

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17265

研究課題名(和文)スカベンジャー受容体"MARCO"に着目したIgG4関連疾患の発症機序の解明

研究課題名(英文)An investigation of the pathogenic mechanism of IgG4-related disease focusing on the scavenger receptor "MARCO"

研究代表者

伊東 美穂 (ITO, Miho)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：20778857

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：IgG4関連疾患(IgG4-RD)は、高IgG4血症と罹患臓器における著明なIgG4陽性形質細胞浸潤や線維化を伴う腫脹を特徴とする全身性疾患である。病態形成においては、マクロファージや樹状細胞等の自然免疫担当細胞の関与が示唆されてきたが、詳細はまだまだ明らかではない。

DNAマイクロアレイの解析から、コラーゲン様構造マクロファージ受容体(MARCO)およびToll様受容体(TLR)7を抽出し、病変局所での特徴的な繊維化を引き起こすとされるM2マクロファージ上に発現していることを確認した。これらの分子が病態形成に関わる新たな特異的自然免疫関連分子である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgG4-RD発症にMARCOやTLR7を介した機序が示唆され、これにより今後、難航しているIgG4-RDモデルマウスの確立、現在の治療の第一選択薬であるステロイドに代わる新しい分子標的治療にも繋がる可能性が多いに期待される。

研究成果の概要(英文)：IgG4-related disease (IgG4-RD) is a novel systemic disease entity characterized by elevated serum IgG4 and tissue infiltration of IgG4-positive plasma cells accompanied by severe fibrosis. Although recent studies demonstrated that innate immune cells including monocytes and macrophages might promote local fibrosis and IgG4 production, the pathological mechanism remains unclear.

Macrophage receptor with collagenous structure (MARCO) and Toll-like Receptor (TLR) 7 were identified as disease-associated molecule in IgG4-RD by DNA microarray in submandibular glands from patients with IgG4-RD. Immunohistochemical analysis confirmed that these molecules expression co-localized with CD163+ M2 macrophages. Moreover, M2 macrophages might contribute to the initiation of IgG4-RD via MARCO and TLR7.

研究分野：口腔外科学

キーワード：IgG4関連疾患 コラーゲン様構造マクロファージ受容体 自然免疫

### 1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患 (IgG4-related disease: IgG4-RD) は、高 IgG4 血症と罹患臓器における著明な IgG4 陽性形質細胞浸潤や線維化を伴う腫脹を特徴とする、本邦から提唱された新たな全身性疾患概念であり、厚労省の指定難病にも認定され、現在は様々な分野から病態解明や治療法の確立を目的にオールジャパン体制での研究が行われている。われわれも歯学から IgG4 関連涙腺・唾液腺炎 (IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis: IgG4-DS) の病研究分担者として「唾液腺病変の病態解明」のプロジェクトを担っている。IgG4-RD は、複数の臓器に同時または異時的に多発性に病変を生じ、第一選択薬であるステロイド治療は著効するものの、長期投与が必要であり、症状が軽快しても約半数の患者で再発を認めるため、根本的な治療が難しいといわれている。また、治療抵抗例や新規臓器の発症例など、ステロイドの治療効果が乏しい症例もしばしば経験するため、ステロイドに代わる新たな治療が望まれている。

われわれはこれまでの研究で、IgG4-RD の病態形成において、ヘルパー T (Th) 細胞サブセットのうち、特に Th type 2 サイトカインである IL-4 や IL-10 が IgG4 のクラススイッチに重要であり、Th2 免疫応答優位な疾患であることを明らかにしてきた。このような B 細胞や T 細胞を中心とした獲得免疫に関する研究は、これまでに国内外でも広く検討されてきた。最近では、獲得免疫だけではなく、それに先立ち活性化するマクロファージ (MΦ) や樹状細胞 (DC) 等の自然免疫担当細胞も IgG4-RD の病態形成に関与している可能性が示唆されている。われわれも、自然免疫で中心的な役割を担う MΦ に注目し、IgG4-RD の唾液腺における局在や発現について検討を行った結果、IgG4-RD の病変局所では、MΦ の中でも M2 MΦ (CD68 陽性 CD163 陽性細胞) が集積しており、M2 MΦ の産生するサイトカインが線維化を亢進させることを報告した。しかしながら、未だ不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、IgG4-RD の自然免疫担当細胞を活性化させる分子を抽出し、同定・解析することにより、IgG4-RD の発症や病態形成のメカニズムの解明することである。最終的には同定された分子のトランスジェニック (Tg) マウスを作成し、世界初の IgG4 モデルマウスとして応用可能かを検討し、新規標的分子治療の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

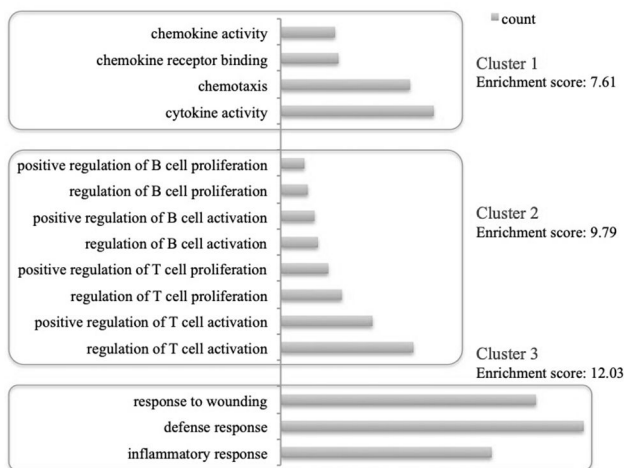
IgG4-RD 患者 6 例の顎下腺 (SMG) を用いて DNA マイクロアレイを行い、網羅的遺伝子解析を行った。対照疾患には非特異的な炎症疾患である慢性唾液腺炎 (CS) 患者 3 例と正常顎下腺 3 例を用いた。発現変動遺伝子 (DEG) を抽出し、疾患感受性分子候補としてそれらの機能解析および組織におけるバリデーションを行い、発現と局在を検討した。

### 4. 研究成果

DNA マイクロアレイの結果、解析に用いた 40,000 個の遺伝子のうち、CS 群と比較して、IgG4-RD 群において有意に発現上昇を認めた遺伝子は 1,028 個、発現減少を認めた遺伝子は 692 個であり、計 1,720 個が DEG として抽出された。その結果、IgG4-RD では他の二群とは明らかに異なる遺伝子発現パターンを示していた。

機能解析では、IgG4-RD 群では T/B 細胞活性化、炎症反応およびケモタキシスなどに関する機能を持つ遺伝子群の変動が認められた (右図)。さらに、IgG4-RD 群において発現上昇を認めた DEG のうち、自然免疫に関するものとしてコラーゲン様構造マクロファージ受容体 (MARCO) や Toll-like Receptor (TLR) ファミリーの TLR4, 7, 8, 9 がリストアップされ、疾患感受性分子候補として検討を行った。

MARCO はスカベンジャー受容体の 1 つであり、リガンドを認識して貪食作用を促す働きを持つとされている。リガンドとしては、アセチル化 LDL、細菌の LPS、アポトーシス細胞、酸化脂質、カーボンナノチューブやシリカといったナノマテリアルなどが挙げられている。興味深



いことに、当院における IgG4-RD 患者の発症時期とナノマテリアルの一つである PM2.5 の大気中濃度の月別推移は正の相関を示した。

一方、自然免疫関連因子の中でも特に重要な病原体認識センサーである TLR のうち TLR8 は MΦ や DC に発現し、ウイルスや自己の RNA を認識し自然免疫に寄与することが知られている。TLR7 は DC や MΦ に発現し、外来微生物由来の一本鎖 RNA を認識することで生体防御に関わっている。また、自己に由来する RNA にも応答し、炎症を引き起こす可能性が指摘されており、自己免疫疾患やアレルギー疾患との関連も示唆されている。最近では、TLR7 のアゴニストでマクロファージを刺激することで、Th2 細胞のサイトカイン産生を誘導する IL-33 が産生されることが報告されている。

IgG4-RD、CS、シェーグレン症候群 (SS)、健常者の唾液腺を用いて検討したところ、IgG4-RD における MARCO および TLR7 の mRNA 発現が他群と比較して有意に亢進していた。また、免疫組織化学染色では、IgG4-RD の SMG にのみ強い発現を認め、M2 MΦ の局在とほぼ一致していた。さらに、IL-33 と TLR ファミリーとの相関について検索したところ、TLR7 のみに IL-33 と正の相関を認め、ヒト TLR7 トランスジェニックマウスを用いた解析から、TLR7 刺激により IgG4-RD に類似した病態を形成することが明らかとなった。TLR7 と IgG4-RD との関連については、IgG4-RD の一つである自己免疫膵炎でもすでに同様の報告がなされている。一方で、TLR8 に関しては、IgG4-RD においては mRNA 発現レベルでの有意差は認められなかったが、SS において有意な発現亢進が認められた。すでに IgG4-RD は SS とは異なる病態であることが明らかとなっているが、関与する TLR も異なることが示唆された。

以上より、MARCO および TLR7 は、IgG4-RD の病態形成に関わる新たな特異的自然免疫関連分子である可能性が示唆された。特に発症・病因に関しては、IgG4 がポリクローナルであり、特定の病原性や抗原性が認められないことを考慮すると、MARCO や TLR7 などのパターン認識受容体を介した自然免疫の活性化が重要である可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ishiguro N, Moriyama M, Furusho K, Furukawa S, Shibata T, Murakami Y, Chinju A, Rafiul Haque ASM, Gion Y, Ohta M, Maehara T, Tanaka A, Yamauchi M, Sakamoto M, Mochizuki K, Ono Y, Hayashida JN, Sato Y, Kiyoshima T, Yamamoto H, Miyake K, Nakamura S.	4. 巻 72
2. 論文標題 Activated M2 Macrophages Contribute to the Pathogenesis of IgG4 Related Disease via Toll like Receptor 7/Interleukin 33 Signaling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	6. 最初と最後の頁 166 ~ 178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.41052	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizuki Sakamoto, Masafumi Moriyama, Mayumi Shimizu, Akira Chinju, Keita Mochizuki, Ryusuke Munemura, Keiko Ohyama, takashi maehara, Kenichi Ogata, Miho Ohta, Masaki Yamauchi, Noriko Ishiguro, Mayu Matsumura, Yukiko Ohyama, Tamotsu Kiyoshima, Seiji Nakamura	4. 巻 30
2. 論文標題 The diagnostic utility of submandibular gland sonography and labial salivary gland biopsy in IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis: Its potential application to the diagnostic criteria.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 379-384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Mizuki, Moriyama Masafumi, Shimizu Mayumi, Chinju Akira, Mochizuki Keita, Munemura Ryusuke, Ohyama Keiko, Maehara Takashi, Ogata Kenichi, Ohta Miho, Yamauchi Masaki, Ishiguro Noriko, Matsumura Mayu, Ohyama Yukiko, Kiyoshima Tamotsu, Nakamura Seiji	4. 巻 -
2. 論文標題 The diagnostic utility of submandibular gland sonography and labial salivary gland biopsy in IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis: Its potential application to the diagnostic criteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1576271	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maehara Takashi, Mattoo Hamid, Mahajan Vinay S, Murphy Samuel JH, Yuen Grace J, Ishiguro Noriko, Ohta Miho, Moriyama Masafumi, Saeki Takako, Yamamoto Hidetaka, Yamauchi Masaki, Daccache Joe, Kiyoshima Tamotsu, Nakamura Seiji, Stone John H, Pillai Shiv	4. 巻 1
2. 論文標題 The expansion in lymphoid organs of IL-4+ BATF+ T follicular helper cells is linked to IgG4 class switching in vivo	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.201800050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件(うち招待講演 0件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 坂本瑞樹、森山雅文、林田淳之介、大山恵子、前原隆、緒方謙一、石黒乃理子、松村万由、鎮守晃、望月敬太、宗村龍祐、太田美穂、中村誠司
2. 発表標題 M3型ムスカリン受容体アゴニストの長期投与による唾液分泌量の経時的変化と治療効果に関わる因子についての検討
3. 学会等名 第73回 日本口腔科学会 学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本瑞樹、森山雅文、清水真弓、鎮守晃、望月敬太、前原 隆、太田美穂、石黒乃理子、林田淳之將、中村誠司
2. 発表標題 口唇腺生検と顎下腺超音波検査は、IgG4 関連涙腺・唾液腺炎の診断に有用か?
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本瑞樹、森山雅文、林田淳之介、清水真弓、大山恵子、前原隆、緒方謙一、石黒乃理子、松村万由、鎮守 晃、望月敬太、宗村龍祐、太田美穂、中村誠司
2. 発表標題 シェーグレン症候群患者に対するM3ムスカリン受容体アゴニスト長期投与による治療効果の検討
3. 学会等名 第28回日本シェーグレン症候群学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎮守晃、森山雅文、石黒乃理子、古庄克宏、前原隆、坂本瑞樹、田中昭彦、古川祥子、山内昌樹、太田美穂、望月敬太、宗村龍祐、林田淳之將、中村誠司
2. 発表標題 IgG4 関連疾患において M2 マクロファージはToll 様受容体 7-IRAK4 シグナルを介してIL-1 誘導型炎症を惹起する
3. 学会等名 第28回日本シェーグレン症候群学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎮守晃、森山雅文、石黒乃理子、古庄克宏、前原隆、坂本瑞樹、田中昭彦、古川祥子、山内昌樹、太田美穂、望月敬太、宗村龍祐、林田淳之將、中村誠司
2. 発表標題 M2マクロファージはToll様受容体7-IRF8シグナルを介してIgG4関連疾患におけるIL-1誘導型炎症を惹起する
3. 学会等名 第73回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mizuki SAKAMOTO, Masafumi MORIYAMA, Keiko OYAMA, Takashi MAEHARA, Kenichi OGATA, Miho OHTA, Noriko ISHIGURO, Haque A. S. M. RAFIUL, Akira CHINJU, Keita MOCHIZUKI, Mayu MATSUMURA, Ryusuke MUNEMURA, and Seiji NAKAMURA
2. 発表標題 CD68+ monocyte/macrophage via TLR8/TNF- signaling contributes to the pathogenesis of Sjogren 's syndrome
3. 学会等名 The 60th Congress of Korean Association of Oral & Maxillofacial Surgeons ( 国際学会 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 瑞樹、森山 雅文、清水 真弓、鎮守 晃、望月 敬太、宗村 龍祐、大山 恵子、前原 隆、緒方 謙一、太田 美穂、山内 昌樹、石黒 乃理子、松村 万由、中村 誠司
2. 発表標題 IgG4 関連涙腺・唾液腺炎の診断における口唇腺生検および超音波検査の有用性
3. 学会等名 第11回 IgG4 研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 瑞樹、森山 雅文、大山 恵子、田中 昭彦、前原 隆、緒方 謙一、古川 祥子、太田 美穂、山内 昌樹、石黒 乃理子、Haque A. S. M. Rafiul、鎮守 晃、望月 敬太、松村 万由、宗村 龍祐、林田 淳之將、中村 誠司
2. 発表標題 シェーグレン症候群の病態形成におけるToll様受容体を介した自然免疫の関与
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mizuki SAKAMOTO, Masafumi MORIYAMA, Keiko OYAMA, Akihiko TANAKA, Takashi MAEHARA, Kenichi OGATA, Sachiko FURUKAWA, Miho OHTA, Masaki YAMAUCHI, Noriko ISHIGURO, Haque A. S. M. RAFIUL, Akira CHINJU, Keita MOCHIZUKI, Mayu MATSUMURA, Ryusuke MUNEMURA, Jun-Nosuke HAYASHIDA, and Seiji NAKAMURA
2. 発表標題 Involvement of innate immune responses in the pathogenesis of Sjogren 's syndrome via Toll like receptor 8
3. 学会等名 The 59th Congress of Korean Association of Oral & Maxillofacial Surgeons (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mizuki Sakamoto, Masafumi Moriyama, Keiko Oyama, Akihiko Tanaka, Takashi Maehara, Sachiko Furukawa, Miho Ohta, Masaki Yamauchi, Noriko Ishiguro, Miho Ohta, Masaki Yamauchi, Haque A. S. M. Rafiul, Akira Chinju, Keita Mochizuki, Ryusuke Munemura Jun-Nosuke Hayashida, and Seiji Nakamura
2. 発表標題 DNA microarray analysis of labial salivary gland in Sjogren 's syndrome indicates a role for innate immune responses in its pathogenesis via Toll like receptor 8
3. 学会等名 第14回国際シェーグレン症候群学会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akira Chinju, Masafumi Moriyama, Noriko Ishiguro, Yurie Mikami, Akihiko Tanaka, Takashi Maehara, Sachiko Furukawa, Miho Ohta, Masaki Yamauchi, Mizuki Sakamoto, Haque A. S. M. Rafiul, Keita Mochizuki, Ryusuke Munemura, Jun-Nosuke Hayashida, and Seiji Nakamura
2. 発表標題 Clinicopathological analysis of labial salivary gland tissues from patients with IgG4-related disease
3. 学会等名 第14回国際シェーグレン症候群学会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------