

平成 23 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20590805
 研究課題名 (和文) 自己免疫性膵炎発症におけるカリウムイオンチャンネル蛋白 Kv1.3 関与の検討
 研究課題名 (英文) Research on voltage-gated Kv1.3 K⁺ channel for the pathogenesis of autoimmune pancreatitis
 研究代表者
 川 茂幸 (KAWA SHIGEYUKI)
 信州大学・総合健康安全センター・教授
 研究者番号：10177628

研究成果の概要 (和文)：自己免疫性膵炎の疾患感受性遺伝子の検索過程でカリウムイオンチャンネル蛋白、KCNA3 (Kv1.3) を見出し、病態との関連を検討した。また genome wide association study (GWAS) により新たな疾患感受性遺伝子の検索を行った。自己免疫性膵炎の病態と Kv1.3 の発現に有意な関連を見出すことができなかった。GWAS 検索で、14 種類の染色体上に 25 種類の感受性遺伝子の候補を認め、遺伝子内に設けた SNP を用いて確認解析を行っている。

研究成果の概要 (英文)：To identify genetic factors that might contribute to autoimmune pancreatitis, we identified the voltage-gated Kv1.3 channel protein regulated by *KCNA3*. We investigated its role in the pathogenesis, but found no significant association. Using genome wide association study, we found 25 candidate genes on 14 chromosomes, which are associated with susceptibility to autoimmune pancreatitis. We are confirming the association by fine mapping with SNPs within these genes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：自己免疫性膵炎、カリウムイオンチャンネル蛋白、Kv1,3、ゲノムワイド解析

1. 研究開始当初の背景

自己免疫性膵炎は膵癌と臨床像が類似し、血清 IgG4 高値、リンパ球浸潤を伴う著明な線維化、ステロイドに対する良好な反応性などの自己免疫所見を呈し、涙腺・唾液腺炎、硬化性胆管炎、後腹膜線維症などの様々な膵外病変を合併する、特異な慢性膵炎である。これまで本疾患の発症機序に関して多くの検討がなされてきたが詳細は不明である。われ

われは本疾患の病態に関連する遺伝子を検索する目的で、ゲノムワイドなマイクロサテライトマーカーを用いて全染色体を対象とした相関解析を施行した。その結果、有望なものの一つとして D1S2726 近傍にカリウムイオンチャンネル蛋白、KCNA3 (Kv1.3) を見出した。KCNA3 (Kv1.3) はリンパ球に免疫シナプスの一員として発現し、T リンパ球の活性化、種々の自己免疫疾患発症との関連が推定

されている。Type-1 DM や RA において effector memory T cell が Kv1.3 を高発現しており、rat MS (multiple sclerosis) model において、Kv1.3 inhibitor 投与が良好な治療効果を示すと報告されている。また Kv1.3 は B cell 分化、class switch にも関与していて、本疾患で特異的に認められる高 IgG4 血症との関連を考えるうえで興味深い。

2. 研究の目的

①本研究では SNPs、Kv1.3 を含む患者リンパ球表面マーカーの検討、Kv1.3 を中心とした免疫組織学的検討により、本疾患と Kv1.3 の関連を明らかにすることを目的とした。

②Kv1.3 遺伝子で有意な関連が得られなかった場合、研究の主体を新たな候補遺伝子にしぼり、SNPs もしくは対応した基礎的、臨床的検討を進めていく。これまでのゲノムワイド検索より多数の候補遺伝子を検出してきており、これらについて詳細な検討を行っていくこととした。

3. 研究の方法

①自己免疫性膵炎におけるカリウムイオンチャンネル蛋白 Kv1.3 の関与の検討

患者リンパ球の Kv1.3 発現の検討：ステロイド治療前後、緩解期の自己免疫性膵炎患者、健常人、通常の慢性膵炎患者よりリンパ球を採取し、T cell については CCR7、Kv1.3 を、B cell については IgD、CD27、Kv1.3 と各種免疫グロブリンの発現を FACS にて評価する
Kv1.3 の免疫組織学的検討：膵組織、膵外病変組織（唾液腺、肝臓、胆管組織）における Kv1.3 発現リンパ球の分布を、IgG4 陽性形質細胞の分布と比較検討する。

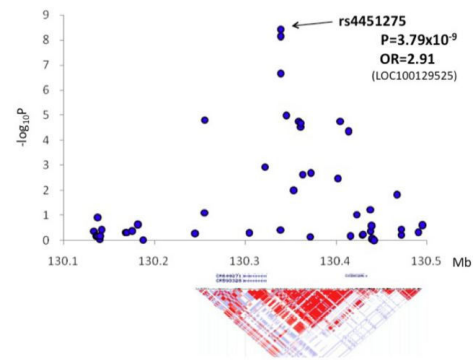
②遺伝子検体を Affimetrix 社製 SNP チップ、GeneChip Human Mapping 500k Array Set (500,568 SNPs) を用いて、自己免疫性膵炎 88 検体の全ゲノム網羅的な関連解析 (GWAS) を行った。GWAS ではオッズ比 2.5 の関連の強さをもつ SNP を検出力 80% で見つけるためにはケース・コントロール集団ともに 840 名必要であるが、今回は患者が非常に稀なことと、サンプル入手が困難なことから、現在我々が保有している患者 88 例分検体を用いた。尚、コントロールのタイピングデータは、最近 Nature Genetics に on line publish (2010, 7/11 Mizuki N et al) された 766 例分をもちいた。健常人のデータと比較し、本疾患に有意と判定された SNP を同定した。その近傍の感受性候補遺伝子を同定した。GWAS 統計解析用のソフトウェアとして HelixTree SVS 7 (Golden Helix, Inc.) を使用した。

4. 研究成果

①ステロイド治療前の自己免疫性膵炎患者、健常人、慢性膵炎患者よりリンパ球を採取し、

CCR7、Kv1.3 の発現を FACS にて検討したが、各郡で発現に有意な差を認めなかった。Kv1.3 の免疫組織学的検討についても、十分な成果を挙げることができなかった。従って、Kv1.3 に自己免疫性膵炎の病態への関与については明らかにすることができなかった。

②SNP の quality control として、call rate 95%以上、Hardy-Weinberg equilibrium P 値が 0.001 以上、MAF (minor allele frequency) が 5% 以上で選択し、322,091SNPs が統計解析に用いられた。偽陽性の SNP を除外するため、clustering analysis を行った。P<0.0001 を示す SNP の LD 領域にある他の SNP が何れも P<0.05 を示さなければ、偽陽性として除外した。P<0.0001 で疾患と関連した SNPs を Lead SNPs として連鎖不平衡下にある遺伝子を拾い出すと 14 種類の染色体上に 25 種類の遺伝子が感受性遺伝子として候補にあがった (データ非公開)。最も強い関連を示した SNP (rs4451275) とその近辺の SNPs の相関図、ならびにこれらの SNPs 間における LD ブロックを示す (図 1)。



現在、これらの遺伝子について、さらにその遺伝子内に設けた SNP を用いて、fine mapping を行い、感受性候補遺伝子の確認解析を行っている。これらの遺伝子の詳細については今回呈示できないが、炎症、免疫等に関連するものを中心の検索を進める予定である。自己免疫膵炎の GWAS による感受性遺伝子の検索は本研究が初めてであり、成果が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 20 件)

- ① Momose M, Kawa S. (9 番目) 他 7 名. Semiquantitative measurement of pulmonary hilar gallium-67 uptake using single photon emission computed tomography/computed tomography for the diagnosis of autoimmune pancreatitis. **Jpn J Radiol.** 2010;28:733-9.
- ② Umemura T, Zen Y, Hamano H, Ota M (8 番目), Kawa S (9 番目), 他 6 名. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated

- autoimmune hepatitis. **J Gastroenterol.** 2010 Sep 23. [Epub ahead of print] (査読有)
- ③ Uehara T, Hamano H, Kawa S (3 番目), 他 10 名. Chronic gastritis in the setting of autoimmune pancreatitis. **Am J Surg Pathol.** 2010;34:1241-9. (査読有)
- ④ Kamisawa T, Okazaki K, Kawa S (3 番目), 他 2 名; Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: III. Treatment and prognosis of AIP. **J Gastroenterol.** 2010 ;45:471 (査読有)
- ⑤ Kawa S, 他 4 名; Working members of Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: II. Extrapancreatic lesions, differential diagnosis. **J Gastroenterol.** 2010 ;45:355-69. (査読有)
- ⑥ Okazaki K, Kawa S (2 番目), 他 3 名; Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: I. Concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis. **J Gastroenterol.** 2010;45:249-65. (査読有)
- ⑦ Ito T, Ota M (4 番目), Kawa S (6 番目), 他 4 名. A Novel heterophilic antibody interaction involves IgG4, **Scand J Immunol** 2010 ;71:109-14. (査読有)
<http://hdl.handle.net/10091/11105>
- ⑧ Okazaki K, Kawa S, (2 番目) 他 13 名. Japanese clinical guidelines for autoimmune pancreatitis. **Pancreas** 2009;38:849-66.
- ⑨ 岡崎 和一, 川 茂幸, (2 番目) 他 18 名. 自己免疫性膵炎診療ガイドライン 2009 膵臓 24 : S1-S54, 2009 (査読無)
- ⑩ Umemura T, Kawa S (7 番目), Ota M (9 番目) 他 6 名. Association analysis of Toll-like receptor 4 polymorphism with autoimmune pancreatitis. **Hum Immunol.** 2009;70:742-6 (査読有)
- ⑪ Fujinaga Y, Kadoya M, Kawa S (3 番目) 他 7 名. Characteristic findings in images of extra-pancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. **Eur J Radiol.** 2009 Jul 4. [Epub ahead of print] 2010 ;76:228-38 (査読有)
- ⑫ Tsushima K, Kawa S, (5 番目) 他 8 名. Pulmonary involvement of autoimmune pancreatitis. **Eur J Clin Invest.** 2009;39:714-22. (査読有)
- ⑬ Ito M, Kawa S (8 番目) 他 10 名. Central airway stenosis in a patient with autoimmune pancreatitis. **Eur Respir J.** 2009;33:680-3. (査読有)
- ⑭ Kawa S, 他 7 名. Long-Term Follow-Up of Autoimmune Pancreatitis: Characteristics of Chronic Disease and Recurrence. **Clinical Gastroenterology and Hepatology** 2009;7:18-22 (査読有)
<http://hdl.handle.net/10091/11107>
- ⑮ Kamisawa T, Okazaki K, Kawa S. Diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis in Japan. **World J Gastroenterol.** 2008;28;14:4992-4 (査読無).
- ⑯ Uehara T, Kawa S (5 番目) 他 7 名. Autoimmune pancreatitis-associated prostatitis: distinct clinicopathological entity. **Pathol Int.** 2008 ;58:118-25. (査読有)
- ⑰ Kawa S, Ota M (8 番目) 他 8 名. A novel immunoglobulin-immunoglobulin interaction in autoimmunity. **PLoS ONE.** 2008 20;3:e1637 (査読有)
<http://hdl.handle.net/10091/11106>
- ⑱ Ozaki Y, Kawa S (10 番目) 他 8 名, Differentiation of autoimmune pancreatitis from suspected pancreatic cancer by FDG-PET. **J Gastroenterol** 2008;43:144-51 (査読有)
<http://hdl.handle.net/10091/1053>
- ⑲ Umemura T, Ota M (2 番目), Kawa S (8 番目) 他 6 名, Association of autoimmune pancreatitis with cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphism in Japanese patients. **Am J Gastroenterol** 2008 ;103:588-94 (査読有)
- ⑳ Otsuki M, , Kawa S (6 番目) 他 13 名, Research Committee of Intractable Pancreatic Diseases provided by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan and the Korean Society of Pancreatobiliary Diseases. Asian diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: consensus of the Japan-Korea Symposium on Autoimmune Pancreatitis. **J Gastroenterol.** 2008;4:403-8
- [学会発表] (計 16 件)
- ① 川茂幸, 「自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別について」、第 52 回日本消化器病学会大会、(横浜) 2010. 10. 15 ワークショップ 23 自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別
- ② Ito T, Kitahara K, Arakura N, Umemura T, Hamano H, Ota M, Kawa S. A novel heterophilic antibody interaction involves IgG4, Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, July 11-13, 2010, Fukuoka□.
- ③ Kawa S, IAP Sympojsium 1: International Consensus on Autoimmune Pancreatitis, OOI-Should they be included in the criteria? Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan

- Pancreas Society 2010, July 11-13, 2010, Fukuoka
- ④ Kawa S, IAP Symposjium 1: International Consensus on Autoimmune Pancreatitis, Serology-Are IgG and Autoantibodies necessary? Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, July 11-13, 2010, Fukuoka
- ⑤ Kawa S, Hamano H, Fujinaga Y, Ozaki Y, Okazaki K, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M, mini symposium3: autoimmune pancreatitis“Differentiating AIP from Pancreatic Cancer” 40th Anniversary Meeting of American Pancreatic Society and Japan Pancreas Society, November 4-7, 2009, Hawaii
- ⑥ Kawa S:”Role of Serologic testing to diagnose AIP” AIP International Cooperative Study Group (APICS) Consensus Meeting, 2009, Nov 4, Hawaii
- ⑦ Ito T, Kitahara K, Kawa S, “Human IgG4 binds to each IgG subclass with Fc-Fc interaction” 40th Anniversary Meeting of American Pancreatic Society and Japan Pancreas Society, November 4-7, 2009, Hawaii
- ⑧ Kawa S, Hamano H;”Inflammation and carcinogenesis of the pancreas; AIP and Pancreatic cancer, Long term prognosis of AIP“. 5th Joint Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association”. May 7-8, Sapporo, 2009
- ⑨ 浜野英明、梅村武司、川茂幸、「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的背景と IgG4 のリウマトイド因子活性の検討」、第 51 回日本消化器病学会大会、(京都) 2009 ワークショップ
- ⑩ 浜野英明、新倉則和、川茂幸 「原発性硬化性胆管炎、自己免疫性膵炎関連硬化性胆管炎、肝門部胆管癌の鑑別に関する検討」第 50 回日本消化器病学会大会、(東京)、2008. 10. 2
- ⑪ 浜野英明、高山真理、川茂幸 「自己免疫性膵炎のステロイド治療適応規準と再燃増悪ハイリスク群の検討」第 50 回日本消化器病学会大会、(東京)、2008. 10. 1
- ⑫ 張淑美、浜野英明、児玉 亮、尾崎弥生、高山真理、新倉則数、田中栄司、川茂幸、下垂体・涙腺唾液腺・肺・腎・後腹膜・前立腺・リンパ節と多発病変を伴う自己免疫性膵炎、第 39 回日本膵臓学会大会、横浜、2008, 7 月 31 日
- ⑬ Kawa S: “Treatment of AIP, Follow-up, Recurrence and Prognosis”. Autoimmune Pancreatitis Summit 2008. July 4-5, Seoul, 2008
- ⑭ Kawa S: “Clinical features of AIP, Serology”. Autoimmune Pancreatitis Summit 2008. July 4-5, Seoul, 2008
- ⑮ Kawa S; “Differentiating strategy between autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer”. The International Pancreatic Research Forum 2008, Mar 22, Tokyo, 2008
- ⑯ 浜野英明、新倉則和、川茂幸 「自己免疫性肝胆膵疾患の胆管病変をめぐって 原発性硬化性胆管炎と自己免疫性膵炎に伴う硬化性胆管炎の血清学的鑑別、並びに IgG4 関連硬化性胆管炎の臨床病理学的検討」第 94 回日本消化器病学会総会、(福岡)、2008
- [図書] (計 13 件)
- ① 川茂幸: 自己免疫性膵炎と IgG4 関連疾患、林紀夫、日比紀文、上西紀夫、下瀬川徹 (編)、Annual Review 消化器 2011、pp258-265、中外医学社、東京、2011
- ② 川茂幸、IgG4 のリウマトイド因子活性について、川茂幸、川野充弘 (編)、Pp 105-110, IgG4 関連疾患への誘い、前田書店、2010
- ③ 川茂幸、自己免疫膵炎と膵外病変、川茂幸、川野充弘 (編)、Pp 49-56, IgG4 関連疾患への誘い、前田書店、2010
- ④ 川茂幸、自己免疫性膵炎を中心とした IgG4 研究の流れ、川茂幸、川野充弘 (編)、Pp 29-34, IgG4 関連疾患への誘い、前田書店、2010
- ⑤ 川茂幸、藤永康成、能登原憲司、神澤輝実、大槻 眞: 鑑別診断 悪性疾患 (癌との鑑別指針) - 自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別のポイント、川茂幸、神澤輝実 (編)、Pp151-156、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009
- ⑥ 川茂幸: 鑑別診断 良性疾患、川茂幸、神澤輝実 (編)、Pp150-155、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009
- ⑦ 川茂幸: 膵外病変 その他の膵外病変- 甲状腺機能低下症、下垂体炎、前立腺炎、血小板減少性紫斑病、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実 (編)、Pp142-145、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009
- ⑧ 川茂幸、伊東理子、山本 洋、津島健司、久保恵嗣: 膵外病変 呼吸器病変、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実 (編)、Pp128-131、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009
- ⑨ 川茂幸、藤永康成: 膵外病変 後腹膜線維症、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実 (編)、Pp120-124、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009
- ⑩ 神澤輝実、岡崎和一、川茂幸、下瀬川徹、大槻 眞: 診断基準 アジア診断基準、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実 (編)、

Pp107-110、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009

⑪ 川 茂幸、浜野英明：膵画像検査FDG-PET, ガリウムシンチグラフィー、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実（編）、Pp71-77、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009

⑫ 川 茂幸：自己免疫異常 IgG4、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実（編）、Pp46-51、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009

⑬ 川 茂幸：自己免疫異常 自己免疫性膵炎における補体系の役割、岡崎和一、川茂幸、神澤輝実（編）、Pp41-45、自己免疫性膵炎-病態から診断・治療まで、診断と治療社、2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川 茂幸 (KAWA SHIGEYUKI)

信州大学・総合健康安全センター・教授

研究者番号：10177628

(2) 研究分担者

太田 正穂 (OTA MASAO)

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：50115333