

## 抗シトルリン化蛋白抗体 (抗CCP抗体) の リウマチ性疾患診断における有用性

佐田 榮 司\*, 小 岩 美 穂\*\*

### Anti-Cyclic Citrullinated Peptide antibodies for diagnosis in the rheumatic diseases.

Eiji SADA\*, Miho KOIWA\*\*

Key words: Rheumatoid arthritis, Anti-cyclic citrullinated antibody, Anti-CCP antibody

#### 序 文

関節リウマチ(RA)は関節の滑膜の炎症に始まり、滑膜の肥厚・絨毛組織の増殖により骨軟骨を破壊する慢性多発性関節炎を特徴とする炎症性疾患で、原因は現在のところ解明されていない(図1)。現在、アメリカリウマチ学会(ACR)の分類基準<sup>1)</sup>がRAの診断に用いられているが、早期のRAではACRの診断基準で定めた症状が出揃わないこともあり、早期診断のため1993年に厚生労働省研究班<sup>2)</sup>、1994年に日本リウマチ学会(JCR)により早期関節RAの分類基準が提唱されている。これらは、厚生労働省基準では特異度は高いが感度が劣り、JCR基準では、感度は高いが特異度で劣ることが報告されている<sup>3)4)</sup>。RA患者ではリウマトイド因子(rheumatoid factor:RF)の陽性率が比較的高いことから、診断の有用な項目であるとされ、診断基準に用いられる唯一の血清マーカーとし

て採用されている。しかしながら、RFは疾患特異性に乏しく、感度が60~80%程度であり<sup>5)6)</sup>、また、早期RAでは検出率が低い等の理由から、RAの診断の決定的な項目とはなり得ていないのが現状である。近年、RAにおいてRF以外の新しい自己抗体として抗フィラグリン/抗シトルリン化蛋白(Cyclic Citrullinated Peptide)抗体の有用性が報告され、これらの抗体のRAにおける診断意義(早期発見・予後の予測)や病因的意義が注目されている。

#### 抗CCP抗体が注目されるまでの歴史的な流れ

1964年にNienhuisら<sup>7)</sup>は類粘膜炎の剥離細胞を材料として用いた間接蛍光抗体法で、抗核周囲因子(anti-perinuclear factor:APF)を報告し、さらにその15年後の1979年にはラットの食道凍結切片を基材とした間接蛍光法で、RA患者に特異的に検出される自己抗体として、抗ケラチン

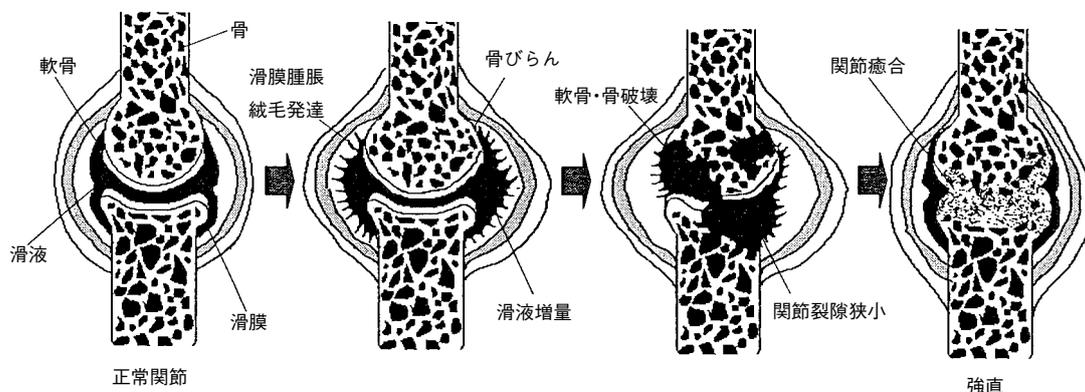


図1 関節リウマチの関節病変の進展様式

RA初期は滑膜表層の滑膜細胞の増殖と滑膜下の毛細血管の新生、次いで炎症細胞の浸潤がみられる。やがて肉芽組織化した滑膜は関節軟骨の表面を覆って骨びらんを形成し、さらに滑膜腫脹、絨毛発達を経て、軟骨や軟骨下骨組織を障害する。最終的に関節癒合が起こり、関節が固定される。

\*愛媛県立医療技術大学保健科学部臨床検査学科生体情報学講座 \*\*愛媛県立医療技術短期大学臨床検査学科

抗体(anti-keratin antibody:AKA)が報告された。この抗体は、RA患者129症例のうち75症例(58%)で検出され、RAに罹患していない健康人では検出されなかったとYoungらは報告している<sup>8)</sup>。これらはRA患者に特異的に検出され、また、同時に出現することから同一の抗体と考えられていたが、対応抗原が不明であり検出法に難点があったため注目されなかった。1993年、Simonら<sup>9)</sup>はRA患者血清の75%がヒト皮膚表皮組織より分離した40kD蛋白と反応することを発見し、これが上記のAKAの対応抗原であること、また、その蛋白がサイトケラチンフィラメントの凝集に参与するフィラグリン(Filaggrin:Fg)とよばれる分子であることを報告した。さらに、彼らはAPFの対応抗原をFgの前駆体であるプロフィラグリン(PFg)と考え、AKAとAPFがほぼ同一の抗体であることを明確にした<sup>10)</sup>。Fgは皮膚分化の後期に400kDのPFg(324アミノ酸配列が10~12回繰り返す構造をもつリン酸化蛋白)として顆粒層の細胞で産生され、ケラトヒアリン顆粒に蓄積される。角質化に伴い脱リン酸化され、さらに、プロテアーゼで分解されてFgとなる。この過程で、Fgはシトルリン化酵素(peptidylarginine deiminase:PADI)により、アルギニンがシトルリン(Ct)に置換される。1998年になり、Schellekens<sup>11)</sup>らはRAに特異的自已抗体がCtを含有するエピトープと結合することを発見し、さらにリコンビナントのFglはin vitroで酵素的にアミノ酸残基を置換することによりRA特異的自已抗体で認識されることを報告した。また、先に示したAKAやAPFもCt化基質を認識する抗体であることも明らかとした。1999年には、PADIによ

てアルギニンがCtに変換されたFg分子上のCt残基が、RAの自己抗体が認識するエピトープ形成に重要であることも示された。また、van Jaarsveldら<sup>12)</sup>によりCt化Fgユニットにシスチン残基を導入して、ヨウ素酸化で人工的に環状化した分子をcyclic citrullinated peptide(CCP)とし、これに特異的に反応する物質を抗CCP抗体とし(図2)、環状化することによりRA患者検体との反応性が向上し、より検出しやすくなることが報告された。このように、抗Fg抗体(AFA)と抗CCP抗体はいずれもCt化Fgを抗原に用いて検出されるが、両者の結果は必ずしも一致せず、抗原エピトープの多様性が示唆されている<sup>13)</sup>。しかし、AFAおよび抗CCP抗体はRAにおける高い疾患特異性・高い感度を示すことが報告されており<sup>5)6)</sup>、RFに替わる新たなRAの診断マーカーとなる可能性が十分に考えられる。特に、RFでは診断不可能な早期RAの診断で有用であること、関節破壊等の臨床症状重症度とも相関することが知られており、RAの診断マーカーとしての可能性が現在注目されている。

#### 論文数の推移でみた研究の流れ

今回、Pub Medと医学中央雑誌、科学技術振興機構(JDREAM)上の各項目(AKA, APF, AFA, 抗CCP抗体)における論文数から、抗CCP抗体が発見され、現在に至るまでの過程を眺めてみた。今回、上記のdata baseで表1に示すKey wordsで年度毎の論文数を調べた(表2)。なお、学会の抄録集等は除外した。Pub Medの検索結果で

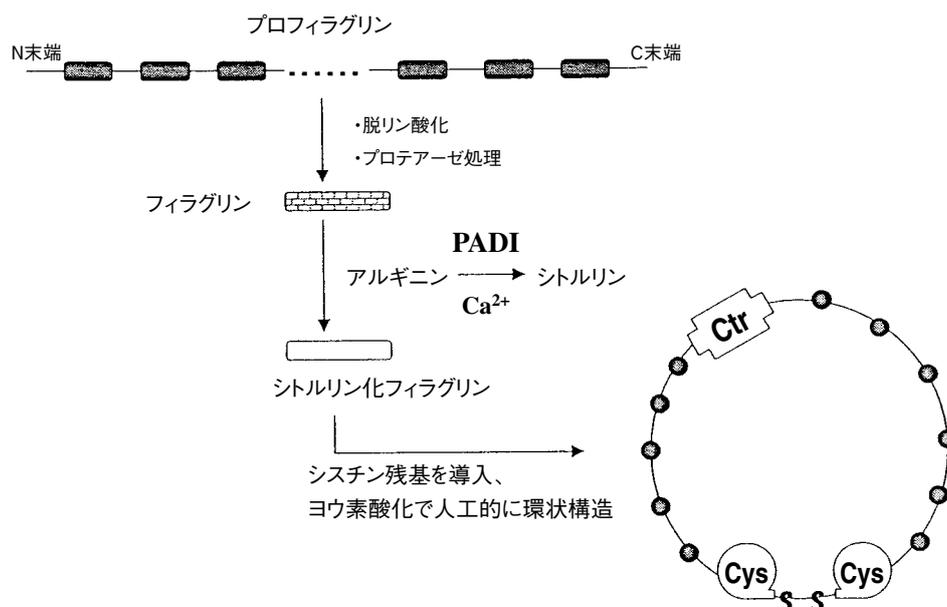


図2 Cyclic citrullinated peptide (CCP) の生成過程

皮膚分化の後期に顆粒層の細胞でプロフィラグリンが産生され、脱リン酸化、さらにプロテアーゼ処理を受けてフィラグリンとなる。その後、角化の過程でPADIによりアルギニンがシトルリンに変換され(シトルリン化フィラグリン)、さらに、シスチン残基の導入、ヨウ素酸化により人工的に環状化しCyclic citrullinated peptide(CCP)となる。

は、1965年にDel Giaccoら<sup>14)</sup>によってAPFとして発見され報告されたのが最初の論文である。それから14年後の1979年Youngら<sup>8)</sup>によってAKAが発見・報告されたが、それから数年の間、これらに関する論文は全く発表されておらず、その当時はほとんど注目されなかったことが窺える。1983年になり再度注目されたが、研究は発展しなかった。1993年にSimonら<sup>9)</sup>によってAFAが発見され、さらにAKA, APFの対応抗原が判明した。ここから、RAにおけるこれらの自己抗体に関する論文数が増加し、1999年、van Jaarsveldら<sup>12)</sup>によって抗CCP抗体が報告されて以来、さらに急増し現在に至っている。当初、APF

として発見されたこの抗体は、現在研究の主体は抗CCP抗体となっている。邦文論文についての検索結果では、APF, AKAといったKey wordsで検出される論文は非常に少なく、APFに関しては1965年にDel Giaccoら<sup>14)</sup>によって発見・報告されてから、30数年後に論文が1つ発表されたのみである。AKAにおいてもYoungら<sup>8)</sup>から遅れること6年後に初めて論文が発表されているが、わずか3つのみである。21世紀になり我が国でもAFA, 抗CCP抗体が注目され、現在本邦のリウマチ研究者の間で非常に注目されている検査の1つとなり、論文数も急激に増加している。現在、AFAや抗CCP抗体はわが国でもRAの診断

表1 検索項目とKey word

項目	英文文献 (Pub Med)		邦文文献 (医学中央雑誌、JDREAM)	
	Key words		Key words	
抗核周囲因子	anti-perinuclear factor	AND rheumatoid arthritis	抗核周囲因子	AND 関節リウマチ
抗ケラチン抗体	anti-keratin antibodies		抗ケラチン抗体	
抗フィラグリン抗体	filaggrin AND antibodies		抗フィラグリン抗体	
抗CCP抗体	citrullinated peptide AND antibodies		抗CCP抗体	

表2 検索結果

年	英文文献 (Pub Med)				邦文文献 (医学中央雑誌・JDREAM)			
	抗CCP抗体	抗フィラグリン抗体	抗核周囲因子	抗ケラチン抗体	抗CCP抗体	抗フィラグリン抗体	抗核周囲因子	抗ケラチン抗体
1965			1					
1979				1				
1980								
1981								
1982								
1983			1	3				
1984			2	2				
1985								1
1986				1				
1987								
1988								
1989								
1990				1				
1991		2	1					
1992								
1993		2	1					1
1994		2						
1995		4	1					
1996								
1997		3		1				
1998		5						
1999	1	4	1	1			1	
2000	3	9	2	5				
2001	2	8		3		1		
2002	9	8		2		2		1
2003	27	9	2	2	9	5		
2004	33	6	2	6	22	5		
合計	75	62	14	28	31	13	1	3

マーカーとしての有用性が認識されてきており、実際臨床応用が始まりつつある。

### 抗CCP抗体が産生される生物学的機序

RAの関節炎等の症状は免疫系の異常が原因であると考えられているが、その免疫異常は従来、T細胞が主に関与していると考えられ、研究が進められてきた<sup>15)</sup>。他方、RFがRA患者の60~80%の血清から検出され、B細胞も病態形成に関与することは推測されたが、どのように関与するかは全く不明であった。近年、ヒトのRAによく似た関節炎を自然発症するモデルマウス(K/BxN mouse)が開発され、その関節炎発症において、CD4<sup>+</sup>T細胞だけでなく、B細胞の存在も必須であることが報告<sup>16)17)</sup>され、T細胞の存在自体はあまり大きな意味を示さないこと、B細胞の活性化にT細胞が関与しているだけであるという事実が報告されている。その報告を受けて、RAの関節症状の発症におけるB細胞の関与が注目されるようになった。RAによる関節症状の関節滑膜病理像の特徴として、リンパ球を中心とする単核球の浸潤がある。その主体はTリンパ球であり、浸潤・増殖の様子が明らかになっている。その他、形質細胞の局所的な増殖が認められている<sup>18)</sup>。また、酵素抗体法により、形質細胞まで分化していないB細胞の存在も確認された<sup>19)</sup>ことから、滑膜局所においてB細胞の活性化と形質細胞への分化が起こっていると推察される。B細胞の活性化には、多クローン

性の活性化と抗原特異的活性化の2つがある。通常、健康な哺乳動物の滑膜組織からは、Ct化蛋白は検出されないが、炎症性滑膜組織においてはCt化蛋白が検出される。これが、抗原として働き、滑膜液中のB細胞から抗CCP抗体が産生されると推測される(図3)。抗CCP抗体は滑液や血清より滑膜組織で高度に検出され、RA患者の滑液から分離したB細胞により産生されるが、同患者の末梢血Bリンパ球からは産生されないことが知られている<sup>20)</sup>。

以上の結果より、RA滑膜組織に浸潤したB細胞がCt化蛋白によって抗原特異的活性化反応を示し、抗CCP抗体を産生していると考えられる。ところで、RAの最も特徴的な病変部位である関節滑膜にはFgそのものは存在せず、抗CCP抗体産生Ct化蛋白として、関節滑膜中のFibrinが、アポトーシスに陥ったマクロファージが放出するPADIの作用によりCt化fibrinが形成され、これが抗CCP抗体の産生に関与しているとの報告もある<sup>21)</sup>。すなわち、滑膜中のB細胞の増殖・分化を引き起こす刺激因子として、Ct化fibrinが関与している可能性が考えられる。

### 抗CCP抗体の臨床的意義

1. 高い疾患特異性と感度；非常に高い疾患特異性と感度が抗CCP抗体をRAの診断に用いる上で、重要な利点である。これまで、多くの報告により抗CCP抗体のRAにおける臨床的意義が確立しつつある。表3にRAにおける抗CCP抗体の臨床的意義に関する報告を示した。

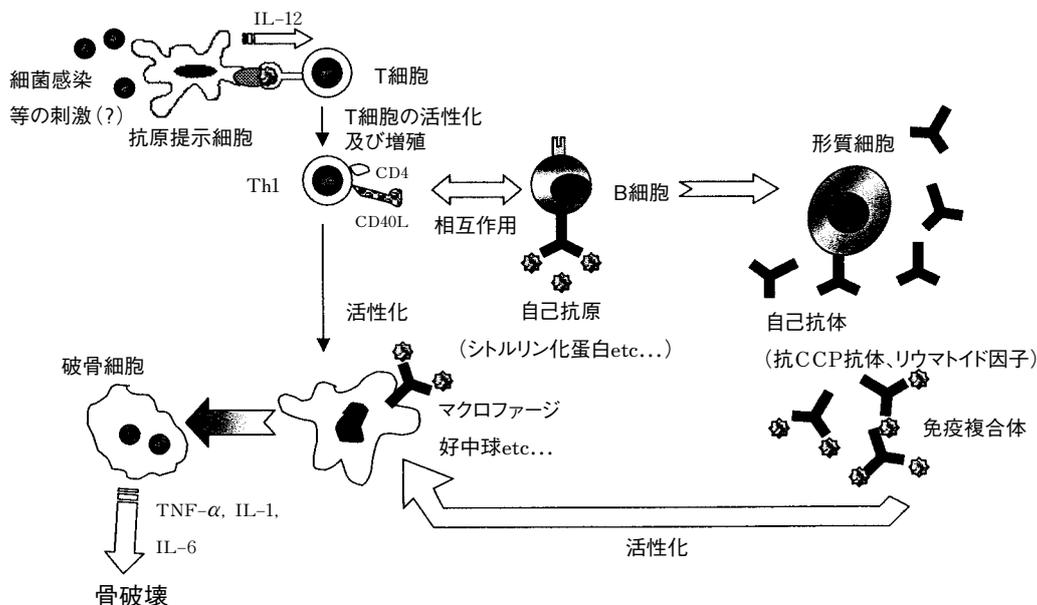


図3 RAにおける関節破壊の生物学的メカニズム

何らかの刺激(細菌感染等)により、抗原提示細胞を介するT細胞の活性化、増殖が起こり、また、滑液中では、自己抗原と結合し活性化したB細胞は形質細胞に分化し、シトルリン化フィラグリン等の自己抗原に対する抗体が産生される。産生された自己抗体により免疫複合体が形成され、マクロファージ、好中球などの活性化を促し、破骨細胞への分化を遂げる。破骨細胞より産生されるTNF-αなどのサイトカインにより骨破壊が進行する。

表3 RAにおける抗CCP抗体の臨床的意義に関する報告

報告者(年)	対 照	抗原(測定法)*	感 度	特異度
Simon(1993)	RA48/対照56	ヒト皮膚FA(IB)	75%	89%
Shellekens(1998)	RA134/対照154	CCP(ELISA)	76%	96%
Shellekens(2000)	RA134/対照154	CCP(ELISA)	68%	98%
	早期関節炎486	CCP(ELISA)	48%	96%
Bizzaro(2001)	RA98/対照232	CCP(ELISA)	41%	97.8%
Vossenaar(2002)		CCP(ELISA)	78%	98%
Suzuki(2003)	RA549/その他のリウマチ性疾患208	CCP(ELISA)	87.6%	88.9%
		ヒトr-cFA(ELISA)	68.7%	94.7%
Lee(2003)	RA103/その他の炎症性疾患113, 非炎症性疾患23	CCP(ELISA)	66.0%	90.4%
Hayashi(2003)		CCP(ELISA)	76.0%	91.5%

\*FA: フィラグリン IB: 免疫プロット法 ELISA: 固相化酵素抗体法  
r-cFA: リコンビナントシトルリン化フィラグリン

RAにおける特異度はいずれの報告でも90~100%を示している<sup>6)11)22)~26)</sup>が、感度は41~87.6%と報告によってばらつきがみられた。これは、検査対象となる患者の人種差によるものだけでなく、抗原に用いる抗原や測定方法の違いによるものと考えられる。当初はnatural Fgが用いられていたが、現在ではin vitroでPADIによりCt化されたりコンビナントFgが用いられていることが多い。

また、抗CCP抗体測定に用いられるキットには第1世代と第2世代があることが知られている。1998年にSchellekens<sup>11)</sup>によってCt化で新たに出現するCtとその周辺構造がAFAのエピトープとして働くことが発見された結果、リコンビナントFgをCt化して用いるELISA(AFA)、そして合成ペプチドを用いたELISA(抗CCP抗体)が開発され、再現性の向上、簡易な抗体検出が可能となった。さらに、抗CCP抗体を検出する抗原も改良が加えられて、2002年、Venrooijら<sup>24)</sup>は第2世代のELISA(CCP2)を発表した。

CCP2は、特定の蛋白質のアミノ酸配列を基にしたペプチドを用いた第1世代(CCP1)のようなものではなく、RA血清との反応性が最も高くなるようなペプチドを選択・合成したものである。現在では、RAに対して高い特異性を持ち、第1世代で比較的低かった感度が改善されたCCP2が用いられている<sup>27)</sup>。Suzukiら<sup>25)</sup>は、RA患者549例、それ以外のリウマチ性疾患をもつ患者208例に対して、抗CCP抗体(CCP2)およびAFAを同時に測定し、その結果を報告している。その結果、抗CCP抗体に対する感度は87.6%、特異度は88.9%と優れた結果が報告され、RFや滑膜細胞由来の酵素で、RAの早期診断に有用とされる検査法の1つとされるmatrix metalloproteinase-3(MMP-3)のいずれにも勝る結果が得られた。AFAは感度が68.7%、特異度が94.7%であり、本結果からはAFAの特異度は若干優れているが、感度の面では抗CCP抗体の方が非常に優れていた(表3)。

Leeら<sup>26)</sup>はRAを含む炎症性疾患249症例(RA:n=103, 全身性エリテマトーデス(LE):n=39, 乾癬性関節炎(PsA):n=21, 若年性関節リウマチ(JRA):n=21, ほか42例)と非炎症性疾患23例で、抗CCP抗体とRFについて次のような報告をしている。RA患者における抗CCP抗体の感度は66.0%、疾患特異度は90.4%であった。これに対してRFは71.6%の感度、80.3%の特異度であった。感度をみれば、RFの方が高いが、疾患特異度をみると抗CCP抗体が非常に優れた値を示している。そこで、彼らは、感度のよいRFと疾患特異度が優れている抗CCP抗体を組み合わせると、よりよい結果が得られるのではと予想し、RFもしくは抗CCP抗体陽性(A群)、RFかつ抗CCP抗体陽性(B群)を調べたが、A群の感度は81.4%と高いものの特異度は79.5%と抗CCP抗体単独測定よりかなり低い値を示した。それに対し、B群では特異度は91.1%と抗CCP抗体単独測定よりも若干高い値をとったが、感度は56.9%と極めて低い値であった。この結果より、感度・特異度の両方を考えると、抗CCP抗体単独測定の方が有用であるとした。

さらに、同報告では抗CCP抗体のRA以外の症例での検出率についても示している。RA以外の疾患のうち14例で抗CCP抗体が検出された。その内訳は表4に示すとおりであるが、JRAで検出率が若干高いものの、他の炎症性・非炎症性疾患では検出率は極めて低かった。また、江口らの検討<sup>28)</sup>によると、抗CCP抗体はRA患者64例中57例(89%)に検出され、RA以外のリウマチ性疾患

表4 抗CCP抗体のRA以外の症例での検出率

	炎症性疾患(13)				非炎症性疾患(1)
	SLE	JRA	PsA	ほか	
抗CCP抗体(+)	1	6	2	4	1
抗CCP抗体(-)	38	15	19	38	22

(文献26より引用)

149例中12例(8.1%)に検出されたとされている。また、同報告で、シェーグレン症候群(SS)患者では52名中5例(9.6%)に陽性が認められ、SS患者は抗CCP抗体陽性を示しやすいことが示唆されている。抗CCP抗体の特異度は対照疾患によって多少異なると考えられ、リウマチ性疾患では抗CCP抗体の陽性率は少し高いことが予想される。

以上のことより、抗CCP抗体は、SS患者など他のリウマチ性疾患では非リウマチ性疾患と比較して若干高いことは推測されるが、関節症状を伴わないリウマチ性疾患での検出率は極めてまれであり、RAに極めて高い疾患特異度を示し、RA以外の疾患での検出は例外的に陽性となる疾患が少数見られるのみと考えられる。

2. 早期RAの診断；抗CCP抗体はRAの発症初期から検出されることが知られている。Dubucquoiら<sup>29)</sup>は、RA患者140人(そのうちRA発症2年以上75人、2年以下65人さらにその中で6ヶ月未満が21人)とRA以外の膠原病患者98人、健常者33人の抗CCP抗体、RF、AKAを測定した。その報告によると、抗CCP抗体はRAの64.3%で検出され、RA発症2年以上経過している症例では78例中58例(77.3%)という高い検出率を示しているが、発症2年未満では32/65(49.2%)、さらに6ヶ月未満の症例(早期RA)では21例中10例(47.6%)にとどまった(表5)。他方、RFは、RA患者の60.0%に検出され、RA発症2年以上経過した症例では、50/75(66.7%)、2年未満では22/65(33.8%)、さらに6ヶ月未満の症例(早期RA)では21例中12例(57.1%)に検出された。RFはRAに関しては比較的よい検出率を示したが、疾患特異性が69%と非常に低く、SS患者では抗CCP抗体が47例中2例(4%)であったのに対して、22例(47%)で検出され、またSLEで31%、健常者でも10%の割合で検出されている。

以上のことにより、抗CCP抗体はRAに対する感度ではRFとあまり差はなく、早期RAに対してもRFとほぼ同様の50%程度の検出率を示すが、特に疾患特異性が非常に優れている。それに対して、RFは早期RAに対する検出率は抗CCP抗体よりも若干優れているものの、疾患特異性がかなり低いことがわかる。このような特徴のある2つの抗体を組み合わせると、RAでは75%、その中で発症2年以上では82.7%、2年未満でも53.8%、さらに6ヶ月未満の早期RAでは61.9%と抗CCP抗体、RFの単独での検出率より多少高い検出率が得られたが、Dubucquoiらは期待するほど大きな増加ではなかったと考察している。

松井ら<sup>30)</sup>は抗CCP抗体とRFとの組み合わせの検討だけでなく、抗ガラクトース欠損IgG(CARF)、MMP-3との組み合わせについても検討し報告している。RA患者261例(発症6ヶ月未満83例を含む)及び対照疾患としてRA以外のリウマチ性疾患患者117例の血清において、RF、CARF、MMP-3、抗CCP抗体の4種類の抗体を測定し、その結果をA群(抗CCP抗体陽性)、B群(抗CCP抗体and/orRF陽性)、C群(抗CCP抗体and/orCARF陽性)、D群(抗CCP抗体and/orMMP-3陽性)の4グループに分けて、抗CCP抗体とその他のマーカーとの組み合わせによる効果について検討している。その結果、感度は抗CCP抗体単独よりも他のマーカーと組み合わせで測定したほうが高い数値が得られたが、特異度では抗CCP抗体単独が82.1%と非常に高い結果を示した。それに対して、その他のマーカーと組み合わせた場合では50%程度の結果しか得られなかった。さらに、その他の報告でもRFと抗CCP抗体を同時に測定することにより感度の上昇を期待した検討が多数行われたが、いずれも期待するほどの感度の増加はみられなかった。これらの検討結果から、抗CCP抗体と他のマーカーを組み合わせることは、あまり意味がないと考えられて

表5 抗CCP抗体およびRFの早期RAでの意義

	Anti-CCP (CCP2)	AKA (IFI)	RF (EIA)	Anti-CCP陰性 RF陽性	Anti-CCP陽性 RF陰性	Anti-CCP陽性 or RF陽性
RA (n=140)	90(64.3)	68(48.6)	84(60.0)	15(10.7)	12(8.6)	105(75.0)
RA >2y (n=75)	58(77.3)	46(61.3)	50(66.7)	4(5.3)	7(9.3)	62(82.7)
RA <2y (n=65)	32(49.2)	22(33.8)	34(52.3)	10(15.4)	5(7.7)	35(53.8)
RA <6months (n=21)	10(47.6)	2(9.5)	12(57.1)	1(4.8)	1(4.8)	13(61.9)
SS (n=47)	2(4)	5(10)	22(47)	—	—	—
SLE (n=51)	0(0)	3(6)	16(31)	—	—	—
健常人 (n=33)	0(0)	0(0)	3(10)	—	—	—
特異度(%)	96.4	93	69	—	—	—

AKA : anti-keratin antibodies CCP : cyclic citrullinated peptide RA : rheumatoid arthritis

EIA : enzyme immunoassay RF : rheumatoid factor SS : Sjögren's syndrome y : year

( )内は%

(文献29より引用)

いる。さらに、抗CCP抗体が検出された患者では、早期RAでの検出率が高いと推測されても、それがRA症状の出現と直接結びつかなければ早期RAの診断としては意味がないと思われる。

三森ら<sup>31)</sup>は、初診時にACR分類基準を満たさず診断未確定の関節炎患者(発症1年以内)37例の保存血清について抗CCP抗体の測定および追跡調査を行い、その転帰についての報告を行っている(表6)。後にRAと診断される7名中6名が、また後にRAの疑いでDMARDs(Disease modifying anti-rheumatic drugs)を投与された4名中3名が初診時に抗CCP抗体陽性を示しており、RAの転帰に対して重要な意味をもっていると考えられる。それに対して、SSをはじめとするRA以外のリウマチ性疾患では、初診時抗CCP抗体陽性者はほとんど認められなかったとしている。ただし、polymyositis+Interstitial Pneumonia、回帰性リウマチ、remitting seronegative symmetrical synovitis with pitting edema(RS3PE)症候群で初診時抗CCP抗体陽性者からの転帰がそれぞれ1名報告されている。これらの疾患では、初診時抗CCP抗体陰性だった患者からの転帰は認められていない。症例数が非常に少ないため何とも言えないデータであるが、抗CCP抗体陽性者がこれらの疾患を発症する可能性は否定出来ない結果と考えられる。特に、RS3PE症候群はRAの亜型とする意見もあり、抗CCP抗体の陽性者が同症候群を発症する可能性はあるものと考えられる。

表6 初診時診断未確定関節炎37例の抗CCP抗体と転帰

転 帰	初診時抗CCP抗体	
	陽性(13)	陰性(24)
RA	6	1
RA疑い(DMARDs+)	3	1
シェーグレン症候群	1	3
PM+IP(抗ARS症候群)	1	0
回帰性リウマチ	1	0
RS3PE症候群	1	0
乾癬性関節炎	0	2
その他疾患*	0	11
診断未確認	0	6

\* OA、PMR、レイノー病、パルボB19関節炎、腸関節症、反応性関節炎、痛風性関節炎、軟骨性石灰化症、線維筋痛症、脊椎関節症、心因性リウマチ各1例

(文献31から引用)

3. 抗CCP抗体とRAの関節症状との関連；抗CCP抗体がRAにおいて関節症状をはじめとする臨床症状の変化によって、陽性率や抗体価は変化するのか、逆に抗体価がどれくらいでRAの症状が出現するか、また、治療によってどのように変化するのかと言う点について検討が行われている。表7に抗CCP抗体とRAの関節症状と

表7 抗CCP抗体とRAにおける関節症状との関連についての報告

報告者	患 者	結 果
加藤ら <sup>42)</sup>	RF陰性RA 65例	ステージの進行に伴い、陽性率が高くなった。
佐藤ら <sup>43)</sup>	RA 15例18膝、 OA 21例21膝	RAのステージの進行に伴い、抗CCP抗体濃度が高くなる傾向がみられた。OAでは全く検出されなかった。
松井ら <sup>44)</sup>	RA 261例、 他のリウマチ性疾患 80例	RA患者において抗CCP抗体価と疼痛および腫脹関節数の間に有意な相関関係は認められなかった。他のリウマチ性疾患において、抗CCP抗体陽性者は陰性者に比べて関節症状があるものが有意に多かった。

OA：変形性膝関節症

その他のリウマチ疾患：SLE 24例、SSc 23例、PM/DM 21例、MCTD 12例

の関連についての報告をいくつか示した。関節症状の進行に伴って抗CCP抗体の抗体価が上昇しているという報告がある反面、関節症状の進行(疼痛、腫脹関節の数など)に特に関連はみられなかったという報告もあり、一定の知見は得られていない。Rantapaa-Dahlqvistら<sup>32)</sup>は抗CCP抗体の症状発現前から症状発現までの動きについて検討し報告している。RA患者83例についてその症状出現前の血清について、その陽性率や抗体価を記している。早い例では関節症状発現7~10年前に抗CCP抗体が検出されており、症状発現5~7年前では25%程度に検出率が上昇し、症状発現1.5年前くらいまでは25%程度の検出率であるが、1.5年を切ると急に検出率が上昇し、症状発現後6ヶ月以内の早期RA患者では70.1%の検出率を呈する。さらに、抗体価を調べると、症状出現時点に近づくほど抗体価は上昇していき、症状発現1.5年前からの上昇は特に著明であった。

この結果から、抗CCP抗体の検出率、抗体価はRAの症状発現を早期に推測することが可能であると考えられる。RAの関節症状は炎症性サイトカインであるIL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ などが病変部で増加し発症に関与している。近年、これらのRAの病態を悪化させるサイトカインを中和する物質による治療法が進められている<sup>33)</sup>。infliximabは、TNF- $\alpha$ に対する抗体を遺伝子組み換え技術で作製したもの(キメラ型抗TNF- $\alpha$ モノクローナル抗体)で、TNF- $\alpha$ の細胞への結合を妨害し、炎症作用をブロックする作用を持つ。欧米では1999年から用いられ、我が国では2003年7月にRA治療薬として承認されている。Bobbio-Pallavicini<sup>34)</sup>は、RA患者30例においてinfliximab治療を78週間行い、治療による様々な抗体の陽性率の変化について報告している。治療前、RF陽性は26例(86.7%)、抗CCP抗体陽性は25例(83.3%)であった。治療開始78週間後では、RF陰性が

2例となり、24例(80%)でRF陽性を示した。それに対して抗CCP抗体では78週間後も治療開始前と同じ陽性率を示した。(表8)

表8 infliximab治療による各種自己抗体陽性率の変化

抗体	陽性率 (n[%])			
	治療前	30weeks	54weeks	78weeks
ANA	15/30 (50)	21/30 (70)	23/30 (76.7)	24/30 (80)
Anti-dsDNA (ELISA)	2/30 (6.7)	3/30 (10)	5/30 (16.7)	0/30 (0)
aCLlgG	0/30 (0)	1/30 (3.3)	2/30 (6.7)	2/30 (6.7)
aCLlgM	0/30 (0)	1/30 (3.3)	2/30 (6.7)	3/30 (10)
ANCA	0/30 (0)	0/30 (0)	0/30 (0)	0/30 (0)
RF	26/30 (86.7)	27/30 (90)	25/30 (83.3)	24/30 (80)
Anti-CCP	25/30 (83.3)	22/30 (73.3)	22/30 (73.3)	25/30 (83.3)

(文献34から引用)

また、その治療過程におけるRFと抗CCP抗体の陽性率の変化をみると、RFでは30週目に若干陽性率の上昇がみられるが、その後徐々に陽性率が下がっている。抗CCP抗体では30週目、54週目に陽性率の低下がみられるが、78週目に陽性率は増加し、治療前と同じ値を示している。本報告では、治療を受けたRA患者の症状は治療前に比べて個人差はあるものの改善しており78週目の抗体陽性率の上昇は、症状の悪化が原因ではないと考察している。したがって、RFはinfliximab治療による症状の改善に一致して低下していると考えられるが、抗CCP抗体においては症状の改善とは必ずしも一致していないものと考えられる。

#### 抗CCP抗体とRA以外の疾患との関連

1. 抗CCP抗体とHCV；抗CCP抗体とC型肝炎ウイルス(HCV)感染との関連性について、いくつか検討がなされている。Bombardieriら<sup>35)</sup>はRA患者30例、HCV関連の関節症状を伴っているHCV患者8例、関節症状を伴っていないHCV患者31例について、RFと抗CCP抗体を測定し、抗CCP抗体とHCVの関連性について検討している。その結果、RFはRA患者の90%で陽性、さらに関節症状を伴っているHCV患者では37.3%、関節症状を伴っていないHCV患者でも9.7%が陽性を示した。これに対して、抗CCP抗体の結果はRAでは76.6%の患者で陽性を示し、若干RFに比べて感度は低い結果が得られたが、HCV患者では、関節症状の有無に関わらず陽性を示さなかったとしている。また、Grelli<sup>36)</sup>らの報告でも、

HCV患者からは抗CCP抗体が検出されなかった。以上のことにより、抗CCP抗体はHCV関連関節炎では検出されず、HCV関連関節炎とRAの鑑別に有用であると考えられる。

2. 抗CCP抗体とリウマチ性多発性筋痛症(PMR)；PMRは、高齢者に発症するRF陰性、関節変形・浮腫を伴わないリウマチ性疾患で頸、肩、腰部の筋肉の痛みとこわばりを特徴する。肩、股、膝関節などの大関節に関節炎を伴う場合があり、ときにRAに移行する症例も確認されている。このような点で、特に高齢者で発症するRAであるelderly-onset rheumatoid arthritis (EORA)との鑑別が重要な疾患である。Lopez-Hoyosら<sup>37)</sup>は抗CCP抗体のPMRとEORAでの陽性率についての報告を行っている。57例のEORA患者、49例のPMR患者、さらに41例のRA患者(発症年齢：60歳未満)と24例の健康な高齢者において、抗CCP抗体を測定し、EORAでは65%の患者で抗CCP抗体が検出され、また、PMRの徴候のみられるEORA患者10例のうち2例が、抗CCP抗体陽性を示した。しかしながら、PMRと診断された患者からは、全く抗CCP抗体が検出されず、健常高齢者においても全く検出されなかったことから、抗CCP抗体はPMRとEORAとの鑑別に有用であり、また、RFと異なり加齢によって陽性にはならないことが示されている。

## 結 語

RAは、個々の患者で臨床症状や関節障害の進行が全く異なる疾患であるため、個々の患者で関節破壊が起こるか起こらないかを早期に見極め、早期に治療を開始して、後に関節破壊をきたさないようにすることが重要である。RAによる関節症状は発症早期から始まり、進行性で必ずしも自覚症状と相関しないことが知られているためである。また、発症初年度における骨びらん等の症状の進行速度は、2年、3年目の進行速度に比べてはるかに急速であることが知られている。近年、治療方法でも新たな積極的な方法が開発されて、現在ではDMARDsの早期投与・併用療法、生物製剤による治療が行われているが、関節破壊を防ぐためには、その治療がいかに早期に始められるかが重要である。そのためにはより正確に早期診断出来る検査が必要であり、今回概説した抗CCP抗体は、RAの早期診断、早期治療に非常に有益な検査の一つと成り得る可能性を持つものと考えられる。

## 参 考 文 献

- 1) American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Arthritis Rheum. 46:

- 328-346, 2002.
- 2) 近藤啓文, 田中住明: 日本リウマチ学会基準について. *リウマチ科*. 21(2):p117-121, 1999.
  - 3) 宮田昌之: もっと関節に注目しようRAの早期診断—分類基準と診断基準. *Medicina*.38(3):392-395, 2001.
  - 4) 近藤啓文, 小林茂人, 田中清介, 柏崎禎夫, 市川陽一, 竹内勤, 立石博臣, 広畑俊成, 藤井克之, 星恵子: 日本リウマチ学会による早期慢性関節リウマチの診断基準—診断基準の検証. *リウマチ*.40(1):54-59, 2000.
  - 5) 浅沼浩子, 宮脇昌二, 西山進: 関節リウマチにおける抗CCP抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody)の有用性に関する検討. 第48回日本リウマチ学会抄録集:249, 2004
  - 6) Hayashi N, Kumagai S: New diagnostic tests for rheumatoid arthritis. *Rinsho Byori*. 51:1030-1035, 2003
  - 7) Nienhuis RLF, Mandema EA: A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis: the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis*. 23:302-305, 1964.
  - 8) Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ.: Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J*. 2:97-99, 1979.
  - 9) Simon M, Girbal E, Sebbag M, Gomes-Daudrix V, Vincent C, Salama G, Serre C.: The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called “antikeratin antibodies”, autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*. 92:1387-1393, 1993.
  - 10) Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ, Serre G.: The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*. 95:2672-2679, 1995.
  - 11) Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ.: Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*. 101:273-281, 1998.
  - 12) van Jaarsveld CH, ter Borg EJ, Jacobs JW, Schellekens GA, Gmelig-Meyling FH, van Booma-Frankfort C, de Jong BA, van Venrooij WJ, Bijlsma JW.: The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 17:689-697, 1999.
  - 13) Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, Hoxworth J, Yarboro C, Smolen JS, Steiner G, Rosen A, Zhang C, Menard HA, Zhou ZJ, Palosuo T, Van Venrooij WJ, Wilder RL, Klippel JH, Schumacher HR Jr, El-Gabalawy HS.: Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res*. 2:236-243, 2000.
  - 14) Del Giacco GS, Mazze D.: Evidence in immunofluorescence of an anti-“perinuclear” serum factor in rheumatoid arthritis. *Reumatismo*. 17:60-64, 1965.
  - 15) Firestein GS, Zvaifler NJ.: How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum*. 33:768-773, 1990.
  - 16) Kouskoff V, Korganow A-S, Duchatelles V, Degott C, Benoist Cand Mathis. D.: Organ-specific autoimmune disease provoked by systemic autoreactivity. *Cell*. 87:811-822, 1996.
  - 17) Edwards JC. Importance of T cell in rheumatoid synovitis: comment on the review by Firestein and Zvaifler. *Arthritis Rheum*. 46:3105-3106, 2002.
  - 18) Kamogawa J, Takubo N, Arita N, Okada K, Yamamoto H, Yamamoto S, Nose M: Histopathological characteristics of early rheumatoid arthritis : a case one month after clinical onset. *Modern Rheumatology*. 10:272-275, 2000.
  - 19) 広畑俊成: 関節リウマチにおけるB細胞の関与—抗原特異的B細胞活性化. *医学のあゆみ*. 209:796-800, 2004.
  - 20) Van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H: Anticitrullinated protein / peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med*. 60:383-388, 2002.
  - 21) Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhausser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, Serre G: The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J Immunol*. 166:4177-4184, 2001.
  - 22) Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, van Venrooij WJ: The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*. 43:155-163, 2000.
  - 23) Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R: Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem*. 47:1089-1093, 2001.
  - 24) Vossenaar ER, van Venrooij WJ, Pruijn GJM. Anti-CCP antibodies in (early) rheumatoid arthritis. In: Conrad K, Fritzler M, Meurer M, et al. From proteomics to molecular epidemiology: relevance of autoantibodies. *alengerich: Pabst Science Publishers*:454, 2002.
  - 25) Suzuki K, Sawada T, Murakami A, Matsui T, Tohma S, Nakazono K, Takemura M, Takasaki Y, Mimori T, Yamamoto K.: High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 32:197-204, 2003.
  - 26) Lee D M, Schur P H: Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*.

- 62:870-874, 2003.
- 27) 鈴木健司: シトルリンを含むエピトープを認識する関節リウマチ特異的な抗体—抗CCP抗体. 臨床免疫. 41: 587-590, 2004.
  - 28) 江口勝美: RAの診断における抗CCP抗体の有用性. リウマチ科. 31:379-386, 2004.
  - 29) Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D, Marguerie L, Sibilia J, Goetz J, Dutoit V, Fauchais AL, Hachulla E, Flipo RM, Prin L.: Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases: *Annals of Rheumatic Diseases*. 63:415-419, 2004.
  - 30) 松井利浩, 渡辺淳子, 中山久徳, 杉井章二, 小澤義典, 當間重人: 関節リウマチ診断における抗環状シトルリン化ペプチド(CCP)抗体と他のマーカーとの組み合わせの検討. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集: 249, 2004.
  - 31) 三森経世: 抗フィラグリン/CCP抗体と関節リウマチ. リウマチ科. 30:478-483, 2003.
  - 32) Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, Sundin U, van Venrooij WJ.: Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 48:2741-2749, 2003.
  - 33) 倉沢和宏: 各科臨床のトピックス 内科 関節リウマチの抗サイトカイン療法. 日本医師会雑誌. 131:70-71, 2004.
  - 34) Bobbio-Pallavicini F, Alpini C, Caporali R, Avalu S, Bugatti S, Montecucco C: Autoantibody profile in rheumatoid arthritis during long-term infliximab treatment. *Arthritis Res Ther*. 6:p264-272, 2004.
  - 35) Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G, Iannuccelli C, Carlucci F, Riccieri V, Paoletti V, Valesini G.: Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarticular involvement. *Arthritis Res*. 6:137-141, 2004.
  - 36) Girelli F, Foschi FG, Bedeschi E, Calderoni V, Stefanini GF, Martinelli MG.: Is Anti Cyclic citrullinated peptide a useful laboratory test for the diagnosis of rheumatoid arthritis? *Allerg Immunol*. 36:127-130, 2004.
  - 37) Lopez-Hoyos M, Ruiz de Alegria C, Blanco R, Crespo J, Pena M, Rodriguez-Valverde V, Martinez-Taboada VM.: Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology*. 43:655-657, 2004.