向野晃弘 論文内容の要旨

主　論　文

Insights from the ganglionic acetylcholine receptor autoantibodies in patients with Sjögren's syndrome
シェーグレン症候群患者における抗 ganglionic アセチルコリン受容体抗体からの洞察

向野晃弘、中根俊成、樋口　理、中村英樹、宮城朋、城間加奈子、渡嘉敷　崇、
伏屋康寛、越智一秀、梅田雅孝、中里哲也、秋岡親司、丸岡浩之、林　正俊、
五十嵐　修一、横井克典、前田泰宏、酒井和香、松尾秀徳、川上　純

Modern Rheumatology in press

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
（主任指導教員：川上　純教授）

緒　　言

起立性低血圧、消化管障害、乾燥症状、排尿障害など広汎な自律神経障害を来す疾患として自己免疫性自律神経節障害（Autoimmune autonomic ganglionopathy ；AAG）が知られている。Ganglionic アセチルコリン受容体（gAChR）は自律神経節に存在し、α3 サブユニット 2 つと β4 サブユニット 3 つから構成される五量体である。抗 gAChR 抗体は AAG 患者の約 50%で検出され、病原性や疾患の重症度との関連があると報告されている。

本邦における AAG の臨床的特徴を明らかにするために我々はまず、自律神経障害を合併する自己免疫疾患であるシェーグレン症候群（SS）に注目した。SS には乾燥症状に加え、起立性低血圧、膀胱直腸障害、瞳孔異常などの広汎な自律神経障害を伴う症例が存在するが、それらの自律神経障害の原因は不明である。SS には一定の頻度で抗 gAChR 抗体が潜在する可能性が予想される。本研究の目的は SS における自律神経機能障害と抗 gAChR 抗体の関連を調査することである。

対象と方法

本研究は2つのStudyから構成される。

- ***First study***：SS 改訂診断基準（American-European Consensus Group 分類基準あるいは厚生労働省診断基準）を満たす SS 確定 39 例の血清（2005 年～2010 年にかけて長崎大学病院第一内科にて集積された症例、自律神経障害の有無は問わない）および健常群 39 例。
- ***Second study***：SS 確定 10 例の血清（2012 年 3 月～2014 年 3 月にかけて長崎川棚医療センターに抗 gAChR 抗体測定依頼がなされた症例、広汎な自律神経障害を伴う）、自律神経障害を伴う他の神経疾患 34 例、および健常群 73 例。

抗 gAChR 抗体（α3 サブユニット，β4 サブユニット）の測定にはルシフェラーゼ免疫沈降法（LIPS）法を用いた。

ヒト gAChR α3 (or β4) cDNA とカイアシルシフェラーゼ（Gaussia Luicferase: GL）cDNA を制限酵素部位により融合したキメラ cDNA を合成し，これを哺乳動物発現プラスミド（pcDNA3.1-myc/HisA, Invitrogen 社）に組み込み，gAChRα3-GL リポーター発現ベクターを精製した。このリポーター発現ベクターをヒト細胞株 293F（Invitrogen 社）に Fugene6（Promega 社）を用いて遺伝子導入し，その可溶性画分を gAChRα3 (or β4) リポーター溶液とした。精製したリポーターとヒト患者血清を一定時間混和し Protein G sepharose を用いて免疫沈降を行った。得られた免疫複合体に含まれるルシフェラーゼ活性をルミノメーターで測定し間接的に患者血清中の抗体量を推測した。抗体価は Antibody index (A.I)として、以下のように算出した。A.I.=［患者血清の測定値（RLU）］/［カットオフ値 (RLU)］　（正常値<1.0 A.I）

SS 患者血清に関する臨床情報の解析

- ***First study***：年齢、性別、発症年齢、乾燥症状（口渇、眼球乾燥）、検査所見（シルマー試験、サクソン試験、口唇生検、唾液腺造影、唾液腺シンチグラフィー、抗 SS-A・B 抗体を含む血清学的所見）、合併疾患などの臨床情報を解析した。
- ***Second study***：上記に加え、乾燥症状以外の自律神経障害（起立性低血圧・起立不耐・失神、便秘・下痢などの上下部消化管症状、排尿障害、発汗障害、瞳孔異常、性機能障害）、合併疾患、自律神経機能検査（シェロングテスト、ヘッドアップティルト検査、心電図 R-R 間隔変動係数（CVRR）、^{123}I-MIBG 心筋シンチグラフィー）、髄液検査所見などの臨床情報を解析した。

結　　果

- ***First study***：SS 39 例中 9 例を抗 gAChR 抗体陽性と判定した（抗体陽性率：**23.0%**）。9 例の内訳は α3 サブユニット単独陽性 8 例、β4 サブユニット単独陽性 1 例であった。健常群は全て陰性であった。
- ***Second study***：広汎な自律神経障害を伴う SS10 例中 8 例を抗 gAChR 抗体陽性と判定した（抗体陽性率：**80%**）。8 例とも α3 サブユニット単独陽性であった。健常群は全て陰性であった。10 例中 6 例は神経症状が出現した後に、SS と診断されていた。

考　　察

自律神経症状の有無を問わずに SS では抗 gAChR 抗体の陽性率は 23%であったが，広汎な自律神経障害を呈する SS では抗体陽性率は 80%にまで上昇した。これは抗 gAChR 抗体がその病態形成に関与している可能性があることを示唆している。抗 gAChR 抗体と SS における自律神経障害の関連を調べるためには今後更に症例を蓄積していく必要がある。

本研究において抗 gAChR 抗体は自律神経障害を伴う SS の診断の一助となる可能性が示唆された。