

令和元年5月17日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K18092

研究課題名(和文) シェーグレン症候群疾患特異的T細胞のシグナル解析とその制御

研究課題名(英文) Elucidation of the function of pathogenic T cells in Sjogren's syndrome

研究代表者

飯塚 麻菜(小賀麻菜)(Iizuka-Koga, Mana)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教

研究者番号：80734821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：シェーグレン症候群(Sjogren's syndrome; SS)は、慢性唾液腺炎、涙腺炎を主徴とする臓器特異的自己免疫疾患である。標的臓器の導管、腺房周囲には自己反応性CD4+ T細胞の著しいリンパ球浸潤が認められ、腺房の破壊や萎縮により乾燥症状が引き起こされるが、その発症機序は不明である。本研究は、SSと非常に類似した病態を呈する新規モデルマウス(ROR γ tトランスジェニック(Tg)マウス)を用いてSSの発症機序を解明するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SSは、唾液腺や涙腺に何らかの自己免疫応答により誘発される慢性炎症性疾患であると考えられているが、その正確な発症機序は未だ解明されていない。そのため、根本的な治療はなく、対処療法に頼るのみである。本研究により、SSの発症に関わる病因T細胞の役割が明らかとなり、新たな疾患特異的創薬への応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：Sjogren's syndrome (SS) is a chronic autoimmune disease characterized by infiltration of lymphocytes into lacrimal and salivary glands, and clinically by dry eyes and dry mouth. Immunohistochemical studies have shown that most infiltrating lymphocytes in the labial salivary and lacrimal glands are CD4+ T cells.

In this study, we used the ROR γ t transgenic (Tg) mice, in which transgene expression was driven by hCD2 promoter and spontaneously developed sialadenitis like SS, in order to clarify the pathogenesis of sialadenitis.

研究分野：免疫学

キーワード：自己免疫疾患 T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome; SS) は、慢性唾液腺炎、涙腺炎を主徴とする臓器特異的自己免疫疾患である。標的臓器の導管、腺房周囲には自己反応性 CD4⁺ αβT 細胞の著しいリンパ球浸潤が認められ、腺房の破壊や萎縮により乾燥症状が引き起こされる (Fox, R. I. et al. *Scand. J. Rheumatol.* 2002)。これまで自己抗体の検索からいくつかの自己抗原の候補が示唆されているが、T 細胞が認識する自己抗原の多くは不明である。SS の発症に関わる病因 CD4⁺ T 細胞を同定し制御することは、疾患特異的治療法を開発する上で非常に有用である。

研究代表者らは、SS の自己抗原として同定された M3 ムスカリン作働性アセチルコリン受容体に対する自己免疫応答により誘導される SS モデルマウスを世界で初めて開発し (M.lizuka, et al. *J Autoimmun.* 2010)、自己反応性 T 細胞について、以下の 2 点を明らかにしてきた。(1) 抗原特異的 CD4⁺ T 細胞による IFN-γ 産生は、唾液腺上皮細胞のアポトーシスを誘導することで病態形成に寄与していること (M.lizuka, et al. *Mod Rheumatol.* 2012)。(2) 抗原特異的 IL-17 産生は、唾液腺浸潤 B 細胞を活性化させ、自己抗体の産生増加や異所性のリンパ濾胞形成に関与すること (M.lizuka, et al. *Mod Rheumatol.* 2013)。また、SS 患者においても、炎症唾液腺局所に Th1 細胞関連分子 (IFN-γ, T-bet)、Th17 関連分子 (IL-17, ROR_{γt}) の高発現が報告され (T. Maehara, et al. *Clin Exp Immunol.* 2012)、病態の発症および進展に CD4⁺ T 細胞の関与が示唆されている。

これまでに、T 細胞特異的に ROR_{γt} (Th17 誘導転写因子) を過剰発現させたトランスジェニック (Tg) マウスにおいて、SS 様病態を自然発症することを報告してきた (M.lizuka, et al. *J Immunol* 2015)。

2. 研究の目的

これまでの研究成果をもとに、SS と非常に類似した病態を呈する新規モデルマウス (ROR_{γt} トランスジェニック (Tg) マウス) を用いて、発症に関わる CD4⁺ T 細胞に焦点を当て、これまで不明であった病因性 CD4⁺ T 細胞の臓器特異的集積機構について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) Tg マウス由来の頸部リンパ節および唾液腺より CD4⁺ T 細胞を分離し、T 細胞のみ欠損した CD3 欠損マウスへ移入した。比較群として、野生型 (WT) マウスの頸部リンパ節より CD4⁺ T 細胞を分離し、CD3 欠損マウスへ移入した。(2) Tg マウス由来の唾液腺より分離した CD4⁺ T 細胞を移入した CD3 欠損マウス (CD4⁺ CD3 KO) について、解析を行った。唾液腺に浸潤した CD4⁺ T 細胞をシングルセルソーティングし、T 細胞受容体 (TCR) を調べた。(3) CD4⁺ CD3 KO マウスにおいて、移入した病因 CD4⁺ T 細胞の局在を調べた。(4) 抗生剤カクテルを投与した CD3 欠損マウスに、病因 CD4⁺ T 細胞を移入し (CD4⁺ CD3 KO (ABX))、病態解析を行った。

4. 研究成果

(1) Tg マウスの唾液腺浸潤 CD4⁺ T 細胞を移入した CD3 欠損マウスにおいて、唾液腺炎の発症が確認された (図 1)。対照群と比較して、組織学的スコアは有意に増加、唾液分泌量は有意に低下した。一方で、Tg マウスの唾液腺に浸潤

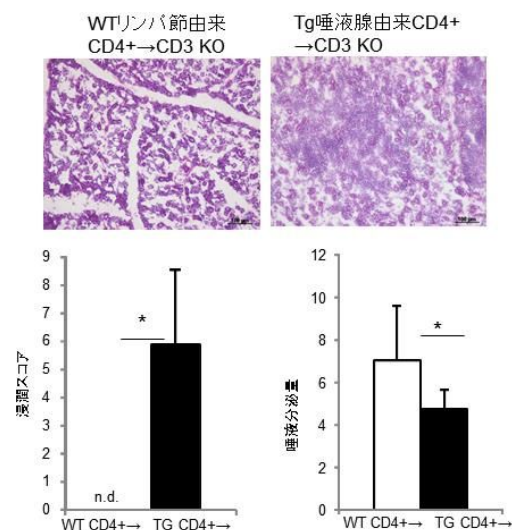


図1. 唾液腺炎の発症

した CD8⁺ T 細胞のみの移入では、唾液腺炎は認められず、CD4⁺ T 細胞が病因細胞であると同定された。(2) CD4⁺ CD3 KO マウスの唾液腺に浸潤して増殖した CD4⁺ T 細胞は、特定の TCR レパトアを発現し、CDR3 領域の一致も認められた。病因 CD4⁺ T 細胞は、何らかの特異的自己抗原を認識して増殖していることが示唆された。(3) 移入した病因 CD4⁺ T 細胞は、CD4⁺ CD3 KO マウスにおいて、腸間膜リンパ節で特異的に増殖していることが認められた。病因 CD4⁺ T 細胞において、CCR6 発現が亢進しており、腸間膜リンパ節への特異的遊走との関与が示唆された。(4) CD4⁺ CD3 KO (ABX)マウスにおいて、唾液腺発症は認められなかった。また、腸間膜リンパ節での移入細胞の増殖も抑制された。

以上の研究結果より、SS 様病態を惹起する病因 CD4⁺ T 細胞は、何らかの特異的自己抗原を認識して増殖していること、腸内細菌叢が病因細胞の活性化に関与していることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Iizuka-Koga M, Asashima H, Ando M, Lai CY, Mochizuki S, Nakanishi M, Nishimura T, Tsuboi H, Hirota T, Takahashi H, Matsumoto I, Otsu M, Sumida T, Functional Analysis of Dendritic Cells Generated from T-iPSCs from CD4⁺ T Cell Clones of Sjögren's Syndrome, Stem Cell Reports, 査読有, 8(5), 2017, 1155-1163.

〔学会発表〕(計 2 件)

飯塚 麻菜、高橋 智、松本 功、住田 孝之、吉村 昭彦

シェーグレン症候群の病態形成における ROR γ t の役割

日本インターフェロンサイトカイン学会、2018

Mana Iizuka, Satoru Takahashi, Isao Matsumoto, Takayuki Sumida, Akihiko Yoshimura
TCR analysis of infiltrated CD4⁺ T cells in the salivary glands of Sjögren's syndrome mice model

Annual meeting of the International Cytokine and Interferon Society, 2017

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。