

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24097

研究課題名(和文)スカベンジャー受容体MARCOに着目したIgG4関連疾患の新規分子標的治療の確立

研究課題名(英文)Developing a new strategy for IgG4 related disease focusing on MARCO

研究代表者

坂本 瑞樹 (SAKAMOTO, MIZUKI)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：90848029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：IgG4-RDにおけるM2マクロファージの免疫学的特徴をさらに明確にするために、IgG4-RD患者の唾液腺からセルソーターを用いてM2マクロファージを抽出し、DNAマイクロアレイにて網羅的解析を行うこととした。現在は健常者での抽出まで完了しており、今後は患者検体での抽出・検討を行う予定である。また、GenomeEnhancer解析により、治療標的分子としてKAT2B(PCAF)といった自然免疫関連分子が抽出された。今後もMARCOに加え、PCAFといった自然免疫担当細胞を活性化させる分子を同定・解析し、IgG4-RDの発症や病態進展のメカニズムの解明し、新規標的分子治療を確立する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究で明らかになっているMARCOを介した下流シグナルを解析することで、MARCO-Tgマウスが作成でき、IgG4-RDの病態を反映することができれば、現在難航しているIgG4-RDモデルマウスの確立にもつながり、現在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こと多いに期待される。

研究成果の概要(英文)：To clarify the role of M2 macrophage on pathogenesis of IgG4-RD, we planned to extract M2 macrophage from IgG4-RD patients and analyze them using DNA microarray. We successfully extract from health patients sample by now. On the other hand, we underwent genome enhancer analysis and find out KAT2B(PCAF) related with innate immunity. A more thorough understanding of the role of MARCO+M2 macrophages in IgG4 RD could lead to the establishment of a mouse model of IgG4 RD and to the eventual development of novel pharmacologic strategies.

研究分野：唾液腺疾患

キーワード：IgG4関連腺腫・唾液腺炎 MARCO 自然免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

われわれはこれまでの研究により、特にヘルパーT (Th) type 2 サイトカインである IL-4 や IL-10 が IgG4 過剰産生に重要であり、IgG4-RD が Th2 依存性の疾患であることが世界的に認識されるようになった。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。さらに最近では、これらの獲得免疫を活性化させる自然免疫の関与や生体防御の応答を誘起する Toll 様受容体 (TLR) も病態形成に関与していることが報告されている。そこでわれわれは自然免疫細胞として強力な抗原提示能を有する DC およびの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 M2 マクロファージが集積しており、線維化を亢進させることを報告した。

2. 研究の目的

近年、IgG4-RD の病態形成に自然免疫が関与していることが指摘されていることから、われわれは、マクロファージ (M) や樹状細胞 (DC) などの自然免疫担当細胞に着目し、顎下腺組織を用いて DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った。その結果、新規疾患感受性遺伝子としてコラーゲン用構造マクロファージ受容体 (MARCO) を同定した。本研究ではさらに研究を進め、in vitro から in vivo (MARCO トランスジェニックマウス) までの検討を行い、最終的には MARCO やその下流分子を標的とした新規治療法の確立を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、IgG4-RD の病態形成に関わる自然免疫担当細胞を活性化させる分子を同定・解析することにより、IgG4-RD の発症や病態進展のメカニズムの解明し、最終的には新規標的分子治療の確立を目指す。具体的には、下記の方法で検討する。

1. 唾液腺・血液における MARCO 発現細胞の同定と解析 (フローサイトメトリー)
2. MARCO + CD68 + CD163 + 細胞の抽出と機能解析 - in vitro -
(セルソーティング、リガンド刺激実験、を行い、培養上清のサイトカインアッセイ)
3. MARCO トランスジェニック (Tg) マウスの作成と表現型の解析 - in vivo
(real-time PCR 法、免疫組織化学染色、蛍光二重免疫染色、フローサイトメトリー)

4. 研究成果

IgG4-RD の発症に関与する分子を同定し、その分子を標的とした新規治療薬を開発することである。本研究で注目している MARCO はパターン認識受容体の一種であるスカベンジャー受容体であり、これまでの研究で障害を受けた細胞から放出される炎症惹起因子 (Damage-associated molecular patterns: DAMPs) を認識し、外来病原体を排除すると考えられている。これまでの研究で IgG4-RD における MARCO 発現細胞は免疫化学染色から M2 マクロファージ (CD 68+CD163+ 細胞) と考えられており、今回の研究では IgG4-RD における M2 マクロファージの免疫学的特徴をさらに明確にするために IgG4-RD 患者の唾液腺からセルソーター (BDFACS Aria II) を用いて M2 マクロファージを抽出し、DNA マイクロアレイにて網羅的解析を行うこととし、現在は健常者での抽出まで完了しており、引き続き患者検体での抽出・検討を行う予定である。また、先行研究で行った DNA マイクロアレイ (IgG4-RD、慢性唾液腺炎、健常者の顎下腺) の結果で

GenomeEnhancer 解析を行ったところ、治療標的分子として KAT2B (PCAF) をはじめとした、自然免疫機構に関わる分子が抽出された。今後も MARCO に加え、PCAF といった自然免疫担当細胞を活性化させる分子を同定・解析することにより、IgG4-RD の発症や病態進展のメカニズムの解明し、最終的には新規標的分子治療を確立する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ishiguro Noriko, Moriyama Masafumi, Furusho Katsuhiko, Furukawa Sachiko, Shibata Takuma, Murakami Yusuke, Chinju Akira, Haque A. S. M. Rafiul, Gion Yuka, Ohta Miho, Maehara Takashi, Tanaka Akihiko, Yamauchi Masaki, Sakamoto Mizuki	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 Haque A. S. M. Rafiul, Moriyama Masafumi, Kubota Keigo, Ishiguro Noriko, Sakamoto Mizuki, Chinju Akira, Mochizuki Keita, Sakamoto Taiki, Kaneko Naoki, Munemura Ryusuke, Maehara Takashi, Tanaka Akihiko, Hayashida Jun-Nosuke, Kawano Shintaro, Kiyoshima Tamotsu, Nakamura Seiji	4. 巻 9
2. 論文標題 CD206+ tumor-associated macrophages promote proliferation and invasion in oral squamous cell carcinoma via EGF production	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/s41598-019-51149-1	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

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2019年4月19日～21日埼玉
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2019年9月13日～14日 徳島
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2019年9月13日～14日 徳島
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2019年10月25日～27日札幌
4. 発表年 2019年

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2019年4月19日～21日埼玉
4. 発表年 2019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
---------	---------