

# シェーグレン症候群末梢血および唾液腺上皮細胞における遺伝子発現のDNAチップ研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2010-03-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小川, 法良, 梅原, 久範 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/847">http://hdl.handle.net/10271/847</a>

# 研究成果報告書

---

シェーグレン症候群末梢血および唾液腺上皮細胞  
における遺伝子発現の DNA チップ研究

---

17591059

平成 17 年度～平成 19 年度科学研究費補助金  
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 20 年 5 月

研究代表者 小川 法良

浜松医科大学第三内科講師

## 【はしがき】

この冊子は、平成 17～19 年度科学研究費補助金、基盤研究 (c) を得て行った研究である「シェーグレン症候群末梢血および唾液腺上皮細胞における遺伝子発現の DNA チップ研究」(課題番号 17591059) の成果をまとめた物である。

シェーグレン症候群は代表的自己免疫疾患の一つであり、涙腺、唾液腺をはじめとする外分泌腺を系統的に侵す慢性炎症性疾患である。未だその病因は不明であるが、特に唾液腺組織障害のメカニズムについては、様々な知見が集積され、徐々に解明されつつある。近年、関節リウマチにおける生物学的製剤の成功に見られるように、必ずしも病因が明らかでなくても、病態が明らかにされればそれに基づく効果的治療が開発されうる事が証明されており、病因の追求とともに病態解明の重要性が指摘されている。

シェーグレン症候群においては、涙腺、唾液腺障害による乾燥症候群を主体とする症例が中核を成しているが、間質性肺炎や間質性腎炎などの全身性合併症を来したり、悪性リンパ腫を発症する一群があることが知られている。しかしながら、病勢の評価法や、乾燥症状の進行の可能性、どのような症例が全身性合併症を来しやすいのか、あるいはリンパ腫発症に進展するのかなどについては全く不明である。

本研究では、シェーグレン症候群症例より得た末梢血および唾液腺上皮細胞を用いて、DNA microarray による遺伝子発現の網羅的解析を行った。これにより、シェーグレン症候群に特有の遺伝子発現異常を同定し、それらと臨床像、検査データとの関連を解析する事により、特定の遺伝子発現が免疫異常やリンパ腫発症と関連する可能性をはじめて明らかにした。

### 【研究組織】

研究代表者 : 小川法良 (浜松医科大学第三内科講師)  
研究分担者 : 梅原久範 (金沢医科大学血液免疫制御学教授)

### 【交付決定額】

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	1,200,000 円	0 円	1,200,000 円
平成18年度	1,100,000 円	0 円	1,100,000 円
平成19年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
計	3,400,000 円	330,000 円	3,730,000 円

### 【研究発表】

- 1、小川法良、下山久美子、澤木俊興、唐澤博美、正木康史、川端 浩、福島俊洋、和野雅治、広瀬優子、梅原久範: シェーグレン症候群末梢血および唾液腺上皮細胞における遺伝子発現の DNA array 解析. 第 49 回日本リウマチ学会総会 2005 年 4 月 17 日～20 日 (横浜)
- 2、小川法良、下山久美子、河南崇典、正木康史、梅原久範: DNA microarray analysis of gene signature of peripheral blood from patients with Sjögren's syndrome. 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 13 日～15 日 (東京)
- 3、Noriyoshi Ogawa, Kumiko Shimoyama, Daisuke Suzuki, Miwako Saito, Yoshiaki Dei, Hideharu Hayashi : DNA microarray analysis of gene expression of peripheral blood from patients with Sjögren's syndrome. 2006 年アメリカリウマチ学会総会 2006 年 11 月 11 日～15 日 (Washington DC, USA)
- 4、Noriyoshi Ogawa, Daisuke Suzuki, Miwako Saito, Yoshiaki Dei, Hideharu Hayashi : Peripheral blood from Sjögren's syndrome patients with malignant lymphoma has unique gene expression signatures. 2007 年ヨーロッパリウマチ学会総会 2007 年 6 月 13 日～16 日 (Barcelona, Spain)
- 5、Noriyoshi Ogawa, Jin Sawada, Osamu Kimoto, Kumiko Shimoyama, Daisuke Suzuki : Peripheral blood from Sjögren's syndrome patients with malignant lymphoma has unique gene expression pattern. 第 37 回日本免疫学会総会 2007 年 11 月 20 日～22 日 (東京)

【研究成果による産業財産権の出願、取得状況】  
該当無し

## 【はじめに】

シェーグレン症候群は代表的自己免疫疾患であり、涙腺、唾液腺にリンパ球を主体とする炎症性細胞浸潤が生じ、ドライアイ、ドライマウスを来す<sup>1)</sup>。症例の約 50%は涙腺および唾液腺のみに病変が生じ、腺性シェーグレン症候群と呼ばれる。その他の 50%は全身性合併症を発症し、腺外性シェーグレン症候群と呼ばれる<sup>2)</sup>。他の自己免疫疾患同様、シェーグレン症候群についてもその病因は未だ不明であるが、特に唾液腺組織障害についてはその分子学的メカニズムがかなりの部分まで解明されている<sup>3)</sup>。しかしながら、どのような症例が乾燥症状の進展を来すのか、合併症を来すのかなどについては、現在のところ適切なマーカーがなく不明である。本症候群はある一定の割合で、悪性リンパ腫を発症するリンパ増殖性疾患の一面を有している。この意味においても、病期の進展性を予測しうるマーカーを同定する意義は大きい。

シェーグレン症候群にしばしば合併する別の自己免疫疾患として、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus:SLE) がある。SLE においては、その末梢血リンパ球を対象として DNA microarray 法による遺伝子発現の網羅的解析が行われ、interferon で誘導される遺伝子の高発現が報告されている<sup>4)</sup>。SLE における interferon 誘導遺伝子群の高発現はより重篤な臓器病変との関連が指摘され、自己免疫疾患における遺伝子発現の網羅的解析は異常発現遺伝子の同定に有用であることが示された<sup>5)</sup>。その後の検討において、SLE では interferon- $\alpha$  関連遺伝子の異常発現が疾患重症度と関連する事が報告され<sup>6)</sup>、さらにそのうちのいくつかの代表的遺伝子の発現がループス腎炎治療のよいマーカーになりうる事が報告された<sup>7)</sup>。

シェーグレン症候群においても、現在までに DNA microarray を用いた成績が報告されているものの、唾液腺組織における遺伝子発現を解析した研究が主体である<sup>8)</sup>。病勢の評価や病期の進展性の予測を目的とした場合、より侵襲が少なく、簡便に採取できる検体が望ましい事は論を待たない。そこで本研究では、まず末梢血を対象として DNA microarray による遺伝子発現の解析を行い、シェーグレン症候群に特異的に発現する遺伝子の同定を試み、また特定の遺伝子発現異常と病態との関連について検討を行った。また我々が独自に考案した培養法<sup>9)</sup> を用いて、シェーグレン症候群唾液腺上皮細胞と正常唾液腺上皮細胞の遺伝子発現の違いについて検討した。

【材料と方法】

1、対象

一次性シェーグレン症候群 14 例（全例女性、59.3±13.8 歳）、二次性シェーグレン症候群 5 例（全例女性、60.6±5.0 歳、強皮症 4 例、SLE 1 例）を DNA microarray 解析の対象とした。被験者には、全員に対して本研究についての詳細な説明を行い、同意文書を得た。

症例のデータを示す (Table1、2、3)。

Table 1 : Patient Profile-1

Primary SS													
Case	sex	age	Complication	Duration	Focus Score	RF	ANA	pattern	IgG	IgA	IgM	SS-A	SS-B
1	f	30	none	9	1.5	27	160	sp	2180	385	110	+	+
2	f	58	none	8	8.7	65	80	sp	1690	339	114	+	-
3	f	64	none	3	2.4	31	2560	sp	2250	303	125	+	+
4	f	34	none	5	2	10>	40	ds	1520	220	48	+	-
5	f	77	none	30	-	45	160	sp	2060	469	51	+	+
6	f	71	none	2	6.7	16	640	ds	1410	227	58	+	-
7	f	49	none	17	5	145	20	sp	1850	261	126	+	-
8	f	54	none	20	-	67	1280	sp	3110	208	123	+	-
9	f	69	none	16	10	63	80	sp	2190	221	115	+	+
10	f	60	none	3	12	13	80	cyt	2260	367	130	+	+
11	f	63	none	2	7.4	314	80	sp	2770	939	210	+	+
12	f	64	none	4	3	56	80	sp	2610	323	87	-	+
13	f	63	none	17	6.6	169	80	sp	1790	222	73	+	-
14	f	74	none	24	-	10>	80	homo	1690	213	76	+	-
Secondary SS													
Case	sex	age	Complication	Duration	Focus Score	RF	ANA	pattern	IgG	IgA	IgM	SSA	SSB
1	f	55	SSc	1	4	11	640	ds	1060	208	113	-	-
2	f	63	SSc	6	2.7	10>	1280	ds	1570	423	62	+	-
3	f	58	SSc	4	0	10>	40	nuc	1170	207	53	+	-
4	f	59	SSc	4	3	10>	320	ds	1310	283	65	+	-
5	f	68	SLE	5	2	10>	10240	homo	120	142	68	-	-

RF: rheumatoid factor (U/ml), ANA: anti-nuclear antibody, sp: speckled, ds: discrete speckled, cyt: cytoplasmic, homo: homogeneous, nuc: nucleolar, IgG, IgA, IgM (mg/dl), SS-A: anti-SS-A antibody, SS-B: anti-SS-B antibody

Table 2 : Patient Profile-2

Primary SS			Eye				Radiology			Saliva
Case	sex	age	KCS	Schirmer	Rose bengal	Fluorescein	BUT	RI	MR	Saxon Test
1	f	30	-	10	1	0	3	2.5	1.5	0.62
2	f	58	+	2	3	1	3.5	2.5	2	1.12
3	f	64	+	5	7	1.5	1.5	3	2	1.56
4	f	34	+	5	1.5	1	2	2	2	0.61
5	f	77	+	11	3.5	1	4	2	2	1.07
6	f	71	+	12.5	3	0.5	2	4	3	0.12
7	f	49	+	3.5	5.5	1	5.5	4	2	0.36
8	f	54	+	4.5	2	0	3	4	3.5	0.35
9	f	69	+	8.5	2.5	1.5	2	3	1	0.38
10	f	60	+	3	3	2	3	3.5	3	0.08
11	f	63	+	1.5	3.5	1	2	3.5	0	0.52
12	f	64	+	8.5	3	1	4	4	2	0.56
13	f	63	-	9.5	2	1.5	1.5	2.5	nd	0.56
14	f	74	+	1	3	1	5	4	4	0.58
Secondary SS										
Case	sex	age	KCS	Schirmer	Rose bengal	Fluorescein	BUT	RI	MR	Saxon Test
1	f	55	+	11.5	2	1	2	2	2	1.72
2	f	63	+	2.5	3	0.5	2.5	4	1.5	0.39
3	f	58	+	11	2	1	6.5	2.5	0	0.43
4	f	59	+	5	2.5	0.5	1.5	4	2	1.29
5	f	68	+	9	0	0	8	2	0	0.97

KCS: keratoconjunctivitis sicca, Schirmer: Schirmer' s test (左右の平均値、mm), Rose bengal: rose bengal test (van Bijsterveld score の左右の平均値), Fluorescein: fluorescein test (左右の平均値), BUT: break up time (sec), RI: 唾液腺シンチグラフィ(grade), MR: 唾液腺 MR(stage), Saxon test (g/2 min)



Table 3 : Patient Profile-3

Primary SS												
Case	sex	age	dry eye	dry mouth	parotid swelling	arthritis	Raynaud	eruption	purpura	allergy	LN swelling	depression
1	f	30	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
2	f	58	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
3	f	64	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4	f	34	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
5	f	77	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
6	f	71	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	f	49	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
8	f	54	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
9	f	69	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
10	f	60	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
11	f	63	±	+	-	-	-	-	+	+	-	-
12	f	64	±	+	+	-	-	+	-	+	-	-
13	f	63	±	+	-	+	-	-	-	+	-	-
14	f	74	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Secondary SS												
Case	sex	age	dry eye	dry mouth	parotid swelling	arthritis	Raynaud	eruption	purpura	allergy	LN swelling	depression
1	f	55	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
2	f	63	±	+	-	-	+	-	-	-	-	-
3	f	58	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
4	f	59	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
5	f	68	-	±	+	-	-	-	-	-	-	+

## 2、方法

1) 対象より、末梢血 5ml を PAXgene tube (Qiagen) に採取し、RNA を分離した。PAXgene による RNA 分離は採血後の RNA 変性がなく、体内における遺伝子発現解析に適した方法である。その後、Japan Genome Solution (JGS) 社の low density cDNA microarray (778 遺伝子) を用いて遺伝子発現を解析した。RNA 分離および microarray による解析は、すべて JGS 社において行われた。解析対象遺伝子群は以下の通りである。

- TNF- $\alpha$  カスケード遺伝子群
- Chemokine/Cytokine 関連遺伝子群
- Growth Factor 関連遺伝子群
- Kinase 関連遺伝子群
- Osteo 関連遺伝子群
- 細胞表面蛋白質関連遺伝子群

- MTX 代謝関連遺伝子群
- Matrix 関連遺伝子群
- 細胞周期・転写調節関連遺伝子群
- Protease 関連遺伝子群
- Oncogene/suppressor gene 関連遺伝子群

JGS 社のレファレンス RNA(男性 5 名、女性 5 名、平均年齢 39.3 歳)を正常対照として用い、対象の遺伝子発現レベルは正常対照の平均値に対する比として示した。また関節リウマチ 10 例を疾患対照とした。

2) シェーグレン症候群症例において、罹病期間、症状、免疫学的検査所見、眼科学的検査所見、唾液分泌能(唾液腺シンチグラフィ)、唾液腺病変の程度(唾液腺 MRI)、病理組織学的所見と、遺伝子発現との関連を検討した。

### 3) real time PCR

DNA microarray にて発現異常が確認されたいくつかの遺伝子について、同じ RNA を用いて real time PCR 法による遺伝子発現量の定量を行った。この解析は三菱化学メディエンス社に委託して行った。

### 4) 唾液腺上皮細胞

唾液腺上皮細胞は、口唇小唾液腺組織より既報<sup>9)</sup>のごとく分離し、実験に使用した。この方法によって得られる細胞はリンパ球を含まず、培養初期には上皮細胞増殖因子(epidermal growth factor)受容体陽性で $\alpha$ アミラーゼ-1陰性の導管上皮細胞の性質を持つ。

## 【結果】

### [1]末梢血における遺伝子発現

#### 1、一次性シェーグレン症候群末梢血における発現増大遺伝子

まず一次性シェーグレン症候群 14 例の末梢血における遺伝子発現レベルを DNA microarray 法により解析した。その結果、一次性シェーグレン症候群末梢血においては、多くの interferon 誘導遺伝子が高発現していることが判明した (Table 4)。最も高い発現を示した遺伝子は interferon alpha-inducible protein 27 (IFI27) であり、14 例の平均値は正常対照を 1.0 として 56.0 であった。Table 4 に示すように、発現上位 20 遺伝子中 10 遺伝子が interferon 誘導遺伝子であった (Table 4, gray column)。

Table 4 : Upregulated genes in peripheral blood from fourteen primary Sjögren's syndrome patients (top 20 genes)

No	Gene name	Gene Bank#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Mean
1	interferon, alpha-inducible protein 27 (IFI27; ISG12)	X67325	29.02	9.21	26.14	13.08	75.74	1.91	49.83	20.89	101.49	28.70	151.04	257.05	1.58	18.36	56.00
2	2-5A synthetase(1.8 kb RNA)	X02875	4.10	2.98	5.60	4.92	2.70	2.22	4.07	2.98	5.23	3.23	3.58	3.90	1.38	6.53	3.82
3	2-5A synthetase(71kDa)	M87434	5.43	3.24	3.40	2.94	4.02	2.21	4.93	3.00	2.27	4.36	4.60	3.63	2.03	3.24	3.52
4	IFN-induced 17/15-kDa protein (GIP2)	M13755	5.42	3.00	2.92	2.85	3.29	2.55	4.46	2.25	3.41	3.90	3.97	5.43	0.93	3.81	3.44
5	IFN- $\alpha$ /b-inducible p44 (p44) (IFI44)	NM_006417	7.30	3.38	5.53	2.10	2.24	1.74	3.43	3.49	2.10	5.26	5.77	1.83	1.13	2.53	3.42
6	MxA (interferon-induced cellular resistance mediator protein)	M30817	5.64	3.53	2.36	2.60	2.59	2.09	5.16	2.36	2.29	2.85	3.91	5.91	1.57	3.03	3.28
7	2,5-oligo-adenylate synthetase (2,5-AS) 40/46kDa (OAS1)	D00068	4.34	2.97	2.00	1.95	3.52	2.58	4.06	2.59	1.86	3.29	3.69	3.76	1.44	2.06	2.87
8	ISG-56K(IFN-inducible 56k protein)	X03557	5.67	3.08	3.11	2.39	3.18	2.13	2.93	1.62	1.48	3.52	4.07	1.74	1.19	3.22	2.81
9	immunoglobulin heavy constant gamma 3	J00230	0.75	0.40	0.83	0.63	4.15	1.67	1.40	1.25	6.56	2.00	0.78	15.88	0.91	1.42	2.76
10	RIG-G, interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 4 (IFIT4)	U52513	3.94	2.82	2.59	2.17	2.70	2.23	3.36	2.12	2.24	3.28	3.09	3.37	0.99	3.13	2.72
11	IFN- $\alpha$ /b/g-inducible IFI-56K (IFI-56K)	M24594	4.50	2.43	2.55	1.83	2.84	1.77	2.43	1.62	1.43	3.48	3.71	1.40	1.01	2.66	2.40
12	granzyme B (granzyme 2, cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase 1) (GZMB)	NM_004131	1.10	1.08	2.46	1.68	4.61	2.89	1.91	1.08	2.85	2.62	5.44	2.67	0.91	2.01	2.38
13	rearranged immunoglobulin mRNA for mu heavy chain enhancer & constant region	X58529	3.12	1.52	1.59	3.44	1.26	1.93	1.42	3.43	2.07	1.09	1.18	3.16	3.87	1.87	2.21
14	IFI-6-16, IFN-alpha inducible (GIP3)	BC011601	3.03	2.11	2.02	1.91	2.75	1.63	2.20	1.49	1.62	2.79	2.79	2.33	1.24	1.66	2.11
15	thymosin $\beta$ -10 (TMSB10)	M20259	2.32	2.26	2.34	2.06	1.71	2.30	2.01	2.32	2.56	1.94	1.69	2.06	1.86	2.11	2.11
16	interferon-inducible double-strand RNA-activated protein kinase (p68 kinase) (PKR)	M35663	3.07	1.79	2.02	1.45	2.24	1.46	2.28	2.65	2.30	2.42	2.65	1.65	1.48	2.04	2.11
17	CD81 (antiproliferative antibody 1); 26-kDa cell surface protein TAPA-1	M33680	1.72	1.65	2.08	2.23	1.98	2.22	2.26	2.30	2.61	1.73	1.79	2.56	2.06	2.19	2.10
18	Ig- $\gamma$ chain; Ig rearranged gamma chain, V-J-C region	M63438	1.12	0.44	0.91	0.72	2.11	1.24	1.03	1.24	4.46	2.17	1.07	8.33	1.36	1.71	1.99
19	CX3C chemokine receptor-1 (CX3CR1)	BC028078	1.32	1.45	2.51	1.66	2.21	2.32	1.93	1.11	2.14	2.24	2.03	2.38	1.78	1.24	1.88
20	interferon regulatory factor 7 (IRF7)	U73036	2.79	1.77	1.67	1.26	1.54	1.39	2.18	1.84	2.00	1.57	2.26	2.70	0.98	1.41	1.81

## 2、一次性シェーグレン症候群末梢血における発現低下遺伝子

次に一次性シェーグレン症候群 14 例の末梢血において正常対照と比較して発現が低下していた遺伝子を示す (Table 5)。発現低下遺伝子は発現増大遺伝子と比べて、特徴的でない傾向があったものの炎症や抗原提示に重要な役割を果たす interleukin 1(IL-1)関連の 3 種の遺伝子発現が低下していた (Table 5, gray column)。

以上の解析により得られた結果を疾患対照である関節リウマチ 10 例の遺伝子発現結果と比較したところ、異なることが判明し、シェーグレン症候群に特異的な遺伝子発現パターンと考えられた (本データは割愛した)。

Table 5 : Downregulated genes in peripheral blood from fourteen primary Sjögren's syndrome patients (top 20 genes)

No	Gene name	Gene Bank#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Mean
1	pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF)	U02020	0.47	0.44	0.52	0.30	0.35	0.31	0.36	0.23	0.28	0.33	0.45	0.19	0.78	0.34	0.38
2	interleukin 1 beta, IL-1 beta (IL1B)	M15330	0.54	0.41	0.52	0.43	0.40	0.51	0.56	0.20	0.25	0.30	0.39	0.35	0.52	0.35	0.41
3	prointerleukin 1, beta (IL1B)	X56087	0.57	0.43	0.52	0.42	0.43	0.53	0.58	0.28	0.26	0.30	0.43	0.37	0.54	0.31	0.43
4	hematopoietic proteoglycan core protein; secretory granule proteoglycan 1 (PRG1)	X17042	0.46	0.43	0.50	0.32	0.53	0.39	0.30	0.35	0.39	0.68	0.45	0.12	0.37	0.47	0.41
5	Scaffold protein Pbp1; syndecan binding protein (synterin)	U83463	0.58	0.50	0.58	0.43	0.56	0.43	0.58	0.26	0.36	0.61	0.48	0.18	0.89	0.45	0.49
6	histone(H2A II); histone 2A-like protein (H2A/I)	U90551	0.47	0.57	0.43	0.59	0.38	0.43	0.46	0.35	0.46	0.51	0.41	0.21	0.52	0.74	0.47
7	myeloid cell nuclear differentiation antigen (MMDA)	M81750	0.52	0.49	0.60	0.47	0.83	0.48	0.29	0.26	0.33	0.60	0.55	0.20	0.38	0.44	0.46
8	Tis11d	U07802	0.63	0.62	0.78	0.60	0.45	0.51	0.70	0.42	0.37	0.88	0.47	0.15	0.55	0.50	0.54
9	ribose 5-phosphate isomerase (RPI) mRNA	L35035	0.43	0.42	0.51	0.66	0.70	0.44	0.35	0.51	0.47	0.53	0.57	0.54	0.54	0.81	0.53
10	16S ribosomal RNA, mitochondrial	AF347015	0.61	0.39	0.55	0.72	0.56	0.67	0.47	0.45	0.47	0.58	0.25	0.27	0.40	0.61	0.50
11	signal recognition particle subunit 9kD protein (SRP9), binding Alu sequence	U20998	0.52	0.61	0.76	0.57	0.50	0.47	0.42	0.70	0.33	0.68	0.73	0.21	0.58	0.39	0.53
12	CD32 (IgG low affinity Fc fragment receptor (FcR2a)) (FCGR2A)	M31932	0.64	0.42	0.55	0.49	0.46	0.54	0.54	0.33	0.42	0.47	0.49	0.44	0.85	0.50	0.51
13	interleukin 13 receptor, alpha 1 (IL13RA1)	Y10659	0.53	0.51	0.54	0.54	0.59	0.46	0.58	0.42	0.40	0.57	0.49	0.29	0.97	0.49	0.53
14	fos	BC004490	0.72	0.56	0.50	0.55	0.45	0.41	0.68	0.34	0.52	0.54	0.47	0.35	0.65	0.84	0.54
15	NADH dehydrogenase 1	BC009345	0.65	0.61	0.32	0.98	0.48	0.75	0.58	0.36	0.60	0.43	0.23	0.56	0.38	0.75	0.55
16	cytochrome b	AF347013	0.60	0.50	0.36	0.76	0.67	0.80	0.51	0.40	0.45	0.26	0.33	0.54	0.59	0.59	0.53
17	NADH dehydrogenase 4	AF347015	0.59	0.46	0.44	0.91	0.54	0.76	0.39	0.40	0.37	0.41	0.22	0.58	0.41	0.52	0.50
18	cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 (CDKN1B)	AY004255	0.61	0.63	0.69	0.60	0.64	0.51	0.49	0.66	0.45	0.61	0.42	0.23	0.59	0.54	0.55
19	interleukin-1 receptor, type II (IL1R2)	U74649	0.54	0.57	0.52	0.63	0.57	0.52	0.44	0.32	0.65	0.44	0.65	0.45	0.98	0.61	0.56
20	chemokine (C-C motif) receptor 3 (CCR3), eosinophil eotaxin receptor (CMKBR3)	U28694	0.39	0.43	0.34	0.35	0.32	0.97	0.29	0.28	0.54	0.84	0.29	0.28	0.92	0.81	0.50

### 3、二次性シェーグレン症候群末梢血における発現増大遺伝子

次に同様にして、二次性シェーグレン症候群 5 例の末梢血における発現増大遺伝子を解析した (Table 6)。その結果、二次性シェーグレン症候群末梢血においても interferon 誘導遺伝子群の高発現が認められ、また一次性シェーグレン症候群と同様の遺伝子群の高発現が認められた。発現上位 20 遺伝子中 16 遺伝子は一次性シェーグレン症候群末梢血においても上位 20 位に入っていた。(Table 6, gray column)。

Table 6: Upregulated genes in peripheral blood from five secondary Sjögren's syndrome patients (top 20 genes)

No	Gene name	Gene Bank#	1	2	3	4	5	Mean
1	ISG-56K(IFN-inducible 56k protein)	X03557	2.78	1.81	3.24	2.20	2.78	2.56
2	MxA (interferon-induced cellular resistance mediator protein)	M30817	2.60	2.22	2.22	1.92	2.60	2.31
3	interferon, alpha-inducible protein 27 (IFI27; ISG12)	X67325	3.03	2.24	0.83	2.38	3.03	2.30
4	IFN-a/b/g-inducible IFI-56K (IFI-56K)	M24594	2.34	1.69	2.95	1.91	2.34	2.25
5	RIG-G, interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 4 (IFIT4)	U52513	2.07	2.03	2.39	2.21	2.07	2.15
6	2,5-oligo-adenylate synthetase (2,5-AS) 40/46kDa (OAS1)	D00068	2.52	2.04	1.29	2.05	2.52	2.08
7	IFN-a/b-inducible p44 (p44) (IFI44)	NM_006417	1.80	1.93	3.35	1.46	1.80	2.07
8	ribosomal protein L41	AF026844	1.55	2.59	2.88	1.60	1.55	2.04
9	HLA-class II, DQ alpha 1 (HLA-DQA1)	M34996	1.64	2.55	1.49	2.50	1.64	1.96
10	fte-1 (v-fos transformation effector protein), ribosomal protein S3a	M84711	1.03	2.76	4.02	0.91	1.03	1.95
11	2-5A synthetase(71kDa)	M87434	1.80	2.12	1.21	2.23	1.80	1.83
12	ribosomal protein L7 (RPL7)	X57959	0.99	2.34	3.25	1.03	0.99	1.72
13	2-5A synthetase(1.8 kb RNA)	X02875	2.04	1.65	1.18	1.61	2.04	1.70
14	heat shock protein 90 alpha (HSPCA)	X15183	1.23	2.30	2.41	1.32	1.23	1.70
15	interferon-inducible double-strand RNA-activated protein kinase (p68 kinase) (PKR)	M35663	1.70	1.84	1.49	1.71	1.70	1.69
16	ribosomal protein L36a (RPL36AL)	M15661	0.91	3.04	2.44	1.01	0.91	1.66
17	ribosomal protein S27 (RPS27); (metallopanstimulin 1)	U57847	1.35	2.25	2.03	1.32	1.35	1.66
18	IFN-induced 17/15-KDa protein (G1P2)	M13755	1.68	1.49	1.33	1.83	1.68	1.60
19	CX3C chemokine receptor-1 (CX3CR1)	BC028078	1.64	1.41	1.60	1.57	1.64	1.57
20	NADH:ubiquinone oxidoreductase MLRQ subunit	U94586	1.16	1.86	2.35	1.22	1.16	1.55

### 4、二次性シェーグレン症候群末梢血における発現低下遺伝子

二次性シェーグレン症候群末梢血における発現低下遺伝子は発現増大遺伝子同様、一次性シェーグレン症候群末梢血において認められた遺伝子群と一致が認められ、上位 20 遺伝子では 14 遺伝子が同じ遺伝子であった (Table 7, gray column)。

Table 7: Downregulated genes in peripheral blood from five secondary Sjögren's syndrome patients (top 20 genes)

No	Gene name	Gene Bank#	1	2	3	4	5	Mean
1	gamma-G globin; hemoglobin, gamma G (HBG2)	X55656	0.34	0.34	0.43	0.54	0.34	0.40
2	interleukin 1 beta, IL-1 beta (IL1B)	M15330	0.51	0.34	0.51	0.39	0.51	0.45
3	prointerleukin 1, beta (IL1B)	X56087	0.51	0.37	0.47	0.40	0.51	0.45
4	CD8, beta chain (p37) (CD8B)	M36712	0.38	0.37	0.51	0.71	0.38	0.47
5	ribose 5-phosphate isomerase (RPI) mRNA	L35035	0.46	0.67	0.61	0.60	0.46	0.56
6	CD8, alpha chain (p32) (CD8A)	BC025715	0.41	0.44	0.69	0.96	0.41	0.58
7	hematopoietic proteoglycan core protein; secretory granule proteoglycan 1 (PRG1)	X17042	0.52	0.55	0.91	0.52	0.52	0.60
8	mangano-superoxide dismutase (Mn-SOD); superoxide dismutase 2 (SOD2)	X14322	0.73	0.42	0.59	0.58	0.73	0.61
9	pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF)	U02020	0.69	0.39	0.94	0.37	0.69	0.62
10	transcription factor jun B proto-oncogene (JUNB)	BC004250	0.65	0.59	0.61	0.59	0.65	0.62
11	fos	BC004490	0.73	0.41	0.71	0.52	0.73	0.62
12	Rho GDP-dissociation inhibitor protein (Ly-GDI) beta (ARHGDIB)	L20688	0.74	0.57	0.52	0.61	0.74	0.63
13	mitogen-activated protein kinase kinase 3 (MAP2K3); MAP kinase kinase 3 (MKK3)	L36719	0.61	0.63	0.64	0.74	0.61	0.65
14	CD32 (IgG low affinity Fc fragment receptor (FcRIIa)) (FCGR2A)	M31932	0.80	0.43	0.77	0.61	0.80	0.68
15	cytochrome b	AF347013	0.82	0.19	0.57	1.12	0.82	0.70
16	histone(H2A II); histone 2A-like protein (H2A/I)	U90551	0.63	0.52	0.91	0.85	0.63	0.71
17	cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 (CDKN1B)	AY004255	0.68	0.60	0.94	0.63	0.68	0.71
18	interferon gamma receptor 2 (interferon gamma transducer 1) (IFNGR2)	BC003624	0.85	0.53	0.72	0.58	0.85	0.71
19	caspase 5, apoptosis-related cysteine protease (ICErel-III) (CASP5)	U28015	0.75	0.67	0.80	0.60	0.75	0.72
20	histone(H2B/h) (HIST1H2BE)	Z80780	0.75	0.69	0.72	0.72	0.75	0.72

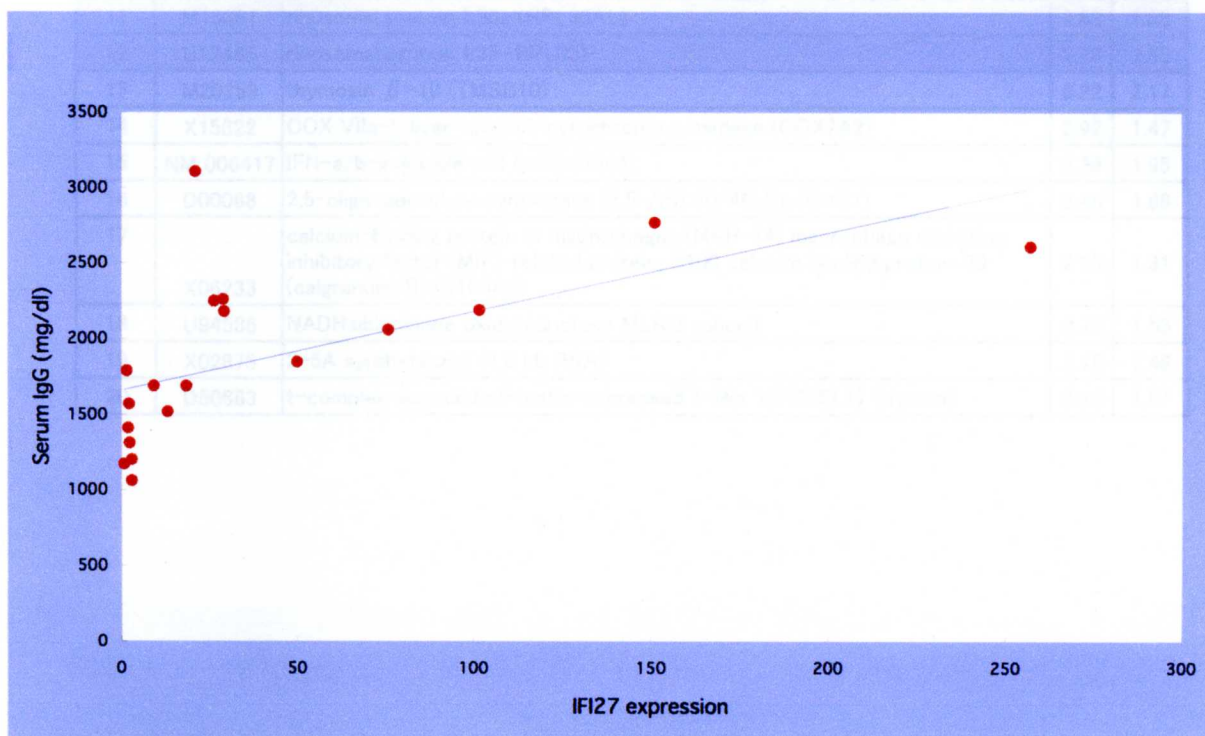
## 5、一次性と二次性シェーグレン症候群の末梢血において有意な発現差を認めた遺伝子

先に述べたように一次性と二次性シェーグレン症候群の末梢血においては、同じような遺伝子発現パターンを呈したものの、中には有意に発現レベルが異なる遺伝子が認められた。778 遺伝子中、一次性シェーグレン症候群末梢血において二次性よりも有意に高い発現を示した遺伝子が 66 遺伝子、低い発現を示したものが 70 遺伝子認められた (Mann Whitney U-test,  $p < 0.05$ )。一次性シェーグレン症候群末梢血において高い発現を示した 66 遺伝子中 10 遺伝子が interferon 誘導遺伝子であり、発現差が大きい上位 20 遺伝子中 8 遺伝子が interferon 誘導遺伝子であった。

## 6、末梢血における遺伝子発現と臨床像および検査所見との関連

一次性シェーグレン症候群末梢血において最も高い発現を示したのは interferon 誘導遺伝子のうちの IFI27 であった。そこでこの遺伝子の発現レベルが、臨床像および検査所見とどのような関連を示すかにつき解析した。その結果、明らかな関連を示したものは血清 IgG 値であった。IFI27 発現レベルは血清 IgG 値と  $r=0.600$  ( $p<0.01$ ) の有意な正の相関を示した (Figure 1)。

Figure 1: Correlation of IFI27 expression in peripheral blood with serum IgG level in fourteen primary and five secondary Sjögren's syndrome patients



## 7、悪性リンパ腫合併例における遺伝子発現の解析

次に経過中に悪性リンパ腫（粘膜関連組織リンパ腫：mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma, maltoma）を合併した2例につき、その末梢血の遺伝子発現を DNA microarray を用いて検討した。興味深い事に、この2例においては他のシェーグレン症候群例と同様にインターフェロン誘導遺伝子の高発現を認めたものの、通常のシェーグレン症候群では見られなかった異常発現遺伝子が多数確認された。発現上位 20 遺伝子中 8 遺伝子が ribosomal protein 遺伝子であった (Table 8、gray column)。

Table 8: Upregulated genes in peripheral blood from two Sjögren's syndrome patients with maltoma

No	Gene Bank#	Gene Name	1	2
1	X67325	interferon, alpha-inducible protein 27 (IFI27; ISG12)	5.13	17.76
2	U09953	ribosomal protein L9 (RPL9)	6.35	2.14
3	U57847	ribosomal protein S27 (RPS27); (metalloproteinase 1)	5.11	3.36
4	AF026844	ribosomal protein L41	4.23	2.75
5	M84711	fte-1 (v-fos transformation effector protein), ribosomal protein S3a	5.29	1.63
6	X57959	ribosomal protein L7 (RPL7)	4.10	1.84
7	AB021288	beta 2 microglobulin (B2M)	2.82	2.78
8	U14973	ribosomal protein S29 (RPS29)	3.70	1.85
9	BC015739	granzyme A (granzyme 1, cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase 3) (GZMA)	3.57	1.87
10	M13755	IFN-induced 17/15-kDa protein (G1P2)	2.77	2.15
11	M15661	ribosomal protein L36a (RPL36AL)	2.63	1.88
12	U12465	ribosomal protein L35 (RPL35)	2.78	1.65
13	M20259	thymosin $\beta$ -10 (TMSB10)	2.22	2.17
14	X15822	COX VIIa-L liver-specific cytochrome c oxidase (COX7A2)	2.92	1.47
15	NM_006417	IFN- $\alpha$ /b-inducible p44 (p44) (IFI44)	2.39	1.95
16	D00068	2,5-oligo-adenylate synthetase (2,5-AS) 40/46kDa (OAS1)	2.45	1.88
17	X06233	calcium-binding protein in macrophages (MRP-14) macrophage migration inhibitory factor (MIF)-related protein; S100 calcium binding protein A9 (calgranulin B) (S100A9)	2.95	1.31
18	U94586	NADH:ubiquinone oxidoreductase MLRQ subunit	2.72	1.53
19	X02875	2-5A synthetase E (1.8 kb RNA)	1.76	2.48
20	D50663	t-complex-associated-testis-expressed 1-like 1(TCTEL1) (dynein)	2.46	1.61

悪性リンパ腫合併 2 症例のうち 1 例において、化学療法 (rituximab-CHOP) が施行された。そこでこの症例において、化学療法前後における末梢血の遺伝子発現を同様に DNA microarray を用いて検討した。その結果、発現量が低下した上位 10 遺伝子のうち半数に当たる 5 遺伝子が ribosomal protein 遺伝子であった (Table 9, gray column)。そのうち最も大きな減少を示した遺伝子は ribosomal protein S29 と S27 遺伝子 (それぞれ治療前の 44%、54%に低下) であった。



Table 9: Genes in which their expression levels were significantly decreased after chemotherapy including rituximab in a Sjögren's syndrome patient with maltoma

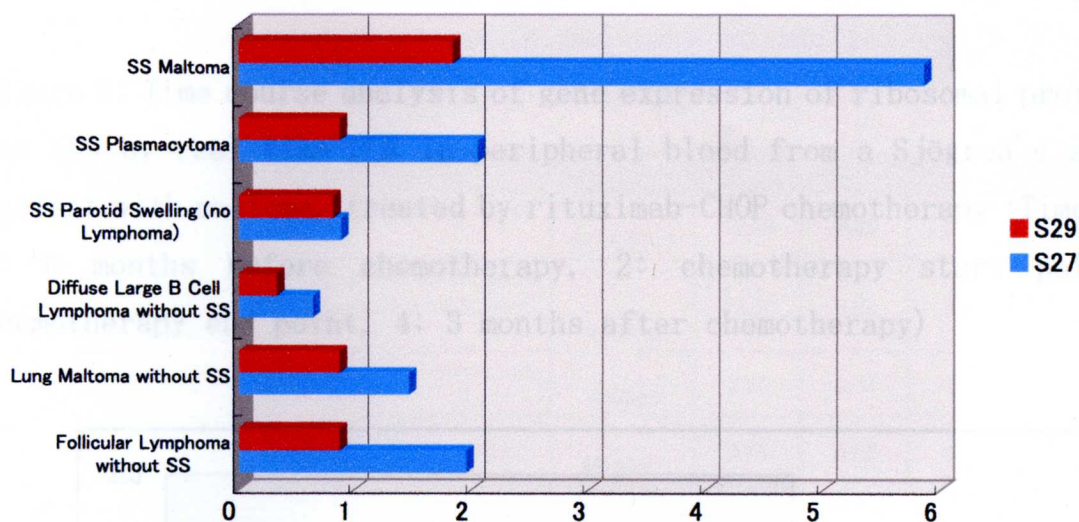
No	Gene Bank#	Gene Name	Before	After	Ratio
1	M63438	Ig- $\gamma$ chain; Ig rearranged gamma chain, V-J-C region	0.27	0.04	0.14
2	Y14736	immunoglobulin kappa (ligh chain) variable 1D8	0.28	0.04	0.16
3	U14973	ribosomal protein S29 (RPS29)	3.70	1.64	0.44
4	S63368	TNF receptor 2 (p75); tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B (TNFRSF1B)	0.75	0.39	0.53
5	U57847	ribosomal protein S27 (RPS27); (metallopanstimulin 1)	5.11	2.76	0.54
6	U37230	ribosomal protein L23a (RPL23A)	1.13	0.62	0.55
7	X98296	ubiquitin hydrorase (ubiquitin specific protease 9)	1.13	0.63	0.55
8	U14969	ribosomal protein L28 (RPL28)	1.28	0.71	0.56
9	S79522	ubiquitin carboxyl extension protein; Uba80 for ubiquitin	1.68	0.94	0.56
10	D23661	ribosomal protein L37 (RPL37)	1.21	0.68	0.56

Ribosomal protein 遺伝子の高発現が maltoma 合併シェーグレン症候群に特異的に認められるものであるかどうかを検討するため、maltoma 合併シェーグレン症候群症例、plasmacytoma 合併シェーグレン症候群症例、maltoma 非合併シェーグレン症候群症例、シェーグレン症候群非合併悪性リンパ腫 3 症例の末梢血を用いて ribosomal protein S29 と S27 遺伝子の発現を real time PCR 法を用いて解析した (Figure 2A)。その結果、ribosomal protein S29 と S27 遺伝子の発現は maltoma 合併シェーグレン症候群症例において最も高値を示した。

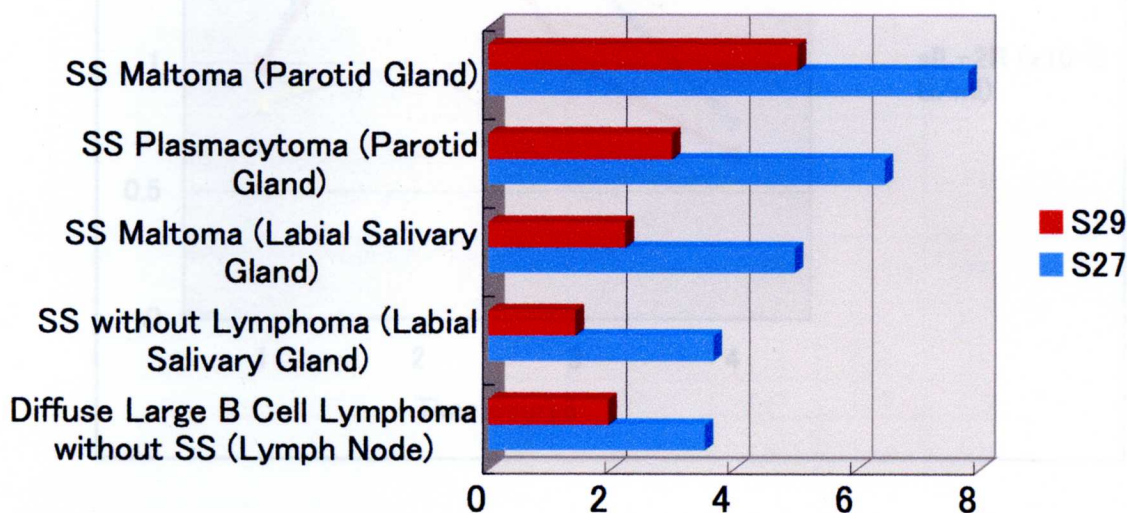
この結果についてさらに検討するため、リンパ腫の組織を用いて ribosomal protein S29 と S27 遺伝子の発現を解析した (Figure 2B)。この解析においても ribosomal protein S29 と S27 遺伝子の最も高い発現を示したのはシェーグレン症候群に合併した maltoma の組織であった。

Figure 2: Comparison of the expression levels of ribosomal protein S27 and S29 mRNA in peripheral blood (A) and salivary glands and lymph nodes (B) from Sjögren's syndrome with maltoma or plasmacytoma and non Sjögren's syndrome patients with lymphoma by real time PCR (results are expressed as arbitrary units in which gene expression of peripheral blood from five Sjögren's syndrome patients without lymphoma)

(A)

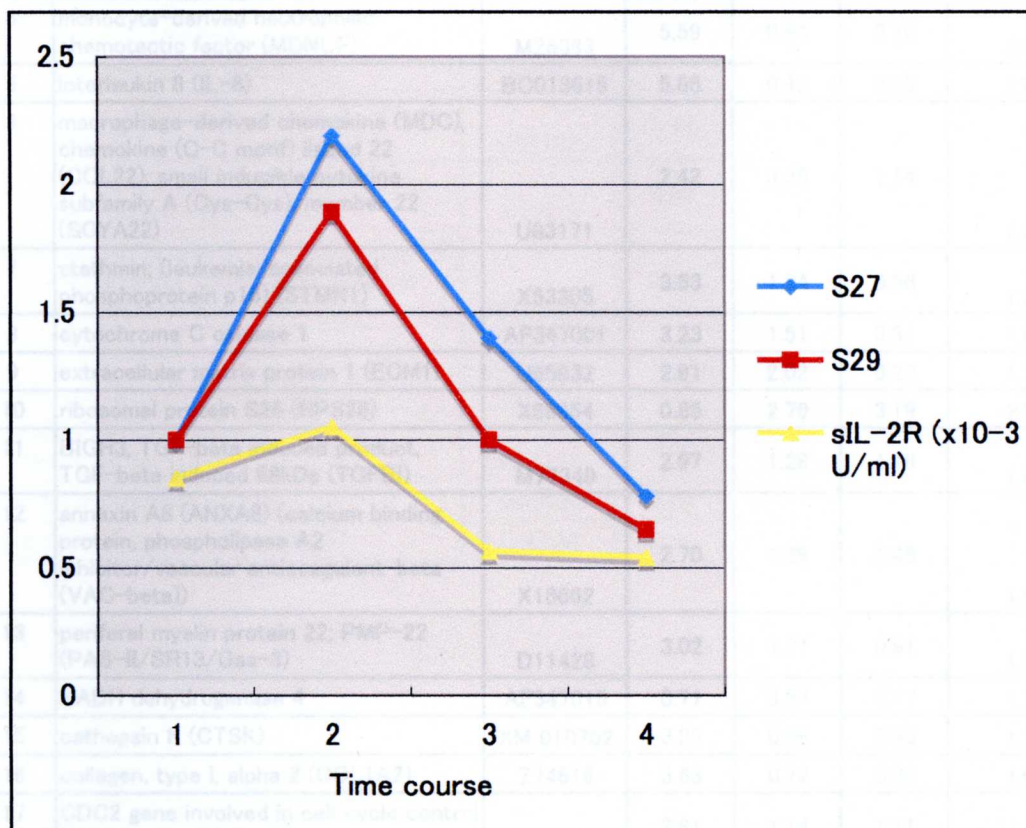


(B)



次に別の maltoma 合併シェーグレン症候群症例において、化学療法 (rituximab-CHOP) 療法の施行前後に経時的に末梢血の ribosomal protein S27 および S29 遺伝子発現レベルを real time PCR 法にて測定した結果を示す (Figure 3)。治療開始約6ヶ月前 (1) を 1.0 とした場合の S27 および S29 遺伝子発現レベルは、化学療法開始時 (2) において最高値を示し、化学療法終了時 (3) に低下し、化学療法終了3ヶ月後 (4) においてさらに低下した。また S27 および S29 遺伝子発現レベルは、通常のリンパ腫マーカーである可溶性 IL-2 レセプター (sIL-2R,  $\times 10^{-3}$  U/ml) 値と同様の推移を示した。

Figure 3: Time course analysis of gene expression of ribosomal protein S27 and S29 by real time PCR in peripheral blood from a Sjögren's syndrome patient with maltoma, treated by rituximab-CHOP chemotherapy (Time course 1: 6 months before chemotherapy, 2: chemotherapy start point, 3: chemotherapy end point, 4: 3 months after chemotherapy)



## [2]唾液腺上皮細胞における遺伝子発現

3例のシェーグレン症候群症例（2例は一次性、1例は二次性）の口唇小唾液腺組織より、上皮細胞を分離培養し<sup>9)</sup>、その細胞を同様にDNA microarray法を用いて遺伝子発現の網羅的解析を行った（Table 10A, B）。正常対照は3例の健康者から得た正常唾液腺上皮細胞とし、結果は正常対照の平均値に対する発現量として示した。その結果、今回の解析では発現増大および低下遺伝子ともにシェーグレン症候群唾液腺上皮細胞に特徴的な遺伝子異常は同定困難であった。

Table 10A: Upregulated genes in salivary epithelial cells from three Sjögren's syndrome patients (top 20 genes)

No	Gene name	Gene Bank#	Case 1	Case 2	Case 3	Mean
1	MCP-1, SCYA2 gene; chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2)	BC009716	16.43	0.46	0.46	5.8
2	collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant) (COL3A1)	X06700	14.30	0.58	0.33	5.1
3	Interleukin BSF-2 (IL-6); interferon beta 2	X04602	6.65	0.37	0.38	2.5
4	monocyte-derived neutrophilic chemotactic factor (MDNCF)	M26383	5.59	0.64	0.76	2.3
5	interleukin 8 (IL-8)	BC013615	5.66	0.42	0.55	2.2
6	macrophage-derived chemokine (MDC), chemokine (C-C motif) ligand 22 (CCL22); small inducible cytokine subfamily A (Cys-Cys), member 22 (SCYA22)	U83171	2.42	3.38	1.14	2.3
7	stathmin; (leukemia-associated phosphoprotein p18) (STMN1)	X53305	3.53	1.24	0.96	1.9
8	cytochrome C oxidase 1	AF347001	3.23	1.51	0.81	1.9
9	extracellular matrix protein 1 (ECM1)	U65932	2.91	2.02	0.22	1.7
10	ribosomal protein S26 (RPS26)	X69654	0.85	2.79	3.19	2.3
11	BIGH3, TGF-beta induced product, TGF-beta induced 68kDa (TGFB1)	M77349	2.97	1.28	1.16	1.8
12	annexin A8 (ANXA8) (calcium binding protein, phospholipase A2 inhibitor/vascular anticoagulant-beta (VAC-beta))	X16662	2.70	1.39	1.49	1.9
13	periferal myelin protein 22; PMP-22 (PAS-IL/SR13/Gas-3)	D11428	3.02	1.21	0.91	1.7
14	NADH dehydrogenase 4	AF347015	0.71	3.57	0.77	1.7
15	cathepsin K (CTSK)	XM_010702	3.25	0.96	0.93	1.7
16	collagen, type I, alpha 2 (COL1A2)	Z74616	3.63	0.72	0.30	1.6
17	CDC2 gene involved in cell cycle control (G1 to S and G2 to M)	X05360	2.81	1.14	1.11	1.7
18	connective tissue growth factor (CTGF)	M92934	2.99	0.86	0.96	1.6
19	complement C1r	M14058	3.26	0.62	0.65	1.5
20	colony-stimulating factor 3 (G-CSF)	X03438	3.16	0.69	0.70	1.5

Table 10B: Downregulated genes in salivary epithelial cells from three Sjögren's syndrome patients (top 20 genes)

No	Gene name	Gene Bank#	Case 1	Case 2	Case 3	Mean
1	putative lymphocyte G0/G1 switch gene, GOS2 gene 5 flanking and cds	M72885	0.05	0.25	1.12	0.5
2	vascular endothelial growth factor precursor (VEGF)	AF022375	0.22	0.50	1.00	0.6
3	IFN- $\alpha$ /b-inducible p44 (p44) (IFI44)	NM_006417	0.37	0.50	0.68	0.5
4	ISG-56K(IFN-inducible 56k protein)	X03557	0.44	0.43	0.69	0.5
5	prion protein 27-30, sialoglycoprotein (PRNP)	M13667	0.32	0.57	0.76	0.5
6	IFI-6-16, IFN- $\alpha$ inducible (G1P3)	BC011601	0.37	0.52	0.78	0.6
7	interferon, $\alpha$ -inducible protein 27 (IFI27; ISG12)	X67325	0.34	0.46	1.19	0.7
8	interleukin 1 beta, IL-1 beta (IL1B)	M15330	0.29	0.73	0.53	0.5
9	IFN-induced 17/15-KDa protein (G1P2)	M13755	0.51	0.48	0.70	0.6
10	prointerleukin 1, beta (IL1B)	X56087	0.26	0.81	0.57	0.5
11	MxA (interferon-induced cellular resistance mediator protein)	M30817	0.50	0.60	0.67	0.6
12	CC chemokine LARC precursor, small inducible cytokine subfamily A (Cys-Cys) member 20 (SCYA20); chemokine (C-C motif) ligand 20 (CCL20)	D86955	0.54	0.50	0.88	0.6
13	Ets-2 (erythroblastosis virus oncogene homolog 2)	J04102	0.47	0.54	1.02	0.7
14	PTX3 (pentaxin) gene promoter region rapidly induced by IL-1 beta	X63613	0.84	0.36	0.45	0.6
15	DR5 (death receptor 5), TRAIL receptor 2; TNF receptor superfamily, member 10b (TNFRSF10B)	AF016266	0.43	0.65	0.92	0.7
16	argininosuccinate synthetase (ASS)	X01630	0.61	0.40	1.26	0.8
17	IFN- $\alpha$ /b/g-inducible IFI-56K (IFI-56K)	M24594	0.56	0.64	0.74	0.6
18	adipophilin; adipocyte differentiation-related protein (ADFP)	X97324	0.94	0.31	0.77	0.7
19	2-5A synthetase(71kDa)	M87434	0.54	0.73	0.72	0.7
20	ribosomal protein L12 (RPL12)	L06505	0.49	0.73	0.87	0.7

## 【考察】

シェーグレン症候群末梢血における遺伝子発現の網羅的解析についての報告は少なく、唾液腺におけるアレイ解析の報告 (Ove et al, Arthritis Rheum 52:1534, 2005<sup>8)</sup>) があり、本報告と同様に interferon 関連遺伝子の高発現が指摘されている。今回の検討にて、シェーグレン症候群は一次性、二次性ともに末梢血において特徴的な遺伝子発現パターンを示し、その遺伝子発現パターンは関節リウマチとは明らかに異なっていた。また一次性、二次性シェーグレン症候群は、同様の遺伝子発現パターンを呈したものの、異なる発現レベルを示す遺伝子群が存在し、その一つとして一次性シェーグレン症候群においては二次性と比べて interferon 誘導遺伝子の発現レベルがより増大している事が判明した。

臨床像および検査所見との関連の解析では、一次性シェーグレン症候群末梢血において最も高発現を示した IFI27 遺伝子発現レベルと血清 IgG 値が有意の正の相関 ( $r=0.600$ ,  $p<0.01$ ) を示し、interferon 誘導遺伝子の発現と免疫異常が密接に関連している事が示唆された。IFI27 遺伝子は上皮細胞の増殖マーカーであるとの報告がなされており<sup>10)</sup>、シェーグレン症候群唾液腺における唾液腺上皮細胞の状態を反映している可能性もある。一方、シェーグレン症候群末梢血において低発現を示した遺伝子の中には IL-1 関連遺伝子が 3 種同定された。この意義については明確ではないものの、IL-1 は抗原提示などに重要なサイトカインであり、免疫系の調節に何らかの影響を与えている可能性が推察される。特に interferon 誘導遺伝子の高発現は免疫異常との関連が示唆され、乾燥症候群の進行や全身性合併症の進展などとの関連について、今後検討すべきと考えられる。

本研究においても一つ明らかになった知見として、maltoma 合併シェーグレン症候群の末梢血ならびにリンパ腫組織を用いた解析による ribosomal protein 遺伝子の高発現である。特に ribosomal protein S29 と S27 遺伝子が高い発現レベルを示し、リンパ腫の治療前後で病勢と平行した推移を示すなど、リンパ腫の病態と密接に関連している事が示唆された。これらの遺伝子はアポトーシス<sup>11)</sup> や癌発生<sup>12)</sup> などに深く関与することが知られており、リンパ増殖性疾患

の一面を持つシェーグレン症候群においてその発現レベルを解析する事はリンパ腫発症の分子学的予測を実現しうる可能性があり、今後の検討が期待される。

唾液腺上皮細胞の遺伝子発現については、解析症例が3症例と少数であったこともあり、特徴的な遺伝子発現異常は同定し得なかった。これについては、唾液腺上皮細胞が免疫系細胞から攻撃を受ける細胞群と考えれば、当然とも思われる結果である。しかしながら、ウイルス感染などにより特定の遺伝子の発現異常を来している可能性は否定できず、本研究の結果のみでシェーグレン症候群唾液腺上皮細胞が正常唾液腺上皮細胞と特別差がないと断定することはできず、さらに多くの遺伝子を対象とした解析が必要である。

#### 【結論】

SLE や関節リウマチと比較して、より臓器特異的と考えられてきたシェーグレン症候群において、末梢血で特徴的な遺伝子発現異常を認めたことは興味深い事実である。本研究により、interferon 誘導遺伝子と免疫異常との関連、ribosomal protein 遺伝子とリンパ腫との関連が示唆された。今後、これらの遺伝子を解析することにより、シェーグレン症候群における積極的に治療を行うべきサブセットの同定やリンパ腫発症の分子学的モニタリングなどが実現する可能性がある。

## 【参考文献】

1. 小川法良、菅井進 シェーグレン症候群の診療. リウマチ科 27(supple.1) :691-697, 2002.
2. 小川法良、菅井進 膠原病と合併症、シェーグレン症候群. 総合臨床 51(7) :2149-2154, 2002.
3. 小川法良、下山久美子、河南崇典 シェーグレン症候群における唾液腺組織障害の分子機構. 日本臨床免疫学会会誌 28 : 10-20, 2005
4. Emily CB, Franak MB, George K, Patrick MG, Ward AO, Karl JE, Katherine BS, William JG, Karis MH, Vivek K, Peter KG, Timothy WB: Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. PNAS 100: 2610-2615, 2003.
5. Emily CB, Franak MB, Ann MR, Erik JP, Patrick MG, Kathy LM, Peter KG, Timothy WB: Gene expression profiling in human autoimmunity. Immunol Rev 210: 120-137, 2006.
6. Kyriakos AK, Christina L, Sandhya G, Kyriakos L, Margaret GEP, Mary KC: Activation of the interferon- $\alpha$  pathway indentifies a subgroup of systemic lupus erythematosus patients with distinct serologic features and active disease. Arthritis Rheum 52: 1491-1503, 2005.
7. Xuebing F, Hui W, Jennifer MG, Punchong H, John DF, Grace SP, Xin D, Weiling C, Michelle HK, Haoling HW, Daniel EF, Alan G, Maureen M, Mihaela T, Ernest B, Bevra HH, Betty PT: Association of increased interferon-inducible gene expression with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 54: 2951-2962, 2006.
8. Trond Ove RH, Kjell P, Inge J, Roland J, Anne IB: Gene expression profiling of minor salivary glands clearly distinguishes primary Sjögren's syndrome patients from healthy control subjects. Arthritis Rheum 52: 1534-1544, 2005.
9. Ping L, Ogawa N, Sugai S: Novel role of CD40 in Fas-dependent apoptosis of cultured salivary epithelial cells from patients with Sjögren's syndrome. Arthritis Rheum, 52:573-581, 2005.



10. Sari S, Li C, Anne B, Ulpu S-K: Interferon  $\alpha$ -inducible protein 27 (IFI27) is upregulated in psoriatic skin and certain epithelial cancers. *J Invest Dermatol* 122: 717-721, 2004.
11. Neeru K, Vijay GR, Nerendra T, Neeta S : Differential gene expression in apoptosis : identification of ribosomal protein S29 as an apoptotic inducer. *Biochem Biophys Res Commun* 277: 476-486, 2000.
12. Albert Fernandez-Pol J, James WF, Paul DH, Dennis JK: Expression of metalloproteinase and oncogenesis in human prostatic carcinoma. *Anticancer Res* 17: 1519-1530, 1997.