

平成 22 年 5 月 20 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008 ～ 2009
課題番号：20791367
研究課題名 (和文) シェーグレン症候群における転写因子 E2A および Id3 発現の関与
研究課題名 (英文) Impairment the balance of Id3 and E2A mRNA expressions in B cells of patients with Sjögren' s syndrome.
研究代表者
中川 靖子 (NAKAGAWA YASUKO)
北海道大学・大学院歯学研究科・学術研究員
研究者番号：80451392

研究成果の概要 (和文)：

シェーグレン症候群 (以下 SS) 患者の末梢血 B 細胞では、過剰な活性化やナイーブ/メモリー B 細胞比上昇および形質細胞への過剰分化が認められている。B 細胞の分化を促進する転写因子である E2A の阻害蛋白 Id3 の欠損マウスにおいて SS 様症状を呈することが報告され、ヒトの SS の病態にも関与が示唆される。そこで、SS 患者の末梢血における Id3 および E2A の mRNA 発現と SS の病態生理との関連を検討した。Id3 mRNA の相対的発現比の中央値は健常群に対し、SS 群で有意に低値を示した ($p=0.036$)。一方 E2A の相対的発現比の中央値は健常群と SS 群で有意差は見られなかった。また、口唇腺生検病理像の grade が進行するに従い Id3 mRNA 発現値が低下する傾向が認められた。SS 患者において Id3 の相対的発現低下により、Id3 の E2A 抑制作用が減弱して B 細胞の分化が促進され、B 細胞の活性化および形質細胞の過剰分化を生じ、唾液腺炎の増悪に関与する可能性が考えられた。Id3 発現量と口唇生検病理像との間の逆相関は、これを支持する所見と考えられた。

研究成果の概要 (英文)：

B cell activation and decrease of memory B cells in number are frequently observed in the peripheral blood of patients with the Sjögren' s syndrome (SS). E2A is a transcription factor that plays a key role in B cell differentiation. Id3 binds to E2A and inhibits binding of E2A to DNA. Id3-deficient mice develop lymphocyte infiltration into the salivary glands that resembles sialoadenitis in SS. In this study, we examined mRNA expressions of E2A and Id3 in B cells from patients with SS and compared these results with the clinical manifestations.

The study group consisted of 27 patients referred to the Department of Medicine II in Hokkaido University Hospital for evaluation of xerostomia. All patients fulfilled any two or more of the four items in 1999 revised Japanese criteria for Sjögren' s syndrome. CD19⁺ B cells were sorted from the peripheral blood. The expressions of E2A and Id3 mRNA were

analyzed by real-time PCR and compared between a group of SS and 34 healthy subjects. Histopathological evaluation of labial salivary gland by focus score was performed by a pathologist in the dental clinical division of our hospital. The study protocol was approved by the ethical committee of Hokkaido University Graduate School of Medicine.

The Id3 mRNA levels expressed in B cells were significantly lower in patients with SS than in healthy subjects ($p=0.036$). In contrast, there was no difference in the mRNA expression levels of E2A between two groups. The Id3 mRNA expression level tended to be decreased in higher grade of focus score in labial salivary gland.

Decreased level of Id3 mRNA expression in patients with SS may play a role in the pathophysiology of sialoadenitis by activation and accelerated differentiation of B cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：免疫・自己免疫疾患

1. 研究開始当初の背景

- ① シェーグレン症候群におけるB細胞分化異常：シェーグレン症候群（以下SS）の末梢血B細胞では、過剰な活性化、メモリーB細胞の減少および形質細胞への過剰分化が認められており、B細胞の分化異常がSSの病態に影響していることが示唆されている。
- ② Id3欠損マウスにおけるSS様所見：B細胞分化に関与する転写因子E2Aの阻害蛋白にId3があり、E蛋白のDNA結合を阻害して、E2Aによるリンパ球分化を抑制する

役割を果たしている。このId3欠損マウスにおいて、涙腺および唾液腺組織にリンパ球浸潤が認められること、血清中に抗SS-Aおよび抗SS-B抗体が検出されることが示され、SSの病態モデルと考えることができることが報告された。

2. 研究の目的

B細胞分化に関与する転写因子E2AおよびE2Aの機能を阻害する核蛋白Id3に着目し、ヒト末梢血におけるId3およびE2Aの発現がSSの病態に影響を与えるかどうかを検討した。

3. 研究の方法

1) 対象

北海道大学病院第2内科SS外来を受診し、1999年厚生労働省診断基準において2項目以上を満たしてSSと診断された症例のうち、同意が得られた27名より末梢血を10ml採取した。対照群として健康人から同様に末梢血を採取した。

2) cDNAの精製・発現量測定

採取した血液よりネガティブセレクションにてCD19陽性B細胞を単離し、totalRNAを抽出後、逆転写反応を行いcDNAを合成した。Id3およびE2AmRNA発現量をRealtime-PCRを用いて調べた。インターナルコントロールにはGAPDHを用い、発現量は $\Delta\Delta CT$ 法にて求めた。

3) 解析

健康人の一人を1としたときの相対比として表し、SS群と健康群の値をMann-Whitney U-testを用いて比較した。また、各種臨床所見との相関を調べた。

4. 研究成果

1) 末梢血B細胞mRNAにおけるId3の相対的発現比

Id3の中央値は健康群3.995、SS群2.24で有意に低値を示したが($p=0.036$)、E2Aの発現には有意差はなく、SS群ではE2Aの働きが結果的に亢進していると考えられた。

2) Id3発現量と臨床検査値との関連

E2AおよびId3発現と唾液分泌量、SS-A・SS-B抗体発現量そのほか血液検査諸項目との優位な相関は見られなかった。

3) 病理組織学的検査との関連

27検体すべてにおいて口唇生検を行い、フォーカススコア法にて分類をした。

Id3相対的発現比と口唇線病理像との相関を調べたところ、病理像のgradeが進行するに従いId3mRNA発現値が低下する傾向が認められた。

SS群では健康群と比較し有意にId3発現が低下していたことから、B細胞の分化が促進され、末梢血でのB細胞の分化異常、病変部に浸潤するB細胞の増加が生じている可能性が考えられた。また、Id3発現量と口唇生検病理像との間の逆相関は、これを支持する所見と考えられた。

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0件)

[学会発表] (計4件)

1. 中川靖子、片岡浩、坪井寿典、阿部貴恵、柏崎晴彦、小池隆夫、井上農夫男：シェーグレン症候群患者における口腔乾燥症状の評価：第6回日本口腔ケア学会総会・学術大会：2009年11月20日(栃木県総合文化センター・栃木)
2. Yasuko Nakagawa, Hiroshi Kataoka, Hisako Nakagawa, Haruhiko Kashiwazaki, Shinsuke Yasuda, Tetsuya Horita, Tatsuya Atsumi, Nobuo Inoue, Takao Koike: The relation between the expression of Id3 mRNA in B cells and sialoadenitis of Sjögren's syndrome. 10th International Symposium on Sjögren's Syndrome: October 2nd 2009(Centre de Congrès Le Quarts, Brest, France)
3. 中川靖子、片岡浩、中川久子、保田晋助、堀田哲也、渥美達也、柏崎晴彦、井上農夫男、小池隆夫：シェーグレン

症候群患者末梢血B細胞における転写
因子Id3の唾液腺炎への関与：第18回
日本シェーグレン症候群学会：2009年
9月4日（九州大学医学部百年講堂・
福岡）

4. 中川靖子、片岡浩、保田晋助、堀田哲也、渥美達也、柏崎晴彦、井上農夫男、小池隆夫：シェーグレン症候群(SS)患者末梢血B細胞におけるId3・E2Aのバランス異常：第52回日本リウマチ学会総会・学術大会：2008年4月23日（ロイトン札幌・北海道）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 靖子 (NAKAGAWA YASUKO)

北海道大学・大学院歯学研究科・学術研究員

研究者番号：80451392