

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09052

研究課題名(和文) 1型自己免疫性膵炎における好塩基球を介した自然免疫反応の役割

研究課題名(英文) The role of basophils in type 1 autoimmune pancreatitis.

研究代表者

内田 一茂 (UCHIDA, Kazushige)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40411516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は1型自己免疫性膵炎(AIP)においてM2マクロファージが重要な働きをしていることを報告してきた。今回我々は、1型AIPの膵局所、抹消血中の好塩基球について検討した。1型自己免疫性膵炎においても通常の組織では認められない好塩基球が膵局所において認められ、この好塩基球はToll-like receptor (TLR) 4のシグナルを介して活性化することがわかった。また一部の症例ではTLR2シグナルを介することがわかった。このことから1型AIPにおいても気管支喘息、アトピー性皮膚炎と同様に好塩基球を介したM2マクロファージの反応が重要な役割を果たしている可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Pathophysiology of type 1 autoimmune pancreatitis (AIP) is still unclear. We previously reported that M2 macrophages might play an important role in type 1 AIP. Recently, it has been reported that basophils regulate differentiation to M2 macrophages. We investigated basophils from the pancreatic tissue and peripheral blood of individuals with type 1 AIP. Basophils were detected in pancreatic tissues in 10 of 13 patients with type 1 AIP. Stimulation of TLR2 and/or TLR4, which were expressed on basophils in the pancreas, activated basophils in peripheral blood. In flow cytometric analysis, the ratios of basophils activated by TLR4 stimulation in type 1 AIP and atopic dermatitis were significantly higher than those in healthy subjects. Levels of basophils activated by TLR2 stimulation were higher in seven cases with type 1 AIP cases. Basophils activated via TLR 4 (or 2) signaling may play an important role in the pathophysiology of type 1 AIP.

研究分野：消化器内科学

キーワード：自己免疫性膵炎 IgG4 好塩基球 M2マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

自己免疫性膵炎(AIP)は本邦より発信された新しい疾患概念であり、現在IgG4の関与する日本でよく見られる1型と関与しない好中球病変が主体の日本ではあまり見られない2型に分類されている。1型は、病理組織学的には線維化、閉塞性静脈炎、著明なIgG4陽性形質細胞浸潤を認めステロイド治療が有効などの臨床的特徴を有する(Uchida K, et al. Am. J. Gastroenterol. 1999)。我々は、膵臓を始めとする外分泌腺臓器に存在するラクトフェリン(LF)、炭酸脱水酵素(carbonic anhydrase: CA)-IIやPSTIに対する自己抗体が高率に存在することを報告した(Uchida K, et al. Am. J. Gastroenterol. 1999, Uchida K, et al. Pancreas 2005)。さらに新生仔期に胸腺摘出した制御性T細胞(Treg)欠損マウスにこれら蛋白を免疫後、CD4⁺細胞をヌードマウスに移入し、胸腺摘出マウス・移入マウスともに、胆管、膵、唾液腺、腎などに炎症が惹起され、これらタンパク質を介した免疫機序が発症に関与する可能性を示した(Uchida K, et al. Lab. Inv. 2002)。

近年様々な制御性細胞と自然免疫の関わりが報告されているが、我々は本症患者末梢血中Tregでは、CD45RA⁺のnaïve-Tregは減少していることが発症に関わっており(Miyoshi H, Uchida K, et al. Pancreas 2008)、ICOS⁺Tregが産生するIL-10がIgG4産生に関与している可能性を報告した(Kusuda T, Uchida K et al. Pancreas 2011)。また膵外病変の代表であるIgG4-SCの肝組織では胆管周囲に膵組織同様Tregが多数浸潤し、Treg数と浸潤IgG4陽性形質細胞には正の相関があり、臨床的鑑別が重要なPSCではIgG4-SCに比しTregの浸潤が有意に少なく鑑別に有用であることを報告した。(Koyabu M, Uchida K, et al. J Gastroenterol. 2010)。制御性B細胞については、CD19+CD24^{high}CD27⁺制御性B細胞が減少することが発症に関与しCD19+CD24^{high}CD38^{high}制御性B細胞は反応性に増加していることを見いだした(Sumimoto K, Uchida K, et al. Pancreatology 2014)。さらに制御性機能をもつと言われるM2マ

クロファージが1型AIPの膵組織には多数浸潤しており、このM2マクロファージにはTLR7が発現しており、これを介した系によって線維化、Th2反応に関与している可能性について報告した(Fukui Y, Uchida K, et al. J Gastroenterol. 2014)。

2. 研究の目的

近年喘息、アトピー性皮膚炎において慢性アレルギー炎症という概念が注目を集めている(Curr. Opin. Immunol. 2014)。末梢血の1%にも満たない好塩基球が炎症局所においてIL-4を産生することでM2マクロファージを誘導することが報告されている。我々は既にM2マクロファージが1型AIPの膵組織には多数浸潤していることを見いだしており(J Gastroenterol. 2014)、またWatanabeらは、NODもしくはTLR刺激により好塩基球が産生したBAFFとIL-13を介してIgG4産生に関与していることを発表した(J Gastroenterol. 2013)。しかしその詳細なメカニズムについては未だ解明できていない。そこで今回我々は、1型AIPにおける好塩基球の役割を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

膵臓癌が疑われて切除された1型AIPの膵組織(n=13)を用いて、免疫組織化学染色法にて好塩基球の浸潤の有無について検討した。また浸潤した好塩基球上のToll-like receptor(TLR)発現について検討した。対象群は、アルコール性慢性膵炎の膵組織(n=10)とした。

切除例のうち末梢血の検体が得られた症例(n=5)においては、末梢血中の好塩基球に発現するTLRを膵組織と比較検討した。

また1型AIP患者(n=40)、アトピー性皮膚炎患者(n=10)、気管支喘息患者(n=10)、健常人(n=40)の末梢血中の好塩基球をTLR1-9ライガンドでそれぞれ刺激し好塩基球の活性化率について検討した(n=40)。

4. 研究成果

1型AIPの膵組織においては、13例中10例において通常定常状態の組織では認められないとされる好塩基球の浸潤を認めた。浸潤している好塩基球の平均個数は強拡大3視野で8.6個であった。一方アルコール性慢性膵炎の膵組織においては、好塩基球は認められなかった。

1型AIP組織に浸潤している好塩基球は、10例中2例でTLR2を発現し、2例でTLR2と4を発現し、6例でTLR4が発現していた。TLR2もしくは4以外を発現している好塩基球は認められなかった。

切除例のうち末梢血が得られた症例においては、末梢血中の好塩基球はTLR2もしくは4で活性化が認められ組織で発現するTLRと同じであることがわかった。

さらに1型AIP患者末梢血の好塩基球は、TLR4刺激により1型AIP群(9.875%±7.262)で健常人群(5.05%±3.79)に比べ活性化率は有意な上昇を認めた(p<0.05)。

以上より、1型AIPにおいては、好塩基球が病態生理に深く関与している可能性が示唆された。

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6件)

Uchida K, Okazaki K. Clinical and pathophysiological aspects of type 1 autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2018 査読有 vol.53 475-483 DOI: 10.1007/s00535-018-1440-8.

Yanagawa M, Uchida K, Ando Y, Tomiyama T, Yamaguchi T, Ikeura T, Fukui T, Nishio A, Uemura Y, Miyara T, Okamoto H, Satoi S, Okazaki K. Basophils activated via TLR signaling may contribute to pathophysiology of type 1 autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2018 査読有 vol. 53 449-460 DOI: 10.1007/s00535-017-1390-6

Uchida K, Okazaki K. Roles of Regulatory T and

B Cells in IgG4-Related Disease. Curr Top Microbiol Immunol. 査読有 2016 vol. 401 93-114 DOI: 10.1007/82_2016_41.

Uchida K, Tanaka T, Gershwin ME, Okazaki K. The Geoepidemiology and Clinical Aspects of IgG4-Related Disease. Semin. Liver. Dis. 査読有 2016 vol.9 7-12 DOI: 10.1007/s12328-016-0628-9.

Uchida K, Miyoshi H, Ikeura T, Shimatani M, Takaoka M, Okazaki K. Clinical and pathophysiological issues associated with type 1 autoimmune pancreatitis. Clin J Gastroenterol. 査読有 2016 vol. 9 7-12. DOI: 10.1007/s12328-016-0628-9.

内田一茂, 岡崎和一、自己免疫性膵炎の診断について 診断基準の変遷と診断の現状、日本臨床免疫学会雑誌、査読有、2015、38巻、127-134、DOI: 10.4049/jimmunol.1500971.

[学会発表](計21件)

Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki Immunological Aspects in Type 1 Autoimmune Pancreatitis. International Pancreatic Research Forum 2017 2017年10月28日~2017年10月28日 Matsumoto (Japan)

内田一茂、柳川雅人、池宗真美、津久田諭、三好秀明、池浦司、島谷昌明、福井寿朗、高岡亮、西尾章功、岡崎和一 1型自己免疫性膵炎の膵組織・末梢血における好塩基球の検討 第54回日本消化器免疫学会総会 2017年9月28日~2017年9月29日 大阪帝国ホテル (大阪)

柳川雅人、内田一茂、岡崎和一 1型自己免疫性膵炎における活性化好塩基球の検討 第48回日本膵臓学会大会 2017年7月14日~2017年7月15日 京都

Kazushige Uchida Immunological Roles in Type 1 Autoimmune Pancreatitis 第48回日本膵臓学会大会 2017年7月14日~2017年7月15日 京都

内田一茂、柳川雅人、池宗真美、津久田諭、池浦司、山口隆志、富山尚、安藤祐吾、福井寿朗、西尾章功、三好秀明、島谷昌明、高岡亮、里井壮

平、岡崎和一 1型自己免疫性膵炎における好塩基球の検討 第34回日本胆膵病態・生理研究会 2017年6月18日～2017年6月18日 福井

Kazushige Uchida and Kazuichi Okazaki Immunological Aspects in Type1 Autoimmune Pancreatitis. 第103回日本消化器病学会総会 2017年4月20日～2017年4月22日 東京

内田一茂、岡崎和一 自己免疫性膵炎の病態と臨床的課題 第33回日本胆膵病態・生理研究会 2016年06月11日～2016年06月11日大阪

内田一茂、光山俊行、柳川雅人、池宗真美、津久田諭、三好秀明、池浦司、島谷昌明、高岡亮、西尾彰功、水野伸匡、Giuseppe Zamboni、Luca Frulloni、能登原憲司、里井壮平、岡崎和一 1型・2型自己免疫性膵炎における好中球浸潤の差異についての検討 第33回日本胆膵病態・生理研究会 2016年06月11日～2016年06月11日 大阪

内田一茂、光山俊行、柳川雅人、池宗真美、津久田諭、三好秀明、池浦司、島谷昌明、高岡亮、西尾彰功、水野伸匡、Giuseppe Zamboni、Luca Frulloni、能登原憲司、岡崎和一 自己免疫性膵炎(1型・2型)における好中球浸潤機序の違いについて 第53回日本消化器免疫学会総会 2016年07月14日～2016年07月14日 大阪

K Uchida, T Mitsuyama, M Yanagawa, H Miyoshi, T Ikeura, M Shimatani, T Fukui, M Takaoka, A Nishio, N Mizuno, K Notohara, G Zamboni, L Frulloni, T Shimosegawa, K Okazaki. Analysis of Neutrophil Infiltration in Type 1 and Type2 Autoimmune Pancreatitis. Joint meeting of IAP, JPS and AOPA 2016年08月04日～2016年08月07日 仙台

11Kazushige Uchida and Kazuichi Okazaki The role of innate immunity in type 1 AIP. 3rd International Symposium on IgG4-RD and Fibrosis 2017年02月15日～2017年02月20日 Maui, USA

12柳川雅人、内田一茂、池宗真美、津久田諭、三好秀明、池浦司、島谷昌明、福井寿郎、高岡亮、西尾彰功、岡崎和一 1型自己免疫性膵炎におけ

る好塩基球の関与 第9回IgG4研究会、2017年03月18日～2017年03月18日 神戸

13K Uchida, Y Fukui, T Mitsuyama, H Miyoshi, T Ikeura, M Shimatani, T Fukui, M Matsushita, M Takaoka, A Nishio, K Okazaki. The Pathophysiological Role of Toll-like Receptor Signaling in Type 1 Autoimmune Pancreatitis. Asian Pasific Digestve Week 2015 2015年12月3日～2015年12月6日 Taipei (Taiwan)

14K Uchida, T Mitsuyama, M Yanagawa, H Miyoshi, T Ikeura, M Shimatani, T Fukui, M Takaoka, A Nishio, N Mizuno, K Notohara, G Zamboni, L Frulloni, T Shimosegawa, K Okazaki. The Difference in Mechanisms of Neutrophil Infiltration between Type 1 and Type2 Autoimmune Pancreatitis. Annual Meeting of American Pancreatic Association. 2015年11月06日～2015年11月06日 San Diego, (USA)

15内田一茂、岡崎和一 IgG4関連疾患(特に1型自己免疫性膵炎)におけるB細胞の役割、第43回日本臨床免疫学会総会 2015年10月22日～2015年10月24日 神戸

16内田一茂、福井由理、岡崎和一 1型自己免疫性膵炎におけるToll-like receptor からみた自然免疫の関与 第24回日本シェーグレン学会 2015年09月10日～2015年09月10日 東京

17内田一茂、福井由理、池宗真美、柳川雅人、光山俊之、住本喜美、楠田武生、三好英明、小藪雅樹、池浦司、島谷昌明、福井寿郎、高岡亮、西尾彰功、岡崎和一 1型自己免疫性膵炎におけるToll-like receptor 発現とその陽性細胞に関する検討 第52回消化器免疫学会 2015年07月30日～2015年07月30日 東京

18内田一茂、高岡亮、岡崎和一 自己免疫性膵炎治療の現状と課題 当院における自己免疫性膵炎の治療、第46回日本膵臓学会大会 2015年06月19日～2015年06月20日 名古屋

19内田一茂、福井由理、光山俊行、柳川雅人、住本喜美、楠田武生、三好秀明、小藪雅樹、池浦司、島谷昌明、高岡亮、岡崎和一 1型自己免疫性膵

炎における自然免疫の関与 第 32 回日本胆膵病
態・生理研究会 2015 年 06 月 14 日～2015 年 06
月 14 日 東京

20内田一茂、高岡 亮、岡崎和一 当院における
IgG4 関連硬化性胆管炎の治療 第 101 回日本消化
器病学会総会、2015 年 04 月 25 日～2015 年 04 月
25 日 仙台

21内田一茂、福井由理、岡崎和一、1 型自己免疫
性膵炎における M2 マクロファージと TLR について
第 101 回日本消化器病学会総会 2015 年 04 月 25
日～2015 年 04 月 25 日 仙台

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田 一茂 (UCHIDA, Kazushige)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40411516