

平成16年度東京都衛生検査所精度管理調査におけるリウマチ因子の調査結果

大石 向江*, 三栗谷 久敏*, 橋本 秀樹*, 大谷 幸子*,
牛尾 房雄*, 山田 澄夫*, 高木 康**, 渡辺 清明***

The Result of the External Quality Assessment in 2004 for Rheumatoid Factor on the Registered Independent Clinical Laboratories in Tokyo

Hisae OHISHI*, Hisatoshi MIKURIYA*, Hideki HASHIMOTO*,
Sachiko OHTANI*, Fusao USHIO*, Sumio YAMADA*,
Yasushi TAKAGI**, and Kiyooki WATANABE***

Keywords: リウマチ因子 rheumatoid factor(RF), 東京都衛生検査所 registered independent clinical laboratory in Tokyo,
免疫比濁法 immunoturbidimetry, ラテックス凝集法 latex agglutination

緒言

リウマチ因子(以下RFと略)は、抗核抗体、各種臓器特異的自己抗体等と同様、自己抗体の一つであり、1940年に発見されて以来、関節リウマチ(以下RAと略)の診断には欠かせない指標の一つである¹⁾。しかし、本因子はRAに高頻度に陽性となるもののRAに特異的でないこと、IgGのFc部分を認識するIgM型自己抗体とされていたが、IgG型抗体やIgA型抗体が存在することなど他の自己抗体にはみられない特異な性質を持っている^{2, 3)}。さらに近年、RA患者血清中のIgGは健康人と比較してFc部分に結合する糖鎖抗原のうち末端のガラクトースが欠損または著明に減少していることが明らかとなり、このようなIgGの糖鎖異常がRFの産生に関与しているのではないかと考えられている。

RFの測定法として、古くから使用されたWaller-Rose反応やHeller変法はその手技が煩雑なために現在ではほとんど用いられず、間接凝集反応による定性法や半定量法、免疫比濁法、ラテックス凝集法等の定量法が使用されている。これらのうち臨床現場で多く用いられている定量法は、測定原理・測定試薬などにより測定値のばらつきが大きく、測定値の互換性が乏しいのが現状で、測定方法の標準化が望まれている。さらに、近年では抗ガラクトース欠損IgG抗体やIgG型RFを測定する試薬も開発され⁴⁾、これらについても臨床診断的意義を高めるために測定法の標準化が指摘されている。

東京都では、都内の衛生検査所を対象とした外部精度管理調査を昭和57年度より実施しているが、RFを対象項目としたのは初年度のみであった⁵⁾。その後、RF検査の重

要性は年々高くなってきているため、衛生検査所におけるRF検査の実施状況を把握すべく、平成16年度第23回調査に調査対象項目として加えたので、その結果を報告する。

調査方法

1. 調査対象衛生検査所

第23回東京都衛生検査所精度管理調査において、オープン調査に参加した衛生検査所49施設のうち、日常、RF検査を実施している衛生検査所28施設を対象とした。

2. 調査内容

1) **試料の調製:** 成人プール血清を用いて、RFの低濃度試料(30U/ml程度)及び高濃度試料(220U/ml程度)を作製し、調査用試料とした。これらの試料の濃度は、昭和大学病院検査部において、ラテックス凝集反応により測定した。

2) **調査方法:** オープン調査法により、調査の試料配付日に低濃度試料(試料1)及び高濃度試料(試料3)を、その4日後に再び低濃度試料(試料2)及び高濃度試料(試料4)を配付し、定量法での回答を求めた。

3) **解析方法:** 参加した衛生検査所からの報告に基づき、各濃度試料の日差変動を確認するとともに、平均値、標準偏差及び変動係数を求め、結果の解析を行った。また、各衛生検査所が設定している基準値についても報告を求めた。なお、他の衛生検査所に検査を委託している検査所についても、日常の検査実態を把握するため、集計の対象とした。

* 東京都健康安全研究センター精度管理室 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjyuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都衛生検査所精度管理検討委員会専門委員(昭和大学医学部)

*** 東京都衛生検査所精度管理検討委員会専門委員長(慶応大学医学部)

結 果

1. 測定法及び基準値

今回の精度管理調査に参加した衛生検査所 28 施設において、用いられた測定法と測定試薬、機器及び衛生検査所が採用する基準値を表 1 に示した。28 施設のうち 16 施設が自施設内で検査を実施していたが、残る 12 施設は他の衛生検査所へ外部委託していた。検査は免疫比濁法（9 施設）及びラテックス凝集法（19 施設）に二分された。免疫比濁法では 2 社の試薬が用いられており、6 施設は A 社、3 施設は B 社であった。一方、ラテックス凝集法は 5 社の試薬が利用され、6 施設は A 社、9 施設は C 社、2 施設は D 社、残り 2 施設は E あるいは F 社であった。測定機器は

両法において日本電子、オリンパスまたは日立の分析機が使用されていた。RF 検査の基準値は、50 U/ml に設定していた 1 施設を除いて 10~20 U/ml の範囲内に設定されていた。最も多い基準値は 15 U/ml で 14 施設、次いで 20 U/ml の 6 施設であった。

2. 低濃度及び高濃度試料の測定法別評価

低濃度試料（試料 1 及び 2）と高濃度試料（試料 3 及び 4）について実施された測定法別及び試薬別解析結果を表 2 及び表 3 に示した。日差変動は免疫比濁法及びラテックス凝集法ともみられなかった。

表1. リウマチ因子の検査を実施した衛生検査所数の測定試薬別・機器別分類及び基準値

	試薬製造会社	測定機器	検査所数	外部委託した検査所数	基準値 (U/ml)
免疫比濁法	C	日立7600	3	1	15
		日本電子JCA-BM2250	3	0	15
	D	オリンパスAU600	1	1	10
		日本電子JCA-BM12	1	0	50
		日立7700	1	1	15
	ラテックス凝集法	A	日本電子JCA-BM1650	1	0
日本電子JCA-BM2250			1	0	20
B		日立7150	1	0	18
C		オリンパスAU600	6	4	15
E		日立7600	4	3	16
		オリンパスAU5400	3	2	20
		日本電子JCA-BM12	1	0	15
		日本電子JCA-BM9030	1	0	20
F		日立7600	1	0	20
計				28	12

表2. リウマチ因子 (RF: U/ml) の測定試薬別平均値、標準偏差及び変動係数 (低濃度試料: 30U/ml)

測定法	試薬	検査所数	試料1					試料2				
			最小値	最大値	平均値	標準偏差	変動係数(%)	最小値	最大値	平均値	標準偏差	変動係数(%)
免疫比濁法	全体	9	14	35	27.2	5.8	21.4	13	36	26.7	6.1	22.9
	A	6	14	28	25.0	5.4	21.8	13	28	24.2	5.5	22.9
	B	3	27	35	31.7	4.2	13.1	28	36	31.7	4.0	12.8
ラテックス凝集法	全体	19	23	41	31.6	6.1	19.3	23	42	32.3	6.4	19.7
	A	6	38	41	39.2	1.0	2.5	39	42	40.2	1.0	2.4
	C	9	23	28	26.2	1.4	5.3	23	31	26.9	2.1	8.0
	D	2	32	36	34.0	2.8	8.3	32	37	34.5	3.5	10.2
	E	1	—	—	27.0	—	—	—	—	27.0	—	—
	F	1	—	—	34.0	—	—	—	—	34.0	—	—

表3. リウマチ因子(RF: U/ml)の測定試薬別平均値, 標準偏差及び変動係数(高濃度試料: 220 U/ml)

測定法	試薬	検査 所数	試料3					試料4				
			最小値	最大値	平均値	標準偏差	変動係 数(%)	最小値	最大値	平均値	標準偏差	変動係 数(%)
免疫比濁法	全体	9	185	206	191.7	7.8	4.1	185	207	191.2	8.0	4.2
	A	6	185	192	187.8	2.3	1.2	185	190	187.3	2.1	1.1
	B	3	188	206	199.3	9.9	4.9	187	207	199.0	10.6	5.3
ラテックス凝集法	全体	19	163	268	228.9	31.8	13.9	170	277	230.7	32.6	14.1
	A	6	242	268	262.2	10.0	3.8	239	275	265.0	13.0	4.9
	C	9	163	236	208.6	24.4	11.7	170	234	208.9	20.5	9.8
	D	2	223	266	244.5	30.4	12.4	225	277	251.0	36.8	14.6
	E	1	—	—	211	—	—	—	—	212.0	—	—
	F	1	—	—	200	—	—	—	—	199.0	—	—

低濃度試料において、両法により得られた各平均値は調製された 30 U/ml とよく一致する結果であった。しかし、免疫比濁法では変動係数が大きく、B 社の試薬では 13% 前後であり、A 社の試薬では調製値から低値に乖離し、変動係数は 20% を超えていた。一方、ラテックス凝集法では、変動係数を求めることができた A、C 及び D 社の試薬では 10% 以下であり、免疫比濁法との差を認めた。しかし、C 及び E 社の試薬は低値に、A、D 及び F 社の試薬は高値を示す傾向を示した。特に、A 社の試薬の高値への乖離が顕著であった。

高濃度試料では、低濃度試料の場合と比較して、いずれの測定法でも試薬に関連なく変動係数が小さく、バラツキが小さい結果であった。しかし、免疫比濁法では、ラテックス凝集法より低値を示す傾向が認められた。また、C、E 及び F 社の試薬を用いたラテックス凝集法では、他の 2 社の試薬と比較して低値を示した。

考 察

RF の検査法としては、定性法をはじめ、半定量法、定量法が開発されているが、現在では定性、半定量法から定量法への移行が進んでいる。昭和 57 年度に実施された第 1 回東京都衛生検査所精度管理調査でも 46 検査所の検査法はラテックス受身凝集法 (43 検査所) 及び受身凝集法 (3 検査所) による定性法であったが、今回の調査では、28 検査所すべてが定量法による検査を実施していた。

定量法としては、免疫比濁法、免疫比濁法、ラテックス比濁法、ラテックス比濁法等があり、それらを原理とする複数の検査試薬が開発されている。これら定量法は医療現場で RA の早期診断の有用な指標の一つとして汎用されているが、東京都内の衛生検査所での使用実績は明らかではなかった。そこで今回、RF を調査項目に加え、低濃度 (30 U/ml) 及び高濃度 (220 U/ml) 試料を用いたオープン調査を実施した。本調査参加施設 49 検査所のうち 28 検査所が RF を検査対象としており、そのうちの 16 施設が自施設内で検査を実施していた。測定法は、変性 γ グロブリンと患者血清中の RF が反応し、生成した抗原抗体結合物の濁度を直接測定する免疫比濁法とラテックス粒子を用いて

測定するラテックス凝集法の 2 法に大別され、後者を採用する検査所 (19 施設) の方が多かった。同様の傾向は日本リウマチ学会教育施設においても認められており、衛生検査所においてもラテックス凝集法が定量法の主流を占めていると推察される。

低濃度試料と高濃度試料における両法の測定値を試薬別に解析した結果、低濃度試料の免疫比濁法による測定値の変動係数が A 社及び B 社の試薬とも大きく、A 社の試薬では 20% を超え、B 社でも 13% であった。この場合 A 社の試薬は低値に、B 社の試薬は高値に乖離する傾向が認められた。一方、高濃度試料における免疫比濁法及び両試料におけるラテックス凝集法の各試薬の変動係数は小さい結果であった。このことは、日常の免疫比濁法を用いた RF の内部精度管理において低濃度域の管理には十分な注意を払う必要があることを示唆するものである。しかし、両濃度試料におけるラテックス凝集法の試薬別測定値の変動係数は小さかったにもかかわらず、測定法としては低濃度試料での変動係数は 19.3 及び 19.7%、高濃度試料では 13.9 及び 14.1% と高く、用いた試薬による差は大きいことが認められた。同様の成績は、吉田らが全国 12 施設の患者のプール血清を用いて実施した、試薬製造会社の社内標準品による検討結果でも認められている⁸⁾。これらの成績は、RF に関する精度管理では施設間差よりむしろ試薬間差が大きいことを強く示すものであり、施設間差の確認と改善には標準化の推進について検討が必要である。

各衛生検査所で設定している基準値は、1 検査所が 50 U/ml を設定していた以外は、すべて 20 U/ml 以下であり、両法において 15 U/ml を設定している検査所が最も多かった。日本リウマチ学会教育施設においても 5 U/ml から 40 U/ml まで幅広く分布し、本調査と同様に 10、15、20 U/ml が高頻度基準値であり、その多くは 15 U/ml を設定している。今回の調査で明らかとなった免疫比濁法を用いて基準値を 50 U/ml とした検査所では、低濃度試料が「陰性」と判定される結果であり、「陽性」を「陰性」と誤る危険性がある。また、多くの検査所では試薬製造会社の指定値を基準値としていることが明らかとなり、これは RF を「濃度」として検査依頼者に報告している現在、測定法や試薬

の違いによる異なった基準値による RA 患者の早期診断への影響も考えられる。こうした観点からも、RF 検査における標準品の作製とそれに基づく測定法や試薬の補正による RF 検査の標準化は大きな検討課題であろう。

今回の調査で明らかとなった RF 検査における顕著な試薬間差は、日本医師会での昭和 63 年度から平成 9 年度までの精度管理調査⁶⁾や、日本衛生検査所協会の平成 15 年度及び 16 年度⁷⁾の精度管理調査でも認められている。試薬間差是正に関しては、臨床病理学会臨床免疫血清専門部会と RF 試薬製造会社からなる RF 測定改善検討会において、モノクローナル (m) RF、RF 陽性プール血清及び試薬製造の 3 社から提供を受けた WHO 標準品準拠の社内標準品に対して 12 施設で測定されたが、ラテックス比濁法、LA-NIA 法、免疫比濁法及び ECLIA 法による測定方法間での乖離と変動係数が大きく、測定系の違いが施設間差の主要原因であり、施設間差是正は困難であるとしている⁸⁾。

さらに近年、RA 患者血清中に健康人と比較して Fc 部の糖鎖にガラクトースを欠損した IgG が著明に増加していることが明らかとなり、抗ガラクトース欠損 IgG 抗体を測定する試薬も開発されている³⁾。この測定法ではレクチンを用いており、IgM 型 RF の検出系では検出され難いといわれる³⁾すべての免疫グロブリンクラスの RF を検出でき、早期 RA やセロネガティブ RA の診断等に有用^{9), 10)}であると考えられている。また、RA の治療薬がステロイド、非ステロイド抗炎症薬からメトトレキサートを中心とした免疫調整薬を使用する抗リウマチ薬を軸に展開している現在、これら抗リウマチ薬が免疫系に影響を与え、抗体価が変動することから検査感度の高い定量法の開発が望まれている。これら特異性や感度が高い方法の場合にはさらに標準化が重要であり、RF 検査における施設間差を確認できる標準品の作製とそれによる精度管理の評価が必要となってくると考えられる。

結 語

平成 16 年度第 24 回東京都衛生検査所精度管理調査で、衛生検査所におけるリウマチ因子 (RF) の検査状況をオープン方式により調査した。参加施設 49 検査所中、28 検査所が本調査に参加したが、検査はすべて定量法で実施されていた。測定法は免疫比濁法が 9 検査所、ラテックス凝集法は 19 検査所であった。免疫比濁法では 2 社、ラテックス比濁法では 5 社の試薬が使用されていた。全体の平均値は、調製された 30 及び 220 U/ml とほぼ一致していたが、試薬間での検査値のばらつきが大きかった。今回の調査から、臨床に活用するために、測定の標準化が急務であることが示唆された。

文 献

- 1) 速見尚, 吉野谷定美: 検査と技術, 24, 1051-1054, 1996.
- 2) 吉野谷定美: リウマトイド因子, 諏訪庸夫編, 広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(3), 386-389, 1999, 大阪.
- 3) 広瀬俊一: 内科Mook, 13-18, 1980.
- 4) 山田雄二, 細田哲也, 吉沢政行, 他: 基礎と臨床, 31, 81-101, 1997.
- 5) 東京都: 昭和57年度第1回東京都衛生検査所精度管理調査報告書, 1982.
- 6) 日本医師会: 昭和63年度第22回~平成9年度第31回臨床検査精度管理調査結果報告書, 1988~1997.
- 7) 日本衛生検査所協会: 平成15年度第29回~平成16年度第30回日本衛生検査所協会精度管理調査結果報告書, 2003~2004.
- 8) 吉田浩, 佐々木毅, 今福裕司, 他: 臨床病理, 52, 242, 2004.
- 9) 江崎一子, 神宮政男, 古田栄一, 他: 基礎と臨床, 3599-3606, 1996.
- 10) 内田詔爾, 西村慶太, 久我芳昭, 他: リウマチ科, 328-333, 1997.