

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15830

研究課題名(和文)喫煙習慣からみたIgG4関連型自己免疫性膵炎の発症機序の解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文)Elucidation of pathogenesis of IgG4-related autoimmune pancreatitis from the viewpoint of smoking habit and development of new treatment method

研究代表者

鎌田 研 (KAMATA, Ken)

近畿大学・医学部・医学部講師

研究者番号：70548495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Aryl hydrocarbon receptor (AhR)は腸内細菌由来代謝産物や環境因子(ダイオキシン・タバコの煙など)を認識する転写因子であり、免疫システムの恒常性の維持に重要な役割を果たしている。「腸内細菌叢の変化に伴う細菌由来代謝産物のProfile変化」がAhRの活性化を介して、自己免疫性膵炎の発症を制御するという仮説を検証した結果、AhRリガンドである2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzodioxin (TCDD)の投与あるいはIndole-3-pyruvic acid (IPA)の給餌により、自己免疫性膵炎の発症は抑制されることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫性膵炎・IgG4関連疾患は本邦の内科医により、提唱された新規疾患概念である。本疾患の病態生理は解明されておらず、患者は一律にステロイド投与により治療されている。高齢男性に多いという本疾患の特色を考えると、病態生理に立脚した新規治療法の開発が望まれる。このため、世界中の膵臓・免疫疾患研究者がIgG4関連疾患の病態解明と新規治療法の開発に取り組んでいる。本研究は自己免疫性膵炎に関する申請者らの先行研究から着想し、「腸内細菌とAhR活性化因子が引き起こす免疫反応」という独自の視点から病態解明と新規治療標的の同定を行うものであり、世界的に見てもユニークで新規性の高い内容であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a transcription factor that recognizes intestinal bacterial metabolites and environmental factors (dioxin, tobacco smoke, etc.) and plays an important role in maintaining homeostasis of the immune system. We verified the hypothesis that "profile changes of bacterial metabolites associated with changes in intestinal flora" regulate the development of autoimmune pancreatitis through activation of AhR. As a result, administration of AhR ligands, 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) or the feeding of Indole-3-pyruvic acid (IPA) suppressed the onset of autoimmune pancreatitis.

研究分野：消化器病態制御額

キーワード：自己免疫性膵炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患は IgG4 産生反応の亢進と IgG4 陽性形質細胞の臓器浸潤を診断基準として、本邦の内科医により提唱された新規疾患概念である。自己免疫性膵炎と診断されていた疾患の大半が IgG4 関連疾患の膵臓特異的な表現型であることが判明し、自己免疫性膵炎の患者数は増加傾向にある。IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者は高齢の男性に多いという疫学的特徴があり、何らかの生活習慣が関与することが予測されるが、その詳細は明らかになっていない。最近、我々は IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者の喫煙率が非常に高いことを見出した。この知見は本疾患の病態生理を解明する上でも重要な可能性がある。

2. 研究の目的

タバコの煙に含まれる 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) は免疫細胞の Aryl hydrocarbon receptor (AhR) を活性化し、様々な免疫反応を引き起こすことが明らかになっている。しかし、AhR の活性化と IgG4 関連型自己免疫性膵炎との関係は明らかになっていない。そこで、本研究では免疫細胞における AhR の活性化が IgG4 関連型自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果について明らかにすることを目的とした。これらの基礎研究の結果は喫煙習慣が IgG4 関連型自己免疫性膵炎の危険因子として働く機序の解明につながるとともに、新規治療標的の同定につながる可能性がある。

3. 研究の方法

本研究では、「喫煙習慣の有無」という視点から、IgG4 関連型自己免疫性膵炎の発症機序の解明と新規治療標的の同定を目的とし、喫煙習慣が IgG4 関連型自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果の免疫学的検討を行った。マウスの自己免疫性膵炎モデルを用いて、喫煙習慣による自己免疫性膵炎の発症メカニズムの解明を行った。最近、我々は自己免疫性膵炎の発症に形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cells, pDCs) の産生する I 型 IFN と IL-33 経路が病的な役割を果たすことを見出している (図 1A)。本研究では、AhR の活性化因子である TCDD あるいは Indole-3-pyruvic acid (IPA) の給餌が自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果を pDCs における I 型 IFN-IL-33 経路の活性化に重点を置いて解析した。実験自己免疫性膵炎は MRL/Mp マウスに poly (I:C) を投与することにより、誘導した。また、我々はマウスの自己免疫性膵炎の発症にビフィズス菌属が炎症惹起性に働いていることを見出している。AhR の活性化が自己免疫性膵炎モデルマウスの腸内細菌叢の変化に及ぼす効果について、人検体を用いた検討を行った。具体的には以下の方法を用いて検討を行った。

- 1) MRL/MpJ マウスに poly (I:C) 100 μ g を繰り返して、腹腔内投与することにより、自己免疫性膵炎を誘導した。
- 2) poly (I:C) 100 μ g と TCDD 0.5 μ g を同時投与することにより、TCDD の投与がマウスの自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果を検討した。
- 3) poly (I:C) 100 μ g と IPA の給餌を行うことにより、IPA の給餌がマウスの自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果を検討した。
- 4) 膵臓における各種サイトカインの発現を ELISA により検討した。
- 5) 膵臓への制御性 T 細胞 (regulatory T cell, Treg) の浸潤については、Foxp3 の免疫染色により評価した。

- 6) 当施設において、自己免疫性膵炎と診断された患者4人のステロイド治療前後における腸内細菌叢について、16SrRNAを標的とする次世代シーケンス法により、解析した。

4. 研究成果

我々は「腸内細菌叢の変化に伴う細菌由来代謝産物のProfile変化」がAhRの活性化を介して、自己免疫性膵炎の発症を制御するのではないか?と想定した。この仮説を検証した結果、主に以下の事実を見出した(図1B)。

- a) AhRリガンドであるTCDDの投与あるいはIPAの給餌により、自己免疫性膵炎の発症は抑制される。
- b) AhRリガンドの投与に伴う自己免疫性膵炎の発症はpDCsの活性化に依存しない。
- c) AhRリガンドの投与により、IL-22の発現が膵臓内で著明に増加する。

TCDDの投与あるいはIPAの給餌はIFN- α とIL-33の産生を抑制しなかった。pDCsの膵臓における割合も両群で有意な変化はなく、TCDDの投与あるいはIPAの給餌はpDCsにおけるIFN- α -IL-33経路非依存性に炎症反応を抑制していることが明らかになった。TCDDの投与により、IL-22の産生が膵臓で優位に増加していたが、Tregが主たる産生源であるIL-10については増加を認めなかった。実際に、Tregの膵臓への浸潤をFoxp3染色で評価したが、TCDDの投与で増加せず、むしろ減少していた。

自己免疫性膵炎患者のステロイド治療前後における腸内細菌叢の変化についての検討結果であるが、Ruminococcus属はステロイド治療に伴い、その割合が優位に増加を示した。その一方で、Klebsiella属はステロイド治療により減少を示した。統計解析で有意差を示した細菌は二種のみであり、今後も症例の集積が必要であると考えられた。

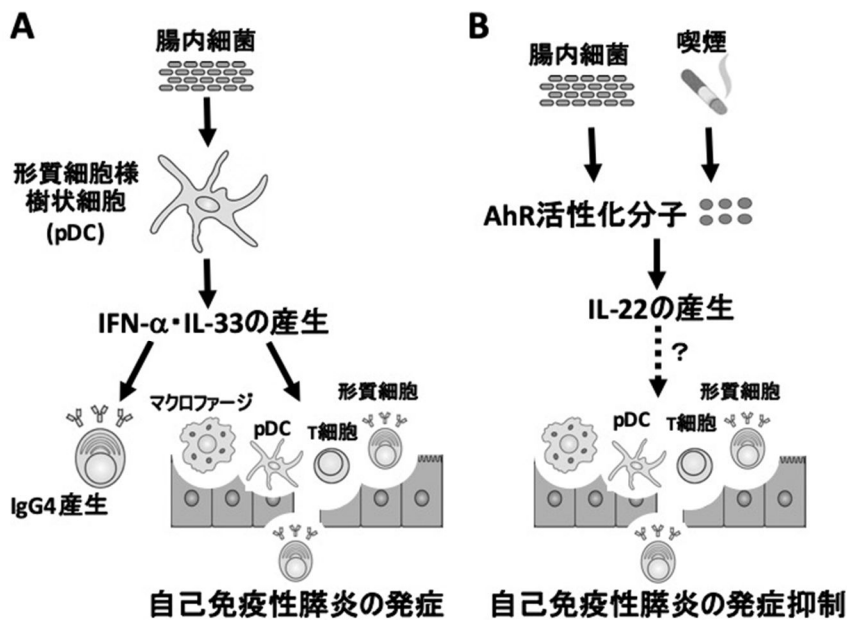


図1; 自己免疫性膵炎の発症機序

現時点では AhR 活性化因子による自己免疫性膵炎の発症抑制が IL-22 の産生によるものかどうかは断定できない。しかしながら、IL-22 が AhR の活性化により誘導されることから IL-22 の免疫制御作用・組織修復作用が AhR 活性化因子による自己免疫性膵炎の発症抑制に関与する可能性が考えられる。本研究を通して、自己免疫性膵炎の発症に AhR 活性化因子が環境因子の一つとして関与し、AhR の活性化が本疾患の新規治療標的として有望である可能性を示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----