirayasu K, Kohyama M, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka K,

Ebina K, Shid K, Toyama-Sorimachi N, Yasuda S, Horita T, Hiwa R, Takasugi K, Ohmura K, Yoshikawa H, Saito T, Atsumi T, Sasazuki T, Katayama I, Lanier LL, Arase H. Autoantibodies to IgG/HLA-DR complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. Proc Natl Acad Sci U S A (in press)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

12. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Takahashi H, Tada Y. The modifying effect of NAT2 genotype on the association between systemic lupus erythematosus and consumption of alcohol and caffeine-rich beverages. Arthritis Care Res (in press).

13. Takahashi H, Washio M, Kiyohara C, Tada Y, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Yamamoto M, Horiuchi T. Psychological stress in a Japanese population with systemic lupus erythematosus: Finding from KYSS study. Mod Rheumatol (in press).

14. Fukae J, Tanimura K, Atsumi T, Koike T. Sonographic synovial vascularity of synovitis in rheumatoid arthritis. Rheumatology (in press).

15. Amengual O, Horita T, Binder W, Norman GL, Shums Z, Kato M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Yasuda S, Atsumi T. Comparative analysis of different enzyme immunoassays for assessment of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies. Rheumatology International (in press)

16. Kurita T, Yasuda S, Oba K, Odani T, Kono M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Amengual O, Horita T, Atsumi T. The efficacy of tacrolimus in patients with interstitial lung diseases complicated with polymyositis or dermatomyositis. Rheumatology (Oxford) (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)