

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19339

研究課題名(和文) IgG4関連疾患のIgGの病原性と標的抗原の同定

研究課題名(英文) identifying the antigen of IgG4 related disease

研究代表者

塩川 雅広 (Shiokawa, Masahiro)

神戸大学・科学技術イノベーション研究科・特別研究員(PD)

研究者番号：50737880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：自己免疫性膵炎患者IgGのマウスへの投与により同患者の罹患臓器と同一のマウス組織に病変ができることをサンプル数を増やし確認した。また、用量依存性、時間依存性についても検証できた。また、患者IgGと結合するマウス抗原をスクリーニングし、候補タンパク質がラミニン511であることを同定した。

現在、自己免疫性膵炎患者における自己抗体の定量法を開発し、臨床応用を目指し、企業と共同で抗ラミニン511抗体の測定が実臨床に有用であるか開発中である。

研究成果の概要(英文)：Subcutaneous injection of patient IgG, but not control IgG, resulted in pancreatic and salivary gland injuries. Pancreatic injury was also induced by injecting patient IgG1 or IgG4, with more destructive changes induced by IgG1 than by IgG4. The potent pathogenic activity of patient IgG1 was significantly inhibited by simultaneous injection of patient IgG4. Binding of patient IgG, especially IgG1 and IgG4, to pancreatic tissue was confirmed in both the mouse model and AIP tissue samples. Next, we identified this target antigen as laminin 511.

研究分野：消化器内科

キーワード：IgG4

1. 研究開始当初の背景

自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis ; 以下 AIP) は、我が国において提唱された、血清 IgG4 上昇と IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする自己免疫性の慢性膵炎である (Hamano H, *N Engl J Med*, 2001)。その後、IgG4 陽性細胞浸潤は膵臓のみならず、様々な臓器 (涙腺、唾液腺、胆管、腎臓、後腹膜など) に生じることが明らかとなってきた。この結果、以前から個々の疾患として認識されてきた自己免疫性膵炎、ミクリッツ病、IgG4 陽性の涙腺炎、間質性肺炎、慢性腎炎、後腹膜線維症は、すべて一連の病態と考えられるようになり、2007 年にはわが国を中心に**全身性 IgG4 関連疾患 (IgG4-RD)**として新たな疾患概念が確立された (Umehara H, *Mod Rheumatol*, 2012, Stone JH, *N Engl J Med*, 2012)。同疾患はステロイド治療への反応が良好な良性疾患であるが、悪性腫瘍との鑑別が困難な例が多く問題となっている。また AIP と膵癌の合併例を含め、IgG4-RD と悪性腫瘍合併例が報告されること、さらには膵癌や胆道癌などの悪性腫瘍では約 10% の症例において血清 IgG4 値が高値であることが報告され、悪性腫瘍との関係・鑑別が注目されてきた。

このような中、**申請者らは**多数の AIP 症例を臨床病理学的、統計学的な解析を行った結果、**AIP と悪性腫瘍の関係が paraneoplastic syndrome として有名な多発性筋炎と悪性腫瘍の関係と酷似していることを見出し、AIP の一部 (約 5%) は悪性腫瘍によって発症する、Paraneoplastic syndrome である可能性を世界に先駆けて報告した。**しかしながら、このような悪性腫瘍に随伴する AIP を含め、IgG4-RD の病因に関する分子機構は未だ明らかにされておらず、現時点では、この疾患の最も大きな特徴でもある IgG4 の役割についても不

明である。また、本疾患が自己抗体による免疫反応によって臓器障害が誘導されるものなのか、あるいは細胞障害性 T 細胞によって生じるもののかなど、そのメカニズムは全く解明されていない。

近年、B 細胞特異的な分子標的薬であるリツキシマブが、IgG4-RD に対して劇的な効果を示すことが報告され、同疾患における自己抗体の病原性が注目されるようになった (Hart P, *Gut*, 2010)。しかし、リツキシマブは抑制性 T 細胞など他の免疫細胞にも影響を及ぼすため、未だ自己抗体の病原性について結論は出ていない。このような背景の中、**申請者らは、IgG4 抗体は病原性を持つのではないかの仮説をもとに研究を開始した。**そして驚くべきことに、**患者血清中の免疫グロブリンを抽出し、マウスに投与することにより、患者罹患臓器と同一の臓器のみに、容量依存性に病変が生じることを確認し、現在解析を行っている。** (Shiokawa M, *Gut*)。

2. 研究の目的

IgG4 関連疾患 (IgG4 related disease ; 以下 IgG4-RD) は、我が国において提唱された、血清 IgG4 上昇と IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする全身性の自己免疫疾患である。臨床上、その病態に基づいた診断と治療が望まれるが、本疾患の病因病態はほとんど明らかにされていない。

驚くべきことに、**申請者らは IgG4-RD 患者の免疫グロブリン (IgG) をマウスに投与することにより、患者罹患臓器と同一臓器のみに、容量依存性に、病変が生じることを発見した。**そこで本研究では同マウスモデルを用い、**患者 IgG の病原性の有無、病原性をもつ IgG サブクラス、標的組織、標的抗原を明らかにする。**さらに、**ヒトにおいても同抗原に対する自己抗体を有するかを確認し、診断・病勢の把握の向上に利用できるか解析する。**

3. 研究の方法

- (1) AIP(IgG4-RD)患者 IgG をマウスへ投与し、病原性について評価する。
- (2) IgG4 を含む各 IgG サブクラスの病原性について、上記マウス実験系において解析する。
- (3) 病原性をもつ IgG とその標的組織について、マウスと患者組織間で比較検討する。
- (4) 患者 IgG と結合するマウス抗原をスクリーニングし、質量分析によりこれを同定する。同抗原に対する患者自己抗体を抽出し、の実験系でその病原性を確認する。
- (5) AIP(IgG4-RD)患者における自己抗体の定量法を開発し、臨床応用を目指す。

4. 研究成果

- (1) AIP(IgG4-RD)患者 IgG をマウスへ投与し、病原性について評価する。

数を増やして validation

患者 IgG のマウスへの投与により同患者の罹患臓器と同一のマウス組織に病変ができることをサンプル数を増やし確認した。また、用量依存性、時間依存性についても検証できた。

- (2) IgG4 を含む各 IgG サブクラスの病原性について、上記マウス実験系において

IgG1、IgG2、IgG3、および IgG4 のサブクラスに分画する。各分画の病原性について、において確立したマウス実験系を用いて評価する。申請者らは IgG1 と IgG4 に病原性があることを確認した。更に興味深いことに、IgG4 は IgG1 の病原性を抑制することが分かった。

- (3) 病原性をもつ IgG とその標的組織について、マウスと患者組織間で比較検討する。

で明らかとなったマウス脾における患者 IgG、IgG1、IgG4 の結合部位と、ヒト AIP 組織における IgG、IgG1、IgG4 の結合部位との相同性について、免疫組織化学法を用いて検討した。この結果、マウス・ヒトの両者において、IgG・IgG1・IgG4 とともに細胞外マトリックスに沈着があることを確認した。

- (4) 患者 IgG と結合するマウス抗原をスクリーニングし、質量分析によりこれを同定する。同抗原に対する患者自己抗体を抽出し、の実験系でその病原性を確認する。

同定した抗原をカラムに結合させ、免疫沈降法により患者血清から反応する自己抗体のみを抽出する。抗原に反応する自己抗体と、反応しない患者 IgG について、において確立したマウス実験系で評価し、前者のみが病原性を示すか確認する。申請者は候補タンパク質がラミニン 511 であることを同定した。

- (5) AIP(IgG4-RD)患者における自己抗体の定量法を開発し、臨床応用を目指す。

現在、企業と共同で抗ラミニン 511 抗体の測定が実臨床に有用であるか開発中である。

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2件)

1. Matsumori T, Shiokawa M, Kodama Y. Pancreatic Mass with Elevated Serum IgG4 Level. Gastroenterology.

5085(18)30121-5. 2018.

2. Notohara K, Kamisawa T, Uchida K, Zen Y, Kawano M, Kasashima S, Sato Y, **Shiokawa M**, Uehara T, Yoshifuji H, Hayashi H, Inoue K, Iwasaki K, Kawano H, Matsubayashi H, Moritani Y, Murakawa K, Oka Y, Tateno M, Okazaki K, Chiba T. Gastrointestinal manifestation of immunoglobulin G4-related disease: clarification through a multicenter survey. **J Gastroenterol.** 2017. doi: 10.1007/s00535-017-1420-4

〔学会発表〕(計 3 件)

1. **Shiokawa Masahiro**, Kodama Yuzo, Seno Hiroshi, Chiba Tsutomu. 「Pathogenic Role of IgG in Patients With IgG4-Related Disease」, 『IPRF 2017』, Matsumoto, Japan, (October 2017)
2. **Shiokawa Masahiro**, Kodama Yuzo, Seno Hiroshi, Chiba Tsutomu. 「Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis」, 『IPRF 2017』, Matsumoto, Japan, (October 2017)
3. **Shiokawa Masahiro**, Kodama Yuzo, Seno Hiroshi, Chiba Tsutomu. 「Is serum IgG in patients with AIP pathogenic?」 Third International Symposium on IgG4-RD and Fibrosis Maui (February 2017)
4. **塩川雅広**, 児玉裕三, 妹尾浩, 千葉勉 「自己免疫性膵炎の抗原同定」第 48 回日本膵臓学会大会、京都、2017 年 7 月
5. **塩川雅広**, 児玉裕三, 妹尾浩, 千葉勉 「IgG4 関連疾患における IgG の病原性と標的抗原の解明」, 『第 102 回日本消化器病学会総会』, 東京 2016 年 4 月

〔図書〕(計 3 件)

1. **塩川雅広**, 児玉裕三, 妹尾 浩, 千葉勉. 「自己免疫性膵炎の発症機序」臨床消化器内科 33巻2号pp165-171, 2018.
2. **塩川雅広**, 児玉裕三, 千葉勉. 「【胆膵疾患診療の進歩】炎症性疾患 自己免疫性膵炎・IgG4関連疾患における病因・病態の進歩 新規標的抗原を中心に」『医学のあゆみ』261巻pp65-68, 2017.
3. **塩川雅広**, 児玉裕三, 千葉勉. 「【IgG4 関連疾患:全身から肝胆膵の病態に迫る】病因・病態 IgG4抗体に病原性はあるのか?」肝・胆・膵 73巻4号 pp481-489, 2016.

〔産業財産権〕

出願状況 (計件)

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 1 件)

名称 : IgG4 関連疾患患者における抗原の同定と同抗原に対する自己抗体の測定
発明者 : **塩川 雅広**, 児玉裕三
権利者 : **塩川 雅広**, 児玉裕三
種類 : 特許
番号 : 特願 2016-142701 取得年月日 : 2016 年 7 月 20 日
国内外の別 : 国内

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
塩川 雅広 (Shiokawa Masahiro)
神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科 特別研究員
研究者番号 : 50737880

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()