

である von Willebrand 因子を発現していた。ペリサイトはペリサイトのマーカーである α -smooth muscle actin (α -SMA)を発現していた。

D. 考察

筋内小血管を構成する 2 つの細胞である血管内皮細胞とペリサイトを組み合わせることで筋内小血管の体外モデルを構築する事が可能となる。血液脳関門や血液神経関門の機能維持にペリサイトが重要な役割を果たす知見が最近得られているが、近年、筋内小血管のペリサイトが筋内部環境に果たす役割についても注目が集まっている。皮膚筋炎での炎症の首座である血管内皮だけでなく、ペリサイトを加えることにより生理的条件に近い細胞学的特性を備えた体外モデルを構築することが可能となり、それらに皮膚筋炎患者の血清を作用させることで皮膚筋炎の血管内皮障害を分子レベルで解明する病態モデルになりうると考えられる。

E. 結論

ヒト筋内小血管を構成する筋内小血管由来内皮細胞とペリサイトの単離に成功した。これらの細胞は皮膚筋炎の血管内皮障害を分子レベルで解明する有用な病態モデルになりうる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu F, Sano Y, Haruki H, Kanda T. Advanced glycation end-products induce basement membrane hypertrophy in endoneurial microvessels and disrupt the blood-nerve barrier by stimulating the release of TGF- β and vascular endothelial growth factor (VEGF) by pericytes. *Diabetologia* 2011; 54(6):1517-1526.

2. Shimizu F, Sano Y, Takahashi T, Haruki H, Saito K, Koga M, Kanda T.

Sera from neuromyelitis optica patients disrupt the blood-brain barrier. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 19 (in press).

Shimizu F, Sano Y, Saito K, Abe MA, Maeda T, Haruki H, Kanda T.

3. Pericyte-derived Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor Increase the Expression of Claudin-5 in the Blood-brain Barrier and the Blood-nerve Barrier. *Neurochem Res* 2011; 16 (in press).

4. Shimizu F, Sano Y, Abe M, Maeda T, Ohtsuki S, Terasaki T, Kanda T. Peripheral nerve pericytes modify the blood-nerve barrier function and tight

junctional molecules through the secretion of various soluble factors. *J Cell Physiol*. 2011; 226: 255-266.

5. Kashiwamura Y, Sano Y, Abe M, Shimizu F, Haruki H, Maeda T, Kawai M, Kanda T. Hydrocortisone enhances the function of the blood-nerve barrier through the up-regulation of claudin-5. *Neurochem Res*. 2011;36:849-855.

6. Sano Y, Kanda T. Isolation and properties of endothelial cells forming the blood-nerve barrier. *Methods Mol Biol*. 2011;686:417-25.

7. Koga M, Takahashi T, Kawai M, Fujihara K, Kanda T. A serological analysis of viral and bacterial infections associated with neuromyelitisoptica. *J NeurolSci* 2011; 300: 19-22

8. Sano Y, Shimizu F, Kawai M, Omoto M, Negoro K, Kurokawa T, Fujisawa H, Suzuki M, Okayama N, Suehiro Y, Hinoda Y, Kanda T. p.Arg332Cys Mutation of NOTCH3 Gene in Two Unrelated Japanese Families with CADASIL. *Intern Med*. 2011;50:2833-8.

9. 清水文崇, 安部真彰, 神田 隆. 糖尿病性末梢神経障害の病態解明に向けたヒト血液神経関門 *in vitro* モデルの作成. *Peripheral nerve* 2011; 22 (1): 57-63.

10. 竹下幸男 古賀道明 尾本雅俊 小笠原淳一 川井元晴 神田隆

感覚障害を主徴とし、免疫グロブリン静注療法により速やかに改善した遠位型慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーの 46 歳男性例. *臨床神経* 2011; 51: 478-481.

西原秀昭, 小笠原淳一, 古賀道明, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田隆:

11. IgG4 関連自己免疫性膵炎による膵腫大を呈した POEMS 症候群. *臨床神経* 2011;51:417-421

12. 清水文崇, 神田 隆. 血管内皮異常. 医学の歩み「ここまでわかった多発性筋炎・皮膚筋炎」 2011; 239 (1): 58-62.

2. 学会発表

1. Haruki H, Sano Y, Shimizu F, Nakata, Kanda T: Establishment of glio-vascular unit model to reveal of pathogenesis of neuromyelitisoptica The 63rd American Academy of Neurology Annual Meeting, Honolulu, U.S.A. April 14, 2011

2. 小笠原淳一, 尾本雅俊, 清水文崇, 古賀道明, 川井元晴, 神田 隆: 高齢発症の ANCA 関連血

- 管炎ニューロパチーの臨床的特徴と治療選択. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011 年 5 月 16 日.
3. 尾本雅俊, 小笠原淳一, 古賀道明, 川井元晴, 神田 隆: 逆行性感覚神経伝導検査で振幅・速度が基準値内であった腓腹神経生検例の病理学的検討. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011 年 5 月 18-20 日.
4. 川井元晴, 小笠原淳一, 古賀道明, 佐野泰照, 清水文崇, 神田 隆: 認知症患者への虐待に関するもの忘れ外来での対応. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011 年 5 月 18-20 日.
5. 古賀道明, 高橋正樹, 結城伸泰, 神田 隆: ギラン・バレー症候群発症におけるカンピロバクター・シアル化の意義. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋. 2011 年 5 月 18-20 日.
6. 佐野泰照, 齋藤和幸, 清水文崇, 春木明代, 神田 隆: アミロイド β 蛋白の血液脳関門を介した輸送機構の解析. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011 年 5 月 18-20 日.
7. 清水文崇, 佐野泰照, 齋藤和幸, 春木明代, 前田敏彦, 安部真彰, 神田 隆: 視神経脊髄炎血清での血液脳関門破綻メカニズムの解析. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011 年 5 月 18-20 日.
8. 春木明代, 佐野泰照, 清水文崇, 尾本雅俊, 安部真彰, 前田敏彦, 齋藤和幸, 神田隆: 抗 AQP4 抗体陽性患者血清によるアストロサイト細胞死とその機序について. 第 52 回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011 年 5 月 18-20 日.
9. 本田真也, 清水文崇, 藤川 晋, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田 隆: 急性散在性脳脊髄炎を続発した肺炎球菌髄膜炎の 61 歳女性例. 第 104 回日本内科学会中国地方会. 山口, 2011 年 5 月 28 日.
10. 尾本雅俊, 鈴木 諭, 川井元晴, 岩城 徹, 神田 隆: C 型肝炎治療の interferon- α 投与により顕在化した CNS ループスの 62 歳男性剖検例. 第 52 回日本神経病理学会総会. 京都, 2011 年 6 月 2 日.
11. 安部鉄也, 大石真莉子, 川井元晴, 小笠原淳一, 神田 隆: 広範な腕神経叢障害を認めた胸郭出口症候群の 18 歳男性例. 第 90 回神経内科地方会. 岡山, 2011 年 6 月 25 日.
12. 大石真莉子, 川井元晴, 尾本雅俊, 小笠原淳一, 古賀道明, 神田 隆: 二相性の経過を示したポリオワクチン関連麻痺の 38 歳男性例. 第 90 回神経内科地方会. 岡山, 2011 年 6 月 25 日.
13. 田崎彩子, 中野雄太, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田隆: 著明な手指の姿勢時振戦を特徴とした SMAIII 型の 24 歳男性例. 第 90 回神経内科地方会. 岡山, 2011 年 6 月 25 日.
14. 廣重美和, 大石真莉子, 尾本雅俊, 小笠原淳一, 古賀道明, 川井元晴, 神田 隆: 排尿障害を認めたビタミン B1 欠乏症 60 歳男性例. 第 90 回神経内科地方会. 岡山, 2011 年 6 月 25 日.
15. 本田真也, 清水文崇, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田 隆: 頭部 MRI で複数個の病変の拡大をとらえた tumefactive multiple sclerosis の 72 歳男性例. 第 90 回日本神経学会中国四国地方会. 岡山, 2011 年 6 月 25 日.
16. 中野雄太, 清水文崇, 佐野泰照, 小笠原淳一, 古賀道明, 川井元晴, 神田 隆: 臨床症状と頭部 MRI 所見から自己抗体介在性辺縁系脳炎を疑い診断に至った 64 歳男性例. 第 90 回日本神経学会中国四国地方会. 岡山, 2011 年 6 月 25 日.
17. Koga M, Kanda T, Yuki N: GQ1b-seronegative Fisher syndrome: serological study. Biennial Meeting of the Peripheral Nerve Society Potomac, Maryland, USA. June 25-29, 2011.
18. Shimizu F, Sano Y, Takahashi Y, Haruki H, Kanda T: Sera from neuromyelitisoptica patients disrupt the blood-brain barrier. ECTRIMS, Amsterdam. Oc21-23t, 2011.
19. 本田真也, 清水文崇, 尾本雅俊, 小笠原淳一, 古賀道明, 川井元晴, 神田 隆: 抗 SRP 抗体陽性筋炎の 3 症例. 第 4 回 山陽 Neuro Muscular Forum. 山口, 2011 年 8 月 27 日.
20. 古賀道明, 神田隆, 結城伸泰: GQ1b-seronegative Fisher 症候群: 臨床像と新たな診断マーカー. 第 22 回日本末梢神経学会学術集会. 沖縄, 2011 年 9 月 2-3 日.
21. 清水文崇, 佐野泰照, 安部真彰, 前田敏彦, 齋藤和幸, 春木明代, 松井尚子, 梶龍兒, 神田隆: 多巣性運動ニューロパチー血清が血液神経関門に及ぼす影響の解析. 第 22 回日本末梢神経学会総会. 沖縄, 2011 年 9 月 2-3 日.
22. 本田真也, 清水文崇, 古賀道明, 小笠原淳

一、尾本雅俊, 川井元晴, 神田 隆:
末梢神経伝導検査で著明な脱髄所見を呈した抗
GT1b-IgG 抗体陽性ギラン・バレー症
候群の75歳男性例. 山口県神経内科医会. 山口,
2011年9月10日.

23. 古賀道明, 上田昌美, 楠進, 神田 隆:
ビッカーstaff型脳幹脳炎における感染症の関
与:ギラン・バレー症候群との差異.
第23回日本神経免疫学会学術集会. 東京, 2011
年9月15-17日.

24. 春木明代, 佐野泰照, 清水文崇, 尾本雅俊,
安部真彰, 前田敏彦, 斎藤和幸, 神田隆:抗
AQP4抗体陽性患者血清によるアストロサイト細胞
死とその機序について.
第23回日本神経免疫学会学術集会. 東京, 2011
年9月15-17日.

25. Haruki H, Sano Y, Shimizu F, Nakata T, Kanda
T: NMO sera and astrocyte cell death: an in vitro
study. 5TH JOINT TRIENNIAL CONGRESS of
the European and Americans committees for
treatment and research in multiple sclerosis
Amsterdam, Netherland. October, 20 2011.

26. 尾本雅俊, 鈴木 諭, 佐々木健介, 岩城 徹,
神田 隆:多発性出血性梗塞, 細動静脈フィブリ
ン血栓を認めた抗リン脂質抗体症候群の67歳女
性剖検例. 第39回臨床神経病理懇話会, 第2回
日本神経病理学会中国四国地方会. 岡山, 2011
年10月29日.

27. 本田真也, 清水文崇, 尾本雅俊, 小笠原淳
一, 川井元晴, 神田 隆:
抗 SRP 抗体陽性筋炎の3症例.
第39回臨床神経病理懇話会. 岡山, 2011年10
月29日.

28. 川井元晴, 大石真莉子, 安部鉄也, 清水文
崇, 小笠原淳一, 古賀道明, 園生雅弘, 神田隆:
広範な障害を呈した true neurogenic thoracic
outlet syndrome (TOS) の18歳男性例. 第41回
日本臨床神経生理学会学術大会. 静岡, 2011年
11月10日.

29. 本田真也, 清水文崇, 尾本雅俊, 小笠原淳
一, 古賀道明, 川井元晴, 神田 隆:
免疫グロブリン大量静注療法が奏功した抗 SRP
抗体陽性筋炎の55歳男性例.

第105回日本内科学会中国地方会. 米子, 2011
年11月12日.

30. 清水文崇, 佐野泰照, 安部真彰, 前田敏彦,
斎藤和幸, 春木明代, 松井尚子, 梶龍兒, 神田
隆:多発性運動ニューロパチー血清が血液神経
関門に及ぼす影響の解析.「難治性ニューロパチ
ーの診断技術と治療法の開発に関する研究」班.
平成23年度班会議. 東京, 2011年12月2日.

31. 清水文崇, 斎藤和幸, 佐野泰照, 前田敏彦,
安部真彰, 春木明代, 神田 隆:皮膚筋炎の病態
解明に向けてのヒト筋肉由来血管内皮細胞株樹
立の試み.

「自己免疫疾患に関する調査研究」班平成23年
度班会議. 東京, 2011年12月9日.

32. 佐野宏徳, 中野雄太, 尾本雅俊, 小笠原淳
一, 古賀道明, 川井元晴, 神田隆:

中心管拡張を呈した多発性硬化症の43歳男性.
第91回日本神経学会中国四国地方会. 高知,
2011年12月10日.

33. 田崎彩子, 中野雄太, 前田敏彦, 尾本雅俊,
小笠原淳一, 古賀道明, 川井元晴, 神田隆:
Ganglionic AChR 抗体陰性・muscle AChR 抗体陽
性であった急性自律性感覚性ニューロパチーの
72歳女性例.

第91回日本神経学会中国四国地方会. 高知,
2011年12月10日.

34. 廣重美和, 本田真也, 清水文崇, 尾本雅俊,
小笠原淳一, 川井元晴, 神田 隆:
脳梁膝部を含む多発性脳病変を認めた神経ベー
チェット病の66歳男性例. 第91回日本神経内科
地方会. 高知, 2011年12月10日.

35. 本田真也, 清水文崇, 古賀道明, 小笠原淳
一, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田 隆:

長期間にわたり脱髄を示唆する電気生理所見を
呈した IgG 抗 GT1b 抗体強陽性ギラン・バレー症
候群の75歳男性例. 第91回日本神経内科地方
会. 高知, 2011年12月10日.

G. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

多発筋炎/皮膚筋炎の病態と治療法解明のための統合的検討

研究分担者 清水 潤

東京大学医部神経内科 講師

研究協力者 肥田あゆみ、前田明子

東京大学医部神経内科

研究要旨

当施設にて 12 年間の間で組織診断にて確定された筋炎症例 139 例の臨床病理像を解析した。受診科は皮膚科 45%、神経内科 25%、アレ内科 24%であり、臨床診断は多発筋炎 61%、皮膚筋炎 36%。合併疾患は膠原病 31%、悪性腫瘍 14%、間質性肺炎 37%で、筋炎特異抗体は 17%に認めた。筋組織では所見軽度例が半数以上であり、筋炎特異所見を認める例は 28%にすぎなかった。典型的皮疹例および悪性腫瘍合併例は、筋束周辺部萎縮 (PFA)、筋内鞘血管への補体 C5b9 沈着 (MAC 沈着) と関係し、組織 PM (非壊死筋遠位への CD8 侵入) 例、壊死性筋炎例は皮疹を認めず他の合併症はなかった。また、受診科ごとに経験する筋炎の臨床病理像は異なった。筋炎は heterogeneous な疾患であり病態把握には臨床病理像の統合的把握が不可欠である。

A. 研究目的

筋炎患者はアレルギーリウマチ内科 (アレ内科)、皮膚科、神経内科を中心に各科を受診する。筋炎は、皮膚症状の有無より皮膚筋炎 (DM)、多発筋炎 (PM) に分類され、合併疾患から悪性腫瘍合併、膠原病合併、間質性肺炎合併と分類される。また、筋炎は出現する筋炎特異自己抗体の種類や筋組織像の特徴によっても分類される。筋炎は、heterogeneous な疾患であり、筋炎の病態解明には多方面からのアプローチによる実態把握が不可欠である。筋炎症例を統合的に把握し筋炎の症例の実態を明らかにする。

B. 研究方法

対象：2000 年～2011 年 10 月に当院に入院し、病理診断で確定された筋炎症例 139 例 (女 95, 男 44)。

解析方法：臨床チャートを用いて臨床像を後方視的に把握。血清検討の可能な症例は筋炎自己抗体 (Jo-1, PL-7, PL-12, SRP, Mi-2) を測定 (dot blot 法)。生検組織はルーチン組織化学と免疫組織化学染色をおこない特徴を解析。臨床、病理、自己抗体の関連を検討。

(倫理面への配慮)

本研究でおこなわれている臨床病理像の解析の実施にあたっては、各被検者に対してその内容を説明し、文書による同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

PM/DM 139 例の初診科は、アレ内科 34、皮膚科 62、神経内科 35、その他 8。皮疹は典型 (heliotrope 疹, Gottron 丘疹) 44 (32%)、紅斑 12、非典型 14、なし 69 (48%) であり、チャート上の臨床診断は DM 54、PM 85。合併疾患は、膠原病 43 (31%)、悪性腫瘍 20 (14%)、他 11 (PBC5, GvHD3、血液疾患 2 含)、合併なし 65 (47%)。間質性肺炎は合併 52 (症候性 36、非症候性 16)、非合併 86 で、KL6 は 32/92 例で高値。筋炎特異抗体は 22/128 名 (17%) (Jo:7, PL7:4, PL12:0, SRP:4, Mi2:7) で陽性。筋組織では炎症細胞浸潤の程度は軽度 (集簇 10 未満) のものが約半数 (軽度 71, 中度 38, 高度 30)、壊死再生像の程度も軽度 (筋束内の壊死再生 5 本未満) のものが半数 (軽度 74, 中度 32, 高度 33) であった。MHC-class I の非壊死筋線維上の発現は全例で認めたが壊死性筋炎では発現は乏しい傾向があった。特徴的筋病理所見では筋束周辺部萎縮 (PFA) 18、筋内鞘血管への補体 C5b9 沈着 (MAC 沈着) 19、空胞変性 11、非壊死筋線維への CD8 侵入 (組織 PM) 7 (5%)、壊死性筋 6 であった。非特徴的病理所見のみの症例が 101 例 (72%) 存在した。皮疹と病理像、合併症の関係では、典型的皮疹例には悪性腫瘍群、間質性肺炎群が存在し PFA, MAC 沈着と関係した。組織 PM (非壊死筋遠位への CD8 侵入) 例、壊死性筋炎例は皮疹を認めなかった (表 1)。合併症と病理像の関係では、PFA, MAC 沈着、空胞変性は悪性腫瘍と関係した (表 2)。また、受診科ごとに筋炎の特徴は、皮膚所見、合併症、組織像の特徴において大きな違いが存在した (表 3)。

D. 考察

典型的皮疹を伴う筋炎（約 30%）には悪性腫瘍群、間質性肺炎群が存在したが、両者は別グループとして存在し、悪性腫瘍と PFA, MAC, 空胞変性が関連した。皮疹のない筋炎（約 50%）には、組織 PM、壊死性筋炎が関連し、膠原病を伴う筋炎が含まれ、悪性腫瘍例も少数含まれた。組織 PM には RA 合併と非合併が存在し、皮疹、他の膠原病、悪性腫瘍を伴わなかった。壊死性筋炎は皮疹、他の膠原病、悪性腫瘍を伴わなかった。本検討では軽症例、amyopathic DM が検討対象から漏れている可能性がある。

E. 結論

多様性をもつ筋炎の病態解明には、多方面からの所見を統合した検討が必要である。

表 1 皮膚所見と病理所見、合併症の関係

	皮膚所見				
	典型	紅斑	非典型	なし	
	44	12	14	69	
病理所見					
PFA	18	14	3	0	1
C5b9	19	13	3	1	2
空胞変性	11	8	3	0	0
組織PM	7	0	0	0	7
壊死性筋炎	6	0	0	0	6
特徴所見なし	101	26	8	13	54
合併症					
悪性腫瘍	20	14	2	0	4
膠原病	43	6	2	9	26
間質性肺炎	52	17	4	6	25

組織PM = 非壊死筋線維CD8侵入

表 2 病理所見と合併症の関係

	膠原病	悪性腫瘍	間質性肺炎	
病理所見	43	20	52	
PFA	18	0	7	2
C5b9	19	2	10	4
空胞変性	11	0	7	0
組織PM	7	2(RA)	0	0
壊死性筋炎	6	0	0	0

組織PM = 非壊死筋線維CD8侵入

表 3 受診科による筋炎の臨床病理像の差異

	皮膚所見				合併症			多発筋炎 ^{PFA} に伴う ^{PM}		皮膚筋炎			非特異筋炎	
	典型	紅斑	非典型	なし	膠原病	悪性腫瘍	間質性肺炎	組織PM	壊死性筋炎	PFA	C5b9			
神経内科	35	3	2	1	29	3	3	7	5	0	6	1	2	22
皮膚科	62	32	7	4	19	26	13	29	0	0	0	11	12	47
アレ内科	32	7	3	5	17	13	3	15	0	2	0	5	4	25
その他	8	2	0	3	3	0	1	1	0	0	0	1	1	7

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 52 回日本神経学会学術大会抄録集 p359、名古屋, 2011

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
研究代表者研究報告書

M3R を分子標的とした自己免疫性唾液腺炎に関する研究

分担研究者 住田 孝之

筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー) 教授

研究協力者: 飯塚 麻菜、坪井 洋人、松尾 直美、松本 功

筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー)

研究要旨

シェーグレン症候群(SS)患者血清中にムスカリン作働性アセチルコリン受容体 3(M3R)に対する自己抗体が存在すること、末梢血単核球に M3R 反応性 CD4+T 細胞が存在することを明らかにしてきた。本研究では、M3R 分子に対する免疫応答が自己免疫性唾液腺炎発症を誘導するか否かを検討する事を目的とした。M3R-/-マウスに M3R ペプチドを免疫しその脾細胞を Rag-1-/-マウスに経静脈的に細胞移入した。その結果、1) M3R-/-→Rag-1-/-マウスにおいて唾液腺炎が認められ、その主体は CD4+T 細胞であった、2) M3R 反応性 T 細胞の移入により唾液腺炎が誘導された、3) 唾液腺に INF- γ および IL-17 発現が認められ、M3R 反応性 T 細胞から INF- γ および IL-17 が有意に産生されていた。4) M3R-/-xIFN- γ -/-→Rag-1-/-マウス (IFN- γ 欠損マウス) では唾液腺炎スコアが有意に低下していた。一方、M3R 反応性 T 細胞からの IL-17 は有意に増加していた。5) ROR γ t トランスジェニックマウス (IL-17 高発現マウス) において、唾液腺炎と涙腺炎が自然発症した、6) M3R の主要な T 細胞エピトープは細胞外第一ドメインであること、などを明らかにしてきた。以上の研究成果から、M3R を認識する T 細胞が SS 類似の自己免疫性唾液腺炎発症に必須であり、IFN- γ および IL-17 ともに発症に重要であることが判明した。今後、M3R の主要 T 細胞エピトープに対するアナログペプチドを選択し、自己免疫性唾液腺炎の抗原特異的制御法を開発する。

A. 研究目的

免疫難病の一つであるシェーグレン症候群 (SS) の発症機序に、唾液腺に浸潤した自己反応性 T 細胞が重要な役割を果たしている。特に、ムスカリン作働性アセチルコリン受容体 M3 (M3R) に対する T 細胞は唾液腺破壊に関わるばかりでなく、サイトカイン産生を介して抗 M3R 自己抗体を誘導している。本研究では、M3R 分子を標的とした免疫応答がシェーグレン症候群様の自己免疫性唾液腺炎を誘導するか否かを検討する事および抗原特異的制御戦略の確立を目的とした。

B. 研究方法

1) M3R-/-マウス (B6 バック) に、M3R の各領域をコードした合成アミノ酸、N 領域 (67AA、細胞外第一ドメイン (17AA)、細胞外第二ドメイン (25AA)、細胞外第三ドメイン (14AA) を合成して day0 および day10 に腹腔内に免疫した。初回免疫 20 日後の脾細胞を Rag1-/-マウス (B6 バック) に経静脈的に投与した。M3R-/-→Rag-1-/-マウスから day45 に唾液腺を取り出し H-E 染色により組織学的解析、さらに、抗体 (Thy-1, B220, CD4, CD8, IgG) を用いて免疫組織化学的解析を施行した。

2) M3R-/-マウスより採取した脾細胞を flowcytometry で CD3+細胞と CD3-細胞とに分離し、それぞれを Rag-1-/-マウスに細胞移入して唾液腺炎

の有無について検討した。

3) M3R-/-→Rag-1-/-マウスの唾液腺における INF- γ 、IL-17 発現を IF で検討した。さらに in vitro で M3R ペプチドと共培養して産生サイトカインを ELISA 法で測定した。

4) M3R-/-xIFN- γ -/-→Rag-1-/-マウスにおいて唾液腺組織の解析、および M3R 反応 T 細胞からの INF- γ 、IL-17 産生を検討した。

5) ROR γ TG マウスにおいて唾液腺炎を検討した。

6) M3R の T 細胞エピトープを決定するために M3R の各領域に対する T 細胞からのサイトカイン産生を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトの検体を使用する際には、大学の倫理委員会の承認を得た上で、患者さんにインフォームド・コンセントを施行し、十分に研究内容を理解してもらい、本人の同意を得た上で研究を実行した。マウスの実験においては疼痛を与えないために麻酔科で対処した。

C. 研究結果

1) 単核球を主体とした細胞浸潤、唾液腺腺房の破壊が認められた。浸潤細胞の多くは、Thy-1+CD4+T 細胞であり、一部に B 細胞浸潤および IgG の沈着が認められた。

2) CD3+細胞を単独移入したマウスにおいて有意な唾

液腺炎が認められたが、CD3⁺細胞のみの細胞移入マウスでは唾液腺炎は認められなかった。

3) 唾液腺に INF- γ および IL-17 発現が認められ、M3R 反応性 T 細胞から INF- γ および IL-17 が有意に産生されていた。

4) M3R^{-/-}xIFN- γ ^{-/-}→Rag-1^{-/-}マウスでは唾液腺炎スコアが有意に低下していた。しかし、M3R 反応性 T 細胞からの IL-17 産生は本マウスにおいても有意に増加していた。

5) ROR γ tTG マウスにおいて、唾液腺炎が自然発症していた。免疫組織化学的解析から、唾液腺浸潤細胞の主体は B220 陽性の B 細胞であることおよび IgG の沈着が認められた。

6) M3R の第一細胞外ドメインを認識する T 細胞から INF- γ および IL-17 の産生が認められた。

D. 考察と結論

M3R^{-/-}と Rag-1^{-/-}の二つのノックアウトマウスを使用することにより、シェーグレン症候群様の自己免疫性唾液腺炎を惹起する事に成功した。M3R 分子に対する T 細胞応答は自己免疫性唾液腺炎発症に必須であり、INF- γ および IL-17 の両方がその発症に関わっている事、および M3R の T 細胞エピトープが第一細胞外ドメインに存在することが明らかになった。

E. 研究発表

論文発表

1. Hasebe, N., Kawasaki, A., Ito, I., Kawamoto, M., Hasegawa, M., Fujimoto, M., Furukawa, H., Tohma, S., Sumida, T., Takehara, K., Sato, S., Kawaguchi, Y., and Tsuchiya, N. Association of UBE2L3 polymorphism with diffuse cutaneous systemic sclerosis in a Japanese population. Ann. Rheum. Dis. (in press)

2. Tsuboi, H., Nakamura, Y., Iizuka, M., Matsuo, N., Matsumoto, I., and Sumida, T. Generation and functional analysis of monoclonal antibodies against the second extracellular loop of human M3 muscarinic acetylcholine receptor. Mod. Rheumatol. (in press).

3. Kondo, Y., Matsumoto, I., Iizuka, M., Wakamatsu, E., Zhaojin, Y., Tsuboi, H., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Takahashi, S., and Sumida, T. Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. Arthritis Rheum. 64: 162-172, 2012.

4. Okada, Y., Shimane, K., Kochi, Y., Tahira, T., Suzuki, A., Higasa, K., Takahashi, A., Horita, T., Atsumi, T., Ishii, T., Okamoto, A., Fujio, K., Hirakata, M., Amano, H., Kondo, Y., Ito, S., Takada, K., Mimori, A., Saito, K., Kamachi, M., Kawaguchi, Y., Ikari, K., Mohammed, W. O., Matsuda, K., Terao, C., Ohmura, K., Myouzen, K., Hosono, N., Tsunoda, T., Nishimoto, N., Mimori, T., Matsuda, F., Tanaka, Y., Sumida, T., Yamanaka, H., Takasaki, Y., Koike, T.,

Horiuchi, T., Hayashi, K., Kubo, M., Kamatani, N., Yamada, R., Nakamura, Y., and Yamamoto, K. A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. PLoS Genet. 2012 January; 8(1): e1002455. Published online 2012 January 26.

5. Koga, M., Kawasaki, A., Ito, I., Furuya, T., Ohashi, J., Kyogoku, C., Matsushita, M., Oka, T., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Cumulative association of eight susceptibility genes with systemic lupus erythematosus in a Japanese female population. J. Human Gen. 56: 503-507, 2011.

6. Kawasaki, A., Furukawa, H., Kondo, Y., Ito, S., Hayashi, T., Kusaoi, M., Matsumoto, I., Tohma, S., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. TLR7 single-nucleotide polymorphisms in the 3' untranslated region and intron 2 independently contribute to systemic lupus erythematosus in Japanese women: a case-control association study. Arthritis Reas. Ther. 13: R41, 2011.

7. Yoshiga, Y., Goto, D., Segawa, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Ito, S., Taniguchi, M., and Sumida, T. Activation of natural killer T cells by a-carba-GalCer (RCAI-56), a novel synthetic glycoipid ligand, suppresses murine collagen-induced arthritis. Clin. Exp. Immunol. 164: 236-247, 2011.

8. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Horikoshi, M., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. Involvement of NK 1.1-positive $\gamma\delta$ T cells in interleukin-18 plus interleukin-2-induced interstitial lung disease. Am. J. Res. Cell. Mol. Biol. 45: 659-666, 2011.

9. Hikami, K., Kawasaki, A., Koga, M., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Arinami, T., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 63:755-763, 2011.

10. Tsuboi, H., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Sugihara, M., Suzuki, T., Ogishima, H., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Matsumoto, I., and Sumida, T. Importance of serine727 phosphorylated STAT1 in IFN γ -induced signaling and apoptosis of human salivary gland cells. Int. J. Rheum. Dis. 14: 86-91, 2011.

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得
申請準備中
2. 実用新案登録：なし
3. その他：特記事項なし

図1 M3R^{-/-}→Rag-1^{-/-}マウスにおける唾液腺組織 (H-E 染色) と免疫化学染色像

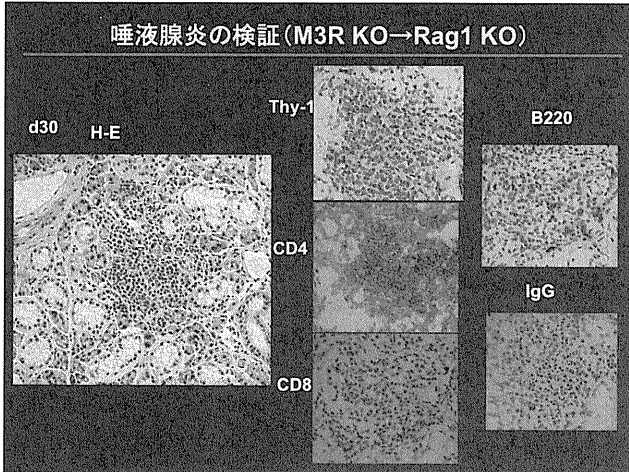


図2 M3R^{-/-}CD3⁺→Rag-1^{-/-}マウスにおける唾液腺組織像 (H-E 染色、免疫化学染色、Tunel 染色)

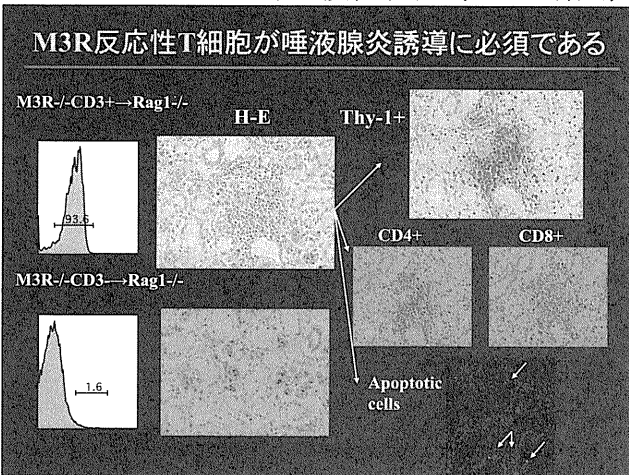


図3 M3R^{-/-}→Rag-1^{-/-}マウス唾液腺組織における IL-17、IFN- γ 発現

IFN- γ およびIL-17が自己免疫性唾液腺炎に認められる

M3R^{-/-}→Rag1^{-/-}

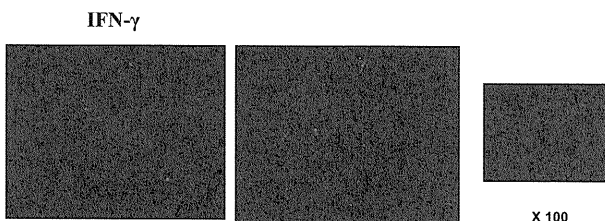


図4 M3R^{-/-}xIFN- γ ^{-/-}マウスにおける唾液腺組織 (H-E 染色) および M3R 反応性 T 細胞からの サイトカイン産生

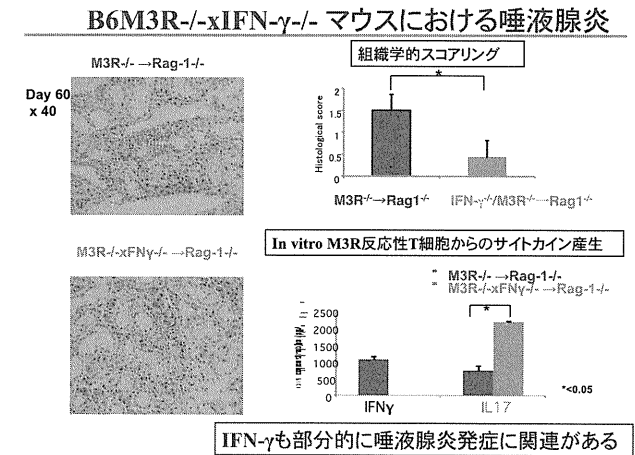
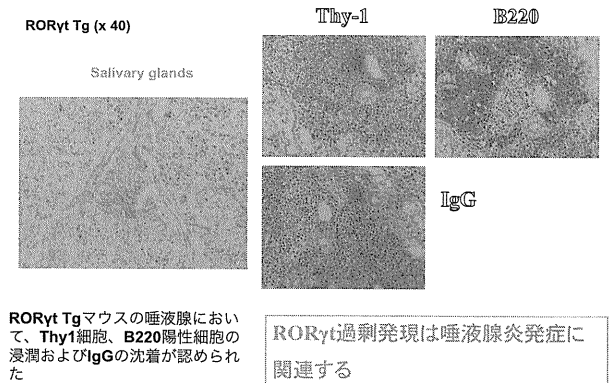


図5 ROR γ t トランスジェニックマウスにおいて 唾液腺炎が自然発症した

ROR γ t トランスジェニックマウスにおける唾液腺炎

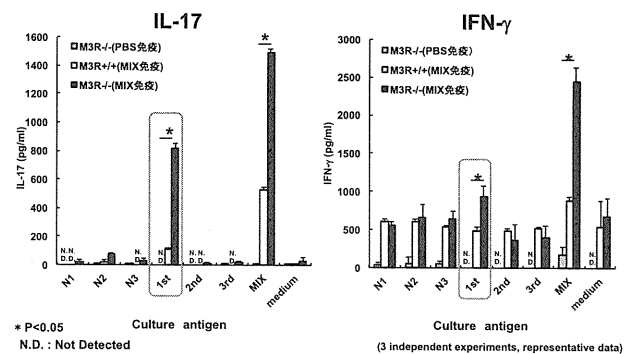


ROR γ t Tgマウスの唾液腺において、Thy1細胞、B220陽性細胞の浸潤およびIgGの沈着が認められた

ROR γ t過剰発現は唾液腺炎発症に 関連する

図6 M3R 細胞外第一ドメインが M3R の主要 T 細胞 エピトープである

M3R 反応性 T 細胞のサイトカイン産生



第1細胞外ドメインを認識するT細胞から有意なIL-17, IFN- γ 産生が認められた →M3R第1細胞外ドメインがT細胞エピトープである

シェーグレン症候群唾液腺上皮細胞における Toll-like receptor3 による 細胞死調節シグナルと Akt の発現に関する研究

研究分担者 中村英樹（助教）、寶來吉朗（大学院生）、川上純
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻展開医療科学講座（第一内科）教授

研究要旨

シェーグレン症候群 (SS) における唾液腺上皮細胞死に TLR3 シグナルが関わっていることを見出した。すなわち、唾液腺上皮細胞の TLR3 のリガンドである poly (I:C) で刺激により caspase cleavage を伴うアポトーシスが誘導されることが TUNEL 法にて明らかとなった。またすでに唾液腺上皮細胞では EGF 刺激による PI3K-Akt の発現は報告していたが、poly (I:C) 刺激によるアポトーシス誘導時にも Akt のリン酸化が確認された。このため TLR3 による細胞死と PI3K-Akt 経路の関与について報告する。TLR3 会合分子である TRIF 以下のシグナルおよびリン酸化 Akt の発現を、SS およびコントロール口唇小唾液腺の免疫組織染色により確認する。TLR3 シグナルの陽性コントロールとして肝細胞癌組織での発現がすでに報告されている。このため、肝細胞癌組織における TLR3、TRIF、FADD、caspase-8 の発現を確認した。今後は唾液腺培養上皮細胞における TLR3 以下のシグナルの SS 唾液腺での発現と唾液腺上皮細胞を用いたこれらのシグナル解析および PI3K-Akt 経路との関連を明らかにしたい。

A. 研究目的

シェーグレン症候群 (SS) における唾液腺細胞死に Fas/Fas ligand を介したアポトーシスが関わっており、これに対し Bcl-2 family、XIAP や PI3K-Akt 経路など抗アポトーシス分子の唾液腺での発現と機能をこれまで報告してきた。特に PI3K-Akt 経路は SS 唾液腺組織での発現とともに EGF 刺激により培養唾液腺上皮細胞に発現することが明らかとなった。近年、私たちは SS における Toll 様受容体 (TLR) のうち、TLR2-4 の組織での発現を報告した。この 3 つの TLR のうち、TLR3 が唾液腺上皮細胞死に関わっていることを見出したため、PI3K-Akt 経路の関与とともに報告する (図 1)。

B. 研究方法

TLR3 を介したアポトーシスにおける会合分子である TRIF やその下流シグナル (Rip, FADD, caspase 8 など) およびリン酸化 Akt の発現を、陽性コントロールである肝細胞癌組織で確認後、SS および正常コントロール口唇小唾液腺の免疫組織染色により確認する。リン酸化 Akt についてはどの分子と共発現しているかを蛍光組織染色で確認する。組織染色での発現が確認できた分子については唾液腺上皮細胞を用いて、TLR3 のリガンドである poly (I:C) 刺激時 (12-24 時間) での発現を蛍光染色および WB 法で検討する。
(倫理面への配慮)

検体使用に関しては、長崎大学病院の倫理委員会の承認を得ており、全ての患者より書面で同意を得た。

C. 研究結果

唾液腺上皮細胞において、poly (I:C) 24 時間刺激による TLR3 とリン酸化 Akt の発現増強および TUNEL 法によるアポトーシス出現を確認した (図 2、図 3、図 4)。肝細胞癌組織において TLR3 を介した細胞死が確認されているため、陽性コントロールとして肝細胞癌組織での TLR3 および下流シグナル発現検討を行っている。これまでに肝細胞癌組織における TLR3、TRIF、FADD、caspase-8 の発現を確認した (図 5、図 6)。

D. 考察

SS 唾液腺破壊機序の一つとして新たに、TLR3 を介する系が考えられる。TLR 自体は元々自然免疫を介するシグナル伝達や細胞死からの回避に関係していると考えられており MAP kinase や caspase cleavage を伴うことも明らかとなってきた。今回の研究で Fas/Fas リガンドや perforin などの細胞障害性顆粒を介さない細胞死機序が明らかとなってきている。

E. 結論

SS 唾液腺組織、その後の培養上皮細胞における TLR3 シグナル解析が待たれる。これらの検討により新たな唾液腺破壊機序の解明と、アポトーシスから細胞を保護する PI3K-Akt 経路の役割が明らかになると考えられた。図 7 に今後の研究の展開 (案) を示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Koga T, Fujikawa K, Horai Y, Okada A, Kawashiri S, Iwamoto N, Suzuki T, Nakashima Y, Tamai M, Arima K, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Ishimatsu Y, Mukae H, Kuwana M, Kohno S, Eguchi K, Aoyagi K, Kawakami A. The diagnostic utility of anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody testing for predicting the prognosis of Japanese patients with dermatomyositis. *Rheumatology, in press*.
2. Iwamoto N, Kawakami A, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Kawashiri SY, Kita J, Okada A, Koga T, Kamachi M, Yamasaki S, Ichinose K, Ida H, Origuchi T, Uetani M, Eguchi K. Magnetic resonance imaging of wrist and finger joints distinguishes secondary Sjogren's syndrome with rheumatoid arthritis from primary Sjogren's syndrome with articular manifestations. *Clin Exp Rheumatol* 29 (6): 1062-1063; 2011
3. Iwamoto N, Kawakami A, Arima K, Tamai M, Nakamura H, Kawashiri SY, Kita J, Okada A, Koga T, Kamachi M, Yamasaki S, Ichinose K, Ida H, Origuchi T, Eguchi K. Contribution of an adenine to guanine single nucleotide polymorphism of the matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) -77 promoter region to the production of anticyclic citrullinated peptide antibodies in patients with HLA-DRB1*shared epitope-negative rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 21 (3): 240-243; 2011.
4. Ohya K, Ueki Y, Kawakami A, Kishikawa N, Tamai M, Osaki M, Kamihira S, Nakashima K, Kuroda N. Immune complexome analysis of serum and its application in screening for immune complex antigens in rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 57 (6): 905-909; 2011.
5. Migita K, Miyashita T, Izumi Y, Koga T, Komori A, Maeda Y, Jiuchi Y, Aiba Y, Yamasaki S, Kawakami A, Nakamura M, Ishibashi H. Inhibitory effects of the JAK inhibitor CP690,550 on human CD4(+) T lymphocyte cytokine production. *BMC Immunol* 12: 51; 2011.
6. Kawashiri SY, Tamai M, Yamasaki S, Nakamura H, Kakugawa T, Sakamoto N, Ishimatsu Y, Kawakami A. A case of Sjogren syndrome with pulmonary amyloidosis complicating microscopic polyangiitis. *Mod Rheumatol* 21 (6): 646-650; 2011.
7. Kawashiri SY, Kawakami A, Okada A, Koga T, Tamai M, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Eguchi K. CD4+CD25(high)CD127(low/-) Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 38 (12): 2517-2521; 2011.
8. Koga T, Okada A, Kawashiri S, Kita J, Suzuki T, Nakashima Y, Tamai M, Satoh K, Origuchi T, Iwamoto N, Yamasaki S, Nakamura H, Migita K, Ida H, Ueki Y, Eguchi K, Kawakami A. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a useful biomarker to predict the response to adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Clin Exp Rheumatol* 29 (5): 811-815; 2011.
9. Koga T, Yamasaki S, Migita K, Kita J, Okada A, Kawashiri S, Iwamoto N, Tamai M, Arima K, Origuchi T,

Nakamura H, Osaki M, Tsurumoto T, Shindo H, Eguchi K, Kawakami A. Post-transcriptional regulation of IL-6 production by Zc3h12a in fibroblast-like synovial cells. *Clin Exp Rheumatol* 29 (6): 906-912; 2011.

10. Nakamura H, Hisatomi K, Koga T, Mizokami A, Yamasaki S, Tamai M, Origuchi T, Irie J, Kawakami A. Successful treatment of a patient with IgG4-related disease with a paravertebral mass lesion. *Mod Rheumatol*. 2011 Oct;21(5):524-7.

2. 学会発表

国際学会

1. Yamasaki S, Ivanov P, Hu GF, Kawakami A, Anderson P. Angiogenin-induced tiRNA represses translation under stress. 16th Annual Meeting of the RNA Society and 13th Annual Meeting of the RNA Society of Japan (RNA 2011) 2011.06.14-06.18 Kyoto, Japan
2. Yamasaki S, Okada A, Koga T, Kawashiri SY, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A. Functional changes of bone marrow derived mesenchymal stem cell through adipogenesis. A possible in vitro model of bone edema in rheumatoid arthritis. ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2011 2011.11.04-11.09 Chicago, Illinois

国内学会

3. 岡田覚丈, 山崎聡士, 中村英樹, 折口智樹, 川上純 炎症性サイトカインによる骨髄間葉系幹細胞の脂肪分化抑制 第32回日本炎症・再生医学会 2011.06.02-06.03 京都市
4. 古賀智裕, 藤川敬太, 岩本直樹, 岡田覚丈, 川尻真也, 山崎聡士, 中村英樹, 折口智樹, 桑名正隆, 迎寛, 江口勝美, 川上純 多発性筋炎・皮膚筋炎 抗MDA5抗体を用いた皮膚筋炎の予後予測の可能性について 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会第20回国際リウマチシンポジウム 2011.07.17-07.20 神戸市
5. 中村英樹, 岡田覚丈, 鈴木貴久, 玉井慎美, 山崎聡士, 川上純 シェーグレン症候群 シェーグレン症候群唾液腺における toll-like receptor3 による細胞死調節機序について 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会第20回国際リウマチシンポジウム 2011.07.17-07.20 神戸市
6. 宮下賜一郎, 和泉泰衛, 川上純, 江口勝美, 右田清志 IgG4と免疫疾患 腫瘍性病変を合併したIgG4関連疾患の4例 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会第20回国際リウマチシンポジウム 2011.07.17-07.20 神戸市
7. 岡田覚丈, 山崎聡士, 玉井慎美, 中村英樹, 折口智樹, 川上純 骨髄浮腫形成における間葉系幹細胞の役割 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会第20回国際リウマチシンポジウム 2011.07.17-07.20 神戸市
8. 中村英樹, 寶來吉朗, 鈴木貴久, 岡田覚丈, 玉井慎美, 山崎聡士, 川上純 シェーグレン症候群腫

液腺における toll-like receptor3 による細胞死誘導機序について 第 20 回日本シェーグレン症候群学会 2011.09.09-09.10 石川,金沢

9. 寶來吉朗, 中島好一, 鈴木貴久, 岡田覚丈, 川尻真也, 玉井慎美, 山崎聡士, 中村英樹, 折口智樹, 川上 純 三叉神経障害を契機に診断されたシェーグレン症候群の 1 例 第 42 回九州リウマチ学会 2011.09.10-09.11 熊本

10. 右田清志, 山崎聡士, 和泉泰衛, 宮下賜一郎, 井田弘明, 上松一永, 古賀智裕, 川上 純 遺伝子多型・遺伝子異常 MEFV 遺伝子変異と炎症性疾患 第 39 回日本臨床免疫学会総会 2011.09.15-09.17 東京

11. 川上 純, 大山 要, 植木幸孝, 玉井慎美, 中村英樹, 岸川直哉, 上平 憲, 中島憲一郎, 黒田直敬 関節リウマチ患者血清の LC-MS/MS によるイムノコンプレキソーム解析 第 26 回日本臨床リウマチ学会 2011.12.03-12.04 神奈川 (横浜)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし。

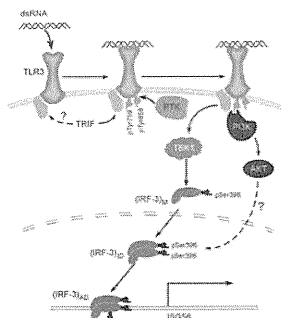
2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

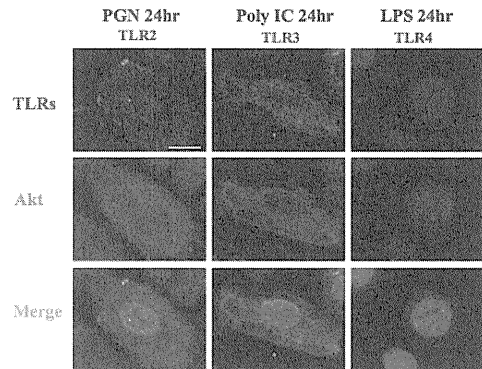
図 1 TLR3刺激とPI3K/Akt経路との関連について



dsRNA ligationによるTLR3刺激でIRF-3が活性化される系でのPI3K/Aktの関与が知られている。

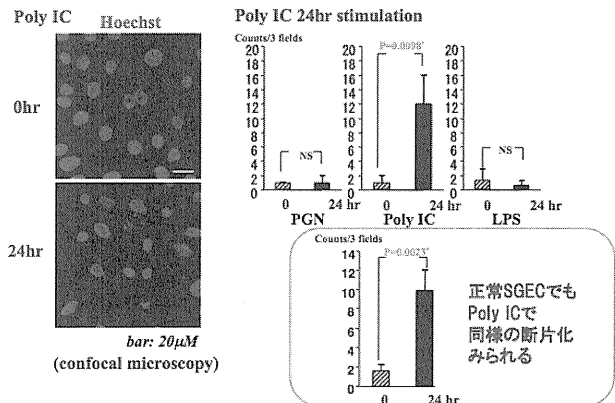
Nature Structural & Molecular Biology 11: 1060 – 7, 2004

図 2 SS SGECにおけるTLR ligandsの効果とpAkt発現



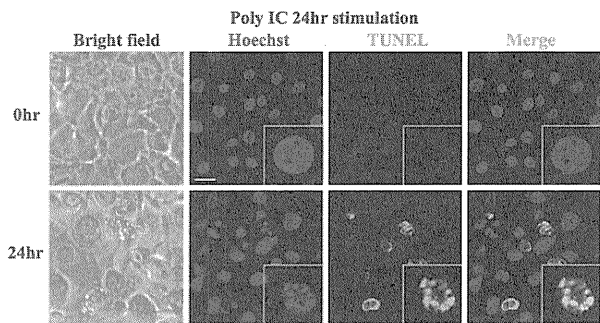
強拡大で、PGNとPoly IC刺激によりTLR2,TLR3のシグナル増強がみられた。また、これに伴いpAktも増強した。(confocal microscopy) bar: 20μM

図 3 SS SGECにおけるPolyICによるアポトーシスの誘導



Poly IC刺激により、核の断片化が有意に増加した。

図 4 TUNEL染色によるSS SGECにおけるPolyICによるapoptosis



Poly IC刺激による核の断片化はTUNEL染色によりアポトーシスと確定した。(Insetは代表的な染色パターンを示す。)

図 5 TLR3 TRIF RIPK3 免疫染色 Microwave(MW)+

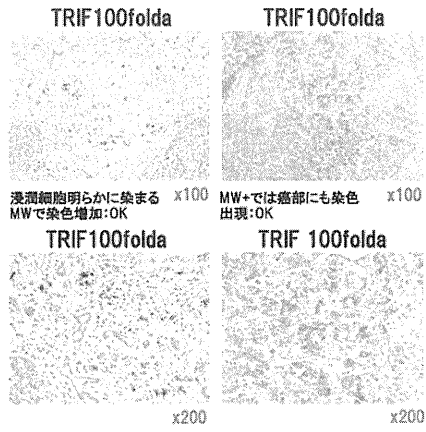


図 6 FADD caspase 免疫染色 Microwave(MW)+

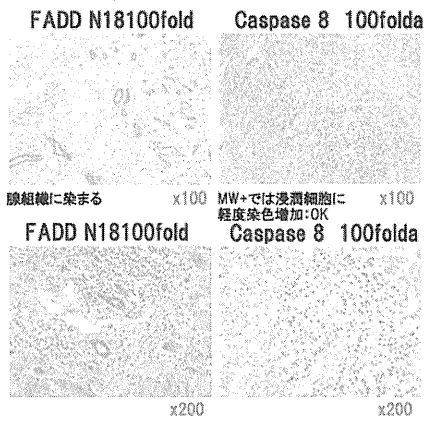
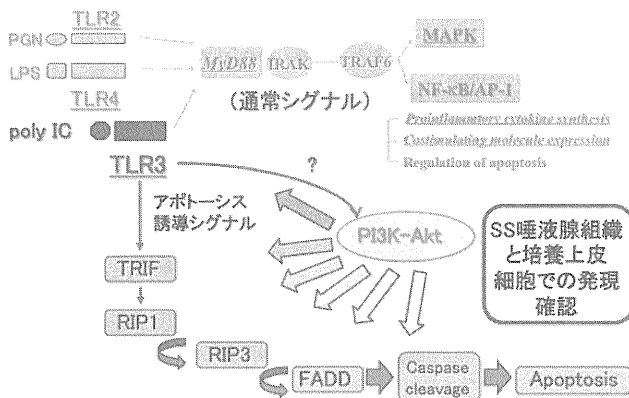


図 7 SSにおけるTLR 3 による細胞死研究の今後の展開



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

唾液腺の病態形成に関わるサイトカイン・ケモカインの解析に関する研究

研究分担者 中村誠司 九州大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座 教授

研究要旨

シェーグレン症候群（SS）は、病態進展とともに胚中心（GC）を形成することがある。SSの発症や病態進展の機序についての詳細は不明な点が多いが、ヘルパー T（Th）細胞の産生するサイトカインの関与が報告されている。そこで、本研究では第一に、自己免疫疾患に重要な役割を果たすと報告のある Th サブセット（Th1, Th2, Th17, Treg, Tfh）が産生するサイトカインならびに特異的な転写因子に着目し、口唇腺におけるこれらの分子の発現を SS 患者と健常者間および SS 患者のリンパ球浸潤程度間で比較検討を行った。第二に、同一 SS 患者間での病態進展のメカニズムを解析するために、Laser Capture Microdissection を用いて、同一症例における様々な病変組織を分離採取し Th サブセットの局在について検討を行った。本研究で得られた以上の結果より、SS の病態形成に関わっている導管周囲の病変局所において、Th サブセットが局在していた。さらに SS の発症には Th1 と Th17 が重要で、GC 形成や病態進展には Th2 と Tfh が重要であることが示唆された。

A. 研究目的

シェーグレン症候群（Sjögren's syndrome: SS）は、唾液腺や涙腺などの外分泌腺が特異的に障害を受ける臓器特異的自己免疫疾患である。導管周囲へのリンパ球浸潤を特徴とし、さらに病態進展とともに胚中心（germinal center: GC）を形成することもあり、様々な浸潤様式を呈する。SS の発症や病態進展の機序についての詳細は不明な点が多いが、ヘルパー T（Th）細胞の産生するサイトカインの関与が報告されている。そこで、本研究では第一に、自己免疫疾患に重要な役割を果たすといわれている Th サブセットが産生する特異的なサイトカインおよび転写因子に着目し、SS の口唇腺（labial salivary gland: LSG）におけるこれらの分子の発現について検討した。さらに、病態進展のメカニズムを解析するために、Laser Capture Microdissection（LCM）を用いて同一患者の浸潤様式の異なる部位を分離採取し、Th サブセットの発現と局在について検討を行った。

B. 研究方法

患者本人よりインフォームドコンセントの得られた上で、調査表に必要事項を記入し登録をする。以後 6 ヶ月ごとに経過を事務局に報告する。診断のため採取した生検材料（唾液腺）を用い、免疫組織化学染色および real-time PCR 法にてサイトカインのプロファイリングを行った。

（倫理面への配慮）

本研究は生体材料を使用するため、主治医が説明文書を使用して患者に説明し、患者及び家族から書

面で同意書を得る。解析結果の論文などでの公表に際しては、患者の個人を識別できる情報は公表しない。個人情報保護のため、検体は符号により匿名化し、符号を結びつける対応表および個人情報は実験責任者が厳重に保管する。

C. 研究結果

1. SS 患者の LSG における Th サブセットの発現と局在の検討

SS 患者 54 例と健常者 16 例を対象とした。real-time polymerase chain reaction（PCR）法を用いて Th1、Th2、Th17、regulatory T: Treg、および follicular helper T: Tfh 特異的なサイトカインおよび転写因子について messenger RNA（mRNA）発現を検討したところ、SS の LSG では健常者と比較して、全ての Th サブセット関連分子の発現が亢進していた。また、SS 患者をリンパ球の浸潤程度で軽度と重度の 2 群に分け比較したところ、重度では Th2 関連分子（IL-4、GATA binding protein 3: GATA3）および Tfh 関連分子（B cell lymphoma-6: Bcl-6）の発現が亢進していた。次に病態進展のメカニズムを解析するために、同一患者での導管周囲の病変局所と GC 形成部における Th サブセットの発現を比較検討した。SS 患者 54 例のうち、LSG の新鮮結切片において GC の形成が認められた 8 例を対象とした。新鮮凍結切片において導管周囲に浸潤しているリンパ球を GC（-）とし、GC および GC 周囲のリンパ球を GC（+）として、それぞれ LCM を用いて分離採取した。同一患者での GC（-）と GC（+）の 2 群において real-time PCR 法を用いて、Th サブセット関連分子の mRNA 発現を検討

した。その結果、Th1 関連分子 (interferon- γ : IFN- γ 、IL-12、T box transcription factor: T-bet) および Th17 関連分子 (IL-17、retinoic acid-related orphan receptor C2: RORC2) の発現は、GC (-) で亢進していた。一方、Th2 関連分子 (IL-4、GATA3) および Tfh 関連分子 (IL-21、Bcl-6) の発現は、GC (+) で亢進していた。Treg 関連分子については、両群間で有意な差は認めなかった。免疫組織化学染色でも同様に、IFN- γ および IL-17 は GC (-) に、IL-4 および Bcl-6 は GC (+) に強く発現していた。また、forkhead box p3 (Foxp3) の発現は、両群間で明らかな差は認められなかった。

2. MD 患者の LSG における GC 形成と IgG4 産生に関わる分子の検討

MD 患者 12 症例、SS 患者 15 症例、健常者 15 症例を対象とした。検討した MD は、全症例 LSG のリンパ球浸潤程度が重度であるため、比較対象とした SS は、全て重度の症例を選択した。まず real-time PCR 法を用いて、Tfh 関連分子 (IL-21、Bcl-6、CXC chemokine receptor: CXCR5) について検討を行った。その結果、すべての Tfh 関連分子の発現は、SS および MD とともに健常者と比べて有意に亢進していた。また、免疫組織化学染色にてそれらの局在をみたところ、SS ではすべての Tfh 関連分子は、GC のみに強く発現していた。一方 MD では、Bcl-6 および CXCR5 は、SS と同様に GC に強く発現していたが、IL-21 は LSG 全体に強い発現を認めた。つまり、MD における IL-21 産生細胞は Tfh の他にもある可能性が示唆された。IL-21 は主に Tfh が産生するといわれているが、その他にも IL-21 産生能を有するとの報告がある Th2 および Th17 についても、同様の検討を行った。その結果、MD では、免疫組織化学染色にて Th2 関連分子 (IL-4、CC chemokine receptor 4: CCR4、c-Maf) は、IL-21 と同様に GC だけでなく LSG 全体に強い発現を認めた。一方、Th17 関連分子 (IL-17) は、ほとんど発現を認めなかった。また、MD の IgG4 産生と IL-21 との相関をみたところ、IL-21 の mRNA 発現量は、IgG4 の mRNA 発現量および IgG4 陽性細胞率と正の相関を認めた。

D. 考察

これらの結果より、SS の唾液腺では Th サブセットの局在が認められ、Th1 および Th17 が導管周囲に集積することで SS の発症に関与し、Th2 および Tfh が集積することで病態の進展、特に GC の形成に関与していることが示された。

E. 結論

以上のことより、この研究事業はシェーグレン症候群の病態解明にきわめて有意義であり、また共同

研究班であるため、免疫膠原病内科、アレルギー科、眼科、病理、そして口腔外科など多分野からのアプローチが可能であり、新発見も期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka A, et al: Th2 and regulatory immune reactions contributes to IgG4 production and the initiation of Mikulicz's disease. *Arthritis Rheum.* 2011;64:254-63

2. 学会発表

1. T. Maehara, et al: Localization of Th subsets in salivary glands of Sjögren's syndrome. 11th International Symposium on Sjogren's Syndrome. 2011.10.29. Athens, Greece.

2. T. Maehara, et al: Localization of Th subsets in salivary glands of Sjögren's syndrome. The 59th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research. 2011.10.8. Hiroshima.

3. 前原隆、他: シェーグレン症候群の病変局所における Th サブセットの局在に関する検討. 第 56 回日本口腔外科学会総会・学術大会. 大阪 2011.10.21. 大阪

4. 田中昭彦、他: ドライマウスにおけるシェーグレン症候群の鑑別診断 第 56 回日本口腔外科学会総会・学術大会. 2011.10.21. 大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

シェーグレン症候群における口腔内病変と唾液中 EGF の関係に関する研究

研究分担者 東 直人 兵庫医科大学医学部医学科 リウマチ・膠原病科 学内講師
佐野 統 兵庫医科大学医学部医学科 リウマチ・膠原病科 主任教授
研究協力者 片田圭宣 国立病院機構大阪南医療センター アレルギー科 医長

研究要旨

シェーグレン症候群（SS）患者の口腔内は単に乾燥するだけでなく、粘膜の萎縮、舌乳頭平低化などが起こり QOL 低下を招く。このような口腔内病変形成には主に唾液分泌量の減少による口腔内クリアランスの低下が原因と考えられているが、唾液には種々の生理機能作用があり、その障害が病態に関与するものと考え、唾液中に含まれ消化管粘膜の保護作用や組織修復に促進的な役割を果たしていると考えられる Epidermal growth factor (EGF) の SS の口腔内病変形成における関連性を検討した。その結果、SS では進行に伴い唾液分泌量のみではなく、唾液中 EGF 分泌量も低下することが判明した。このような唾液の質および機能の低下が口腔内病変の形成に関与していることが示唆された。

A. 研究目的

シェーグレン症候群（SS）患者では口腔乾燥症状に加え、口腔粘膜の萎縮、難治性口内炎、舌乳頭平低化などを生じ、口腔内の疼痛や強い不快感を伴い quality of life (QOL) が著しく低下する。このような口腔内病変の形成は、主に唾液分泌量の減少による口腔内クリアランスの低下に起因すると考えられている。しかし、唾液には種々の生理機能作用があり、その障害が病態に関与するのではないかと考える。Epidermal growth factor (EGF) は分子量約 6kDa のサイトカインで、上皮細胞の細胞分裂と増殖を促進する。人体では唾液腺（特に耳下腺）と十二指腸のブルネル腺で主に産生され、消化管粘膜の保護作用や組織修復に促進的な役割を果たしていると考えられる。SS における口腔内病変の形成と唾液中 EGF の関連性を検討し、将来の治療介入の可能性を追求することを目的とする。

B. 研究方法

対象は兵庫医科大学リウマチ・膠原病科（以下当科）受診中の SS 患者 47 人から口腔内病変の形成、唾液や EGF の分泌に影響し得る要因を有する者（喫煙者、歯科処置中の者、SS 以外の病態のため口内炎などの口腔粘膜病変を有する者、抗パーキンソン薬・抗うつ剤・抗不安薬などを服用している者、コントロール不良の糖尿病に罹患している者、コントロール不良の逆流性食道炎に罹患している者、頭頸部悪性腫瘍の既往のある者、頭頸部に放射線照射を受けたことがある者など）を除

外した 39 人とコントロール群として非 SS 22 人。尚、SS 症例は本邦厚生省研究班による改訂診断基準(1999年)およびアメリカ-ヨーロッパ基準(2002年)をともに満たす症例とした。

(1) 唾液採取および唾液中 EGF 測定

全症例で早朝起床直後（朝食前かつ内服薬服用前）に同一のチューインガム（フリーズンガム（ハイミント）；ロッセ）を用いたガム試験で得た刺激下全唾液を採取した。この唾液試料を遠心分離して得られた上清を -20℃ で凍結保存し、EGF 濃度の測定直前に融解後再度遠心分離して得られた上清を使用して、EGF 濃度を ELISA 法（Quantikine; R&D System, Minneapolis, MN）で測定した。

口腔内病変の定量的評価法として、口腔内 QOL の指標として諸外国で活用されている OHIP (Oral Health Impact Profile) の日本語版 (OHIP-J) を基に、SS の口腔内病変の評価での有用性が報告されている (Stewart CM, et al. J Am Dent Assoc. 139: 291-299, 2008) OHIP-14 による問診法を実施した。14 項目のスコア値は、「まったくない」=0、「ほとんどない」=1、「時々」=2、「しばしば」=3、「いつも」=4 と回答肢を数値化し、合算した値をスコアとして算出した。(/56 点満点)

ガム試験で得られた刺激下全唾液の質量 (ml/10 分)、唾液中 EGF 濃度と同総量および OHIP-14 スコアの関連性について統計学的解析を行い検討した。各群の比較には Mann-Whitney U 検定またはカイ二乗検定、Fisher 直接確立試験を、相関の検討は Spearman 順位相関係数を用い、 $P < 0.05$ を有意差

ありとした。

(倫理面への配慮)

当科診療において、18歳以上の同意が得られるSS患者および対照群として健常者を含めた非SS患者を対象とする。外来または入院患者の診療において担当医は患者に説明文書を基に研究内容について十分な説明を行い、文書による同意を得る。20歳未満の患者では本人および代諾者の文書による同意を得る。原則として同意が得られた患者を対象とした研究であり、インフォームド・コンセントが得られない認知症や精神疾患などに罹患している患者は含まない。また、18歳未満の患者も対象としない。同意が得られた患者の臨床情報を収集し、患者名および患者ID番号と関連しない登録ID番号を付けることで匿名化を行い、またそのデータはパスワード管理とし、パスワードは研究分担者が管理する。この登録ID番号化は連結可能匿名化であるが、登録ID以降の統計処理などにおいては患者の個人情報特定することは一切できないため患者の個人情報は最大限守られる。また、研究を完全に終了する場合(引継がれない場合)は、臨床情報を完全に削除する。その場合も、既に匿名化はなされており、個人情報保護の上で問題は無い。

本研究は診療時に得られた臨床情報と解析による疫学研究・観察研究のみであり、患者に対して直接的不利益は及ぶことはない。費用面についてもガム試験、問診票を用いた試験ともに費用は一切発生しない。唾液中サイトカインプロファイルの測定に際しては、当科で購入した測定キットを用い、研究分担者が測定するため、これについても患者負担となる費用は一切発生しない。その他、SSに関する診療に従来から必要とされる検査、診療についての患者負担費用は従来通り通常保険診療内での支払いとなる。

尚、本研究は兵庫医科大学倫理委員会で審査を受け、承認を得ている。(第758号)

C. 研究結果

SS群では非SS群に比べ有意に唾液量が少なく(7.92 ± 4.54 ml/10分 vs 16.72 ± 5.96 ml/10分; p<0.01)、そしてOHIP-14スコアが高値であった(11.58 ± 9.60点 vs 7.41 ± 7.69点; p=0.047)

SS群では非SS群に比べ唾液中EGF量が有意に少なく(9430.1 ± 8624.5 pg/10分 vs 13238.7 ± 8153.6 pg/10分; p=0.049)、そしてSS群では唾液中EGF量は唾液分泌量と正の相関を示した(rs=0.63, p<0.01)。ムスカリン受容体刺激薬、副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制剤を服用してい

ないSS患者に限るとより強い正の相関が見られた(rs=0.80, p=0.001)。唾液中EGF濃度はSS群で非SS群に比べ有意に高かった(1119.0 ± 873.5 pg/ml vs 779.2 ± 382.5 pg/ml; p=0.04)。しかし、SS群をOHIP-14スコアに基づき口腔内病変の程度の強い群(重症群)と弱い群(軽症群)に二群化したところ、二群間において年齢、罹病期間、唾液量に有意差は認めなかったが、重症群は軽症群と比べ唾液中EGF濃度が低い傾向にあり(884.58 ± 599.21 pg/ml vs 1375.18 ± 975.24 pg/ml; p=0.06)、唾液中EGF量では軽症群、非SS群のいずれと比べても有意に低値であった。(6982.23 ± 6378.64 pg/10分, 12138.89 ± 9303.8 pg/10分, 13238.68 ± 8153.59 pg/10分; p=0.049, p=0.01)一方、軽症群では唾液中EGF濃度は非SS群より有意に高く(1375.18 ± 975.24 pg/ml vs 779.19 ± 382.49 pg/ml; p=0.005)、しかしEGF量は非SS群と比して有意差は認めなかった(12138.89 ± 9303.8 pg/10分 vs 13238.68 ± 8153.59 pg/10分; p=0.34)。

OHIP-14スコア値と唾液量、唾液中EGF濃度、同EGF量の間にはそれぞれ負の相関を認めた

(rs=0.63, p=0.03; rs=0.73, p=0.01; rs=0.75, P=0.01)。

罹病期間と唾液分泌量の間には弱い負の相関が見られたが(rs=0.36, p=0.04)、唾液中EGF量との間にはより強い負の相関が見られた(rs=0.47, p=0.008)。

D. 考察

難治性口内炎患者や頭頸部への放射線照射に伴う口腔粘膜障害を生じた患者において唾液中EGF濃度が低いという既存報告(Ino M, et al. Acta Otolaryngol. Suppl. 500, 126-130, 1993, Epstein JB, et al. Cancer. 89, 2258-2265, 2000, Herman BD, et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 89, 710-716, 2000, Adisen E, et al. Dermatology. 217, 235-240, 2008)があり、口腔粘膜障害と唾液中EGFの間に強い関連性があると考えられるがSS患者での解析はこれまでなされていない。

今回の結果により、SSでは進行に伴い唾液腺の分泌能が低下すると、唾液分泌量が低下するのみでなく、唾液中へのEGF分泌量も低下することが示された。さらに、唾液中EGF濃度およびEGF量の低下は、唾液分泌量同様またはそれ以上に口腔内QOLの低下に関連することが示された。EGFの生理機能作用を考慮すると、EGFの低下により口腔内病変の修復の遷延化が生じ、SSではそのため

口腔内病変の慢性化・重症化・難治化を来すものと考えられる。つまり、SSにおける口腔内病変の形成には唾液分泌量低下による口腔内クリアランス低下に加え、唾液中 EGF の低下という唾液の質および機能の低下が関与している可能性が示唆された。

難知性の潰瘍性大腸炎において EGF を注腸投与することで腸管粘膜病変が改善したことが報告されているが、SS においても EGF を含嗽などにより粘膜面に接触させることによって口腔内病変を治療できる可能性があると思われた。

E. 結論

SS では進行に伴い唾液分泌量のみでなく、唾液中 EGF 分泌量も低下する。この唾液の質の低下が SS における難治性の口腔内病変の形成や口腔内 QOL の低下に関与していることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

論文での公表は現時点で行っていない。

2. 学会発表

東直人、片田圭宣、北野幸恵、西岡亜紀、関口昌弘、北野将康、松井聖、佐野統. シェーグレン症候群における口腔内病変と唾液中 EGF の関係.

第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会／東京都／2011 年 11 月 10 日（アレルギー. 60(9-10), 1327, 2011)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

該当する特記事項なし。

2. 実用新案登録

該当する特記事項なし。

3. その他

該当する特記事項なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

シェーグレン症候群におけるダイオキシンを介した EBV 再活性化の関与

研究分担者 斎藤一郎 鶴見大学歯学部病理学講座 教授
研究協力者 井上裕子 鶴見大学歯学部病理学講座 准教授

研究要旨

ダイオキシンは性ホルモン様作用を示すほか、癌や自己免疫疾患の発症に関与している事が報告されている。また、Epstein-Barr virus (EB ウイルス) の再活性化はシェーグレン症候群をはじめとする自己免疫疾患の発症に関与している可能性が報告されている。本課題では EB ウイルス再活性化の指標となる BZLF1 遺伝子のプロモーターアッセイを行い、ダイオキシンレセプター (AhR) を介した転写活性化を確認し、BZLF1 mRNA の発現、EB ウイルスの複製を real time PCR 法で確認した。さらに、シェーグレン症候群患者唾液を用いてプロモーターアッセイを行った結果、患者唾液中には AhR を活性化し BZLF1 の転写を促進する因子が含まれていることを明らかにした。

A. 研究目的

内分泌攪乱物質として知られるダイオキシンは性ホルモン様作用を示すほか、癌や自己免疫疾患を誘発するなど様々な生体への影響が報告されているが、ヒトの病態形成への関連については不明の点が多い。一方、Epstein-Barr virus (EB ウイルス) は健常人の大半が潜伏感染しており、その再活性化は、慢性疲労症候群、悪性腫瘍、シェーグレン症候群 (SS) をはじめとした自己免疫疾患の発症に関与していることが報告されているが、生体内における活性化因子は不明である。これらのことから本課題ではダイオキシン類による EB ウイルス再活性化の可能性を検討し、SS 患者唾液を用いた検討でダイオキシン類の SS の病態形成への関与について解析を行った。

B. 研究方法

細胞は EB ウイルス陽性 B 細胞株である P3HR1 および B95-8 と唾液腺上皮細胞株 (HSY) を用いた。EB ウイルスの再活性化に必須な遺伝子である BZLF1 のプロモーターをルシフェラーゼ遺伝子に連結したレポータープラスミド (Zp) を作成し、各細胞に遺伝子導入した後ダイオキシンによる Zp 活性を指標に EB ウイルス再活性化の可能性を検討した。さらに BZLF1 の mRNA および EB ウイルス DNA 量を real time PCR 法で定量した。また、SS におけるダイオキシン類の作用を検討するために、AhR の標的遺伝子である

CYP1A1 プロモーター活性を指標に SS 患者唾液中の AhR 活性化因子の解析を行った。

C. 研究結果

P3HR1 および B95-8 細胞は無刺激ではダイオキシンによる Zp 活性は認められなかったが、TPA 刺激により活性化した条件下では TCDD により Zp 活性増強ならびに BZLF1 の mRNA 発現、EB ウイルス DNA の複製も real time PCR 法により確認できた。さらに HSY 細胞でも TCDD により Zp 活性の増強が認められた。次に SS 患者唾液を用いて同様の検討を行った結果、SS 患者唾液は健常人や SS 以外のドライマウス患者の唾液と比べて有意に高い Zp 活性を示し、AhR の標的遺伝子である CYP1A1 活性の増強も認めた。さらにこれら両者の活性には正の相関が認められた。

D. 考察

ダイオキシンなどのリガンドにより活性化された AhR は EB ウイルス潜伏感染した B 細胞や唾液腺上皮細胞に作用して、ウイルスの早初期蛋白であり、再活性化に必須な遺伝子 BZLF1 の転写促進し、EB ウイルス再活性化を誘導する可能性が示唆された。また、SS 患者唾液は AhR の標的遺伝子である CYP1A1 のプロモーター活性を増強させたことから、患者唾液中にダイオキシン様の AhR 活性化因子が存在し、それらが BZLF1 のプロモーターを活性化し、転写を促進することで EB ウイルスの再活性化が誘導され、SS の病態に何

らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。

E. 結論

SS 患者唾液中には AhR 活性化因子が存在し、これらが BZLF1 プロモーター活性を増強することで EB ウイルスの再活性化を誘導し、病態形成に関与している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Inoue H, Mishima K, Yamamoto S, Nakayama R, Nakagawa Y, Yamamoto K, Ryo K, Ide F, Saito I.: Aryl Hydrocarbon Receptor-Mediated Induction of Epstein-Barr Virus Reactivation as a Risk Factor for Sjogren' s Syndrome. *J. Immunol.*, in revision.
2. Imai K, Inoue H, Tamura M, Cueno ME, Takeichi O, Kusama K, Saito I, Ochiai K
The periodontal pathogen Porphyromonas gingivalis induces the Epstein-Barr virus lytic switch transactivator ZEBRA by histone modification. *Biochimie* in press
3. Okada N., Kawakita T., Mishima K., Saito I, Miyashita H., Yoshida S., Shimmura S., Tsubota K.: Clusterin promotes corneal epithelial cell growth through upregulation of hepatocyte growth factor by mesenchymal cells in vitro. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 52:2905-2910. 2011.
4. Inoue H., Giannakopoulos S., Parkhurst CN., Matsumura T., Kono EA., Furukawa T., Tanese N.: Target genes of the largest human SWI/SNF complex subunit control cell growth. *Biochem. J.*, 434: 83-92, 2011.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

シェーグレン症候群診断基準におけるドライアイに関する研究

研究分担者 高村 悦子 東京女子医科大学医学部医学科眼科 准教授
研究協力者 市川奈緒美 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 准講師

研究要旨

シェーグレン症候群の診断基準においても国際的に統一された診断基準の確立のために、厚生省改定診断基準とそれ以外の診断基準について比較し、シェーグレン症候群の診断基準におけるドライアイ検査法について検討した。厚生省改定診断基準 4 項目の検査から診断されたシェーグレン症候群者 60 例においてドライアイ検査の陽性率（実施率）はそれぞれシルマーテスト 80%（100%）、ローズベンガルまたはその他の染色による角結膜染色試験 78.7%（78.3%）、蛍光色素試験 74.5%（78.3%）であった。厚生省改定診断基準を標準とした場合、アメリカ・ヨーロッパ改定分類基準は感度 83%、特異度 100%、SICCA 診断基準は感度 88.7%、特異度 100%であった。眼科を初診した一次性シェーグレン症候群 64 例において、ドライアイ検査の実施率は 100%であり、陽性率はシルマーテスト 84.8%、角結膜染色 85.9%、蛍光色素試験 75%であった。厚生省改定診断基準を標準とした場合の感度、特異度はそれぞれアメリカ・ヨーロッパ改定分類基準 67.9%、90.9%、SICCA 診断基準 96.2%、81.8%であった。

A. 研究目的

シェーグレン症候群の診断には、厚生省改定診断基準（1999 年）が日常診療で広く用いられているが、その他にもアメリカ・ヨーロッパ改定分類基準（2002 年）、SICCA 診断基準（2010 年）があり、現在のところ国際的に統一された診断基準はない。一方、シェーグレン症候群の主症状であるドライアイについては世界的なドライアイ研究の流れを反映し、2006 年に本邦の診断基準が改定されており、シェーグレン症候群の診断基準においても国際的に統一された診断基準が確立されれば、世界規模の疫学調査、診断法、治療薬の開発への可能性がでてくる。そこで、今回、厚生省改定診断基準とそれ以外の診断基準について比較し、シェーグレン症候群の診断基準におけるドライアイ検査法の有用性を検討することを目的とした。

B 研究方法

東京女子医科大学病院を受診したシェーグレン症候群およびシェーグレン症候群疑い患者のうち、厚生省改定診断基準 4 項目の検査から診断された 60 例（女性、平均年齢は 59.8 ± 16.6 歳、1 次性 SS40 例、2 次性 SS20 例：RA5 例、SLE7 例、SSc5 例）を対象とした。

各検査の実施率および陽性率（最重症時）、厚生省改定診断基準を標準とした場合のアメリカ・ヨーロッパ改定分類基準および SICCA 診断基準の感度、特異度を検討した。また、ドライアイ検査法の有用性を検討するために、眼科を初診した一次性シェーグレン症候群 64 例（女性、年齢 59.4 ± 16.8 歳）についてドライアイの検査として採用されているシルマーテスト、眼表面全体の障害の指標としての角結膜染色検査、角膜障害の指標としての蛍光色素試験についてそれぞれの検査の陽性率を検討した。

C 研究結果

眼乾燥症状、口腔乾燥症状は 53 例にみとめた。検査の実施率は、シルマーテスト 100%、ローズベンガルまたはその他の染色による角結膜染色試験 78.3%、蛍光色素試験 78.3%、組織検査として口唇唾液腺生検 100%、唾液腺障害の検査として、ガムテスト 90%、耳下腺造影 18.3%、唾液腺シンチグラフィ 21.7%、自己抗体検査 100%であった。3 つの診断基準のうちすべてを満たすものが 41 例、いずれも満たさないものが 7 例、厚生省改定診断基準のみが 3 例（ドライアイと唾液腺機能低下、唾液腺低下と抗 SSA 抗体陽性）