

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2011～2014
 課題番号：23592758
 研究課題名(和文) 口腔粘膜のびらん潰瘍病変におけるTh17分化誘導機構とオ-トファジ-の関与

 研究課題名(英文) Involvement with differentiation-inducing mechanism of Th17 and autophagy in oral mucosal lesions with erosive and ulcer

 研究代表者
 菅原 由美子 (Sugawara, Yumiko)

 東北大学・大学病院・助教

 研究者番号：30235866

 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：シェーグレン症候群は、外分泌腺の系統的な慢性炎症性疾患で自己免疫疾患に分類される。一方、サルコイドーシスは、非乾酪性類上皮細胞肉芽腫形成を伴う原因不明の全身性疾患で、発症にはⅠ型アレルギー反応の関与が示唆されている。両疾患の発症には免疫学的な機序が関与しており、両疾患を合併した症例報告はあるが、口唇小唾液腺において病理組織学的に両疾患が合併した報告はない。今回、下唇小唾液腺において病理組織学的にシェーグレン症候群とサルコイドーシスの合併所見がみられた症例を経験したので報告した。また、口腔症状を初発とした自己免疫水疱性疾患である表皮水疱症の症例を経験したので免疫組織学的検索を中心に報告した。

研究成果の概要(英文)：(Objective) Sjogren's syndrome(SS) is an autoimmune disease that mainly affects the exocrine glands. On the other hand, sarcoidosis is a systemic granulomatous condition of unknown cause affecting multiple organs. The disease is characterized by the presence of noncaseating epithelioid cell granulomas and the most common sites are the lungs and lymph nodes. It can involve exocrine glands and, if salivary glands and lacrimal glands are affected, the disease can mimic SS. But there are extremely few reports that both diseases were histopathologically coexistent with labial salivary gland biopsy. Here, we report a case with coexistence of SS and sarcoidosis in order to analyze the clinical, immunologic, and histologic characteristics that may help physicians differentiate the mimicry of SS by sarcoidosis from a true coexistence of both diseases.
 (Conclusion) We presented a case with coexistence of SS and sarcoidosis. She also had a finding of autoimmune hepatitis by the liver biopsy.

研究分野：口腔診断学

 キーワード：口腔粘膜疾患 サルコイドーシス 免疫組織化学 表皮水疱症 口腔扁平苔癬 免疫組織化学 びらん
 ・潰瘍病変 口腔粘膜

1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜疾患においては、特に、びらん・潰瘍病変（口腔扁平苔癬、GVHD、非特異的口内炎など）は、難治性であり臨床経過も長く疼痛症状による摂食障害など患者の苦痛は大きい。これらの病変は未だ発現機序が不明であるため、十分な治療法は確立されていないのが現状である。一方、口腔粘膜は刺激や口腔微生物叢に対するバリアとして機能する自然免疫系と、様々な受容体を介してサイトカインや増殖因子を産生することによる獲得免疫系が働き、口腔粘膜の恒常性を維持している。この防御機構の破綻・異常が口腔粘膜にびらん・潰瘍病変を発症すると考えられる。特に、口腔扁平苔癬、GVHD、非特異的口内炎はT細胞の浸潤が特徴的であり、その病態発現にはTh1やTh2の関与が示唆されていたが、Th1・Th2パラダイムだけでは説明できない現象が数多く残されてきた。したがって、Th17細胞の分化誘導機構を明らかにすることは、口腔粘膜における、びらん・潰瘍病変の発現機序を解明する上で重要であると考えられる。口腔粘膜上皮では感染・炎症・腫瘍性疾患においてMHC class分子が異所性に発現しており、口腔粘膜上皮細胞自身が病的ストレスに応答してオートファジ-の機構を介して抗原提示細胞として機能しTh17細胞の分化誘導に積極的に関与するものと推測される。

2. 研究の目的

本研究では、まず口腔微生物叢に関連した細胞外ATPによるシグナルがTh17細胞分化誘導に関連し口腔粘膜におけるびらん・潰瘍病変の発現において重要な役割を担っている事実を立証する。即ち、口腔粘膜疾患のTh17細胞分化誘導の過程におけるMHC classの発現と抗原提示能およびオートファジ-との相互関係について明らかとする。難治性口腔粘膜疾患の新規治療ターゲットとしてTh17細胞の分化誘導を負に調節する新た

な治療戦略を構築する。

3. 研究の方法

本研究は、びらん・潰瘍病変を認める口腔粘膜疾患患者の組織およびヒト口腔上皮細胞株を用いる。Th17細胞の分化誘導およびオートファジ-に関連するサイトカイン群・MHC classの発現・同定の検索は、タンパク・レベルでは免疫組織細胞化学的手法およびELISA法、フロ-サイトメトリ-、ウェスタンブロット法により解析する。また、遺伝子レベルではリアルタイムPCR法により解析を行うものである。組織などの試料採取にあたっては患者に本研究の主旨について十分な説明を行い、インフォ-ムド・コンセントを得た上で行う。

4. 研究成果

(1) 細胞外ATPによるP2X7受容体を介する唾液腺上皮細胞からのMHC class II分子の表出と遊離

異所性のMHC class II分子の発現は、組織特異的な自己免疫疾患の発症に大きく関与している。唾液腺や涙腺の破壊を特徴とする自己免疫疾患であるシェーグレン症候群においても、唾液腺上皮細胞における異所性のMHC class IIの発現がみられる。一方、細胞膜の破壊により組織中に放出された細胞外ATPは、細胞間伝達物質として働き、その受容体の一つであるP2X7受容体は、炎症および免疫反応における役割が注目されている。本研究では、細胞外ATPが唾液腺上皮細胞におけるMHC class II分子の発現に及ぼす影響について解析し、細胞外ATPと唾液腺上皮細胞の免疫応答との関わりについて検討を行った。ヒト唾液腺上皮細胞株をATPで刺激すると、細胞膜表面にMHC class IIの発現が認められた。細胞質内の解析では、無刺激の状態でも細胞質内に恒常的にMHC class IIが発現していたが、ATP刺激による発現量に変化はなかった。また、MHC class II転写調節因子CIITAの発現量についても増加

は認められなかった。ヒト唾液腺上皮細胞株では P2X7 受容体の存在が確認され、P2X7 受容体アゴニストである BzATP 刺激により、細胞膜表面での MHC class II の発現が誘導され、アンタゴニストである oATP 刺激により、ATP による MHC class II の発現が抑制された。さらに、ATP 刺激により、細胞内でのオートファゴソームの形成の促進がみられ、MHC class II 分子を内包した exosome の放出が認められた。この exosome は LC3-II を発現していた。以上の結果から、ヒト唾液腺上皮細胞株は細胞内に MHC class II 分子を恒常的に発現しており、細胞外 ATP 刺激により P2X7 受容体を介して、MHC class II 分子を細胞膜表面へ表出させると同時に、オートファゴソームに関連した exosome に内包された形で細胞外に放出する可能性が示された。これより、細胞外 ATP がシェーグレン症候群発症に関与するという新たな可能性が示唆された。

(2) 下唇小唾液腺生検にてシェーグレン症候群とサルコイドーシスの所見がみられた 1 例

シェーグレン症候群は、外分泌腺の系統的な慢性炎症性疾患で自己免疫疾患に分類される。一方、サルコイドーシスは、非乾酪性類上皮細胞肉芽腫形成を伴う原因不明の全身性疾患で、発症にはアレルギー反応の関与が示唆されている。両疾患の発症には免疫学的な機序が関与しており、両疾患を合併した症例報告はあるが、口唇小唾液腺において病理組織学的に両疾患が合併した報告は極めて少ない。

今回、我々は下唇小唾液腺において病理組織学的にシェーグレン症候群とサルコイドーシスの合併所見がみられた症例を経験したので報告する。

【症例】(患者) 68 歳、女性。

(既往歴) 高血圧、気管支喘息。

(現病歴) H22 年に人間ドッグを受けて高血圧、心電図の異常、肺および脾臓病変の疑い

を指摘され要精検といわれる。更なる精密検査にて肺サルコイドーシスと診断され本院呼吸器内科で加療中である。H24 年 8 月に下肢の皮疹が出現し、近医皮膚科受診。血液検査および皮膚生検にて抗 SS-A 抗体陽性を認めたためシェーグレン症候群を疑い、本院血液・免疫科を介して当科紹介される。

(臨床検査所見) 抗 SS-A 抗体 (+) 抗 SS-B 抗体 (+) 唾液分泌量は安静時 3.0ml/15min、ガムテスト 8.5ml/10min とガムテストにてやや分泌低下を認めた。3D MR-sialography では、慢性的なごく軽度の唾液腺炎は疑われるものの、シェーグレン症候群やサルコイドーシスを疑う特徴的な所見は認められなかった。

(病理組織学的所見) 下唇小唾液腺生検にて導管周囲のリンパ球浸潤が複数確認され、一部ではリンパ上皮性病変の形成がみられた。小葉内にはランゲハンス型ないし異物型巨細胞を伴う非乾酪性類上皮肉芽腫の所見が認められた。

以上よりシェーグレン症候群およびサルコイドーシスが合併した唾液腺病変と診断した。

患者は肝機能の低下があり、肝生検にて自己免疫性肝炎の所見であった。

(3) 口腔病変を初発とした後天性表皮水疱症の 1 例

後天性表皮水疱症は IgG 抗表皮基底膜部抗体による自己免疫水疱症であり類天疱瘡疾患群の 1 つである。疫学的には中高年に発症するが水疱性類天疱瘡より若い年齢に発症する比較的稀な疾患である。発症頻度は水疱性類天疱瘡の 10 分の 1 以下で日本における推定患者数は 2000~3000 人である。外力の当たる部位に水疱を形成し、難治性でびらん性の口腔粘膜病変を伴う場合がある。今回我々は、口腔病変を初発とした後天性表皮水疱症の 1 症例を経験したので報告する。

【症例】(患者) 64 歳、女性。(主訴) 口腔内

のあれ。(既往歴)陰部ヘルペスおよび薬物アレルギー。(現病歴)2012年6月頃より陰部粘膜のあれを自覚し、7月に某病院皮膚科にて血液検査と同部組織生検をうけ陰部の扁平苔癬と診断される。同時期6月頃より口腔内のあれを自覚、8月に風邪を引き口腔内に大水疱が認められるようになり、上記皮膚科医院に相談、金属アレルギーの疑いにてパッチテストを受けるが、陽性所見は認められなかった。10月に定期的に通院していた歯科医院にて難治性口内炎を指摘され、紹介により本院受診する。口内炎出現に前後して風邪薬など複数の薬物を服用していたことと薬物アレルギーの既往があるため、当初は、薬物アレルギーを疑ったが当科受診直後より上腕皮膚にも水疱病変が認められるようになった。(結果)血液検査では、抗BP180抗体(-)、抗Dsg1・Dsg3(-)であった。口腔粘膜の病理組織検査結果では一部上皮基底細胞層直下での剥離が認められた。類天疱瘡の診断にて本院皮膚科紹介する。皮膚科での病理組織検査結果でも表皮下水疱所見から水疱性類天疱瘡と合致する所見であった。2013年2月皮膚科入院、口腔内、喉頭、体幹四肢にびらん認め、3月に免疫学的検査で型コラーゲンIgG ELISA(+)であったことから、最終的に後天性表皮水疱症と診断された。

(4)口腔扁平苔癬を合併したGood症候群の1例

【緒言】Good症候群は胸腺腫に低グロブリン血症を合併した比較的稀な疾患である。胸腺腫は全縦隔腫瘍のほぼ30%を占め重症筋無力症を始めとする様々な免疫異常による随伴症状を合併することが知られている。低グロブリン血症を合併するGood症候群は胸腺腫患者の5%に、また扁平苔癬は胸腺腫患者の約1%に合併するとの報告がある。今回、口腔扁平苔癬の経過からGood症候群の診断に至った1例を経験したので報告する。

【症例】(患者)56歳男性。

(主訴)口腔内の荒れ。

(既往歴)特記事項なし。

(現病歴)2012年9月下旬頃より口内炎を自覚し、10月に当科を受診する。

(口腔内所見)両側頬粘膜、舌背、舌下部～舌縁部に潰瘍を伴う白色レース状病変を認める。(臨床検査所見)グロブリン、IgGは基準値内であるが、IgA、IgMは低下を認める。HIV、HCV、HBV、抗核抗体は陰性であった。

(病理組織所見)萎縮および錯角化を示す重層扁平上皮下に帯状のリンパ球浸潤と上皮基底細胞層の融解変性が認められる。以上よりびらん型の口腔扁平苔癬と診断した。

(全身所見)同年9月に人間ドッグにて胸部異常影を指摘される。CT撮影にて前縦隔に石灰化を伴う70mm大の腫瘍が認められ、11月に本院呼吸器外科を紹介される。臨床検査では各種腫瘍マーカーと重症筋無力症を示す抗アセチルコリンレセプター抗体は陰性であった。(処置および経過)当科ではセファランチン、十全大補湯およびアズノール含嗽剤を処方する。呼吸器外科では前縦隔腫瘍の疑いにて、2013年1月に腫瘍摘出術を施行する。病理組織所見では胸腺腫(TypeAB、正岡2期)の診断であった。口腔扁平苔癬は胸腺腫の摘出術前より舌背部～舌縁部にかけて潰瘍病変が拡大し、胸腺摘出後1年経過するも症状改善せずGood症候群を疑い本院血液・免疫科で精査する。IgG、IgA、IgMの低下とB細胞サブセットであるCD19の著明な低下を認め、最終的にGood症候群の診断となった。

(5)頭頸部癌放射線治療患者と口腔カンジダ菌種について

【緒言】放射線治療中の頭頸部癌患者における口腔カンジダ菌との関連を検討することを目的として、口腔ケアを受けている頭頸部癌放射線治療患者16名(男性14名、女性2名)におけるカンジダ菌の保有状態と菌種お

よび有害事象である口腔粘膜炎との関係を検討した。【結果】対象症例全体でのカンジダ菌種の検出は12例であった(75%)。そのうち、*C. albicans*のみが検出されたのは8例(50%)、non-*C. albicans*が検出されたのは4例(25%)であった。grade3以上の高度口腔粘膜炎がみられたのは13例でカンジダ菌種が検出されたのは11例であった。【結論】比較的良好な口腔衛生状態が保たれている頭頸部癌患者においてもカンジダ菌種が高率に検出され、カンジダ菌種を考慮した口腔ケアが必要と思われた。

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 2 件)

齋藤美紀子、菅原由美子、勝良剛詞、林 孝文、笹野高嗣：頭頸部癌放射線治療患者における口腔カンジダ菌種を指標とした口腔ケアの評価：日本口腔診断学雑誌(査読有)27：1-6, 2014

KOTARO YOSHINAKA, NORIAKI SHOJI, TAKASHI NISHIOKA, YUMIKO SUGAWARA, TOMOAKI HOSHINO, SHUNJI SUGAWARA and TAKASHI SASANO : Increased Interleukin-18 in the Gingival Tissues Evokes Chronic Periodontitis after Bacterial Infection : Tohoku J. Exp. Med. (査読有) 232: 215-222, 2014,

[学会発表](計 12 件)

菅原由美子、熊本裕行、笹野高嗣：口腔扁平苔癬を合併した Good 症候群の1例：第69回日本口腔科学会 2015年5月15日 大阪国際会議場(大阪市)

伊東大典、神部芳則、菅原由美子、中村誠司、藤林孝司、小宮山一雄、長谷川博雅、朔敬、前田初彦、田中昭男：OLP診療のガイドラインの構築に向けて：第24回日本口腔内科学会・第27回日本口腔診断学会合同学術大会 2014年9月20日 九州大学医学部百

年講堂(福岡市)

小宮山一雄、長谷川博雅、朔敬、前田初彦、田中昭男、伊東大典、神部芳則、菅原由美子、中村誠司、藤林孝司：口腔扁平苔癬に関する二学会共同調査研究報告：第25回日本臨床口腔病理学会 2014年8月29日 メディアシップ日報ホール(新潟市)

菅原由美子、嶋田雄介、熊本裕行、笹野高嗣：口腔病変を初発とした後天性表皮水疱症の1例：第68回日本口腔科学会 2014年5月9日 京王プラザホテル(東京)

菅原由美子：シンポジウム「シェーグレン症候群の診断基準と画像検査」日本シェーグレン症候群学会およびシェーグレン症候群インターナショナル・シンポジウムの最近の動向等：第18回臨床画像大会 2013年11月3日 東京歯科大学水道橋校舎(東京)

小嶋郁穂、阪本真弥、飯久保正弘、酒井梓、菅原由美子、佐藤しづ子、笹野高嗣：シェーグレン症候群における顎下腺および舌下腺のMRIと診断学的意義について 第3報：MR sialography 点状高信号域およびMR信号強度不均一の診断精度について：第18回日本歯科放射線学会臨床画像大会 2013年11月2日 東京歯科大学水道橋校舎(東京)

Yumiko Sugawara, Hiroyuki Kumamoto, Maya Sakamoto and Takashi Sasano : A rare case with coexistence of Sjögren's Syndrome and Sarcoidosis revealed by lower lip biopsy : 12th International Symposium on Sjögren Syndrome 2013年10月10~12日 京都ホテルオークラ(京都市)

藤林孝司、菅原由美子、伊藤大典、神部芳則、中村誠司、小宮山一雄、朔敬、長谷川博雅、前田初彦、田中昭男：口腔扁平苔癬に関する2学会共同調査研究でのOLP委員会の経過報告：第23回日本口腔内科学会・第26回日本口腔診断学会合同学術大会 2013

年9月14日 学術総合センター一橋記念講堂 (東京)

小宮山一雄、菅原由美子、伊藤大典、神部芳則、藤林孝司、中村誠司、朔敬、長谷川博雅、前田初彦、田中昭男：口腔扁平苔癬に関する2学会共同調査研究でのOLP委員会の経過報告：第24回日本臨床口腔病理学会
2013年8月29日 日本大学理工学部1号館CSTホール (東京)

菅原由美子、熊本裕行、阪本真弥、笹野高嗣：下唇小唾液腺生検にてシェーグレン症候群とサルコイドーシスの所見がみられた1例：第67回日本口腔科学会 2013年5月23日 栃木県総合文化センター (宇都宮市)

小宮山一雄、菅原由美子、伊藤大典、神部芳則、藤林孝司、中村誠司、朔敬、長谷川博雅、前田初彦、田中昭男：本邦における口腔扁平苔癬の多施設調査：第22回日本歯科医学会総会 2012年11月11日 大阪国際会議場 (大阪市)

小嶋郁穂、阪本真弥、酒井梓、菅原由美子、佐藤しづ子、佐藤恭子、飯久保正弘、笹野高嗣：シェーグレン症候群における顎下腺および舌下腺のMRIと診断学的意義について 第2報：MRI所見と安静時唾液分泌量との関連について：第17回日本歯科放射線学会臨床画像大会 2012年10月27日 大阪国際会議場 (大阪市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅原 由美子 (Sugawara, Yumiko)
東北大学・大学病院・助教
研究者番号：30235866

(2) 研究分担者

酒井 梓 (Sakai, Azusa)
東北大学・大学病院・医員
研究者番号：90463778

菅原 俊二 (Sugawara, Shunji)
東北大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：10241639

笹野 高嗣 (Sasano, Takashi)

東北大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：10125560

佐藤 恭子 (Sato, Kyoko)
東北大学・大学院歯学研究科・非常勤講師
研究者番号：80547266