

# RA 早期診断における抗CCP 抗体の意義

大塚 毅 九州大学病態修復内科学  
(2005年、第6回博多リウマチセミナー)

関節リウマチ(RA)の滑膜炎を誘導する関節に特異的な抗原としてはコラーゲン、軟骨関連蛋白、gp39などが候補であったが、これらは動物モデルの関節炎を誘導するがどのように発症に関わっているか不明である。RA患者に認められる自己抗体には関節に特徴的ではない蛋白を標的抗原にしたものも多いが、その中には抗コラーゲン抗体やRFよりもよりRA患者との相関の強いものが知られている。

hnRNPA2であるRA33Ag(A2/RA33)を抗原とする自己抗体、抗ケラチン抗体(ケラチン-凝集蛋白フィラグリン)、抗Sa自己抗体(標的不明)、などが代表的であった。抗A2/RA33AbはRA患者の1/3に認められるが、SLEでも抗SM抗体MCTDでは抗U1RNP抗体と連動して認められる。A2/RA33は核に多く存在し多彩な役割を果たしている<sup>(1)</sup>。

## 1. 抗シトルリン化フィラグリン抗体

RA患者にはケラチン(anti-keratin antibody: AKA)やフィラグリン(filament aggregating protein: filaggrin)に対する自己抗体が知られていた。これらはRAに特異性が高く、いずれもシトルリン化フィラグリンを認識していることがわかった。フィラグリンは上皮細胞に多く発現し、サイトケラチン繊維の凝集に関係するためアポトーシスでの重要性が注目される。シトルリン化はアルギニンをシトルリンに変換するペプチジルアルギニンジミナーゼ(PADI)によってもたらされる。

Schellekensらはこの直鎖ペプチドのシステイン残基をS=S結合でさらに環状化すること(cyclic citrullinated peptide: CCP)によって自己抗原性が高まることを発見し、この系を用いてRA患者における抗CCP抗体の測定意義を検討した<sup>(2)</sup>。その結果抗CCP抗体はRAにおける感度は68%であったものの、コントロールに比べて特異度の高い(98%)測定法であることが報告された。また、早期RA患者グループでも特異度は96%と高値であった。IgM-RF(91%)と比べると、抗CCP ELISA(96%)はRA患者において有意に高い特異性を示した( $P=0.016$ )。RA患者全体に対する感度は抗CCP ELISAで48%、IgM-RF ELISAで54%と有意差はないが、この2つの検査を併用することにより早期RA診断に有用であることが示された。この報告を契機として、RAの診断面での有用性や治療過程での発現状態の検討がなされてきた<sup>(3)</sup>。

抗A2/RA33AbもRA初期に検出され、A2/RA33はRA患者T細胞に対して自己抗原性を示した。A2/RA33に比べるとフィラグリンには抗原性がなく、シトルリン化抗原に対する液性の自己免疫反応を誘導するものでもないと考えられた。ただし、シトルリン化ペプチドが抗原として使われた場合(フィラグリン由来のペプチドでなくても)60%以上のRA患者に反応が認められる。ということは、フィラグリン以外にもシトルリン化した標的がいろいろあって、そのような蛋白がRA患者の滑膜組織に存在することは確かである<sup>(4)</sup>。RA滑膜組織では抗フィラグリン抗体は間質やいろいろな単核細胞に認められ、免疫化学的分析によりp64-78とp55-61の2種類の蛋白がAFAの標的として同定されたが、各々フィブリンの $\alpha$ 鎖、 $\beta$ 鎖であった。すなわち抗フィラグリン抗体はかなり多彩な自己抗体群であると考えられる。そして、RA発症にきわめて重要な役割を果たしていることがうかがえる。

## 2. 抗CCP抗体とRA病態

PADIには4種類あり、RA滑膜ではPADI2とPADI4が高値である。抗CCP抗体陽性のRA患者では抗CCP抗体は骨髄や関節液中に高値である。とくに関節滑膜のB細胞に強い産生が認められており抗原暴露後のB細胞の成熟がRA患者滑膜組織において起こっている可能性を示唆する<sup>(5)</sup>。コラーゲン誘導関節炎では関節炎局所のフィブリンなどのタンパクがシトルリン化され、健常マウスには発現のないPADI4発現が好中球に亢進していた。このように、シトルリン化蛋白の存在はマウス関節炎モデルでもヒトRAでも重要な事象であり<sup>(6)</sup>、遺伝子解析においてPADI4のハプロタイプがRA発症と相関していることが明らかにされた<sup>(7)</sup>。HLADR4のトランスジェニックマウスに対して関節炎を発症させることが知られており、これらの報告はRAにおける自己免疫反応誘導の可能性のひとつをイメージさせる<sup>(8)</sup>。

### 3. 抗 CCP 抗体の臨床的意義

関節炎が発症してエントリー後2週間たっても分類不能であった関節炎患者(unclassified arthritis:UA)の抗 CCP 抗体が測定された。3年後に追跡可能であった318人中1987年のACR分類基準と照らし合わせると127人(40%)がRAの確定診断を受けたが、その内訳は抗 CCP 抗体が陰性であった249人からは63人が、抗 CCP 抗体が陽性であった69人から64人(93%)がRAと診断された(表1)。抗 CCP 抗体以外には、多関節炎・対称性・骨びらんの存在などがRAの予測因子として有意なものであったが、抗 CCP 抗体陽性であることがRA発症の予測因子としてきわめて高い特異度を示すことが証明された<sup>(9)</sup>。

表1 分類不能の関節炎患者における抗 CCP 抗体の陽性率とRA発症頻度(文献9より引用)

	ACR分類基準によるRA患者数		
	1年後	2年後	3年後
抗 CCP 抗体陽性例(69人)	57 (83%)	62 (90%)	64 (93%)
抗 CCP 抗体陰性例(249人)	46 (18%)	60 (24%)	63 (25%)
総計(318人)	103 (32%)	122 (38%)	127 (49%)

別のグループでは、超早期関節炎患者におけるシトルリン化フィラグリンと非シトルリン化フィラグリンそれぞれに対する抗体価が測定された(表2)。超早期関節炎患者のうち1年後の判定がRA:176人、非RA:63人、分類不能:75人であったが、このグループの中でシトルリン化フィラグリンに反応し非シトルリン化フィラグリンには反応しなかった血清を持っていた患者のほとんどはRA患者のものであった。また、両タイプのフィラグリンを認識する血清もRA患者由来のものであった<sup>(10)</sup>。

表2 シトルリン化と非シトルリン化フィラグリンへの反応性(文献10より引用)

\* dACRF:シトルリン化フィラグリンと非シトルリン化フィラグリンに反応したときの抗 CCP 抗体価の差をとった数値

#### A. 単一施設

疾患	患者	dACRF	
		n	%
RA	101	59	58%
非RA疾患	225	1	0.4
SLE	32	0	0
シェーグレン	26	1	3.8
CREST	18	0	0
MCTD	10	0	0
皮膚筋炎	14	0	0
成人発症ステル	16	0	0
脊椎関節症	69	0	0
強直性脊椎炎	31	0	0
乾癬性関節炎	38	0	0
変形性関節症	20	0	0
健常人	96	0	0

#### B. 多施設

	患者	抗 CCP 抗体		dACRF	
		n	%	n	%
RA	176	69	39	54	31
非RA疾患	63	3	5	1	2
脊椎関節症	22	2	9	1	5
強直性脊椎炎	12	1	8	0	0
その他	10	1	10	1	10
変形性関節症	15	0	0	0	0
結晶誘発関節炎	6	0	0	0	0
悪性腫瘍	3	0	0	0	0
Parvo B19	3	0	0	0	0
サルコイドーシス	2	0	0	0	0
その他の膠原病	12	1	8	0	0
シェーグレン	4	1	25	0	0
SLE	1	0	0	0	0
MCTD	2	0	0	0	0
ベーチェット	1	0	0	0	0
ウェゲナー	1	0	0	0	0
分類不能	3	0	0	0	0
分類不能関節炎	75	2	3	3	4

RF 陰性の RA 患者の 34% に抗 CCP 抗体が陽性に出たことで、RF よりも特異度が高いとした報告がなされており、RF と抗 CCP 抗体の測定を併用することによって、診断確率がさらに向上すると考えられる<sup>(11)</sup>。

表 3 早期 RA の各測定法による反応(文献 10 より引用)

自己抗体	有意に異なる患者数		κ 値
	陽性(n=58)	陰性(n=256)	
AKA(keratin)			0.66
陽性(n=45)	37 (63.8)	8 (3.1)	
陰性(n=269)	21(36.2)	248 (96.9)	
APF(perinuclear)			0.63
陽性(n=77)	48 (82.7)	89 (11.3)	
陰性(n=237)	10 (17.3)	227 (88.7)	
抗 CCP 抗体			0.75
陽性(n=74)	53 (91.4)	21 (8.2)	
陰性(n=240)	5 (8.6)	235 (91.8)	

症状発現以前の血清サンプルが保存されていた RA 患者について、IgM-RF と抗 CCP 抗体が測定された結果、49% の患者には発症 4.5 年前にはすでに IgM-RF あるいは抗 CCP 抗体いずれかの抗体が陽性であった。一方、2138 人のコントロールでは IgM-RF 陽性が 1.1% に抗 CCP 抗体陽性が 0.6% に認められている<sup>(12)</sup>。RA 症状発現より 1.5 年前から抗 CCP 抗体陽性となっている率は多変量解析にて 16.1% であり、RF の中でもっとも早期発現率が高かった IgA-RF の 5.1% を有意に上回った<sup>(13)</sup>。抗 CCP 抗体は RA 診断において感度 47%・特異度 93%、APF が感度 52%・特異度 79%、AKA が感度

47%・特異度 94% であり、これらの測定方法が必ずしも完全に一致した陽性パターンを示すわけではなかった<sup>(14)</sup>。

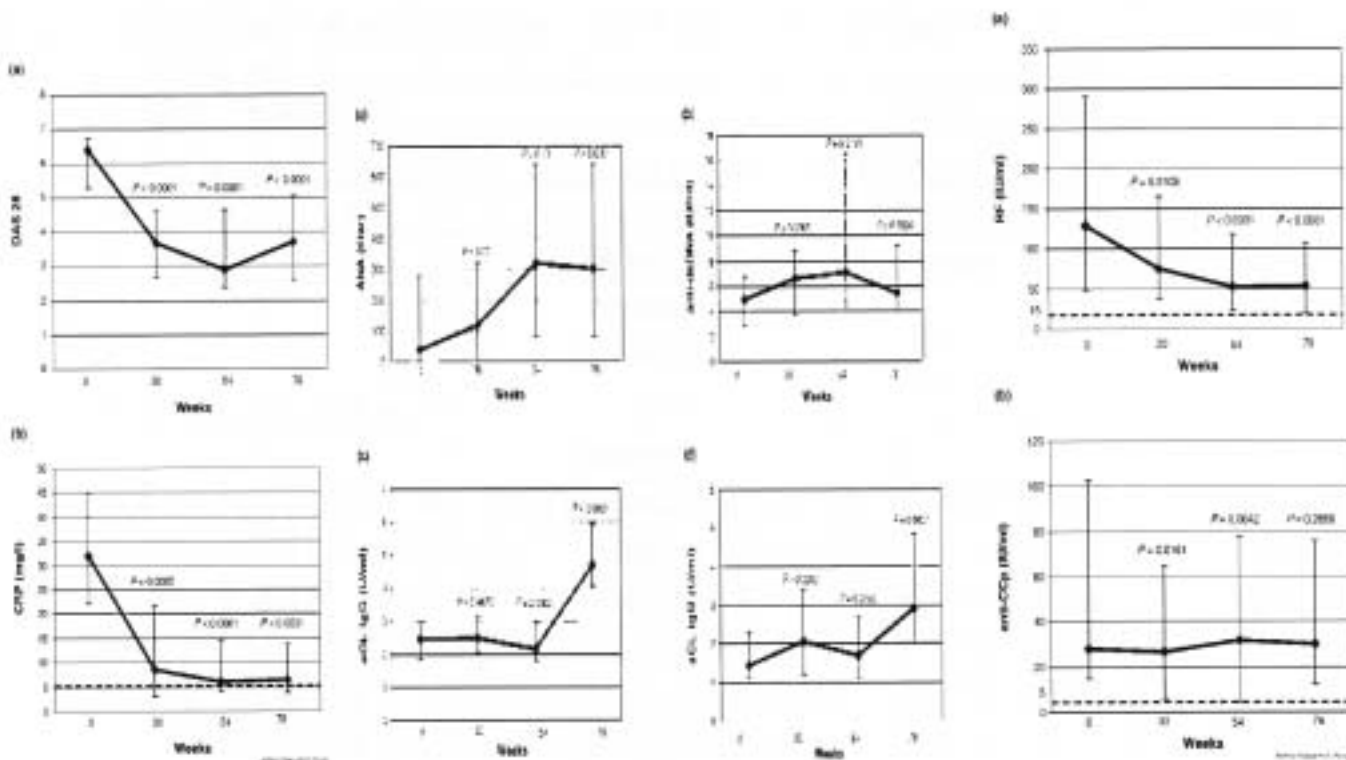


図 1 インフリキシマブ治療 78 週後の RA 活動性の変化(文献 16 より引用)

RA に対するインフリキシマブと MTX の併用療法に伴う急性期炎症反応の推移と、RF および抗 CCP 抗体価の変化について 2 つの報告がなされた(図 1)。いずれのグループも IgM-RF は赤沈や CRP とともに有意に低下したが、2 つのグループでは抗 CCP 抗体は変化せず、別のグループでは抗 CCP 抗体価は一旦低下したが 30 週後には再びもとのレベルに戻ったと報告した(表 4) (15,16)。このことは、この 2 つの自己抗体がそれぞれ独自の機構で制御されているものであることを意味している点で興味深い。



表 4 インフリキシマブ治療後の各種自己抗体の推移(文献 16 より引用)

抗体	陽性率 (n%)				P 値
	治療前	30週	54週	78週	
ANA	15/30 (50)	21/30 (70)	23/30 (76.7)	24/30 (80)	0.0292
抗 dsDNA 抗体 (ELISA)	2/30 (6.7)	3/30 (10)	5/30 (16.7)	0/30 (0)	0.4915
抗 dsDNA 抗体 (IIF)	1/30 (3.3)	1/30 (3.3)	2/3 (6.7)	1/30 (3.3)	-
抗 ENA	3/30 (10)	4/30 (13.3)	4/30 (13.3)	4/30 (13.3)	0.999
aCL IgG	0/30 (0)	1/30 (3.3)	2/3 (6.7)	2/3 (6.7)	-
aCL IgM	0/30 (0)	1/30 (3.3)	2/3 (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)	0.7306
抗 CCP	25/30 (83.3)	22/30 (73.3)	22/30 (73.3)	25/30 (83.3)	-
EMA (IIF)	0/30 (0)	0/30 (0)	0/30 (0)	0/30 (0)	-

インフリキシマブの有効性ととも抗 CCP 抗体価が低下したとする報告は 1 報あるが、投与後 24 週目までしか経過観察をしていないし、RF の低下のほうがより明確である。(表 5、6)<sup>(17)</sup>。

表 5 インフリキシマブ投与後の RA 患者血清パラメーターの変化(文献 17 より引用)

	0週	24週	p 値
疼痛関節数	15 (2-44)	10 (0-44)	<0.0001
腫脹関節数	10 (0-30)	4 (0-27)	<0.0001
ESR (mm/1時間)	42 (18)	32 (21)	NS
CRP (mg/dl)	24 (21)	18 (28)	NS
抗 CCP 抗体 (U)	107 (9.5)	92 (9.8)	0.0001
RF (IU)	512 (151)	409 (166)	<0.0001

表 6 インフリキシマブ投与後の有効性と抗 CCP 抗体および RF の推移(文献 17 より引用)

ACR 有効率	抗 CCP 抗体 (U)		RF (IU)	
	0週	24週	0週	24週
<20% (n=21)	116 (62)	106 (66)	445 (466)	321 (332)
ACR20 (n=22)	94 (59)	77 (62)	359 (310)	231 (247)
ACR50 (n=13)	87 (66)	71 (67)	325 (343)	189 (210)
ACR70 (n=4)	61 (74)	45 (73)	466 (439)	265 (303)

## 【文献】

- 1) Fritsch R, Eselbock D, Skriner K, Jahn-Schmid B, Scheinecker C, Bohle B, Tohidast-Akrad M, Hayer S, Neumuller J, Pinol-Roma S, Smolen JS, Steiner G. Characterization of autoreactive T cells to the autoantigens heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 (RA33) and filaggrin in patients with rheumatoid arthritis. *J Immunol.* 2002 Jul 15; 169(2): 1068-76.
- 2) Schellekens G A, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, van de Putte LBA, van Venrooij WJ J. Citrulline is an Essential Constituent of Antigenic Determinants Recognized by Rheumatoid Arthritis-specific Autoantibodies. *Clin. Invest.* 101(1), 273-281, 1998.
- 3) 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(1), 155-163, 2000.
- 4) Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, Serre G. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J Immunol.* 2001 Mar 15;166(6):4177-84.
- 5) Reparon-Schuijt CC, van Esch WJ, van Kooten C, Schellekens GA, de Jong BA, van Venrooij WJ, Breedveld FC, Verweij CL. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 44(1), 41-47, 2001.
- 6) Vossenaar ER, Nijenhuis S, Helsen MM, van der Heijden A, Senshu T, van den Berg WB, van Venrooij WJ, Joosten LA. Citrullination of synovial proteins in murine models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 48(9), 2489-2500, 2003.
- 7) Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1\*0401 MHC class II molecule. *J Immunol.* 171(2), 538-541, 2003.
- 8) Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokunishi S, Sawada T, Suzuki M, Nagasaki M, Nakayama-Hamada M, Kawaida R, Ono M, Ohtsuki M, Furukawa H, Yoshino S, Yukioka M, Tohma S, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Nishioka Y, Sekine A, Iida A, Takahashi A, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2003 Aug;34(4):395-402.
- 9) van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL, Toes RE, Huizinga TW. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 50(3), 709-715, 2004.
- 10) Vittecoq O, Incauragarat B, Jouen-Beades F, Legoedec J, Letourneur O, Rolland D, Gervasi G, Menard JF, Gayet A, Fardellone P, Daragon A, Jolivet M, le Loet X, Tron F. Autoantibodies recognizing citrullinated rat filaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* 135(1), 173-180, 2004.
- 11) Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 62(9), 870-874, 2003.
- 12) Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, Habibuw MR, Vandenbroucke JP, Dijkmans BA. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 50(2), 380-386, 2004.
- 13) Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, Sundin U, van Venrooij WJ. Rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 48(10), 2741-2749, 2003.
- 14) Saraux A, Berthelot JM, Devauchelle V, Bendaoud B, Chales G, Le Henaff C, Thorel JB, Hoang S, Jousse S, Baron D, Le Goff P, Youinou P. Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 30(12):2535-2539, 2003.
- 15) De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E, Van Den Bosch F, Hoffman IE, Veys EM, De Keyser F. Rheumatoid factor, but not anti-citrullinated protein antibodies, is modulated by infliximab treatment in Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004 May 27.
- 16) Bobbio-Pallavicini F, Alpini C, Caporali R, Avalle S, Bugatti S, Montecucco C. Autoantibody profile in rheumatoid arthritis during long-term infliximab treatment. *Arthritis Res Ther.* 2004;6(3):R264-72. Epub 2004 Apr 26.
- 17) Alessandri C, Bombardieri M, Papa N, Cinquini M, Magrini L, Tincani A, Valesini G. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNFalpha therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis.* 2004 Oct; 63(10):1218-21.