

学位論文の全文に代えてその内容を要約したもの

愛知学院大学

| | |
|---|---------------|
| 甲 第 679 号 | 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 | |

I. 緒言

日々の臨床において、長期間にわたってびらん・潰瘍を生じる難治性口内炎患者にしばしば遭遇する。そのような患者は特徴的な臨床所見に乏しい上に、通常の血液検査や病理組織学的検査では診断の決め手となる結果が得られないことがほとんどである。しかしながらそのような症例の中で、時折自己免疫性水疱症 (Autoimmuno blistering disease: AIBD) に関する自己抗体が検出されるケースがある。AIBD とは口腔粘膜に病変を来し得る水疱形成性疾患の一群で、様々な表皮の接着因子に対する自己抗体を有する。AIBD は天疱瘡群と類天疱瘡群に大別され、天疱瘡群は表皮細胞間の接着因子に対する自己抗体を有し、類天疱瘡群は表皮基底膜に対する自己抗体を有する。特に粘膜類天疱瘡 (Mucous membrane pemphigoid: MMP) は粘膜に病変を来す AIBD で、ほとんどの患者が口腔粘膜に病変を生じる。しかしながら MMP は多様な自己抗体を有し、診断法も確立されておらず、診断に苦慮することが多い。このような背景から、診断のつかない多くの難治性口内炎患者が AIBD、特に MMP に関与した病変なのではないかと以前から考えている。

これまでに多くの AIBD の自己抗原が生化学的、分子生物学的技術によって、解明されてきた。最新の AIBD と自己抗原の分類を Table 1 に示す。

これまでの診断法の開発の経緯として、まず尋常性天疱瘡と落葉状天疱瘡の診断のために、デスマグレイン (Dsg) 1 および Dsg3 の Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) が開発され、現在まで診断に利用されている。続いて BP180 非コラーゲン 16a (NC16a) 部位と BP230 の N 末端部位と C 末端部位を用いた ELISA が水疱性類天疱瘡の診断のために開発された。水疱性類天疱瘡は BP180 のうち、細胞膜直近に存在する NC16a 部位にエピトープを有することが知られている。さらに近年では後天性表皮水疱症の診断のため VII 型コラーゲン NC1 ドメインと NC2 ドメインを用いた ELISA も商品化された。わが国では Dsg1、Dsg3、BP180、BP230、VII 型コラーゲンの 5 種の ELISA が商品化され、Dsg1、Dsg3 および BP180 は本邦では保険診療にも用い

られている。これらの ELISA を用いることで尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水疱症は多くの患者の診断が可能となった。このように近年検査技術の発達により、多くの AIBD が血清学的に診断可能となった。

一方、AIBD のうち主に粘膜に病変を来とし瘢痕を生じる疾患は、臨床的病態から瘢痕性類天疱瘡と診断されていた。しかしながら眼粘膜や喉頭に生じた病変はしばしば瘢痕を形成するが、口腔粘膜病変は瘢痕を残さずに治癒することがほとんどであった。そのため「粘膜類天疱瘡の第一回国際合意」において類天疱瘡群のうち主に口腔粘膜、眼粘膜、喉頭、食道、鼻腔、外陰部など開口部粘膜に病変を生じる疾患を粘膜類天疱瘡と名付けた。粘膜類天疱瘡は非常に稀な疾患でほとんどの症例が口腔粘膜を侵され、眼粘膜、鼻腔粘膜、膣、咽頭、食道、喉頭、肛門等に病変を生じ、蛍光抗体直接法 (DIF) やヒト皮膚を基質として用いた蛍光抗体間接法 (IIF) において、表皮基底膜に対する IgG や IgA 抗体が証明される。しかしながら MMP 患者の血清は時折 IIF で血清抗体の抗体価が低いため陰性あるいはごく弱い反応しか示さないことがある。また MMP の自己抗体は多彩で、様々な基底膜抗原に反応を示すことが知られており、約 70% が BP180C 末端部位に対する自己抗体を有し、BP180 型 MMP と診断され、約 20% はかつてラミニン 5 やエピリグリンと呼ばれていたラミニン 332 の各サブユニットに対する自己抗体を有しラミニン 332 型 MMP と診断される。さらに MMP 患者血清は BP230、120kDa 線状 IgA 水疱性皮膚症抗原-1 (LAD-1; soluble truncated extracellular domain of BP180)、VII 型コラーゲン、インテグリン $\alpha 6$ 、インテグリン $\beta 4$ に対する自己抗体を有することもある。尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、腫瘍随伴性天疱瘡、後天性表皮水疱症はすでに商用化されている ELISA にて診断が可能であるが、MMP の診断は日常診療において検査方法がまだ確立されていない。

このように MMP は粘膜主体に病変が生じるという特徴はあるが、それぞれの粘膜疹は特異的な所見に乏しく、標的抗原も多様性に富んでいるため診断が困難である。診断の困難さがゆえに、疾患自体の病態もいまだ明らかになっていない。

本研究ではびらん・潰瘍形成を繰り返す難治性口内炎が AIBD であるということを検証し、さ

らに MMP の診断方法を改良するために 3 種の免疫学的手法を用いて 30 例の難治性口内炎患者の血清抗体を検索した。

II. 目的

本研究は難治性口内炎が AIBD の一病態であることを検証し、その診断に応用した血清学的検査が、口腔粘膜を主体に病変を生じる AIBD において有用であるかを検討することを目的としている。

III. 対象および方法

1. 対象患者

平成 20 年から 25 年間に愛知学院大学歯学部附属病院を受診した 30 例の難治性のびらん・潰瘍性病変を呈する患者を対象とした。これらの患者は臨床的、病理組織学的に、感染症、物理・化学的損傷、扁平苔癬、悪性腫瘍、薬疹などの全身性アレルギー性疾患など診断可能であった口腔粘膜にびらん・潰瘍を形成する疾患は除外している。また尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、落葉状天疱瘡、粘膜類天疱瘡、腫瘍随伴性天疱瘡、後天性表皮水疱症、線状 IgA 水疱性皮膚症の患者血清を陽性コントロール群として、正常ヒト血清を陰性コントロール群として用いた。本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会（承認番号：290）の指針に基づき行われている。すべての患者あるいは代理人に対して研究の参加に関する説明を行い、同意を得ている。本研究はヘルシンキ宣言の原則に則り実施されている。

2. 蛍光抗体間接法

すべての症例に対し、正常ヒト皮膚（NS）および 1mol/L（M）食塩水剥離ヒト皮膚切片（SS）を基質とした IIF を施行した。蛍光染色を行うために各皮膚切片は 1% ウシ血清アルブミンを 30

分間 4°C でブロッキングし、患者血清をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 10 倍から 160 倍に希釈し、室温にて 90 分静置した。切片は PBS にて 3 回洗浄し、100 倍希釈したフルオレセインイソチオシアネート (FITC) 標識抗ヒト IgG および IgA ウサギポリクローナル抗体 (Dako, Glostrup, Denmark) をそれぞれ別に反応させ、60 分室温にて静置した後、PBS で洗浄し蛍光顕微鏡 BX51 microscopy system (Olympus, Tokyo, Japan) にて観察した。

3. 免疫ブロット法

抗原タンパクの基質として、正常ヒト皮膚表皮抽出液、精製BP180NC16aリコンビナントタンパク (RP)、精製BP180C末端部位RP、濃縮HaCaT培養上清、正常ヒト皮膚真皮抽出液、精製ラミニン332を用いた。ポリアクリルアミドゲル電気泳動はLaemmliの方法により行い、表皮抽出液および真皮抽出液は6%ゲル (Bio Craft, Tokyo, Japan)、HaCaT培養上清およびラミニン332は9%ゲル (Bio Craft)、精製BP180NC16aRPおよび精製BP180C末端部位RPは12%ゲル (Bio Craft) をそれぞれ用いて行った。泳動させたタンパクはiblot (Life technologies, Gaithersburg, MD) を用いてニトロセルロース膜に転写した。

免疫染色を行うにあたり、転写された膜は索状にカットし、3%スキムミルク (Morinaga, Tokyo, Japan) を溶解したトリス塩酸緩衝生理食塩水 (TBS) にて室温60分ブロッキングを行った。その後3%スキムミルクTBSで20倍希釈した患者血清を反応させ、180分湿潤箱内で静置させた。洗浄後、それぞれの膜はHRP標識抗ヒトIgG/IgAウサギポリクローナル抗体 (Dako) を100倍希釈し室温120分静置した。それぞれの作業の間には0.05% Tween20 (Wako, Osaka, Japan) を含んだTBSおよびTBS単独で洗浄した。発色は4-クロロ1-ナフトール (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) にて行い、乾燥後に染色の判定を行った。

4. Enzyme-linked immunosorbent assay

BP180NC16aELISA は MESACUP BP180 test、BP230 は BP230 ELISA Kit (MBL, Nagoya, Japan) を用いて添付文書に準じて行った。

5. 統計解析

結果はSigmaPlot (Hulinks, Inc. Tokyo, Japan) を使用し、Fisher's exact test、Student t-testを用いて統計的に解析した。 $P<0.05$ を有意差ありとした。

IV. 結果

1. 臨床情報

症例は男性15人、女性15人で、平均年齢は64.2歳 (17-87歳) であった (Table 2)。5例 (17%) は悪性腫瘍の既往があり、その内訳は2例 (7%) が口腔がん、胃がん、肝臓がん、皮膚がんがそれぞれ1例 (3%) であった。3例 (10%) は初診時すでに悪性腫瘍の既往があり、2例 (7%) は経過中に発生した。

25例 (83%) は口腔粘膜のみに水疱性、潰瘍性、紅斑性の病変を認めた。病変は歯肉 (70%、21/30) と頬粘膜 (60%、18/30) に多く、10例 (33%) の患者は歯肉のみに病変を認めた。口蓋 (27%、8/30)、舌 (13%、4/30)、口唇 (13%、4/30) に病変を呈するものは少なかった。2例 (7%) は咽頭あるいは喉頭に病変を有し、3例 (10%) は皮膚病変を有しており、眼病変やその他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軟膏 (87%、26/30) とアズレンスルホン酸含嗽 (73%、22/30) が第一選択として使用された。局所療法が奏功しない症例に関してはミノサイクリン内服療法 (26.7%、8/30、投与量範囲:100-300mg、平均 175mg)、ニコチン酸内服療法 (26.7%、8/30、投与量範囲:150-600mg、平均 262.5mg)、ジアミノジフェニルスルホン内服療法 (DDS、10%、3/30、

投与量範囲:50-75mg、平均 58.3mg) が単独あるいは併用で採用された。さらに重篤な患者に関してはステロイド内服療法 (13%、4/30、投与量範囲:5-30mg、平均 15mg) を取り入れた。

2. 蛍光抗体間接法

正常ヒト皮膚切片を用いた IIF (NS-IIF) では抗基底膜 IgG 抗体を 4 例 (13%)、IgA 抗体を 3 例 (10%) 検出した。2 例 (7%) は IgG 抗体、IgA 抗体をともに有していたため NS-IIF で抗基底膜抗体を検出できたのは 5 例 (17%) であった。一方剥離ヒト皮膚を用いた IIF (SS-IIF) はより感度が高く、7 通りの染色パターンで 20 例 (67%) が陽性として検出された。これらは IgG 抗体の表皮側沈着 (30%、9/30)、IgG 抗体と IgA 抗体の表皮側沈着 (13%、4/30)、IgA 抗体の表皮側沈着 (3%、1/30)、IgG 抗体の表皮側、真皮側沈着 (3%、1/30)、IgG 抗体の表皮側、真皮側沈着および IgA 抗体の表皮側沈着 (7%、2/30)、IgA 抗体の表皮側、真皮側沈着 (3%、1/30)、IgG 抗体の真皮側沈着 (3%、1/30) に分けられる。

3. 免疫ブロット法

正常ヒト表皮抽出液を用いた免疫ブロットでは、IgG 抗体 6 例 (20%)、IgA 抗体 2 例 (7%) が BP180 に反応し、BP230 に対しては IgG 抗体 2 例 (7%)、IgA 抗体 3 例 (10%) が陽性であった。また 210kDa のエンボプラキンに IgG 抗体 1 例 (3%)、190kDa のペリプラキンに IgG 抗体 5 例 (17%)、IgA 抗体 6 例 (20%) が反応した。腫瘍随伴性天疱瘡の診断基準の一つであるエンボプラキンとペリプラキンの同時陽性例は認めず、160kDa Dsg1 あるいは 130kDa Dsg3 に反応を示すものはなかった。表皮抽出液を用いた IB で陽性であった BP180 はさらに部位別の RP 用いた IB で抗原決定基を確定させた。BP180NC16aRP を用いた IB では、8 例 (27%) が IgG 抗体陽性となり、IgA 抗体が陽性となった症例はなかった。BP180C 末端部位 RP を用いた IB では IgG 抗体 11 例 (37%)、IgA 抗体 5 例 (17%) が陽性であった。

濃縮 HaCaT 細胞培養上清中の 120kDa LAD には IgG 抗体 5 例 (17%)、IgA 抗体 1 例 (3%) が陽性であった。正常ヒト真皮抽出液を用いた IB では 290kDa の VII 型コラーゲンあるいは 200kDa のラミニン γ 1 (p200 antigen) とともに全例陰性であった。

精製ヒトラミニン 332 を用いた IB では IgG 抗体 3 例、IgA 抗体 1 例が 165kDa および 145kDa のラミニン α 3 鎖に反応し、105kDa の γ 2 鎖に対しては IgG 抗体 5 例が陽性であった。145kDa の β 2 鎖に反応した症例はなかった。

4. Enzymed-linked immnosorbent assay

BP180NC16AELISA では IgG 抗体 9 例 (30%) が陽性であったが、IgA 抗体は反応を認めなかった。BP230 は IgG 抗体、IgA 抗体ともに陰性であった。

5. 血清学的検査に基づいた確定診断

確定診断を行うために IIF、IB および ELISA の結果を総合的に判断した。まず IIF で陽性であった症例は表皮基底膜部に対する自己抗体を有するため AIBD と診断した。さらに IgG 抗体あるいは IgA 抗体が BP180C 末端部位 RP を基質として用いた IB で陽性の場合、BP180 型 MMP と診断した。またラミニン 332 を基質とした IB で少なくとも一つのサブユニットに反応を示せばラミニン 332 型 MMP と診断した。また BP180 およびラミニン 332 に対して共に陽性であった場合は共陽性型 MMP と診断した。IB において、BP230、ペリプラキン、エンボプラキンがそれぞれ単独で陽性となった場合は、現在その病原性が明らかになっていないため、本研究において AIBD に関連した自己抗体ではないとした。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、真皮側にラミニン 332 が分離されるという性質を用いて、SS-IIF で IgG あるいは IgA が表皮側に陽性反応を示した場合、BP180 型 MMP と診断し、SS-IIF にて真皮側に陽性反応を示した場合ラミニン 332 型 MMP とした。また ELISA や IB で BP180NC16a に反応したものは 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。

30 症例すべてにこの診断基準を適応した。NS-IIF および SS-IIF では陽性所が得られたものは 20 例であった。さらに IB で、8 例が BP180NC16a に、12 例は BP180C 末端部位に反応し、7 例がラミニン 332 に反応した。IB の結果が陰性で、SS-IIF の結果が陽性であった 8 例は表皮側に陽性所見を認めたため、BP180 型 MMP と診断した。残りの 6 例はすべての血清学的検査で陰性であった。また 3 例においては BP180C 末端部位とラミニン 332 がともに陽性であった。さらに 4 例は SS-IIF で表皮側、真皮側ともに陽性であった。この 4 例のうち 2 例は IB において、BP180 に対する抗体を有していたが、他の 2 例はラミニン 332 に対してのみ陽性であった。BP180 抗体が陰性であった 2 例は IIF の表皮側への反応が弱く IB で BP180 抗体を検出できなかったため、本研究では抗ラミニン 332 型 MMP と診断した。最終的に 17 例の BP180 型 MMP、3 例のラミニン 332 型 MMP、4 例の BP180、ラミニン 332 共陽性型 MMP と診断し、6 例は AIBD ではないとした。

さらに、われわれは BP180NC16aELISA の結果を検討した。BP180 型 MMP17 例のうち 8 例と共陽性型 MMP3 例のうち 1 例が BP180NC16aELISA においても陽性反応を示した。

BP180NC16aELISA 陽性症例は IB、IIF においてもいずれかで陽性所見を認めた。

6. SS-IIF の結果とその染色パターン

本研究では、SS-IIF を用いることで 20 例の自己抗体を検出し得た。BP180 型 MMP17 例のうち、10 例 (59%) は表皮側に IgG 抗体の沈着を認め、4 例 (24%) は IgG 抗体と IgA 抗体が表皮側に反応を認め、1 例は IgA 抗体が表皮側に反応し、2 例は IgG/IgA 抗体ともに反応を示さなかった。4 例の抗ラミニン 332 型 MMP に関して、1 例が真皮側に IgG 抗体の反応を示し、1 例が IgG 抗体の表皮側と真皮側への反応を示し、1 例が IgG 抗体の表皮側と真皮側への反応および IgA 抗体の表皮側への反応を示した。1 例は IgG/IgA 抗体ともに反応を示さなかった。3 例の共陽性

型 MMP 症例では、1 例は IgA 抗体が表皮側と真皮側に反応し、1 例は IgG 抗体が表皮側と真皮側に反応し、さらに IgA 抗体が表皮側に反応を示した。1 例は IgG/IgA 抗体ともに反応を示さなかった。

7. 各 MMP サブタイプと臨床的特徴の関係

AIBD ではない 6 名の患者の平均年齢は 52.3 歳で MMP であると診断された患者の平均年齢 67.2 歳に比べ有意に低かった ($P=0.0271$)。各 MMP および AIBD と診断できなかった症例ともに歯肉および頬粘膜に多く病変を認めたが病変の分布において、各 MMP サブタイプ間で有意差はなかった。悪性腫瘍の頻度は各 MMP サブタイプ間で有意差はなかった。ラミニン 332 型 MMP に胃がんと肝がんがそれぞれ併発していたが、ラミニン 332 型 MMP と BP180 型 MMP と統計的な差異は認めなかった ($P=0.079$)。臨床的予後は口腔内病変の変化で決定した。それぞれの臨床症状を、悪化をグレード 0、変化なしをグレード 1、軽度改善をグレード 2、そして改善をグレード 3 と定義した。9 名の患者は局所療法もしくは全身療法に難治性でグレード 0 あるいはグレード 1 であった。MMP24 名中 19 名は局所あるいは全身療法に良好な反応性を示しグレード 2 あるいはグレード 3 であった。一方 AIBD ではない患者 6 例では 2 例のみが改善傾向を示すグレード 2 あるいはグレード 3 であった。改善傾向を示したグレード 2、3 とグレード 0、1 を病群間で比較したところラミニン 332MMP とすべての MMP 群は AIBD でないものと比較し有意に改善傾向を示した。 ($P=0.035$ 、 $P=0.028$)

8. BP180 のエピトープと免疫グロブリンサブタイプの関係性

BP180NC16aRP と BP180C 末端部位 RP を使用した IB、ELISA の結果に基づき BP180 抗体のエピトープ領域を分類し、免疫グロブリンのアイソ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。BP180NC16a と BP180C 末端部位の両方の抗体を持つ患者 5 例のうち IgG 抗体のみを有する患者が 4 例、IgG 抗体と IgA 抗

体を共に有していたものが1例であった。この場合、IgA抗体はBP180C末端部位に対してのみ陽性であった。またBP180C末端抗体のみをもつ7例のうち2例はIgG抗体のみを有し、1例はIgA抗体のみ、4例がIgG抗体およびIgA抗体を共に有していた。IgA抗体はBP180NC16aには反応せず、有意差をもってBP180C末端部位に対して反応していた ($P=0.004678$)。

V. 考察

本研究ではSS-IIF、IB、ELISAの結果を組み合わせで診断を行い、難治性口内炎患者24例(80%)の抗基底膜抗体を検出し、MMPと診断出来た。MMPは尋常性天疱瘡や水疱性類天疱瘡に比べ稀なAIBDで、60万人から80万人に1人の割合で発症する非常に珍しい疾患と報告されている。当院の背景人口と歯学部附属病院という口腔疾患の高次医療機関であるということを考慮したうえでも、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ると考えられる。MMPは診断の困難さから、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得る。

本研究では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では各種の基質を用いることで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。またこれらの検査にて、BP180に反応したものは20例(83.3%、20/24)、ラミニン332に反応したものは7例(29.2%、7/24)であり、MMPに占める割合は過去の報告とほぼ同様であった。

BP180NC16aELISAは水疱性類天疱瘡の診断に用いられており、感度が高く信頼性は高い。しかしながらMMPの診断におけるBP180NC16aELISAの感度は現在まで十分な検討がなされていない。今回24例の粘膜類天疱瘡のうち9例がBP180NC16aELISA陽性であったが、ラミニン332型MMPと診断された症例ではBP180NC16aELISAはすべて陰性であり、MMPにおけるBP180NC16aELISA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BP180NC16aに反応する抗体がMMPにおいて一定数存在する

ことが明らかになった。BP180NC16aELISA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り、陰性であってもMMPを否定することは出来ない。そのため、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。

また過去の報告と同様にBP180NC16aに対する抗体はIgG抗体のみであったのに対し、BP180C末端部位に対する抗体はIgG抗体およびIgA抗体ともに検出された。この結果は、免疫グロブリンアイソタイプはそのサブタイプにより、BP180の抗原決定部位の認識が異なる可能性を示しており、BPとMMPの病態生理学的な違いを明らかにすることに寄与すると考えられる。

BP180型MMPとラミニン332型MMPの間では自己抗原の違いのほか、病変の分布や重症度など、いくつかの相違があると考えられているが、臨床症状、特に口腔粘膜の症状のみで鑑別することは非常に困難である。1M食塩水剥離皮膚は表皮側にBP180、真皮側にラミニン332分離されることが知られており、2型を鑑別するためにSS-IIFが行われている。しかしながら本研究では4例のMMP患者がSS-IIFで陰性であり、その診断はIBの結果に基づいて確定された。SS-IIFは自己抗体の検出感度が高く有用な検査であるが、単独の検査では自己抗原を特定することは出来ないため、自己抗原の同定が必要な場合はIBを組み合わせ診断することが重要である。

ラミニン332型MMP2例 (case18、19) は剥離皮膚の表皮側と真皮側の両側に陽性反応を示した。しかしながらこの2症例は表皮側の反応が弱く、BP180C末端部位RPに対して反応がなかったため、最終診断としてラミニン332型MMPと診断したが、抗体値が低いためにBP180抗体を検出できなかった可能性もある。また共陽性型の1例 (case 24) に関してSS-IIFにてIgAが表皮側、真皮側ともに陽性であり、IBにおいてもラミニン α 3サブユニットに対するIgA抗体を有していた。この症例は血清学的検査の結果からは皮膚病変を呈する線状IgA水疱性皮膚症と診断されるが本症例は皮膚病変を認めず、病変は口腔に限局していたため、IgA抗体を有するラミニン332型MMPと診断した報告の少ない非常に珍しい病態であった。

MMPのサブタイプを決定した後に各サブタイプ間で臨床症状を検討したところ、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、ラミニン332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基底膜におけるBP180とラミニン332の局在分布が異なり、ラミニン332の方がより真皮側に存在している為であると考えられる。しかしながら病変部位の分布においてその差は認めなかった。過去の報告ではラミニン332型MMPはBP180型MMPに比べ口腔粘膜以外の粘膜にも病変を生じることが多く、眼瞼癒着による失明や喉頭狭窄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。本研究での対象患者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、特にラミニン332型MMPと診断が確定した場合、口腔以外の臓器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。

さらにラミニン332型MMPはしばしば内臓悪性腫瘍、特に消化管由来のがんを併発していることが多いと報告されている。腫瘍細胞がラミニン332の各サブユニットを産生していることにより、免疫機構にさらされ抗原として認識されるという考え方があるが、その関連はいまだ確立されたものではない。実際にラミニン332型MMPの2例は胃がんと肝臓がんがそれぞれ併発していたが本研究では悪性腫瘍の併発率はBP180型MMPとラミニン332型MMPの間に差異はなかった。しかしながら血清学的検査を用いて2つのMMPのサブタイプを鑑別することは非常に重要である。今後ラミニン332型MMPと診断された症例に遭遇した場合は診断時から可及的速やかに悪性腫瘍の検索を行い、その発生率に関して検討する必要がある。

本研究ではラミニン332型MMPおよびすべてのMMP群はMMPではない患者に比べ良好な臨床経過を辿った。これらの理由は定かではないがMMPという診断が確定すれば、さらなる有効な治療を選択できるが、MMPではない患者は診断が確定していないがゆえに副作用の生じる可能性がある積極的な治療を選択することが出来なかったからではないかと考えられる。また患者自身が、診断が確定したことにより、治療に対する積極性が向上し、投薬コンプライアンスが向上した可能性もある。このように適切な治療を行うためにも、正確なMMPの診断は必須であると考えられる。

本研究ではAIBDの診断手段の一つであるDIFを施行していない。DIFは病変周囲を含めた組織の採取が必要であるが、口腔粘膜炎のために組織が脆弱であり、適切な標本を採取することが難

しい。本研究では、組織生検より採取や標本の扱い容易である血液を用いて診断が十分可能であることを証明した。しかしながら血清学的検査が陰性である症例においてもDIFで免疫グロブリンや補体の沈着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行う必要がある。

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患者も他の抗原に反応する抗体を有している可能性もある。たとえば眼病変を有するMMPは牛の歯肉溶解液を用いたIBでインテグリン $\beta 4$ やインテグリン $\alpha 6$ に反応することが報告されている。このような稀な自己抗体を検出するためにはDIFやさらに多くの表皮構成蛋白を基質として用いてIBを行う必要がある。

本研究では検討していないが、外来診療においてはMMPの診断がなされたのち、二次感染を予防し歯肉や口腔粘膜病変が改善させるために早期に専門的口腔衛生指導により口腔衛生管理を行うことが推奨されるべきである。これらの取り組みはMMPの患者のみならず、他のAIBDにも行う必要がある。これらの治療戦略により、口腔症状をおさえることで摂食障害の改善、良好な予後、QOLの向上につながると考えられる。

VI. 結語

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を鑑別診断の一つとして常に考え、自己抗体を検出し、自己抗原を明らかにするために早期に複数の血清学的検査を行う必要がある。本研究はBP180NC16aを用いた本邦で保険適応されている現行のELISAでもBP180型MMPが診断可能であったと示している。それゆえに現行のELISAもMMPのサブタイプとは関係なく診断に用いられるべき。しかしながら、ELISAのみでMMPの診断を行うことは不十分であることを認識する必要がある。