

## 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 24 年 4 月 30 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591048

研究課題名（和文） IgG4 関連腎疾患における T 細胞の分化の解析

研究課題名（英文） Analysis of T cell differentiation in IgG4 related kidney disease.

研究代表者

中島 衡 (NAKASHIMA HITOSHI)

福岡大学・医学部・准教授

研究者番号：70188960

研究成果の概要（和文）：

IgG4 関連腎臓病(IgG4-RKD)において、特徴的な IgG4 産生の亢進に関わる免疫状況を明らかにするために、生検腎組織からのサイトカイン mRNA の発現を解析し、シェーグレン症候群、サルコイドーシス、本態性間質性腎炎などの他疾患による間質性腎炎のそれと比較検討した。IgG4-RKD のサイトカイン発現パターンは非常に特徴的であり、Th2 と Treg が中心的に働いている病態であることが明らかになった。この解析結果は、IgG4 関連疾患であるミクリッツ病における唾液腺における解析と同様の結果であった。

研究成果の概要（英文）：

We selected twenty cases of histologically diagnosed as tubulointerstitial nephritis (TIN). These cases were etiologically different and included four cases of IgG4-related TIN. We extracted RNA from paraffin embedded biopsied kidney, and evaluated expression levels of various cytokines for each case by real time PCR. Comparison of cytokine production patterns among different disease associated TINs revealed that IgG4-related TIN exhibited a quite distinct pattern. On one hand there was no expression of IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-17 and IL-6, whereas productions of IL-4, IL-10 and TGF- $\beta$  were remarkably increased in IgG4-related TIN. Based on these cytokine production results, Th2 and Treg appears to play a central role in IgG4-related TIN.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：腎臓病

## 1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患は、腭外病変をもつ自己免疫性膵炎(AIP)の症例経験を積み重ねていく中から誕生した新しい疾患概念である。2001年に信州大学の浜野らは、血清 IgG4 濃度高値が AIP 診断の非常に有用なマーカーになることを報告し、その翌年には AIP 患者の膵臓および後腹膜組織中に、多数の IgG4 陽性形質細胞が浸潤することを明らかにした。2003年、都立駒込病院の神澤らは、AIP

患者では、膵臓以外にも膵臓周囲組織、胆管、胆嚢、肝臓の門脈域、胃粘膜、腸粘膜、唾液腺、リンパ節、骨髄に IgG4 陽性形質細胞が数多く浸潤していることを報告し、「systemic IgG4-related autoimmune disease」という疾患概念を提唱した。2004年になり、AIP 患者に合併した尿細管間質性腎炎(tubulointerstitial

nephritis: TIN)の2症例が報告された。これら2症例では、AIP 発見時もしくは経過中に腎機能低下があり、腎生検光顕組織における間質の細胞浸潤や線維化とともに、免疫染色にてIgG4陽性形質細胞が多数認められた。その後、AIP の全身精査中に画像診断で偶然に発見された腎機能低下のない腎病変や、AIP がなく慢性硬化性涙腺炎・唾液腺炎に合併したIgG4関連TIN、さらに、膝病変や涙腺・唾液腺病変のないものや腎臓に限局した特異的な病変も報告されるようになった。当初AIPに関連して考えられた腎病変もここに示したようなさまざまな症例の報告により、IgG4-RDに特異的な病態とされ、「IgG4関連腎臓病」(IgG4-related kidney disease: IgG4-RKD)と呼ばれるに至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、日本腎臓学会内で組織されたIgG4関連腎臓病ワーキンググループによる「IgG4関連腎臓病の臨床病理学的特徴を明らかにするための多施設共同後方視的研究」を行う事と並行して、IgG4-RKDにおける免疫系の関与を、ナイーブT細胞から分化したTh1/Th2/Th17/Tregのどの細胞群が病態形成に大きく関わっているかという観点から解析した。

## 3. 研究の方法

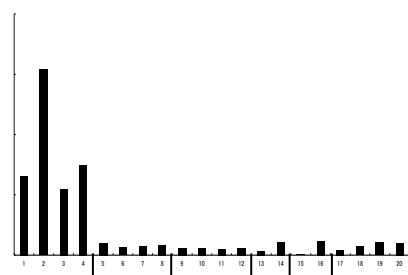
国際的なIgG4-RDの研究活動の高まりに対して、一刻も早く診療指針を示すことが必要となり、IgG4-RKD 41例の解析結果をもとに、診断アルゴリズムと診断基準作成し、発表した。それと並行して、自験例のIgG4-RKDの腎臓生検組織を用いた免疫組織学、分子生物学的検討を行った。シェーグレン症候群における唾液腺炎と病理組織学的には同一であるIgG4関連疾患・ミクリッツ病は、シェーグレン症候群に比して、非常にTh2にシフトした自己免疫反応を呈することがそれまでに示されていた。また、僅かな症例の検討ではあるが、口唇腺生検組織からの定量RT-PCR法による解析では、ミクリッツ病唾液腺では、シェーグレン症候群に比較して、Th2系サイトカインであるIL-4, IL-5以外にTreg系IL-10、転写因子 foxp3の発現亢進も認められた事も報告されている。この結果は、IgG4関連硬化性膵胆管炎の組織で得られた、IgG4関連疾患ではTh2反応とともにTreg反応が起こっているという報告結果を強く支持するものである。興味深いことに、シェーグレン症候群は、しばしば間質性腎炎を併発する。この間質性腎炎の病態におけるリンパ球の分化パターンとIgG4関連間質性腎炎でのパターンを比較検討することで、この両者の病因論的相違を考えた。

IgG4-RKDと同じようにTINの表現型を呈する、慢性腎盂腎炎、薬剤性間質性腎炎、シェーグレン症候群関連間質性腎炎、IgG4関連尿細管間質性腎炎の腎生検組織を用いて、IgGサブクラス、Th1/Th2/Th17/Treg関連のサイトカイン、または転写因子Foxp3等を標的にして、リアルタイムRT-PCR法を用いて、定量化することにより、中心的に病態形成を行う細胞群を解析した。

## 4. 研究成果

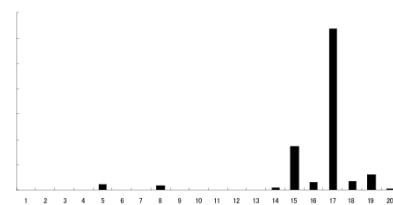
IgG4-RKDの診断基準を作成した。自験の4例と他疾患関連の間質性腎炎を対象とした分子生物学的検討では、IL-4, IL-5などのTh2サイトカインとIL-10, TGF-βなどの制御性T細胞由来サイトカイン、さらに転写因子Foxp3の産生が増強していた。IFNγやIL-12などのTh1由来サイトカインやIL-6, IL-17などのTh17関連サイトカイン産生は認められなかった。

(図1) IgG4/IgG1比には、多疾患との顕著な差を認めた。



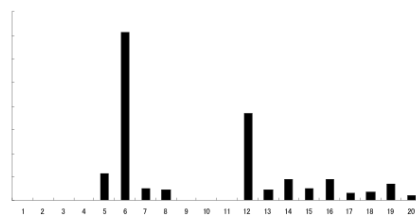
IgG4-RKD Idiopathic Sjogren FGS RA Others

(図2) 代表的なTh1サイトカインIFN-γの産生はほとんど認められない。



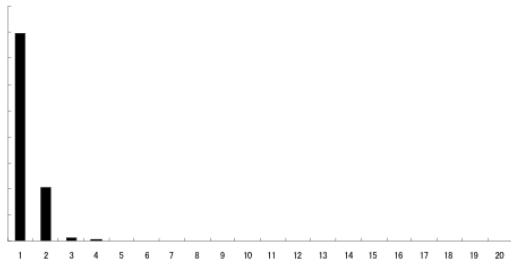
IgG4-RKD

(図3) Th17由来サイトカインIL-17の産生はほとんど認められない。



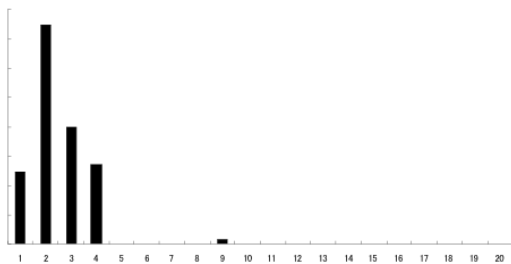
IgG4-RKD

(図4) Th2由来サイトカインIL-4の産生はIgG4-RKDにしか認められない。



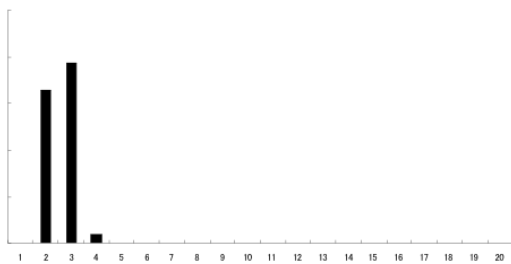
IgG4-RKD

(図5) Treg由来サイトカインIL-10の産生はIgG4-RKDでは著しく亢進していた。



IgG4-RKD

(図6) Tregに特異的な転写因子Foxp3の発現は、IgG4-RKDでは著しく亢進していた。



IgG4-RKD

以上のことからIgG4関連腎疾患は、Th2とTregが中心的に働く病態であると考えられた。この事実は、ミクリッツ病とシェーグレン症候群の唾液腺を対象とした分子生物学的検討による結果でも支持された。

#### 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 16 件)

- ① Miyahara Y, Nishimura S, Watanabe M, Ito K, Nakashima H, Saito T; Scavenger receptor expressions in the kidney of mice with lipoprotein glomerulopathy. *Clin Exp Nephrol* 16:115-121, 2012 査読あり
- ② Tanaka A, Moriyama M, Nakashima H, Miyake K, Hayashida J, Maehara T, Shinozaki S, Kubo Y, Nakamura S; Th2 and Regulatory Immune Reactions Contributes to

IgG4 Production and the Initiation of Mikulicz's Disease. *Arthritis Rheum*, 64, 254-263, 2012 査読あり

- ③ Watanabe M, Nakashima H, Miyake K, Sato T, Saito T; Aggravation of diabetic nephropathy in OLETF rats by complication of Thy-1.1 nephritis. *Clin Exp Nephrol* 15;25-29,2011 査読あり
- ④ Kido M, Takeuchi S, Sugiyama N, Esaki H, Nakashima H, Yoshida H, Furue M; T cell -specific overexpression of interleukin-27 receptor alpha-subunit (WSX-1) prevents spontaneous skin inflammation in MRL/lpr mice. *Br J Dermatol*, 164, 1214-1220, 2011 査読あり
- ⑤ Kawano M, Saeki T, Nakashima H, Nishi S, Yamaguchi Y, Hisano S, Yamanaka N, Inoue D, Yamamoto M, Takahashi H, Nomura H, Taguchi, Umehara H, Makino H, Saito T; Proposal for diagnostic criteria for IgG4-related kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 15:615-26, 2011 査読あり
- ⑥ 中島 衡: IgG4 関連硬化性疾患 (IgG4 関連硬化性胆管炎を含めて) と Treg *肝胆臓* 62; 757-761, 2011 査読なし
- ⑦ 川野充弘、佐伯敬子、中島 衡、西慎一、山口裕、久野敏、斉藤喬雄、山中宣昭、田口尚、横野博史、梅原久範: IgG4 関連腎臓病診療指針 *日腎会誌* 53;1062-1073,2011 査読なし
- ⑧ Nakashima H, Miyake K, Moriyama M, Tanaka A, Watanabe M, Abe Y, Sato H, Nakamura S, Saito T; An amplification of IL-10 and TGF- $\beta$  in patients with IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *Clin Nephrol* 73;385-91, 2010 査読あり
- ⑨ Watanabe M, Nakashima H, Ito K, Miyake K, Saito T; Improvement of dyslipidemia in OLETF rats by Prostaglandin I<sub>2</sub> analog, beraprost sodium. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 93;14-19, 2010 査読あり
- ⑩ Miyake K, Akahoshi M, Nakashima H: Th subset balance in lupus nephritis. *J*

- Biomed Biotec* 980286. Epub 2011 査読あり
- ⑪ 中島 衡; IgG4 関連尿細管間質性腎炎の病態 *Annual Review 腎臓* 2010 ;114-118, 2010 査読なし
- ⑫ 中島 衡; IgG4 関連疾患 *九州リウマチ* 30; 60-65, 2010 査読なし
- ⑬ 中島 衡; 特集/膠原病 新たな治療戦略 注意すべき合併症 腎病変 *臨床と研究* 87;1255-1261, 2010 査読なし
- ⑭ Igawa T, Nakashima H, Sadanaga A, Masutani K, Miyake K, Shimizu S, Takeda A, Hamano S, Yoshida H; Deficiency in EBV-induced gene 3 (EBI3) in MRL/*lpr* mice results in pathological alteration of autoimmune glomerulonephritis and sialadenitis. *Mod Rheumatol*. 19:33-41, 2009 査読あり
- ⑮ Watanabe M, Nakashima H, Mochizuki S, Abe Y, Ishimura A, Ito K, Fukushima K, Miyake K, Ogahara S, Saito T; Amelioration of diabetic nephropathy in OLETF rats by Prostaglandin I<sub>2</sub> analog, beraprost sodium. *Am J Nephrol*. 30;1-11, 2009 査読あり
- ⑯ Ishimura A, Watanabe M, Nakashima H, Ito K, Miyake K, Mochizuki S, Ishigaki Y, Saito T; Lipoprotein glomerulopathy induced by ApoE-Sendai is different from glomerular lesions in aged apoE deficient mice. *Clin Exp Nephrol* 13;430-7, 2009 査読あり

[学会発表] (計5件)

- ① Nakashima H, Miyake K, Watanabe M, Saito T; CD4+ T cells play a major role in the development of histological phenotype of kidney injury. American Society of Nephrology Renal Week 2010 2010.11.19 Denver, CO, USA
- ② 中島 衡、三宅勝久、渡辺真穂、安部泰弘、佐藤博、斎藤喬雄; ワークショップ4. IgG4 関連腎症の免疫 第53回日本腎臓学会学術集会 2010.6.16 神戸
- ③ 中島 衡、三宅勝久; IgG4 関連間質性腎炎における CD4+T 細胞の分化の解析 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会 2010.4.22-25 神戸
- ④ 三宅勝久、中島 衡、城島宏、斎藤喬雄; 高ガンマグロブリン血症を呈した間質性腎炎の2例 第39回九州リウマチ学会 2010.3.7. 福岡
- ⑤ 中島 衡 シンポジウム1; 腎臓・膠原病内科医の立場から見た IgG4 関連疾患 第18回日本シェーグレン症候群学会 2009.9.4 福岡

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中島 衡 (NAKASHIMA HITOSHI)  
福岡大学・医学部・准教授  
研究者番号: 70188960

### (2) 研究分担者

三宅 勝久 (MIYAKE KATSUHISA)  
福岡大学・医学部・講師  
研究者番号: 50448411

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: