

令和元年6月6日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06950

研究課題名(和文) 口腔扁平苔癬の病態進展における上皮-樹状細胞ネットワーク機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of epithelial-dendritic cell network mechanism in the pathogenesis of oral lichen planus

研究代表者

山内 昌樹 (YAMAUCHI, MASAKI)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：60805282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平苔癬(OLP)では、Th1、Th2およびTh17タイプの関連分子の発現亢進が数多く報告されている。

今回、われわれはOLP患者(3例)の生検材料から病変上皮と正常上皮をLMD法にて採取し、この2つの組織をDNAマイクロアレイにて比較検討を行った。その結果、Th17タイプの関連因子であるカテプシンKの発現上昇を認めた。免疫組織化学染色およびreal-time PCRにてその発現を解析したところ、OLP病変において上皮内および基底膜直下の浸潤炎症細胞層にカテプシンKの発現を認め、mRNAの発現亢進を認めた。これらの結果より、OLPの病態形成にカテプシンKの関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床的にOLPは局所へのステロイド塗布が第一選択薬であるが、ステロイドに対し抵抗性を持つ症例やステロイドが奏功しても中断すると再発する症例も少なくない。また、OLPはpotentially malignant disorderと位置づけられており、そのような難治症例では炎症が遷延して癌化のリスクも高まることが考えられる。そのため、OLPの発症・病態進展の抑制が重要であり、ステロイドに代わる新たな治療が望まれる。本研究での成果は、OLP病変局所の粘膜上皮や間質がそれぞれ特異的に発現している関連分子を解析することで、それらを標的とする新規標的分子治療へ展開できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Oral lichen planus (OLP) enhanced the expression of Th1, Th2 and TH17-type related molecules in the lesion in many studies. In this study, we examined the lesion epithelium and the normal epithelium, collected from the biopsy material of OLP patients (3 cases) by LMD, with DNA microarray. This result showed Cathepsin K, activating Th17, increased in the lesion. We analyzed the expression of Cathepsin K in these epitheliums by immunohistochemical staining and real-time PCR. Immunohistochemical staining showed the expression of Cathepsin K was expressed in the invasive inflammatory cell layer in epithelium and directly below basal membrane in OLP lesion. Real-time PCR showed mRNA expression of Cathepsin K was enhanced in OLP lesion. These results indicated Cathepsin K related with the pathogenesis of OLP.

研究分野：外科系歯学

キーワード：口腔扁平苔癬 カテプシンK Th サブセット DNAマイクロアレイ LMD法

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

## 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まだまだ不明である。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。われわれは OLPの病態進展において、Th1/2 バランスと樹状細胞の関与に着目し、その病態進展には上皮由来のTSLPが骨髄由来樹状細胞 (mDC) に作用し、Th2 活性化・病態進展に関与していることを報告した(PLoS ONE 2017)。

また、近年 Th17に関連する分子としてカテプシンKが同定され、様々な炎症性疾患との関連が指摘されている。カテプシンK はシステインプロテアーゼの1つであり、破骨細胞に発現しI型コラーゲンの分解(骨吸収)を促進することが知られているが、近年の研究で破骨細胞以外の上皮細胞や樹状細胞、マクロファージにも発現しており、Th17誘導型の炎症にも関与していることが示唆されている。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、OLPにおける上皮-樹状細胞間のネットワーク機構の解明を目的に、病変組織を用いて網羅的遺伝子解析などを行い、OLPの発症・病態進展に関連する分子の同定を行った。また、抽出された発現上昇遺伝子の内で Th細胞の活性化に関与する液性因子としてカテプシンKに注目し、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。

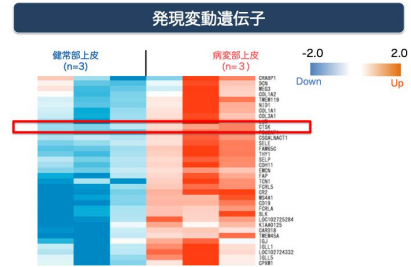
## 3. 研究の方法

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例とした。比較対照として、過角化症と診断された患者5例、上皮性異形成と診断された患者5例を用いた。一般に、ヒトの組織でDNAマイクロアレイを行う際、遺伝子の個体差が大きいことより、患者・健常者間で遺伝子発現を正確に比較することは困難であるため、OLP患者 (3例) の生検材料から病変上皮と正常上皮 (同一症例) をlaser microdissection (LMD) 法にて採取し、この2つの組織をDNAマイクロアレイにて比較検討を行った。また、その結果により発現上昇を認めた分子の一つであるカテプシンKに着目し、免疫組織化学染色および real-time PCR にてその発現を解析した。

## 4. 研究成果

LMD 法により OLP 病変上皮を選択的に抽出し、DNAマイクロアレイによる疾患関連分子の網羅的解析を行った。

それにより発現上昇を認めた遺伝子(76遺伝子)のうち、Th活性化に関連する分子として「カテプシンK」に注目した。



OLP病変組織におけるカテプシンKの発現と局在の検索のため、免疫組織化学染色法を行った。その結果、OLP病変局所では 粘膜上皮内と上皮直下の浸潤炎症細胞にて強い発現を認めたが、他の類似粘膜疾患(過角化症、上皮性異形成)では上皮直下の浸潤炎症細胞にのみ僅かな発現を認めた。

カテプシンKは pDC 細胞膜上にある TLR9 を標的分子としているため、蛍光二重免疫染色法にてその局在の検索を行ったところ、上皮内および上皮直下の浸潤炎症細胞の一部に発現の一致を認めた。また、Validation(real-time PCR)を行ったところ、正常粘膜組織と比較して OLP病変組織ではカテプシンKの mRNA 発現の亢進を認めた。以上の結果より、OLPの病態形成にはカテプシンKが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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

(1) 口腔扁平苔癬の病態進展における thymic stromal lymphopietin の関与

山内 昌樹、森山 雅文、林田 淳之介、前原 隆、石黒 乃理子、古川 祥子、太田 美穂、坂本 瑞樹、田中 昭彦、中村 誠司

第 27 回 日本口腔内科学会 総会・学術集会

〔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〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし