

## 強直性脊椎炎にみられる前部ぶどう膜炎と HLA

沼賀 二郎<sup>1)</sup>, Islam SM Monowarul<sup>1)</sup>, 三井 弘<sup>2)</sup>, 前田 平生<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学医学部眼科学教室, <sup>2)</sup>三井記念病院整形外科

<sup>3)</sup>埼玉医科大学総合医療センター輸血部

### 要 約

強直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis, AS) 患者に合併する前部ぶどう膜炎に human leukocyte antigen (HLA) の関与があるかを検討した。対象は AS 40 例で、その内訳は前部ぶどう膜炎を有するもの 19 例、有しないもの 21 例である。AS 患者は前部ぶどう膜炎の有無では HLA-B 27 およびそのサブタイプに特定の傾向はみられなかった。我々が以前報告したように、HLA-DR8 (DRB1\*0803) が前部ぶどう膜炎の有無で有意差がみら

れ、前部ぶどう膜炎を有するものでは 12 例 (63.2%)、有しないものでは 1 例 (4.8%) であり、相対危険度 34.3 ( $P < 0.007$ ) であった。AS の前部ぶどう膜炎の発症には DR8 が関与するものと考えられた。(日眼会誌 100: 292-295, 1996)

キーワード: 強直性脊椎炎, 前部ぶどう膜炎, HLA, サブタイプ

## Anterior Uveitis with Ankylosing Spondylitis and HLA

Jiro Numaga<sup>1)</sup>, Monowarul SM Islam<sup>1)</sup>, Hiroshi Mitsui<sup>2)</sup>  
and Hiroo Maeda<sup>3)</sup>

*Department of Ophthalmology, University of Tokyo, School of Medicine*

*<sup>2)</sup>Division of Orthopedic Surgery, Mitsui Memorial Hospital*

*<sup>3)</sup>Blood Transfusion Services, Saitama Medical Center, Saitama Medical School*

### Abstract

We investigated the relationship between anterior uveitis with ankylosing spondylitis (AS) and human leukocyte antigen (HLA) alleles. Forty patients were studied, 19 with anterior uveitis and 21 without it. No deviation in the frequencies of HLA-B27 antigen and related alleles were observed between the two groups of patients. Twelve cases (63.2%) with anterior uveitis had expressed HLA-DR8 (DRB1\*0803). On the other hand, only 1 case had

expressed the same antigen and this difference was statistically significant (relative risk: 34.3  $P < 0.007$ ) as we reported previously. We found HLA-DR8 was a candidate for susceptibility to anterior uveitis in AS. (J Jpn Ophthalmol Soc 100: 292-295, 1996)

Key words: Ankylosing spondylitis, Anterior uveitis, HLA, Subtype

### I 目 的

強直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis, AS) は欧米人に比較して日本人では比較的稀な疾患である。AS は眼合併症として、特徴的な前部ぶどう膜炎を併発する。欧米では human leukocyte antigen (HLA)-B 27 陽性者が多く、AS の病因との関連を含めて HLA-B 27 サブタイプに関する検討がなされている<sup>1)</sup>。しかし、日本人では AS が少なく、また正常人に占める HLA-B 27 の頻度が欧米に比較して少ないこともあり、AS に併発する前部ぶ

う膜炎に関する HLA および HLA-B 27 サブタイプに関する報告はない。今回、我々は多数例の AS の HLA を詳細に検索し、AS にみられる前部ぶどう膜炎の発症に関連があるかを検討したので報告する。

### II 対象と方法

40 例の日本人 AS 患者を対象とした。AS 患者は東京大学医学部附属病院整形外科および三井記念病院整形外科を受診した例で、診断は Amor の診断基準<sup>2)</sup>に基づいて行われた。前部ぶどう膜炎の診断は Saari の方法<sup>3)</sup>に

別刷請求先: 114 東京都北区西ヶ原 3-2-1-214 沼賀 二郎

(平成 7 年 4 月 24 日受付, 平成 7 年 11 月 28 日改訂受理)

Reprint requests to: Jiro Numaga, M.D. 3-2-1-214 Nishigahara, Kita-ku, Tokyo 114, Japan

(Received April 24, 1995 and accepted in revised form November 28, 1995)

基づいて行い、前部ぶどう膜炎の有無に関してはカルテで実際に活動性の炎症が記載されているものを前部ぶどう膜炎を有するものとした。対照群として正常健康常人140例を用いた。AS患者の内訳は、前部ぶどう膜炎を有するもの19例、有しないもの21例である。また、ASのない前部ぶどう膜炎11例についても検討した。血清学的HLAのタイピングは補体依存性細胞障害試験で施行した。サブタイプの検索は polymerase chain reaction

(PCR)-single strand conformation polymorphism (SSCP)法を用いて施行した。DNAは末梢血から回収し、PCR法で増幅させた。HLA-B27に関するプライマーは、exon 2はGCCGCGAGTCCGAGAGA (E 40 s), GGCCTCGCTCTGGTTGTA (E 90 as), また、exon 3はGGGTCTCACACCCTCCAGAAT (E 91 s), CGGCGGTCCAGGAGCT (E 136 as))を用いた<sup>4)</sup>。PCRは96°C10秒, 65°C20秒, 70°C20秒で35サイクル施行した。図1にHLA-B27のサブタイプとexon 2,3のアミノ酸の相違を示す。HLA-DR8に関するプライマーはACGTTTCTTGAGTACTCTACGとCCGCTGCACTGTGAAGCTCTを用いた<sup>5)</sup>。HLA-B27のサブタイプに関してはクロニングの後、直接、塩基配列を同定し判別した。統計学的検討は $\chi^2$ テストとFisher試験で行った。

	α1 DOMAIN			α2 DOMAIN			
	59	74	81	97	113	116	152
B*2701	Y	YRENLRIA		N	YHQD		V
2702	-	DRENLRIA		-	----		-
2703	H	DREDLRTL		-	----		-
2704	Y	DRESLRTL		-	----		E
2705	-	DREDLRTL		-	----		V
2706	-	DRESLRTL		-	----		E
2707	-	DREDLRTL		S	HN--		V

図1 Human leukocyte antigen (HLA)-B 27のサブタイプと exon 2, 3のアミノ酸の相違。

### III 結果

AS患者の血清学的HLAは、HLA-B27がAS34例(85.0%)、対照群1例(0.7%)であり、相対危険度788で

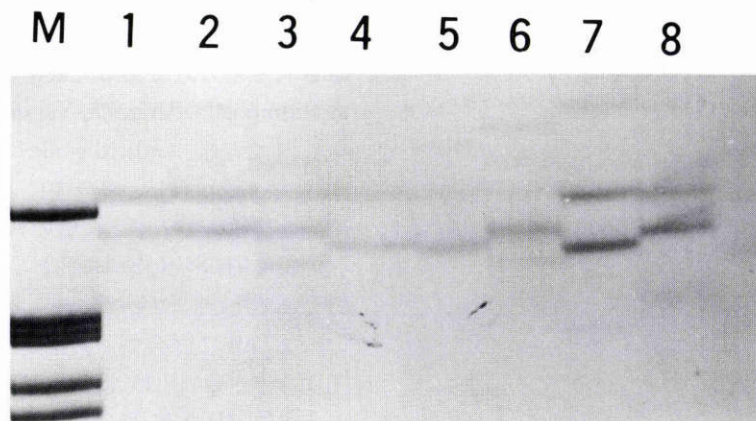


図2 Exon 2の polymerase chain reaction (PCR)-single strand conformation polymorphism (SSCP)の結果。

Mはmolecular maker, 1-8は症例を示す。バンドのパターンは二型を示す。症例1-3, 6, 8のバンドのパターンはB\*2704, 症例4, 5, 7のバンドのパターンはB\*2705と同定した。

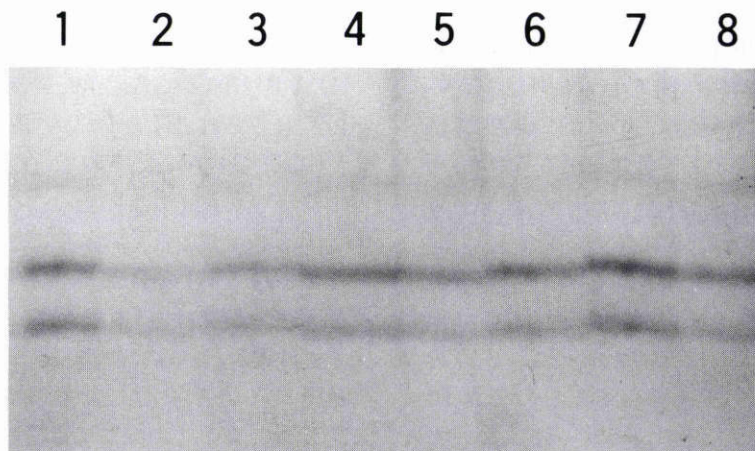


図3 Exon 3のPCR-SSCPの結果。

1～8は症例を示す。バンドのパターンは症例1～8まで同一である。

表1 強直性脊椎炎患者の前部ぶどう膜炎の有無での HLA-B 27, およびそのサブタイプ

HLA	強直性脊椎炎	
	前部ぶどう膜炎あり n=19	前部ぶどう膜炎なし n=21
B 27	17 (89.5%)	17 (81.0%)
B*2704	14 (73.4 )	16 (76.2 )
B*2705	3 (15.8 )	1 ( 4.8 )

HLA: human leukocyte antigen

表2 強直性脊椎炎のない前部ぶどう膜炎患者での HLA 抗原の頻度

抗 原	患者群 n=11 n (%)	対照群 n=50 n (%)	相対危険度
A 2	7 (63.6)	21 (42.0)	
A 24	8 (72.7)	30 (60.0)	
A 26	2 (18.2)	11 (22.0)	
A 31	3 (27.3)	8 (16.0)	
A 33	1 ( 9.0)	9 (18.0)	
B 7	1 ( 9.0)	5 (10.0)	
B 27	2 (18.2)	0 (0)	
B 35	1 ( 9.0)	7 (14.0)	
B 39	2 (18.2)	4 ( 8.0)	
B 46	5 (45.5)	5 (10.0)	
B 51	4 (36.4)	6 (12.0)	
B 52	5 (45.5)	11 (22.0)	
DR 1	2 (18.2)	4 ( 8.0)	
DR 2	6 (54.5)	17 (34.0)	
DR 4	2 (18.2)	21 (42.0)	
DR 8	4 (36.4)	12 (24.0)	
DR 8.1	4 (36.4)	9 (18.0)	
DR 9	3 (27.3)	14 (28.0)	
DR 11	1 ( 9.0)	1 ( 2.0)	
DR 12	1 ( 9.0)	4 ( 8.0)	
DR 14	1 ( 9.0)	7 (14.0)	
DR 52	5 (45.5)	20 (40.0)	
DR 53	5 (45.5)	34 (68.0)	
DQ 1	10 (90.9)	36 (72.0)	
DQ 3	4 (36.4)	30 (60.0)	
DQ 7	3 (27.3)	9 (18.0)	
DQ 4	1 ( 9.0)	16 (32.0)	

有意差がみられた。HLA-DR 12がAS 11例(27.5%), 対照群 12例(8.6%)であり, 相対危険度 4.0で有意差がみられた。HLA-DQ 7がAS 16例(40.0%), 対照群 25例(17.9%)であり, 相対危険度 3.1で有意差がみられた。図2に exon 2, 図3に exon 3のPCR-SSCPの結果を示す。PCR後のクローニングで得られたサブタイプはB\*2704, B\*2705の2種類であった。前部ぶどう膜炎の有無で検討すると, 前部ぶどう膜炎を有するものではB 27が17例(89.5%), 有しないものでは17例(81.0%), B 27のサブタイプでは前部ぶどう膜炎を有するものではB\*2704, 14例(73.7%), B\*2705, 3例(15.8%), 有しないものではB\*2704, 16例(76.2%), B\*2705, 1例(4.8%)であり, 前部ぶどう膜炎の有無でHLA-B 27およびB 27サ

ブタイプの頻度に差はなかった(表1)。また, DR 8が前部ぶどう膜炎を有するものでは12例(63.2%), 有しないものでは1例(4.8%)であり, 相対危険度 34.3( $P < 0.007$ )で有意差がみられた。また, そのサブタイプは全例DRB 1\*0803であった。表2にASのない前部ぶどう膜炎患者の血清学的タイピングの結果を示す。有意差のみられた抗原はなかった。

#### IV 考 按

HLA-B 27はASをはじめとする血清陰性脊椎関節症 (seronegative spondyloarthritis, SNSA)と強い相関を示すが, その発症に関与しているかどうか議論の多いところである。Hammerら<sup>6)</sup>が1990年に動物モデル, HLA-B 27 transgenic ratがASの脊椎病変のみならず, ASにみられる眼などの症状を発現することを報告して以来, HLA-B 27そのものがSNSAの発症に強く関与すると考えられた。AS発症には, このHLA-B 27によるmolecular mimicryとarthritogenic peptide modelの2つの説が考えられている。Molecular mimicry説は, ある種の細菌とHLA-B 27のhypervariable regionとのアミノ酸の相同性から交差免疫でHLA-B 27が攻撃される考え方である<sup>7)</sup>。細菌としてはグラム陰性桿菌のSalmonella, Shigella, Yersinia, Klebsiellaなどが考えられている。Arthritogenic peptide modelはarthritogenic peptide複合体により誘導された特異的T細胞が抗原ペプチドと同様のアミノ酸配列構造を持つ自己組織を細胞性免疫の標的としてASが惹起される考え方である<sup>8)</sup>。

一方, ASに併発する前部ぶどう膜炎に関しては未だ不明な点が多い<sup>9)</sup>。欧米ではASが日本に比較して多いこともあり, HLA-B 27サブタイプと前部ぶどう膜炎の併発の有無に関して詳細に検討がなされている。現在, HLA-B 27サブタイプは7種類が報告<sup>4)10)</sup>されている。白人で多くみられるのはHLA-B\*2705で, 残りがHLA-B\*2702である<sup>11)</sup>。オランダ人を対象としたASに伴う前部ぶどう膜炎とHLA-B 27サブタイプに関する検討では, ASの前部ぶどう膜炎のHLA-B 27サブタイプはHLA-B\*2702が5%, 2705が85%, それ以外のタイプが10%にみられ, HLA-B 27サブタイプと前部ぶどう膜炎との関連性はないとされている<sup>12)</sup>。しかし, このような検討は日本人では今まで全くなされていない。この理由として日本人ではASが欧米に比較して少なく, また, 正常人に占めるHLA-B 27陽性者も0.7%と低いためである<sup>13)14)</sup>。本研究は, 日本人ではじめてHLA-B 27サブタイプを決定し, さらに, 前部ぶどう膜炎の有無でHLA-B 27サブタイプを検討したものである。ASのないHLA-B 27サブタイプに関しては検討を行っていないが, 日本人のASのHLA-B 27サブタイプは2704と2705の2種類であり, ASではHLA-B\*2704が多いことが判明し

た。また、AS患者ではこの2種類のサブタイプと前部ぶどう膜炎の有無とに関連性はみられなかった(表1)。この日本人で多くみられたHLA-B\*2704は、欧米人で多いとされている2705と比較して $\alpha 1$  hypervariable regionのアミノ酸配列の81番目が異なるのみで、グラム陰性桿菌と相同性がみられる71~78番目のアミノ酸配列は同じである<sup>15)</sup>。このことは、日本人のASの発症機序も従来のmolecular mimicry説と矛盾しないことを示したものである。一方、ASにおいて前部ぶどう膜炎の併発に他のHLAの関与があるかを検討した結果、日本人のASの前部ぶどう膜炎の発症には、以前我々が報告したようにHLA-DR8が関連することが判明した<sup>14)</sup>。我々の以前の検討ではHLA-B27のサブタイプに関する検討は完全になされておらず、今回の全症例の検討でASの前部ぶどう膜炎とHLA-B27サブタイプとは関連がないことが確認された。DR8は血清学的にはDR8.1, DR8.2に分類され、そのサブタイプは現在4種類が知られている。AS患者にみられた13例は全例、血清学的にはDR8.1であり、そのサブタイプはDRB1\*0803であった。正常健常人も全例DRB1\*0803であり、ASの前部ぶどう膜炎の併発にDR8が関連するものの、そのサブタイプは正常健常人と同じであることが判明した。また、ASのない前部ぶどう膜炎で行った検討では、特定のHLAの増減はみられなかった(表2)。以上から、ASという特定の疾患下でHLA-DR8.1が陽性であるときに前部ぶどう膜炎を併発する、すなわち、AS患者の前部ぶどう膜炎に対する疾患感受性が高まるものと考えられる。前部ぶどう膜炎がない1例でDR8が陽性であったが、今後前部ぶどう膜炎を併発する可能性があり、注意深い経過観察が必要と判断された。

#### 文 献

- 1) Benjamin R, Parham P: Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today* 11: 137-142, 1990.
- 2) 福田真輔: 日本AS研究会, AS患者全国規模アンケート調査の報告. *臨床リウマチ* 4: 105-110, 1991.
- 3) Saari KM: Acute Anterior Uveitis. In: KM Saari (Ed): *Uveitis Update*. Excerpta Medica, Amsterdam, 79-95, 1984.
- 4) Dominguez O, Coto E, Martinez-Naves E, Choo YS, Lopez-Larrea C: Molecular typing of HLA-B27 alleles. *Immunogenetics* 36: 277-282, 1992.
- 5) Ota M, Seki T, Fukushima H, Tsuji K, Inoko H: HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers. *Tissue Antigens* 39: 187-202, 1992.
- 6) Hammer ER, Maika DS, Richardson AJ, Tang PJ, Taurog DJ: Spontaneous Inflammatory Disease in Transgenic Rats Expressing HLA-B27 and Human  $\beta_2m$ : An Animal Model of HLA-B27-Associated Human Disorders. *Cell* 63: 1099-1112, 1990.
- 7) 土屋尚之: 強直性脊椎炎におけるHLA-B27と微生物抗原の意義. *臨床免疫* 23: 602-608, 1991.
- 8) Benjamin R, Parham P: HLA-B27 and Disease: A consequence of inadvertent antigen presentation? *Rheum Dis Clin North Am* 18: 11-21, 1992.
- 9) Zierhut M, Feltkamp B, Forrester J, Saal J, Dannecker G: Immunology of the eye and the joint. *Immunol Today* 15: 249-251, 1994.
- 10) Choo YS, Fan LA, Hansen JA: A novel HLA-B27 maps B27 allospecificity to the region around position 70 in the  $\alpha 1$  domain. *J Immunol* 147: 174-180, 1991.
- 11) 村田紀和: 血清陰性脊椎関節炎とHLA(強直性脊椎炎とHLA-B27). *Rheumatol Today* 7: 3-7, 1994.
- 12) Derhaag MPJF, deWaal PL, Linssen A, Feltkamp WTE: Acute Anterior uveitis and HLA-B27 subtypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 1137-1140, 1988.
- 13) 村田英之, 井上哲郎: 強直性脊椎炎(Ankylosing spondylitis). *日本臨床* 51, 増刊号, 本邦臨床統計集(下巻): 938-945, 1993.
- 14) Islam MSM, Numaga J, Fujino Y, Masuda K, Ohda H, Hirata R, et al: HLA-DR8 and acute anterior uveitis in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 38: 547-550, 1995.
- 15) Kellner H, Yu D: The pathogenetic aspects of spondyloarthropathies from the point of view of HLA-B27. *Rheumatol Int* 12: 121-127, 1992.