

令和 2 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19597

研究課題名(和文)モデルマウスを用いたIgG4関連疾患における線維化・硬化病態の解明と治療法の確立

研究課題名(英文)Elucidation of pathophysiology of fibrosis and sclerosis and establishment of treatment in IgG4-related disease using model mouse

研究代表者

水島 伊知郎(Mizushima, Ichiro)

金沢大学・附属病院・特任助教

研究者番号：50645124

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、IgG4関連疾患における線維化・硬化病態について、ヒト組織検体やモデルマウスであるLAT Y136F変異マウスを用いて検討した。ヒト臓器病変の線維化・硬化について、解剖学的部位によりコラーゲンの型が異なること、線維化・硬化進展に伴い線維性コラーゲンであるⅠ型コラーゲンが増加することを見出した。B細胞活性化・形質細胞分化を促進するAPRILと病理組織との関連を検討し、線維化に關与するM2マクロファージがAPRILを産生し、病理像形成に寄与することを示した。LAT Y136F変異マウスにおいて、週齢とともに各臓器病変線維化スコアの上昇を確認し、病変局所のAPRIL発現が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgG4関連疾患は原因不明の全身性炎症性疾患であり、組織学的に特異な線維化・硬化を呈し、それに伴い長期的には不可逆的な機能障害を呈する。ヒトIgG4関連疾患組織検体において、同じ臓器内においても血管周囲や腎皮質などの解剖学的部位により線維化・硬化を形成するコラーゲンのタイプが異なること、また病態の進展により線維性コラーゲンが増加してくることから、病変、病期にあわせて線維化・硬化の治療標的が異なることが示唆された。また、モデルマウスであるLAT Y136F変異マウスの病変局所において、線維化の進展、ヒトと共通するサイトカインの産生亢進が確認され、本マウスを用いた更なる検討の妥当性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, using human specimens from affected organs and LAT Y136F knock-in mouse as model mouse, we investigated pathophysiology of fibrosis and sclerosis in IgG4-related disease (IgG4-RD). We have clarified the differences of types of collagen according to the anatomical locations and increase of fibril-forming collagens (collagen I and III) in parallel with progression of fibrosis and sclerosis. We have also clarified that M2 macrophages, that are implicated in fibrosis in IgG4-RD, produce APRIL promoting activation, proliferation, and survival of B lymphocytes and plasma cells, and contribute to the formation of characteristic pathology. In LAT Y136F knock-in mouse, we have found an increase of fibrosis score as mouse got older and enhanced expression of APRIL in affected organs.

研究分野：リウマチ・膠原病

キーワード：IgG4関連疾患 線維化 モデルマウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患(以下 IgG4-RD)は、臓器の腫大・肥厚、血清 IgG4 高値、組織の IgG4 陽性形質細胞浸潤および線維化を特徴とする原因不明の全身性炎症性疾患であり、治療はステロイド投与が第一選択である。申請者らは IgG4 関連腎臓病(IgG4-RKD)におけるステロイド治療後経過について組織学的(Mizushima I. Clinical and histological changes associated with corticosteroid therapy in IgG4-related tubulointerstitial nephritis.)、臨床的()に検討し、短期的な治療反応は良好だが多くの症例で線維化・硬化病変の進展に伴って機能障害、腎萎縮を残すことを報告した。唾液腺においても線維化と機能障害の関連が報告されており、IgG4-RD の予後改善のためには線維化・硬化進展機序の解明とそれを効果的に抑制する治療法の確立が重要と考えられるが、本疾患における線維化・硬化の病態・機序や有効な治療法は不明な点が多い。

2. 研究の目的

当グループで保有している IgG4 関連疾患組織検体や、Th2 優位の免疫反応とリンパ増殖性疾患を起こし IgG4 関連疾患モデルマウスである LAT Y136F 変異マウスを用いて、各臓器病変における線維化・硬化の進展機序の解明、効果的な線維化・硬化抑制治療の解明のための基礎的な知見を得ることを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

ヒト IgG4 関連疾患組織検体として、IgG4 関連腎臓病患者の腎組織、IgG4 関連唾液腺炎患者の唾液腺組織を用いた。HE 染色、PAM 染色、Masson's trichrome (MT)染色にて線維化の Stage(A B C D)の順で線維化が進展)を評価した。

腎組織において、コラーゲン、フィブロネクチン、 α -SMA に対する抗体を用いて免疫染色を行った。線維化の Stage ごと、また解剖学的部位ごとに、優位に染色されるコラーゲンの型について評価した。また、線維化の Stage ごとの α -SMA 陽性細胞数を評価した。

サイトカインに関する検討として、TGF- β 1、APRIL に対する抗体を用いて免疫染色を行った。APRIL に対する抗体については、産生細胞に認識する Stalk-1 と、可溶性 APRIL を認識する Aprily-8 を用いた。各種細胞表面マーカー(CD4、CD8、CD20、CD138、CD68、CD163)との二重染色も行い、産生細胞の検討を行った。APRIL の検討においては、シェーグレン症候群の間質性腎炎組織を腎病変のコントロールに、唾石症の組織を唾液腺病変のコントロールに用いた。

D2-40 に対する抗体を用いてリンパ管上皮を染色し、腎組織におけるリンパ管新生を評価した。

LAT Y136F 変異マウスにおいて、脾、腎、唾液腺、肺の組織にて HE 染色、Azan 染色を行い、炎症細胞浸潤、線維化を評価した。副腎皮質ステロイド投与による炎症細胞浸潤、線維化への影響を評価した。また、抗 APRIL 抗体による免疫染色を行った。

4. 研究成果

(1) 病変の解剖学的部位、また線維化の Stage による、沈着コラーゲンの型の差異

IgG4 関連腎臓病剖検症例 5 例の腎組織において、リンパ球形質細胞浸潤と線維化は主に腎皮質と腎血管周囲に認められた。腎皮質の花筈状線維化といわれる線維化・硬化病変と血管周囲病変における線維化・硬化病変とではコラーゲンの成分が異なり、線維形成性コラーゲン(type I, III, V)は血管周囲や神経周囲に特徴的であり、基質型コラーゲン (type II, IV) は皮質に特徴的に分布していた。また、腎皮質においても線維化・硬化の進展に伴い線維性コラーゲンである III 型コラーゲンが増加していた。病変局所に浸潤する α -SMA 陽性細胞数は線維化の Stage が進行するほど減少していた。

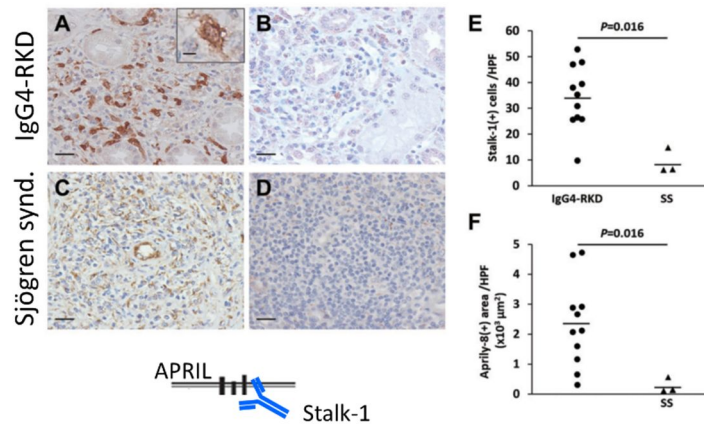
Location/Stages	Stage A	Stage B	Stage C	Stage D
被膜内	Negative	—	—	Col I, FN
被膜下	Negative	FN	—	FN
皮質	Negative	Col IV, VI, FN	Col III, IV, VI, FN	Col III, IV, VI, FN
血管周囲	Negative	Col I, III, IV, VI, FN	—	Col I, III, VI, FN
神経周囲	Negative	Col I, III	—	—
髄質	—	—	—	—

(2) 病変局所における TGF- β 1 の産生

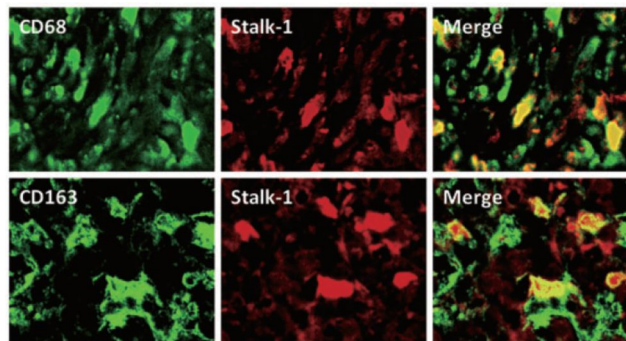
本疾患の線維化・硬化病態に重要と考えられる TGF- β 1 について、ヒト検体を用いた免疫染色を行ったが、陽性細胞は極めて稀少であり、線維化の進行度との関連を統計学的に検討できるほどの浸潤ではなかった。

(3) 病変局所における APRIL の産生と、その産生細胞

ヒト腎・唾液腺臓器標本を用いて、B 細胞の活性化・増殖・形質細胞への分化を促進するサイトカインである APRIL の発現を検討した。コントロール疾患と比較し、病変局所の APRIL 高発現を認めた。



APRIL 産生細胞を二重染色にて検討したところ、線維化への関与が指摘されている M2 マクロファージによる APRIL 産生が確認された。さらに、ステロイド治療による明らかな APRIL 発現低下を認め、本疾患の病理像形成に M2 マクロファージが重要であることが示唆された。

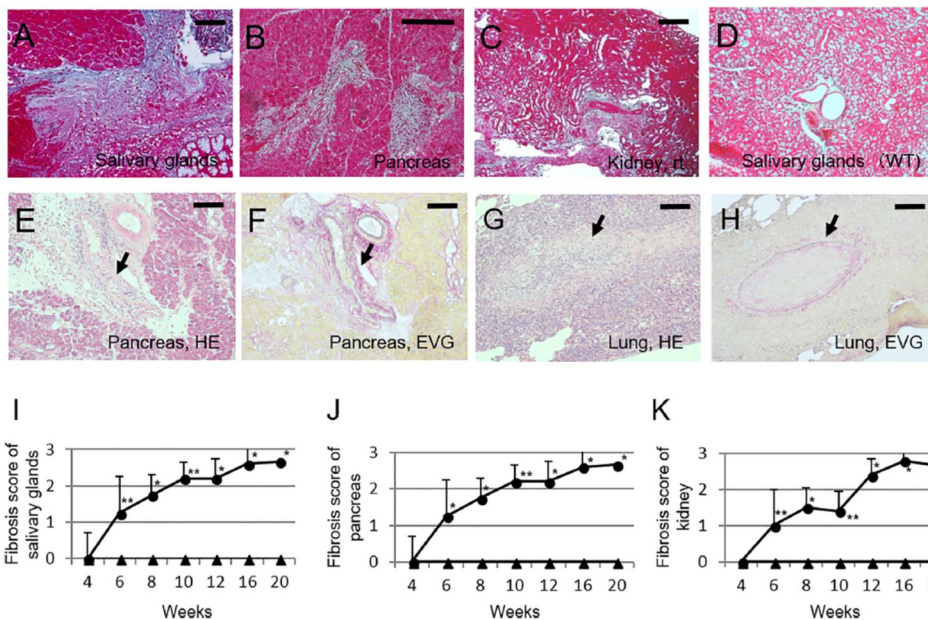


(4) 腎病変におけるリンパ管増生

IgG4 関連腎臓病の間質においてリンパ管増生を認め、線維化・硬化の Stage との関連について解析し、関連は有意ではなかったが、検体数を増やしさらに検討している。

(5) LAT Y136F 変異マウスにおける線維化

LAT Y136F 変異マウスについて、週齢を重ねるにつれ各臓器病変において線維化スコアが上昇してくることを確認した。また、抗 APRIL 抗体による免疫染色にて、病変局所の APRIL 発現が確認された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Kawakami T, Mizushima I, Yamada K, Fujii H, Ito K, Yasuno T, Izui S, Yamagishi M, Huard B, Kawano M.	4. 巻 34
2. 論文標題 Abundant a proliferation-inducing ligand (APRIL)-producing macrophages contribute to plasma cell accumulation in immunoglobulin G4-related disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nephrology Dialysis Transplantation	6. 最初と最後の頁 960-969
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ndt/gfy296.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Mizushima I, Tsuge S, Fujisawa Y, Hara S, Suzuki F, Ito K, Fujii H, Yamada K, Kawano M.	4. 巻 59
2. 論文標題 Different factors underlie recurrent and de novo organ involvement in immunoglobulin G4-related disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology (Oxford)	6. 最初と最後の頁 513-518
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/kez321.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wallace ZS, Naden RP, Chari S, Choi HK, Della-Torre E, Dicaire JF, Hart PA, Inoue D, Kawano M, Khosroshahi A, Lanzillotta M, Okazaki K, Perugino CA, Sharma A, Saeki T, Schleinitz N, Takahashi N, Umehara H, Zen Y, Stone JH; Members of the ACR/EULAR IgG4-RD Classification Criteria Working Group.	4. 巻 79
2. 論文標題 The 2019 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for IgG4-related disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 77-87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/annrheumdis-2019-216561.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Mizushima I, Kasashima S, Fujinaga Y, Notohara K, Saeki T, Zen Y, Inoue D, Yamamoto M, Kasashima F, Matsumoto Y, Amiya E, Sato Y, Yamada K, Domoto Y, Kawa S, Kawano M, Ishizaka N.	4. 巻 12
2. 論文標題 Clinical and Pathological Characteristics of IgG4-Related Periaortitis/Periarteritis and Retroperitoneal Fibrosis Diagnosed Based on Experts' Diagnosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Vascular Diseases	6. 最初と最後の頁 460-472
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3400/avd.oa.19-00085.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mizushima I, Kasashima S, Fujinaga Y, Kawano M, Ishizaka N.	4. 巻 29
2. 論文標題 IgG4-related periaortitis/periarteritis: An under-recognized condition that is potentially life-threatening.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 240-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2018.1546367.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizushima I, Yamada K, Harada K, Matsui S, Saeki T, Kondo S, Takahira M, Waseda Y, Hamaguchi Y, Fujii H, Yamagishi M, Kawano M.	4. 巻 28(2)
2. 論文標題 Diagnostic sensitivity of cutoff values of IgG4-positive plasma cell number and IgG4-positive/CD138-positive cell ratio in typical multiple lesions of patients with IgG4-related disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 293-299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2017.1332540.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara S, Kawano M, Mizushima I, Harada K, Takata T, Saeki T, Ubara Y, Sato Y, Nagata M.	4. 巻 55
2. 論文標題 Distribution and components of interstitial inflammation and fibrosis in IgG4-related kidney disease: Analysis of autopsy specimens	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 164-173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2016.05.010.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizushima I, Yamamoto M, Inoue D, Nishi S, Taniguchi Y, Ubara Y, Matsui S, Yasuno T, Nakashima H, Takahashi H, Yamada K, Nomura H, Yamagishi M, Saito T, Kawano M.	4. 巻 18(1)
2. 論文標題 Factors related to renal cortical atrophy development after glucocorticoid therapy in IgG4-related kidney disease: a retrospective multicenter study.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計37件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 13件）

1. 発表者名 水島伊知郎, 小西正紘, 眞田創, 鈴木一如, 竹治明梨, 原怜史, 伊藤清亮, 川根隆志, 藤井博, 山田和徳, 川野充弘
2. 発表標題 無治療のIgG4関連疾患患者における疾患増悪に関連する因子の検討
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masahiro Konishi, Ichiro Mizushima, Hajime Sanada, Kazuyuki Suzuki, Akari Takeji, Satoshi Hara, Kiyooki Ito, Hiroshi Fujii, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Involvement of two or more sets of lacrimal glands and/or major salivary glands is related to higher systemic disease activity in IgG4-related dacryoadenitis/sialadenitis
3. 学会等名 EULAR 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水島伊知郎, 山田和徳, 山本元久, 佐伯敬子, 松井祥子, 谷悠紀子, 原怜史, 伊藤清亮, 藤井博, 川茂幸, 川野充弘
2. 発表標題 大規模コホートデータを用いたIgG4関連疾患における低補体血症に関連する因子の検討
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水島伊知郎, 山田和徳, 山本元久, 佐伯敬子, 松井祥子, 谷悠紀子, 原怜史, 伊藤清亮, 藤井博, 川茂幸, 川野充弘
2. 発表標題 IgG4関連腎臓病の低補体血症に対するIgG4以外のIgGサブクラスの関与
3. 学会等名 第61回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Nobuhiro Suzuki, Misaki Yoshida, Akari Takeji, Takahiro Matsunaga, Takeshi Zoshima, Satoshi Hara, Kiyooki Ito, Hiroshi Fujii, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Serum IgG4 levels at diagnosis can predict the outcomes of untreated patients with IgG4-related disease: a retrospective study
3. 学会等名 EULAR 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Kazunori Yamada, Satoshi Hara, Kiyooki Ito, Hiroshi Fujii, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Factors Related to Deterioration of IgG4-Related Disease in Untreated Patients with IgG4-Related Disease
3. 学会等名 ACR 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水島 伊知郎、川野 充弘、石坂 信和
2. 発表標題 Large vessel vasculitis as a manifestation of IgG4-related disease
3. 学会等名 第83回 日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水島 伊知郎、柘植 俊介、藤澤 雄平、原 怜史、鈴木 華恵、伊藤 清亮、會津元彦、藤井 博、山田 和徳、川野 充弘
2. 発表標題 IgG4関連疾患の既存病変再燃、新規病変出現に関与する因子の差異
3. 学会等名 第61回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水島 伊知郎、川野 充弘
2. 発表標題 IgG4関連腎症・血管炎・後腹膜線維症
3. 学会等名 第61回日本リウマチ学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Syunsuke Tsuge, Yuhei Fujisawa, Satoshi Hara, Fae Suzuki, Kiyooki Ito, Hiroshi Fujii, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Different factors are related to recurrence of existing organ involvement and new development of organ involvement in IgG4-related disease
3. 学会等名 EULAR 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuhei Fujisawa, Ichiro Mizushima, Syunsuke Tsuge, Satoshi Hara, Fae Suzuki, Kiyooki Ito, Hiroshi Fujii, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Hypocomplementemia is related to elevated serum levels of IgG subclasses other than IgG4 in IgG4-related kidney disease
3. 学会等名 EULAR 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shunsuke Tsuge, Ichiro Mizushima, Yuhei Fujisawa, Satoshi Hara, Fae Suzuki, Kiyooki Ito, Hiroshi Fujii, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Diagnostic sensitivity of cutoff values of IgG4-positive plasma cell number and IgG4-positive/CD138-positive cell ratio in typical multiple lesions of patients with IgG4-related disease
3. 学会等名 EULAR 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Kazunori Yamada, Motohisa Yamamoto, Takako Saeki, Shoko Matsui, Satoshi Hara, Hiroki Takahashi, Hideki Nomura, Shigeyuki Kawa, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Hypocomplementemia is Closely Related to IgG Subclasses Other than IgG4 in IgG4-Related Disease.
3. 学会等名 ACR 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水島伊知郎、山本元久、山田和徳、谷口義典、乳原善文、松井祥子、中島衡、西慎一、川野充弘
2. 発表標題 IgG4関連腎臓病におけるステロイド治療後の腎萎縮出現に關与する因子の検討
3. 学会等名 第60回日本リウマチ学会総会・學術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 水島伊知郎、山本元久、山田和徳、谷口義典、乳原善文、松井祥子、中島衡、西慎一、川野充弘
2. 発表標題 IgG4関連腎臓病においてステロイド治療前の腎機能障害が治療後腎萎縮出現に与える影響
3. 学会等名 第59回日本腎臓学会學術総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 水島伊知郎、笠島里美、山本元久、佐伯敬子、山田和徳、井上大、笠島史成、松本康、網谷英介、能登原憲司、佐藤康晴、全陽、川茂幸、川野充弘、石坂信和
2. 発表標題 IgG4関連動脈周囲炎/後腹膜線維症の臨床像に關する多施設共同研究：99例の解析
3. 学会等名 第25回日本シェーグレン症候群学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 水島伊知郎、川野充弘
2. 発表標題 IgG4関連心血管病変の臨床像と診断基準，内科的治療
3. 学会等名 第57回日本脈管学会総会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Satomi Kasashima, Motohisa Yamamoto, Takako Saeki, Kazunori Yamada, Dai Inoue, Fuminori Kasashima, Yasushi Matsumoto, Eisuke Amiya, Kenji Notohara, Yasuharu Sato, Yoh Zen, Shigeyuki Kawa, Mitsuhiro Kawano, Nobukazu Ishizaka
2. 発表標題 Clinical and Laboratory Features of IgG4-Related Retroperitoneal Fibrosis/Periarteritis in Japan: Retrospective Multicenter Study of 99 Cases
3. 学会等名 ACR 2016（国際学会）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Motohisa Yamamoto, Dai Inoue, Shinichi Nishi, Yoshinori Taniguchi, Yoshifumi Ubara, Shoko Matsui, Tetsuhiko Yasuno, Hitoshi Nakashima, Hiroki Takahashi, Kazunori Yamada, Hideki Nomura, Masakazu Yamagishi, Takao Saito, and Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Factors related to renal cortical atrophy development after glucocorticoid therapy in IgG4-related kidney disease
3. 学会等名 The 3rd International Symposium on IgG4- Related Disease（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ichiro Mizushima, Mitsuhiro Kawano
2. 発表標題 Vessel Involvement in IgG4-Related Disease: A Comparison of Vessel-Limited Cases with Multiple-Organs-Involved Cases
3. 学会等名 第81回 日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----