

論 文 内 容 要 旨

関節リウマチモデルマウスにおける
唾液抗シトルリン化ペプチド抗体の検出についての研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 坂口和歌子

(指導：槻木恵一教授)

論文内容要旨

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis: RA)は関節滑膜を病巣の首座とし、骨関節破壊や炎症性細胞浸潤を伴う自己免疫疾患で、自己抗体である抗シトルリン化抗体 (anti-citrullinated protein antibodies : anti-ccp antibody、ACPA)は、RA の診断において特異性が高いとされており、RA の早期例や発症数年前から検出されることがあり、臨床では抗 CCP 抗体として測定されている。また、歯周病と RA には双方向性の関連が報告されている。これまで著者の教室では、前立腺癌の腫瘍マーカーPSA が唾液中に含まれ、唾液検査が一部の腫瘍において有用であることを報告してきた。また、唾液腺の腺房細胞で産生されず、自己抗体など疾患特異性が高い物質は唾液検査に応用しやすいと考えられている。そこで本研究では、RA の診断特異性の高い ACPA に注目し、歯周病との関連も含めて唾液中に検出されるか検討した。

RA のモデルマウスである DBA/1JJmsSlc マウスを使用した。II型コラーゲンを投与し RA を発症させた状態で、マウスの口腔内へ *Porphyromonas gingivalis* (Pg) あるいは *Escherichia coli* (Ec)を塗布した。Control 群、Control 群と同条件のマウスに Pg を投与した Pg 群、Ec/RA 群、RA 群、Pg/RA 群の5つのグループにわけ、足の関節炎指数を測定、ピロカルピンを投与し唾液を採取、心臓穿刺により血清を採取、左右の足骨を摘出した。足骨は HE 染色で病理組織学的に炎症の程度を確認した。ELISA 法を用いて血清および唾液中の抗 CCP 抗体量を測定、ウェスタンブロッティング法で血清、唾液、足骨のシトルリン化タンパクを検出し分析した。データの統計解析は多群の比較は one-way ANOVA の後、ボンフェローニの補正、相関解析は Pearson の相関係数で解析した。

足骨の病理組織標本では、RA 群でも好中球浸潤が中心の炎症反応を認めたが、Pg/RA 群はマクロファージや形質細胞などの炎症細胞浸潤が混在し、炎症反応がより進行していた。また、足骨骨膜の周囲に破骨細胞が認められ骨吸収が著明に生じていた。関節炎指数は Pg/RA 群は RA 群、Ec/RA 群と比較して有意差を認めた ($P < 0.05$)。ELISA の結果、Control 群、Pg 群は血清中、唾液中から検出されず、血清中での抗 CCP 抗体の検出量は、Ec/RA 群、RA 群と比較して Pg/RA 群が有意に高かった。唾液中の ACPA は、Pg/RA 群は、Ec/RA 群、RA 群より増加傾向を示し、さらに Pg/RA 群の血清および唾液中の抗 CCP 抗体量には相関を認めた。また、ウェスタンブロッティングの結果、RA 群、Pg/RA 群の血清、唾液から 55kDa のシトルリン化タンパクが検出された。Pg 感染により RA の自己抗体 ACPA は血清中で増加し、唾液中にも反映された可能性が考えられる。また、唾液成分は血液成分由来であることから、Pg/RA 群の血清、唾液中の抗 CCP 抗体量に相関が

認められたと考えられる。今後、ヒト関節リウマチ患者における臨床的な意義について検討する予定である。