

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32665

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2022

課題番号：17K19759

研究課題名（和文）細胞内代謝を起点としたシェーグレン症候群発症機序の解明および新規治療戦略の構築

研究課題名（英文）Investigation of the pathogenic mechanism of Sjogren's syndrome based on intracellular metabolism and establishment of novel therapeutic strategies

研究代表者

山本 安希子（山田安希子）（YAMAMOTO, Akiko）

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：70452646

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：シェーグレン症候群では、涙腺および唾液腺の導管周囲に著明なリンパ球浸潤を認める。これらのリンパ球の大部分は活性化自己反応性T細胞であり、この活性化自己反応性T細胞によって涙腺、唾液腺の外分泌機能が傷害される。しかしながら、自己反応性T細胞の活性化を制御する機序は不明である。そこで、シェーグレン症候群モデルマウスおよび健常マウスのリンパ臓器から分離したT細胞を対象とするトランスクリプトーム解析を行った結果、解糖系に関連する遺伝子発現の変動が認められた。さらに定量的プロテオミクス解析を行い、シェーグレン症候群の病態との関連が示唆される分子の抽出を行い、遺伝子ノックアウトマウスの作成に至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本法におけるシェーグレン症候群の患者総数は約10万人と推定されている。これまで種々の研究が行われてきたにもかかわらず、治療法は乾燥症状に対する対症療法のみで根本的治療法はまだ開発されていない。本研究では、涙腺および唾液腺を傷害する主な免疫細胞であるT細胞を対象とした定量的プロテオミクス解析を実施し、病態の増悪と相関する発現変動を示す分子を同定した。当該分子がシェーグレン症候群の有効な治療標的分子となり得る可能性は高く、臨床的波及効果は高いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In Sjogren's syndrome, there is a marked lymphocytic infiltrate around the lacrimal and salivary glands. Most of these lymphocytes are activated autoreactive T cells, and the exocrine function of the lacrimal and salivary glands is damaged by these activated autoreactive T cells. However, the mechanism regulating the activation of autoreactive T cells is still unknown. Therefore, we performed a quantitative proteomic analysis of T cells isolated from lymphoid organs of both Sjogren's syndrome model mice and normal mice, and selected a molecule suggested to be associated with the pathogenesis of Sjogren's syndrome and generated a gene knockout mouse for this molecule.

研究分野：口腔病理学

キーワード：自己免疫疾患 シェーグレン症候群 T細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) シェーグレン症候群は、ドライアイおよびドライマウスを主症状とする自己免疫疾患で、涙腺および唾液腺の導管周囲に著明なリンパ球浸潤を認める。浸潤するリンパ球の主体は活性化された自己反応性 T 細胞であり、これらの免疫反応により外分泌機能が傷害される。

(2) 申請者はこれまで、シェーグレン症候群の根本的治療法の開発を目指し、自己反応性 T 細胞の活性化シグナル経路の探索や、活性化した T 細胞を抑制する機能を持つ、制御性 T 細胞を介した発症機序の解明を行ってきたが、いずれも有効な治療法の確立には至っていない。

### 2. 研究の目的

本研究は、シェーグレン症候群の T 細胞における細胞内代謝システムの解明を介して、新たな視点からシェーグレン症候群の発症機序を解明し、新規治療戦略を構築することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 本研究では原発性シェーグレン症候群の疾患モデルである *NFS/sld* マウスを用いた解析を行った。*NFS/sld* マウスは生後三日目に胸腺を摘出することによってシェーグレン症候群を発症することが報告されている (*Science*, 1997)。

(2) 疾患モデルマウスおよび健常マウスのリンパ臓器より分離した T 細胞について、マイクロアレイ解析を行い、mRNA (トランスクリプトーム) の変動を網羅的に解析した。

(3) 疾患モデルマウスおよび健常マウスのリンパ臓器より分離した CD4 陽性 T 細胞について、定量的プロテオミクス解析を行った。

(4) プロテオミクス解析から得られた結果について、疾患モデルマウスおよび健常マウスの末梢リンパ球を用いてフローサイトメトリーによる検証を行った。

(5) トランスクリプトーム解析およびプロテオミクス解析で得られた結果に基づき、標的分子のノックアウトマウスの作成に着手した。

(6) (5)が予想通りに進まない場合を想定し、(2)で得られたマイクロアレイ解析の結果から、IL-1 $\alpha$  関連分子がシェーグレン症候群の発症に関与している可能性が示唆されたため、シェーグレン症候群における当該分子の機能解析の実施に着手した。

### 4. 研究成果

(1) 疾患モデルマウスおよび健常マウスの T 細胞を対象としたマイクロアレイ解析を行った結果、疾患モデルマウスでは解糖系の亢進を示唆する結果が得られた (図 1)。

(2) 疾患モデルマウスおよび健常マウスの脾臓およびリンパ節から分離した CD4 陽性 T 細胞について定量的プロテオミクス解析を行った。その結果、シェーグレン症候群の病態への関連が示唆される分子群が抽出された。これらの分子群について、タンパク質発現レベルと病態の増悪度との相関を詳細に解析した結果、病態の増悪度に相関して発現レベルが変動する分子 (Protein X) を同定した。

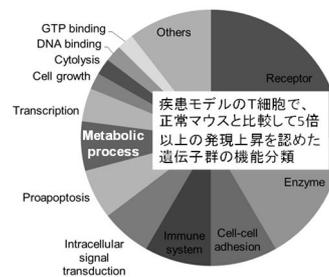


図1 マイクロアレイ解析の結果

(3) プロテオミクス解析で得られた結果に基づき、疾患モデルマウスの末梢リンパ球を用いて、フローサイトメトリーにより Protein X の発現を検出したところ、プロテオミクス解析の結果と一致する結果が得られた (図 2a, 2b)。

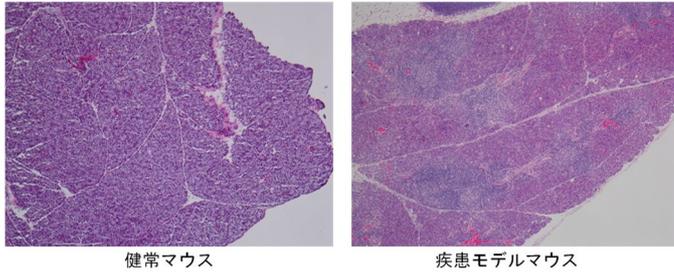


図2a 健常マウスおよび疾患モデルマウスの唾液腺の病理組織像

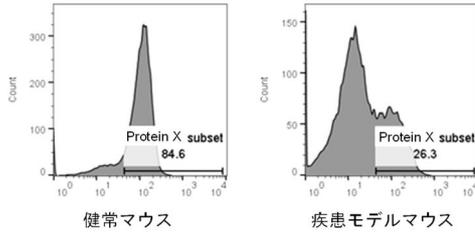


図2b 定量的プロテオミクス解析から得られた疾患関連分子の発現解析

(4) 現在、(3)で病態との関連が確認された Protein X についてノックアウトマウスを作成し、解析中である。本研究の成果は、シェーグレン症候群に対する有効な治療標的分子の発見につながる可能性がある。  
(論文作成中)

(5) (1)で行ったマイクロアレイ解析から、疾患モデルマウスの T 細胞において、IL-1 $\alpha$  関連分子の発現が大きく変動することも合わせて示された。当該分子の機能を明らかにするため、まず、IL-1 $\alpha$  に着目し、特に IL-1 $\alpha$  の細胞内局在に焦点をあてた解析を行った。その結果、HeLa 細胞に IL-1 $\alpha$  を発現させたところ、その大部分が核に局在していることが確認された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 1.Watanabe A, Maeda K, Nara A, Hashida M, Ozono M, Nakao A, Yamada A, Shinohara Y, Yamamoto T	4. 巻 12(4)
2. 論文標題 Quantitative analysis of mitochondrial calcium uniporter (MCU) and essential MCU regulator (EMRE) in mitochondria from mouse tissues and HeLa cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 811-826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13371	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 Akiko Yamada, Akira Watanabe, Takenori Yamamoto	4. 巻 20(1)
2. 論文標題 Regulatory mechanisms of mitochondrial calcium uptake by the calcium uniporter complex	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 e200004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v20.0004	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 Akira Watanabe, Kousuke Maeda, Atsushi Nara, Mei Hashida, Mizune Ozono, Ayaka Nakao, Akiko Yamada, Yasuo Shinohara, Takenori Yamamoto	4. 巻 12(4)
2. 論文標題 Quantitative analysis of mitochondrial calcium uniporter (MCU) and essential MCU regulator (EMRE) in mitochondria from mouse tissues and HeLa cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 811-826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13371	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 Takenori Yamamoto, Akiko (Yamada) Yamamoto, Yasuo Shinohara, Akira Watanabe	4. 巻 61(3)
2. 論文標題 The molecular mechanisms of mitochondrial calcium ion channel, calcium uniporter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Seibutsu	6. 最初と最後の頁 157-161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.61.157	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 Otsuka K, Yamada A, Saito M, Ushio A, Sato M, Kisoda S, Shao W, Tsunematsu T, Kudo Y, Arakaki R, Ishimaru N.	4. 巻 189(12)
2. 論文標題 Achaete-Scute Homologue 2-Regulated Follicular Helper T Cells Promote Autoimmunity in a Murine Model for Sjogren Syndrome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Pathol.	6. 最初と最後の頁 2414-2427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2019.08.008.	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 Otsuka K, Yamada K, Taquahashi Y, Arakaki R, Ushio A, Saito M, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Kanno J, Ishimaru N.	4. 巻 13(10)
2. 論文標題 Long-term polarization of alveolar macrophages to a profibrotic phenotype after inhalation exposure to multi-wall carbon nanotubes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0205702
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0205702	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 Ushio A, Arakaki R, Otsuka K, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Aota K, Azuma M, Ishimaru N.	4. 巻 9
2. 論文標題 CCL22-Producing Resident Macrophages Enhance T Cell Response in Sjogren's Syndrome.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 2594
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2018.02594	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 Kurosawa M, Arakaki R, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Sprent J, Ishimaru N.	4. 巻 69
2. 論文標題 NF- B2 Controls the Migratory Activity of Memory T Cells by Regulating Expression of CXCR4 in a Mouse Model of Sjogren's Syndrome.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Arthritis Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 2193-2202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.40230	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 該当する

1. 著者名 Ushio A, Arakaki R, Eguchi H, Hotta F, Yamada A, Kudo Y, Ishimaru N	4. 巻 18(6)
2. 論文標題 Pathological Analysis of Ocular Lesions in a Murine Model of Sjogren's Syndrome.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 1209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms18061209.	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 Kujiraoka S, Tsunematsu T, Sato Y, Yoshida M, Ishikawa A, Tohyama R, Tanaka M, Kobayashi Y, Kondo T, Ushio A, Otsuka K, Kurosawa M, Saito M, Yamada A, Arakaki R, Nagai H, Nikai H, Takeuchi K, Nagao T, Miyamoto Y, Ishimaru N, Kudo Y	4. 巻 69
2. 論文標題 Establishment and characterization of a clear cell odontogenic carcinoma cell line with EWSR1-ATF1 fusion gene.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oral Oncol	6. 最初と最後の頁 46-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2017.04.003	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 Yamada A, Arakaki R, Saito M, Kudo Y, Ishimaru N	4. 巻 8
2. 論文標題 Dual Role of Fas/FasL-Mediated Signal in Peripheral Immune Tolerance.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Front Immunol	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) 10.3389/fimmu.2017.00403	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 Saito M, Otsuka K, Ushio A, Yamada A, Arakaki R, Kudo Y, Ishimaru N	4. 巻 14(3)
2. 論文標題 Unique Phenotypes and Functions of Follicular Helper T Cell and Regulatory T Cell in Sjogren's Syndrome.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Rheumatol Rev.	6. 最初と最後の頁 239-245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1573397113666170125122858.	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12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本安希子, 和氣清尊, 角田麻里子, 福井 怜, 浅野正岳
2. 発表標題 カリオフィリンを介した IL-1a の核移行メカニズムの解明
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和氣清尊, 山本安希子, 今岡紗耶, 角田麻里子, 浅野正岳
2. 発表標題 IL-1aの核内輸送における分子制御機構の解明
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本安希子, 奈良篤, 石丸直澄, 山本武範, 浅野正岳
2. 発表標題 非アルコール性脂肪肝炎モデルマウスにおけるミトコンドリアの機能解析
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 牛尾 綾, 新垣 理恵子, 山田 安希子, 大塚 邦紘, 黒澤 実愛, 工藤 保誠, 石丸 直澄
2. 発表標題 シェーグレン症候群モデルマウスの唾液腺マクロファージと病態への関与
3. 学会等名 第16回四国免疫フォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大園 瑞音, 山本 武範, 渡辺 朗, 山田 安希子, 廣島 佑香, 寺田 弘, 篠原 康雄
2. 発表標題 ミトコンドリアカルシウムユニポーター(MCU)の構造と機能の相関解析
3. 学会等名 第9回日本生物物理学会中国四国支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新垣 理恵子, 山田 耕一, 齋藤 雅子, 大塚 邦紘, 山田 安希子, 常松 貴明, 工藤 保誠, 菅野 純, 石丸 直澄
2. 発表標題 Chronic influence of Multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) on immune system
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 常松 貴明, 工藤 保誠, 山田 安希子, 新垣 理恵子, 小川 博久, 常山 幸一, 石丸 直澄
2. 発表標題 胎児性癌細胞におけるユビキチンプロテアソーム経路による未分化性維持機構,
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 牛尾 綾, 新垣 理恵子, 山田 安希子, 大塚 邦紘, 鯨岡 聡子, 常松 貴明, 工藤 保誠, 石丸 直澄
2. 発表標題 シェーグレン症候群の唾液腺におけるマクロファージサブセットと病態への関与
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鯨岡 聡子, 工藤 保誠, 常松 貴明, 牛尾 綾, 大塚 邦紘, 山田 安希子, 新垣 理恵子, 石丸 直澄
2. 発表標題 歯原性明細胞癌細胞株の樹立とその性状解析
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 梅田 将旭, 常松 貴明, 齋藤 雅子, 山田 安希子, 新垣 理恵子, 工藤 保誠, 石丸 直澄
2. 発表標題 口腔癌におけるPeriostinスプライシングバリエントの新たな役割
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大塚 邦紘, 山田 安希子, 齋藤 雅子, 牛尾 綾, 黒澤 実愛, 鯨岡 聡子, 常松 貴明, 工藤 保誠, 新垣 理恵子, 石丸 直澄
2. 発表標題 シェーグレン症候群モデルマウスにおける濾胞ヘルパーT細胞の解析
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田 安希子, 新垣 理恵子, 牛尾 綾, 大塚 邦紘, 黒澤 美愛, 工藤 保誠, 石丸 直澄
2. 発表標題 シェーグレン症候群における制御性T細胞の分化誘導メカニズムの解明
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017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
---------	---------