

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09142

研究課題名(和文) IgG4関連血管病変の標的部位によるTLRサブタイプ分布の相違

研究課題名(英文) The difference in TLR subtype distribution depending on the target site of IgG4-related vascular lesion

研究代表者

笠島 里美 (Kasashima, Satomi)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：20444200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：巨細胞性関節炎(GCA)及び高安動脈炎(TAK)は典型的な大血管炎，IgG4関連血管病変(IgG4-VD)は、血清IgG4高値とIgG4陽性形質細胞浸潤を示す炎症性血管病変である。いずれも原因不明の血管病変であり、好発血管部位はGCA、TAK、IgG4-VDで異なる。また、Toll様受容体(TLRs)は炎症性サイトカイン産生の誘導や樹状細胞の成熟化を行う自然免疫系のセンサーであり、ヒトでは10種類のサブタイプが同定されている。本研究では、TLRsは正常血管の部位や血管壁の層毎に分布が異なっており、正常血管におけるTLRsの分布と血管病変の好発部位との関連性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgG4-RDは腫瘍形成性病変であり、血管領域に発生するIgG4-RDがIgG4関連血管病変(IgG4-VD)である。IgG4-VD患者数は1万人程度である。IgG4-VDは動脈解離、動脈破裂を発生し時に致死性であり、適切な診断が必要である。大血管発症の巨細胞性関節炎(GCA)及び高安動脈炎(TAK)とIgG4-VDは、好発血管領域、動脈壁内部は異なるが、鑑別が問題になる場合が多く、いずれも原因不明である。本研究では、自然免疫に関わるTLRsの分布が正常血管では部位毎に異なり、これと各血管病変の好発部位との関係性が示された。原因不明の血管病変の原因解明にも繋がる新知見である。

研究成果の概要(英文)：Giant cell arthritis (GCA) and Takayasu's arteritis (TAK) are typical large vessel vasculitis, and IgG4-related vascular lesions (IgG4-VD) are inflammatory vascular lesions with high serum IgG4 and IgG4-positive plasma cell infiltration. All these are vascular lesions of unknown cause, and the common sites differ among GCA, TAK, and IgG4-VD. Toll-like receptors (TLRs) are sensors of the immune system that induce inflammatory cytokine production and maturation of dendritic cells, and 10 types have been identified in humans. In this study, the distribution of TLRs differed depending on the location of normal blood vessels and the layers of the vascular wall, and suggested a relationship between the distribution of TLRs in normal blood vessels and the frequent sites of vascular lesions.

研究分野：人体病理学

キーワード：IgG4関連疾患 IgG4関連血管病変 大血管炎 自然免疫 Toll-like 受容体

1. 研究開始当初の背景

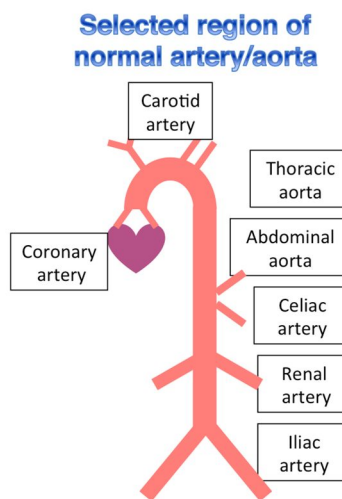
IgG4 関連疾患は全身性の多臓器に同時性、異時性に腫瘍形成を示し、血清 IgG4 値上昇、組織でのリンパ球形質細胞浸潤と IgG4 陽性細胞浸潤を特徴とし、高齢男性に多く、近年、患者数も増加している。血管周囲性の肥厚、炎症を示す炎症性大動脈瘤は 1970 年代に報告されましたが、その半数が IgG4 関連疾患 (IgG4 関連血管病変 IgG4-VD) であると報告された。現在、IgG4-VD は多くの大中型血管で発症する事が報告されているが、腹部大動脈が最も好発部位である。

血管炎は発生する血管のレベルで分類され、大血管病変としては、巨細胞性関節炎 (Giant Cell Arteritis: GCA) 及び高安動脈炎 (Takayasu Arteritis: TAK) 巨細胞性大動脈炎、高安動脈炎が挙げられる。これらの大血管炎と IgG4-VD は、好発血管領域、動脈壁の好発部位は異なっているがその理由は不明な点が多い。

自然免疫系では、病原体などの構成物質を見分け、サイトカイン誘導等を行う受容体として Toll-like 受容体 (TLR) があり、主に自然免疫に関わり、人では 10 種類が報告されている。GCA と TAK の好発血管部位の差異については、正常血管における TLR の分布の差異が報告されている。IgG4-VD ではヘルパー T 細胞などの免疫異常が報告されており、その上位調整機構として、樹状細胞の免疫異常が指摘されており、特に TLR7, TLR 9 を発現する形質細胞様樹状細胞 (plasmacytic dendritic cell; pDC) が注目されている。

2. 研究の目的

TLR サブタイプの大血管の領域毎の差異や壁内の差異については詳細なデータはない。今回、正常血管及び大血管病変における TLR の種類及び分布を詳細に検討し、大血管病変の好発領域との関連性を検討した。



3. 研究の方法

3-1) 対象

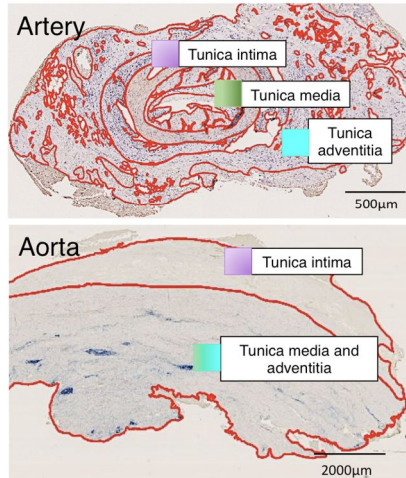
(1) 正常血管 (15 例) は大中血管 20 カ所を作成し、最終的には 8 カ所 (胸部大動脈、腹部大動脈、頸動脈、冠動脈、腎動脈、腹部第一分枝、腸骨動脈) としてまとめた。

(2) 血管病変は GCA 11 例の側頭動脈、TAK 4 例の胸部大動脈、IgG4-VD 12 例の腹部大動脈、非 IgG4 関連炎症性大動脈脈流 (non-IgG4-IAAA) 10 例の腹部大動脈を対象とした。

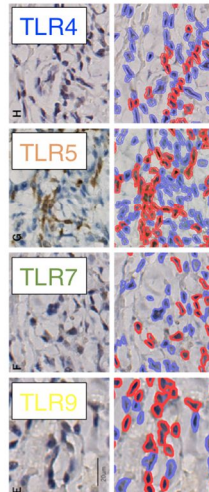
Cases	GCA (11 cases)	TAK (4 cases)	IgG4-VD (12 cases)	Non-IgG4 IAAA (10 cases)
Age (year)	76.45	50.75	68.08	68.2
Gender (M/ F)	4 / 7	0 / 4	12 / 0	8 / 2
CRP (mg/dL)	6.56	1.15	0.7	0.2
WBC (x10 ⁻³ /μL)	7.1	8.9	7.4	7.4
IgG (mg/dL)	1482	NE	1200	1300
IgG4 (mg/dL)	62.25	NE	101.2	26.8

Methods Whole slide analysis of aorta/artery wall

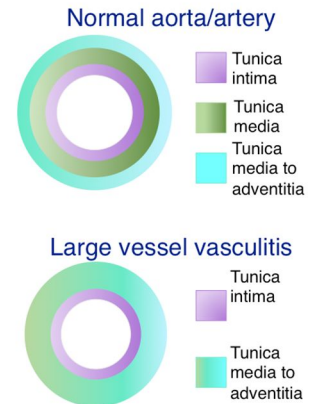
Annotation of detected area



QuPath detection of TLRs



Region of wall of artery/aorta



3-2) TLRs の免疫組織化学とその評価

既存の報告で血管での出現が確認されている TLR4, TLR5, TLR7, TLR9 の免疫組織化学染色を行い,その標本をナゾーマーで取り込みバーチャルスライドを作製した.各血管壁での領域設定は,正常血管では,内膜/中膜/外膜の3層を,血管病変では,中膜の破壊が強く外膜と区分できない例が多い事から,内膜/中外膜を区分した.

免疫染色の陽性細胞は画像解析ソフト QuPath を用いて陽性閾値を設定し,領域全体の陽性細胞数,面積を算定し,領域毎に面積当りの各 TLR の陽性細胞数を算定した.

3-3) TLR7 陽性 pDC

TLR7 陽性 pDC の存在を dual In situ hybridization RNA scope で検討した

4. 研究成果

1) 正常血管での TLRs 分布

正常血管では,全血管中膜の TLR4 数,腹部大動脈外膜の TLR5 数,腹部大動脈外膜の TLR7 数が有意に多数であったが,TLR9 の発現は見られなかった.

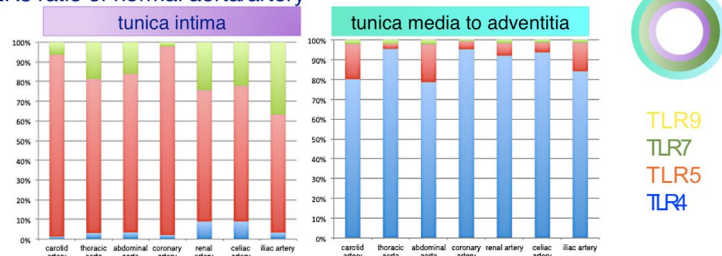
各 TLR の比率で見ると,内膜では TLR5 が高く,特に頸部動脈 TLR5 の比率が高く,中外膜 TLR4 が高い傾向であった.

Distribution of TLRs in normal aorta/artery

TLRs counts of normal aorta/artery

	tunica intima				tunica media				tunica adventitia			
	TLR4	TLR5	TLR7	TLR9	TLR4	TLR5	TLR7	TLR9	TLR4	TLR5	TLR7	TLR9
Carotid artery	0.019	1.509	0.104	0.000	5.763	1.081	0.237	0.000	0.005	0.584	0.011	0.000
Thoracic aorta	0.023	0.575	0.137	0.000	7.411	0.255	0.153	0.000	0.004	0.553	0.056	0.000
Abdominal aorta	0.013	0.293	0.059	0.000	11.457	2.123	0.281	0.000	0.006	1.028	0.227	0.000
Coronary artery	0.015	0.698	0.016	0.000	8.824	0.191	0.067	0.000	0.002	0.083	0.063	0.000
Renal artery	0.022	0.170	0.062	0.000	9.034	0.359	0.255	0.000	0.003	0.122	0.002	0.000
Celiac artery	0.024	0.184	0.059	0.000	7.963	0.337	0.103	0.000	0.007	0.251	0.078	0.000
Iliac artery	0.005	0.095	0.058	0.000	8.966	1.600	0.087	0.000	0.006	0.366	0.015	0.000

TLRs ratio of normal aorta/artery



2) 血管病変での TLRs 分布
GCA では炎症が激しいためか、全ての TLRs が多数浸潤しているが、比率には特徴に乏しかった。

TKA では内膜、中外膜の TLR4 数が多数であり、内膜、中外膜の TLR4 の比率でも有意に高かった。

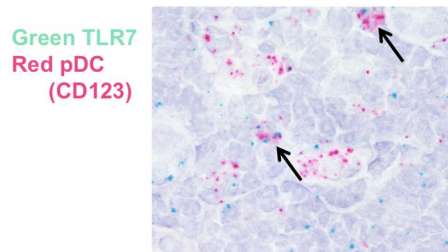
IgG4-VD では内膜、中外膜の TLR7 数が有意に高く、特に外膜 TLR7 数が多く、

比率も高かった。TLR9 は各疾患で陽性細胞が見られ、GCA, TAK の中外膜で多数存在し、比率も高かった。IgG4-VD 外膜で、TLR7 陽性 pDC を多数認めた。

3) TLR7 陽性 pDC

TLR7 と C1D23 (pDC マーカー) の dual In situ hybridization RNAs cope では、IgG4-VD では TLR7 陽性 pDC が多数存在していた

RNA scope mRNA in situ hybridization



結論: TLRs は正常血管の部位や血管壁の層毎に分布が異なっていた。正常胸部大動脈内膜の TLR4 が多く、TKA の胸部大動脈でも内膜の TLR4 が多かった。正常腹部大動脈では中外膜の TLR7 が多く、IgG4-VD も腹部大動脈の中外膜の TLR7 が多かった。GCA は炎症細胞浸潤が強く TLR が全て高く、部位との関係性が不明であった。

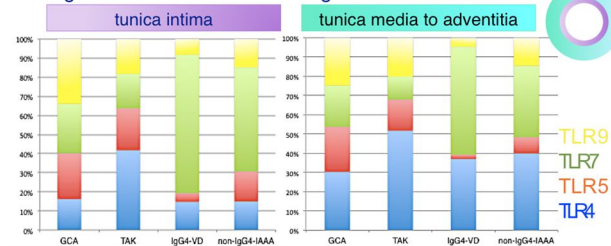
正常血管における TLRs の分布と血管病変の好発部位との関連性が示唆された。

Distribution of TLRs in large vessel vasculitis

TLRs counts of large vessel vasculitis of damaged site

(/ $\mu\text{m}^2 \times 10^4$)	tunica intima				tunica media to adventitia			
	TLR4	TLR5	TLR7	TLR9	TLR4	TLR5	TLR7	TLR9
GCA	8.83	13.18	14.15	18.52	15.06	13.18	10.66	12.25
TAK	3.33	1.75	1.44	1.46	7.29	1.75	1.67	2.84
IgG4-VD	0.06	0.02	0.30	0.03	2.37	0.02	8.14	1.85
non-IgG4-IAAA	0.04	0.04	0.15	0.04	1.07	0.04	0.99	0.38

TLRs ratio of large vessel vasculitis of damaged site



Comparison of frequent TLRs

	normal aorta/artery		vasculitis		
	tunica intima	tunica adventitia	tunica intima	tunica adventitia	
Carotid artery	TLR5	TLR4 TLR5	TLR4 TLR5 TLR7 TLR9	TLR4 TLR5 TLR7 TLR9	GCA
Thoracic aorta	TLR5	TLR4 TLR5	TLR4 TLR5 TLR9	TLR4 TLR5 TLR9	TKA
Abdominal aorta		TLR4 TLR5 TLR7		TLR4 TLR7	IgG4-VD

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsumoto Yasushi, Kasashima Satomi, Kasashima Fuminori	4. 巻 114
2. 論文標題 Ultrasonic Wave Pericardiectomy for IgG4-Related Constrictive Pericarditis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Annals of Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 e327 ~ e329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.athoracsur.2021.12.065	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 Kasashima Satomi, Kawashima Atsuhiko, Kurose Nozomu, Ozaki Satoru, Ikeda Hiroko, Harada Kenichi	4. 巻 481
2. 論文標題 The disturbance of the distribution of T helper cell subsets in the mantle area surrounding germinal centers in immunoglobulin G4-related sclerosing sialadenitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 767 ~ 777
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00428-022-03384-7	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 Kasashima S, Kawashima A, Kasashima F, Kurose N, Ozaki S, Ikeda H, Harada K.	4. 巻 479
2. 論文標題 Regional disturbance of the distribution of T regulatory cells and T helper cells associated with irregular-shaped germinal centers in immunoglobulin G4-related sialadenitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 1221 ~ 1232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00428-021-03187-2	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 Notohara K, Kamisawa T, Furukawa T, Fukushima N, Uehara T, Kasashima S, et al	4. 巻 480
2. 論文標題 Concordance of the histological diagnosis of type 1 autoimmune pancreatitis and its distinction from pancreatic ductal adenocarcinoma with endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy specimens: an interobserver agreement study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 565 ~ 575
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00428-021-03236-w	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 Matsumoto Yasushi、Kasashima Satomi、Kasashima Fuminori	4. 巻 -
2. 論文標題 Ultrasonic Wave Pericardiectomy for IgG4-related Constrictive Pericarditis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Annals of Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.athoracsur.2021.12.065	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 笠島史成, 池田知歌子, 松本康, 川島篤弘, 笠島里美
2. 発表標題 大血管病変におけるToll様受容体 (Toll-like receptor) サブセットの関係性
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥田未悠, 笠島里美, 川島篤弘
2. 発表標題 Toll様受容体 (Toll-like receptor) サブセットの分布 ; 正常血管と中・大血管炎比較検討
3. 学会等名 第61回日本臨床検査医学会東海北陸支部総会 第346回日本臨床化学会 東海北陸支部例会連合大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 笠島里美
2. 発表標題 IgG4関連硬化性唾液腺炎における3次性リンパ濾胞形成異常および濾胞性ヘルパーT細胞サブセット不均衡
3. 学会等名 第14回日本IgG4関連疾患学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 笠島里美, 川島篤弘, 黒瀬望, 尾崎聡
2. 発表標題 正常血管におけるToll様受容体亜型の分布と 大・中血管炎好発部位の関連性
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 Fuminori Kasashima Yasushi Matsumoto, Atsuhiko Kawashima, Nozomu Kurose, Satomi Kasashima, Hirofumi Takemura
2. 発表標題 Relationship between the distribution of Toll-like receptor subsets in normal artery/aorta and frequent site of large vessel vasculitis
3. 学会等名 5th international IgG4-related disease (国際学会)
4. 発表年 2023年～2024年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 笠島 里美	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学図書出版社	5. 総ページ数 4
3. 書名 IgG4関連心血管病変（その他のIgG4関連疾患の病態，診断と治療） 胆と膵 vol13. 臨時増刊特大号	

〔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
研究分担者	池田 博子 (Ikeda Hiroko) (10447675)	金沢大学・附属病院・准教授 (13301)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	川島 篤弘 (Kawashima Atsuhiko) (20242563)	独立行政法人国立病院機構（金沢医療センター臨床研究部）・その他部局等・その他 (83301)	
研究分担者	松本 康 (Yasushi Matsumoto) (20262579)	独立行政法人国立病院機構（金沢医療センター臨床研究部）・その他部局等・その他 (83301)	
研究分担者	尾崎 聡 (Satoru Ozaki) (40401921)	金沢大学・保健学系・助教 (13301)	
研究分担者	笠島 史成 (Fuminori Kasashima) (90303304)	独立行政法人国立病院機構（金沢医療センター臨床研究部）・その他部局等・その他 (83301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関