シェーグレン症候群の組織学的検討 唾液腺造影像との関係について

国立病院医療センター耳鼻咽喉科

加藤 洋子

HISTOLOGICAL EXAMINATION IN SJÖGREN'S SYNDROME RELATIONSHIP BETWEEN SIALOGRAPHY AND HISTOLOGICAL EXAMINATION

YOHKO KATO, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, National Medical Center, Tokyo

Although the etiology of Sjögren's syndrome (SJS) remains unknown, Sjögren's syndrome can be diagnosed by means of clinical features and sialographic and histopathological examinations. In this study of 35 patients with primary SJS and 21 with secondary SJS, two parameters, (the findings of sialography of parotid gland and the histopathology of labial minor salivary gland), were evaluated. Then it was concluded that grade of lesion in sialography was parallel to infiltrative grade of round cells around labial salivary gland in primary SJS but not in secondary SJS. Using monoclonal antibodies to cell surface antigens, lymphocyte subsets in 16 patients with primary SJS and 4 patients with secondary SJS were studied. A predominance of T cells was found and there was no definite characterization of lymphocyte subset infiltration, between CD4 positive cell and CD8 positive cell. This result was different from the previous reports, and needs further studies.

Key words:

シェーグレン症候群, 唾液腺造影像, 小唾液腺組織像
モノクローナル抗体, リンパ球分画

A 92—0886—43932

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome; SJS) は涙腺・唾液腺を主体に全身の外分泌腺の分泌不全による乾燥症候群であり, 多彩な臨床症状および免疫血清学的異常が高頻度に認められる自己免疫疾患である。組織学的には, 外分泌腺におけるリンパ球を中心とする単核球浸潤を示し, この結果眼症状および口腔乾燥症状を生じるとされている。今回, 耳下腺造影所見・口唇小唾液腺の組織学的所見および乾燥性角結膜炎の存在から SJS と診断した症例について, 耳下腺造影像と組織学的所見の関係を検討した。また, 口唇粘膜小唾液腺周囲に浸潤するリンパ球については, リンパ球表面マーカーの検査からリンパ球サブセットが種々報告されているが, 本疾患の病態の詳細はいまだ不明な点が多い。今回は口唇小唾液腺周囲に浸潤する

リンパ球サブセットをモノクローナル抗体を用いて検討し若干の知見を得たのでここに報告した。

対 象

厚生省シェーグレン病調査研究班診断の手引き (1977年) に基づき耳下腺造影, 口唇小唾液腺の生検, 眼科的検査を行った結果, シェーグレン症候群と確定診断した56例を対象とした。このうち, 35例は原発性 SJS (primary SJS) であり, 21例は関節リュウマチを始めとする膠原病を伴う2次性 SJS (secondary SJS) であった。

方 法

1. 耳下腺造影像病変度と口唇小唾液腺周囲円形細

I 型：Punctate

II 型：Globular

III 型：Caviaty

IV 型：Destructive

図1 Sialography [Blatt ら] (1956)

胞浸潤度

Blatt¹⁾ による耳下腺造影像の分類(図1)に基づき I～IV の4段階に分類した。また、口唇小唾液腺組織1標本につき4mm²あたりの円形細胞浸潤は、Chisholm and Masson の分類²⁾(表1)に従い5段階に分けた。

2. 小唾液腺標本1小葉あたりの円形細胞浸潤面積比

日本アビオニクス社の画像処理装置を用いて、小唾

表1 口唇小唾液腺組織分類—円形細胞浸潤度—
(CHISHOLM & MASSON, 1968)

Grad	Lymphocytes 4 mm ² of Salivary Tissue
0	Absent
1	Slight infiltrate
2	Moderate infiltrate or less than one focus
3	One focus
4	More than one focus

Focus = an aggregate of 50 or more lymphocytes and histiocytes.

液腺標本の1小葉面積および周囲円形細胞浸潤面積を測定し、円形細胞浸潤面積比を百分率表示(%表示)した。

3. 細胞表面マーカーの検索

対象とした56例より20例(primary SJS 16例; secondary SJS 4例)を選び、20例の口唇小唾液腺を10%ホルマリン固定後パラフィン切片とした。このパラフィン切片中のT細胞をUCHL-1抗体(DAKO)で、B細胞をMx-Pan B抗体(DAKO)で酵素抗体法(ABC法: Avidin-Biotin Complex-Peroxidase)を用いて同定した。一方、無作為に選んだ14例(primary SJS 10例; secondary SJS 4例)の口唇小唾液腺は、O. C. T. compound に包埋後凍結し-80°Cにて保存し凍結切片を作製した。この凍結切片に対しては、Leuシリーズ(Leu2a, Leu3a, Leu4, Leu14)を用いてリンパ球サブセットをABC法で同定した。なお、SJSの対照疾患として唾石症4例、顎下腺のPleomorphic adenoma 1例、計5例のパラフィン切片を作製し、こ

図2 耳下腺造影像病変度と口唇小唾液腺組織像

図3 耳下腺造影病変度と円形細胞浸潤面積比(%)

表2 a パラフィン切片標本における免疫組織化学的検索結果

症例 No.	UCHL-1	Mx-PanB	円形細胞浸潤 面積比(%)	
Primary	1	+	±	8.2
	2	++	—	8.4
	3	+	—	14.6
	4	++	—	15.6
	5	+	—	19.6
	6	++	± ~ —	23.7
	7	++	—	24.1
	8	++	—	25.9
	9	++	± ~ —	26.1
	10	++	—	26.9
	11	+	—	29.8
	12	++	—	30.0
	13	++	± ~ —	30.0
	14	++	—	31.7
	15	++	—	32.9
	16	++	—	45.5
Secondary	1	++	—	7.5
	2	+	—	9.4
	3	++	± ~ —	18.0
	4	+	—	43.8

++：強陽性   +：陽性   ±：弱陽性
—：陰性

のリンパ球サブセットを同定した。

結 果

1. 耳下腺造影病変度と口唇小唾液腺組織像

表2 b

No.	UCHL-1	Mx-PanB	対照例の病理学的診断
1	+	++	chronic sialoadenitis
2	—	—	〃
3	±	+	〃
4	+	++	〃
5	—	—	Pleomorphic adenoma

縦軸は耳下腺造影病変度、横軸は口唇小唾液腺周囲円形細胞浸潤度を取り両者の関係を primary, secondary 別に対応させてみた(図2)。primary では耳下腺造影病変度と円形細胞浸潤度は非常に良く相関を示し、相関係数 0.6629 ($p<0.001$) であった。一方, secondary ではばらつきが多く相関関係を認めなかった。

2. 耳下腺造影病変度と円形細胞浸潤面積比(%)

図3に示すように縦軸には耳下腺造影病変度、横軸は小唾液腺周囲円形細胞浸潤面積比(%)を取り, primary, secondary 別に対応させた。primary 例では相関係数 0.7801 ($p<0.001$) と両者は有意な正の相関関係を示しているが, secondary では円形細胞浸潤面積比が小さい症例が多く有意な関係を認めなかった。

3. パラフィン切片標本のリンパ球サブセット同定

SJS のリンパ球は UCHL-1 陽性の T 細胞が主であり Mx-Pan B 陽性の B 細胞はほとんど存在を認めなかった。この傾向は primary, secondary 例ともに同じであった。また、円形細胞浸潤面積比(%)の増加に伴ってリンパ球の UCHL-1 陽性度が高値を示す傾向は認めなかった(表2 a)。一方、対照とした唾石症お

図 4 酵素抗体法による小唾液腺組織（ABC 法）
CD4 陽性細胞（Lea3a 陽性リンパ球）と CD8 陽性細胞（Leu2a 陽性リンパ球）がともに ABC-GO 法では青色に呈色している。（凍結切片×200）

表 3 凍結標本における免疫組織化学的検索結果

	症例 No.	Leu-4	Leu-3a	Leu-2a	Leu-14	円形細胞浸潤 面積比（％）
Primary	1	＋	±	＋	－	3.7
	2	＋	±	＋	±	6.0
	3	＋	＋	＋	－	8.2
	4	＋	＋	±	－	10.3
	5	＋	±	＋	－	20.7
	6	＋	＋	＋	－	23.7
	7	＋	±	＋	－	25.7
	8	＋	＋	＋	－	29.8
	9	＋	±	＋	－	30.0
	10	＋	＋	＋	±	32.4
Secondary	1	＋	＋	＋	－	7.5
	2	＋	＋	＋	－	8.3
	3	＋	＋	＋	－	15.0
	4	＋	±	＋	－	18.0

＋：強陽性   ＋：陽 性   ±：弱陽性   －：陰 性

よび Pleomorphic adenoma では若干 B リンパ球が多く、SJS とは異なり T リンパ球の優位な浸潤は認めなかった（表 2 b）。

4. 凍結切片標本のリンパ球サブセットの同定

リンパ球は Leu4 陽性の T 細胞が主であり Leu14 陽性の B 細胞は14例中 2 例においてのみ弱陽性を示していた。この傾向は primary, secondary の双方に共通しており、凍結切片においてもパラフィン切片同様

の結果を得た。T細胞はLea3a陽性、Leu2a陽性のいずれも観察されたが、primaryでは10例中4例、secondaryでは4例中3例がLeu2a陽性であり、Leu2a陽性細胞が多い傾向を示した(図4)。ただし、Leu3a陽性、Leu2a陽性のいずれが多いか判定困難な症例も全体で14例中5例認めた。Leu2a、3a陽性細胞の存在と各細胞の陽性度の強さは、円形細胞浸潤面積比(%)と関係がなかった(表3)。

考 察

シェーグレン症候群の診断方法は、厚生省シェーグレン病調査研究班の診断の手引き(1977年)に基づいて、耳下腺造影・口唇小唾液腺の生検を主体に実施されている。小唾液腺の組織変化は大唾液腺の変化を反映するとされているが、著者は耳下腺造影所見と口唇小唾液腺組織所見がどのように相関するのか、診断に関して信頼性があるかを検討した。耳下腺造影の所見については、Blatt¹⁾、Rubin and Holt¹⁾、今野ら⁹⁾の分類が報告されているが、分類が比較的容易でありgradingに適しているためBlattらの分類を選択しこれに基づいて耳下腺における変化を判定した。口唇小唾液腺組織所見はChisholm and Masson²⁾の分類に基づき、すなわち円形細胞の集簇を1 focus/4mm²あたりで捉らえて分類している。しかし、正常例においても加齢変化に伴うものがあるとされており、Troyら⁶⁾は本疾患の診断に有効なものはChisholm and Masson分類によるgrade 3 (specimen more than 1 focus/4mm²)以上であるとしている。SJSでは円形細胞浸潤以外にも導管の拡張、導管上皮の扁平化、破壊・増殖、腺組織の脂肪による置換、および腺組織の線維化という組織変化が認められるが、円形細胞浸潤が早期変化として見いだされやすく、この所見をもってSJSの病状の程度の判定を行ってよいとされている。図2に示すように、primary SJSとsecondary SJSでは口唇小唾液腺組織像と耳下腺造影所見の相関性には異なる結果を得た。すなわち、primary例では正の有意な相関関係を認めたが、secondary例では必ずしも相関を認めなかった。市川ら⁷⁾は、耳下腺造影所見が高度なものほど高度の細胞浸潤を認めるが、耳下腺造影において異常所見を認めなくても高度の細胞浸潤を有する症例も存在したと報告している。また武田ら⁸⁾は、耳下腺造影所見と細胞浸潤は必ずしも相関を認めないと結論している。今回、primary、secondary別に検討し、病型により相違を認めた。高度の細胞浸潤を認め

たprimary例は耳下腺造影所見上破壊像を呈していたが、secondary例では初期病変の点状陰影を呈していた症例も多かった。よって、primary SJSでは耳下腺造影法は診断の判定においてほぼ小唾液腺生検の結果を反映する検査であると考えられる。一方、他の膠原病と合併するsecondary例では診断には組織所見を要すると言えよう。次に、口唇小唾液腺標本の1小葉面積に対する円形細胞浸潤面積比(%)を耳下腺造影像病変度と比較してみた。Chisholm and Manson分類と円形細胞浸潤面積比(%)はprimary、secondaryとも互いに相関関係を有したが、耳下腺造影像病変度とは病型により異なる結果を得た。つまり、primaryでは互いに正の相関関係を示したがsecondaryではくい違いを示した。secondary SJSでは臨床上当然のことながら各膠原病の症状が多彩に発現し、検査所見にもprimaryとは多少異なる像を呈するとされている⁹⁾。耳下腺造影所見と組織所見(円形細胞浸潤面積比も含めて)の相互関係の相違も、臨床像と共にprimary、secondaryの特徴と考えてよいのかもしれない。これまで言われているように、SJS特にprimary例においては、耳下腺造影法は組織所見を反映する検査であるといえるが、耳下腺造影所見上ほとんど変化を認めない症例においても組織像では高度の細胞浸潤を認める場合もありこの点に注意しなければならないことを確認した。

小唾液腺を始めとする外分泌腺に浸潤するリンパ球については今までに多くの報告がもたらされており、Talalら¹⁰⁾は症例により種々のTリンパ球が存在すると報告し、一方Chusedら¹¹⁾、Ichikawaら¹²⁾、猪川ら¹³⁾はBリンパ球が存在すると述べている。最近モノクローナル抗体によるリンパ球分画の検討が行われており、Foxら¹⁴⁾、Adamsonら¹⁵⁾、高屋ら¹⁶⁾はTリンパ球主体でCD4陽性細胞優位であると報告しており、1984年FoxはT cell優位しかもCD4優位であり、サイトフローメトリーではCD4 75%以上、CD8 25%以下であったとしている。これらはSJS単独例、すなわちprimary SJSの小唾液腺における浸潤リンパ球についての報告が多く、primaryおよびsecondary SJSの病型別には高屋ら、本沢ら¹⁷⁾が報告しているにすぎない。これによると、primary、secondaryの両者はともにCD4陽性細胞優位であり有意差を認めなかったとされている。今回、一般炎症(唾石症4例)および良性腫瘍(顎下腺Pleomorphic adenoma 1例)計5例の唾液腺に浸潤するリンパ球サブセットについ

でもパラフィン切片標本を作製して検討した。表2bに示すように主として浸潤リンパ球はMx-pan B陽性、Bリンパ球が大多数でありTリンパ球は少数であった。このように、口唇小唾液腺周囲に浸潤するリンパ球サブセットも一般炎症・良性腫瘍に基づく疾患とSJSでは異なり、SJSの局所浸潤リンパ球はTリンパ球である。しかし、Tリンパ球のサブセットについてはCD8陽性細胞が若干多く認められたがCD4、CD8陽性細胞のいずれが優位とは断定できなかった。従来報告されているようにCD4陽性細胞優位という結果とは異なるが、この点に関しては検討した17例中16例がCD4陽性細胞優位であったが残り1例はCD8陽性細胞優位であったという報告もある。また、自験例ではTリンパ球サブセットの陽性度と円形細胞浸潤面積比(%)との間にも関連性は乏しかったが、focusの大きさにリンパ球サブセットという点についてはAdamsonら¹⁵⁾がfocusの大きさに関係なくT細胞優位でありCD4 50-70%、CD8 25%以下であったと報告している。さらに高屋ら¹⁶⁾もfocusの大きさとリンパ球サブセットの百分率に差を認めずCD4陽性リンパ球優位であったとしている。ただし、この場合リンパ球浸潤のfocusが大きくなるほどリンパ濾胞を形成する傾向を認め、このリンパ濾胞は主にBリンパ球より構成されていたとしている。したがって、SJS患者小唾液腺周囲浸潤リンパ球におけるT・Bリンパ球サブセットはリンパ球浸潤の程度、病期、症例により変化しようと考えられた。リンパ球の組織内浸潤の位置関係に関しても導管周囲にCD4陽性細胞、あるいは導管上皮細胞間にCD8リンパ球の浸潤を認めたという種々の報告があるが、今回は導管周囲リンパ球がCD4、CD8のいずれが優位であるのかという点に関しては一定の分布を認めなかった。SJSでは免疫複合体の直接関与より局所に浸潤するリンパ球細胞の役割は大きいとされながらもいまだ外分泌腺障害の免疫学的メカニズムは明らかとなっていない。さらに、リンパ球サブセットに関して最近ではT細胞系主体という認識がなされつつあるが、ここで示したように必ずしも従来報告されているようなCD4陽性細胞優位とはいえないようであった。よって、今後primary, secondary共に症例を重ねて免疫学的検査が必要と考えた。

ま と め

1. primary シェーグレン症候群では耳下腺造影像病変度は口唇小唾液腺周囲円形細胞浸潤度との間に相

関関係を認めた。

2. 口唇小唾液腺周囲に浸潤したリンパ球は、T細胞優位であった。Tリンパ球の陽性度の強さと円形細胞浸潤面積比(%)の大きさとは関係なかった。

3. T細胞はCD4およびCD8陽性細胞のいずれが優位と断定できなかった。この点に関して今後primary, secondaryともに免疫学的検査が必要と考えた。

文 献

- 1) Blatt IM et al: Secretory sialography in disease of major salivary glands. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 65: 295-317, 1956.
- 2) Chisholm DM and Mason DK: Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *J clin Path* 21: 656-660, 1968.
- 3) Chisholm DM et al: Lymphocytic sialoadenitis in major and minor glands: A correlation in post mortem studies. *J clin Path* 23: 690-696, 1970.
- 4) Rubin P and Holt J: Secretory sialography in diseases of the major salivary glands. *Am J Roentgenol and Rad Therapy* 77: 575-598, 1957.
- 5) 今野昭義 他: 唾液腺疾患と免疫異常. *JOHNS* 2: 47-55, 1986.
- 6) Troy E Daniels: Salivary histopathology in diagnosis of Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatology* 61: 36-43, 1986.
- 7) 市川幸延 他: Sjögren 症候群唾液腺組織像と唾液腺造影所見の相関を中心として. *アレルギー* 25: 441-446, 1976.
- 8) 武田 智 他: Sjögren 症候群における小唾液腺組織像の臨床的検討.
- 9) 宮脇昌二 他: Sjögren 症候群. *日本臨床* 44: 108-117, 1986.
- 10) Talal N et al: T and B lymphocyte in peripheral blood and tissue lesions in Sjögren's syndrome. *J clin Invest* 57: 180-189, 1974.
- 11) Chused TM et al: Identification of cell infiltrating the minor salivary glands in patients with Sjögren's syndrome. *J Immunol* 112: 641-648, 1974.
- 12) Ichikawa Y et al: Proportional and functional studies of the infiltrating lymphocytes in the parotid gland of Sjögren's syndrome associated with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2: 23-30, 1984.
- 13) 猪川 勉 他: シェーグレン症候群における末梢血お

- よび耳下腺内浸潤リンパ球の免疫学的研究. 日耳鼻 90: 168-176, 1987.
- 14) Fox RI et al: Use of monoclonal antihodies to analyse peripheral blood and salivary gland lymphocyte subsets in Sjögren's syndrome. Arthritis Rheum 25: 419-426, 1982.
- 15) Adamson III TC et al: Immunohistologic analysis of lymphoid infiltrates in primary Sjögren's syndrome using monoclonal antibodies. J Immunol 130: 203-208, 1983.
- 16) 高屋正敏 他: Sjögren 症候群における唾液腺 T リンパ球亜群の免疫組織学的検討. リウマチ 24: 250-255, 1984.
- 17) 本沢龍生: シェーグレン症候群の唾液腺浸潤リンパ球について. 埼玉医科大学雑誌 15: 133-138, 1988.
- 18) Isenberg DA et al: An immunohistological study of secondary Sjögren's syndrome. Ann Rheum Dis 43: 470-476, 1984.
-
- 稿を終えるにあたり、御校閲と御指導を賜った国立病院医療センター耳鼻咽喉科鳥山 稔先生に深く感謝の意を捧げます。本研究に際し御指導いただいた東京大学医科学研究所病理部門菅原 勇先生、および国立病院医療センター飯野ゆき子先生にも感謝致します。また、御協力いただいた山之内製薬中央研究所および切片作製に御協力下さいました国立病院医療センター臨床検査科病理、並びに東京大学医科学研究所病理学部門の皆様へ深謝致します。
- 本論文の要旨は、第89回日本耳鼻咽喉科学会総会(1988年5月・金沢)において発表した。
-
- (原稿受付 1988年12月22日)
- 別刷請求先 〒 162 東京都新宿区戸山町1-21-1
国立病院医療センター耳鼻咽喉科 加藤洋子