学 位 論 文 内 容 の 要 旨

愛知学院大学

論 文 提 出 者	早 川　　泰 平
論　文　題　目	口腔粘膜に発症する自己免疫性水疱症の血清学的診断

（論文内容の要旨）

No. 1

愛知学院大学

I. 緒言

日々の臨床において、びらん・潰瘍を長期間呈する難治性口内炎患者に遭遇する事があるが、それらは特徴的な臨床所見に乏しく、通常の血液検査や病理検査では診断出来ないことが多い。しかしながらそのような症例の中で、自己免疫性水疱症（AIBD）に関する自己抗体が検出される事がある。AIBD は口腔粘膜に病変を来たし得る水疱形成性疾患で、表皮接着分子に対する自己抗体を有し、自己抗体の標的部位の違いにより天疱瘡群と類天疱瘡群に大別される。特に粘膜類天疱瘡（MMP）は粘膜を中心に病変を来たす AIBD で、ほとんどの患者が口腔粘膜に病変を生じる。MMP は主に BP180C 末端やラミニン 332（L332）に対する自己抗体を有するが、その他にも多様な抗基底膜抗体を有し、診断に苦慮することが多い。またその病態の多くは未だ明らかになっていないため、診断のつかない多くの難治性口内炎が AIBD、特に MMP に関連した病変である可能性が示唆される。そこで、本研究ではびらん・潰瘍を繰り返す難治性口内炎が AIBD の一病態であるということを検証し、診断方法の有用性を検討するために 3 種の血清学的手法を用いて 30 例の難治性口内炎患者の血清抗体を検索した。

II. 対象および方法

平成 20 年から 25 年の間に愛知学院大学歯学部附属病院を受診した 30 例の難治性びらん・潰瘍性病変を呈する患者を対象とした。これらに対し、間接蛍光抗体法（IIF）、免疫ブロット法（IB）、ELISA を行った。また BP180

抗体および BP230 抗体の口腔粘膜に対する病原性を検討するために水疱性類天疱瘡患者 46 例を後ろ向きに調査した。本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会（承認番号：290）および久留米大学医療に関する倫理委員会（承認番号：14001）の指針に基づいて行った。

IIF は正常ヒト皮膚（NS）および剥離ヒト皮膚（SS）を対象とした。IB はヒト表皮抽出液、BP180NC16a、BP180C 末端、HaCaT 培養上清、ヒト真皮抽出液、L332 を抗原タンパク質または抗原タンパク質を含む試料として用い、患者血清を反応させた。ELISA は BP180 および BP230 に対する抗体価を測定した。統計解析は $P<0.05$ を有意差ありとした。

III. 結果

男性 15 人、女性 15 人で平均年齢は 64 歳（17-87 歳）であった。5 例は悪性腫瘍の既往があった。病変は歯肉（21 例）と頬粘膜（18 例）に多く、口蓋（8 例）、舌（4 例）、口唇（4 例）に病変を呈するものは少なかった。2 例は咽頭あるいは喉頭に病変を有し、3 例は皮膚病変を有していた。眼病変や他部位の粘膜病変を呈する者はいなかった。治療は、主として局所ステロイド薬（26 例）とアズレンスルホン酸（22 例）が第一選択として使用され、局所療法が奏功しない症例はミノサイクリン（8 例）、ニコチン酸（8 例）、経口ステロイド（4 例）等の全身投与を行った。NS を用いた IIF（NS-IIF）では抗基底膜抗体を 5 例検出した。一方 SS を用いた IIF（SS－IIF）はより感度が高く、20 例が陽性として検出された。IB では 21 例がいずれかの基

質に対し陽性であった。BP180 NC16a IB では 8 例の IgG 抗体を検出し、BP180C 末端 IB は 12 例の IgG/A 抗体を検出した。また L332 IB では 7 例の L332 抗体を検出した。BP180ELISA では IgG 抗体 9 例が反応し、IgA 抗体は反応しなかった。また水疱性類天疱瘡患者 46 例のうち 4 例に口腔粘膜病変を認め、3 例は BP180NC16a 抗体を有していた。

IV. 血清学的検査に基づいた確定診断

確定診断は IIF、IB および ELISA の結果に基づいて行った。まず IIF で陽性であった症例は抗皮膚抗体を有するため AIBD と診断した。さらに BP180C 末端 IB で陽性の場合、BP180 型 MMP と診断し、L332IB で陽性の場合、L332 型 MMP と診断した。ELISA や IB で BP180NC16a に反応したものも BP180 型 MMP と診断した。またこれら 2 つが共に陽性であった場合は共陽性型 MMP と診断した。IB で診断につながる陽性所見を認めず、SS-IIF で陽性であった症例はその染色パターンにより診断した。SS-IIF では剥離された皮膚の表皮側に BP180、真皮側に L332 が分離されるため、SS-IIF で表皮側に陽性反応を示した場合、BP180 型 MMP と診断した。IB、IIF および ELISA においてすべての検査が陰性であった症例は AIBD ではないと診断した。

この診断基準を適応し、最終的に 17 例を BP180 型 MMP、3 例を L332 型 MMP、4 例を共陽性型 MMP と診断し、6 例は AIBD ではないとした。

さらに、ELISA では、BP180 型 MMP17 例のうち 8 例と共陽性 MMP3 例の

うち1例がBP180ELISAにおいて陽性であった。

V. 各MMP亜型と臨床的特徴の関係

AIBDではない6例の平均年齢は52歳でMMPと診断された患者の平均年齢67歳に比べ有意に低かった。各MMPおよびAIBDではない症例において病変の分布に有意差はなかった。悪性腫瘍の頻度は各MMP亜型で有意差はなかった。臨床的予後は口腔内病変の変化で評価を行った。MMP24例中19例は局所あるいは全身療法に良好な反応性を示した。一方AIBDではない患者6例では2例のみが改善傾向を示した。改善傾向を示した群と難治性であった群をそれぞれの病群間で比較したところすべてのMMP群はAIBDでないものと比較し有意に改善傾向を示した。

VI. BP180のエピトープと免疫グロブリンサブタイプの関係性

BP180NC16aおよびBP180C末端に対するIBとBP180ELISAの結果に基づきBP180のエピトープ領域を分類し、免疫グロブリンサブタイプとの関係性を調査した。BP180NC16a抗体に陽性を示した5例はすべての症例がIgG抗体のみを有していた。またBP180C末端抗体のみをもつ7例のうち、2例はIgG抗体のみ、1例はIgA抗体のみ、4例がIgG、IgA抗体を共に有していた。

VII. 考察

本研究では難治性口内炎患者24例の抗基底膜抗体が検出され、MMPと判明した。MMPは稀な疾患で約80万人に1人の非常に珍しい疾患と報告さ

れている。一施設の難治性口内炎患者30例中に、24例のMMP患者が存在したということは非常に高い割合であり、その発生率が今まで少なく見積もられていたと推察でき、本研究の結果は既存の疫学に影響を与えることが示唆される。

IIFにより難治性口内炎患者20例の抗基底膜抗体を検出し、IBでは6種の試料を用いることで21例の抗基底膜抗体を検出した。検査の感度はそれぞれ8割を超え、非常に有用な検査方法であると考えられる。

MMPの亜型を決定したのち、臨床症状を比較検討した。BP180型MMPはびまん性の紅斑と浅い潰瘍を呈す傾向が見受けられる一方、L332型MMPはそれに比べ比較的深い潰瘍を呈するように思われた。これらの臨床的な違いはBP180とL332の局在分布によるものと考えられるが、病変の発症する部位においてその差は認めなかった。過去の報告ではL332型MMPはBP180型MMPに比べ、眼瞼癒着など重篤な機能障害を生じる症例の割合が高いとされている。本研究の対象患者ではこのような重症化する傾向は見受けられなかったが、MMPの診断が確定した場合、口腔以外の粘膜病変に関しても厳重に経過観察を行う必要がある。さらにL332型MMPは悪性腫瘍を併発していることが多いと報告されている。そのため血清学的検査を用いてMMPの亜型を鑑別することは非常に重要である。実際にL332型MMPの2例は悪性腫瘍を併発していたが、本研究において、悪性腫瘍の併発率に差異はなかった。

MMP の診断において、BP180ELISA の感度は現在までに十分な検討はなされていない。今回 24 例の MMP のうち 9 例が BP180ELISA 陽性であったが、L332 型 MMP と診断された症例では BP180ELISA はすべて陰性であり、MMP における BP180ELISA の感度は約 3 割であった。BP180 型 MMP は BP180C 末端部位に対する自己抗体を有するとされているが、本研究で ELISA に用いられている BP180NC16a に反応する抗体が存在することが明らかになった。BP180ELISA 用いて MMP を診断することは可能であるが、その検出感度は 3 割程度と不十分であるため、他の血清学的検査と組み合わせて診断を行うことが重要である。血清学的検査でいずれの陽性反応も示さなかった 6 例は AIBD ではないと診断した。しかしながらこれらの症例も他の抗原に反応する抗体を有している可能性もある。このような稀な自己抗体を検出するためには直接蛍光抗体法（DIF）を行う必要がある。DIF は病変周囲を含めた組織の採取が必要であるが、組織生検に比べ標本の採取や扱いが容易である血液を用いて MMP の診断が十分可能であることを示した。しかし、血清学的検査が陰性である症例においても DIF により自己抗体を検出できる可能性があるため、今後は DIF を含めた総合的な免疫学的検査を検討している。

VIII. 結語

本研究では、難治性びらん・潰瘍性病変を有する患者 30 例のうち 24 例の自己抗体が検出され、MMP であると判明した。その発生率は既存の疫学よ

（論文内容の要旨）

No. 7

愛知学院大学

り高く、診断に至っていない症例も数多く存在すると考えられた。難治性のびらん・潰瘍性病変を有する患者に遭遇した際、AIBD を鑑別診断として重視し、自己抗体を検出し、自己抗原を明らかにするために血清学的検査を行う必要がある。

平成 26年 12月 17日