

抗 CCP 抗体の病因(抗 CCP 抗体陰性は非リウマチか?)

九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科

塚本 浩

(2014年 第15回博多リウマチセミナー)

はじめに

近年、関節リウマチ(Rheumatoid arthritis: RA)の病因や診断において抗シトルリン化蛋白抗体(anti-citrullinated protein antibody: ACPA)が注目されている。ACPAとは様々なシトルリン化蛋白に対する自己抗体の総称であり、臨床で用いられているのは抗 cyclic citrullinated peptide(CCP)抗体である。抗 CCP 抗体は元々シトルリン化フィラグリンの配列を基に作成されたペプチドに対する抗体であったが、現在臨床で主に用いられているのは、シトルリン化ペプチドのライブラリーから RA の診断に関して感度、特異度を改善した第二世代抗 CCP 抗体である。抗 CCP 抗体は RA の診断において、90%以上と高い特異性を有し、2010年に改訂された ACR/EULAR の RA 分類基準にも取り入れられている¹⁾。また、関節炎の発症に先立って数年前から血清中に ACPA が出現する事が明らかになり²⁾、RA 発症における ACPA の関与が示唆されている。一方、2010年分類基準では ACPA 陰性例については RA の診断における感度は上昇していない。今回、RA の病因としての ACPA、および ACPA の臨床的意義、ACPA 陰性 RA の特徴、について概説する。

1. RA の病因としての ACPA

元々 RA に特異性の高い自己抗体として報告されていた抗核周因子、抗ケラチン抗体、抗フィラグリン抗体などの真の対応抗原が、蛋白中のアルギニン残基がシトルリン残基に変換されたものであることが判明し³⁾、ACPA と呼ばれるようになった。ACPA の炎症滑膜における対応抗原の候補としてはシトルリン化されたビメンチン、II型コラーゲン、フィブリノーゲン、プラスミノゲン、BiP (immunoglobulin binding protein)、 α -エノラーゼなどが報告されている⁴⁻⁶⁾。それぞれのシトルリン化蛋白に反応する抗体は RA の 30-60%に出現する事がわかっており、また一部に交差反応性が認められる⁷⁾。ACPA のサブクラスとしては通常測定される IgG の他に IgM、IgA、IgE が存在し、IgG と同様高い特異度が報告されている⁸⁾。このように実際に存在する ACPA には多様な抗体が含まれている。ACPA は RA の発症前より出現するが、発症の時期が近づくにつれ抗体価や対応抗原、サブクラスの数が増加する⁹⁾。

RA において遺伝要因の関与が示されてきたが、RA に関して強い関連を示しているのは HLA-DR 抗原の β 鎖をコードする HLA-DRB1 の対立遺伝子 *0101、0401、0404、0405 などであり、超可変領域に相当する第 70~74 残基が Q/KRRAA という共通のアミノ酸配列(shared epitope:

SE)であることが示された¹⁰⁾。この部分がクラス II 分子の抗原提示機能における抗原と結合するポケット形成に関する部分である事から、SE を持つクラス II 分子は RA の特異抗原を提示しやすいと考えられている。興味深い事に RA を ACPA 陽性群と陰性群に分けると SE との関連を示すのは ACPA 陽性群のみである¹¹⁾。また、RA の代表的リスク因子である喫煙により、ACPA 陽性群において RA 発症の相対危険度が上昇するが、ACPA 陰性群では影響がない¹²⁾。喫煙者の気管支洗浄液中にシトルリン化蛋白が存在する事から、喫煙によりシトルリン化された蛋白に対して、SE を有する患者が免疫応答を起こして ACPA を産生し、RA の発症に関わるという仮説が立てられている¹³⁾。また、歯周病の原因菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) は、蛋白のシトルリン化酵素である Peptidyl arginine deaminase (PAD) を発現し、ヒト由来の α -エノラーゼやフィブリノーゲンをシトルリン化すると報告されている¹⁴⁾。

正常の滑膜ではシトルリン化蛋白は存在せず、RA 滑膜でのシトルリン化蛋白の出現は病的な意義がある。機械的なストレスや感染等により関節内滑膜組織で蛋白のシトルリン化が誘導されると、ACPA が結合して免疫複合体を形成し、補体系の活性化や Fc 受容体を介したマクロファージからの TNF- α 産生などにより関節炎が惹起されると考えられる。一度関節炎が起こるとシトルリン化蛋白が関節内に蓄積し、炎症が持続すると想定される(図)。

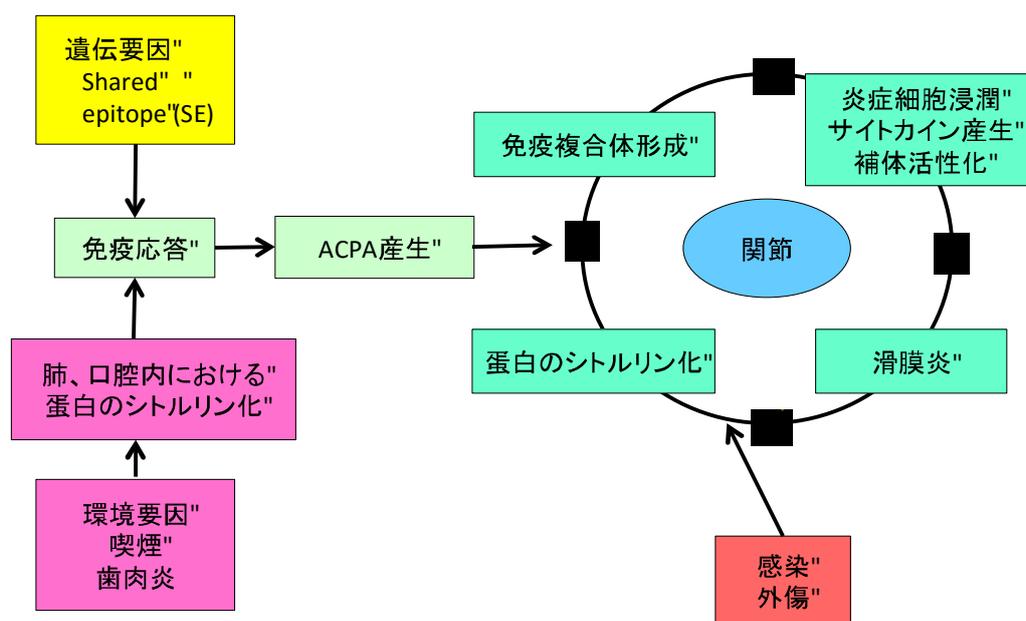


図."ACPAによるRA発症仮説

動物モデルにおいて、ACPA としてシトルリン化フィブリノーゲンに対するモノクローナル抗体をマウスに投与した実験では、ACPA 投与によりコラーゲン関節炎の増悪が認められた。しかし、ACPA 投与のみでは関節炎の誘導能はなく関節炎誘導後においてのみ増悪効果が現れる事より、関節炎の発症には ACPA の存在に加えて、関節内でのシトルリン化蛋白の誘導が必要である事が示唆された¹⁵⁾。

2. ACPA の臨床的意義

1) 診断

ACPA の診断的意義は高く、感度はリウマトイド因子(Rheumatoid Factor: RF)とほぼ同様の 70-80%、特異度は RF より高く 90-98%とされる。ただし、早期 RA では感度は 50-70%である¹⁶⁾。

2010 年に改訂された ACR/EULAR の RA 分類基準は早期診断を目的としており、関節症状の分布と数、血清学的因子、炎症反応の有無、滑膜炎の持続期間の 4 項目で 10 点満点となるようスコアを算出する¹⁾。ACPA 高力価の場合は 3 点が付与されており(6 点以上で RA と診断)、診断において ACPA 陽性が重要視されている。一方、血清学的因子が陰性の場合罹患小関節が 11 ヶ所以上なければ、RA の診断には至らず、感度が低下する可能性が指摘されている。日本リウマチ学会が中心となって行った 2010 年 RA 新分類基準の検証のうち、REAL コホートにおける検証では発症 1 年未満で 1987 年の分類基準を満たす、疾患修飾性抗リウマチ薬未使用 RA93 例を新分類基準に当てはめると、20 例(21.5%)が新分類基準を満たさず、このうち 19 例(95%、全体の 20.4%)で血清学的因子が陰性であったと報告された¹⁷⁾。

ACPA 陽性 RA では ACPA 陰性 RA に比べ、関節炎がより重症で、組織学的にも滑膜に浸潤しているリンパ球数がより多い¹⁸⁾。また ACPA 陽性 RA では虚血性心疾患や肺病変を合併しやすいと報告されている^{19, 20)}。

2) 発症予測及び関節破壊予測

RA 発症の予測因子として ACPA は利用出来る。スウェーデンの献血者で RA を発症した 83 例において発症前の保存血清を検討した所、ACPA 陽性率は発症前で 33.7%であり、健常対象の 1.8%と比較し有意に高かったと報告された。発症が近づく程 ACPA の陽性率は高頻度になり、抗体価も上昇した⁹⁾。

ACPA 陽性は予後予測にも有用で、ACPA 陽性 RA は ACPA 陰性 RA に比し、骨破壊が強くと報告されている²¹⁾。

3) 治療

診断未確定関節炎に対してメトトレキサート(Methotrexate: MTX)を投与した PROMPT 試験では、ACPA 陽性例はプラセボ群と比較して MTX 群で RA への進展が抑制され、また関節破壊の進行も抑えられた。一方、ACPA 陰性例では RA への進展抑制に関して MTX 群とプラセボ群で有意差がなかった²²⁾。

T 細胞の共刺激を阻害する生物学的製剤であるアバタセプトでは、ACPA 陽性例でより治療に反応しやすいとの報告がある²³⁾。また、TNF 阻害薬抵抗性の RA では ACPA 陽性例の方が、B 細胞の表面分子 CD20 に対する抗体製剤であるリツキシマブに対する治療反応性が優っていたと報

告されている²⁴⁾。BeSt スタディのサブ解析において、ACPA 陽性例は陰性例と比較し、治療反応性は同等だったが、治療を単剤療法で開始した場合、より骨破壊が進行し、一方最初から多剤併用等強力な治療を行った場合、ACPA 陽性例でも陰性例と同様に骨破壊進行が抑制出来た、と報告されている²⁵⁾。

治療による ACPA 抗体価の変動については一定の見解が得られていない。

3. ACPA 陰性 RA は異なるサブセットである

前述のごとく、ACPA 陰性 RA では遺伝要因として SE との関連を認めず、欧米では HLA-DR3、日本人では HLA-DRB1*12:01、*09:01、DR8/DR8、DR14 などとの関連を認めている²⁶⁾。また、環境要因として喫煙の影響を受けない。治療では ACPA 陰性 RA は ACPA 陽性 RA に比してドラッグフリー寛解になりやすいと報告されている²⁷⁾。

以上のごとく、ACPA 陽性 RA と陰性 RA は遺伝要因、環境要因、治療反応性、関節破壊進行等において異なり、RA における 2 つの異なるサブセットと考えるのが妥当である。ACPA 陰性 RA については新しい分類基準および治療指針の作成を考慮すべき、とする意見もある。新しい ACPA 陰性 RA 診断基準作成の際、臨床的には RA だが 2010 年 RA 分類基準では RA と分類されない ACPA 陰性関節炎も RA と診断可能となる事が理想的である。

おわりに

ACPA は RA の病因として関与している可能性が高く、また ACPA 陽性 RA と陰性 RA は 2 つの異なるサブセットと考えられる事を述べた。今後、RA の滑膜組織におけるシトルリン化蛋白誘導の機序等の詳細が明らかになれば、さらに病態の理解が進み、治療の進歩が期待出来る。

文献

- 1) Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62:2569-81.
- 2) Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50:380-6.
- 3) Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101:273-81.
- 4) Vossenaar ER, Despres N, Lapointe E, et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res Ther* 2004;6:R142-50.
- 5) Kinloch A, Tatzler V, Wait R, et al. Identification of citrullinated alpha-enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R1421-9.

- 6) Shoda H, Fujio K, Shibuya M, et al. Detection of autoantibodies to citrullinated BiP in rheumatoid arthritis patients and pro-inflammatory role of citrullinated BiP in collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R191.
- 7) Willemze A, Bohringer S, Knevel R, et al. The ACPA recognition profile and subgrouping of ACPA-positive RA patients. *Ann Rheum Dis* 2012;71:268-74.
- 8) Ioan-Facsinay A, Willemze A, Robinson DB, et al. Marked differences in fine specificity and isotype usage of the anti-citrullinated protein antibody in health and disease. *Arthritis Rheum* 2008;58:3000-8.
- 9) Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:2741-9.
- 10) Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30:1205-13.
- 11) Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005;52:3433-8.
- 12) Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006;54:38-46.
- 13) Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, et al. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2007;80:867-75.
- 14) Kinloch AJ, Alzabin S, Brintnell W, et al. Immunization with *Porphyromonas gingivalis* enolase induces autoimmunity to mammalian alpha-enolase and arthritis in DR4-IE-transgenic mice. *Arthritis Rheum* 2011;63:3818-23.
- 15) Kuhn KA, Kulik L, Tomooka B, et al. Antibodies against citrullinated proteins enhance tissue injury in experimental autoimmune arthritis. *J Clin Invest* 2006;116:961-73.
- 16) van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum* 2004;50:709-15.
- 17) 針谷 正, 野々村 美, 酒井 良. 【2010 関節リウマチ新分類基準を検証する】 REAL コホートにおける検証. *分子リウマチ治療* 2011;4:193-196.
- 18) van Oosterhout M, Bajema I, Levarht EW, et al. Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:53-60.
- 19) Lopez-Longo FJ, Oliver-Minarro D, de la Torre I, et al. Association between anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and ischemic heart disease in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61:419-24.

- 20) Aubart F, Crestani B, Nicaise-Roland P, et al. High levels of anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies are associated with co-occurrence of pulmonary diseases with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2011;38:979-82.
- 21) Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43:155-63.
- 22) van Dongen H, van Aken J, Lard LR, et al. Efficacy of methotrexate treatment in patients with probable rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2007;56:1424-32.
- 23) Gottenberg JE, Ravaud P, Cantagrel A, et al. Positivity for anti-cyclic citrullinated peptide is associated with a better response to abatacept: data from the 'Orencia and Rheumatoid Arthritis' registry. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1815-9.
- 24) Sellam J, Hendel-Chavez H, Rouanet S, et al. B cell activation biomarkers as predictive factors for the response to rituximab in rheumatoid arthritis: a six-month, national, multicenter, open-label study. *Arthritis Rheum* 2011;63:933-8.
- 25) van den Broek M, Dirven L, Klarenbeek NB, et al. The association of treatment response and joint damage with ACPA-status in recent-onset RA: a subanalysis of the 8-year follow-up of the BeSt study. *Ann Rheum Dis* 2012;71:245-8.
- 26) Terao C, Ohmura K, Kochi Y, et al. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects. *Ann Rheum Dis* 2011;70:2134-9.
- 27) van der Woude D, Young A, Jayakumar K, et al. Prevalence of and predictive factors for sustained disease-modifying antirheumatic drug-free remission in rheumatoid arthritis: results from two large early arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* 2009;60:2262-71.