

マルホ皮膚科セミナー

2011年12月29日放送

「膠原病の自己抗体の読み方」

東京大学大学院
皮膚科 講師 浅野 善英

はじめに

今日は、「膠原病の自己抗体の読み方」について、解説いたします。

自己免疫疾患である膠原病の診療において、自己抗体の検出は極めて有用です。自己抗体の存在は、各種膠原病の診断に役立つのみでなく、疾患活動性の評価、予後の推測、また治療方針を決める際にも非常に有力な手掛かりとなります。したがって、膠原病診療において、自己抗体検査の結果を正確に評価できることは必要不可欠な診療技術なのです。

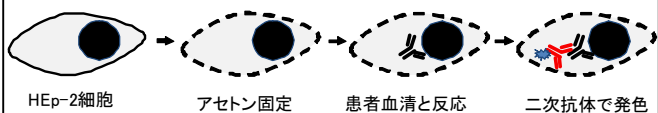
図1. 自己抗体の分類と臨床的意義

1) 疾患標識抗体	疾患の診断	抗トポイソメラーゼ I抗体 抗セントロメア抗体 抗RNAポリメラーゼ抗体
体		抗Sm抗体 抗U1RNP抗体 抗Jo-1抗体
2) 疾患の病型と関連する抗体	治療法決定 予後推定	抗トポイソメラーゼ I抗体 抗セントロメア抗体
3) 疾患の活動性と関連する抗体	活動性・治療効果の判定	抗二本鎖DNA抗体
4) その他の抗体	診断上の参考	抗SSA/B抗体 抗一本鎖DNA抗体

さて、それでは膠原病診療における自己抗体検査の進め方について、順を追って説明したいと思います。

まず、自己抗体のスクリーニングとして最も有用な検査は、蛍光抗体間接法です。この検査は、一定の濃度に希釈した患者血清を、スライドグラス上で培養されたHep2細胞というヒト喉頭癌由来の上皮細胞に加えて反応させた後、細胞内の自己抗原と反応する抗体の有無を、蛍光色素で標識された二次抗体を用いて検出する方法です。

図2. 蛍光抗体間接法



利点

- ・理論的には核内に存在するすべての抗原に対する抗体を検出できる
- ・対応抗原が未知の自己抗体も検出可能である

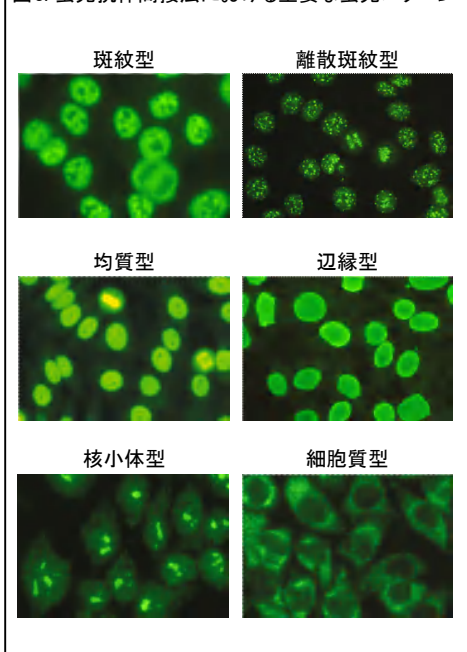
欠点

- ・特定可能な自己抗体は離散斑紋型を示す抗セントロメア抗体のみである
- ・高力価であってもこの検査では陰性と判定されてしまう自己抗体が存在する

この方法の利点は、理論的には血清中に存在する自己抗体を全て検出できるという点にあります。検査結果は、蛍光パターンと抗体価で記載されます。

主要な蛍光パターンは、斑紋型、均質型、辺縁型、離散斑紋型、核小体型、細胞質型の6つです。この蛍光パターンから特定可能な自己抗体は、離散斑紋型を示す抗セントロメア抗体のみで、他の自己抗体はこの検査のみで特定することはできません。抗セントロメア抗体は限局皮膚硬化型の全身性強皮症に高頻度に出現する自己抗体です。また、核小体型が単独で陽性となる場合は、全身性強皮症である可能性が高いことに留意しておく必要があります。核小体型を示す自己抗体としては、抗U3RNP抗体や抗Th/To抗体がありますが、これらはいずれも全身性強皮症に特異性が高い自己抗体であることが明らかにされています。その他、例えば抗トポイソメラーゼI抗体は均質型あるいは斑紋型を示し、核小体型を伴うことがあること、抗二本鎖DNA抗体では辺縁型を示すことなど、各々の自己抗体に対応した蛍光パターンはありますが、いずれも特異的な蛍光パターンではないため、この検査のみでの同定は不可能です。

図3. 蛍光抗体間接法における主要な蛍光パターン



次に力価についてですが、一般に検査結果は、40倍陽性、80倍陽性、160倍陽性といったように記載されます。40倍陽性とは、患者血清を40倍に希釈した場合には蛍光パターンがみえますが、それ以上、例えば80倍に希釈した場合には蛍光パターンが見えなくなることを意味しています。どの程度の力価から自己抗体陽性と判定するかについてですが、海外のデータでは、健常人において、40倍では約30%、80倍では約15%、160倍では約5%が陽性と判定されることが明らかにされています。したがって、160倍陽性以上を、意義のある検査結果と考えるべきであると言えます。

蛍光抗体間接法の結果を解釈する際の注意点ですが、高力価であってもこの検査では陰性と判定されてしまう自己抗体が存在することを知っておく必要があります。それらの自己抗体のうち、現在保険診療でELISA法により測定可能な自己抗体として、抗SS-A抗体、抗一本鎖DNA抗体、抗Jo-1抗体があります。したがって、自己抗体検査のスクリーニングをしっかりと行いたい場合は、蛍光抗体間接法に加えて、これらの自己抗体をELISA法で測定する必要があります。なお、近年皮膚筋炎に出現する自己抗体が次々と同定されていますが、これらの自己抗体も蛍光抗体間接法では陰性となるか、あるいは陽性と判定されても力価が非常に低い場合がしばしばあります。抗Jo-1抗体以外の皮膚筋炎に出現する自己抗体の検出には免疫沈降法が必要ですが、現在では限られた施設で自主研究としてしか行われていないのが現状です。

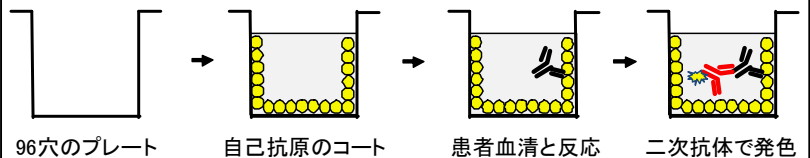
ELISA 法について

さて、スクリーニング検査としての蛍光抗体間接法について詳しく説明して参りましたが、次に ELISA 法について説明致します。この方法では、まず、個々の自己抗体の対応抗原を吸着させたマイクロプレートに、希釈した患者血清を加え、抗原抗体反応を起こさせます。プレートを洗浄した後、酵素標識された二次抗体を加え、最後に発色する酵素基質を加えて、酵素反応の生成物の濃度を吸光度計で測定します。

ELISA 法は非常に感度が高いことと定量性があるのが特徴です。したがって、低力価の抗体であっても検出が可能であり、疾患活動性に連動して抗体価が変化する自己抗体ではその抗体価の変化を正確に追うことができるという利点があります。例えば、全身性エリテマトーデスでは、抗二本差 DNA 抗体の抗体価が病勢と平衡して速やかに変動することが知られており、抗二本差 DNA 抗体の抗体価を経時的に追うことは临床上非常に有用です。また、全身性強皮症で検出される抗トポイソメラーゼ I 抗体は、病勢に伴いゆっくりと力価が変動することが、ELISA 法の開発により、明らかとなりました。

一方、ELISA 法の欠点として、感度が高すぎるため、しばしば本当は陰性なのに、陽性と判定されてしまう、つまり偽陽性となってしまうことが挙げられます。ELISA 法の結果が本当に陽性か、あるいは偽陽性であるのかは、蛍光抗体間接法の結果と照らし合わせるにより確認することが可能です。膠原病で検出される自己抗体の中で、現在 ELISA 法が保険収載されているものがいくつかありますが、それらの自己抗体がどのような蛍光パターンを示すのかを理解していると、この確認作業を行うことができます。例えば、抗トポイソメラーゼ I 抗体が高力価で陽性であれば、蛍光抗体間接法では均質型あるいは斑紋型を示し、核小体型も陽性と判定されることがあります。このパターン以外の蛍光パターンが示される場合、あるいは ELISA 法で高力価なのに蛍光抗体間接法で陰性あるいは低力価と判定されるような場合は、偽陽性の可能性が高いと考えられます。

図4. ELISA法 (enzyme-linked immunosorbent assay)



利点

- ・特異自己抗体の同定が可能である
- ・非常に感度が高く、定量性がある

欠点

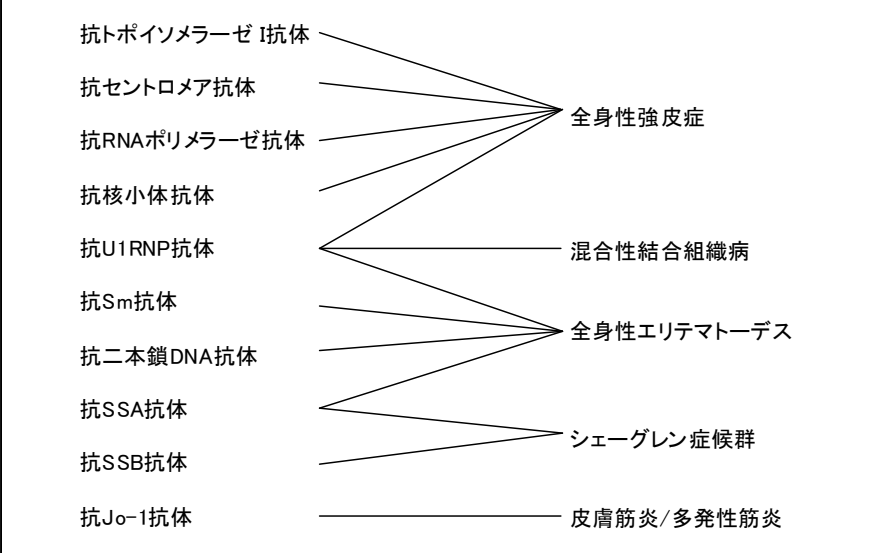
- ・対応抗原が既知の自己抗体でないと検出できない
- ・感度が高すぎるために、しばしば偽陽性となる

保険診療で測定できる自己抗体と考えるべき膠原病

最後に、現在保険診療で測定できる自己抗体と考えるべき膠原病について説明致します。

す。抗 U1RNP 抗体は全身性エリテマトーデス、混合性結合組織病、全身性強皮症で検出されますが、抗 Sm 抗体が同時に陽性となる場合は、活動性の高い全身性エリテマトーデスを第一に考えます。抗 SS-A 抗体が陽性の場合は、シェーグレン症候群あるいは全身性エリテマトーデスを考えますが、抗 SS-B 抗体が同時に陽性になる場合や、抗 SS-B 抗体が単独で陽性になる場合はシェーグレン症候群を第一に考えます。抗一本鎖 DNA 抗体や抗二本鎖 DNA 抗体が陽性になる場合は、全身性エリテマトーデスを考えます。抗トポイソメラーゼ I 抗体あるいは抗 RNA ポリメラーゼ抗体が陽性となる場合は、びまん皮膚硬化型の全身性強皮症を考えますが、抗セントロメア抗体が陽性となる場合は、限局皮膚硬化型の全身性強皮症を考えます。抗 Jo-1 抗体が陽性となる場合は多発性筋炎・皮膚筋炎を考えますが、肺病変のみで特発性間質性肺炎の病型をとることもあります。なお、全身性強皮症に特異性の高い抗核小体抗体や、皮膚筋炎で検出される自己抗体は臨床症状との相関が非常に強く、臨床上有用ですが、同定には免疫沈降法が必要であり、特定の施設でしか測定することができないのが現状です。これらの抗体のいくつかは ELISA 法の開発が進んでおり、近い将来、日常診療で測定が可能になることが期待されています。

図5. 疾患標識抗体と疾患対応



以上、膠原病診療における自己抗体の読み方について解説いたしました。これらの情報が先生方の明日からの日常診療に役立てば幸いです。