

皮膚筋炎に合併した急性型間質性肺炎に対するシクロホスファミド療法に関する研究

宮坂信之（東京医科歯科大学医学部 膠原病・リウマチ内科）

研究要旨

難治性とされる皮膚筋炎（PM/DM）に合併した急性型の間質性肺炎（IP）に対するシクロホスファミド（CPA）療法について、レトロスペクティブに検討を行った。その結果、CPA 内服療法の 80%、CPA パルス療法の 25%が治療に反応し、転帰を考慮すると約半数に有効性が認められた。一方で、治療抵抗例も少なからず認められた。また、治療中の感染症による死亡例もみられ、感染症合併には留意する必要があると考えられた。さらに、多数例で検討すると、一次治療の方が二時治療に比べ有効性が高かった。このように、DM に合併した急性型 IP に対し、CPA 内服療法・パルス療法は有効性が認められ、一次治療について前向き試験を行う価値があると考えられるが、その有効性は CyA 療法を凌駕するほどではなかった。

A. 研究背景と目的

多発性筋炎・皮膚筋炎（PM/DM）に合併する間質性肺炎（IP）はしばしば治療抵抗性であり、生命予後を左右する重大な合併症である。我々はこれまで PM/DM に合併した IP に対するシクロスポリン A とステロイドの併用療法（CyA 療法）について検討を行ってきた^{1) 2)}。その結果、PM に伴う IP および DM の慢性型 IP には有効性が高く、有用であった。一方、DM の急性型 IP では半数が治療抵抗性を示した。DM の急性型 IP では初期治療として CyA 療法を行うことで、ステロイド剤で治療を開始した群と比較すると救命率の向上がみられたが、1 年以内に 31%の症例が死亡した。このように、DM の急性型 IP には極めて予後不良の一群が存在し、これに対してどのような治療を行っていくかが課題として残った。しかし、CyA 療法抵抗例の一部にシクロホスファミド（CPA）有効例が存在し、また CPA とステロイド剤併用（CPA 療法）により長期生存を得た症例も認められた。DM の急性型 IP に対する CPA 療法の有用性については散発的報告されているが^{3) 4)}、多数例での検討は皆無である。そこで、本病態に対する CPA

の有用性に関し、検討を行った。

B. 研究方法

平成 11 年度および平成 12 年度に施行した全国アンケート調査結果から、DM の急性型 IP に対し CPA で治療を受けた症例を抽出し、これまでと同様^{1) 2)}の方法を用いてレトロスペクティブに解析した。なお、14 日未満で治療を中止した症例は除外した。

C. 研究結果

1) 患者背景（表 1）

CPA 内服群（n=5）、CPA パルス群（n=4）、CPA 内服+パルス群（n=2）については解析に耐えうるデータが得られ、これらの症例について検討した。性別では、CPA 内服群（n=5）および CPA 内服+パルス群（n=2）は全例が女性であり、CPA パルス群（n=4）には男性 2 例が含まれていた。治療時期をみると、CPA 内服群では全てが 1 次治療であったが、パルス群および内服+パルス群では、1 次治療は 1 例のみであり、多くは 2 次治療であった。

CK/LDH 指数は CPA 内服群で 1.71 ± 1.60

と高い症例が含まれていたが、その他の症例では低く、また抗 Jo-1 抗体は全例が陰性であるなど、これまでの報告と同様、DM の急性型 IP の特徴を有していた。CPA 内服量は 50~100mg/日、CPA パルス投与量は平均 768mg であった。

また、全症例 (n=11) がステロイド剤を併用しており、9 例はステロイドパルス療法を併用していた。

2) 治療効果、および総合評価と転帰

パラメータごとの治療効果、および総合評価と転帰を示す。まず、CPA 内服群 (n=5) では、自覚症状で改善傾向を示した症例が目立ったものの、他のパラメーターでは一定の傾向は見られず、スコアの上昇・不変・増悪いずれも見られた (図 1-1)。治療 4 週後における総合評価では著効 2 例 (40%)、有効 1 例 (20%)、やや有効 1 例 (20%)、増悪 1 例 (20%) であった (図 1-2)。総合評価で著効と判定された 2 例は転帰では軽快となり、有効であった 1 例は転帰では不変であった。やや有効および増悪と判定された症例は、それぞれ IP 増悪+日和見感染症の疑い、IP 増悪により死亡した。

次に、CPA パルス群 (n=4) では、パラメーター毎の治療効果においては CPA 内服群と同様、一定の傾向はなかった (図 2-1)。総合評価では、有効 1 例 (25%)、不変 1 例 (25%)、増悪 2 例 (50%) であった (図 2-2)。転帰をみると、有効と判定された症例は軽快となり、不変と判定された症例は、その後 CPA 内服療法に変更し、軽快となった。一方、増悪と判定された 2 例は、ともに IP 増悪と日和見感染症により死亡した。このように、CPA 内服療法、CPA パルス療法ともに、有効例は半数程度に留まっていた。

CPA パルス+CPA 内服療法群 (n=2) の結果を図 3-1、図 3-2 に示す。両症例ともに各スコアは減少し、総合評価ではともに増悪と判定され、2 例とも IP 増悪により死亡した。1 例はカリニ肺炎の合併を認めた。

3) 有害事象

各治療群における有害事象を表 2 に示す。6 例 (55%) に有害事象が見られた。重篤な副作用として日和見感染症があり、すべ

ての群で認められた。全 11 例中、4 例 5 件、36% が感染症を併発し、いずれの症例も死亡した。特に CPA パルス療法を併用した、CPA パルス群およびパルス+内服群では、合計 6 例中 3 例に日和見感染がみられ、高頻度であった。

4) CPA 療法の有効性の検討

総合評価可能な症例数には限りがあったため、①アンケートで得られた症例で、データ不十分により総合評価はできなかったが、臨床経過の把握が可能な症例、②Medline および医学中央雑誌に掲載され、臨床経過が明らかな症例を加え、1 次治療群と 2 次治療群に分け、CPA 療法の有用性について検討した。

a) CPA 内服療法 (図 4-1)

CPA 内服療法群 (n=14、文献報告 5 例⁵⁾ -⁸⁾ を含む) において、1 次治療 (n=9) の反応性は、有効 4 例、無効 5 例であった。無効例のうち 3 例は CyA 療法に変更し、1 例が奏功したものの、この他の症例は全て死亡した。一方、2 次治療群 (n=5) では有効 1 例、無効 4 例であった。有効例は 1 次治療で CPA パルス療法を受けていた。無効例のうち 2 例が CyA 療法に変更し、1 例が軽快となった。しかし、他の 3 例は死亡した。

b) CPA パルス療法 (図 4-2)

CPA パルス療法群 (n=17、文献報告 6 例^{3) 4) 9) -12)} を含む) についても同様に検討した。1 次治療群 (n=4) では有効 2 例、無効 2 例であった。無効例のうち 1 例は 6 ヶ月後に変更した CPA 内服療法が奏功したが、1 例は IP 増悪と感染症により死亡した。2 次治療群 (n=13) では、有効 5 例、無効 8 例であった。2 次治療有効例のなかで、3 例が 1 次治療で CyA 療法を受けていた。一方、無効例 (n=8) では 3 例が、その後 CyA 療法を受けたが、いずれも死亡した。また、無効例のうち 2 例が日和見感染症を併発した。このように、CPA 内服療法および CPA パルス療法ともに、1 次治療群の方が有効性が高いことが判明した。

D. 考察

本研究により、DM に合併した急性型 IP

に対し、CPA 内服療法および CPA パルス療法が有効であることが明らかとなった。全例が一次治療であった CPA 内服療法群

(n=5) では、総合評価で 80% の症例が、やや有効以上と判定され、生存率は 60% であった。CPA パルス療法群 (n=4) では、やや有効以上は 25% に留まったが、生存率は 50% であり、救命という観点でみると、有効性を示したといえよう。しかし、増悪例も認められ、CPA 内服療法群では 40%、CPA パルス療法群では 50%、CPA パルス+内服療法群では 2 例ともに、転帰では死亡であった。このように、CPA 内服療法・パルス療法は、DM の急性型 IP に有効性を示した一方、無効例も約半数に認められたことから、CyA 療法を凌ぐほどの有効性が認められなかっただけでなく、本病態が極めて難治性であることがあらためて露呈された。

CPA 療法の有用性について、総合評価を解析し得た症例は少数であったが、報告例も加えることにより、多数例での検討が可能となった。その結果、CPA 内服療法、CPA パルス療法ともに、一次治療群の方が二次治療群よりも有効性が高い傾向がみられた。さらに、一次治療により救命し得た症例は CPA 内服療法群で 56%、CPA パルス群では 75% であり、各々二次治療群での 40%、38% を上回った。また、単純比較はできないが、一次治療における生存率は双方とも、前回報告したステロイド単独群²⁾を上回っており、多数例の検討でも、特に一次治療における CPA 療法の有用性が確認された。なお、一次治療における CPA パルス療法の有用性については、針谷ら¹³⁾も同様の報告をしている。しかし、これは CPA 療法に特異的なことではなく、CyA 療法でも同様の結果が得られており²⁾、今回の解析でも二次治療で CPA 療法を行い救命しえた症例の 83% は一次治療で CyA をはじめとする免疫抑制剤の投与を受けていた。また、ステロイド剤に加え免疫抑制剤を初期より併用することで IP の再燃率を減少させる効果¹⁴⁾も考慮すると、DM の急性型 IP に対しては、病初期からの免疫抑制剤投与が望ましいと考えられる。しかし、どのような症例に対しどの免疫抑制剤を併用するかという点につ

いては、アンケート調査によるレトロスペクティブな研究であること、CPA 療法対 CyA 療法の比較にターゲットを絞ってはいなかったことなど、研究デザインの制約から、検討はできなかった。この点については、今後の更なる検討を要する。

CPA 療法の副作用として、感染症と悪性腫瘍は重要である。今回検討した CPA 療法では、投与方法によらず、感染症は 36% と高頻度であるだけでなく、全例が死亡しており、注意すべき合併症と考えられた。なお、感染症の内訳は、カリニ肺炎、CMV 肺炎、真菌性肺炎であり、CyA 療法と同様の傾向であった。従って、ST 合剤等の予防投与を積極的に検討するべきであろう。なお、悪性腫瘍や出血性膀胱炎の併発は認められなかったが、特に膀胱腫瘍の発生は、今後の経過観察が必要である。

最後に、DM の急性型 IP は特徴的な臨床像を示すことが報告されており、今回の検討でも、①CK/LDH 指数は低く、②抗 Jo-1 抗体が全例陰性であり、③治療抵抗性を示すなどの共通点が認められた。従って、これらの所見は、DM に伴う急性型 IP が特異な一群であることを示唆するとともに、逆にこれらの所見が認められた場合、予後不良である可能性に留意し、治療法を慎重に選択すべきと考えられる。

E. 結論

DM に合併した IP に CPA 内服療法、CPA パルス療法は有用であった。しかし、その有効性は CyA 療法を凌駕するほどではなかった。現時点では、本病態に対しては、1 次治療として CyA 療法を行い、無効例に対して CPA 内服療法および CPA パルス療法を考慮すべきである。

【参考文献】

1) 宮坂信之: 多発性筋炎・皮膚筋炎に合併した間質性肺炎に対するシクロスポリン療法に関する全国調査. 厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班平成 11 年度研究報告書: 88-97. 2000

2) 宮坂信之: 多発性筋炎・皮膚筋炎に合併した間質性肺炎に対するシクロスポリン療法に関する全国調査. 厚生省特定疾患

自己免疫疾患調査研究班平成12年度研究報告書: 118-126, 2001.

3) Shinohara T, Hidaka T, Matsuki M, Ishizuka T, Takamizawa M, Kawakami M, Kikuma H, Suzuki K, Nakamura H: Rapidly progressive interstitial lung disease associated with dermatomyositis responding to intravenous cyclophosphamide pulse therapy: Intern Med 36: 519-23. 1997

4) 山前正臣, 河村英博, 山田秀裕, 浜信昭, 市川陽一: 皮膚筋炎に合併した間質性肺炎に対し、シクロフォスファミド間歇静注療法が有効であった1例. 聖マリアンナ医科大学雑誌. 2000, 28, 577-583.

5) Fergusson RJ, Davidson NM, Nuki G, Crompton GK: Dermatomyositis and rapidly progressive fibrosing alveolitis. Thorax 38: 71-71. 1983

6) Dickey BF, Myers AR: Pulmonary disease in polymyositis/dermatomyositis: Semin Arthritis Rheum 14: 60-76. 1984

7) Maeda K, Kimura R, Komuta K: Cyclosporine treatment for polymyositis/dermatomyositis: is it possible to rescue the deteriorating cases with interstitial pneumonitis?: Scand J Rheumatol 26: 24-29. 1997

8) 田原潔, 西谷皓次, 久川奈緒子, 橋本浩三, 原郁夫, 小玉肇: 間質性肺炎を合併した Amyopathic Dermatomyositis の1例リウマチ 37: 714-718. 1997

9) 藤田弘, 黒川滋子, 今泉俊資, 奥知三, 椿原基史, 本多淳郎: 致命的な間質性肺炎を合併した Amyopathic Dermatomyositis: 皮膚臨床 37: 463-466. 1995

10) 二宮淳也, 中林淳浩, 中村哲雄, 清佳浩, 滝内石夫, 大塚英夫: 間質性肺炎を合併し死亡した Amyopathic Dermatomyositis の1例: 皮膚 37: 573-576. 1995

11) 南家由紀, 立石睦人, 山縣元, 原まさ子, 鎌谷直之: 急速進行性の間質性肺炎により死亡した Amyopathic Dermatomyositis の1症例: リウマチ 40: 705-710. 2000

12) Tanaka F, Origuchi T, Migita K, Tominaga M, Kawakami A, Kawabe Y, Eguchi K: Successful combined therapy of

cyclophosphamide and cyclosporine for acute exacerbated interstitial pneumonia associated with dermatomyositis: Intern Med 39: 428-30. 2000.

13) 針谷正祥, 高木香恵, 原まさ子: 多発性筋炎・皮膚筋炎のステロイド抵抗性間質性肺炎に対するシクロスポリンA療法: 日本臨床免疫学会会誌 22: 410-413. 1999

14) 山前正臣, 山田秀裕, 浜信昭, 新美浩, 栗原泰之, 中島康夫, 市川陽一: 多発性筋炎, 皮膚筋炎に合併する間質性肺炎の予防に関する研究: 間質性肺炎の再燃に関する因子: 聖マリアンナ医科大学雑誌 28: 453-459: 2000.

【謝辞】

アンケートに御協力頂いた諸先生方に深謝いたします。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし

2. 学会発表

1. 長坂憲治, 宮坂信之: 多発性筋炎・皮膚筋炎に合併した間質性肺炎に対するシクロスポリン療法に関する全国調査, 第45回日本リウマチ学会総会, 東京, 2001年5月14-16日, リウマチ, 41(2): 379, 2001.

2. Nagasaka K, Harigai M, Hara M, Yoshizawa Y, Koike T, Miyasaka N: Efficacy of cyclosporine treatment to interstitial pneumonitis associated with polymyositis and dermatomyositis, American College of Rheumatology 65th Annual Scientific Meeting, San Francisco, U.S.A, November, 10-15, Arthritis Rheum 44(9)suppl: S353, 2001.

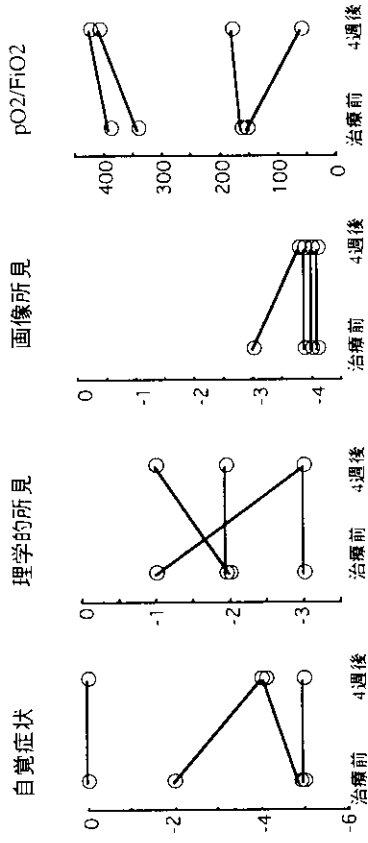


図1-1 治療効果 (CPA内服; n=5)

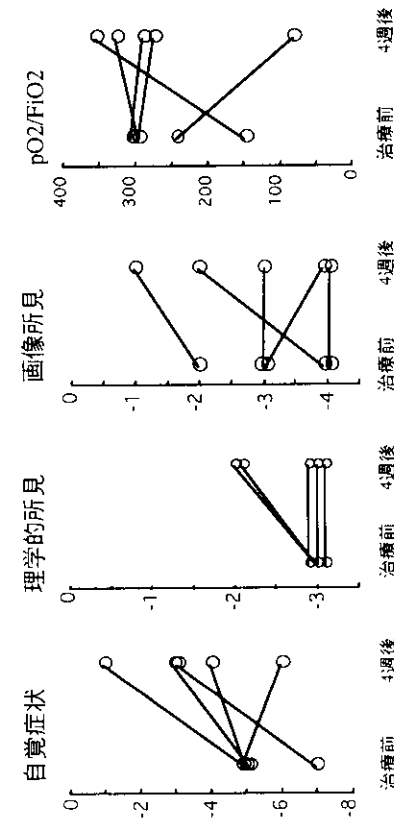


図2-1 治療効果 (CPAパルス; n=4)

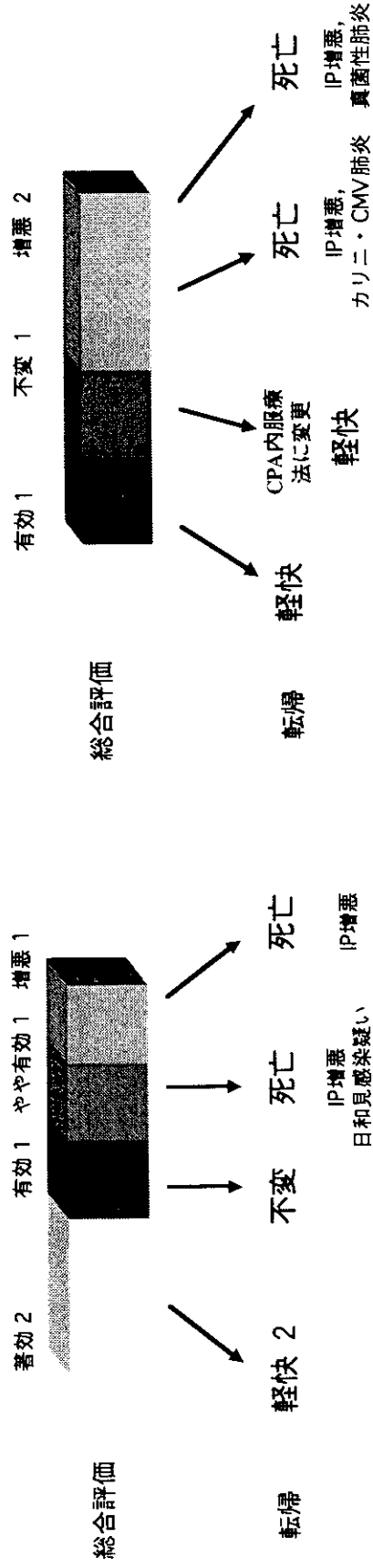


図1-2 総合評価と転帰 (CPA内服; n=5)

図2-2 総合評価と転帰 (CPAパルス; n=4)

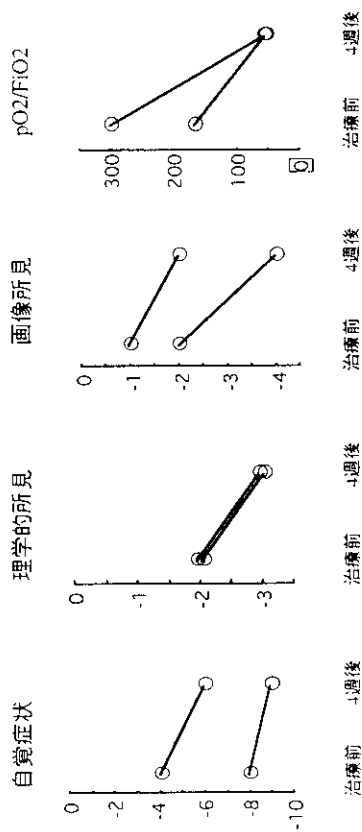


図3-1 治療効果 (CPA/パルス+CPA内服; n=2)

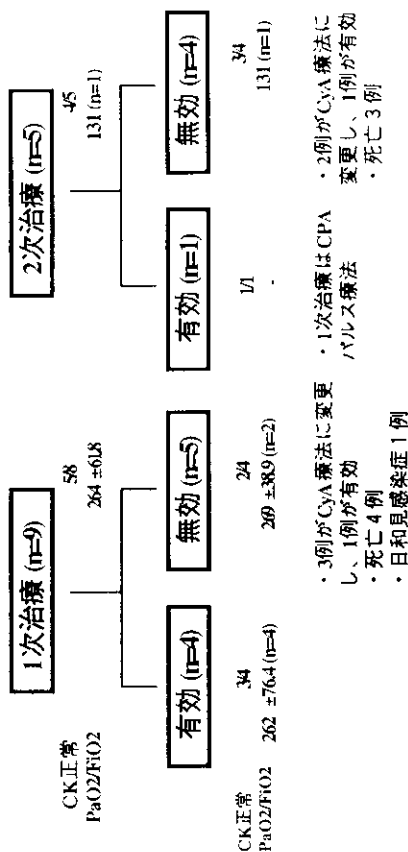


図4-1 CPA内服療法の治療反応性 (DM急性型IP; n=14)

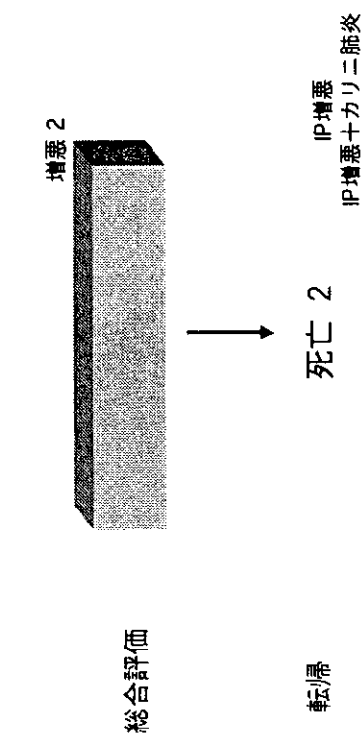


図3-2 総合評価と転帰 (CPA/パルス+CPA内服; n=2)

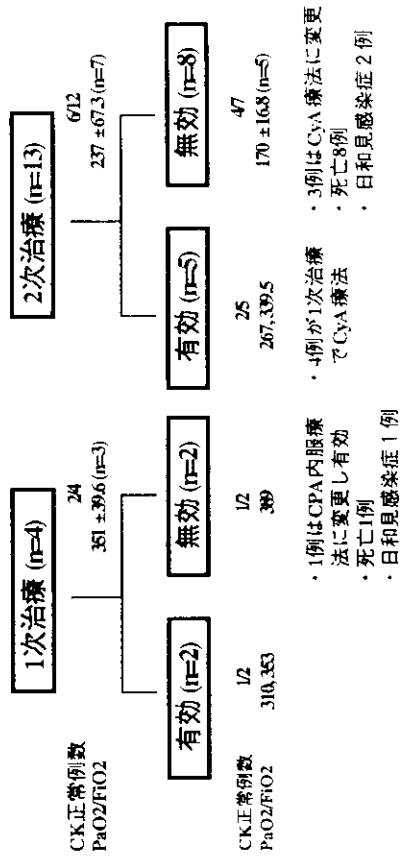


図4-2 CPA/パルス療法の治療反応性 (DM急性型IP; n=17)

表 1 患者背景 (DM急性型IP)

	CPA内服	CPA/バルス	CPA/バルス +CPA内服
症例数	5	4	2
M/F	0/5	2/2	0/2
年齢	52.4±11.2	53.0±13.4	50, 52
1次/2次	5/0	1/3	0/2
CK/LDH指数	1.71±1.60	0.582±0.117	0.803, 1.12
抗Jo-1抗体陽性	0/4	0/4	0/2
CPA内服量(mg/日)	75.0±25.0	-	50, 50
CPA/バルス(mg/回)	-	768±55.4	800, 800
ステロイド内服量 (PSL換算mg/日)	40.0±25.5	48.8±22.5	60, 60
ステロイド/バルス	4	3	2

表 2 有害事象

CPA内服	CPA/バルス	CPA/バルス +CPA内服
n=5 (死亡数)	n=4 (死亡数)	n=2 (死亡数)
3例 3件	2例 5件	1例 1件
日和見感染 の疑い 1 (1)	カリニ・CMV肺炎 1 (1)	カリニ肺炎 1 (1)
皮疹 1	真菌性肺炎 1 (1)	
精神症状 1	陰部ヘルペス 1	
	白血球減少 1	
	肝障害 1	

多発性筋炎/皮膚筋炎に合併する間質性肺炎と関連する自己抗体の追究

平形 道人（慶應義塾大学内科）

研究要旨

【目的】多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)において、間質性肺炎(Interstitial Lung Diseases, ILD)は重要な予後因子の一つである。そこで、ILD 関連自己抗体の追究および急速進行性間質性肺炎(AIP)併発 PM/DM と関連する自己抗体の追及を目的とした。【方法】自己抗体の検索は、肺腺癌由来 II 型肺胞上皮 A549 細胞、白血病細胞由来 K562 細胞および HeLa 細胞抽出物を用いた免疫ブロット法および ³⁵S メチオニン標識免疫沈降法で行った。また、HEp-2 細胞を用いた蛍光抗体法も検討した。これらの方法で A549 および K562 細胞成分中の蛋白を認識した症例の臨床症状、検査所見、経過、治療、予後などについて検討した。

【結果】1. ILD 関連自己抗体である抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体(抗 ARS 抗体)は、IIP および BOOP 患者にも認められた。2. 免疫ブロット法では、30,35,37,45,75 kDa 蛋白が A549 細胞でのみ確認された。3. 免疫沈降法では、8 個の蛋白が反応し(34,35,45,52,70,75,80,100 kDa)、その中で 52kDa 蛋白はサイトケラチン 8(CK8)と考えられた。4. 抗 CK8 抗体陽性例は、全例 UIP で、関節炎・レイノー現象・皮疹・他の自己抗体は認めなかった。5. AIP を併発した Amyopathic DM(ADM)患者 5 血清のうち、2 例が免疫ブロット法で 52kDa 蛋白を認識し、CK8 と反応した。6. 免疫沈降法では、140kDa 蛋白を認識する新たな自己抗体が見出された。

【考察】ILD 患者血清中に II 型肺胞上皮細胞蛋白成分を認識する自己抗体の存在が示唆された。また、急速進行性 ILD 合併 ADM 患者血清中に、免疫沈降法で 140kDa 蛋白を認識する新たな自己抗体の存在が示唆された。

A.研究目的

間質性肺炎 (Interstitial Lung Diseases, ILD) は、膠原病各疾患において重要な予後規定因子であるが、その発症機序は未だ不明である。多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)に併発する ILD は多彩な病態を示すことが知られており、これまで報告されている抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体(抗 ARS 抗体)は、その診断、病型分類、臨床経過の予測などに有用とされている。また、特に DM の中で、筋炎症状に乏しい症例 (Amyopathic DM, ADM)に治療抵抗性の急速進行性間質性肺炎 (AIP)が合併することが報告されており、そのような症例では、自己抗体陰性がひとつの特徴とされているが、その詳細は不明である。そこで本研究は、ILD のターゲットと考え

られる II 型肺胞上皮細胞および白血病細胞、HeLa 細胞を用い、その細胞成分に対する ILD 関連自己抗体の追究および ADM/AIP 患者血清中の自己抗体の追究を目的とした。

B.研究方法

I. ILD 関連自己抗体の追究：

教室および共同研究施設の ILD 併発膠原病 44 例、非併発膠原病 40 例、特発性間質性肺炎 (IIP) 50 例、器質化肺炎を伴う閉塞性細気管支炎 (BOOP) 5 例、健常人 9 例の計 148 例を対象とした。自己抗体の検索は、肺腺癌由来 II 型肺胞上皮 A549 細胞および HeLa 細胞抽出物を用いた免疫ブロット法および ³⁵S メチオニン標識免疫沈降法で行った。また、HEp-2 細胞を用いた蛍光抗体法でも

検討した。これらの方法で A549 細胞成分中の蛋白を認識した症例の臨床症状、肺病理所見、BAL 所見、KL-6 値を検討した。

II. ADM/AIP 患者血清中の自己抗体の追究：1999 年から教室で経験した AIP 併発 ADM 5 症例を対象とした。自己抗体の検索は、HEp-2 細胞を用いた蛍光抗体法、肺腺癌由来 II 型肺胞上皮 A549 細胞および白血病細胞由来 K562 細胞抽出物を用いた免疫ブロット法および ³⁵S メチオニン標識免疫沈降法で行った。これらの方法で、A549 または K562 細胞成分中の蛋白を認識した症例の臨床症状、検査所見、経過、治療、予後などについて検討した。

C. 研究結果

I. ILD 関連自己抗体の追究：

(i) ILD における抗 ARS 抗体の検討

既知の ILD 関連自己抗体である抗 ARS 抗体は、PM/DM 5 例、SSc 1 例、RA 2 例の ILD 併発 CTD 8 例のほか、IIP 5 例 (10%)、BOOP 2 例 (40%) にも検出された。

(ii) A549 細胞および HeLa 細胞抽出物を用いた ILD 関連自己抗体の追究

A549 細胞および HeLa 細胞抽出物を基質とした IIP 血清での免疫ブロットでは、A549、HeLa 細胞ともに、種々の蛋白成分が IIP 血清と反応した。その中で、75, 45, 37, 35, 30 kDa 蛋白は A549 細胞で認識されたが、HeLa 細胞では認識されなかった (図 1)。³⁵S メチオニン標識細胞抽出物を用いた免疫沈降法での検討でも、IIP 血清は、8 個の蛋白 (34, 35, 45, 52, 70, 75, 80, 100 kDa) を免疫沈降したが、A549 で沈降される蛋白バンドは、HeLa 細胞と比較して、著しく強いシグナルを示した (図 2)。

免疫ブロットおよび免疫沈降法で確認された IIP 患者血清中の A549 細胞蛋白成分に対する自己抗体の成績をまとめた (表 1)。

免疫ブロットでの検討では、IIP 患者血清の免疫沈降した 52kDa 蛋白が抗 CK8 抗体により認識され、かつ抗 CK8 抗体が沈降する蛋白と同一分子量であった。蛍光抗体法では 52 kDa 蛋白を免疫沈降する血清は、抗 CK8 抗体と類似した染色パターンを示し、細胞質を網目状・顆粒状に染色した。

抗 CK8 抗体陽性例 6 例の臨床特徴をまとめた (表 2)。開胸肺生検では、全例 usual interstitial pneumonia (UIP) と診断され、BAL 分類でも、UIP パターンに分類された。KL-6 は 1 例を除き、全例で高値を示した。しかし、関節炎・レイノー現象・皮疹・他の自己抗体は一例にも認めなかった。

II. ADM/AIP 患者血清中の自己抗体の追究：

(i) A549 細胞および K562 細胞を用いた AIP 併発 ADM 血清中の自己抗体の追究 II 型肺胞上皮 A549 細胞抽出物を基質とした免疫ブロット法では、KH, US 血清は約 52kDa 蛋白と反応し、YH 血清は約 58kDa 蛋白とそれぞれ反応した。蛍光抗体法で US 血清は細胞質を網目状・顆粒状に染色した。KH, US 血清についてヒト・リコンビナント CK8 を用いた免疫ブロットで検討したところ、同血清で CK8 が認識された。免疫沈降法では、K562 細胞を基質とした場合、ADM/AIP 患者血清 5 例中 3 例で約 140kDa 蛋白を沈降した (図 3)。

免疫沈降法で、140kDa 蛋白を認識する自己抗体陽性 ADM/AIP 患者 3 例の臨床特徴をまとめた (表 3)。KL-6 は全例で高値で、BALF 分類では全例 BOOP パターンに分類された。関節炎・レイノー現象など他の筋外症状、抗核抗体は 1 例にも認めなかった。2 例で CyA が有効だった。

(ii) AIP 併発 DM, U.S. 例の臨床経過 (図 4)。

症例は、56 歳、女性。主訴は労作時呼吸困難。90 年 7 月 発熱、関節痛、指尖部の紅斑が出現。9 月 眼瞼周囲紅斑出現し、皮膚生検を施行し皮膚筋炎と診断された。99 年 5 月 労作時呼吸困難を自覚し、間質性肺炎を指摘された。2000 年 2 月 労作時呼吸困難および胸部レ線で間質性陰影の急激な増悪を認め、入院となった。入院時、胸部レ線および胸部 CT 検査で両下肺野を中心に間質性陰影の急激な増悪を認め、入院後も、呼吸困難、低酸素血症の増悪を認めたため、メチルプレドニゾロンパルス療法を施行した。後療法として、プレドニゾロン (PSL) 50mg/日を開始し、さらにシクロスポリン (CyA) 100mg/日

も併用した。自覚症状、動脈血液ガス、胸部レ線で増悪傾向はなかったが、徐々にLDH、KL-6 値の上昇を認め、CyA を段階的に200mg/日まで増量した。その後、呼吸器症状の改善を認め、PSL を減量して退院となった。

D. 考察

I. ILD 関連自己抗体の追究：

(i) ILD における抗 ARS 抗体の検討

同抗体はこれまで PM/DM 患者で報告されているが、発熱、レイノー現象、多発関節炎、慢性型の間質性肺炎などの筋外症状を高頻度に合併するなどの特徴を有する。特に抗 PL-12 抗体や抗 KS 抗体は ILD と密接に関連することが明らかにされているが、今回の検討でも、IIP、BOOP でも検出されることが確認された。

(ii) A549 細胞および HeLa 細胞抽出物を用いた ILD 関連自己抗体の追究

IIP 患者血清を用いた免疫ブロット法での検討では、5 個の蛋白が A549 細胞で認識されたが、HeLa 細胞では認識されず、これらの蛋白成分は A549 細胞に特異的、あるいは含有量の多い抗原蛋白と考えられた。また、免疫沈降法では 8 個の蛋白が沈降したが、沈降される蛋白バンドは、HeLa 細胞よりも A549 細胞ではるかに強いことから、これらの蛋白含有量が A549 細胞で HeLa 細胞より豊富である可能性が推測された。

II. ADM/AIP 患者血清中の自己抗体の追究：

(i) A549 細胞を用いた AIP 併発 ADM 血清中の自己抗体の追究

従来 AIP を併発する DM は自己抗体陰性とされているが、肺腺癌由来 II 型肺胞上皮 A549 細胞を基質とした免疫ブロット法の検討では II 型肺胞上皮由来の未知の細胞質に対する抗体の存在の可能性が示唆された。特に、52kDa 蛋白は、CK8 に対する抗体であることが示された。また、白血病細胞由来 K562 細胞抽出物を用いた免疫沈降法で認識された 140kDa 蛋白は、5 例中 3 例に認めており、今後、症例の集積とその対応抗原の追究・検討が課題である。かかる新しい自己抗体の同定は臨床上、極めて予後不良とされて

いる AIP 併発 ADM の早期診断・治療法の選択に有用であり、その予後の改善につながるものと期待される。

(ii) AIP 併発 DM, U.S. 例のシクロスポリン投与による臨床経過

U.S. 例は、経過中にゴットロン徴候陽性など DM に典型的な皮疹を認めていたが、筋力低下などの筋症状や筋原性酵素の上昇を認めない ADM で、これまで報告されている AIP を併発する DM の特徴を有していた。これまで行われている免疫沈降法による自己抗体の検索では陰性であったが、肺腺癌由来 II 型肺胞上皮 A549 細胞を基質とした免疫ブロット法の検討では約 52kDa 蛋白、白血病細胞由来 K562 細胞抽出物を用いた免疫沈降法では、140kDa 蛋白と反応したことが特徴的であった。本例では、PSL パルス後に CyA を併用し、呼吸器症状の改善および胸部レ線・CT 検査で間質性変化の進行を抑制したことからその併用療法の有用性が示されたと考えられる。現在、CyA を併用しながら慎重に PSL を減量しつつ経過観察しているが、平成 12 年 12 月に発熱・喀痰出現し、肺炎と診断されて抗生剤投与で軽快したエピソードもあり、感染症をはじめとする合併症の併発に今後も注意を要する。特に、長期的な見地からシクロスポリンの投与量（血中濃度）、投与期間などについての検討は必要であり、症例の集積と慎重な経過観察が必要と考えられた。本例では、KL-6 の値は、急性増悪時に高値を認め、治療開始とともに徐々に低下傾向を認め、これまで報告されているように ILD の活動性を定量的に評価する有用な指標と考えられた。退院後、PSL を減量につれて徐々に KL-6 の値が再度上昇を認めており、ILD 再燃の危険性を示唆するものであり、注意を要する。従来から ILD の活動性の指標とされている LDH は、治療後徐々に上昇を認め、退院後は KL-6 の推移とは逆に減少傾向を示しており、LDH と KL-6 推移の関連が注目された。

E. 結論

1. 抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体は、IIP および BOOP 患者にも認められた。
2. 免疫ブロット法で、IIP 患者血清は種々の

蛋白と反応したが, 30,35,37,45,75 kDa 蛋白は A549 細胞でのみ確認された.

3. 免疫沈降法では, 8 個の蛋白 (34,35,45,52,70,75,80,100 kDa)が反応し, 52kDa 蛋白は CK8 と考えられた.

4.抗 CK8 抗体陽性例は, 全例 UIP であり, 関節炎・レイノー現象・皮疹・他の自己抗体は認めなかった.

5. AIP 併発 ADM 5 血清のうち, 2 例が 52kDa 蛋白, 1 例が 58kDa 蛋白と免疫プロット法で反応した.

6. 52kDa 蛋白を認識する血清は, 蛍光抗体法で細胞質を染色し, 免疫プロット法で CK8 と反応した.

7. 免疫沈降法で 140kDa 蛋白を認識する新たな自己抗体が見出された.

これまで AIP 併発 PM/DM と関連する自己抗体の報告は未だなく, 今後かかる自己抗体の特異性の確認, 臨床的意義の追究, 対応抗原の分析などが, ILD および ADM/AIP の病態解明に重要と考えられた.

F. 健康危険情報

該当なし.

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Beaulande, M., Kron, M., Hirakata, M., Hartlein, M.: Human anti-asparaginyl-tRNA synthetase autoantibodies (anti-KS) increase the affinity of the enzyme for its tRNA substrate. *FEBS Letters* 494:170-174, 2001

2. Fujii, T., Nojima, T., Yasuoka, H., Satoh, S., Nakamura, K., Kuwana, M., Suwa, A., Hirakata, M., Mimori, T.: Cytokine and immunogenetic profiles in Japanese patients with adult still's disease.- Association with chronic articular disease.- *Rheumatology* 40:1398-1404, 2001.

3. Yuasa, S., Suwa, A., Hirakata, M., Hibi, N., Iwao, Y., Koizumi, K., Mimori, T., Ikeda, Y.: A case of systemic lupus erythematosus presenting with rectal ulcers as the initial manifestation of disease. *Clin. Exp. Rheumatol.* (in

press)

4. Furuta, A., Fujii, T., Yasuoka, H., Takada, R., Hirakata, M., Mimori, T.: Severe hypertension associated with multiple intra-renal microaneurysms in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies. *Mod. Rheumatol.* (in press)

5. 平形道人: 膠原病の診断・治療 Up to date. 「多発性筋炎・皮膚筋炎」. *Mebio* 18(4):77-83, 2001

6. 平形道人: 間質性肺炎と自己抗体. *組織培養工学* 27(5):185-189, 2001

7. 平形道人: 多発性筋炎・皮膚筋炎の自己抗体. *リウマチ科* 26(1):75-82, 2001

8. 鈴木美佐子, 平形道人: 多発性筋炎・皮膚筋炎の治療法の原則. *リウマチ科* 26(5):442-448, 2001

9. 平形道人: 膠原病における自己抗体の意義-自己抗体の測定法, 臨床意義, 対応抗原-. *医学のあゆみ* 199(5):313-320, 2001

10. 平形道人: 抗 KS(アスパラギニル tRNA 合成酵素)抗体 *リウマチ科* 2002 (印刷中)

11. 平形道人: 抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体症候群. *臨床免疫* 2002 (印刷中)

12. 平形道人, 佐藤慎二: 抗 Jo-1 抗体とその他の抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体. 古澤新平, 金山正明, 橋本博史 編集「臨床検査診断マニュアル」, pp356-359, 永井書店 2001

13. 平形道人:多発性筋炎・皮膚筋炎. 山口徹, 北原光夫 総編集「今日の治療指針(2002年版)」pp.513-515, 医学書院 2002

14. 平形道人: 多発性筋炎/皮膚筋炎. 住田孝之編集「Expert 膠原病・リウマチ学」pp.284-298, 2002

2. 学会発表

1. Hirakata, M., Suwa, A., Nojima, T., Suzuki, M., Nagai, S., Mimori, T., Targoff, I.N.: Clinical significance of anti-asparaginyl tRNA synthetase autoantibodies. *Annual European Congress of Rheumatology*, 2001年6月

2. Shirai, Y., Nojima, T., Hirakata, M., Yamagata, H., Miyachi, K., Mimori, T.:

- Molecular cloning and characterization of autoantigen recognized by anti-Wa antibodies in patients with systemic sclerosis. Annual European Congress of Rheumatology, 2001年6月
3. Nojima, T., Suwa, A., Hirakata, M., Ikeda, Y., Mimori, T.: Autoantibodies to human myc-far upstream element-binding protein in patients with rheumatoid arthritis. Annual European Congress of Rheumatology, 2001年6月
 4. Suwa, A., Hirakata, M., Nojima, T., Satoh, S., Nakajima, T., Mimori, T.: Autoantigenic epitopes targeted by autoantibodies to RNA helicase A in systemic lupus erythematosus. Annual European Congress of Rheumatology, 2001年6月
 5. Suzuki, M., Hirakata, M., Suwa, A., Nojima, T., Yasuoka, H., Satoh, S., Fujii, T., Inada, S., Mimori, T.: Analysis of autoantigens recognized autoantibodies that immunoprecipitate high molecular weight nucleic acids. Annual European Congress of Rheumatology, 2001年6月 775169134
 6. Sato, S., Hirakata, M., Suwa, A., Suzuki, M., Nojima, T., Inada, S., Nishikawa, T., Mimori, T.: Autoantibodies to a 140 kDa protein in Japanese patients with amyopathic dermatomyositis. Annual meeting of American Collage of Rheumatology. 2001年11月
 7. 安岡秀剛, 野島崇樹, 鈴木美佐子, 佐藤慎二, 藤井隆夫, 桑名正隆, 諏訪 昭, 平形道人, 池田康夫: 悪性腫瘍を合併するシェーグレン症候群患者の臨床的特徴の検討. 第98回 日本内科学会総会 2001年4月
 8. 平形道人, 佐藤 実, 諏訪 昭, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 佐藤慎二, 野島崇樹, 藤井隆夫, 三森経世, 秋月正史: プリステン投与による正常マウスにおける新たな tRNA 関連蛋白に対する自己抗体産生に関する研究. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 9. 平形道人, 諏訪 昭, 佐藤慎二, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 野島崇樹, 中村邦夫, 藤井隆夫, 三森経世, 秋月正史: 抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体の臨床免疫学的多様性に関する研究. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 10. 高崎芳成, 平形道人, 三森経世: 抗 Sm 抗体と MCTD, Overlap 症候群. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 11. 諏訪昭, 平形道人, 佐藤慎二, 三森経世: 強皮症-多発性筋炎・皮膚筋炎 Overlap 症候群の臨床的および免疫学的特徴. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 12. 野島崇樹, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 佐藤慎二, 藤井隆夫, 諏訪 昭, 平形道人, 池田康夫, 三森経世: 慢性関節リウマチ(RA)における抗 c-myc FUSE 結合蛋白に対する自己抗体の検索. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 13. 白井悠一郎, 野島崇樹, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 佐藤慎二, 藤井隆夫, 諏訪 昭, 平形道人, 三森経世: 全身性強皮症(SSc)に特異的に検出される抗 Wa 抗体の対応抗原クローニング. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 14. 諏訪 昭, 平形道人, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 野島崇樹, 佐藤慎二, 藤井隆夫, 中島利博, 三森経世: 全身性エリテマトーデス患者血清中に見出された抗 RNA helicase A 抗体の対応抗原エピトープに関する研究. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 15. 藤井隆夫, 野島崇樹, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 佐藤慎二, 諏訪 昭, 平形道人, 三森経世: 抗 dsDNA 抗体産生を刺激する Th1 クローンを用いた MRL/Mp-Fas lpr マウス治療に関する研究. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 16. 佐藤慎二, 諏訪 昭, 藤井隆夫, 稲田進一, 秋月正史, 三森経世, 平形道人. : 急速進行性間質性肺炎合併 Amyopathic Dermatomyositis 患者血清中の II 型肺胞上皮細胞成分に対する自己抗体の研究. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
 17. 金子祐子, 平形道人, 野島崇樹, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 佐藤慎二, 藤井隆夫, 諏訪 昭, 小西孝之助, 三森経世. ループス腸炎の臨床免疫学的特徴・画像所見に関する研究. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月

月

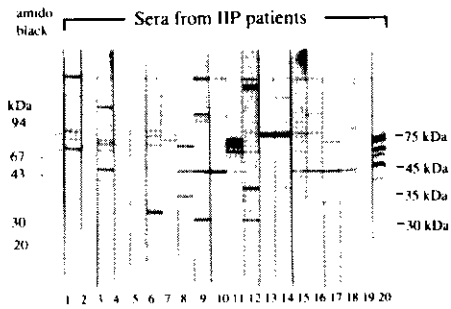
18. 安岡秀剛, 桑名正隆, 平形道人, 池田康夫, 河上 裕: 強皮症(SSc)線維芽細胞における自己抗原 PHET の発現レベルの検討. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
19. 宮地清光, 安達正則, 山前邦臣, 諏訪 昭, 藤井隆夫, 平形道人, Raleigh W. Hankins: 抗ライソソーム抗体陽性 RA の2例-その多様性と疾患特異性について-. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
20. 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 野島崇樹, 佐藤慎二, 藤井隆夫, 諏訪 昭, 平形道人: 黄疸にて発症しステロイドパルス療法が奏功した自己免疫性肝炎合併全身性エリテマトーデス, 抗リン脂質抗体症候群の一例. 第45回 日本リウマチ学会総会 2001年5月
21. 木村納子, 藤井隆夫, 中村 玲, 鈴木美佐子, 安岡秀剛, 野島崇樹, 佐藤慎二, 諏訪 昭, 平形道人, 藤本篤嗣, 田中 勝, 久保田哲朗: TGF β 1 産生胃癌に合併した pseudoscleroderma の一例. 第42回 関東リウマチ研究会 2001年6月
22. 諏訪 昭, 三森経世, 中島利博, 平形道人: 抗 RNA ヘリケース A 抗体の臨床的意義と対応抗原エピトープに関する研究. 第29回 日本臨床免疫学会 2001年12月
23. 藤井隆夫, 亀山香織, 平形道人, 三森経世. 抗 dsDNA 抗体の産生を誘導する Th1 細胞クローンを用いた MRL/Mp-Faslpr マウスの免疫調節に関する研究. 第29回 日本臨床免疫学会 2001年12月
24. 今井孝俊, 野島崇樹, 安岡秀剛, 佐藤慎二, 諏訪 昭, 平形道人. 多発性単神経炎を認めた RS3PE (Remitting Seronegative Symmetrical Synovitis with pitting edema)症候群の一例. 第29回 日本臨床免疫学会 2001年12月

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
該当なし.
2. 実用新案登録
該当なし.
3. その他
該当なし.

IIP患者血清が免疫ブロット法で認識する
蛋白成分

(A) A549 cell



(B) HeLa cell

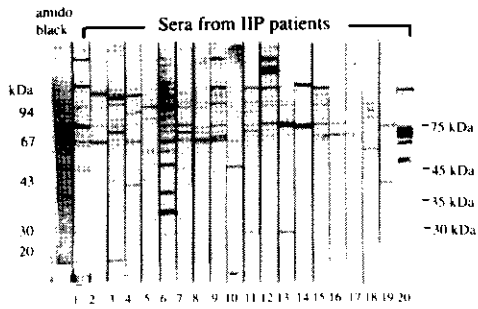
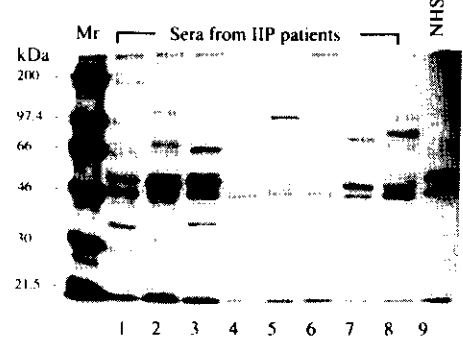


図1

IIP患者血清が免疫沈降する蛋白成分

(A) A549 cell



(B) HeLa cell

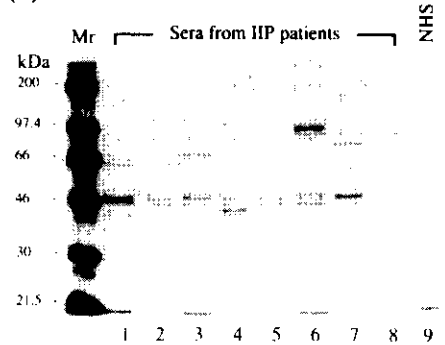


図2

ADM/AIP患者血清が免疫沈降する蛋白成分

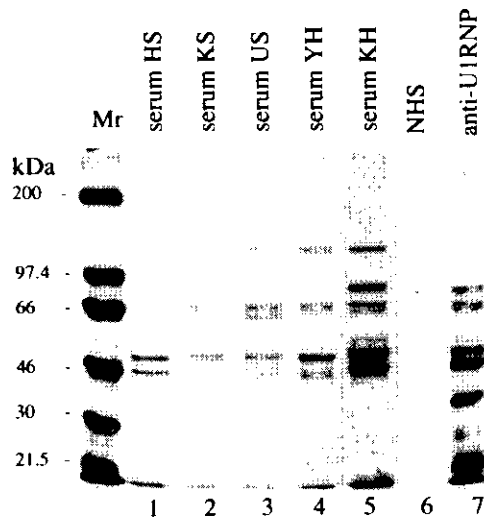


図3

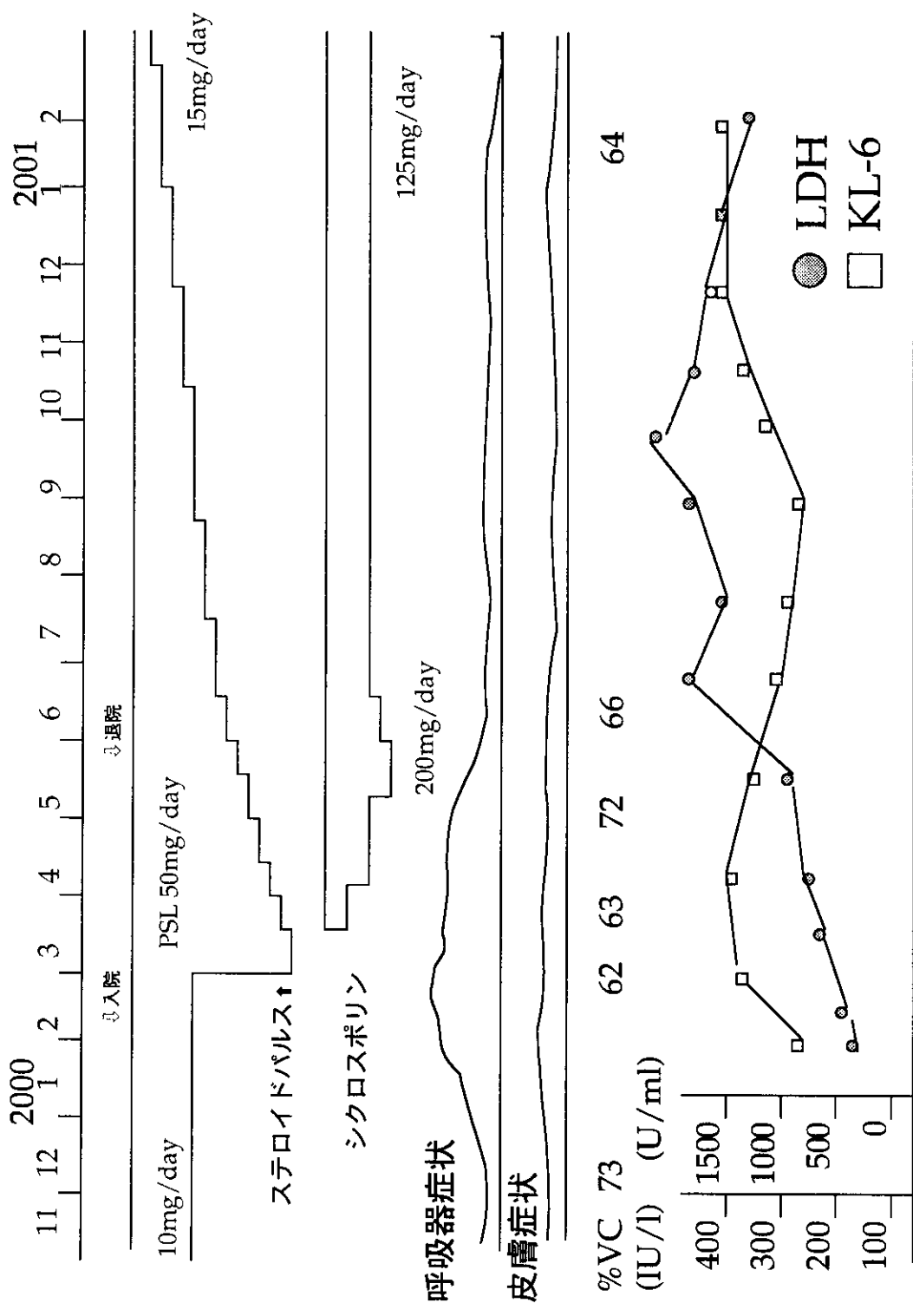


図4

表1. IIP患者血清中のA549細胞成分特異自己抗体

	免疫ブロット法		免疫沈降法	
	蛋白分子量	陽性数(%)	蛋白分子量	陽性数(%)
75kDa	4	(9%)	100kDa	3 (6%)
			80kDa	1 (2%)
			75kDa	1 (2%)
			70kDa	1 (2%)
45kDa	10	(21%)	52kDa	21 (45%)
37kDa	2	(4%)	45kDa	33 (70%)
35kDa	2	(4%)	35kDa	1 (2%)
30kDa	2	(4%)	34kDa	1 (2%)

表2. 抗サイトケラチン8抗体陽性IIP患者の
臨床特徴

症例	性別	病理学的 診断	BAL	CD4/ CD8	KL-6 (U/ml)	関節炎	レイノー 現象	皮膚疹	他の 自己抗体
S.I.	M	UIP	UIP	0.49	1212	(-)	(-)	(-)	(-)
T.U.	M	UIP	UIP	1.15	739	(-)	(-)	(-)	(-)
K.O.	M	UIP	UIP	0.43	1729	(-)	(-)	(-)	(-)
M.S.	M	UIP	UIP	0.46	463	(-)	(-)	(-)	(-)
E.F.	M	UIP	UIP	1.13	1243	(-)	(-)	(-)	(-)
K.D.	F	UIP	UIP	1.75	1894	(-)	(-)	(-)	(-)

UIP : usual interstitial pneumonia

表3. 免疫沈降法でK562細胞140kDa蛋白を認識したADM/AIP例の臨床特徴

年齢・性別	62 F	56 F	39 M
筋力低下	(-)	(-)	(-)
CK (IU/l)	85	68	167
筋電図所見	(-)	(-)	(-)
他の症状	発熱	(-)	発熱
PaO ₂ (Torr)	75	79	69
%VC	97	62	82
KL-6	725	874	778
Gaシンチ集積	(+)	(-)	(-)
BAL(パターン)	BOOP	BOOP	BOOP
抗核抗体	(-)	(-)	(-)
抗ARS抗体	(-)	(-)	(-)
治療	PSL pulse+CyA	PSL pulse+CyA	PSL pulse+CyA
転帰	死亡	改善	改善

シェーグレン症候群唾液腺培養上皮細胞における細胞増殖およびアポトーシスに関する研究

菅井 進（金沢医科大学・血液免疫内科）

研究要旨

シェーグレン症候群（以下 SS）唾液腺においては、リンパ球からなる細胞浸潤が生じ、腺細胞死、腺機能廃絶へと至る。我々はこれまでにヒト唾液腺上皮細胞の特異的培養法を確立し、研究に供してきた。今回、唾液腺組織障害の分子機構解析を目的としてヒト唾液腺上皮細胞を用いて、サイトカインに対する増殖反応、HLA-DR および Fas の発現、副刺激分子の発現、アポトーシスに関する検討を行った。その結果、1) SS 唾液腺上皮細胞は、EGF、IL-1 β 、IL-4、IL-10 に対し増殖反応を示し、IFN γ 、TNF α は増殖抑制的に作用した。2) IFN γ は SS 唾液腺上皮細胞に HLA-DR、Fas 発現を誘導した。3) IFN γ は SS 唾液腺上皮細胞に CD40 発現を誘導したが、CD80、CD86 は誘導しなかった。4) SS 唾液腺上皮細胞は IFN γ 刺激後、抗 Fas 抗体と抗 CD40 抗体の存在下においてアポトーシスが効率的に誘導された。以上より、SS 唾液腺においては IFN γ などのサイトカインにより活性化された唾液腺上皮細胞が Fas および CD40 を介する刺激を同時に受けるとアポトーシスにより死に至ることが示唆された。

A. 研究目的

シェーグレン症候群（以下 SS）においては唾液腺にリンパ球からなる炎症性細胞浸潤が生じ、腺細胞の死から腺構造の破壊へと進展し、最終的に唾液腺機能の廃絶へと至る。唾液腺における組織障害の分子機構の解明は SS の治療戦略を考える上で重要であるが、その詳細なメカニズムは不明である。

我々は、ヒト唾液腺組織より唾液腺上皮細胞を特異的に分離、培養する方法を確立し、SS 唾液腺上皮細胞が、種々のサイトカイン、ケモカインおよびアポトーシス関連分子を発現し、唾液腺局所の免疫反応に積極的に関与していることを報告した。

SS 唾液腺病変の分子機構を解明するため、ヒト培養唾液腺上皮細胞を用いて、1) 各種サイトカインに対する増殖反応、2) HLA-DR 抗原および Fas 抗原の発現、3) 副刺激分子の発現、4) アポトーシスについて検討した。

B. 研究方法

被験者の承諾を得た後、診断のために施行した口唇唾液腺生検において、診断に要した部分を除いた剰余組織を用いて、既報の唾液腺上皮細胞培養法に更に改良を加えて培養を行った。すなわち、生検組織を 1～2 mm 大に細切し組織片をコラーゲンコートプレートに静置し、下記の組成からなる培養液中にて培養した（Defined Keratinocyte SFM および Growth Supplement (EGF, Insulin etc), 0.4 μ g/ml Hydrocortisone, 25 μ g/ml Bovine pituitary extract, 100U/ml Penicillin, 100 μ g/ml Streptomycin)。この培養液を用いることにより、上皮細胞は Terminal differentiation を生じることなく、従来の方法より長期間（数か月以上）の培養が可能となった。得られた培養細胞を用いて、以下の検討を行った。

1) サイトカインに対する増殖反応
SS 唾液腺培養上皮細胞 (n=4) を至的濃度のサイトカイン (EGF, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IFN γ , TNF α , TGF β) 存在下にて

培養し、BrdUの取り込みを利用したELISA法を用いて各サイトカインの細胞増殖に与える影響を検討した。

2) HLA-DR 抗原および Fas 抗原の発現

SS 唾液腺培養上皮細胞 (n=4) を 1000U/ml の IFN γ 存在下にて培養し、免疫細胞染色法により HLA-DR 抗原を、また Fas 抗原の発現をフローサイトメトリー法にて解析した。

3) 副刺激分子の発現

SS 唾液腺培養上皮細胞 (n=4) を 1000U/ml の IFN γ 存在下にて培養し、RT-PCR 法を用いて CD40, CD80, CD86 の発現を解析した。

4) アポトーシス

SS 唾液腺培養上皮細胞を 1000U/ml の IFN γ 存在下にて培養し、その後抗 Fas 抗体および抗 CD40 抗体を添加し、アポトーシス細胞を光学顕微鏡および DNA fragmentation assay にて検討した。

C. 研究結果

1) 各種サイトカインに対する増殖反応(図 1)

各サイトカイン添加時の細胞増殖をサイトカイン非添加コントロールに対する比 (Stimulation Index: SI) で表すと、EGF: 3.93 ± 2.63 、IL-1 β : 1.80 ± 0.65 、IL-4: 1.98 ± 0.97 、IL-6: 1.18 ± 0.45 、IL-10: 2.80 ± 1.96 、IFN γ : 0.88 ± 0.30 、TNF α : 0.73 ± 0.48 、TGF β : 1.00 ± 0.61 (mean \pm sd) であり、EGF、IL-1 β 、IL-4、IL-10 は増殖促進的に作用し、IFN γ 、TNF α は増殖抑制的に作用した。

2) HLA-DR 抗原および Fas 抗原の発現(図 2)

まず SS 唾液腺上皮細胞を IFN γ にて刺激すると HLA-DR 抗原の発現が認められた。また SS 唾液腺上皮細胞において IFN γ 刺激により経時的に Fas の発現は増大した (Mean Fluorescence Intensity: MFI; 0h: 59.4 ± 4.3 、24h: 76.1 ± 5.1 、48h: 105.4 ± 22.0 、72h: 117.9 ± 25.5 、96h: 123.4 ± 30.5 、120h: 119.0 ± 34.8 , mean \pm sd)。IFN γ 刺激による SS 唾液腺上皮細胞の Fas 発現亢進は正常唾液腺上皮細胞および HSG 細胞と比較してより顕著な傾向があった。

3) 副刺激分子の発現(図 3)

SS 唾液腺培養上皮細胞は、IFN γ 非刺激下で弱い CD40 発現を認めたが、CD80 および CD86 発現は認めなかった。IFN γ は CD40 発現を増強したが、CD80 および CD86 発現には影響を与えなかった。

4) アポトーシス(図 4、5)

SS 唾液腺培養上皮細胞では、IFN γ 非刺激下では抗 CD40 抗体単独(図 5 B)、または抗 CD40 抗体+抗 Fas 抗体(図 5 C)によるアポトーシス誘導を認めなかった。SS 唾液腺培養上皮細胞を IFN γ 存在下にて 3 日間培養後、抗 Fas 抗体を添加してもアポトーシスは誘導されなかったが、抗 Fas 抗体と抗 CD40 抗体を同時に添加すると著明なアポトーシスが誘導された(図 5 D)。

D. 考察

唾液腺局所に産生されている種々のサイトカインが SS 唾液腺上皮細胞の増殖に影響を与えていることが判明し、サイトカインを利用した上皮細胞の再生促進や in vitro における細胞増幅を利用した自家移植治療の可能性が示唆された。また IFN γ は SS 唾液腺上皮細胞に作用し、HLA-DR、Fas および CD40 の発現を亢進させ、上皮細胞を活性化していることが示唆された。活性化された SS 唾液腺上皮細胞に抗 Fas 抗体と抗 CD40 抗体を同時に作用させると上皮細胞に効率的にアポトーシスが誘導されたが、抗 Fas 抗体単独ではアポトーシスは誘導されなかった。この事実は、例えば CD40L/CD40 系をブロックすることにより上皮細胞のアポトーシスを阻害し、腺細胞死を抑制できることを示唆しており、治療への応用が期待される。

E. 結論

ヒト唾液腺培養上皮細胞を用いた研究は病因、病態の解明や新しい治療法の開発に必須である。今回の検討結果は、年余に渡り徐々に組織障害が進展し唾液腺機能廃絶へと至る SS 患者唾液腺に対し、サイトカインによる唾液腺上皮細胞の増殖促進を狙った治療や自己の腺細胞を in vitro にて増幅後移植する自家細胞移植療法、さらに Fas 抗原や CD40/40L を分子標的とするアポトーシス阻害による新たな治療法の可能性を示唆して