

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17894

研究課題名(和文) IgG4関連疾患の原因究明：特定抗原による発病メカニズム

研究課題名(英文) Pathogenesis of IgG4-related disease: disease developing mechanism by specific antigen

研究代表者

竹内 真衣 (Takeuchi, Mai)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：10759666

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは唾液腺のIgG4関連疾患でランゲルハンス細胞様の特徴的な樹状細胞が特異的に増加することを見出し、特定の抗原がこれらの樹状細胞を過剰に刺激しIgG4関連疾患の発症を促す可能性を見出した。当初は患者末梢血を用いて抗原のスクリーニングを行う予定であったが、異動のため研究計画を変更した。代わりに網羅的な遺伝子発現解析を行いIgG4関連疾患の病態に重要な遺伝子の同定を行い病態解明を行うこととした。COVID-19の影響で研究協力施設での解析を中断しているが、協力態勢が整い次第解析を行い、研究成果を学会や論文等で発表予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgG4関連疾患は原因不明の腫瘍形成性疾患であり難病指定を受けている。治療の第一選択はステロイドであるが、ステロイドの長期投与による副作用やステロイド中断後の再燃が問題となる他、ステロイド無効例に対する治療も課題となっている。本研究でIgG4関連疾患の病態が解明されれば、より効果的な治療開発の一助となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Langerhans cell-like dendritic cells were significantly increased in IgG4-related disease involving salivary glands in our previous study. We hypothesized that certain specific antigens stimulated these dendritic cells to cause IgG4-related disease. Although we tried to investigate peripheral blood of patients, we changed our plan because the representative researcher moved to other institution. Instead, we planned comprehensive gene expression analysis using nCounter method. Although COVID-19 interrupted the analysis, we will finish the analysis shortly and publish the results at academic meeting and journals.

研究分野：血液病理

キーワード：IgG4関連疾患 樹状細胞 リンパ球 遺伝子発現解析 免疫

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 21 世紀に本邦より提唱され世界に広まった新しい疾患で、脾臓や唾液腺、涙腺など全身の様々な臓器に腫瘤を形成することが特徴である。腫瘤はリンパ球や形質細胞などの炎症細胞と線維化からなる良性のものであり、腫瘤が形成される原因は不明である。血液検査で免疫グロブリン一種である Immunoglobulin (Ig) G4 が高くなる事から「IgG4 関連疾患」と命名された。

本邦では IgG4 関連疾患の患者はアトピー性皮膚炎、気管支喘息などのアレルギー性疾患の既往を有する例が多く、抗原に対するアレルギー反応と密接な関係を有する血清 IgE が上昇している。このことから、患者の多くがアトピー素因を背景に IgG4 関連疾患を発症する可能性が示唆されている。アトピー性皮膚炎や気管支喘息ではヘルパー T (Th) 細胞の中の Th1 細胞と Th2 細胞のバランスが崩れ、Th2 細胞が活性化する事が病気の原因と考えられている。IgG4 関連疾患でも T 細胞の活性化が起きていることが報告されており、本邦では特に Th2 細胞と制御性 T 細胞が過剰産生するサイトカインが IgG4 関連疾患の原因と推測されている。T 細胞の活性化が起こる原因は不明であるが、何らかの特定の抗原が原因となっている可能性が指摘されている。

研究代表者らは唾液腺の IgG4 関連疾患で皮膚のランゲルハンス細胞に類似した樹状細胞が有意に増加していることを過去に見出した。アトピー性皮膚炎では抗原提示細胞の一種であるランゲルハンス細胞が特定の抗原に刺激されることで T 細胞の活性化を促していると考えられており、IgG4 関連疾患でも類似した機序で抗原刺激と T 細胞の活性化が起こっている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

IgG4 関連疾患の長期的な治療法はまだ確立されておらず、ステロイドが第一選択となっているが長期投与による副作用やステロイド減量後の再燃が課題となっている。平成 27 年度に厚生労働省の難病指定を受け、早急な原因の解明と治療方針の確立が望まれている。

本研究は IgG4 関連疾患の病態解明を目的とし、可能であれば原因となる抗原の候補を特定することを目的とする。本研究の知見からより効果的な治療法を開発する事が可能となる事が期待される。

3. 研究の方法

当初は初期に患者の末梢血を用いて抗原特異的 IgE を幅広く検索することで候補となる抗原を抽出することを計画していた。しかし、研究代表者が他施設に移籍したこともあり、末梢血採取の同意が得られるような通院中の患者がおらず、当初の計画を変更することとした。久留米大学倫理審査委員会の審査を通過した上で IgG4 関連疾患の病変部のホルマリン固定パラフィン検体から RNA 抽出を行い、nCounter 解析 (Nanostring 社) で網羅的に免疫関連遺伝子の発現解析を行うこととした。IgG4 関連疾患の病態モデルは本邦と米国で乖離が見られており、全体像を把握する点でも遺伝子発現解析は効果的と考えられた。遺伝子発現解析で抗原を特定することは困難であるが、関与する免疫細胞や活性化パターンからどのようなタイプの抗原が関与しているか大まかな推定を試みることにした。

4. 研究成果

1. ランゲルハンス細胞様樹状細胞の同定

唾液腺の IgG4 関連疾患 (IgG4-RD)、唾石症 (sialolithiasis)、正常唾液腺の 3 者で各種樹状細胞マーカーを免疫染色で検討したところ、IgG4 関連疾患では他の 2 群と比較して CD1a 陽性、Langerin 陽性の樹状細胞がそれぞれ有意に増加していた (図 1, 2)。これらの細胞は Fc RI も部分的に発現しており、皮膚のランゲルハンス細胞と同様の性質を示した。唾液腺においてこのような樹状細胞の存在は報告がなく、IgG4 関連疾患において特異的な働きをしている可能性が示唆された。

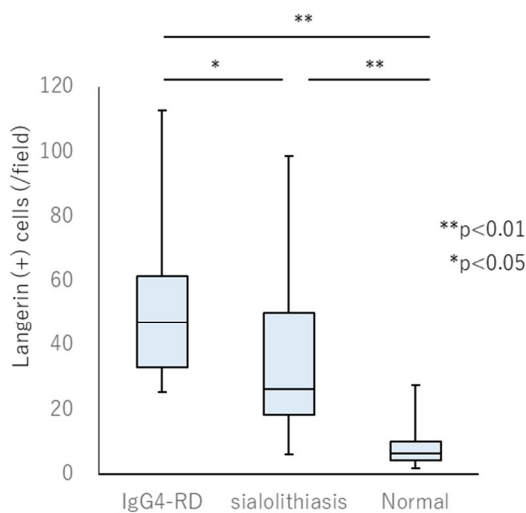


図1. IgG4関連疾患 (IgG4-RD) は Langerin陽性細胞数が有意に多い

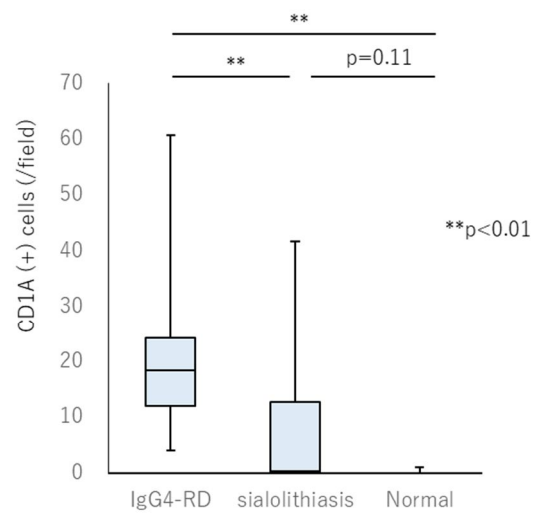


図2. IgG4関連疾患 (IgG4-RD) は CD1a陽性細胞数が有意に多い

2. 遺伝子発現解析

ホルマリン固定パラフィン検体と臨床情報が揃い、組織学的に IgG4 関連疾患と確定した症例 8 例を収集した。対象として、類縁疾患である多中心性キャスルマン病の確定例 8 例、良性の反応性リンパ節 8 例をそれぞれ収集した。これらの検体から抽出した RNA で nCounter 法の human immunology panel を用いて遺伝子発現解析を行う準備が整ったが、COVID-19 による研究自粛等により研究協力施設に赴くことが難しかったため保留となっている。近日中に解析を行い、研究結果を学会や学術誌で報告予定である。各種免疫細胞やサイトカインの発現を解析し、IgG4 関連疾患の病態解明につながることを期待される。

3. 検討課題

遺伝子発現解析で得られるデータは有益なものと期待されるが、どの細胞の変動を見ているかは確定が難しい。そのため、シングルセル解析や多重免疫染色による個々の細胞の影響を見る必要が予想される。抗原についても他施設と協力し当初の予定通り患者末梢血を用いた検索ができるよう体制を整える必要があると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Takeuchi M, Miyoshi H, Asano N, Yoshida N, Yamada K, Yanagida E, Moritsubo M, Nakata M, Umeno T, Suzuki T, Komaki S, Muta H, Furuta T, Seto M, Ohshima K. | 4. 巻 104 |
| 2. 論文標題 Human Leukocyte Antigen Class II Expression Is a Good Prognostic Factor in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Haematologica | 6. 最初と最後の頁 1626-1632 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3324/haematol.2018.205567 | 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 Gion Y, Takeuchi M, Shibata R, Takata K, Miyata-Takata T, Orita Y, Tachibana T, Yoshino T, Sato Y. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Up-regulation of Activation-Induced Cytidine Deaminase and Its Strong Expression in Extra-Germinal Centres in IgG4-related Disease | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 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） 10.1038/s41598-018-37404-x. | 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 Takeuchi M, Miyoshi H, Nakashima T, Kawamoto K, Yamada K, Yanagida E, Muta H, Moritsubo M, Umeno T, Suzuki T, Seto M, Ohshima K. | 4. 巻 99 |
| 2. 論文標題 Comprehensive Immunohistochemical Analysis of Immune Checkpoint Molecules in Adult T Cell Leukemia/Lymphoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Annals of Hematology | 6. 最初と最後の頁 1093-1098 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00277-020-03967-x. | 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 Nishida K, Sogabe Y, Makihara A, Senoo A, Morimoto H, Takeuchi M, Gion Y, Yoshino T, Sato Y. | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 Ocular Adnexal Marginal Zone Lymphoma Arising in a Patient With IgG4-related Ophthalmic Disease | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Modern Rheumatology | 6. 最初と最後の頁 383-387 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2016.1216733. | 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 Nishida K, Gion Y, Takeuchi M, Tanaka T, Kataoka TR, Yoshino T, Sato Y | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Mast Cells Exhibiting Strong Cytoplasmic Staining for IgE and High Affinity IgE Receptor are Increased in IgG4-Related Disease. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Report | 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) 10.1038/s41598-018-37404-x | 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6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 竹内真衣、三好寛明、浅野直子、山田恭平、柳田恵理子、森坪麻友子、牟田紘子、古田拓也、瀬戸加大、大島孝一 |
| 2. 発表標題 HLA class II発現は成人T細胞白血病/リンパ腫の予後因子である |
| 3. 学会等名 第108回日本病理学会総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 竹内真衣 |
| 2. 発表標題 POEMS症候群の病理 |
| 3. 学会等名 キャスルマン病・TAFRO症候群・IgG4関連疾患・POEMS症候群4疾患合同検討会議 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 竹内真衣、三好寛明、宮脇恒太、大島孝一 |
| 2. 発表標題 DLBCLにおけるHLA発現と免疫微小環境の検討 |
| 3. 学会等名 平成30年度難治性リンパ腫小班(山口班)班会議 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|-----------------------------|
| 1. 発表者名 竹内真衣 |
| 2. 発表標題 リンパ節の病理 |
| 3. 学会等名 第41回日本乳腺甲状腺超音波学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 竹内真衣、祇園由佳、林詠子、井川卓朗、佐藤康晴、吉野正 |
| 2. 発表標題 IgG4関連疾患におけるランゲルハンス細胞様樹状細胞による抗原提示の可能性 |
| 3. 学会等名 リンパ網内系学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 竹内真衣、佐藤康晴、祇園由佳、林詠子、吉野正 |
| 2. 発表標題 IgG4関連唾液腺症の上皮におけるランゲルハンス細胞様樹状細胞を介した抗原提示の可能性 |
| 3. 学会等名 日本病理学会 |
| 4. 発表年 2017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 |
|-------|------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 佐藤 康晴 (SATO YASUHARU) | | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|-------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 吉野 正 (YOSHINO TADASHI) | | |
| 研究協力者 | 大島 孝一 (OHSHIMA KOICHI) | | |