

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792354

研究課題名(和文) 口腔扁平苔癬の発症および病態形成に関わる T 細胞ネットワークの解析

研究課題名(英文) Analysis of T-cell network involved in the pathogenesis and development of oral lichen planus

研究代表者

林田 淳之介 (Hayashida, Jun-nosuke)

九州大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：80432920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000 円、(間接経費) 960,000 円

研究成果の概要(和文)： OLP患者は健常者と比較して、Th1、Th2およびTh17タイプの関連分子の発現が亢進していたが、Tregタイプについては有意差を認めなかった。Th17について注目すると、IL-17は上皮直下に浸潤したリンパ球に発現の亢進を認め、IL-23は角化亢進が著明な基底層に加え上皮全層および上皮直下のリンパ球に発現の亢進を認めた。またTh2タイプのIL-33は粘膜基底層に発現を認めた。

これらの結果より、Th1に加えTh2とTh17の発現がOLPの病態形成に関与しており、さらにIL-23の発現を誘導することで、上皮の角化が亢進することが示唆された。

研究成果の概要(英文)： The expression of Th17 type Th1, Th2 was higher in the OLP patients in comparison with healthy subjects, but there was no significant difference about Treg type. IL-17 expression was observed in lymphocytes infiltrated under the epithelium, IL-23 was expression in lymphocytes under the epithelium and all hyperkeratic layers. IL-33 was expressed in the basal layer of mucosa.

From these results, expression of Th17 and Th2 is involved in the pathogenesis of OLP addition to Th1, and that it was indicated that hyperkeratosis was caused by the expression of IL-23.

研究分野：口腔外科

科研費の分科・細目：口腔外科

キーワード：サイトカイン Th1 Th2 Th17 角化亢進

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平苔癬 (oral lichen planus: OLP) は口腔粘膜に生じる難治性疾患であり、アレルギーや自己免疫反応などの関与が考えられてはいるが未だ原因不明である。また一部の症例では、扁平上皮癌への悪性転化をみることもあり、近年 WHO は OLP を前癌状態と考えるようになってきている。好発部位は頬粘膜 (buccal mucosa: BM) で、舌や歯肉にも生じ、しばしば両側性に発症するのが特徴であり、BM では網状型のような軽症例と、びらん型のような重症例がみられる。臨床的には、軽症の網状型が悪化して重症のびらん型を呈し、さらに病態が発展すると扁平上皮癌への悪性化をたどると考えられている。また病理組織学的には、OLP は基底層直下に帯状のリンパ球の浸潤が認められ (写真 1)、特に重症例では胚中心様のリンパ球浸潤を認める (写真 2) ことがあり、腸管免疫として注目されているパイエル板とも類似している。

これまでのわれわれの研究では、(1) OLP における免疫反応の主たるものは T 細胞であること、(2) OLP の発症・維持には Th1 が重要で、病態進展には Th2 が重要であること (図 1、論文投稿中) を国内外の学会等で報告してきた。しかし、

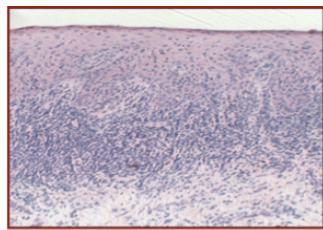


写真1 帯状浸潤(軽症例)

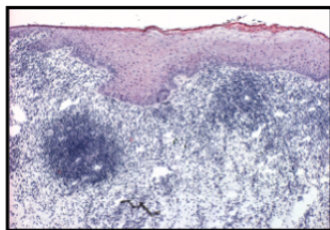


写真2 胚中心様浸潤(重症例)

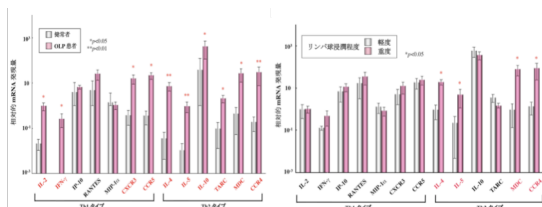
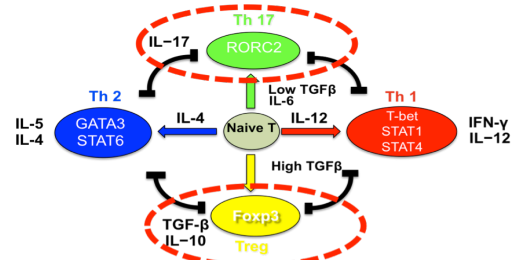


図1 OLP におけるTh1/2 サイトカイン・ケモカイン解析

OLP における免疫反応の主である T 細胞サブセットの局在、さらに種々のサイトカインおよびケモカインの病変局所における発現もいまだ明らかでない。それらの局在を解析して同定することは、OLP の発症から病態進展のプロセスを解明する上で非常に重要であると考えられる。

さらに近年種々の自己免疫疾患において、Th1/2 バランスに加えて制御性 T 細胞 (Treg) と IL-17 産生 T 細胞 (Th17) の関与が注目を集めている。Treg は免疫系の崩壊を抑制し、免疫異常から生体を守るとされており、また



OLP病態形成T細胞ネットワーク

Th17 は、コラーゲン誘導関節炎や接触型過敏症、自己免疫性脳脊髄炎などの発症に関与していることで知られている。これらは、既存の Th1/2 バランスの概念から独立した細胞集団であると近年認識され、下図に示すように、それぞれが産生するサイトカインによって Naive T 細胞からの分化を調整し合っていることが分かってきた。われわれはこれまで、OLP と Th1/2 バランスの関連について発表してきたが、今回この右図の調整機構を OLP 病態形成 T 細胞ネットワークと位置づけ、OLP 発症のメカニズムを解明するための中核と考えている。すでに予備実験で、OLP の粘膜下層に Th17 と Treg の存在を認めており、病態の発症と進展に何らかの役割を担っていることが予想される。

2. 研究の目的

口腔扁平苔癬 (OLP) は網状の白斑、びらんや水疱など多彩な症状を呈する慢性炎症性疾患である。病理組織像では粘膜固有層上層の帯状リンパ球浸潤を特徴とすることか

ら、その原因として免疫反応の関与が考えられる。近年、WHOは本疾患を口腔粘膜の前癌病変としており、実際一部の症例では扁平上皮癌への悪性転化が認められるため、OLPの病態進展をいかに抑制するかが治療上重要となる。これまでのわれわれの研究では、OLPの発症・病態進展にはTh1/2バランスが関与していることを知り得たが、その原因分子の同定には至っていない。そこで本研究では、Th1/2にTregとTh17を加えたOLP病態形成T細胞ネットワークの解析を行うことで、その病態発症・進展に関連する分子の同定を第一の目的とし、さらにそれらの関連分子を標的とした癌化予防治療戦略の確立を目指すこととした。

3. 研究の方法

OLPの病態形成の分子機構をより明確なものにするために、われわれは従来より口腔粘膜におけるT細胞が産生するサイトカインやThサブセットの選択的な遊走・集積に関連するケモカイン・ケモカインレセプターの発現について解析を行ってきた。その結果、病態が進展するに連れてTh1タイプの分子だけではなく、Th2タイプの分子の発現も亢進すること(図1)を報告しており、また浸潤T細胞だけでなく、粘膜基底層から産生されるサイトカイン・ケモカイン発現も確認したところ、粘膜基底細胞自身が何らかの抗原提示を行っている可能性が示唆された。

そこで本研究では、病変局所のThサブセットの局在とその浸潤リンパ球および粘膜基底層が産生するサイトカイン・ケモカイン・ケモカインレセプターを解析することで、OLP病態形成のメカニズムの解明し、さらには病態進展に関連する分子を標的とした治療戦略を確立することであり、具体的には、下記の研究項目を検討した。

1) 病変局所(浸潤リンパ球および粘膜基底層)におけるサイトカイン、ケモカイン、ケ

モカインレセプターの発現の解析

(Laser Capture microdissection (LCM)、Real time PCR法、免疫組織化学染色法を用いた分子機構の解析)

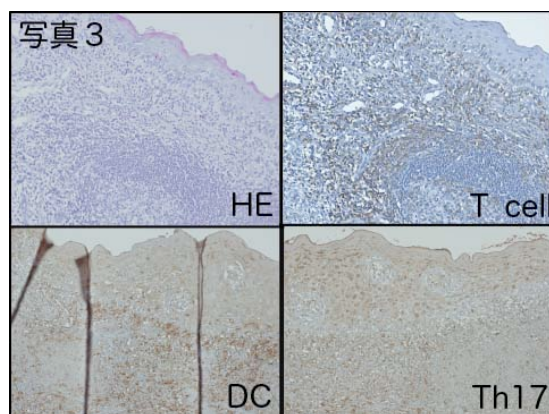
2) Th1/2バランスにTregおよびTh17を加えたT細胞病態形成ネットワークの解析

(LCM、RNAマイクロアレイ、Real time PCR法、in situ hybridization法を用いた病因特異的なT細胞の同定)

3) OLPの病態進展における標的分子の同定と治療戦略の確立(in vivoでの病因特異的T細胞抑制機構の確立)

4. 研究成果

今回のわれわれの研究では、自然免疫担当細胞であるDC、特にTh1誘導能を持つ骨髄様樹状細胞(mDC)が病変局所で有意に浸潤が亢進しており、病態進展例では強力なTh2誘導能を持つ形質細胞様樹状細胞(pDC)の浸潤が亢進していることが明らかになった。これらのDCはTh1/2バランスをシフトする役目を担っていると考えられる。そこでOLPでも同様にDCのサブセットを予備的に検索したところ、写真3のような局在が明らかになった。



Th1/2、Th17、DCという免疫担当細胞が病変部に同時に局在することが判明したわけだが、この3者の関係は、OLPと同様、アレルギー性の角化亢進が原因とされる皮膚乾癬でも報告があるので、他の文献的考察を加え下図1に示す。

ここで重要なのはDCが産生するTh17維持

サイトカインといわれている IL-23 である。皮膚乾癬では、IL-23 は Th17 に作用して IL-22 産生を促し、その IL-22 が上皮角化細胞に作用して角化を亢進させることでその

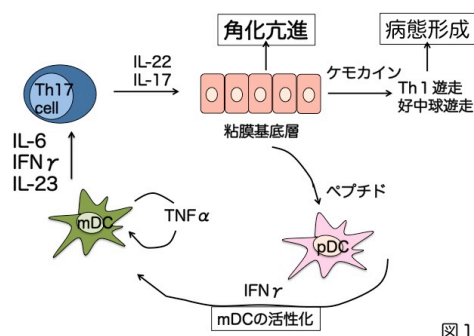
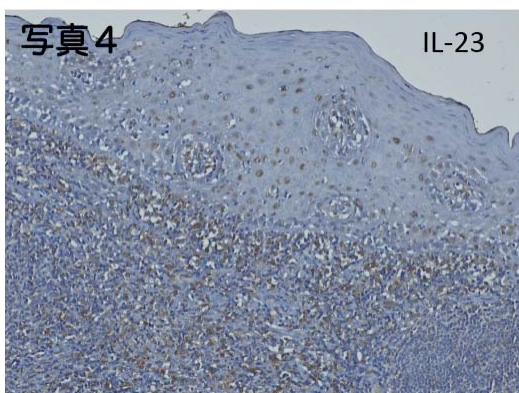
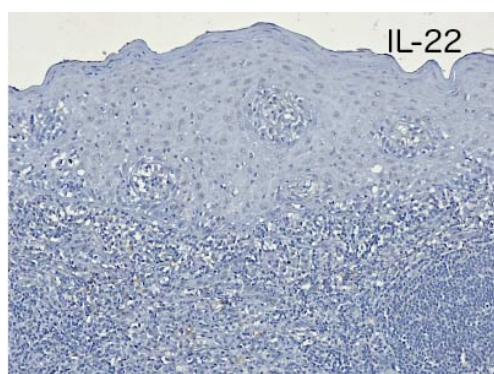


図1

病態を形成していると考えられている。そこで OLP でも IL-23 の発現を免疫染色で確認したところ、上皮直下にその発現が認められた。また IL-22 も OLP の基底層周囲に発現が認め



られ、角化亢進の原因分子になり得ることが示された (写真4)。



s

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 3 件)

1. Cytokine/chemokine profiles contribute to understanding the pathogenesis and diagnosis of primary Sjögren's syndrome. Moriyama M, Hayashida JN, Toyoshima T, Ohyama Y, Shinozaki S, Tanaka A, Maehara T, Nakamura S. Clin Exp Immunol. 169(1):17-26.

2. Possible involvement of cytokines, chemokines and chemokine receptors in the initiation and progression of chronic GVHD.

Hayashida, J.-N., Nakamura, S., Toyoshima, T., Moriyama, M., Sasaki, M., Kawamura, E., Ohyama, Y., Kumamaru, W., and Shirasuna, K. Bone Marrow Transplant. 48(1):115-23

3. Differences of Stimulated and Unstimulated Salivary Flow Rates in The Patients with Dry Mouth

Jun-Nosuke Hayashida, Sakae Minami, Masafumi Moriyama, Takeshi Toyoshima, Shouichi Shinozaki, Akihiko Tanaka, Takashi Maehara, and Seiji Nakamura Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine and Pathology
DOI: 10.1016/j.ajoms.2014.04.011

[学会発表] (計 3 件)

1. 当科過去 5 年間における口腔扁平苔癬の臨床統計的検討

古川祥子, 林田淳之將, 久保慶朗, 豊嶋健史, 森山雅文, 田中昭彦, 前原 隆, 大山恵子, 家田晋輔, 中村誠司

日本口腔外科学会九州地方会 2011.06.23 鹿児島

2. ミクリツ病/IgG4 関連疾患の臨床的検討

森山雅文, 林田淳之將, 田中昭彦, 前原 隆, 篠崎昌一, 久保慶朗, 古川祥子, 中村誠司

第 57 回日本口腔外科学会総会 2012.10.18-20

3. 唾液を用いたドライマウスの新しい診断方法および病態把握の試み

大山 恵子, 森山 雅文, 林田 淳之將, 篠崎 昌一, 田中 昭彦, 前原 隆, 家田 晋輔, 古川 祥子, 中村 誠司

第 10 回 日本口腔ケア学会 2013.6.23-24 [図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林田 淳之介 (助教)

研究者番号 :

80432920

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :