

平成 29 年 6 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463013

研究課題名(和文) 口腔扁平苔癬の病態形成に関わる免疫細胞ネットワークの解析

研究課題名(英文) A study of immune cell network involved in pathogenesis of oral lichen planus

研究代表者

林田 淳之介 (HAYASHIDA, JUN-NOSUKE)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：80432920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平苔癬(OLP)のヘルパーT(Th)1、Th2に加えて、近年自己免疫疾患や慢性炎症疾患において病態形成との関連が報告されているTh17や制御性T細胞(Treg)に注目し、それらのThサブセットについても検索を行った。

OLP患者は健常者と比較して、Th1、Th2およびTh17タイプの関連分子の発現が亢進していた。IL-23は角化亢進が著明な基底層に加え上皮全層および上皮直下のリンパ球に発現の亢進を認めた。またTh2タイプのIL-33は粘膜基底層に発現を認めた。またTh2関連分子であるTSLPの同定を行い、粘膜基底層に発現を認めた。その成果を論文発表するに至った。

研究成果の概要(英文)：Helper T (Th) 1, Th 2 of oral lichen planus (OLP) are pay attention to Th 17 and regulatory T cells (Treg) which have recently been reported to be associated with pathogenesis in autoimmune diseases and chronic inflammatory diseases. We also performed to research on those Th subsets.

Expression of Th1, Th2 and Th17 type related molecules was enhanced in OLP patients compared with healthy subjects. In addition to the basal layer with marked hyperkeratosis, IL-23 showed to express in all epithelial layers and lymphocytes immediately beneath the epithelium. Also, expression of Th2 type IL-33 was found in the basal layer of the mucosa. TSLP as Th2-related molecule was identified and expression was found in the basal layer of the mucosa. And so, we published the result of the research.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔扁平苔癬 サイトカイン T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

口腔扁平苔癬 (oral lichen planus: OLP) は、口腔粘膜に角化異常を伴う慢性炎症性疾患であり、基底膜直下への T 細胞を主体としたリンパ球浸潤を特徴とする。しかしながら、OLP の発症の原因や機序についての詳細はいまだ不明である。浸潤 T 細胞は CD4 陽性ヘルパー T (helper T: Th) 細胞を主体とし、免疫学的には Th サブセットが病態形成に関与していることが示唆されている。その中でもびらん型のような炎症の強い症例では Th2 細胞の発現が亢進していることが報告されているが、なぜ Th2 が誘導されるのか、その機序については解明されていない。しかし近年、Th2 疾患であるアトピー性皮膚炎や気管支喘息の発症に、Th2 活性能を持つ分子として interleukin (IL) -33 と胸腺間質性リンパ球新生因子 (Thymic stromal lymphopoietin: TSLP) が同定され、アレルギー疾患における Th2 活性化や病態を進展させることが指摘されている。機序としては、IL-33 は Th2 細胞上にある ST2 (IL-33 受容体) を介して Th2 を直接活性化させるのに対し、TSLP は骨髄様樹状細胞 (myeloid dendritic cell: mDC) に作用して Th2 ケモカインの産生を促進し、Th2 を病変局所に遊走させることが報告さ

れている。

## 2. 研究の目的

そこで、Th2 活性化機構を解析するために、OLP の病変部と正常粘膜部における IL-33 と TSLP の発現を検索し、この 2 つの Th2 活性化分子の病態形成に対する関与を検討した。さらに発現亢進を認めた Th2 活性化分子については、OLP に特異的なものであるのかを検討するため、他の粘膜疾患 (過角化症、非特異性潰瘍) とも比較検討を行った。

## 3. 研究の方法

### **OLP における Th2 活性化機構の免疫学的検討**

対象は平成9年から平成27年に九州大学病院顎顔面口腔外科を受診し、病理組織学的に OLP と診断された患者 15 例 (男性 7 例、女性 8 例、平均年齢:  $64.0 \pm 11.1$  歳) とした。比較対照として、過角化症と診断された患者 5 例 (男性 2 例、女性 3 例、平均年齢:  $42.0 \pm 4.1$  歳)、非特異性潰瘍と診断された患者 5 例 (男性 3 例、女性 2 例、平均年齢:  $36.4 \pm 5.6$  歳) を用いた。

まず、OLP を病変部と正常部の 2 つに分けて免疫組織化学染色法にて IL-33 と TSLP

の発現と局在を検索した。

#### 4. 研究成果

その結果、IL-33 は病変・正常部ともほとんど発現を認めなかったが、TSLP は病変部のみ基底膜とその直下の浸潤炎症細胞に強い発現を認めた。そのため、TSLP に注目し、他の粘膜疾患（過角化症、非特異性潰瘍）についても TSLP に加え、その受容体 (TSLPR) についても検索したところ、TSLP は OLP 以外に過角化症の基底膜にも発現を認めたが、CD11c (mDC) や GATA3 (Th2 転写因子) は OLP の基底膜直下のみ著明に発現しており、CD11c 陽性細胞数と GATA3 陽性細胞数は正の相関を示した。また、TSLP 受容体 (TSLPR) は主に CD11c 陽性樹状細胞と単球に発現しているといわれているため、TSLPR 発現細胞を同定する目的で、免疫組織二重染色法を行なったところ、TSLPR と CD11c の局在はほぼ一致し、CD68 (マクロファージ: M のマーカー) と比較し病変部で大きな割合を占めていた。

次に Laser microdissection (LMD) 法にて各粘膜疾患の基底膜直下の浸潤炎症細胞層のみを分離採取、mRNA 抽出を行い、real-time PCR 法にて Th サブセット関連分

子 (サイトカイン、ケモカイン、転写因子) の mRNA 発現について比較検討を行った。その結果、OLP は他の粘膜疾患と比較して IL-4 (Th2 サイトカイン)、TARC および MDC (Th2 ケモカイン) や GATA3 (Th2 転写因子) の mRNA 発現が有意に亢進していた。また、対照的に Th1 の転写因子である T-bet は非特異性潰瘍において他の粘膜疾患と比較して有意に発現が亢進していた。また、OLP においては他の疾患と比較して IL-17 (Th17 サイトカイン)、ROR $\gamma$ t (Th17 転写因子) の発現も有意に亢進していた。

#### 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 1 件)

Myeloid dendritic cells stimulated by thymic stromal lymphopoietin promote Th2 immune responses and the pathogenesis of oral lichen planus. Yamauchi M, Moriyama M, Hayashida JN, Maehara T, Ishiguro N, Kubota K, Furukawa S, Ohta M, Sakamoto M, Tanaka A, Nakamura S. PLoS One. 2017 Mar 9;12(3):e0173017.doi:10.1371/journal.pone.0173017. eCollection 2017.

〔学会発表〕(計 2 件)

口腔粘膜に発症した Sweet 病の 2 例  
竹崎 友吏子, 松村 香織, 林田 淳之介, 緒方 謙一, 新井 伸作, 前野 亜実, 坂本 瑞樹, 清島 保, 大部 一成, 中村 誠司  
第 49 回日本口腔科学会九州地方部会

2016.10.15

Diagnostic utility of labial salivary gland biopsy in IgG4-related disease.

Moriyama M, Tanaka A, Ohta M, Furukawa S, Maehara T, Yamauchi M, Ishiguro N, Hayashida JN, Nakamura S

The Annual Meeting of American Academy of Oral Medicine (AAOM) 2016 2016/4/5-9

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

林田 淳之介 (HAYASHIDA JUNNOSUKE)  
九州大学大学院歯学研究院・口腔顎顔面病態学講座・助教  
研究者番号:80432920

### (2) 研究分担者

中村 誠司 (NAKAMURA SEIJI)  
九州大学大学院歯学研究院・口腔顎顔面病態学講座・教授  
研究者番号:60189040

### (3) 連携研究者

なし

研究者番号：

(4) 研究協力者  
なし