

study of repetitive treatment with humanized anti-interleukin 6 receptor antibody, MRA, in rheumatoid arthritis -a phase I/II clinical study of MRA for rheumatoid arthritis in Japan-. *J. Rheum.* 2003 (in press).

- 7) Katsume A, Saito H, Yamada Y, Yorozu K, Ueda O, Akamatsu K, Nishimoto N, Kishimoto T, Yoshizaki K, Ohsugi Y. Anti-interleukin 6 (IL-6) receptor antibody suppresses Castleman's disease like symptoms emerged in IL-6 transgenic mice. *Cytokine* 2003 (in press).
 - 8) Goya S, Matsuoka H, Mori M, Morishita H, Kida H, Kobashi Y, Kato T, Taguchi Y, Osaki T, Tachibana I, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kawase I, Hayashi S. Sustained interleukin-6 signaling leads to the development of lymphoid organ-like structures in the lung. *J. Pathol.* 2003 (in press)
 - 9) Nakahara H, Song J, Sugimoto M, Hagihara K, Kishimoto T, Yoshizaki K, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor (VEGF) production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 (in press).
- ## 2. 学会発表
- 1) Nishimoto N,: Anti-interleukin-6 therapy of rheumatoid arthritis. 11th International Rheumatology Symposium. Kobe, Japan. 2002.04.22-24
 - 2) Nishimoto N, Maeda K, Kuritani T, Deguchi H, Sato B, Imai N, Kakehi T, Suemura M, Kishimoto T, Yoshizaki K,: Safety and efficacy of repetitive treatment with humanized anti-interleukin-6 receptor antibody in rheumatoid arthritis. 6th International Symposium on the Immunotherapy . Limassol, Cyprus. 2002.05.15-19
 - 3) Yoshizaki K, Nishimoto N, Kishimoto T,: New therapeutic strategy by the way of interleukin 6 (IL-6) blocking with humanized anti IL-6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis, a hyper IL-6 syndrome. 26th International Congress of Internal Medicine. Kyoto. 2002.05.27
 - 4) Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Hashimoto J, Azuma J, Kishimoto T,: A multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of humanized anti-interleukin-6 (IL-6) receptor monoclonal antibody (MRA) in rheumatoid arthritis (RA) (Oral). 66th National Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology. New Orleans, USA. 2002.10.25-29
 - 5) Nishimoto N, Nakahara H, Yoshizaki K,: Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy normalized serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with rheumatoid arthritis (RA). 66th National Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology. New Orleans, USA. 2002.10.25-29
 - 6) Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakano N, Nakamura M, Ikeda Y, Sasaki T, Nishioka K, Hara M, Taguchi H, Kimura Y, Kato Y, Kishimoto T, Yoshizaki K,: Improvement of wasting by treatment with a humanized anti-interleukin-6 receptor (IL-6R) monoclonal antibody, MRA in multicentric Castleman's disease, a phase II clinical trial of 28 patients. 44th Annual Meeting of the American Society of Hematologists. Philadelphia, USA. 2002.12.06-10
 - 7) Yoshizaki K, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Kodama F, Kumagai S, Asaoku H, Kishimoto T, Nishimoto N,: A dose finding study of a humanized anti-interleukin-6 receptor (IL-6R) monoclonal antibody, MRA in multicentric Castleman's disease. 44th Annual Meeting of the American Society of Hematologists. Philadelphia, USA. 2002.12.06-10
 - 8) 西本憲弘, 中原英子, 萩原圭祐, 吉崎和幸,: 多剤抵抗性 RA, アミロイドーシス合併 RA に対するヒト型化抗 IL-6 レセプター抗体治療. 第 46 回日本リウマチ学会. 神戸・神戸国際会議場. 2002.04.22-24
 - 9) 西本憲弘,: IL-6 の病態意義と IL-6 阻害によ

る治療的意義.日血・臨血合同シンポジウム,
2002.09

- 10) 西本憲弘,:IL-6 を標的分子とする骨髓腫・
Castleman 病の治療法の開発. 第 64 回日本
血液学会・第 44 回日本臨床血液学会. 横
浜・パシフィコ横浜. 2002.09.12-15

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

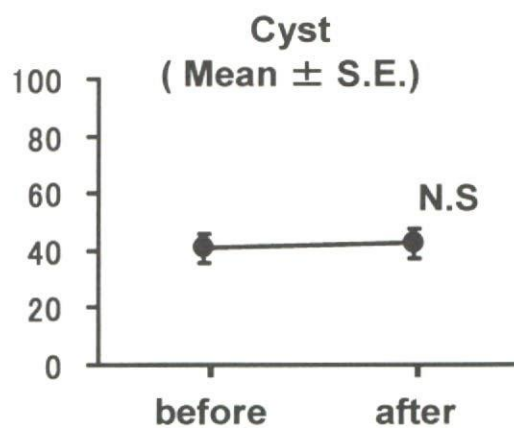
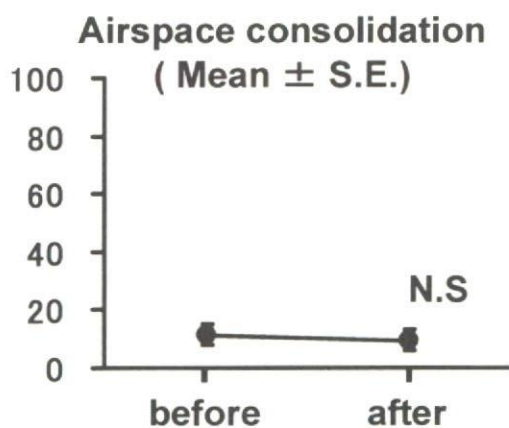
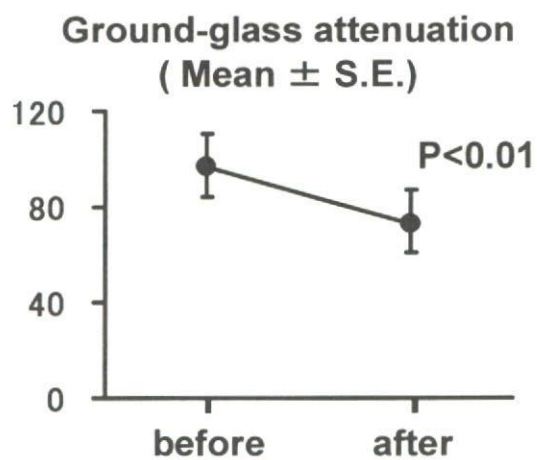
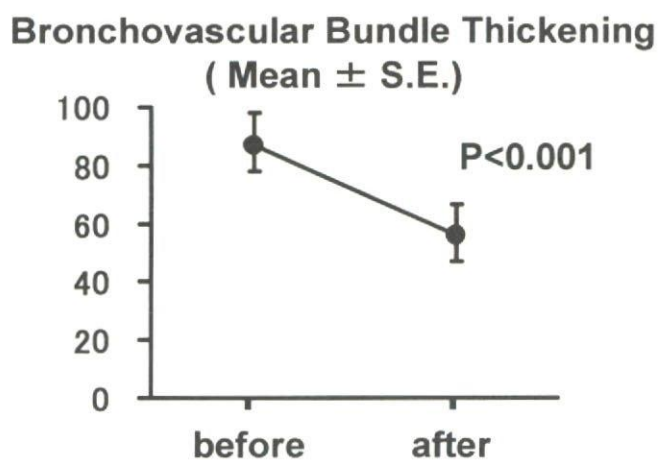
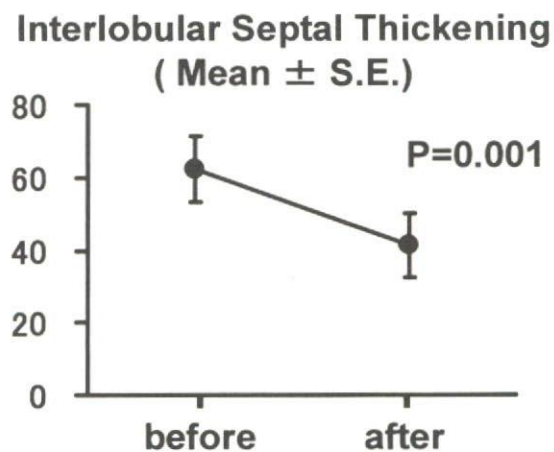
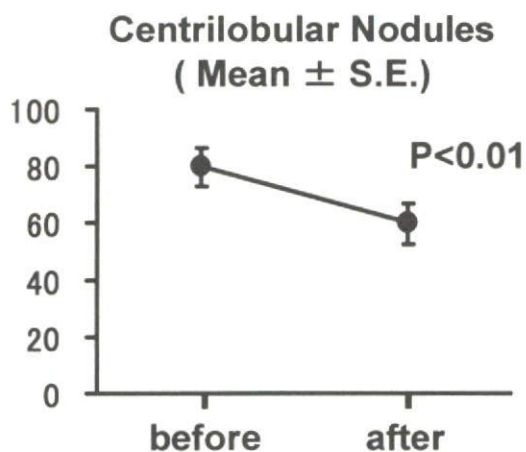


図1. 高分解能CT(HRCT)による間質性肺炎の評価

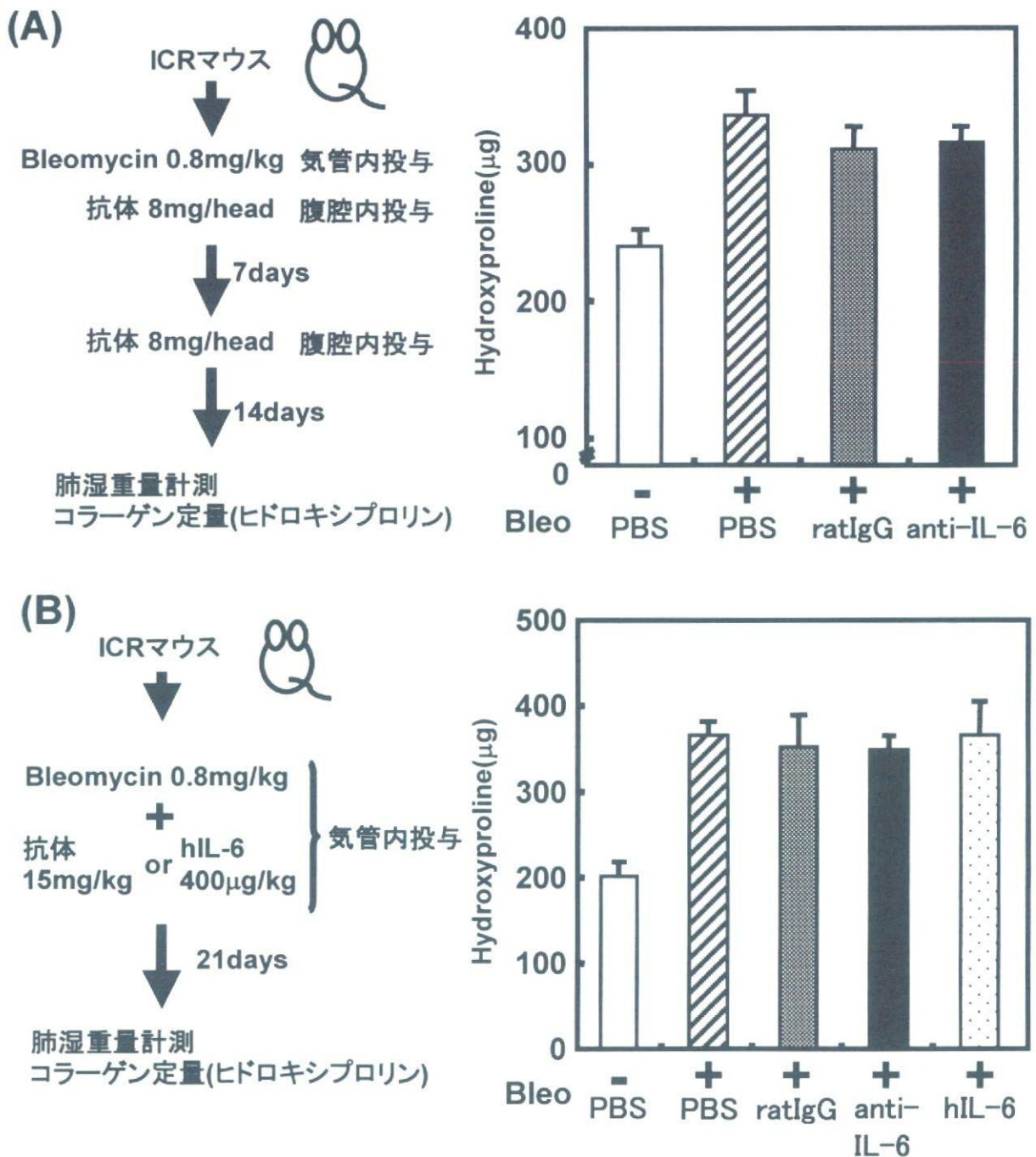


図2. プレオマイシン誘導性間質性肺炎モデルマウスにおける抗IL-6レセプターによる肺線維化の抑制効果の検討

(A) ICRマウスにプレオマイシン(0.8mg/kg)の気管内投与により間質性肺炎を誘導し、ラット抗マウスIL-6レセプター抗体、MR16-1(8mg/匹、腹腔内2回投与)による肺線維化抑制効果を検討した。肺線維化はヒドロキシプロリン量を測定し定量化した。

(B) 同様にラット抗マウスIL-6レセプター抗体、MR16-1を気道内投与し、肺線維化抑制効果を検討した。また、リコンビナントIL-6による間質性肺炎の増強の有無を検討した。いずれにおいても、抗IL-6レセプター抗体はプレオマイシンによる線維化を抑制しなかった。また、リコンビナントIL-6による間質性肺炎の増強も認めなかった。

CT像	病変部位	病理像	結果
小葉中心性粒状影 小葉間隔壁の肥厚 気管支血管束の肥厚	広義間質	炎症細胞浸潤 繊維化	↘
スリガラス陰影	肺泡隔壁	炎症細胞浸潤	↘
浸潤影	肺泡・肺泡隔壁	炎症細胞浸潤 肺泡内の浸出液など	→
のう胞	肺泡・肺泡隔壁	肺泡の破壊	→

表1.MRA治療によるHRCT所見の変化と病理像

膠原病に合併する難治性間質性肺炎に対する タクロリムスの有用性に関する検討

宮坂 信之

（東京医科歯科大学大学院生体応答調節学/膠原病・リウマチ内科 教授）

研究要旨

膠原病に合併する難治性間質性肺炎に対する新たな治療法を開発する目的で、タクロリムスの有用性について検討を開始した。症例検討によりその有用性が示唆され、従来予後不良とされた膠原病に合併する難治性間質性肺炎の新たな治療法が開発される可能性がある。今後前向き検索的・検証的治験を企画・実行し、更なる検討を進めていく予定である。

A. 研究目的

間質性肺炎（IP）は膠原病に高頻度に合併する。その臨床経過は一律ではなく、ほぼ無症候性に経過する症例がある一方、亜急性に進行しADLを徐々に低下させていく症例や、急性に進行し様々な免疫抑制療法に無反応で高い致死率を呈する症例も多く存在する。

これまでのところ膠原病に合併するIPには確立された治療法はなく、一般に大量ステロイド療法が用いられるが半数以上の症例は抵抗性である。症例報告や後ろ向き試験によりそのような症例に対しシクロスポリン

（CsA）やシクロホスファミド（CPA）の有用性が示唆されているが、いずれに対しても治療抵抗性を示す難治性症例が存在するのも事実であり、また副作用のためにそれらの治療を継続使用できない症例も多く存在する。したがって、ステロイド抵抗性の膠原病に合併するIPの新たな治療法を開発する必要がある。

膠原病に合併するIPにおいては、肺胞・間質に多数存在する活性化されたT細胞が病態に大きく関与していると考えられている。したがって我々は、CsAと同じく

Calcineurin 不活化によりT細胞機能を抑制し、且つCsAより100倍近く強力なタクロリムスに注目し、膠原病に合併する難治性IPにおけるその有用性の評価を行った。

B. 研究方法

本研究を行うに当たり、以下の三つのステップを設定した。

まず、1) Retrospective にタクロリムスを使用した症例の検討を行う。そしてこれによりタクロリムスの有用性が示唆されれば、2) 検索的治験として Prospective open trial を企画・実行し、タクロリムスの安全性(safety)を評価・治療効果(efficacy)の更なる予備知識を獲得・後の検証的試験のためのデザイン、エンドポイント、そして方法論の根拠を獲得する。そして安全性が示され、治療効果に関する好ましいデータが得られれば、3) 治療効果の更なる立証のために検証的治験として Prospective comparative trial を企画・実行する。

本年度はまず第一ステップとして、当科における膠原病に合併したIPでタクロリムスを少なくとも2ヶ月以上投与された症例を体

系的に検索し、得られた症例において客観的な検査データをもとにタクロリムスの有用性について評価した。

C. 研究結果

当科における過去の入院患者のデータベースを検索したところ、上記の患者選択基準を満たす症例が3例判明した。

1) 症例1

56歳女性、1998年夏に抗Jo-1抗体陽性多発性筋炎を発症した。筋外病変なく経口ステロイド療法にて寛解となったが、2000年春、労作時息切れを自覚するようになった。高分解能CTにて両側下肺胸膜下に網状影及びすりガラス様陰影認め(Fig.1)、呼吸機能検査で拘束性傷害を呈し、IPの合併と診断された。これに対してCsAを6週間投与、またステロイド大量療法を行うも改善せず、続いてCPAパルス療法を開始したところIPに著明な改善を認めた。その後パルスを継続していたが、2002年3月に再び労作時息切れが出現した。呼吸機能検査でも明らかな増悪を認め、またCTでは下肺胸膜下の網状影の増強を認めたため、IPの増悪と判断、CPAパルス療法よりタクロリムスに変更したところ症状の著明な改善を認め、CT画像上の更なる進行を食い止めることに成功した。

2) 症例2

69歳女性、2002年冬、下肢の脱力に気づく。その後まもなく労作時息切れ出現し、皮膚筋炎及びそれに合併するIPと診断された。また、汎血球減少及びフェリチン高値を呈していたことから血球貪食症候群の合併も示唆された。これらに対しステロイド大量療法及びCsAを同時に開始し、筋炎と血球貪食症候群は改善を示したが、IPは改善しなかった。そのため9週間後にCsAよりCPAパルス療法に変更したが、1回目のパルス後末梢血リンパ球数が100未満まで低下・遷延し、カリニ肺炎を併発した。カリニ肺炎の治療後IPに対してタクロリムスを使用したところ臨床症状改善し、呼吸機能検査にて%FVC及び%DLCO

が安定化、更にCT画像上のすりガラス様陰影も減弱し(Fig.2)、ステロイド剤の減量が可能となった。

3) 症例3

50歳男性、2001年秋、関節痛・発熱・皮疹出現。その後まもなく心嚢液貯留及び肺うっ血を来し、成人発症Still病とそれに合併する心膜炎と診断された。ステロイド大量療法及び利尿剤投与を行い、関節炎と肺うっ血は改善したが呼吸苦取れず、2002年1月、高分解能CTにてIP及び縦隔気腫が認められた。2月よりCPAパルス療法を開始し、ステロイド剤の速やかな減量を行ったところ呼吸苦改善し縦隔気腫も一旦消失した。その後CPAパルスをトータル5回投与したが、末梢血リンパ球数が数百台まで低下・遷延したためパルス療法を継続できずにいたところ、9月に労作時息切れ増強、CTにて網状影及びすりガラス様陰影の増強と縦隔気腫の再発が確認された。CsAが5週間投与されたが改善を見ず、10月よりタクロリムスに変更したところ、症状改善しCT画像においては悪化を認めず、結果ステロイド剤の更なる減量が可能になり、縦隔気腫もまもなく消失した(Fig.3)。

D. 考察

IPは膠原病に高頻度に合併する。その頻度は、基礎にある膠原病及びIPの定義の仕方により異なるが、多発性筋炎、皮膚筋炎、強皮症、関節リウマチ、などでは40-70%であるという報告もある。現在膠原病に合併するIPには確立された治療法はない。一般に大量ステロイド療法が用いられるが、これに関する厳密なエビデンスは存在せず、経験的にもこれのみで改善する症例は全体の半分以下だと報告されている。つまり、半数以上の症例は大量ステロイド療法ではコントロールがつかず、更なる免疫抑制療法が必要である。このようなステロイド抵抗性のIPに対して、症例報告や後ろ向き試験によりCsA、そしてCPAの有用性が示唆されているが、いずれの

治療にも抵抗性の難治性症例が存在するのも事実であり、また副作用のためにそれらの治療を継続使用できない症例も多く存在する。したがって、ステロイド抵抗性の膠原病に合併する IP の新たな治療法を開発する必要がある。

タクロリムスは CsA と同じく Calcineurin 不活化により T 細胞機能を抑制することによってその免疫抑制効果を発揮し、且つ CsA より 100 倍近く強力である。既に米国では臓器移植後の拒絶反応予防への使用が承認されているが、最近ステロイド剤及びメトトレキサートに加えて更にアザチオプリンや大量免疫グロブリン療法、CPA などにも治療抵抗性を示した多発性筋炎に合併した IP の数症例においてタクロリムスが有効であったと報告された。膠原病に合併した IP に対するタクロリムスの治療効果の報告は本邦でも国外でも他になく、また多くの患者で予後規定因子となっている治療抵抗性の IP に対する新たな治療法を開発することが急務であることから、我々は膠原病に合併した IP に対するタクロリムスの有用性の検討を始めた。今回その第一ステップとして、タクロリムスが使用された症例を体系的に検索し、客観的評価を試みた。

我々が経験した症例はいずれもステロイド大量療法、CsA、そして CPA に対して抵抗性を示したかまたは副作用のため継続不可能な症例であったにもかかわらず、タクロリムスの使用は客観的な有効性を示した。すなわち、症例 1 では CT 画像上の病変の安定化が、症例 2 では呼吸生理所見の安定化及び CT 画像上の改善が、そして症例 3 では CT 画像上の病変の安定化、ステロイド剤の減量、そして縦隔気腫の消失が達成された。また、いずれの症例においても重篤な有害事象は見られなかった。これらは膠原病に合併する難治性 IP におけるタクロリムスの有用性を示唆するものであると考えられる。

従って現在我々は、タクロリムスの治療効果の立証のための第 2 ステップ・検索的治験として Prospective open trial を企画中である。Table に、その概略を記した。ここではタクロリムスの安全性

(safety) を評価し、治療効果 (efficacy) の更なる予備知識を獲得することが主目的である。また、後に企画される検証的治験のためのデザイン、エンドポイント、そして方法論の根拠を獲得することも目的である。

以上より、膠原病に合併する難治性 IP に対するタクロリムスの有用性に関する更なる検討を進めていく必要があると強く考えられる。今後我々は、他研究機関の研究者達とも討議を重ね、現在企画している検索的治験、そして後の検証的治験を通してその検討を進め、治療効果の立証を行っていく意向である。

E. 結論

タクロリムスは膠原病に合併する難治性 IP に対する治療法として有用である可能性があり、その更なる検討を今後前向き検索的・検証的治験を通して体系的に行っていきたい。これにより、従来予後不良とされた膠原病に合併する難治性 IP の新たな治療法が開発される可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1) Nagasaka K, Harigai M, Tateishi M, Hara M, Yoshizawa Y, Koike T, Miyasaka N: Efficacy of combination treatment with cyclosporine A and corticosteroids for acute interstitial pneumonitis associated with dermatomyositis. Mod Rheumatol. In press.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

Figure 1. 症例 1 の胸部 C T 画像において、両側下肺胸膜下に網状影及びすりガラス様陰影を認める。

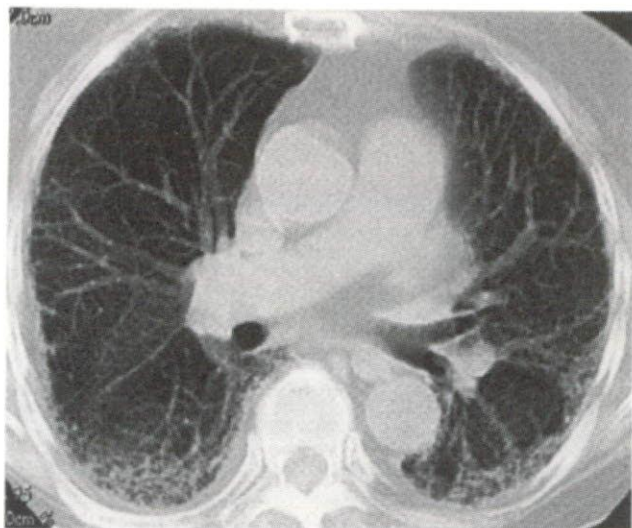


Figure 2. (a) タクロリムス治療開始前の、2002 年 8 月の症例 2 の胸部 C T 画像。 (b) タクロリムス治療開始 2 ヶ月後の症例 2 の胸部 C T 画像。

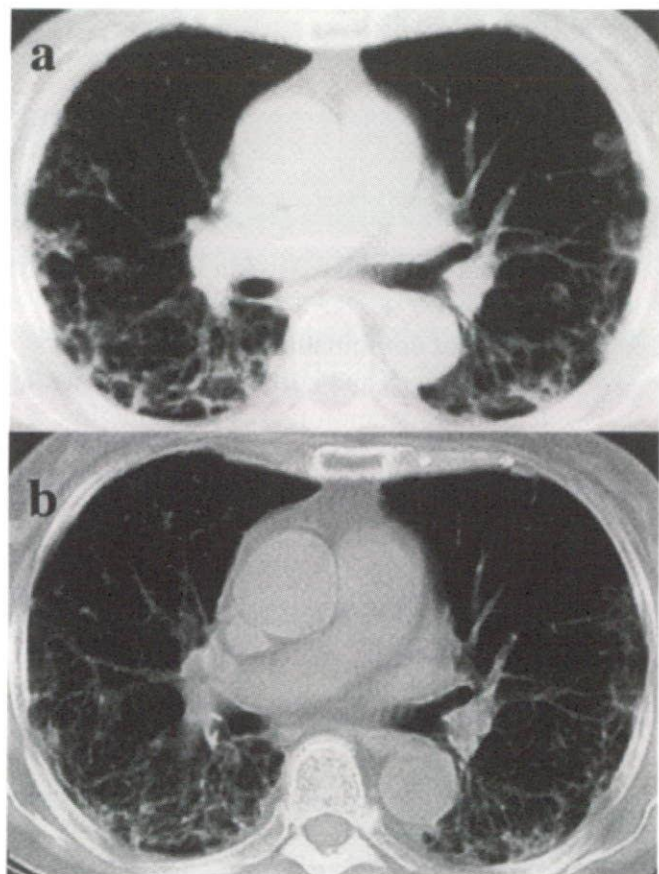


Figure 3. (a) タクロリムス治療開始前の、2002年9月の症例3の胸部CT画像。縦隔気腫が認められる。(b) タクロリムス治療開始2ヶ月後の症例3の胸部CT画像。縦隔気腫は消失している。

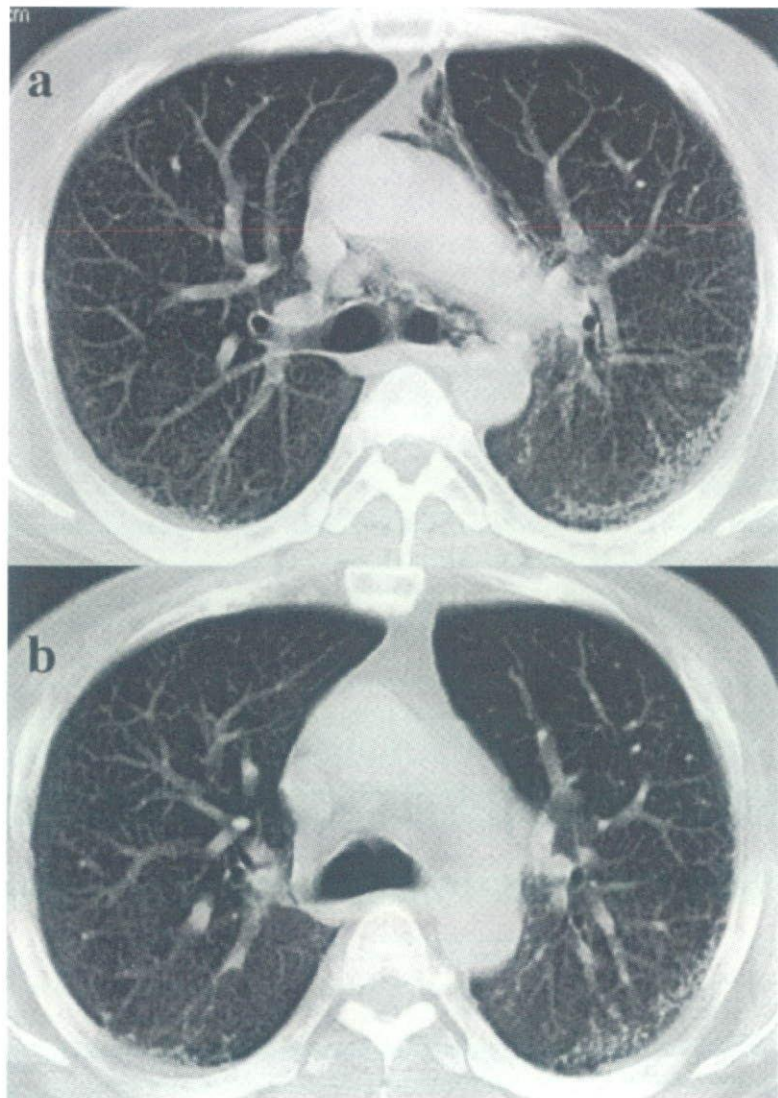


Table. Prospective open trial の概略

1. 対象集団

選択基準:

20 歳以上、75 歳以下で、膠原病の診断基準を満たす。

- 臨床症状・呼吸機能検査・画像上間質性肺炎を呈する。
- ステロイド大量療法・シクロスポリン・シクロホスファミドの少なくとも一つを
 - 4 週間以上投与され増悪。
 - 4 週間以上投与され、増悪しないもステロイド減量不能。
 - 副作用などのため継続不可能。

除外基準:

Room air で PaO₂ が < 50mmHg。

- 他の心・肺疾患、重篤な感染症。
- TLC < 45%pred または高分解能 CT において蜂窩肺のみを呈する末期・非活動性例。
- 呼吸機能検査を満足に行えない何らかの病態の存在。
- コントロール難の高血圧・腎機能低下・耐糖能異常。

2. 介入

投与方法:

標準投与量 0.075mg/kg/day を 1 日 2 回に分けて内服

- タクロリムスの血中濃度を少なくとも 5ng/ml 以上しかし 20 以下に保つ
- 血清クレアチニン値が上昇を続けた場合はタクロリムスの減量または中止。

他の薬物使用:

- ステロイド剤は始めの 2-4 週間は治験開始時と同じ量を維持、その後臨床的に必要で許されれば減量を開始する。
- IP の治療に使われた大量ステロイド・シクロスポリン・シクロホスファミドは Washout period を必要としない。
- 原疾患の維持療法として使われていた免疫抑制剤は治験開始前 3 ヶ月間の量が一定しておれば使用可能とする（シクロスポリン・シクロホスファミドを除く）。ただし治験中もできるかぎり同じ量を維持する。
- カリニ肺炎予防。

3. Outcome

安全性 (Safety): 4 週ごとに、NCI の CTC (Common Toxicity Criteria) ガイドラインに沿って評価。

治療効果 (Efficacy):

(1) 各変数

- 呼吸機能検査: (4 週ごと) % p FVC, %pDLCO, AaDO₂
- 画像 (4 週ごと): 高分解能 CT
- ADL (12 週ごと): HAQ
- QOL (12 週ごと): SF-36

(2) 総合評価変数

以下のいずれか一つでも満たし、他では同じ数値で逆行性の変化をとらないものを“**改善**”、いずれか一つでも同じ数値で逆行性の変化をとるものを“**増悪**”、それ以外を“**Stable**”と定義する。

- %pFVC の 10% 以上の上昇
- %pDLCO の 20% 以上の上昇
- 同じ FiO₂ で 3% 以上の酸素飽和度の上昇

治療反応例: (1) 上記の“改善”を満たす、または (2) “Stable”でかつステロイド減量を達成した症例と定義する。

シェーグレン症候群唾液腺上皮細胞死における Fas および CD40 の役割に関する研究

小川法良（金沢医科大学・血液免疫内科）
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無血清培養法を確立し、唾液腺上皮細胞死における IFN γ 、Fas および CD40 の関与を報告した。今回、この培養系を用いて上皮細胞死における Fas および CD40 の役割について分子学的検討を行った。その結果、1) IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞に抗 Fas 抗体および抗 CD40 抗体を作用させるとアポトーシスが誘導されたが、この系に抗 Fas 中和抗体を加えるとアポトーシスはほぼ完全に抑制された。2) CD40 からの刺激は、IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞において Fas death 経路の細胞死抑制分子である FLICE-inhibitory protein (FLIP) の発現を抑制し、上皮細胞死を促進していることが示唆された。以上より、SS 唾液腺においては浸潤リンパ球から産生される IFN γ により活性化された唾液腺上皮細胞が Fas および CD40 を発現し、その状態で FasL および CD40L を発現する活性化 T 細胞より刺激を受けてアポトーシスにより死に至るメカニズムが示唆された。CD40 や FLIP は将来的な分子標的治療のターゲットとなりうる可能性を持つ。

A. 研究目的

我々は、無血清培地を用いてシェーグレン症候群（SS）患者口唇小唾液腺組織より上皮細胞を特異的に分離培養する方法を確立し、これを用いて唾液腺上皮細胞死には IFN γ 、Fas および CD40 が重要であることを報告した。今回、SS 唾液腺上皮細胞を用いて、1) 唾液腺上皮細胞死に対する Fas 中和抗体（ZB4）の影響、2) CD40 刺激の Fas death 経路に対する作用について解析した。

B. 研究方法

1) 唾液腺上皮細胞死に対する Fas 中和抗体（ZB4）の影響の解析

Fas および CD40 により誘導される唾液腺上皮細胞死が Fas death 経路を介するのか、あ

るいは CD40 の細胞内伝達系を介するのかを検討するため、IFN γ 刺激後の上皮細胞に、1) 抗 Fas 抗体+抗 CD40 抗体、2) 抗 Fas 抗体+抗 CD40 抗体+抗 Fas 中和抗体（ZB4）を添加後、TUNEL 法にてアポトーシス細胞を解析し、Fas death 経路を阻害した場合の上皮細胞死を検討した。

2) CD40 刺激の Fas death 経路に対する作用の解析

CD40 を介する刺激が Fas death 経路をどのように改変して細胞死を促進するかを検討するため、抗 CD40 抗体または sCD40L の存在、非存在下で IFN γ 刺激唾液腺上皮細胞における 1) Fas、FLIP、FAP-1、2) bcl-2、bcl-xL、bcl-xS の発現を RT-PCR 法および Western blot 法にて検討した。

C. 研究結果

1) 唾液腺上皮細胞死に対する Fas 中和抗体 (ZB4) の影響

IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞に抗 Fas 抗体および抗 CD40 抗体を作用させるとアポトーシスが誘導された。この系に ZB4 を加えるとアポトーシスはほぼ完全に抑制された(図 1)。これは正常唾液腺上皮細胞においても同様に認められた。

2) CD40 刺激の Fas death 経路に対する作用

IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞において、CD40 刺激 (抗 CD40 抗体あるいは sCD40L) の存在および非存在下にて、1) Fas、FLIP、FAP-1、2) bcl-2、bcl-xL、bcl-xS の発現を RT-PCR 法にて解析したところ、CD40 刺激にて FLIP および bcl-xL 発現の低下を認めたが、他の分子の発現レベルに変化を認めなかった (図 2 A, B)。FLIP の発現減少は Western blot 法にて蛋白レベルでも確認されたが (図 3)、Bcl-xL の蛋白発現レベルに有意な変化はなかった (図 4)。

D. 考察

SS 唾液腺上皮細胞は浸潤リンパ球により局所に産生された IFN γ により Fas、CD40 発現を増大させる。この状態において FasL および CD40L を発現した活性化 T 細胞が作用すると、上皮細胞がアポトーシスに至るものと想定される。今回の検討により、SS 唾液腺上皮細胞死は Fas を介するものであること、CD40 からの刺激が Fas death 経路に関与するアポトーシス抑制分子、FLIP の発現を抑制することにより唾液腺上皮細胞死を促進している可能性が示唆された。

E. 結論

SS 患者における唾液腺組織障害に対し、唾液腺上皮細胞死を阻害することを目的とした分子標的治療において、CD40 やその制御下にある FLIP がターゲットとなりうる可能性が示された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa, N., Ping, L., Zhenjun, L., Takada, Y., Sugai, S. Involvement of IFN γ -induced T cell-attracting chemokines, IFN γ -inducible protein of 10kDa; IP-10 (CXCL10) and monokine induced by IFN γ ; Mig (CXCL9) in the salivary gland lesions of Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 46(10):2730-2741, 2002

2. 学会発表

1、小川法良、高田由紀子、下山久美子、川端 浩、正木康史、和野雅治、菅井 進。シェーグレン症候群唾液腺培養上皮細胞におけるケモカイン発現。第 46 回日本リウマチ学会総会 神戸、2002 年 4 月 22-24 日 リウマチ 42 (2) : 321

2、高田由紀子、小川法良、下山久美子、川端 浩、正木康史、和野雅治、菅井 進。シェーグレン症候群唾液腺培養上皮細胞におけるアポトーシス関連分子及び副刺激分子の発現。第 46 回日本リウマチ学会総会 神戸、2002 年 4 月 22-24 日 リウマチ 42 (2) : 395

3、李 萍、小川法良、菅井 進。Study of proliferation and apoptosis in cultured salivary epithelial cells from patients with Sjogren's syndrome. 第 46 回日本リウマチ学会総会 神戸、2002 年 4 月 22-24 日 リウマチ 42 (2) : 395

4、Ogawa, N., Ping, L., Zhenjun, L., Takada, T., Sugai, S. Involvement of IFN-gamma-induced T cell-attracting chemokines, IP-10 (CXCL10) and Mig (CXCL9), in the salivary gland lesions of Sjogren's syndrome. 第 8 回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002 年 5 月 16-18 日 第 8 回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p10

5. Ping, L., Ogawa, N., Sugai, S. Study of proliferation and apoptosis in cultured salivary epithelial cells from patients with Sjogren's syndrome. 第 8 回国際シェーグレン症候群シンポ

ジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p35

6. Katano, K., Ogawa, N., Sugai, S. et al. Fibrotic sialadenitis in patients with anti-centromere antibody positive Sjogren's syndrome. 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p16

7. Masaki, Y., Ogawa, N., Sugai, S. et al. Mantle cell lymphoma and marginal zone lymphoma associated with sicca symptoms due to lymphocyte infiltration of minor salivary glands. 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p21

8. Hirose, Y., Ogawa, N., Sugai, S. et al. Epstein-Barr virus study in malignant lymphoma in Sjogren's syndrome. 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p52

9. Ebata, K., Ogawa, N., Sugai, S. et al. Marginal zone lymphoma complicated with Sjogren's syndrome and hepatitis C virus infection. 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p53

10. Dong, L. L., Ogawa, N., Sugai, S. et al. Two cases with acute myelogenous leukemia developed in the course of Sjogren's syndrome. 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p53

11. Kato, S., Sugai, S. et al. The analysis of IgVH-CDR3 of B cell populations in the swollen lachrymal gland tissues in two patients with Sjogren's syndrome. 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム 金沢、2002年5月16-18日 第8回国際シェーグレン症候群シンポジウム抄録集 p53

12. Ogawa, N., Ping, L., Sugai, S. Involvement of IFN γ -induced T cell-attracting chemokines, IP-10 (CXCL10) and Mig (CXCL9), in the salivary gland lesions of Sjogren's syndrome. 10th

APLAR, Bangkok, Thailand, 2002年12月1-6日 10th APLAR 抄録集 p85

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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

図1 SS唾液腺上皮細胞死に対するFas中和抗体的作用

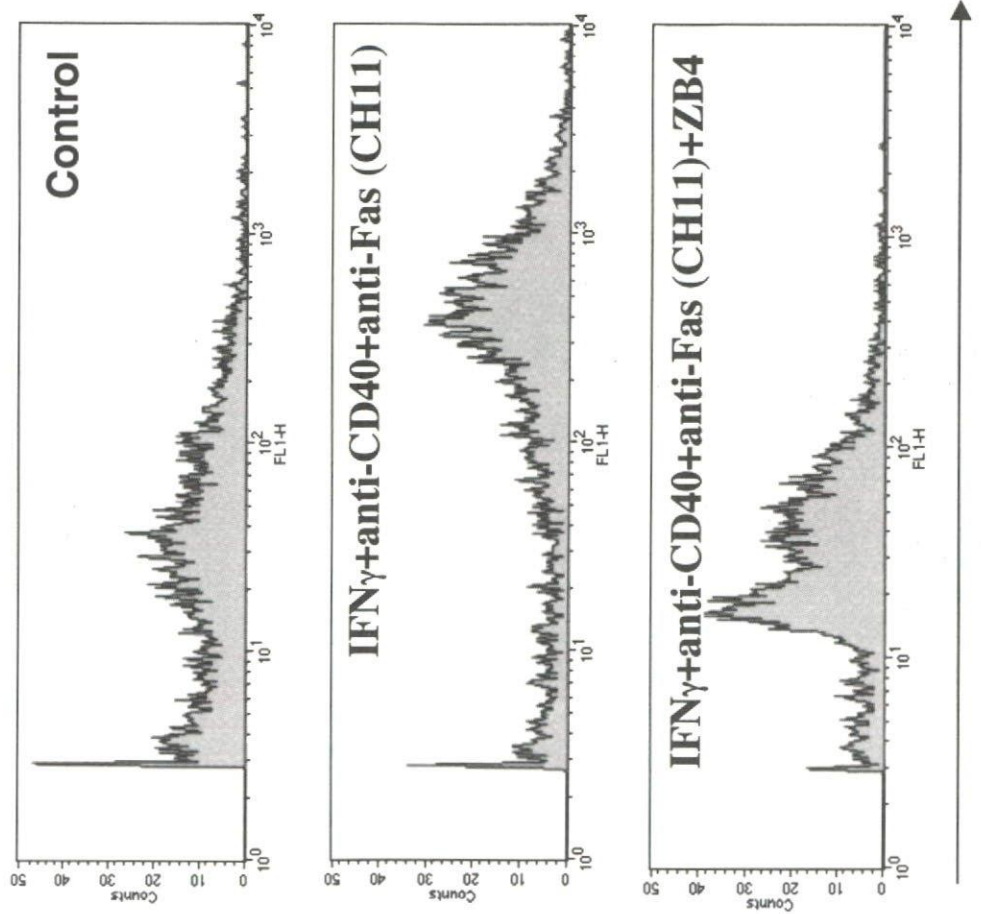


図2 A 唾液腺上皮細胞のFas, FLIP, FAP-1発現に対する
IFN γ および抗CD40抗体の作用(RT-PCR法)

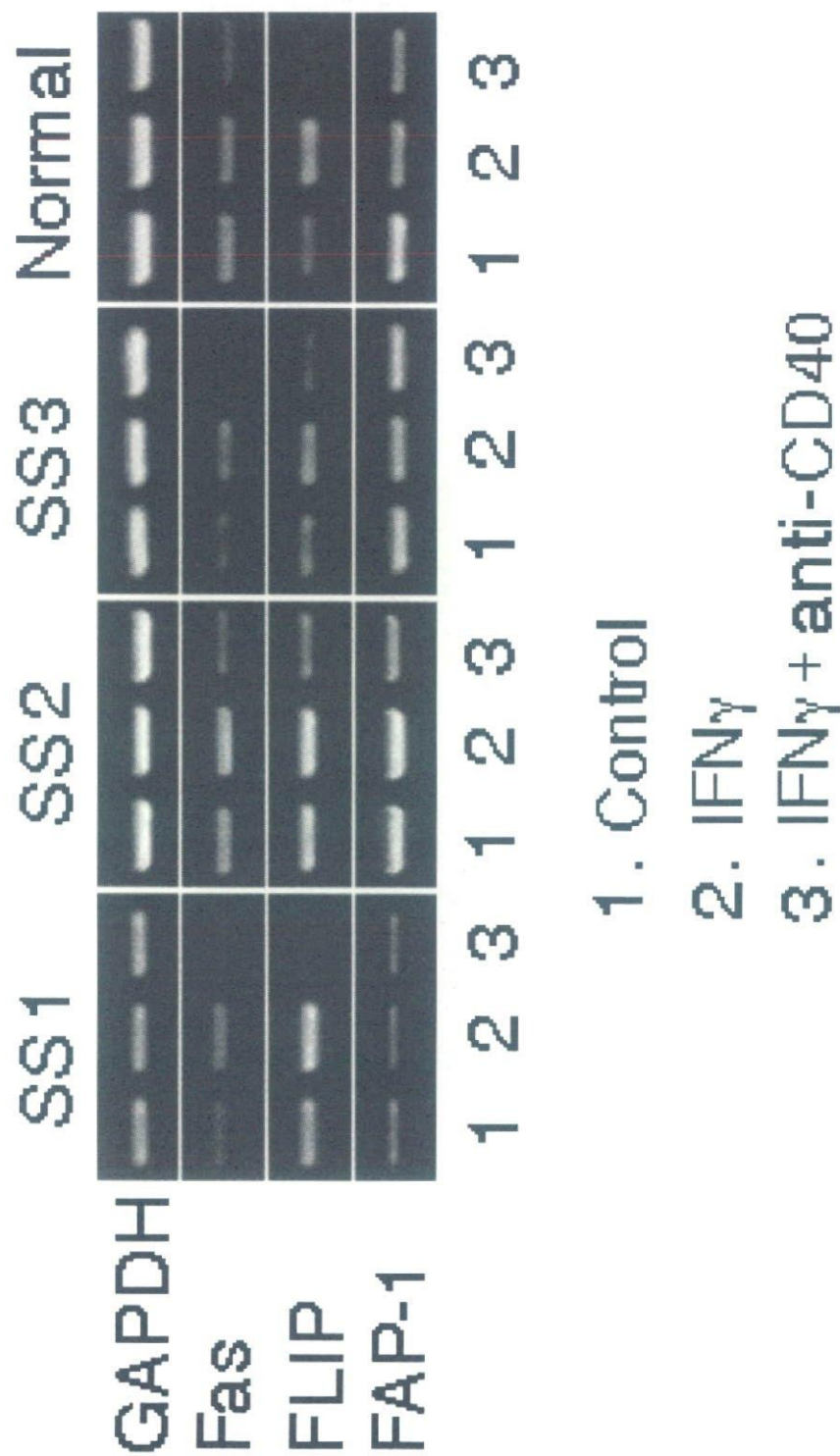


図2B 唾液腺上皮細胞のBcl-2, Bcl-x発現に対する
IFN γ および抗CD40抗体の作用(RT-PCR法)

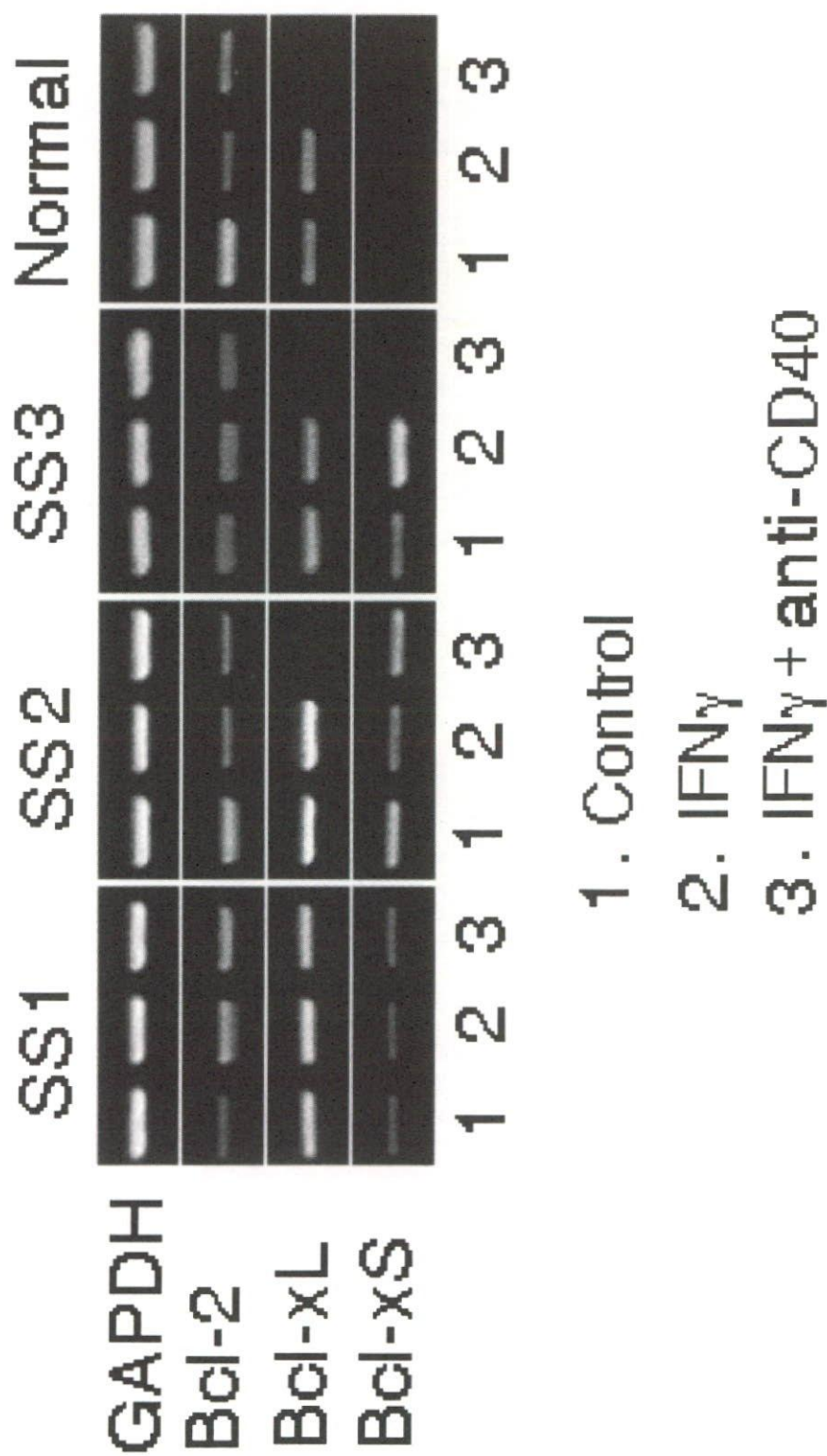
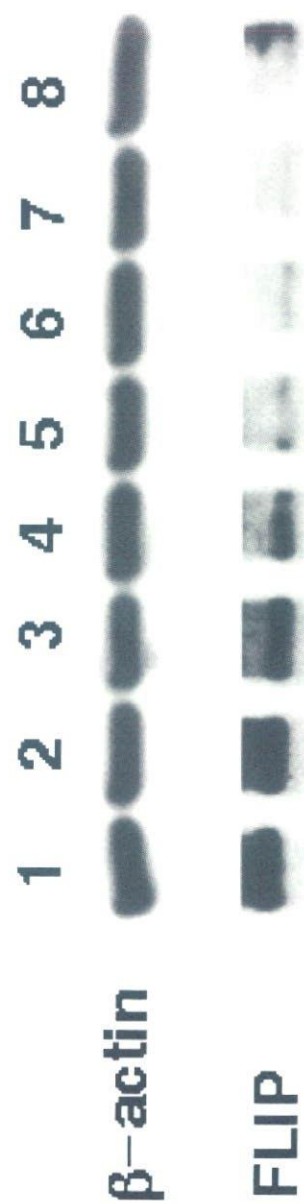
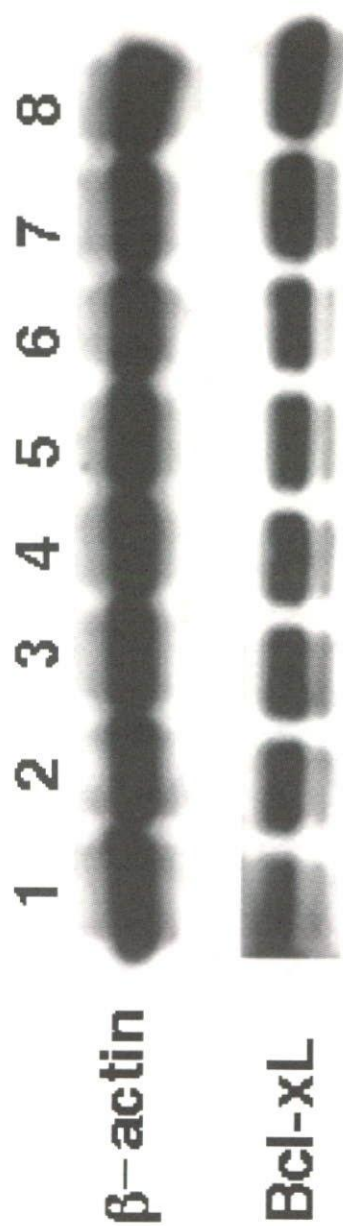


図3 SS唾液腺上皮細胞のFLIP発現に対する
IFN γ およびsCD40Lの作用(Western blot法)



1. Control
2. IFN γ for 24h
3. IFN γ + sCD40L for 4h
4. IFN γ + sCD40L for 8h
5. IFN γ + sCD40L for 12h
6. IFN γ + sCD40L for 24h
7. IFN γ + sCD40L for 48h
8. IFN γ + sCD40L for 72h

図4 SS唾液腺上皮細胞のBcl-xL発現に対するIFN γ およびsCD40Lの作用(Western blot法)



1. Control
2. IFN γ for 24h
3. IFN γ + sCD40L for 4h
4. IFN γ + sCD40L for 8h
5. IFN γ + sCD40L for 12h
6. IFN γ + sCD40L for 24h
7. IFN γ + sCD40L for 48h
8. IFN γ + sCD40L for 72h

シェーグレン症候群の発症および進展機序に関する研究

江口勝美（長崎大学医学部内科学第一講座）

研究要旨

シェーグレン症候群（SS）の発症および進展機序について、Toll-like receptors (TLRs) との関連性を検討した。SS 口唇小唾液腺組織の腺房細胞、導管上皮細胞、浸潤単核球には TLR2、TLR4 および MyD88 の発現が検出されたが、コントロール症例でのこれら発現は軽度であった。次に唾液腺細胞における機能的 TLR 発現を検討した。培養ヒト唾液腺細胞株（HSG 細胞）には TLR2 と TLR4 発現が検出され、TLR2 リガンド（peptidoglycan: PGN）または TLR4 リガンド（lipopolysaccharide: LPS）添加により培養上清中 IL-6 産生および HSG 細胞表面の CD54 発現は増強された。TLR リガンド刺激によるアポトーシス感受性の変化も検討したが、PGN または LPS 刺激後の HSG 細胞表面の Fas と TRAIL receptor 発現には変化はなく、また、HSG 細胞の Fas 依存性アポトーシスと TRAIL 依存性アポトーシスも、TLR リガンド刺激による変化は認められなかった。以上の結果より、SS 唾液腺細胞に発現する TLRs はサイトカイン産生や副刺激分子発現を介し、SS 唾液腺組織の慢性炎症反応を増強することが示唆された。

A. 研究目的

SS は外界と接する涙腺および唾液腺が主病変であり、その発症・進展には自然免疫の関与が示唆される。TLRs は細菌菌体成分など病原体を認識する受容体として同定されたが、TLRs を介する刺激はサイトカイン遺伝子発現・樹状細胞の成熟分化・アポトーシス感受性などを制御し、TLRs 機能的発現と炎症性疾患・自己免疫疾患との関わりが注目されている。SS は涙腺および唾液腺組織の慢性炎症性疾患であり、病態とサイトカイン・アポトーシス制御異常との関連性が示唆されている。本年度は SS と TLRs との関連性を検討するため、SS 唾液腺組織での TLRs 発現と培養唾液腺細胞株における機能的 TLRs 発現を検討した。

B. 研究方法

1. 免疫組織学的検討は、すべて文書でのインフォームド・コンセントが得られている症例

を用いた。SS 症例（9 症例）およびコントロール症例（3 症例：乾燥症状はあるも生検で細胞浸潤がなかった症例）の口唇小唾液腺組織を用い、腺房細胞、導管上皮細胞、浸潤単核球の TLR2、TLR4 および MyD88 発現を免疫染色で検討した。

2. 培養唾液腺細胞株（HSG 細胞）を用いた実験では、TLR2 と TLR4 発現は FACS にて検討した。これらレセプターの機能的発現の確認は、TLR2 リガンド（peptidoglycan: PGN）または TLR4 リガンド（lipopolysaccharide: LPS）を添加培養後の IL-6 産生（培養上清を用いた ELISA）と細胞表面 CD54 発現（FACS）を検討した。次にアポトーシス感受性の変化を、PGN または LPS 添加後の Fas および TRAIL receptor (DR4, DR5, DcR1, DcR2) 発現（FACS）とこれらリガンド刺激前後の Fas 依存性アポトーシス（抗 Fas 抗体）および TRAIL 依存性アポトーシス（rTRAIL）の変化（ミトコンド