

シェーグレン症候群の病理発生および遺伝子治療に関する基礎研究

今野 明弘 [北海道大学大学院医学研究科比較形態機能学講座解剖学教室/助手]

背景・目的

シェーグレン症候群(SS)は唾液腺・涙腺の障害による乾燥症状(口腔乾燥・乾性角結膜炎)を主徴とする自己免疫疾患である。SSはリンパ球性唾液腺炎・涙腺炎のみを発症する原発性SSと他の自己免疫疾患に続発する二次性SSに大別される。本研究の目的は、原発性SSモデルであるIQI/Jicマウスを材料に初期相における抗原提示細胞(APC)を同定し、SS遺伝子治療の標的となる、自己反応性T細胞の活性化に関わる共刺激分子とサイトカインを明らかにすることと、得られた結果から、遺伝子治療実験のアデノウイルス・ベクターを作製することにある。

内容・方法

- 1) SS初期相の病理発生
 - i. 材料:4週齢、8週齢、12週齢の雌雄IQIマウスの大唾液腺および涙腺を病理組織学的、免疫組織化学的、およびRT-PCR法による分子生物学的研究に供した。
 - ii. 免疫組織化学:APCの同定には抗原提示分子MHC class IIと共刺激分子B7-1、B7-2およびALCAM(CD6 ligand)を、樹状細胞(DC)の同定にはCD11cを、リンパ球サブセットの分類にはB220、CD4およびCD8をマーカーにして、組織酵素抗体法と蛍光抗体二重染色法を行った。
 - iii. RT-PCR法:下顎腺および涙腺を材料にTh1/Th2サイトカインmRNAのRT-PCR法を行った。
- 2) CD6-Ig発現アデノウイルス・ベクターの作製(継続中)
COS-TPC法によるマウスCD6・ヒトIgG融合蛋白発現アデノウイルス・ベクターの作製のため、マウスCD6細胞外領域およびヒトIgG1定常域cDNAをコスミドに挿入した。
現在、293細胞で組換えアデノウイルスを作製中である。

結果・成果

限局性リンパ球浸潤巣(focal lymphocytic infiltration: FLI)は雌マウスでは8週齢の下顎腺に、雄マウスでは同じく8週齢の涙腺に初めて観察された。12週齢では、雌・下顎腺および雄・涙腺のFLIは数および細胞数ともに軽度増加していた。

FLIの認められなかった4週齢の雌・下顎腺および雄・涙腺

の間質には、MHC class II⁺ CD11c⁺ DCが散在性に分布するとともに、小型の細胞集塊(クラスター)を形成していた。クラスターを形成するDCはB7-2陽性を示し、成熟(活性化型)DCであった。

8週齢・雌・下顎腺および雄・涙腺のFLIの細胞構成は、B細胞(B220⁺)とCD4⁺T細胞がほぼ同数またはCD4⁺T細胞が軽度に優位で、CD8⁺細胞は稀であった。12週齢では、B細胞数が有意に増加していた。病巣内の浸潤細胞のほとんどはMHC class II陽性を示したが、病巣内の導管および腺房細胞にも明瞭なMHC class II陽性像が観察された。

8-12週齢マウスの下顎腺病巣および涙腺病巣内では、B7-2⁺ DCが細胞突起を伸ばしてネットワークを形成しており、その間隙を埋めるようにCD4⁺T細胞が分布していた。また、8週齢の雌・下顎腺および雄・涙腺には、少数のCD4⁺T細胞がDCクラスター近傍に浸潤している所見が得られ、リンパ球浸潤を伴わないDCクラスターと明瞭なFLIの移行像と考えられた。もう一つの共刺激(接着)分子ALCAMは下顎腺と涙腺の導管および腺房上皮に恒常的に発現しており、FLIの導管・腺房上皮はMHC class IIとALCAMを共発現していることが示された。

RT-PCR法では、FLIが認められた8-12週齢の雌・下顎腺および雄・涙腺にのみ、IL-12とIFN- γ のPCR産物が確認された。同腺組織においてIL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-1 β は検出限界未満であった。

以上の結果より、自己免疫性下顎腺炎・涙腺炎の発現前にDCが腺組織においてクラスターを形成し、そこに初めにCD4⁺T細胞が、続いてB細胞が浸潤してFLIが形成されることと、初期病巣ではDC-CD4⁺T細胞間のB7-2-CD28 pathwayが介在したTh1応答が起きており、病変形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、病巣内上皮細胞はDCに続くsecondary APCとして機能し、CD4⁺T細胞の活性化に関与するものと考えられた。

今後の展望

現在、SSエフェクター相における主要なAPCはB7⁺上皮細胞とする考えが一般的であるが、初期相において最も重要なprimary APCはB7-2⁺DCである可能性が高く、DCにより注意を向けた研究がSSの発症メカニズムの解明に重要である。また、本研究課題の実施期間中に動物実験にまで進めなかったが、ALCAM-CD6結合阻止がsecondary APCと考えられる上皮細胞によるCD4⁺T細胞の活性化とCD4⁺T細胞の上皮への接着を抑制できる可能性があり、ウイルス・ベクターによる遺伝子治療実験に期待できる。