

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32661

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K23871

研究課題名（和文）シェーグレン症候群関連疾患発症機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of pathogenesis of Sjogren's syndrome related diseases

研究代表者

井上 彰子（Inoue, Akiko）

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：40770475

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、生後早期よりシェーグレン症候群（Sjogren's syndrome; SS）様の病態を呈する疾患モデルマウスを用いて、自己反応性T細胞が正常なB細胞を自己抗体産生細胞に分化させるメカニズムの解析を行った。SS疾患モデルマウス由来の自己反応性T細胞をヌードマウスに移入した結果、SSモデルマウスの自己反応性T細胞は、ヌードマウスの正常B細胞を活性化し自己抗体産生細胞へと分化させることが明らかとなった。さらに、自己反応性T細胞を移入したヌードマウスでは、リンパ節のみならず、リンパ節以外の組織内でも自己抗体産生B細胞が活性化状態で長期間維持されている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シェーグレン症候群（Sjogren's syndrome; SS）患者検体やモデルマウスの検討により、SSはT細胞による組織破壊が発症のトリガーとなることが知られている。同時に、自己抗体産生などのB細胞の機能亢進もSSの病態形成には重要である。しかし、SS患者検体を用いた検討では、唾液腺などの組織破壊初期の検体は採取しにくい。しかし本研究で用いた疾患モデルマウスでは、SS発症初期に起こる自己反応性T細胞、自己抗体産生細胞の細胞動態を調べることが可能である。したがって、本研究で得られた結果は、SSを発症させる病原性T細胞が、B細胞を活性化する新たなメカニズムの解明に寄与することが示唆される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the mechanism by which autoreactive T cells differentiate normal B cells into autoantibody-producing cells using a mouse model of the disease that exhibits Sjogren's syndrome (SS)-like pathology from early postnatal stages. The results of transfer into nude mice showed that autoreactive T cells from SS model mice activated normal B cells of nude mice to differentiate into autoantibody-producing cells. Furthermore, it was suggested that autoantibody-producing B cells may be maintained in an activated state not only in lymph nodes but also in tissues other than lymph nodes for a long period of time in nude mice transferred with autoreactive T cells.

研究分野：耳鼻咽喉科免疫アレルギー

キーワード：シェーグレン症候群 自己抗体

1. 研究開始当初の背景

Special AT-rich sequence binding protein-1 (SATB1) は T 細胞の分化、機能にかかわる様々な遺伝子の発現制御を行っている核タンパクである (*Cell*, 1992, *Nature*, 2002)。研究代表者らはこれまでに血球系細胞特異的に SATB1 を欠損する SATB1 コンディショナルノックアウト (SATB1cKO) マウスを解析し、SATB1 は免疫寛容成立に必要な遺伝子であることを明らかにしてきた (Kondo, M. Tanaka Y. et al., *J. Immunol.*, 2016)。実際、SATB1cKO マウスは、生後 4 週齢よりシェーグレン症候群 (Sjogren's syndrome; SS) 様の乾燥症状を呈する (図 1)。さらに生後 10 週齢を過ぎると抗二本鎖 DNA 抗体、抗体核抗体などの血清中自己抗体価が上昇し (図 2、3)、尿蛋白が陽性となり、ループス腎炎など、全身性エリテマトーデス (SLE) 様の症状が出現する (Inoue A. et al., *J. Immunol.* 2017)。上記の知見から、SATB1cKO マウスは新規の SS モデルマウスとして有用であると考え、解析を進めてきた。これまでの検討から、SATB1cKO マウス頸部リンパ節には、唾液腺機能障害の原因となる病原性 T 細胞が存在することが明らかとなっている。しかし、続発する全身性自己免疫疾患へと病態が進展するときに、B 細胞が自己抗体産生細胞へ分化し活性化するメカニズムは明らかでなかった。

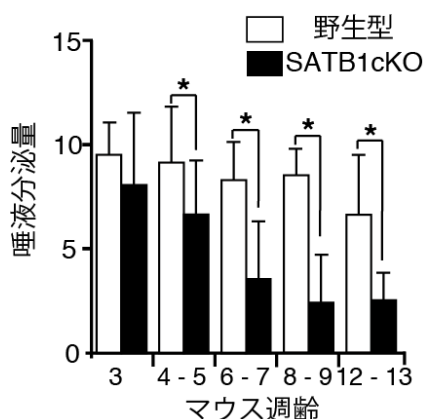


図 1: 唾液分泌量の変化

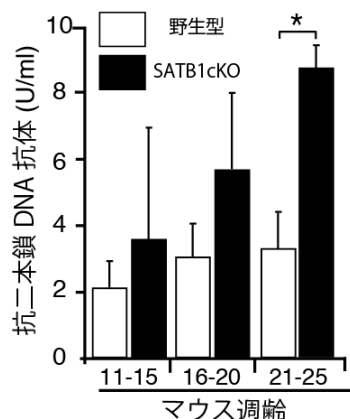


図 2: 抗二本鎖 DNA 抗体量の変化

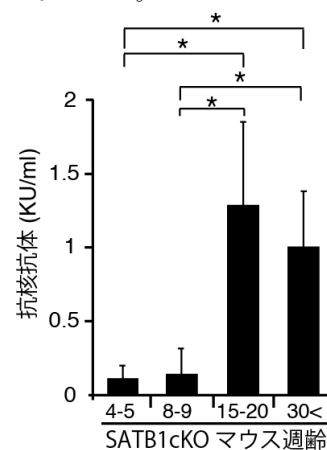


図 3: 抗核抗体量の変化

2. 研究の目的

本研究では、免疫担当細胞をターゲットとした SS 特異的な治療法の開発を目指し、我々が見出した SS モデルマウスを用いて、SS の初期病態形成と、その後の全身性自己免疫疾患へ病態が進展する分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

Cre-loxP システムを用いて転写制御因子 SATB1 を血球系細胞特異的に欠損する SATB1^{fl/fl} Vav-Cre⁺マウスを作製し、SS モデルマウス (SATB1cKO) として解析した。

(1) SATB1cKO マウスと、 μ MT マウスを交配し、SATB1cKO- μ MT マウスを作製し唾液分泌機能を解析した。

(2) SATB1cKO マウスの頸部リンパ節 T 細胞を分離し、正常な B 細胞を持つヌードマウスに移し、ヌードマウスの唾液分泌機能、頸部リンパ節、唾液腺内での B 細胞活性化についてフローサイトメトリー、免疫組織染色により解析した。

4. 研究成果

(1) SATB1cKO マウス頸部リンパ節に存在する T 細胞の病原性をより詳しく調べるために、SATB1cKO マウスと、生まれつき B 細胞を欠損する μ MT マウスを交配し、SATB1cKO- μ MT マウスを作製し解析した。その結果 SATB1cKO- μ MT マウスでは、SATB1cKO マウス同様に生後早期より SS 様唾液腺機能障害を発症した (図 1)。この結果より、SATB1cKO マウスにおける自己免疫反応のトリガーとなるのは、自己反応性の B 細胞や、自己抗体ではなく、自己反応性 T 細胞であることを示唆していると考えられた。したがって、SATB1cKO マウスでは、活性化された自己反応性 T 細胞が、免疫寛容により抑制されていた自己反応性 B 細胞を活性化させ、自己抗体産生を誘導する可能性が示唆された。

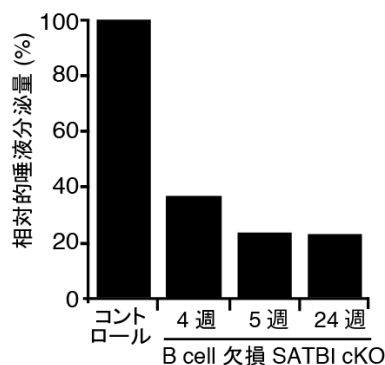


図 1: SATB1cKO- μ MT マウス 唾液分泌量の変化

(2) 自己免疫疾患症状を呈した SATB1cKO マウス頸部リンパ節より採取した病原性 T 細胞を、C57BL/6 (B6) ノードマウスに静脈注射で移入し、B6 ノードマウスの唾液腺機能、B 細胞活性化能を調べた。その結果、病原性 T 細胞移入後 4 週目では既に、唾液分泌量が正常マウスに比べて有意差を持って低下していた。さらに、SS の診断にも用いられる、血清中抗 SSA/Ro、抗 SSB/La、抗核抗体は、B6 ノードマウスへ病原性 T 細胞移入後 6 週目以降で増加が認められた。また、B6 ノードマウス頸部リンパ節中の CD19 陽性、B220 陽性 B 細胞をフローサイトメトリーで解析した結果、GL-7 陽性、CD95 陽性の胚中心 B 細胞が確認された。同一ノードマウスの唾液腺組織の免疫染色を行うと、B 細胞、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、peanut agglutinin (PNA) 陽性胚中心 B 細胞の存在が認められた。さらに興味深いことに、病原性 T 細胞移入 B6 ノードマウスの唾液腺の胚中心は、正常マウスの頸部リンパ節で観察される胚中心の構造とは異なる構造を呈していることが明らかとなった。胚中心構造の変化が起こる原因については、自然リンパ球の関与も考慮し更なる解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 神山 和久, 井上 彰子	4. 巻 24
2. 論文標題 研修医が身につけておきたい耳鼻咽喉科診察のキホン	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 レジデントノート増刊	6. 最初と最後の頁 2936, 2944
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Inoue Akiko, Tanaka Yuriko, Ohira Shinya, Matsuura Kentaro, Kondo Motonari, Wada Kota	4. 巻 -
2. 論文標題 High CD4+ T-Cell/B-Cell Ratio in the Paranasal Sinus Mucosa of Patients with Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Archives of Otorhinolaryngology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0040-1715587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe Yoshiyuki, Seto Yukiko, Oikawa Ritsuko, Nakazawa Takara, Furuya Hanae, Matsui Hidehito, Hosono Sachiko, Noike Mika, Inoue Akiko, Yamamoto Hiroyuki, Itoh Fumio, Wada Kota	4. 巻 21
2. 論文標題 Mouthwash-Based Highly Sensitive Pyro-Genotyping for Nine Sexually Transmitted Human Papilloma Virus Genotypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3697 ~ 3697
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21103697	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ohira Shinya, Matsuura Kentaro, Matsui Hidehito, Nakamura Mitsuto, Kamiyama Kazuhisa, Kajiwara Riko, Inoue Akiko, Wada Kota	4. 巻 131
2. 論文標題 Anatomical Factors that Can Predict the Structure of Lamina Papyracea for Endoscopic Sinus Surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Laryngoscope	6. 最初と最後の頁 E19-E25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lary.28644	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 田中ゆり子, 井上彰子, 近藤元就
2. 発表標題 自己免疫疾患モデルマウス病原性T細胞による組織障害メカニズムの解析
3. 学会等名 Kyoto T cell conference 第30回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中ゆり子, 井上彰子, 近藤元就
2. 発表標題 シェーグレン症候群疾患モデルマウス病原性T細胞による唾液腺組織障害機構の解析
3. 学会等名 第29回 日本シェーグレン症候群学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuriko Tanaka, Akiko Inoue, Taku Kuwabara, Taku Naito, Marii Ise, Motonari Kondo
2. 発表標題 An early serum marker for Sjogren's syndrome in SATB1 deficient mice.
3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上彰子, 大平真也
2. 発表標題 シェーグレン症候群における自己抗体産生機構の解明
3. 学会等名 第157回東邦医学会例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Akiko Inoue, Yuriko Tanaka, Motonari Kondo, Hidehito Matsui, Takara Nakazawa, Shinya Ohira, Hiroshi Osafune, Kota Wada
2. 発表標題	More severe ECRS patients produce more TSLP in the paranasal sinus mucosa
3. 学会等名	JSA/WAO Joint Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	田中 ゆり子, 井上 彰子, 小野里 磨優, 福島 健, 近藤 元就
2. 発表標題	シェーグレン症候群疾患モデルマウスの病態解析と発症初期新規分子マーカーの探索
3. 学会等名	第28回 日本シェーグレン症候群学会学術集会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	小野里 磨優, 田中 ゆり子, 井上 彰子, 近藤 元就, 福島 健
2. 発表標題	LC-MS/MS によるシェーグレン症候群疾患モデルマウス血清中 L-トリプトファン及び L-キヌレニンの定量
3. 学会等名	第32回 バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2019)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Yuriko Tanaka, Akiko Inoue, Taku Kuwabara, Taku Naito, Motonari Kondo
2. 発表標題	Lack of SATB1 leads to Sjogren's syndrome like autoimmune manifestations in mice
3. 学会等名	The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 Yuriko Tanaka, Akiko Inoue, Taku Naito, Taku Kuwabara, Motonari Kondo
2. 発表標題 Lack of SATB1 leads to Sjogren's syndrome like autoimmune manifestations in mice
3. 学会等名 52nd Annual Meeting Of The Society For Leukocyte Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------