

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：83903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07017

研究課題名(和文)シェーグレン症候群の病態に対する食事由来の脂質の影響：新規治療法の確立にむけて

研究課題名(英文) Possible involvement of palmitate in the pathogenesis of primary Sjogren's Syndrome

研究代表者

四釜 洋介 (SHIKAMA, Yosuke)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・口腔疾患研究部・室長

研究者番号：10588908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は飽和脂肪酸がシェーグレン症候群の病態を増悪する可能性を動物モデルで検討し、脂質異常症治療薬をシェーグレン症候群の治療薬として臨床応用する事を目的とした。その結果、飽和脂肪酸はアディポカインとして知られている serum amyloid A や lipocalin-2 発現誘導を介し、生体レベルにおいてもSSの病態を増悪する可能性が示唆され、血中脂質プロファイル改善という新たな自己免疫疾患の治療法開発につながると思われる。

研究成果の概要(英文)：Obesity and type 2 diabetes (T2D) are characterized by decreased insulin sensitivity and higher concentrations of free fatty acids (FFAs) in the serum. Among FFAs, such as saturated fatty acids, have been reported to play a role in obesity-associated inflammation. Primary Sjogren's syndrome (SS) is an autoimmune disease characterized by infiltration of inflammatory mononuclear cells and destruction of epithelial cells in salivary and lacrimal glands. Although epidemiological studies have suggested a link between primary SS and dyslipidemia or T2D, little is known about the clinical significance of elevated serum level of FFAs in primary SS. In this study, we demonstrate that saturated fatty acids may exacerbate the pathogenesis of primary SS via the increase of serum amyloid A and lipocalin-2, which are known as adipokines, in salivary gland epithelial cells in vivo.

研究分野：口腔免疫学

キーワード：シェーグレン症候群 代謝異常 飽和脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化により、牛肉や豚肉、またそれらから抽出した油脂(牛脂や豚油)を含んだ食物を摂取する機会が多くなってきている。この他、過食や運動不足等生活習慣の乱れから肥満による内臓脂肪の増大や脂質異常を認める日本人が多くなってきている。肥満によるこのような変化は、脂肪組織からの過剰な遊離脂肪酸の放出やアディポカインとして称される多様な生理活性タンパク質の分泌異常により、全身的な代謝異常や無菌性炎症反応を引き起こすと考えられている。この遊離脂肪酸、特に牛肉や豚肉に多く含まれている飽和脂肪酸は、内因性リガンドとして Toll 様受容体(toll-like receptor;TLR)4 を刺激し、遠隔組織で炎症シグナルを活性化する事が明らかになってきている。唾液腺上皮細胞においても TLRs が発現しており、ドライマウスやドライアイを臨床症状とする原因不明の自己免疫疾患であるシェーグレン症候群(SS)患者の唾液腺上皮細胞では、TLRs 発現が上昇している事が報告されている。遺伝的要因、免疫異常、更に女性ホルモンがその要因として考えられているが、その発症メカニズムは不明な点が多い。さらに疫学研究においても、SS と糖尿病や脂質異常症との関連性を指摘する報告もある。SS 患者の唾液腺上皮細胞では、炎症性サイトカインおよび自己抗原となる断片化した α -fodrin の産生が亢進している事が知られている。

2. 研究の目的

近年の肥満症の増加や食生活の欧米化に伴い、脂肪酸の免疫反応に対する研究は世界中で盛んに行われているが、唾液腺や涙腺に対する炎症メディエーターとしての飽和脂肪酸の作用に関する報告はない。申請者らは *in vitro* において、飽和脂肪酸がこれら反応を誘導することを報告した(Shikama et al. J Dent Res 2013)。この結果は、飽和脂肪酸が SS の病態を増悪する可能性を示唆するものである。これら背景をふまえ、本研究では SS モデルマウスを用い、血中飽和脂肪酸量を上昇させるために高脂肪食を負荷し、これによる唾液腺や涙腺の病態形成、および自己抗原、自己抗体産生に対する影響を解析する事を目的とする。

3. 研究の方法

原発性 SS モデルマウス(J Immunol 1994;153:2769)およびコントロールマウスに2か月間、通常食または高脂肪食(HFD-32, 日本クレア)を摂取させた。大唾液腺および涙腺 HE 染色標本を作成し、J Immunol 1974; 112: 178 の方法に従い、病理組織学的な評価を行った。顎下腺または涙腺より total RNA を抽出し、Real-time PCR 法により遺伝子発現を評価した。通常食または高脂肪食負荷2か月後のマウスより血液を採取し、血清を分離後、自己抗体価を Enzyme-Linked Immuno

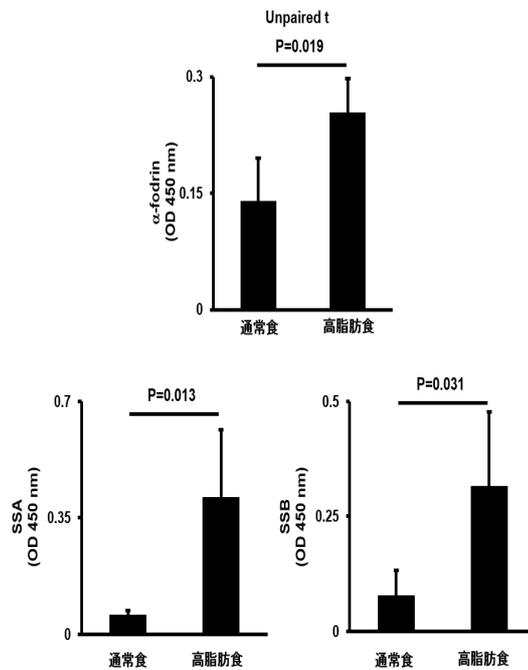


図1: SSモデルマウスにおける血中自己抗体価に対する高脂肪食負荷の影響

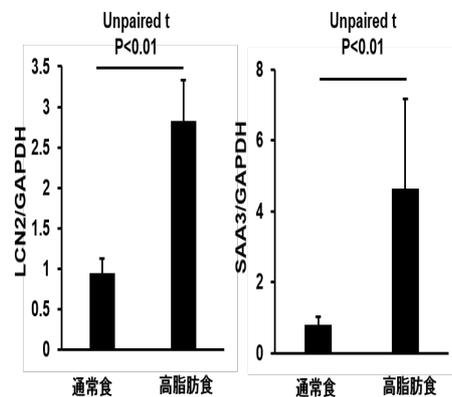


図2: 顎下腺におけるLCN2およびSAA3遺伝子発現に対する高脂肪食負荷の影響

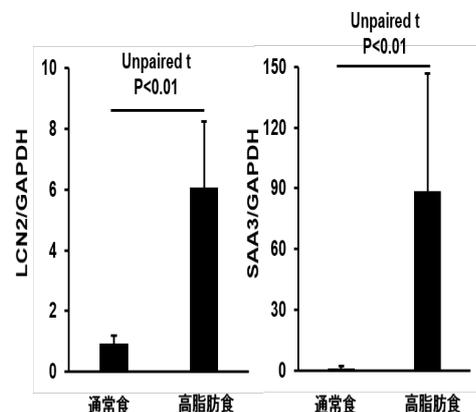


図3: 涙腺におけるLCN2およびSAA3遺伝子発現に対する高脂肪食負荷の影響

Sorbent Assay(ELISA)法を用い測定した。顎下腺より唾液腺上皮細胞を単離し、*in vitro* において飽和脂肪酸で刺激し、遺伝子発現変化を評価した。

4. 研究成果

1) SS モデルマウスにおいて、2 ヶ月の高脂肪食負荷により、通常食群と比較し、唾液腺および涙腺のリンパ球浸潤を伴う組織破壊が増悪した。2) SS モデルマウスにおいて、2 ヶ月の高脂肪食負荷により、通常食群と比較し、血中自己抗体価が有意に増加した(図 1)。3) 高脂肪食負荷により、顎下腺(図 2)および涙腺(図 3)において、アディポカインとして知られている serum amyloid A (SAA) や lipocalin-2 (LCN2) が遺伝子レベルで発現上昇した。4) マウス唾液腺上皮細胞を単離し、in vitro で飽和脂肪酸処理をすると、SAA や LCN2 が遺伝子レベルで発現上昇した。以上から、飽和脂肪酸は生体レベルにおいても SS の病態を増悪する可能性が示唆され、この結果は、血中脂質プロファイル改善という新たな自己免疫疾患の治療法開発につながると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件) **全て査読あり**

Yang X, Nakamoto M, Shuto E, Hata A, Aki N, Shikama Y, Bando Y, Ichihara T, Minamigawa T, Kuwamura Y, Tamura A, Uemura H, Arisawa K, Funaki M, Sakai T. Associations between intake of dietary fermented soy food and concentrations of inflammatory markers: a cross-sectional study in Japanese workers. *J Med Invest.* 2018;65(1.2):74-80.

doi: 10.2152/jmi.65.74.

Shikama Y, Kudo Y, Ishimaru N, Funaki M. Potential Role of Free Fatty Acids in the Pathogenesis of Periodontitis and Primary Sjögren's Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2017 Apr 14;18(4). pii: E836. doi: 10.3390/ijms18040836.

- ③ Yu Z, Saito H, Otsuka H, Shikama Y, Funayama H, Sakai M, Murai S, Nakamura M, Yokochi T, Takada H, Sugawara S, Endo Y. Pulmonary platelet accumulation induced by catecholamines: Its involvement in lipopolysaccharide-induced anaphylaxis-like shock. *Int Immunopharmacol.* 2017 Feb;43:40-52. doi: 10.1016/j.intimp.2016.11.034.

〔学会発表〕(計 4 件)

四釜洋介、新垣理恵子、大塚邦紘、石丸直澄、松下健二 糖脂質代謝異常とシェーグレン症候群の病態: Adipokine の関連性 第 26 回日本シェーグレン症候群学会学術集会 2017.09.09 ステーションコンファレンス東京 東京都
Shikama Y, Ishimaru N, Kudo Y,

Matsushita K, Funaki M Palmitate may exacerbate the pathogenesis of periodontitis American Academy of Periodontology 103rd Annual Meeting 2017.09.10 Boston Convention & Exhibition Center Boston, USA

- ③ 四釜洋介、工藤保誠、石丸直澄、船木真理 飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に關与する可能性 第 59 回歯科基礎医学会学術大会 2017.09.18 松本歯科大学キャンパス 長野県
四釜洋介、松下健二 口腔粘膜での抗ウイルス自然免疫応答における interleukin (IL)-29 の役割 日本歯周病学会 60 周年記念京都大会 2017.12.16 国立京都国際会館 京都府

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ncgg.go.jp/research/departme nt/odr/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

四釜 洋介 (SHIKAMA, Yosuke)

国立長寿医療研究センター・口腔疾患研究部・室長

研究者番号：10588908

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()