

# リウマトイド因子の病因的意義

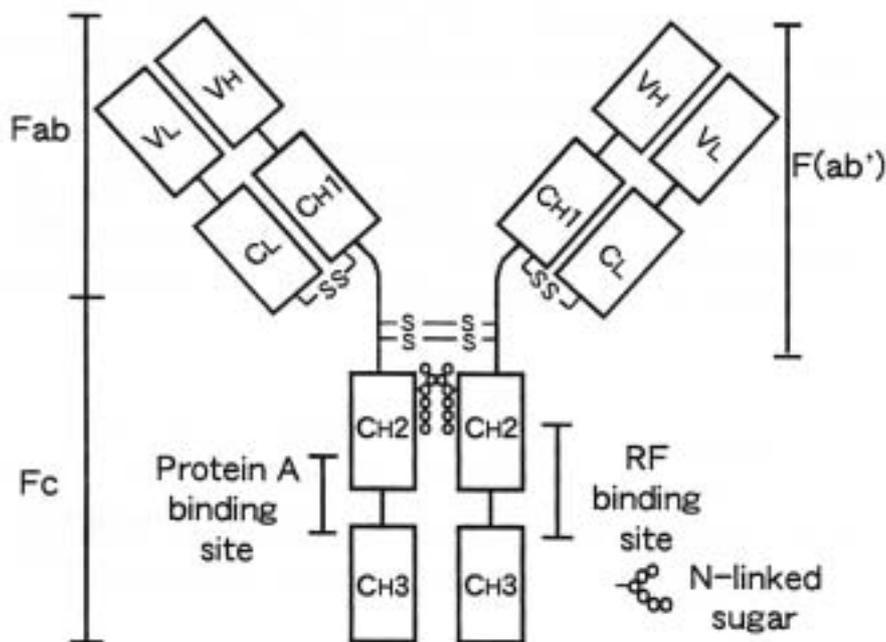
宮村 知也 国立病院九州医療センター 膠原病内科

(2003年、第4回博多リウマチセミナー)

## はじめに

リウマトイド因子(rheumatoid factor: RF)はその存在が認められてすでに半世紀以上経過しているが、臨床免疫学の分野で絶えず新しい問題を提起し続けている自己抗体である。RFは自己IgGのFc部分に対する自己抗体であり、他の自己抗体と同様に種を越えた異種IgG抗原に結合能を有する。RFの最初の発見は、関節リウマチ(rheumatoid arthritis: RA)の患者血清中に、家兎ガンマグロブリンで感作されたヒツジ赤血球を凝集する因子が認められたことに端を発する(Waaler 1940)。その後Roseらによりこの凝集反応が再確認され、RA診断のルーチン検査(Waaler-Rose反応)として用いられてきた。

RFはRAも患者の80%に検出され、当初は主としてRAに認められる因子としてリウマトイド因子と命名された。しかし、その後の研究でRFは必ずしもRAに特異的なものではなく、RA以外の膠原病や、感染症、腫瘍、時に健常人の血清にも存在することが明らかになった。現時点ではRFにはmonoreactiveなものと同様にpolyreactiveなものがあり、前者はRAにおける関節炎の重症遷延化に関係し、後者は健常人における自然自己抗体であると考えられている。



ヒトIgGの構造

今回は、RF検査法の進歩、およびその病態における意義について述べる。

## 1. RF検査法の進歩

RFの検査法は近年急速な進歩をとげている。初期の定性的凝集反応から、光散乱分析による定量的凝集反応へと進み、さらに酵素免疫測定法(ELISA)によりクラス別にRFを定量的に測定することが可能となった。

### 1) 定性的凝集反応(RAテスト)

ヒトIgG分画(Cohn fraction II)を吸着させたポリスチレンラテックス粒子と被検血清との凝集の有無をスライドガラス上で判定する(2+, +, ±, -)。特異性に難点があるが、操作が簡便でありスクリーニングに適している。

### 2) 半定量的凝集反応(RAHAテスト、RAPAテスト、LFT)

これらの検査では、被検血清を連続的に2倍希釈したものと抗原感作粒子とを反応させ、凝集の有無を肉眼的に観察し、凝集を示した被検血清の最高希釈倍率を凝集価とする。抗原感作粒子としては、RAHA (rheumatoid

arthritis hemagglutination) テストでは家兎ガンマグロブリンを結合させたヒツジ赤血球を用い、これが Waaler-Rose テストとして知られるものである。RAPA (rheumatoid arthritis particle agglutination) テストではヒツジ赤血球のかわりにゼラチン粒子、ラテックス凝集テスト (latex fixation test: LET) ではラテックス粒子を用いる。いずれの方法も抗原として家兎 IgG を用いているため、ヒト IgG を用いる RA テストに比し感度は低いが、逆に、RA に対する特異性は高くなる。これらの方法では、陽性の被検血清において濃度の濃い(希釈倍数の少ない)領域で凝集の認められない、いわゆる「プロゾーン現象」があり注意すべきである。この半定量法により大まかな抗体力価の比較が可能となり、臨床経過の観察などに用いられてきた。

### 3) 定量法

#### (1) 凝集反応(免疫比濁法、免疫比濁法)

RF と抗原の反応を光散乱分析により定量化したものである。免疫比濁法 (turbidimetry immunoassay) は、凝集ヒト IgG と RF の沈降反応による濁度の変化を透過光の強度変化として測定するものである。免疫比濁法 (nephelometry immunoassay) は、IgG 感作ラテックス微粒子と RF により形成された粗大な凝集塊にレーザービームを照射し、散乱した光の強度を測定するものである。いずれの方法でも、WHO の標準血清に準拠した血清をリファレンスとした標準曲線から力価 (IU/ml) を算出する。この力価は客観的な連続変量であり、半定量法で得られる力価に比べ、より微量な差をとらえることができる。

以上述べた方法(凝集反応)で検出される RF は IgG-RF を表している。

#### (2) 酵素免疫測定法 (ELISA)

免疫グロブリンクラス別に RF を測定する場合に用いられる。ポリスチレンマイクロタイタープレートに抗原を固相化し、被検血清を反応させる。抗原として、ヒト IgG-Fc 部分または家兎 IgG が用いられる。固相抗原に結合した RF を、免疫グロブリンクラスに特異的な酵素標識 2 次抗体と酵素基質とで検出する。本法では標準血清をリファレンスとした定量的測定が可能であるが、現時点では各クラス毎の RF 濃度が明らかにされた標準血清の入手が困難であり、絶対的な定量化はなされていない。

RF の対応抗原が IgG-Fc であることから、IgG-RF の測定系にはいくつかの間違点がある。まず、RF が 2 次抗体の Fc 部分に結合することを避けるため、2 次抗体は Fc 部分を除いた F(ab<sup>3</sup>)<sub>2</sub> 分画でなければならない。また、被検血清中の IgM-RF が血清中の IgG 分子と抗原抗体複合物を形成していると、固相抗原に結合したのち、RF 活性を持たない結合 IgG が一緒に検出される危険性がある。これを避けるために、被検血清中の IgM-RF の活性を阻害する工夫(還元アルキル化やペプシン処理)がなされている。

#### (3) IgG の糖鎖構造異常と RF

IgG は 2 本の H 鎖と 2 本の L 鎖より構成され、これら 4 本のポリペプチド鎖は互いに S-S 結合で結ばれている。H 鎖は一つの可変領域 (VH) と三つの定常領域 (CH1、CH2、CH3) から構成されている。糖鎖は CH2 領域の 297 番目のアスパラギン残基に結合している。この糖鎖は複合型 2 本鎖であり、末端に 2 つのガラクトースを有する。RA 患者血清 IgG では、末端のガラクトースを 2 分子とも欠如した IgG の比率が増大している。この増加の機序として、B 細胞におけるガラクトース転移酵素の活性低下が考えられている。

血清 IgG の糖鎖のガラクトース欠損という構造異常が RA の発症過程にどう関与しているかは不明である。RF に認識する抗原エピトープ (IgG-Fc の CH2-CH3) と、糖鎖の結合部位の位置関係から、ガラクトース欠損 IgG の Fc 部分の抗原性の変化が RF 産生の刺激となっている可能性がある。しかし、これまでに RF がガラクトース欠損 IgG に対してより強く結合するという証拠は得られていない。ただし、IgG サブクラス別にみると、糖鎖欠損 IgG3 は欠損のない IgG3 に比し、有意に強い RF 結合性を示すようである。このことから、滑膜組織では糖鎖構造異常を有する IgG3 が大量に産生され、これを本来の抗原とする RF が産生されている可能性も考えられている。

近年、ガラクトース欠損 IgG を固相化して、この抗原を認識する抗体の検出キットが開発されている。測定原理は、抗ガラクトース欠損 IgG 抗体分子上の糖鎖のガラクトースと結合するレクチンを用いる点であり、すべての免疫グロブリンクラスの抗体を検出する。この方法で検出される抗体の RA における頻度は、従来の IgM-RF の陽性率よりも高い。

## 2. RFと病態

### 1) 健常者におけるRF

RFは健常者でも低レベルながら存在する。LFT法では全人口の約3%に検出され、加齢とともに陽性率は増加し、75歳以上では約25%が陽性になる。健常者の内でRFが高力価陽性である者は、将来RAを発症する確率が高いと言われている。RF陽性健常者19名を追跡した英国の調査では5年間に7名がRAを発症した。Pima Indian 2712名を19年間追跡した調査では、RAHAテストの力価とRAの発症率の間に正の相関が見られた。これによると1000人あたりの年間RA発症率は、RF力価<1:64では10人未満、1:512～1:1024では約35人、 $\geq$ 1:2048では約75人であった。ELISAなどの高感度測定法で検出されるようなレベルの血清RFは健常人でも高頻度に認められる。このようなRFは、免疫複合体の除去や抗原提示といった、正常のホメオスタシス維持に関与していると推察される。

### 2) 関節リウマチとRF

RFはRAにおける代表的自己抗体である。古典的な半定量的検査法ではRAの約80%がRF陽性である。つまり、RFはRAの診断基準(ACR, 1987)の7項目の1つに過ぎず、この4項目以上という基準を満たすRA症例の約20%はRF陰性ということになる。RF陰性のRA患者はseronegative RAと呼ばれ、その約半数の血清中には、自己IgGでマスクされたIgM-RFや、ELISAで初めて検出されるRFが見いだされる。seropositive RAはseronegative RAに比べて、より進行性で活動性の高い関節病変を有し、より高頻度に皮下結節、血管炎、下肢の潰瘍、多発単神経炎などの関節外症状を有し、また、より高頻度にHLA-DR4やHLA-DRIと相関する。seropositive RAにおいて、RAの活動性とRF力価との相関については議論のあるところである。しかし、定量的な検査法で測定されたRFに関する限り、その力価はRAの活動性と相関するようである。ただし、遅効性抗リウマチ薬(DMARDs)の治療目標にRF陰性化を設定することは誤りである。

免疫グロブリンクラス別RFとRAの病態との関連も知られるようになってきている。IgG-RFは関節外症状を持つRAで高値例が多い。疾患活動性との相関もIgG-RFで認められる。IgA-RFはIgA腎症を伴うRAやシェーグレン症候群で高値をとる。IgA-RF力価がerosionの重症変と相関するという報告もある。IgE-RFは特に血管炎を合併したRAに高頻度に見いだされる。

膠原病におけるRFの陽性率

疾患	凝集法			ELISA	
	RAテスト	RAHA	IgM-RF	IgA-RF	IgG-RF
関節リウマチ	70	89	63	60	41
SLE	29	32	22	11	18
強皮症	50	42	30	25	12
多発性筋炎/皮膚筋炎	NT	37	51	31	27
混合性結合組織病	NT	59	69	67	25
シェーグレン症候群	89	NT	43	33	36
ベーチェット病	NT	21	21	10	5
健常人	0.3	NT	3	2	6

### 3) 他の疾患とRF

RA以外の膠原病でもRFは検出される。なかでもシェーグレン症候群や強皮症では頻度が高い。その他、悪性腫瘍、感染症、肝疾患などの疾患でもRFが認められる。また、マクログロブリン血症やクリオグロブリン血症のパラプロテインの10%はRF活性を持っている。しかしこれらの疾患ではRFが血中に検出されても、RAと異なり慢性破壊的関節炎をきたすことはほとんどない。

## 3. RFの病因的意義

## 1) polyreactive RF と monoreactive RF

RA 患者滑膜内の B 細胞は、IgG-Fc としか反応しない高親和性の monoreactive RF を産生する。この RF は関節液中に高濃度で検出され、主としてヒト IgG-Fc、特に IgG3-Fc に親和性が高く、また特異的に結合する。

一方、RA 患者の血中に存在する RF は polyreactive なものも多く、ヒトよりウサギ IgG の Fc に親和性が高く、また、IgG の中でも IgG1、IgG2、IgG4 と結合し、IgG3 とは弱い結合しか示さないものが多い。健常人血中に検出される RF もまた polyreactive であり、他の自己抗原や外来抗原とも反応する。これらは抗原に対する親和性も低く、いわゆる自然自己抗体と考えられる。パチプロテインの RF もこの範疇に入る。これらの血中 RF やパラプロテイン RF は IgG 分子の CH2 と CH3 のドメイン間の裂け目に結合すると考えられている。この部位はブドウ球菌の Fc 結合蛋白(プロテイン A)の結合部位とほぼ同一である。

RFのreactivityの多様性		
	monoreactive RF	polyreactive RF
対応抗原	ヒトIgG (主にIgG3)	ウサギ、ヒトIgG (主にIgG1、2、4) DNA、サイログロブリン インスリン テタヌストキソイド、LPS
Igクラス	主にIgG(>IgM)	主にIgM(>IgG)
局在	主に関節液	主に血液、パラプロテイン
補体活性化能	強い	弱い
抗原親和性	高い	低い
関連する臨床症状	関節外症状 進行性で予後不良	軽症
IgG可変部遺伝子	主にVHV	主にVHIII

## 2) RF の病原性

RF は RA 患者でもっとも高頻度に検出されるが、RF そのものが RA 滑膜炎の原因となることはない。RA 患者から採取した RF 含有血液を健常ボランティアに輸血した実験において、recipient に関節炎の発症はみられなかった。RF 産生ハイブリドーマを免疫不全マウスに移入した実験でも関節炎の発症はみられていない。これらのことから、RF それ自身が関節炎の原因となることはないと考えられ、むしろ、RF は関節炎の重症化と遷延化に関与している。

RA の関節液では多量の免疫複合体が存在し、それと逆比例して低補体価が認められる。RA 滑膜では浸潤 B 細胞により高親和性の IgG-RF が多量に産生され、これらの IgG-RF は容易に自己凝集を起こし、補体を活性化する。その結果、好中球や単球からライゾチーム酵素や活性酸素などの炎症性メディエーターの放出が起こり、関節の軟骨、骨の破壊へと進展していく。このような機序を介して、RF は関節炎の重症化と遷延化に関与する。事象、RA モデルマウスに RA 患者由来の高親和性 RF を投与した実験において、関節炎の発症率の上昇や症状の悪化が観察されている。

### 【文献】

- 1) Schrohenloher RF Koopmann WL: Rheumatoid factor. McCarty DJ and Koopmann WJ ed. Arthritis and Allied Conditions (12th ed), Lea & Fablinger, Philadelphia, 1993. P861.
- 2) 小林茂人, 他: リウマトイド因子の検出法と多様性. 検査と技術 16: 1422, 1988.
- 3) del Puente A, et al: The incidence of rheumatoid arthritis is predicted by rheumatoid factor titer in a longitudinal population study. Arthritis Rheum 31: 1239, 1988.
- 4) Ezaki I, et al: Human monoclonal rheumatoid factors augment arthritis in mice by activation of T cell. Clin Exp Immunol 104: 474, 1996.