

シェーグレン症候群と疾患関連遺伝子の関係性,  
および無症候性シェーグレン症候群の心臓病変の解析研究

The relation between Sjögren syndrome and disease related genes and the analysis  
at cardiac involvement of asymptomatic Sjögren syndrome

杉山海太<sup>1)</sup>、北村 登<sup>1)</sup>、小林ひとみ<sup>1)</sup>、小林泰之<sup>1)</sup>、大島正嗣<sup>1)</sup>、濱口麻里奈<sup>1)</sup>、芳  
沢昌栄<sup>1)</sup>、長澤洋介<sup>1)</sup>、西脇農真<sup>1)</sup>、井汲菜摘<sup>1)</sup>、野崎高正<sup>1)</sup>、猪股弘武<sup>1)</sup>、白岩秀  
隆<sup>1)</sup>、唐澤博美<sup>1)</sup>、岩田光浩<sup>1)</sup>、松川吉博<sup>1)</sup>、武井正美<sup>1)</sup>

Kaita SUGIYAMA<sup>1)</sup>, Noboru KITAMURA<sup>1)</sup>, Hitomi KOBAYASHI<sup>1)</sup>, Yasuyuki  
KOBAYASHI<sup>1)</sup>, Masashi OSHIMA<sup>1)</sup>, Marina HAMAGUCHI<sup>1)</sup>, Shoei YOSHIZAWA<sup>1)</sup>, Yosuke  
NAGASAWA,<sup>1)</sup> Natsumi IKUMI<sup>1)</sup>, Takamasa NOZAKI<sup>1)</sup>, Hirotake INOMATA<sup>1)</sup>, Hidetaka  
SHIRAIWA<sup>1)</sup>, Hiromi KARASAWA<sup>1)</sup>, Mitsuhiro IWATA<sup>1)</sup>, Yoshihiro MATSUKAWA<sup>1)</sup>,  
Masami TAKEI<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>日本大学医学部 内科学系血液膠原病内科学分野

[要旨]

シェーグレン症候群(SS)の疾患関連遺伝子のひとつとして考えられ、モデルマウスで発現している Parotid secretory protein (PSP)の遺伝子がヒトで発現されているか否かを検討するため、シェーグレン症候群患者の小唾液腺組織での PSP 遺伝子発現をリアルタイム PCR で検討し、PSP 蛋白発現を免疫染色で検討した。PSP 遺伝子発現は認められたが、免疫染色では PSP 蛋白は染色されなかった。PSP 遺伝子が二次的な反応として発現していることが示唆された。また、SS による心臓合併症が知られているが無症候性に発症していることがある。心臓 MRI(cardiac magnetic resonance imaging: CMR)は心筋の障害を描出するのに有用な検査であり、今回 SS 患者の CMR と自己抗体、バイオマーカーを評価する事で SS の潜在性心筋病変を評価した。QTcの延長と IL-6 が CMR の病変と有意な相関を認め、SS の深在性心臓病変の診断、評価に有用であることが示唆された。

## 〈研究 1〉

### [背景・目的]

当研究室では DNA マイクロアレイ法を用いて、SS のモデルマウス唾液腺上で高発現している遺伝子をいくつか発見し、疾患関連遺伝子として報告した。それら遺伝子のうち PSP 遺伝子の発現をリアルタイム PCR で検討し、ヒト唾液腺組織を使用してこれら蛋白の発現について免疫組織染色法で検討し疾患特異的な遺伝子か否かについて解析することとした。

### [方法]

5 人の SS 患者検体を使用し、対照群として 4 人の唾液腺嚢胞患者検体を使用した。

全ての患者にインフォームドコンセントを行って同意を得た検体を使用した。小唾液腺は患者下口唇より生検された検体を使用した。SS 患者年齢は 45 歳から 69 歳、唾液腺嚢胞患者は 22 歳から 62 歳であった。PSP 遺伝子のヒトペプチドを合成し (PSP: SAWQLAKQKAQEAE)、ウサギに免疫しこれらペプチドに対する抗ヒトペプチド抗体を作製し血清よりアフィニティカラムで精製(蛋白精製工業、高崎市)したものを使用した。

### [結果]

PSP のペプチドに対する抗マウスペプチド抗体を一次抗体に用いて免疫組織染色を施行した。PSP 遺伝子はヒト一次性、二次性 SS 患者の唾液腺導管細胞において発現を認めた。ヒト唾液腺嚢胞患者の唾液腺導管細胞では発現を認めなかった。

### [考察]

自然界の口腔環境は細菌あるいは virus 感染にさらされている。SS では慢性炎症と唾液分泌低下で感染に対する防御機構が低下しているものと考えられる。PSP 分子は慢性炎症と細菌感染に対して抗炎症的に働くペプチドであり、ヒトで亢進する理由として、PSP 分子は病因に関連する何らかの感染に対する炎症とそれに対する抗炎症効果で発現亢進した可能性が考えられた。

### [結論]

シェーグレン症候群(SS)患者 PSP の発現を、ヒト唾液腺組織で検討し PSP 遺伝子の発現は認めたが、ヒト唾液腺嚢胞患者の唾液腺導管細胞では発現を認めなかった。PSP 遺伝子が二次的な反応として発現していることが示唆された。

## [参考文献]

- <sup>1)</sup>Madsen HO, Hjorth JP: Molecular cloning of mouse PSP mRNA. *Nucleic Acids Res.* 1985; 13: 1-13.
- <sup>2)</sup>Mirels L, Ball WD: Neonatal rat submandibular gland protein SMG-A and parotid secretory protein are alternatively regulated members of a salivary protein multigene family. *J Biol Chem.* 1992; 267, 2679-2687.
- <sup>3)</sup>Khovidhunkit M, Hachem JP, Medzihradzky KF, Duchateau PN, Shigenaga JK, Moser AH, et al: Parotid secretory protein is an HDL-associated protein with anticandidal activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005; 288: 1306-1315.

## <研究 2>

### [背景・目的]

SS の疾患特異的自己抗体である抗 SS-A/Ro 抗体や抗 SS-B/La 抗体が陽性の母親の胎児に完全房室ブロックが 2~5%に診断され、成人 SS 患者の心電図では PR 時間の延長がみられる。このように SS には心臓病変の合併が知られているが、心臓病変があっても臨床的に心症状を現しにくく、突然死で発見される例も報告されている。過去に我々は心臓 MRI を用い、他の膠原病疾患において無症候性の心臓病変が存在する事を発見し、さらに SS では Raynaud 症状が強い患者における無症候性の心臓病変を心臓 MRI(cardiac magnetic resonance imaging; CMR)で確認した事を報告した。今回我々は、SS 患者に CMR を行い、同時に心血管疾患の炎症性バイオマーカーを測定し、心症状を有さない段階での SS 患者の心臓病変の頻度と程度、炎症性バイオマーカーとの関連性を検討する。

### [方法]

心症状のない一次性 SS(pSS)の患者(54 名)を対象に CMR を行った。心筋の線維化の評価可能な遅延ガドリニウム造影(late gadolinium enhancement; LGE)、心筋の浮腫が判定できる T2 強調画像(T2-weighted image; T2WI)を用いて無症候性の心病変の検討を行った。また、LGE 及び T2WI と SSc の疾患背景因子、心血管の炎症性バイオマーカー(TNF- $\alpha$ , IL-6, PTX3, MMP-9, leptin, adiponectin)に関連性があるかどうか評価した。

### [結果]

LGE 陽性の患者は 10 例(18.5%)のうち 2 例(3.7%)は T2WI も陽性であった。T2WI 陽性の患者は 3 例(5.6%)だった。LGE は QTc 間隔と関連を示した( $p=0.047$ )。54 例中 36 例の pSS 患者で炎症性バイオマーカーを追加測定した。pSS の患者において IL-6 は LGE 陽性を示した患者で有意に高値であったが( $p=0.026$ )ほぼ全例が正常値であった。

Patient characteristics according to myocardial late gadolinium enhancement

	Total (n=54)	No LGE (n=44)	LGE Present (n=10)	p-value
<b>Cardiovascular factors</b>				
Systolic blood pressure, mmHg*	121±14	121±14	122±12	0.91
Diastolic blood pressure, mmHg*	71±10	71±10	70±8	0.69
Total cholesterol, mg/dL*	188±33	184±33	206±28	0.17
LDL-C, mg/dL*	107±21	106±21	109±20	0.68
HDL-C, mg/dL**	56(45-67)	57(45-67)	55(44-84)	0.77
Triglycerides, mg/dL**	101(77-130)	101(77-130)	99(76-150)	0.90
Hemoglobin A1c, %*	5.6±0.3	5.6±0.3	5.4±0.2	0.11
Framingham score, units**	11(6-13)	11(6-13)	11(9-13)	0.75
N-terminal proBNP, pg/mL**	52(21-134)	47(21-119)	116(37-535)	0.09
QTc, per ms*	433±25	430±25	447±15	<b>0.047</b>
<b>Cardiac MRI measures</b>				
Ejection fraction, %*	64±6	63±8	64±6	0.80
T2WI BB, units, n(%) ***	3(5.6)	1(2.3)	2(20)	0.085

Means ± standard deviation or median (interquartile range) depicted unless otherwise indicated.

\* t-test  
\*\* Wilcoxon rank sum test  
\*\*\* Fisher's exact test

Patient characteristics according to myocardial late gadolinium enhancement  
- inflammatory biomarkers -

	Total (n=36)	No LGE (n=28)	LGE Present (n=8)	p-value
Pentraxin 3, ng/mL	1.6(1.1-2.1)	1.6 (1.2-2.1)	1.5 (1.0-2.2)	0.70
IL-6, pg/mL	1.7(1.2-2.6)	1.6 (1.0-2.1)	2.6 (1.8-3.4)	<b>0.026</b>
TNF-α, pg/mL	1.1(0.9-1.5)	1.1(0.9-1.5)	1.0 (0.8-1.3)	0.63
Leptin, μg/mL	13.6(8.3-18.3)	13.6 (8.3-18.3)	14.1 (7.9-21.8)	0.91
Adiponectin, ng/mL	5.1(3.0-7.1)	5.1 (3.0-6.9)	5.5 (3.2-9.3)	0.63
MMP9, ng/ml	27(21-32)	27(23-35)	23(17-27.8)	0.27

Median (interquartile range) depicted.

Wilcoxon rank sum test

[考察]

CMR を用いて pSS 患者の心病変を指摘することができた。無症候性の pSS 患者において高頻度に LGE 陽性を認めた。第二に QTc 間隔は LGE と有意に関連を示した。検索した限りでは pSS 患者の心筋異常と QTc 間隔が関連していることを示した研究はこれまでにない。無症候性の pSS 患者でも CMR で評価することで心血管病変の頻度が高いことが示された。今後も pSS 症例の蓄積と疾患に関連する臨床的あるいは免疫学的なマーカーの検討が必要である。

### [結論]

SS 患者の CMR と自己抗体、バイオマーカーを評価する事で SS の潜在性心筋病変を評価し、QTc の延長と IL-6 が CMR の病変と有意な相関を認め、SS の深在性心臓病変の診断、評価に有用であることが示唆された。

### [参考文献]

- <sup>1)</sup>Lee YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG: Overall and cause-specific mortality in systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. *Lupus*. 2016; 25: 727-734.
- <sup>2)</sup>Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, et al: Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2003; 107: 1303-1307.
- <sup>3)</sup>Geraldino-Pardilla L, Gartshteyn Y, Piña P, Cerrone M, Giles JT, et al: ECG non-specific ST-T and QTc abnormalities in patients with systemic lupus erythematosus compared with rheumatoid arthritis. *Lupus Sci Med*. 2016; 3: e000168.