

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07075

研究課題名（和文）新規モデルマウスを用いたシェーグレン症候群発症機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathogenic mechanism of Sjogren's syndrome using a novel mouse model

研究代表者

田中 ゆり子（Tanaka, Yuriko）

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：40396685

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000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、SS発症初期の病態形成とそれにかかわる分子メカニズムの解析を行なった。本疾患モデルマウスにおけるSS様病態発症初期に変動する分子マーカーを探索した結果、疾患モデルマウス唾液腺に集積したT細胞からのインターフェロン γ 産生により、トリプトファン（Trp）代謝が亢進しその代謝産物であるキヌレニン（KYN）が増加した。これらの知見よりTrp代謝関連因子がSS様病態形成初期に変動するマーカーとな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）は、口腔や眼の乾燥症状を主訴とする難治性の自己免疫疾患である。SS患者では、乾燥症状などの病態が進行後に受診する場合も多く、発症初期の病態を解析することは現状では不可能に近い。本研究で用いたSS疾患モデルマウスは、SSの診断に用いられる自己抗体が血清中に認められる生後8-9週齢以前の生後4週齢で、既に唾液腺、涙腺にT細胞が浸潤し、乾燥症状を呈する。したがって、本研究で得られたSS発症初期に変動する新規分子マーカーは、SS発症を早期に診断し、病気の進行を発症早期から制御する方法の開発に寄与する可能性が示唆される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the pathogenesis and molecular mechanisms involved in the early phase of Sjogren's syndrome (SS) using a mouse model of the disease, which exhibits SS-like pathology from early postnatal stages. We analyzed molecular markers that fluctuate in the early phase of SS-like pathophysiology in this mouse model, and found that interferon gamma production from T cells accumulated in salivary glands of the mouse model enhanced tryptophan (Trp) metabolism and increased its metabolite, kynurenine (KYN). These findings suggest that serum KYN could be used as a marker for SS diagnosis in the early phases of the disease.

研究分野：分子免疫学

キーワード：シェーグレン症候群 自己免疫疾患モデルマウス トリプトファン代謝

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome: SS) は、本邦では約 10 万人が罹患している難治性の自己免疫疾患で、しばしば全身性の自己免疫症状や悪性リンパ腫を続発する。SS 発症機序には未解明な部分が多く、この疾患に対する主な治療法は、現在のところ、ステロイド剤投与などの対症療法のみであり、疾患特異的な治療法は確立されていない。これまでの SS 疾患モデルマウスを用いた検討により、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が、なぜ唾液腺、涙腺が特異的に攻撃されるのか、また、それに続く詳細な免疫反応についても未だ明らかではない。しかし、もし、解析に有用なモデル系が確立され初期の発症機序が解明されれば、発症機序に基づいた SS 特異的な (免疫学的な) 治療が可能となり、病状の重症化や悪性リンパ腫などの続発症を予防できる可能性がある。われわれは、T 細胞分化機構について検討を行ってきた過程で、T 細胞の染色体構造調節因子として遺伝子発現調節に関わる核蛋白質 Special AT-rich sequence binding protein-1 (SATB1) (Dickinson, L. A. et al., *Cell*, 1992, Yasui, D. et al., *Nature*, 2002) に注目し、T 細胞分化における SATB1 の機能を詳細に調べてきた。その中で、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 (cKO) マウスを作製し、解析したところ、SATB1cKO マウスは胸腺での中心性免疫寛容が破綻し、自己免疫疾患を発症することを明らかにした (Kondo, M., Tanaka, Y. et al., *J. Immunol.*, 2016)。さらに、SATB1cKO マウスの自己免疫症状について以下のことを報告した (Tanaka, Y. et al., *J. Immunol.* 2017.)。

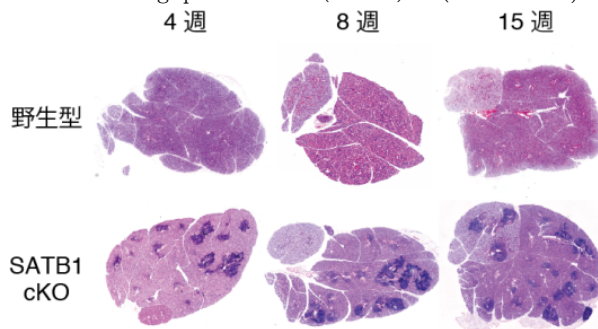


図 1: マウス唾液腺へマトキシリン・エオジン染色

1) SATB1cKO マウスでは、生後 4 週齢から唾液腺への炎症性細胞浸潤と同時に、SS 様の唾液腺機能障害が認められる (図 1, 2)。

2) 生後 4 週齢の SATB1cKO マウスでは、自己抗体価の上昇、他臓器への炎症性細胞浸潤、腎系球体への免疫複合体の沈着などは認められない。

3) SATB1cKO マウスの頸部リンパ節 T 細胞をリンパ球欠損 Rag2^{-/-} マウスに移入すると、SATB1cKO マウスと同じく、SS 様の唾液腺機能障害が誘導されるが、SATB1cKO マウスの脾臓由来 T 細胞移入では唾液腺機能は正常である (図 3)。

4) 生後 1 週齢の SATB1cKO マウスでは、野生型マウスと異なり、末梢の制御性 T 細胞 (Treg) が著減しているが、生後 3 日以内に新生仔腹腔内へ Treg 細胞を移入すると、4 週齢以降の唾液腺機能障害が軽度になり、自己抗体価の上昇など SS 症状の重症化が抑制される。これらの知見から、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理性 T 細胞が存在すること、さらに、SATB1cKO マウス生後早期 (末梢 Treg 細胞が存在しない時期) に活性化する自己反応性 T 細胞の中に、唾液腺特異的な病理性 T 細胞が存在することが示唆された。よって、SATB1cKO マウスは SS の発症初期から解析が可能な、新規の SS モデルマウスとして有用であると考えられた。

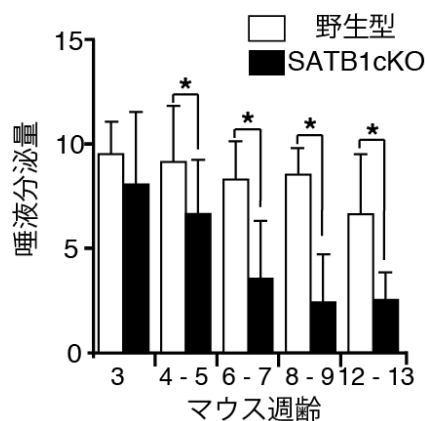


図 2: 唾液分泌量の変化

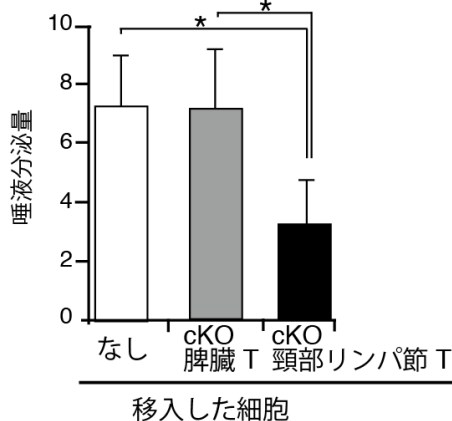


図 3: 頸部リンパ節 T 細胞移入による唾液分泌量の変化

2. 研究の目的

本研究では、SS 特異的な治療法の開発を目指し、SS モデルマウスを用いて、発症初期の病態形成とその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 マウスの唾液腺に浸潤している T 細胞を分離し、サイトカイン産生能など T 細胞の機能解析を行なった。(2) SATB1cKO マウス血清中タンパク質については、炎症性サイトカインの測定、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いたトリプトファン (Trp)、キヌレニン (KYN) の解析を行った。(3) Trp 代謝に関与する酵素インドールアミン 2, 3-ジオキシゲナーゼ (IDO) の発現は、リアルタイム PCR、または免疫組織化学により検出した。(4) 血清中の IDO 活性は、Trp とその代謝体である KYN の濃度を LC-MS/MS により解析し算出した。

4. 研究成果

(1) SATB1cKO マウス唾液腺組織破壊に関与する T 細胞を調べるために、SATB1cKO マウスの唾液腺を唾液分泌機能障害が発症する前の生後 3 週齢、唾液分泌機能障害が発症した直後の生後 4 週齢、全身性の自己免疫症状を呈した生後 15 週齢で採取し、組織におけるインターフェロン- γ (IFN- γ) mRNA 発現を調べた。その結果、生後 3 週齢でも既に唾液腺では、野生型マウスに比べ、IFN- γ mRNA 発現が有意に高くなっていることが明らかとなった。同時に、炎症性サイトカインである IL-6 mRNA 発現を解析したところ、IL-6 mRNA は 4 週齢以降で野生型マウスと有意な差が認められた。さらに、SATB1cKO マウス唾液腺に浸潤する T 細胞をフローサイトメトリーで調べたところ、IFN- γ 陽性、IL-4 陽性、IL-17 陽性細胞が検出されたが、IFN- γ 陽性の T 細胞の割合が最も高かった。

(2) SATB1cKO マウス血清中の炎症性サイトカイン IFN- γ 、IL-6 を測定した。その結果、これらのサイトカインは共に生後 3-5 週齢では検出されなかったが、生後 12 週齢で野生型マウスより有意に増加していた。これらの結果より、血清中の IFN- γ 、IL-6 は SATB1cKO マウスにおける SS 発症初期に変動する因子ではなく、発症後期に変動する因子であることが示唆された。

(1) の結果で、唾液分泌機能障害が発症する前の生後 3 週齢の唾液腺での IFN- γ mRNA 発現上昇が認められたことから、IFN- γ が他の因子に与える作用を仮定し、IFN- γ により影響をうける因子を検討した結果、Trp 代謝に関わる IDO mRNA 発現が、生後 3 週齢の SATB1cKO マウス唾液腺で野生型マウス唾液腺に比べ有意に上昇することが明らかとなった。唾液腺の免疫組織化学の結果では、同様に生後 3 週齢の SATB1cKO マウス唾液腺で IDO の発現が認められた。血清中の IDO 活性は、SATB1cKO マウスで唾液分泌機能障害が始まる生後 4 週齢で野生型マウスより有意に増加した。

(3) SATB1cKO マウスにおける IFN- γ 発現と IDO 発現の関係を調べるために、唾液分泌機能障害が始まる前の生後 3 週齢から SATB1cKO マウス腹腔内に抗 IFN- γ 抗体を継続投与し、生体内での IFN- γ の機能を中和した。その結果 SATB1cKO マウスの唾液分泌機能障害は改善は認められなかったが、唾液腺における IDO mRNA 発現と血清中の IDO 活性は野生型マウスに比べ有意に低下した。これらの知見より IDO が SS 様病態形成初期に変動するマーカーとなる可能性が示唆された。今後、SS 患者での IDO 活性の重要性を検討する研究へ展開する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kuwabara Taku, Ishikawa Fumio, Ikeda Masataka, Ide Tomomi, Kohwi-Shigematsu Terumi, Tanaka Yuriko, Kondo Motonari	4. 巻 4
2. 論文標題 SATB1-dependent mitochondrial ROS production controls TCR signaling in CD4 T cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	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） 10.26508/lsa.202101093	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 Tanaka Yuriko, Onozato Mayu, Mikami Tetuo, Kohwi-Shigematsu Terumi, Fukushima Takeshi, Kondo Motonari	4. 巻 22
2. 論文標題 Increased Indoleamine 2,3-Dioxygenase Levels at the Onset of Sjogren's Syndrome in SATB1-Conditional Knockout Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10125 ~ 10125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms221810125	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 Inoue Akiko, Tanaka Yuriko, Ohira Shinya, Matsuura Kentaro, Kondo Motonari, Wada Kota	4. 巻 25
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 2021年
3. 雑誌名 International Archives of Otorhinolaryngology	6. 最初と最後の頁 e416 ~ e420
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 Inoue Akiko, Tanaka Yuriko, Ohira Shinya, Matsuura Kentaro, Kondo Motonari, Wada Kota	4. 巻 eFirst
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 1-5
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 Chiaki Kajiwara, Soichiro Kimura, Yuriko Tanaka, Yoshikiyo Akasaka, Yoshikazu Ishii, and Kazuhiro Tateda	4. 巻 14
2. 論文標題 Tissue Damage Caused by Impaired Phagocytosis of Dead Cells: A Previously Unrecognized Adverse Effect Contributing to the Pathogenesis of T Cells in Legionella Pneumonia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Immunohorizons	6. 最初と最後の頁 402-414
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 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 田中ゆり子, 近藤元就	4. 巻 3
2. 論文標題 SATB1欠損により発症する自己免疫疾患	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 307-312
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 田中ゆり子, 近藤元就	4. 巻 268
2. 論文標題 SATB1によるT細胞分化と免疫寛容の制御	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 週間医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1064-1068
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 Onozato M, Tanaka Y, Arita M, Sakamoto T, Ichiba H, Sadamoto K, Kondo M, Fukushima T	4. 巻 12
2. 論文標題 Amino acid analyses of the exosome-eluted fractions from human serum by HPLC with fluorescence detection.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Practical Laboratory Medicine	6. 最初と最後の頁 e00099
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plabm.2018.e00099	査読の有無 有
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 -

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

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におけるB細胞 活性化機構の解析
3. 学会等名 第30回 日本シェーグレン症候群学会学術集会(石川県 金沢市)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tanaka Y, Inoue A, Naito T, Kuwabara T, Ise M, Kohwi-Shigematsu T, Kondo M
2. 発表標題 Functional analyses of pathogenic T cells in autoimmune prone mice
3. 学会等名 The 51st Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology(熊本市)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ise M, Kuwabara T, Tanaka Y, Naito T, Kondo M
2. 発表標題 IL-7 regulates the expression of CD69 and CD103 on TRM cells in skin.
3. 学会等名 The 51st Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology(熊本市)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taku Kuwabara, Marii Ise, Taku Naito, Yuriko Tanaka, Motonari Kondo
2. 発表標題 SATB1-dependent mitochondrial ROS production controls TCR signaling in CD4 T cells
3. 学会等名 The 51st Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology(熊本市)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤 元就, 小野里 磨優, 桑原 卓, 福島 健, 田中 ゆり子
2. 発表標題 SATB1遺伝子欠損マウスに生じる自己免疫性唾液腺障害の病態解析
3. 学会等名 第18回 東邦大学5学部合同学術集会
4. 発表年 2022年

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源性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源性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 Taku Naito, Yuri Tanaka, Taku Kuwabara, Marii Ise, Motonari Kondo
2. 発表標題 Satb1 regulates thymocyte trafficking after positive selection.
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 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 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、小野里 磨優、井上 彰子、福島 健、近藤 元就
2. 発表標題 Sjogren's syndrome疾患モデルマウスの病態解析 - 発症初期新規分子マーカーの探索 -
3. 学会等名 東邦大学 5 学部合同学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 ゆり子、小野里 磨優、近藤 元就、福島 健
2. 発表標題 Sjogren's syndrome 疾患モデルマウス血清中代謝産物の解析. 日本トリプトファン研究会
3. 学会等名 日本トリプトファン研究会
4. 発表年 2019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 Taku Kuwabara, Marii Ise, Taku Naito, Yuriko Tanaka, Motonari Kondo
2. 発表標題 Mitochondrial respiration is critical for TCR signaling via an oxidative inactivation of phosphatase.
3. 学会等名 The 42nd annual meeting of the molecular biology society of Japan
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
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中ゆり子, Ujjal Bhawal, Fengzhu Zhang, 近藤元就
2. 発表標題 SATB1遺伝子欠損マウスにおけるシェーグレン症候群発症機構の解析
3. 学会等名 The 60th Annual meeting of Japanese Association for Oral Biology
4. 発表年 2018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の新しい動物モデル
3. 学会等名 第27回 シェーグレン症候群学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuriko Tanaka, Akiko Inoue, Taku Kuwabara, Taku Naito, Motonari Kondo
2. 発表標題 An analysis of pathophysiology of Sjogren's syndrome in SATB1 deficient mice
3. 学会等名 The 47th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taku Kuwabara, Fumio Ishikawa, Yuriiko Tanaka, Taku Naito, Motonari Kondo
2. 発表標題 Mitochondrial transcription factor A rescues defect in T cell receptor responsiveness in SATB1 deficient mice.
3. 学会等名 The 47th Annual meeting of the Japanese society for Immunology (国際学会)
4. 発表年 2018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
研究分担者	小野里 磨優 (Onozato Mayu) (50610094)	東邦大学・薬学部・講師 (32661)	

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
---------	---------