

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26870170

研究課題名(和文) 難治性口腔粘膜疾患の病態解明と新規制御法を目指した基礎的研究

研究課題名(英文) The basic study that aimed at elucidation of pathological mechanism and new regulation techniques of the intractable oral mucosa disease

研究代表者

津島 文彦 (TSUSHIMA, Fumihiko)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：90456210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平苔癬は、口腔粘膜の角化異常を伴う難治性の慢性炎症性疾患である。原因は不明だが、上皮下へのCD4およびCD8T細胞の浸潤が惹起され、基底細胞に対する細胞傷害と変性を生じることにより病態が形成されると考えられている。これらT細胞の免疫応答は、細胞表面に発現される共刺激分子の発現と産生されるサイトカインによって大きく左右される。

口腔扁平苔癬において、上皮下に浸潤しているCD3陽性T細胞上にPD-1の発現および基底細胞上にPD-L1が発現していることを確認した。よって、口腔扁平苔癬における免疫応答にPD-1-PD-L1の相互作用が関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Oral lichen planus (OLP) is a common chronic inflammatory mucosal disease. While the pathophysiology of OLP is not clearly understood, it is characterized by a dense subepithelial infiltration of activated CD4 and CD8 T cells and a hydropic degeneration of the basal epithelial cells (keratinocytes). The costimulatory signals which can be either positive or negative and the large amount of cytokines released from various cells contribute to the regulation of T cell immune responses.

We observed that PD-1 was expressed on subepithelial infiltrating CD3 positive T cells in OLP lesion. In addition, PD-L1 expression was induced on the keratinocytes located close to the infiltrates. These results suggested that PD-1 on T cells - PD-L1 on keratinocytes interaction contributed to the regulation of immune responses in OLP lesion.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔扁平苔癬 PD-1陽性T細胞 基底細胞 PD-L1

1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜上皮を構成する主細胞である角化上皮細胞は、タイトジャンクションを形成し、外来口腔粘膜疾患のほとんどは、その発症に免疫機序が関与していることが示唆され、病理組織学所見として上皮下にT細胞の浸潤を認めるものが多い。これらT細胞の外来抗原に対する免疫応答は、抗原と抗原提示細胞の性状、特に細胞表面に発現される共刺激分子の発現と産生されるサイトカインによって大きく左右され、それは正と負への制御の2面性を持つ。PD-L1が発現誘導された口腔癌細胞または口腔粘膜上皮細胞は、PD-1を発現しているT細胞に対して、末梢局所において不応答(アナジー)状態を誘導・維持し、末梢粗機における免疫寛容に関わっている可能性が示唆されていたが、口腔粘膜疾患に関しては、抑制シグナル分子の機能解析がほとんど行われていなかった。本研究が達成されれば、口腔癌における癌免疫回避機構や難治性口腔粘膜疾患の病態解明のみならず、末梢局所における免疫回避(免疫寛容)を阻止する新規免疫制御法の開発につながり、その医療分野における貢献も多大であると考えられる。

2. 研究の目的

口腔粘膜疾患において炎症性抗原提示細胞、ケラチノサイトにより誘導されるエフェクターT細胞、制御性T細胞上に発現する免疫抑制分子の発現および機能を解析し、病態の解明および新しい免疫制御法の可能性を探る

3. 研究の方法

臨床病理診断科の協力を得て、病歴を検索し、本研究へのエントリー対象を決定し、口腔扁平苔癬の生検材料の新鮮凍結切片またはパラフィン切片を用いて、免疫組織染色を行う。また、臨床視診型と口腔粘膜上皮上のPD-L1の発現量について、さらに抗原提示細胞上のPD-L1の発現およびPD-1陽性T細胞の浸潤度とT細胞の性状について解析し、統計学的に検討する。

4. 研究成果

口腔扁平苔癬は、臨床診断と病理組織学的診断を合わせて診断される。そこで、まず臨床診断と病理組織学的診断の相関について検討を行った。臨床的に口腔扁平苔癬と診断された951例のうち病理組織学検査を施行した761例とした。761例のうち553例(73%)が病理組織学的に口腔扁平苔癬と診断されていた。口腔扁平苔癬と診断されなかった病変は、Lichenoid dysplasiaが31例、Epithelial dysplasiaが48例、Hyperkeratosisが23例、SCCが3例であった。次に、553例のうち6か

月以上の経過観察を行った416例836病変について臨床的検討を行った。臨床視診型は、網状型が430病変(51.4%)、萎縮型が178病変(21.3%)、びらん・潰瘍型が228病変(27.3%)であった。発生部位は、口唇が44病変(5.3%)、頬粘膜が350病変(41.9%)、歯肉が338病変(40.4%)、口蓋が21病変(2.5%)、舌が77病変(9.2%)、口底が6病変(0.7%)であった。また、416例のうち236例に細菌検査が施行され、130例(55%)に口腔カンジダ菌が検出された。次に、OLPと金属アレルギーとの関連について検討した。対象は、パッチテストによる金属アレルギー検査が陽性であった26症例とした。発生部位は、頬粘膜:21例、歯肉:20例、舌:7例、口底:3例、口蓋:2例、口唇:1例で、発生様式は、両側性:17例、片側性:9例であった。臨床視診型は、網状型:35例、萎縮型:9例、びらん/潰瘍型:5例、丘疹型:2例、斑状型:2例、水疱型:1例であった。病理組織診断は、OLP:14例、OLP Suspected:6例、Epithelial dysplasia:3例、その他:3例であった。アレルギー検査陽性金属元素は、Ni:10例、Pd:8例、Pt:6例、Co:5例、Cr:5例、Hg:4例、Au:4例、Ir:2例、In:2例、V:2例、Mo:1例、Fe:1例、Cu:1例、Be:1例、Sn:1例であった。口腔内の補綴金属を全てあるいは一部除去したのは13例で、病変が消失したのは4例、改善したのは6例、不変が3例であった。補綴金属を除去せずに経過観察したのは13例で、改善が9例、不変が4例であった。陽性であった金属元素は、歯科用金属として使用されているものが多く、補綴金属の除去によって病変の消失または改善を認めた。

臨床的および病理組織学的に口腔扁平苔癬と診断された症例において免疫染色を施行した。上皮下および上皮内に浸潤しているCD3陽性T細胞上にPD-1およびPD-L1の発現および口腔粘膜上皮である基底細胞(Keratinocytes)上にPD-L1が発現していることを確認した。よって、口腔扁平苔癬における免疫応答にPD-1-PD-L1の相互作用が関与していることが示唆された。今後は、臨床視診型を白色型と紅色型に分類しそれぞれにおけるPD-1およびPD-L1の発現量を検討し比較していく予定である。

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6件)

Tsushima F, Sakurai J, Harada H: A case of upper gingiva carcinoma with

chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. Australian Dental Journal. 査読有 60:404-407, 2015.

<https://doi.org/10.1111/adj.12343>

Kuribayashi Y, Tsushima F, Morita K, Matsumoto K, Sakurai J, Uesugi A, Sato K, Oda S, Sakamoto K, Harada H: Long-term outcome of non-surgical treatment in patients with oral leukoplakia. Oral Oncology 査読有 51: 1020-1025, 2015.

doi:10.1016/j.oraloncology.2015.09.004.

津島文彦, 桜井仁亨, 松本佳奈子, 上杉篤史, 佐藤 昌, 尾田誠一郎, 原田浩之 腸管ペーチェット病が疑われた再発性アフタ性潰瘍の 1 例 日本口腔内科学会雑誌 査読有 21(2) 43-48 2015.

<https://doi.org/10.6014/jjsom.21.43>

Hirai H, Tomioka H, Mochizuki Y, Oikawa Y, Tsushima F, Harada H; Clinical Course of Oral Squamous Cell Carcinoma in Patients on Immunosuppressant and Glucocorticoid Therapy. J Oral Maxillofac Surg 査読有 75(9); 1980-1986, 2017.

doi: 10.1016/j.joms.2017.01.006.

上杉篤史, 津島文彦, 桜井仁亨, 佐藤 潔, 安川千里, 原田浩之. 上下顎歯肉に生じた Plasma cell gingivitis の 1 例. 日本口腔外科学会雑誌 査読有 63(2);69-73.2017.

<https://doi.org/10.5794/jjoms.63.69>

〔学会発表〕(計 20 件)

Oda S, Sakurai J, Tsushima F, Sato M, Uesugi A, Matsumoto K, Omura K: The Long-Term Outcome Of OLP, Patterns of Remission and Relapse. 2014 Joint Oral Medicine Meeting. April, 2014.

Matsumoto K, Tsushima F, Sakurai J, Sato M, Uesugi A, Oda S, Omura K: Oral lichen planus: a retrospective study of 416 Japanese patients. 2014 Joint Oral Medicine Meeting. April, 2014.

津島文彦, 桜井仁亨, 松本佳奈子, 上杉篤史, 佐藤 潔, 佐藤 昌, 尾田誠一郎, 原田浩之 口腔扁平苔癬と金属アレルギーとの関連についての検討 第 25 回日本口腔内科学会学術大会 2015 年 9 月

尾田誠一郎, 桜井仁亨, 津島文彦, 佐藤 昌, 上杉篤史, 松本佳奈子, 佐藤 潔, 原田浩之 口腔扁平苔癬の病態変化 第 1 報: 消失についての解析 第 25 回日本口腔内科学会学術大会 2015 年 9 月

桜井仁亨, 尾田誠一郎, 津島文彦, 佐藤 昌, 上杉篤史, 松本佳奈子, 佐藤 潔, 原田浩之 口腔扁平苔癬の病態変化 第 2 報: 変化様式についての解析 第 25 回日本口腔内科学会学術大会 2015 年 9 月

松本佳奈子, 津島文彦, 桜井仁亨, 佐藤 昌, 上杉篤史, 佐藤 潔, 尾田誠一郎, 原田浩之 口腔扁平苔癬 180 例の臨床的検討 第 25 回日本口腔内科学会学術大会 2015 年 9 月

上杉篤史, 津島文彦, 桜井仁亨, 松本佳奈子, 佐藤 潔, 尾田誠一郎, 原田浩之 口腔扁平苔癬患者におけるカンジダ検出率についての検討 第 60 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2015 年 10 月

上杉篤史, 津島文彦, 桜井仁亨, 佐藤 潔, 安川知里, 原田浩之. シェーグレン症候群の病型と併発病変について. 第 26 回日本口腔内科学会 2016 年 9 月

上杉篤史, 津島文彦, 及川 悠, 望月裕美, 原田浩之: 難治性口腔粘膜潰瘍を契機に腸管ペーチェット病が疑われた 1 例. 第 42 回日本口腔外科学会中部支部学術集会 2017 年 5 月

上杉篤史, 津島文彦, 桜井仁亨, 松本佳奈子, 佐藤 潔, 安川知里, 原田浩之: 舌アミロイドーシスより判明した多発性骨髄腫の 1 例. 第 27 回日本口腔内科学会第 30 回日本口腔診断学会合同学術大会 2017 年 9 月

津島文彦, 桜井仁亨, 安川知里, 佐藤 潔, 松本佳奈子, 上杉篤史, 原田浩之. 経過観察中に抗デスマグレ イン抗体が陽性となり診断し得た尋常性天疱瘡の 2 例. 第 27 回日本口腔内科学会第 30 回日本口腔診断学会合同学術大会 2017 年 9 月

安川知里, 津島文彦, 佐藤 潔, 松本佳奈子, 上杉篤史, 桜井仁亨, 原田浩之: 歯肉および舌に多数の小腫瘤を認めた Cowden 症候群の 1 例. 第 27 回日本口腔内科学会/第 30 回日本口腔診断学会 学術大会 2017 年 9 月

佐藤 潔, 津島文彦, 安川知里, 原田浩之: 頬粘膜に発生した頬皮嚢胞の 1 例. 第 27 回日本口腔内科学会/第 30 回日本口腔診断学会 学術大会 2017 年

9月

樋口佑輔, 角倉可奈子, 大迫利光, 津島文彦, 原田浩之: 口腔限局性粘液症の3例. 第62回日本口腔外科学会学術集会 2017年10月

〔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

津島文彦(TSUSHIMA, Fumihiko)
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号: 90456210

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()