

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：若手(B)
研究期間：2008～2009
課題番号：20791532
研究課題名（和文） シェーグレン症候群とミクリッツ病 / IgG4 関連疾患の新概念
研究課題名（英文） New treatment of Sjögren's syndrome and Mikulicz's disease / IgG4 related disease.
研究代表者
森山 雅文 (MORIYAMA MASAFUMI)
九州大学病院 顎口腔外科 医員
研究者番号：20452774

研究成果の概要（和文）：

【目的】

ミクリッツ病 (MD) は涙腺と唾液腺の腫張を特徴とし、病理組織学的類似性があることから、シェーグレン症候群 (SS) の一亜型と認識されてきた。しかし近年、MDに高IgG4血症や腺組織へのIgG4陽性B細胞の浸潤が認められ、両者が全く異なった機序で生じる疾患であることが示唆されている。われわれは昨年のIgG4研究会において、MDはTh2依存性の疾患であることを報告したが、IgG4との関連については不明な点が多かった。Th2サイトカインであるIL-4は、たしかにIgG4へのクラススイッチを誘導するが、同時にIgEも誘導する。しかし最近の報告ではIL-4とIL-10の両者で刺激するとIgEへの誘導が抑制され、IgG4へのみ誘導されることが指摘されている。そこで今回われわれは、Th1、Th2、Treg、およびTh17に関連するサイトカインの発現をSSと比較検討した。さらに他臓器においてもIgG4の浸潤を認めた数例の症例については、臓器間での比較検討も行った。

【材料と方法】

1993年4月から2008年12月までに当科および当院膠原病内科を受診したMD15例、SS18例および健常者18例を対象とした。これらの患者の口唇腺や腫脹した唾液腺（一部の症例ではリンパ節、腎臓）を用いて、免疫組織化学染色およびreal-time PCRによりサイトカイン発現を解析した。

【結果】

SSではTh1、Th2、およびTh17タイプのサイトカイン発現が亢進しており、唾液腺へのIgG4およびTregの浸潤はほとんどみられなかった。一方、MDではTh2およびTregタイプの分子の発現が亢進しており、唾液腺へのIgG4 および Tregの強い浸潤がみられた。臓器間では、これらのサイトカイン発現に有意な差は認められなかった。

【結論】

以上の結果より、MD / IgG4関連疾患ではTh2とおよびTregからそれぞれ産生されるIL-4、IL-10によってIgG4へのクラススイッチが促進されると考えられ、これらのサイトカインがMDの病態形成に関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

【Objective】

Mikulicz's disease (MD) has been considered to be a subtype of Sjögren's syndrome (SS). However, recent studies have indicated that MD shows high serum IgG4 concentration, and suggested that MD is an IgG4 related systemic disease and distinguishable from SS. In addition, It

has been reported that both IL-4 and IL-10 upregulate induction of IgG4, whereas inhibition of IgE. Therefore, we examined the expression of these cytokines in SS and MD patients.

【Materials and Methods】

Fifteen and 18 patients with MD and SS, respectively, referred to Kyushu University Hospital between 1993 and 2009, were included in the study. The following items were examined; 1.subsets of the infiltrating lymphocytes, 2. expression of Th1, Th2, and Treg type cytokines, 3. relationship between IgG4/IgG ratio and expression of IL-4 or IL-10 in the salivary glands.

【Results】

SS showed the lymphocytes infiltration of various subsets and the increased expression of both Th1 and Th2 types cytokines, while MD showed the selective IgG4+ B cell and Treg infiltration and the increased expression of Th2 and Treg type cytokines. Both IL-4 and IL-10 were closely associated with IgG4 production.

【Conclusion】

These results suggest that the pathogenesis of MD is apparently different from that of SS, and that MD might not be s subtype of SS. Furthermore, Th2 and Treg type cytokines were involved in not only the initiation but also the progression of MD

交付決定額

(金額単位：円)			
	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	960,000	3,160,000

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：補綴系歯学

キーワード：インプラント周囲炎、スタチン、骨再生、抗炎症

1. 研究開始当初の背景

SSは、唾液腺や涙腺などの外分泌腺が特異的に障害を受ける臓器特異的自己免疫疾患であり、ドライマウス（口腔乾燥）やドライアイ（乾燥性角結膜炎）を主症状とする。導管上皮へのリンパ球浸潤を特徴とし、病態進展とともに高ガンマグロブリン血症や悪性リンパ腫などの腺外症状が出現することがあるために、リンパ増殖性病変とも称されている。現在のところ、SSの発症や病態進展の機序についての詳細は不明な点が多いが、最

近ではサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプターの関与が報告されている（Arthritis Rheum 39:1376-84,1996、Arthritis Rheum 46:2730-41,2002）。

一方、MDIは、涙腺や唾液腺腫脹を特徴とし、病理組織学的類似性からSSの一亜型として認識されてきたが、腺腫脹がステロイド反応性であること、血清中の抗SS-A/SS-B抗体などの自己免疫抗体がみられないこと、高IgG4血症や腺組織へのIgG4陽性形質細胞の浸潤が認められること（Rheumatology 44:227-234,2005）

から、両者が異なった病態を有した疾患である可能性が示唆されている。さらに自己免疫性膵炎や原発性硬化性胆管炎などの合併症を高頻度に有することからこれらの疾患とともにIgG4関連疾患として内科的にも注目されている疾患である。しかし現時点では、SSとMDの分子生物学的相違点が明らかにされておらず、病態形成におけるサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプターの関与についても両者の違いは明らかにされていない。

2. 研究の目的

第一は我々が行ってきたシェーグレン症候群についての研究で、唾液腺導管上皮細胞に反応するT細胞サブセット(ヘルパーT細胞:Th)が変化すると病態が進展することを明らかにしている。つまりSSでは、病変の初期にはTh1が病変局所に浸潤し、病態が進展すると加えてTh2が浸潤する。その一方でMDに特徴的なIgG4はTh2サイトカインであるIL-4やIL-10によって分化・誘導することが知られており(J Immunol 172:3252-9,1998)、MDはTh2疾患とも考えられ、両者のTh1/Th2バランスに違いがあることが推察される。さらに最近の研究ではIgG4関連疾患である自己免疫性膵炎においてTh2だけではなく制御性T細胞(Treg)も病態形成に関与する可能性が示唆されていることから(HEPATOLOGY 45:1538-46,2007)、MDにおいてもTh2およびTregが病態形成に深く関与していることが考えられる。よって本研究ではIL-4やIL-10に加えて、選択的にT細胞を誘導するケモカイン・ケモカインレセプターにも注目している。

第二は当科におけるMD患者とSS患者との臨床的比較検討で、SSと比較して腺腫脹が高頻度で認められ、血清中の抗SS-A/SS-B抗体が全症例において陰性であり、耳下腺造影でもSSに特徴的な点状陰影は認められず、唾液分泌量の減少も比較的軽度だったことから、明らかに臨床的にも病態が異なることを示唆する結果が得られた。

以上のような従来の研究成果により、MDとSSの病態形成には、異なるタイプ(Th1、Th2、Treg)のサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプターが関与している可能性が高く、今回行った予備実験(後述)においても、これらの関与を示唆する結果であったことから、MDとSSは独立した疾患であるとの着想に至った。

本研究の最終目標は、病態形成に関わ

る分子の特定し、MDの新しい診断方法の確立および病態進展のメカニズムの解明し、さらにはSSの病態解析にフィードバックさせることである。

3. 研究の方法

1) 唾液腺におけるリンパ球サブセットの検索(免疫組織化学染色)

これまでの研究成果から、SSの唾液腺では病態の進展とともに、CD3陽性細胞(T細胞)の他にもCD20陽性細胞(B細胞)の浸潤が認められ、CD4陽性細胞(Th)がCD8陽性細胞(細胞障害性T細胞)と比べて優位に浸潤することが判っている。またMDとSSの唾液腺におけるIgG4陽性細胞の発現と局在は、予備実験ではMDのみにIgG4の発現を認めたが、MDで高頻度にみられた胚中心では、IgG4の発現は認められなかった。

本研究では以下のような検索を行う。

・MDとSSの唾液腺におけるCD3/CD20比およびCD4/CD8比

・MDとSSの唾液腺におけるTregの発現と局在

2) 唾液腺におけるサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプターの発現の解析(Real time PCR法+免疫組織化学染色)

予備実験(次ページ)では、疾患別の唾液腺におけるサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプター(Th1タイプ: IL-2、IFN- γ 、IL-12、IP-10、MIP-1、CXCR3、CCR5 Th2タイプ: IL-4、IL-5、TARC、MDC、CCR4 Tregタイプ: IL-10、TGF- β 、Foxp3)の相対的mRNA量を検討した。この結果、SSでは健常者と比較してTh1およびTh2タイプの分子の発現が亢進しており、一方MDではTh2およびTregタイプの分子の発現が亢進していた。

本研究では症例数を増やして更なる検討を行い、関連が示唆された分子については、免疫組織化学染色にてその発現と局在を検索する。

3) IgG4の産生に関与する分子の同定(患者唾液腺の培養)

2)の予備実験において、MD特異的にTh2およびTregタイプの分子の発現が亢進していたことから、IL-4やIL-10はもちろんその他の分子についてもIgG4との関連が示唆された。そこで本研究では、実際にMD患者の唾液腺を用いてIgG4へ分化・誘導を促す分子を同定する。

4) MDの新しい診断方法の確立および病

態進展のメカニズムの解明

現在のところ、MDにおける明確な指標としては高IgG4血症および腺組織へのIgG4陽性形質細胞の浸潤しかなく、診断基準の確立が望まれている。また患者の唾液腺を用いた検討だけでは、発現亢進の時期や病態の進展にどのように関与するかを明らかにするのは困難である。

そこで本研究で同定できた分子を唾液腺だけではなく唾液（唾液中の濃度）を用いて検索することによって、経時的に測定することが可能になりMDの鑑別診断はもちろん、MDの病態の把握にも有用であることが考えられる。

5) SSの病態進展のメカニズムの解明

前述したようにSSは自己免疫疾患と同時にリンパ増殖性病変という側面も有しており、MDのリンパ球浸潤様式とは異なるものの、MDの病態進展のメカニズムが明らかになれば、従来の我々の研究を踏まえSSの発症に関与する分子および病態進展のメカニズムも解明できると考えられる。

4. 研究成果

SSではTh1およびTh2タイプの種々の分子の発現が亢進しており、唾液腺へのIgG4およびTregの浸潤はほとんどみられなかった。一方、MDではTh2およびTregタイプの分子の発現が亢進しており、唾液腺へのIgG4およびTregの強い浸潤がみられた。

以上の結果より、MDはSSとは明らかに異なる病態を呈しており、SSの一亜型ではなく、独立した疾患である可能性が強く示唆された。

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 1件)

Sonographic diagnosis for Mikulicz disease.

M Shimizu, M Moriyama, K Okamura, T Kawazu, T Chikui, T Goto, Y Ohyama, S Nakamura, K Yoshiura
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 108:105-113, 2009

[学会発表](計 2件)

1. 第3回 IgG4研究会
ミクリッツ病/IgG4関連疾患の病態形成におけるサイトカインの関与
森山雅文、林田淳之將、篠崎昌一、田中昭彦、前原隆 中村誠司 2009.3.7

2. 第18回日本シェーグレン症候群学会
ミクリッツ病の病態形成におけるサイトカインの関与-シェーグレン症候との相違点-
田中昭彦、森山雅文、林田淳之將、大山順子、篠崎昌一、前原隆、中村誠司 2009.9.2

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0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 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森山 雅文 (MORIYAMA MASAFUMI)

研究者番号：20452774

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：