

平成 22 年 5 月 18 日現在

研究種目： 基盤研究（C）

研究期間： 2006～2008

課題番号： 18592186

研究課題名（和文） シェーグレン症候群患者の唾液腺における唾液分泌異常の解明

研究課題名（英文） The mechanism of abnormal secretion of saliva in patients with Sjögren's syndrome.

研究代表者

大山 順子（YUKIKO OHYAMA）

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号： 70294957

研究成果の概要（和文）：

シェーグレン症候群（SS）患者における塩酸セビメリン内服の効果は唾液腺障害程度の軽症群では有意に認められたが、SSのモデルマウスから作製したモノクローナル抗唾液腺抗体である nzm-1858 を用いた免疫組織染色で導管細胞質内の染色性の強い症例では唾液腺障害の程度にかかわらず塩酸セビメリンの効果が高い傾向が認められた。nzm-1858 の抗原は 69kDa の蛋白で現在この抗原の解析を行っている。

研究成果の概要（英文）：

Treatment with cevimeline hydrochloride in patients with Sjögren's syndrome is significantly effective to patients who had mild destruction of salivary glands. "nzm-1858", an anti salivary glands monoclonal antibody established from model mice of SS, reacts to human salivary ductal cells, and cevimeline hydrochloride is more effective to salivary glands which have positive reaction to nzm-1858 in immunohistochemical staining. Antigen to nzm-1858 is 69kDa protein and we are analyzing this protein.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	900,000	0	900,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	0	0	0
年度			
総計	2,800,000	570,000	3,370,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 歯学 ・ 病態科学系歯学、歯科放射線学

キーワード： シェーグレン症候群、唾液分泌異常、ドライマウス、塩酸セビメリン

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群（SS）は初期症状とし

て唾液腺や涙腺などの外分泌腺が特異的に障害される自己免疫疾患である。遺伝的要因、ウイルスや細菌感染が発症に関与している

との報告もあるが、その病因はいまだ解明されていない。病因の解明を行い根治的かつ選択的な治療法を確立することは必須であるが、乾燥症状などに対する対症療法の確立も患者の QOL の改善のためには必要である。

SS の乾燥症状に対する治療にムスカリン受容体作動薬が使用されるようになり、乾燥症状は画期的に改善されてきた。本邦でも 2001 年 9 月からムスカリン M3 受容体作動薬である塩酸セビメリンの内服が認可され、その有用性が報告されてきている。われわれも 200 症例以上に使用しており、有用性を確認しているが、塩酸セビメリン内服で唾液分泌量の増加が認められる症例と認められない症例があることも明らかになってきた。

SS 患者の唾液分泌減少の第一の理由としては唾液腺組織の破壊が考えられるが、高度に唾液分泌が減少している症例でも唾液腺のすべてが破壊されているわけではなく、軽度のリンパ球の浸潤に加えてわずかに唾液腺の破壊が認められる症例でも唾液分泌量の低下が認められる症例も多数ある。また、塩酸セビメリン内服で唾液分泌量の増加が認められるのは唾液腺の破壊程度が軽度である症例が多いものの、唾液腺の破壊程度が軽度でも塩酸セビメリン内服で唾液分泌量の増加が認められない症例や、破壊が進行していても塩酸セビメリン内服で唾液分泌の増加が認められる症例もある。

したがって、SS の唾液分泌量の低下はただ単に唾液腺組織の破壊だけによって生じるのではなく、その他の要因も関与していると考えられる。SS 患者の涙腺で報告されている water channel であるアクアポリン 5 の分布異常や、SS の全身症状として近年注目されている神経障害という観点から唾液分泌に関する M3 レセプターを介したシグナルの異常などが SS の唾液分泌異常を引き起こす要因の候補として考えられているが、そのメカニズムは未だ解明されていない。

2 . 研究の目的

これらの背景のもと、SS の唾液分泌異常のメカニズムを解明することにより、塩酸セビメリンを用いた個々の SS 患者の乾燥症状に対する治療の感受性をあらかじめ診断することや、新しい治療法を考案することを最終目的として本研究を行った。

3 . 研究の方法

(1) SS 患者における塩酸セビメリンの効果

塩酸セビメリン内服を 3 ヶ月以上行った患者の唾液分泌量の増加をガムテスト、サクソテストを用いて測定し、さらに自覚的口腔乾燥症状については VAS を用いて測定した。

(2) SS モデルマウスから得られたモノクローナル抗体に対する SS 患者口唇腺の反応

研究代表者大山らが作製した SS モデルマウス (NZM2328 マウスにマウスサイトメガロウイルスを感染させ、感染が終息した後に SS 様のリンパ球浸潤を伴った唾液腺炎を発症するモデル) 脾臓を用いて B 細胞ハイブリドーマを作製し、この中でマウス唾液腺および涙腺に特異的に反応するモノクローナル抗体を選択した。この抗体に対する SS 患者口唇腺の反応性を免疫組織染色法を用いて検討した。

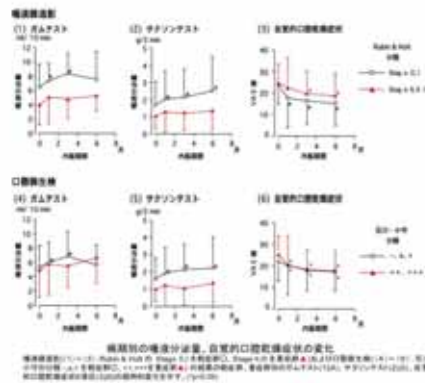
(3) マウス抗唾液腺抗体 (nzm-1858) の反応性の解析

モノクローナル抗体に対する抗原の同定はマウス唾液腺を用いて行った。顎下腺、舌下腺を用いたウエスタンブロット、¹²⁵I ラベルした唾液腺を用いた免疫沈降法を用いて蛋白の同定を行った。

4 . 研究成果

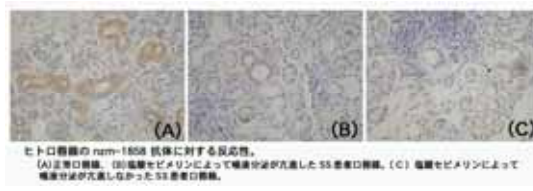
(1) SS 患者における塩酸セビメリンの効果

塩酸セビメリン内服の効果と唾液腺障害程度との関連を検討したところ、唾液線造影、口唇腺生検結果から唾液線障害の程度の軽症群では唾液分泌量の増加が有意に認められたが、重症群では有意差は認めなかった。しかしながら、自覚的口腔感想症状については軽症群、重症群ともに症状の改善が認められた。さらに、個々の症例を検討すると、唾液線障害は軽度にもかかわらず唾液分泌量が少なく薬剤に対する反応性の少ない症例、唾液線障害は比較的進んでいるにもかかわらず薬剤に対する反応性が見られる症例もあり、唾液分泌量の減少ならびに薬剤反応性は唾液線障害のみに起因するものではないと考えこれらの症例に注目して解析を進めた。



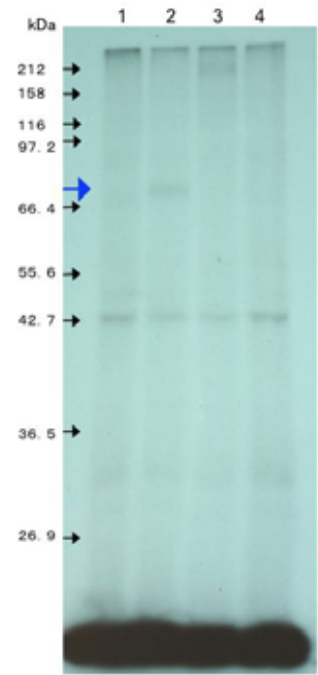
(2) シェーグレン症候群モデルマウスから得られたモノクローナル抗体の反応性

マウス唾液腺および涙腺に反応するモノクローナル抗体について、まず正常ヒト唾液腺（顎下腺および口唇腺）への反応を確認したところ、マウスと同様染色されることが確認された抗体について正常口唇腺、塩酸セビメリンによって唾液分泌量が増加した症例、増加を認めなかった症例の口唇腺の免疫染色状態を観察した。その中で1つの抗体（nzm-1858）について唾液分泌量の増加を認めた症例では正常唾液腺と同様に導管細胞の細胞質内の染色は認めるものの唾液分泌量の増加が認められなかった症例では反応性に乏しい傾向を認めた。



(3) マウス抗唾液腺抗体（nzm-1858）の反応性の解析

マウス唾液腺を用いた SDS-PAGE, ウエスタンブロットでは抗原性が変化してしまうためかこの抗体との反応性は明らかには認められなかった。そのため¹²⁵Iラベルしたマウス唾液腺を用いた免疫沈降を行ったところ68kDの蛋白との反応性が認められた。この蛋白のアミノ酸配列の同定までは本研究期間に終了しなかったが、この抗原を確認し、SS患者におけるこの抗原に対する抗体価、病態との関係をさらに解析していく予定である。



5. 主な発表論文等

- 〔雑誌論文〕(計4件)
- (1) Shimizu M, Okamura K, Yoshiura K, Ohyama Y, Nakamura S. : Sonographic diagnosis of Sjogren's syndrome: evaluation of parotid gland vascularity as a diagnostic tool. : Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. : 106(4) 567-594
- (2) Deshmukh US, Ohyama Y, Bagavant H, Guo X, Gaskin F, Fu SM. Inflammatory stimuli accelerate Sjogren's syndrome-like disease in (NZB x NZW)F(1) mice. : Arthritis Rheum. : 58(5) 1318-1323 2008
- (3) 大山順子、中村誠司、宮田弘毅、佐々木匡理、川村英司、熊丸渉、林田淳之將、豊嶋健史、森山雅文、白砂兼光: シェーグレン症候群患者に対する塩酸セビメリンを用いた内服治療の検討: 日口外誌. 53 (4): 220-227 2007
- () Ohyama Y, Carroll VA, Deshmukh U, Gaskin F, Brown MG, Fu SM.: Severe focal sialadenitis and dacryoadenitis in NZM2328 mice induced by MCMV: a novel model for human Sjogren's syndrome. J Immunol 177(10):7391-7 2006

6 . 研究組織

(1)研究代表者

大山 順子 (YUKIKO OHYAMA)
九州大学・大学院歯学研究院・助教
研究者番号：70294957

(2)研究分担者

中村 誠司 (SEIJI NAKAMUA)
九州大学・大学院歯学研究院・教授
研究者番号：60189040

藤井 潤 (JUN FUJII)
九州大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：60271441

白砂 兼光 (KANEMITSU SHIRASUNA)
九州大学・大学院歯学研究院・名誉教授
研究者番号：30093420