

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18965

研究課題名（和文）性ホルモンと自然免疫を介したシェーグレン症候群の新たな病因論の構築

研究課題名（英文）The novel etiology for Sjogren's syndrome associated with sex hormone and innate immune cells

研究代表者

牛尾 綾 (USHIO, Aya)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（歯学域）・講師

研究者番号：40823836

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：自己免疫疾患の1つであるシェーグレン症候群の標的臓器である唾液腺に存在する免疫細胞について、モデルマウスを使用して解析した。雄マウスと雌マウスで各種免疫細胞を比較したところ、T細胞、B細胞、マクロファージなどの割合が定常状態でも雄マウスと比較して雌マウスで増加していることがわかり、これらの標的臓器に存在する免疫細胞の差異が胸腺摘出を起点として雌有意なシェーグレン症候群の病態形成に関与しているのではないかと示唆された。また、唾液腺に存在する自然免疫細胞の中でもマクロファージと樹状細胞では異なる動態を示しており、これらの細胞に性ホルモンが与える影響について解析中である。

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は閉経期以降の女性に多く発症することが知られており、性ホルモンと疾患の発症に関連があると考えられているがその詳細については不明な点が多い。シェーグレン症候群の病態には、T細胞を主体として様々な免疫細胞が関与しているとの報告があるが、これら免疫細胞と疾患にみられる性差との関連についてもよくわかっていない。本研究はシェーグレン症候群モデルマウスを使用した研究で、標的臓器である唾液腺には定常状態でも多くの免疫細胞が存在しており特に雌で有意に多いことがわかり、これらの細胞の詳細・動態について解析することで自己免疫疾患にみられる性差の解明につながることを期待できると考える。

研究成果の概要（英文）：Sjogren's syndrome is one of the autoimmune disease which affects exocrine glands such as lacrimal and salivary glands. Immune cell subsets in the salivary gland were analyzed and compared between male and female mice which have the background of autoimmune disease. The frequency of T cells, B cells, and macrophages in the salivary glands were enhanced in female mice compared with male mice, suggesting that the difference of resident immune cells in the target organs is related in the gender difference for the onset of Sjogren's syndrome.

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 唾液腺 性差

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群は、涙腺や唾液腺などの外分泌腺を標的とする自己免疫疾患であり、炎症性細胞浸潤により腺組織が破壊されることで涙液や唾液の流出障害が引き起こされドライマウスやドライアイなどが主症状となる。シェーグレン症候群の治療法は確立されていないことから、現状では乾燥による不快症状に対する対症療法しかなく、根本的治療法の開発につながる詳細な病態の解明が急務となっている。シェーグレン症候群は中年以降の女性に優位に発症することがわかっており、性ホルモンの関与が指摘されているが、その詳細なメカニズム、特に性ホルモンがシェーグレン症候群の病態形成に関与する各種免疫細胞に与える影響についてはよくわかっていない。シェーグレン症候群の病態形成細胞に関しては、CD4 陽性 T 細胞が主体をなすことが知られているが、近年では様々な免疫細胞が複雑に関与することが報告されてきている。研究代表者は、これまでにシェーグレン症候群の標的臓器である唾液腺には自然免疫細胞の一つであるマクロファージが常在しており、その組織常在型のマクロファージがシェーグレン症候群の病態形成に関与することを報告している (*Front Immunol*, 2018)。また、性ホルモンの一つであるエストロゲンは自然免疫細胞の中でも特にマクロファージに影響を与えるとの報告もされており、研究代表者の研究室でもエストロゲン生合成関連酵素であるアロマターゼを欠損させたマウスでは標的臓器である唾液腺周囲に脂肪組織に存在するマクロファージが炎症性サイトカインを産生することでシェーグレン症候群の病態を悪化させることを報告している (*Am J Pathol*, 2015)。エストロゲンの受容体はマクロファージに多く存在することも報告されていることから、申請研究では、唾液腺に存在する自然免疫細胞と性ホルモンの関係について解析することで、シェーグレン症候群の病態形成に観察される性差の解明につながるのではないかとこの着想に至った。

2. 研究の目的

シェーグレン症候群は女性に優位に発症する自己免疫疾患であり、その男女比の差は自己免疫疾患の中でも特に大きい。さらに、女性の中でも特に閉経期前後が好発年齢であることから、疾患と性ホルモンとの関連についてはこれまでも報告がある。性ホルモンの代表的なものとしてエストロゲンがあり、このエストロゲンの受容体は自然免疫細胞のマクロファージに多く存在することが知られている。研究代表者はこれまでに、標的臓器に存在するマクロファージがシェーグレン症候群の病態に関与することを報告していることから、本研究ではシェーグレン症候群疾患モデルマウスを使用して、性ホルモンが標的臓器である唾液腺に存在する自然免疫細胞に与える影響について解析することで、性ホルモンが自然免疫細胞を介してシェーグレン症候群病態形成にみられる性差に与える可能性について明らかにすることを目的とした。また、この研究を通して、現在は対症療法しかないシェーグレン症候群の根本的治療法の開発につながる詳細な病態の解明に寄与したい考えである。

3. 研究の方法

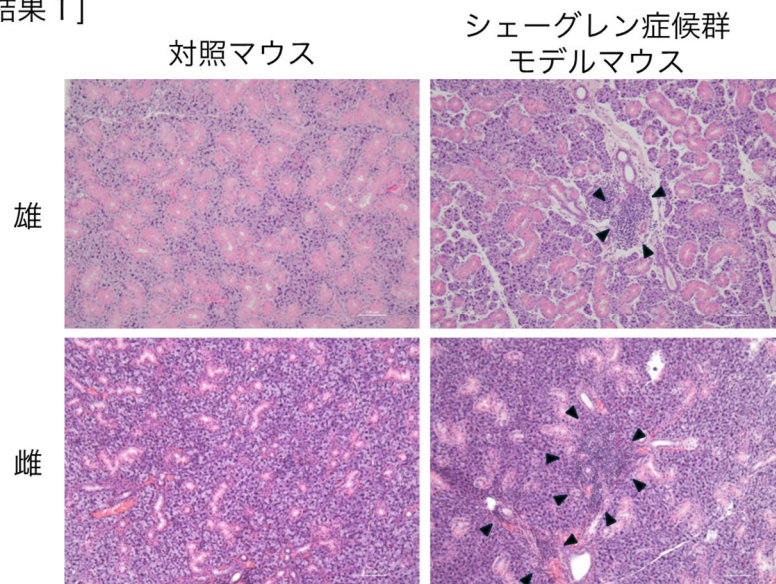
本研究では、NFS/*sld* マウスの生後 3 日目に胸腺を摘出することでヒト同様のシェーグレン症候群様病変を発症するモデルマウス (*J Immunol*, 1994) を使用し、雄と雌に観察される炎症性

病変を全身的に検索・比較することで性別によって観察される病態の相違について検討した。病態形成が確認された雌シェーグレン症候群モデルマウスの唾液腺の組織を酵素処理により分散し、T細胞、B細胞などの獲得免疫細胞、あるいはマクロファージ、樹状細胞などの自然免疫細胞などの各種免疫細胞についてそれぞれのマーカーを使用してフローサイトメーターで確認し、正常マウスと比較した。また、各種細胞の局在について組織切片を使用し免疫染色法を使用して確認した。また、シェーグレン症候群の遺伝的背景を有するマウスの唾液腺に存在する各種免疫細胞についても解析し、雄と雌マウスで比較・検討した。

4. 研究成果

NFS/*sld* マウスの胸腺摘出後 6 週齢目と 12 週齢目の全身的病理組織解析を行ったところ、雄と比較して雌でより重度かつ広範囲に単核リンパ球浸潤による病態形成が観察され、特に雌では加齢による病変の悪化が雄よりも顕著に観察された。雄においても新生仔期に胸腺摘出を施すことで軽度の炎症細胞浸潤が確認できる個体もみられたが、自己抗体値は明らかに雌マウスで高くなっており、従来報告と一致して、自己免疫疾患であるシェーグレン症候群の発症が雌有意に観察されることを確認できた [結果 1]。

[結果 1]



シェーグレン症候群の標的臓器である唾液腺組織を酵素処理により分散し唾液腺に存在する細胞についてフローサイトメトリック解析で確認したところ、唾液腺にはシェーグレン症候群の病変の主体をなす CD4 陽性 T 細胞、あるいは病状の慢性化に伴い増加してくる CD19 陽性 B 細胞に加え、F4/80 陽性マクロファージや CD11c 陽性樹状細胞などの自然免疫細胞も種々の程度で存在することが確認された。興味深いことに、シェーグレン症候群モデルマウスでは T 細胞、B 細胞、マクロファージの割合が増加していたが樹状細胞の割合は減少しており、自然免疫細胞のなかでもシェーグレン症候群の病態形成における動態が異なることが示唆された。これらの各種細胞集団の解析は、病態の形成時期（初期）や進行期、さらに個体間の病態の重症度などによりばらつきが観察されたことから、検索個体数を増やしながらかつ更なる詳細な解析が必要であると考えられる。

また、これらの唾液腺に存在する各種免疫細胞について胸腺摘出をおこなっていない、シェーグレン症候群の遺伝的背景を有するマウスの雄雌で比較したところ、定常状態でも雌マウスで T 細胞、B 細胞、マクロファージなどの割合が雄マウスと比較して多いことがわかり、雄と比較して雌では標的臓器に常在している免疫細胞の役割が大きいことが示唆された。

本研究助成期間中に海外研究機関留学による数年間の中断期間を要した為、中断再開に際し準備期間が必要だったこともあり、当初予定していた骨髓系細胞特異的にエストロゲン受容体を欠損させたマウスの解析には至らなかったものの、現在卵巣摘出モデルを作成し性ホルモンと唾液腺に存在する自然免疫細胞との関連についてさらに研究を進めている。

[引用文献]

1. Ushio A, Arakaki R, Otsuka K, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Aota K, Azuma M, and Ishimaru N. CCL22-producing resident macrophages enhance T cell response in Sjögren's syndrome. *Front Immunol.* 9:2594. 2018 Nov.
2. Iwasa A, Arakaki R, Honma N, Ushio A, Yamada A, Kondo T, Kurosawa E, Kujiraoka S, Tsunematsu T, Kudo Y, Tanaka E, Yoshimura N, Harada N, Hayashi Y, Ishimaru N. Aromatase controls Sjögren syndrome-like lesions through monocyte chemotactic protein-1 in target organ and adipose tissue-associated macrophages. *Am J Pathol.* 185(1):151-161. 2015 Jan.
3. N Haneji, H Hamano, K Yanagi, Y Hayashi. A new animal model for primary Sjögren's syndrome in NFS/sld mutant mice. *J Immunol.* 15;153(6):2769-77. 1994 Sep.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

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
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 Arakaki R, Ushio A, Kisoda S, Sato M, Nakamura Y, Yuyama K, Tateyama R, Morishita S, Monoi N, Kudo Y, Ishimaru N.	4. 巻 61
2. 論文標題 Novel effects of rooibos extract on tear and saliva secretion mediated by the muscarinic acetylcholine receptor 3 in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Oral Biosci.	6. 最初と最後の頁 179-182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2019.06.001.	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 牛尾綾、新垣理恵子、工藤保誠、石丸直澄
2. 発表標題 CCL22-producing macrophages promote autoimmune lesions in Sjogren's syndrome
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牛尾綾、新垣理恵子、工藤保誠、石丸直澄
2. 発表標題 自己免疫疾患モデルにおける標的臓器 常在型マクロファージの役割
3. 学会等名 歯科基礎医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aya Ushio, Rieko Arasaki, Yasusei Kudo, Naozumi Ishimaru
2. 発表標題 Analysis of pulmonary lesions in a murine model of Sjogren Syndrome.
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2019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
---------	---------