

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 9日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791990

研究課題名（和文）新疾患概念「ミクリッツ病/IgG4 関連疾患」の病因解明に向けての分子生物学的検討

研究課題名（英文）Molecular biological study on the pathogenesis of a novel clinical entity, Mikulicz's disease/IgG4-related disease.

研究代表者

森山 雅文（MORIYAMA MASAFUMI）

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：20452774

研究成果の概要（和文）：

ミクリッツ病（MD）は腺組織の腫脹が特徴であるが、その腫脹した腺組織には胚中心（GC）を多数形成する。最近の報告では、主に濾胞性 Th 細胞（Tfh）が産生する IL-21 が GC 形成や IgG4 産生に重要であるとされている。そこで今回われわれは、MD における IL-21 と GC 形成および IgG4 産生の分化との関連についてシェーグレン症候群（SS）と比較検討を行った。その結果、MD では SS と同様に GC のみに Tfh が発現していたが、IL-21 は口唇腺全体に強い発現を認めた。次に Th2 の局在をみたところ、MD では IL-21 と同様に口唇腺全体に強い発現を認め、Th17 の発現はほとんど認めなかった。さらに、IL-21 について GC 数と IgG4 産生との関連をみたところ、MD のみに正の相関を認めた。

以上の結果より、MD/IgG4 関連疾患の唾液腺病変では Th2 を主体とする IL-21 の過剰産生により GC の形成が促進され、さらに IgG4 産生のクラススイッチが促進され、MD の病態形成に関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Mikulicz's disease (MD) shows a high-frequency GCs formation in the salivary glands. Recent studies reported that IL-21 mainly produced by T follicular (Tfh) cells is provided help to germinal centers (GCs) formation and involved in a class switching of IgG4. In this study, we thus examined the expression of IL-21 in MD and Sjögren's syndrome (SS) patients. As the results, IL-21 and CXCR5 were detected in/around GCs from both SS and MD patients. Interestingly, IL-21 was also detected in infiltrating lymphocytes outside GCs from only MD patients. The expression of Th2-related molecules was similar to that of IL-21, while IL-17 was rarely seen in MD. Furthermore, the expression of IL-21 in the LSGs was correlated with the IgG4/IgG ratio in MD. These results suggest that overexpression of IL-21 by Th2 cells might play a key role in GCs formation and IgG4 production in MD.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

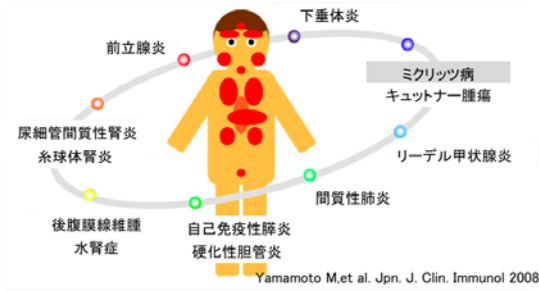
研究分野：歯学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：IgG4 関連疾患、ミクリッツ病、Th サブセット、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

ミクリッツ病(MD)は涙腺や唾液腺の腫脹を特徴とし、病理組織学的類似性があることから、シェーグレン症候群(SS)の一亜型として認識されてきた。しかし近年、MDに高IgG4血症や腺組織へのIgG4陽性形質細胞の浸潤が認められることから、両者が全く異なった機序で生じる疾患であることが示唆されている(下図)。



IgG4は通常Th2サイトカインであるIL-4によって分化・誘導されることが知られているが、MDと同じIgG4関連疾患の1つである自己免疫性膵炎では、Th2だけではなく制御性T細胞(Treg)も病態形成に関与することが報告されている。

2. 研究の目的

MDとSSの口唇腺を用いて、病変局所におけるTh1、Th2、Th17、Treg、濾胞性T細胞(Tfh)に関連するサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプターの発現について検索し、MDにおけるIgG4の産生に関連する分子の検討を行った。

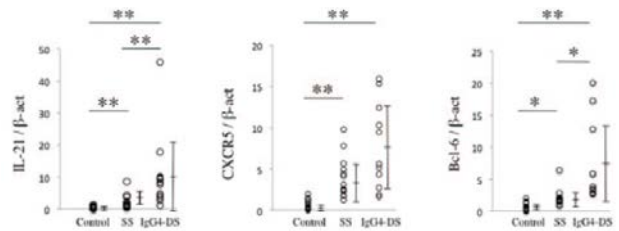
3. 研究の方法

1993年4月から2010年12月までに当科を受診したMD15例、SS18例および健常者18例を対象とした。検討したMD患者は全症例リンパ球浸潤程度が重度であるため、比較対象としたSSも全症例重度の症例を選択した。診断のため採取した生検材料(唾液腺)を用い、IL-21の産生細胞であるTfh、Th2およびTh17の関連分子(サイトカイン、ケモカインレセプター、転写因子)について、免疫組織化学染色およびreal-time PCRにてその発現を解析した。

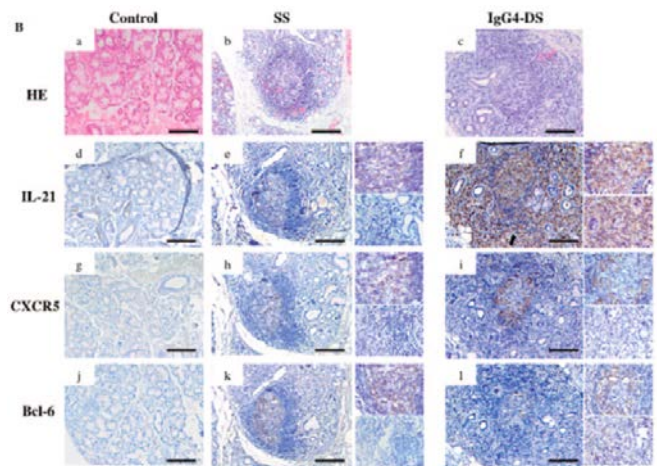
4. 研究成果

Tfh関連分子のmRNA発現をreal-time PCRにて検討したところ、MDの口唇腺(LSG)では、健常者ならびにSSと比較してmRNA発現(IL-21, Bcl-6)が亢進してい

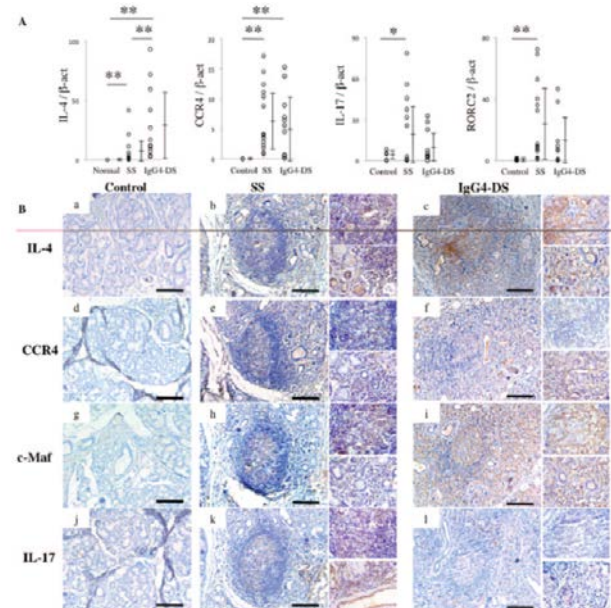
た(下図)。免疫組織化学染色では、SSとMDにおいてGC形成部でIL-21およびTfh関連分子



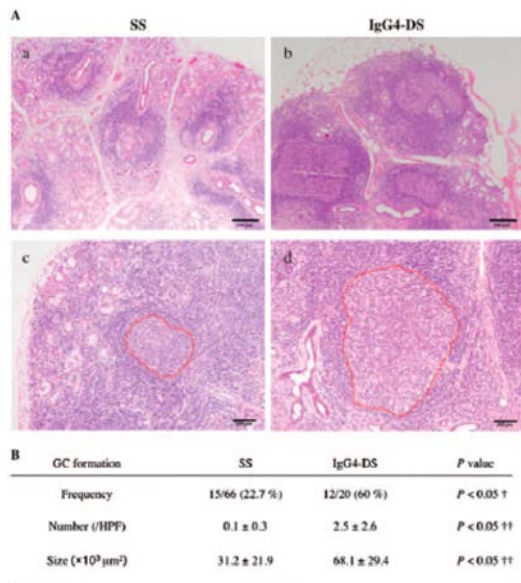
(Bcl-6, CXCR5)の強い発現を認めた。一方MDでは、GCの形成がない病変局所においてもIL-21の強い発現を認めたが、Tfh特異的な分子の発現は認めらず、一方でTh2特異的な分子(c-Maf)の発現を認めた(下図)。



また、MDではTh17の発現はほとんど認めなかった(下図)。



さらに、IL-21 について GC 数と IgG4 産生との関連をみたところ、MD のみに正の相関を認めた。



本研究で得られた以上の結果より、MD は SS と臨床所見および分子生物学的に明らかに異なる病態を呈しており、SS の一亜型ではなく、独立した疾患である可能性が強く示唆された。さらに、MD と SS における GC 形成には Tfh が重要であるが、MD と SS での IL-21 の発現パターンは異なっており、MD では GC 形成だけではなく発症や病態形成にも Th2 が産生する IL-21 が重要な役割を果たしていることが示唆された。

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 8 件)

- (1) Interleukin-21 contributes to germinal centre formation and immunoglobulin G4 production in IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis, so-called Mikulicz's disease. Maehara T, Moriyama M (Corresponding author), et al. *Ann Rheum Dis.* 71:2011-2020, 2012. (査読あり)
→ Highlighted in *Ann Rheum Dis.* 71:1919-20, 2012. (査読あり)
- (2) Th2 and regulatory immune reactions contribute to IgG4 production and the initiation of Mikulicz disease. Tanaka A, Moriyama M, et al. *Arthritis Rheum.*

64(1):254-63, 2012. (査読あり)

→ Highlighted in *Nat Rev Rheumatol* 4:7(11):621, 2011. (査読あり)

- (3) Cytokine/chemokine profiles contribute to understanding the pathogenesis and diagnosis of primary Sjögren's syndrome. Moriyama M, Hayashida JN, et al. *Clin Exp Immunol.* 169(1):17-26, 2012. (査読あり)
- (4) Selective localization of T helper subsets in labial salivary glands from primary Sjögren's syndrome patients. Maehara T, Moriyama M, et al. *Clin Exp Immunol.* 169(2):89-99, 2012. (査読あり)
- (5) Clinical characteristics of Mikulicz's disease as an IgG4-related disease. Moriyama M, Tanaka A, et al. *Clin Oral Invest*, in press, 2012. (査読あり)
- (6) Analysis of IgG4 class switch-related molecules in IgG4-related disease. Tsuboi H, Matsuo N, Iizuka M, Tsubuki S, Kondo Y, Tanaka A, Moriyama M, et al. *Arthritis Res Ther.* 23:14(4):R171, 2012. (査読あり)
- (7) Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjögren's syndrome in Japanese patients. Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, et al. *Mod Rheumatol.* In press, 2012. (査読あり)
- (8) An amplification of IL-10 and TGF-beta in patients with IgG4-related tubulointerstitial nephritis. Nakashima H, Miyake K, Moriyama M, et al. *Clin Nephrol.* 73(5):385-91, 2010. (査読あり)

[学会発表] (計 9 件)

<一般講演>

- (1) IgG4 と免疫疾患 IgG4 関連疾患における IgG4 クラススイッチ関連分子の解析
坪井洋人, 松尾直美, 飯塚麻菜, 中村友美, 田中昭彦, 森山雅文, 他
第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会・
- (2) ドライマウスにおけるシェーグレン症候群の鑑別診断
田中昭彦, 森山雅文, 他
第 56 回 日本口腔外科学会総会・学術大会
- (3) シェーグレン症候群の病変局所における Th サブセットの局在に関する検討
前原隆, 森山雅文, 他
第 56 回 日本口腔外科学会総会・学術大会
- (4) Involvement of cytokines in the

- pathogenesis of Mikulicz's disease
Tanaka A, Moriyama M, et al.
11th International Symposium on Sjogren's Syndrome
- (5) Localization of Th subsets in salivary glands of Sjögren's syndrome
Maehara T, Moriyama M, et al
11th International Symposium on Sjogren's Syndrome
- (6) ミクリッツ病 / IgG4 関連疾患の病態形成におけるサイトカインの関連についての検討
田中昭彦、森山雅文、他
第 65 回 日本口腔科学会学術集会
- (7) Localization of Th subsets in salivary glands of Sjögren's syndrome.
Maehara T, Moriyama M, et al.
The 59th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research
- (8) Analysis of IgG4 class switch related molecules in IgG4-related disease
坪井洋人, 松尾直美, 飯塚麻菜, 中村友美, 田中昭彦, 森山雅文, 他
第 40 回日本免疫学会学術集会
- (9) IgG4 関連疾患における IgG4 クラススイッチ関連分子の解析
坪井洋人, 松尾直美, 飯塚麻菜, 田中昭彦, 森山雅文, 他
第 20 回日本シェーグレン症候群学会

<招聘講演>

- (1) ミクリッツ病 / IgG4 関連疾患の病態形成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関与
森山雅文
第 5 回 福岡膠原病研究会
- (2) ドライマウスならびに関連疾患の診断基準の up to date
森山雅文、田中昭彦、前原隆、中村誠司
第 11 回 九州シェーグレン症候群研究会

[図書] (計 3 件)

- (1) 森山雅文、大山順子、他 「IgG4 関連疾患への誘い」、川 茂幸、川野充弘 編：ミクリッツ病/IgG4 関連疾患とシェーグレン症候群の唾液腺病変における相違点 111-116 頁、前田書店、2010
- (2) 森山雅文、中村誠司 「IgG4 関連疾患アトラス」、川 茂幸、川野充弘 編：ミクリッツ病における唾液腺病変 68-74 頁、前田書店、2012
- (3) 森山雅文、中村誠司 「特集 IgG4 関連疾患 ―21 世紀に生まれた新たな疾患概念―」、ミクリッツ病/IgG4 関連疾患の病態形成におけるサイトカインの関与、979-989 頁、最新医学社、最新医学 4 月

号、2012

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

森山 雅文 (MORIYAMA MASAFUMI)
九州大学・大学病院・医員
研究者番号：20452774