

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月 4日現在

機関番号：37116

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890243

研究課題名（和文） シェーグレン症候群の外分泌腺異常における上皮-間葉転換の意義と新規治療法の開発

研究課題名（英文） Significance of epithelial-mesenchymal transition in Sjögren's syndrome and a novel therapeutic approach

研究代表者

廣正 佳奈 (HIROMASA KANA)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：00612384

研究成果の概要（和文）：ヒトのシェーグレン症候群患者の小唾液腺、皮膚生検組織で免疫組織化学法を行うと、上皮-間葉転換時に発現が上昇する Snail1、Twist1 の発現が上昇していた。シェーグレン症候群モデルマウスで CD209d(DC-SIGN) の発現が涙腺で上昇しており、人のシェーグレン症候群患者でも CD209d(DC-SIGN) 陽性の樹状細胞が小唾液腺周囲に増加し、新規治療法のターゲットになる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To evaluate a role of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in Sjögren's syndrome, we performed an immunohistochemistry, which revealed that EMT-inducing proteins, Snail1 and Twist1 were highly expressed in the skin and salivary glands of the patients. The numbers of CD209d(DC-SIGN) positive dendritic cells were increased both in mouse model for Sjögren's syndrome and human patients, paving a new therapeutic approach for this disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：シェーグレン症候群、上皮-間葉転換、DC-SIGN

1. 研究開始当初の背景

(1) シェーグレン症候群は中高年女性に好発する涙腺、唾液腺をはじめとする外分泌腺の慢性炎症性疾患であり、全身の系統的な分泌障害を主徴とする臓器特異的自己免疫疾患と考えられている。臨床的に、眼のかすみ、充血、乾き、異物感などの眼乾燥症状や唾液の減少による口腔内のパサパサ感、咀嚼困難、味覚異常、口の苦み、ま

た皮膚症状として皮膚乾燥や環状紅斑が生じる。また、間質性肺炎、肺線維症や間質性腎炎などを合併することもある。血清学的に75%の患者で抗SS-A、抗SS-B抗体などの自己抗体が陽性になり、病理組織学的に涙腺や唾液腺へのTリンパ球浸潤や線維化が見られるが、シェーグレン症候群の病態は依然完全には解明されていない。

(2) 最近、抗 SS-A 抗体抗原である Ro60 蛋白のペプチドをマウスに注射し、免疫することで唾液腺に T リンパ球の浸潤と唾液の減少が出現し、ヒトのシェーグレン症候群のよいマウスモデルとなると報告された (H Yin et al. PLoS one 2011)。このシェーグレン症候群のマウスモデルを用いることにより、ヒト患者では難しいシェーグレン症候群の経時的病理学的変化の観察や、新たな治療法の検討が容易となった。

(3) 上皮-間葉転換 (Epithelial-mesenchymal transition) は、上皮系の細胞が間葉系の細胞へ変化することで、当初初期発症に非常に重要であるとされていたが、最近、発癌、癌の転移、組織の線維化、創傷治癒などさまざまな病態にも深く関与していることが明らかになってきた (Nakamura M et al. J Dermatol Sci 2011)。上皮系の細胞に Snail1 や Twist1 などの転写因子が発現し、上皮接着分子である E-cadherin の発現が減少し、ビメンチン、フィブロネクチンなどの間葉系の分子が発現するようになる。全身性強皮症患者皮膚のエクリン汗腺細胞で Snail1 や Twist1 が発現しており、エクリン汗腺細胞が上皮-間葉転換をおこし、筋線維芽細胞に変化し、全身性強皮症の病態に関わっている可能性をこれまで産業医科大学皮膚科より発表した (Nakamura M et al. Br J Dermatol 2011)。

2. 研究の目的

(1) ヒトのシェーグレン症候群患者の唾液腺、皮膚において上皮-間葉転換がおこっているかどうかを、上皮-間葉転換時に発現が上昇する Snail1、Twist1 に対する抗体を用いて、免疫組織化学法で検討し、明らかにする。

(2) Ro60 ペプチドを注射するシェーグレン症候群のマウスモデルを用いて、涙腺で発現上昇している mRNA をマイクロアレイ法を行って探索する。さらに、このマイクロアレイ法の結果が正しいことを PCR 法によって検証する。

(3) 上記で明らかになった候補蛋白に対する抗体でヒトのシェーグレン患者の唾液腺を免疫染色し、ヒトのシェーグレン患者小唾液腺においても発現が上昇しているか確認する。

3. 研究の方法

(1) シェーグレン症候群患者から同意を得られて採取された小唾液腺、皮膚生検組織を上皮-間葉転換時に発現が上昇する Snail1、Twist1 に対する抗体を用いて、免疫組織化学法で検討する。

(2) Balb/c マウスに Ro60 ペプチドをアジュバンドとともに Day0, 17, 37, 70 に 4 回注射し、初回注射より 95 日後に涙腺を採取し、組織学的検討を行う。

(3) 上記マウス涙腺 mRNA と注射していないコントロールマウス涙腺 mRNA でマイクロアレイ法を行い、シェーグレン症候群モデルマウス涙腺で発現上昇している mRNA を探索する。さらに、Real-time PCR 法で発現の差があるか確認する。

(4) 上記の遺伝子がコードする蛋白に対する抗体でマウスモデルの涙腺とヒトのシェーグレン患者の小唾液腺を免疫染色する。

4. 研究成果

(1) シェーグレン症候群患者から同意を得られて採取された小唾液腺、皮膚生検組織を上皮-間葉転換時に発現が上昇する Snail1、Twist1 に対する抗体を用いて、免疫組織化学法で検討したところ、シェーグレン症候群患者で発現が上昇していた。

(2) Balb/c マウスに Ro60 ペプチドをアジュバンドとともに Day0, 17, 37, 70 に 4 回注射し、初回注射より 95 日後に涙腺を採取すると涙腺の破壊像、周囲への炎症細胞の浸潤がみられた。

(3) 上記マウス涙腺 mRNA と注射していないコントロールマウス涙腺 mRNA でマイクロアレイ法を行い、シェーグレン症候群モデルマウス涙腺で発現上昇している mRNA を探索したところ Cd209d (DC-SIGN)、Mgl1、Mrcl、Cxcl13、Cc18 などの遺伝子発現が上昇していることが示唆された。さらに、Real-time PCR 法で Cd209d (DC-SIGN) 遺伝子発現の上昇があることが確認された。

(4) 抗 CD209d (DC-SIGN) 抗体を用いた免疫染色法を行うと、シェーグレン症候群マウスモデル涙腺周囲、ヒトのシェーグレン患者の小唾液腺においても、CD209d (DC-SIGN) 陽性樹状細胞が増加して

おり、CD209d(DC-SIGN)陽性樹状細胞のシェーグレン症候群の病態への関与の可能性が示唆され、CD209d(DC-SIGN)陽性樹状細胞をターゲットとしたシェーグレン症候群の新規治療法開発の方向性が示された。

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 13 件)

① *CYLD* 遺伝子に変異を認めない familial cylindromatosis の 1 例
廣正佳奈、日野亮介、小林美和、中村元信
臨床皮膚科、査読有、67 巻 6 号、2013、387-390

② Combination of skin-directed therapy and oral etoposide for smoldering adult T-cell leukemia/lymphoma with skin lesions.
Sasada Y, Hiromasa K (10 番目/20 人)
Leuk Lymphoma. 2013 Mar;54(3):520-7, 査読有

③ セレコキシブによる薬疹の 1 例
赤松佳奈、角村由紀子、日野上はるな、大畑千佳
臨床皮膚科、査読有、67 巻 1 号、2013、17-20

④ 洗顔石鹸に含まれる加水分解小麦が感作源と考えられる小麦依存性運動誘発性アナフィラキシー
小林美和、大倉理沙、吉岡はるな、廣正佳奈、吉岡学、中村元信
産業医科大学雑誌、査読有、34 巻、2012、85-89

⑤ イミキモド (5%ベセルナクリーム) を用いた日光角化症の外用療法の検討
中島大毅、廣正佳奈、吉岡学、吉木竜太郎、日野亮介、小林美和、中村元信
臨床医薬、査読有、28 巻、2012、413-417

⑥ Extensive eosinophilic infiltrates in the epidermal cyst wall: related to scrotal calcinosis?
Ohata C, Hinogami H, Akamatsu K, Sumimura Y.
AM J Dermatopathol. 2012 Dec;34(8):849-50
査読有

⑦ Folliculotropic adult T-cell leukemia/lymphoma: a possibly under-recognized variant.

Ohata C, Akamatsu K, Sumimura Y, Ohama H, Moriyama Y.
Am J Dermatopathol. 2012 Apr;34(2):233-6.
査読有

⑧ 足底に生じた基底細胞癌の 1 例
角村由紀子、今井奈穂、赤松佳奈、日野上はるな、大畑千佳
皮膚の科学、査読有、11 巻 2 号、2012、170-172

⑨ エイ刺傷で手背潰瘍が生じた 1 例
日野上はるな、角村由紀子、赤松佳奈、大畑千佳
日本皮膚科学会雑誌、査読有、122 巻 2 号、2012、363-369

⑩ Hybrid schwannoma/perineurioma: a report of two cases including a possible radiation-induced case.
Ohata C, Imai N, Hinogami H, Akamatsu K, Sumimura Y.
J Cutan Pathol. 2012 Jan;39(1):56-62.
査読有

⑪ 複数のステロイド外用剤による接触皮膚炎の 1 例
赤松佳奈、今井奈穂、日野上はるな、大畑千佳
臨床皮膚科、査読有、65 巻 8 号、2011、567-571

⑫ タケプロン®による薬疹
赤松佳奈
アレルギーの臨床、査読有、31 巻 7 号、2011、72-75

⑬ Localized pemphigus foliaceus exclusively involving the follicular infundibulum: a novel peau d'orange appearance.
Ohata C, Akamatsu K, Imai N, Sumimura Y.
Eur J Dermatol. 2011 May-Jun;21(3):392-5.
査読有

[学会発表] (計 2 件)

① Familial cylindromatosis の 1 例
廣正佳奈、日野亮介、小林美和、中村元信
第 111 回日本皮膚科学会総会
2012 年 6 月 2 日

② 抗ラミニン γ 1 類天疱瘡の 1 例
廣正佳奈、中村元信
第 357 回日本皮膚科学会福岡地方会
2011 年 6 月 19 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣正 佳奈 (HIROMASA KANA)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：00612384

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：