様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ６ 月 １６ 日現在

機関番号：３３３０３
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2024
課題番号：２１Ｋ０８４８３

研究課題名（和文）IgG4関連疾患の病態形成におけるTRPチャネルの意義と新規治療ターゲットの開発

研究課題名（英文）The significance of TRP channels in the pathogenesis of IgG4-related disease and the development of novel therapeutic targets

研究代表者
山田　和徳（YAMADA, Kazunori）

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：９０３９７２２４

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）：我々はIgG4関連疾患におけるTRPチャネルの関与について解析を行った。IgG4関連疾患のモデルマウスである、Lat Y136F knock-in miceの腎臓、唾液腺、肺の各組織を用いて、炎症への関与が報告されているTRPM2ならびに線維化への関与が報告されているTRPC3の発現について、免疫染色法を用いて検討した。TRPM2は腎臓、唾液腺、肺の炎症細胞浸潤部位に発現が見られた。TRPC3についても腎臓、唾液腺、肺の各組織の炎症細胞浸潤部位に一致して発現の亢進が見られた。以上の結果より、IgG4関連疾患の炎症および線維化の過程において、TRPチャネルが関与していることが推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
IgG4関連疾患の治療における問題点として、ステロイド以外の代替薬が確立してないこと、再燃が多く完治が困難であること、線維化による不可逆的な臓器障害を生じうることが挙げられる。本研究では、炎症や線維化に関与するイオンチャネルである、TRPM2およびTRPC3がIgG4関連疾患モデルマウスの病変において発現を認めたことから、これらのチャネルがIgG4関連疾患の病態に関与していることが示唆された。本研究では発現のみの解析であったが、将来的に新規治療のターゲットとなり得る分子の基礎データの一つとなり得たと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the involvement of TRP channels in IgG4-related disease. Using tissues from the kidney, salivary gland, and lung of Lat Y136F knock-in mice, a model of IgG4-related disease, we investigated the expression of TRPM2, which has been reported to be involved in inflammation, and TRPC3, which has been associated with fibrosis, by immunohistochemistry. TRPM2 was expressed in the inflammatory cell infiltration sites of the kidney, salivary gland, and lung. Similarly, TRPC3 expression was upregulated in the regions of inflammatory cell infiltration in all three organs. These findings suggest that TRP channels may be involved in the processes of inflammation and fibrosis in IgG4-related disease.

研究分野：リウマチ・膠原病

キーワード：IgG4関連疾患　TRPチャネル

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値、病変への IgG4 陽性細胞浸潤、Th2 優位の免疫反応、線維化を特徴とする全身性炎症性疾患である。我々は、多施設共同研究にて 334 例の IgG4 関連疾患患者の臨床像について検討した結果、78%の患者でステロイドを投与され効果を認めた一方で、21%の患者で再燃を認めたことを明らかにした。また、IgG4 関連腎臓病ではステロイド投与後の線維化による臓器の萎縮を認める症例が存在することを明らかにした。すなわち、IgG4 関連疾患の治療においては、ステロイド以外の代替薬が確立されておらず、再燃が多く完治が困難であること、線維化による不可逆的な臓器障害を生じうることが問題として挙げられる。さらに、IgG4 関連疾患は多臓器に病変をきたすため、臓器横断的な解析が必要であるが、生検困難な臓器については評価が十分できないという問題がある。

これまで、IgG4 関連疾患の病態については、国内外より T 細胞、B 細胞、自己抗原、自然免疫など様々な免疫が病態に関与していることが知られている。我々は、IgG4 関連疾患の病態解明のため、Lat Y136F knock-in mice が IgG4 関連疾患のモデルマウスであることを報告した。Lat Y136F knock-in mice は Th2 優位の免疫反応を自然発症し、唾液腺、膵、肺、腎臓にヒトの IgG4 関連類似の病理を示し、ステロイド反応性も認めるモデルマウスである。本モデルマウスを用いることで、臓器横断的な解析が可能となった。

T 細胞をはじめとした免疫細胞の活性化においては、各種イオンチャネルが関与していることが報告されている。すなわち、IgG4 関連疾患の病態においても、Transient Receptor Potential (TRP) チャネルをはじめとした各種イオンチャネルが関与していると推測される。しかしながら、これまで IgG4 関連疾患において、チャネルという観点からの研究はなされていない。

TRP チャネルは、カルシウム透過型の非選択的陽イオンチャネルで、膜電位、温度、浸透圧などの物理的刺激、酸化還元状態、外来化学物質、細胞内メッセンジャー分子などの内在性化学物質によりイオン透過性が制御され、ほとんど全ての細胞に発現している。近年、TRP チャネルは線維化に関与すること、T 細胞の活性化を制御していることが報告された。

指定難病である IgG4 関連疾患の治療における問題点として、ステロイド以外の代替薬が確立してないこと、再燃が多く完治が困難であること、線維化による不可逆的な臓器障害を生じうることが挙げられる。これまで、IgG4 関連疾患の病態において、イオンチャネルの観点からの研究はなされていない。

そこで、我々は IgG4 関連疾患における上記の問題点を解決するため、T 細胞を含めた様々な細胞に発現し、炎症や線維化に関与することが報告されている TRP チャネルに着目した。

２．研究の目的

本研究の目的は、IgG4 関連疾患のモデルマウスである、Lat Y136F knock-in mice の腎臓、唾液腺、肺の各組織を用いて、炎症への関与が報告されている TRPM2 ならび に線維化への関与が報告されている TRPC3 の発現について検討することである。

３．研究の方法

（1）Lat Y136F knock-in mice における TRPM の発現の検討

Rabbit Anti-TRPM2 Polyclonal antibody（21842-1-AP、Proteintech：1:100）を用い、6 週齢の Lat Y136F knock-in mice およびコントロールマウスにおける腎臓、唾液腺、肺組織における TRPM2 の発現を評価した。

（2）Lat Y136F knock-in mice における TRPC3 の発現の検討

Rabbit Anti-TRPC3 Polyclonal antibody（GTX54860, GeneTex, 1:100）を用い、6 週齢の Lat Y136F knock-in mice およびコントロールマウスにおける腎臓、唾液腺、肺組織における TRPM2 の発現を評価した。

４．研究成果

TRPM2 は、腎臓においては炎症細胞浸潤部位に一致して発現が見られた（図１a, b）。また、炎症周囲の尿細管上皮の一部にも高発現していた。唾液腺（図 1c, d）、肺（図 1e, f）においても炎症細胞浸潤部位に発現が見られた。

TRPC3 については腎臓（図 2a, b）、唾液腺（図 2c, d）、肺（図 2e, f）の各組織の炎症細胞浸潤部位に一致して発現の亢進が見られた。

以上の結果より、IgG4 関連疾患の炎症および線維化の過程において、TRPM2、TRPC3 が関与している可能性が示唆された。

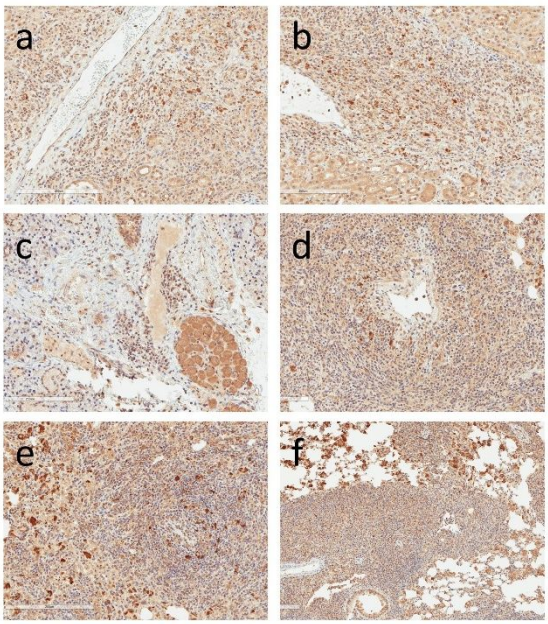

図1　Lat Y136F knock-in miceにおけるTRPM2の発現
TRPM2は腎臓（a, b), 唾液腺 (c, d), 肺 (e, f) の炎症部位に一致して 発現の亢進が見られた。

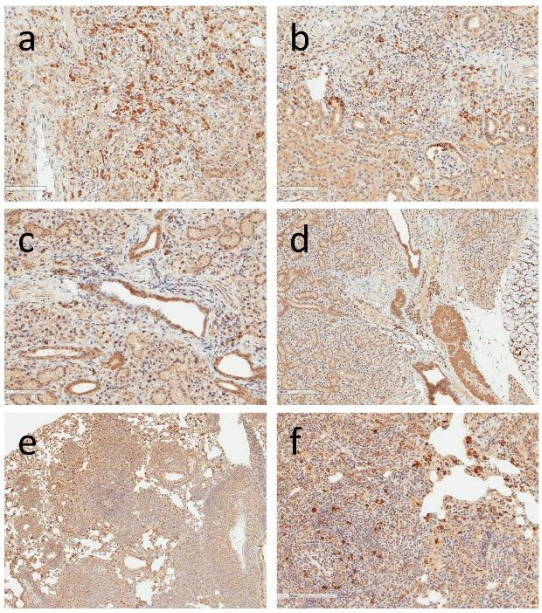

図2　Lat Y136F knock-in miceにおけるTRPC3の発現
TRPC3は腎臓（a, b), x200, 唾液腺 (c, d, x200), 肺 (e, x50, f, x200) の炎症部位に一致して 発現の亢進が見られた。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計7件（うち査読付論文　7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 Mizushima Ichiro、Saeki Takako、Kobayashi Daisuke、Sawa Naoki、Hayashi Hiroki、Taniguchi Yoshinori、Nakata Hirosuke、Yamada Kazunori、Matsui Shoko、Yasuno Tetsuhiko、Masutani Kosuke、Nagasawa Tasuku、Takahashi Hiroki、Ubara Yoshifumi、Yanagita Motoko、Kawano Mitsuhiro	４．巻 9
２．論文標題 Improved Renal Function in Initial Treatment Improves Patient Survival, Renal Outcomes, and Glucocorticoid-Related Complications in IgG4-Related Kidney Disease in Japan	５．発行年 2024年
３．雑誌名 Kidney International Reports	６．最初と最後の頁 52～63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ekir.2023.10.016	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 Kaneda Misako、Yagi-Nakanishi Sayaka、Ozaki Fumi、Kondo Satoru、Mizuguchi Keishi、Kawano Mitsuhiro、Malissen Marie、Malissen Bernard、Yamada Kazunori、Yoshizaki Tomokazu	４．巻 49
２．論文標題 Olfactory dysfunction in LATY136F knock-in mice	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Auris Nasus Larynx	６．最初と最後の頁 209～214
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2021.07.009	査読の有無 有
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 －

１．著者名 Hamaoka Shoko、Takahira Masayuki、Kawano Mitsuhiro、Yamada Kazunori、Ito Kiyoaki、Okuda Tetsuhiko、Hatake Sachiyo、Malissen Marie、Malissen Bernard、Sugiyama Kazuhisa	４．巻 47
２．論文標題 Lacrimal Gland and Orbital Lesions in Lat^{Y136F} Knock-in Mice, a Model for Human IgG4-Related Ophthalmic Disease	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Current Eye Research	６．最初と最後の頁 1402～1409
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/02713683.2022.2103152	査読の有無 有
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 －

１．著者名 Kawanami Takafumi、Kawanami-Iwao Haruka、Takata Takanobu、Ishigaki Yasuhito、Tomosugi Naohisa、Takegami Tsutomu、Yanagisawa Hiroto、Fujimoto Shino、Sakai Tomoyuki、Fujita Yoshimasa、Yamada Kazunori、Mizuta Shuichi、Kawabata Hiroshi、Fukushima Toshihiro、Hirose Yuko、Masaki Yasufumi	４．巻 523
２．論文標題 Comprehensive analysis of protein-expression changes specific to immunoglobulin G4-related disease	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Clinica Chimica Acta	６．最初と最後の頁 45～57
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cca.2021.08.025	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 Honda Fumika、Tsuboi Hiroto、Ono Yuko、Abe Saori、Takahashi Hiroyuki、Ito Kiyoaki、Yamada Kazunori、Kawano Mitsuhiro、Kondo Yuya、Asano Kenichi、Tanaka Masato、Malissen Marie、Malissen Bernard、Matsumoto Isao、Sumida Takayuki	4．巻 23
2．論文標題 Pathogenic roles and therapeutic potential of the CCL8?CCR8 axis in a murine model of IgG4-related sialadenitis	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Arthritis Research & Therapy	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） 10.1186/s13075-021-02597-6	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 Waseda Yuko、Yamada Kazunori、Mizuguchi Keishi、Ito Kiyoaki、Watanabe Satoshi、Zuka Masahiko、Ishizuka Tamotsu、Malissen Marie、Malissen Bernard、Kawano Mitsuhiro、Matsui Shoko	4．巻 16
2．論文標題 The pronounced lung lesions developing in LATY136F knock-in mice mimic human IgG4-related lung disease	5．発行年 2021年
3．雑誌名 PLOS ONE	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） 10.1371/journal.pone.0247173	査読の有無 有
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 －

1．著者名 Miyanaga Tatsuhito、Mizuguchi Keishi、Hara Satoshi、Zoshima Takeshi、Inoue Dai、Nishioka Ryo、Mizushima Ichiro、Ito Kiyoaki、Fuji Hiroshi、Yamada Kazunori、Sato Yuki、Yanagita Motoko、Kawano Mitsuhiro	4．巻 22
2．論文標題 Tertiary lymphoid tissue in early‐stage IgG4-related tubulointerstitial nephritis incidentally detected with a tumor lesion of the ureteropelvic junction: a case report	5．発行年 2021年
3．雑誌名 BMC Nephrology	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） 10.1186/s12882-021-02240-1	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1件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

1．発表者名 本田文香、坪井洋人、安倍沙織、高橋広行、伊藤清亮、山田和徳、川野充弘、近藤裕也、松本功、住田孝之
2．発表標題 IgG4関連疾患モデルマウス（LATマウス）におけるCCL8-CCR8経路の病態形成での役割と治療標的の可能性
3．学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4．発表年 2021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
研究分担者	伊藤　清亮 (ITO Kiyoaki) (10467110)	金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任准教授 (13301)	
研究分担者	河南　崇典 (KAWANAMI Takafumi) (20350762)	金沢医科大学・医学部・講師 (33303)	
研究分担者	川野　充弘 (KAWANO Mitsuhiro) (20361983)	金沢医科大学・医学部・教授 (13301)	
研究分担者	正木　康史 (MASAKIi Yasufumi) (40238895)	金沢医科大学・医学部・教授 (33303)	

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