

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 23 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591905

研究課題名（和文） IgG4 硬化性疾患の病態の解明と関与分子を標的とした治療法の開発

研究課題名（英文） The study of pathogenesis and related molecules of IgG4 related disease and development of treatment modality.

研究代表者

太田 伸男 (Nobuo Ohta)

山形大学・医学部・講師

研究者番号：20282212

研究成果の概要（和文）：

IgG4 関連硬化性疾患患者から得られた腺組織にはペリオスチンと IL-17 の過剰発現が認められた。ペンドリンの発現は、対照と比較して減弱しており、これは腺管構造の破壊に伴う変化と考えられた。また、末梢血の Th1/Th2 および Tc1/Tc2 細胞のインバランスが生じていることが明らかとなった。これらの所見から、IgG4 関連硬化性疾患の硬化にはペリオスチンと IL-17 が特に重要な役割を果たしており、これら分子を標的とした治療法の開発が新たな道を開く可能性があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

IgG4-related sclerosing sialadenitis is a recently recognized disease entity characterized by high serum IgG4 concentration and IgG4-producing plasma cell expansion in affected organs, which show fibrotic or sclerotic changes. However, little is known about the roles of CD4+ and CD8+ T cells or IL-17 in this disease. The purpose of this study was to evaluate the characteristics of CD4+ and CD8+ T cells and IL-17 in patients with IgG4-related sclerosing sialadenitis. Our findings revealed a predominance of Th1 and Tc1 cells and overexpression of IL-17 in patients with IgG4-related sclerosing sialadenitis. This observation emphasizes the involvement of Th1 and Tc1 cells and IL-17 in the pathogenesis of this disease. Identify their precise functional properties would greatly enhance our understanding of their pathogenetic roles. A detailed phenotypic and functional analysis of these subsets is warranted.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
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：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：IgG4 関連疾患、ペリオスチン、Th17、Th1、Tc1

## 1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連硬化性疾患は、全身の諸臓器に

CD4 ないし CD8 陽性 T リンパ球と IgG4 陽性形質細胞が浸潤する全身性疾患である。そ

の IgG4 陽性形質細胞の浸潤は、膵臓、胆管、唾液腺、甲状腺、後腹膜などに認められることが多い。キュットナー腫瘍などの硬化性唾液腺炎、自己免疫性膵炎、原発性硬化性胆管炎、後腹膜線維症と独立して診断されてきた疾患は、この新しい疾患概念である IgG4 関連硬化性疾患の一つの表現型である可能性が示唆されている。診断は唾液腺、涙腺などの両側対称性の肥大と血清中の IgG4 の上昇あるいは組織中の IgG4 陽性形質細胞の確認によってなされている。耳下腺、顎下腺など唾液腺の腫脹を初発症状とすることが多いが、膵臓や胆管に病変が進展し自己免疫性膵炎や硬化性胆管炎などの重篤な合併症をおこす可能性があり、早期に診断し治療を開始することが重要である。また、病理学的には腺組織の高度な破壊像と繊維化が認められており、この病態には Th17 細胞、Th1 細胞と Th2 細胞が関わり、繊維化にはペリオスチンや TGF などのサイトカインや分子が関与していると推測される。

## 2. 研究の目的

IgG4 関連硬化性疾患は、全身の諸臓器に CD4 ないし CD8 陽性 T リンパ球と IgG4 陽性形質細胞が浸潤する全身性疾患である。その IgG4 陽性形質細胞の浸潤は、膵臓、胆管、唾液腺、甲状腺、後腹膜などに認められることが多い。キュットナー腫瘍などの硬化性唾液腺炎、自己免疫性膵炎、原発性硬化性胆管炎、後腹膜線維症と独立して診断されてきた疾患は、この新しい疾患概念である IgG4 関連硬化性疾患の一つの表現型である可能性が示唆されている。診断は唾液腺、涙腺などの両側対称性の肥大と血清中の IgG4 の上昇あるいは組織中の IgG4 陽性形質細胞の確認によってなされている。耳下腺、顎下腺など唾液腺の腫脹を初発症状とすることが多いが、膵臓や胆管に病変が進展し自己免疫性膵炎や硬化性胆管炎などの重篤な合併症をおこす可能性があり、早期に診断し治療を開始することが重要である。また、病理学的には腺組織の高度な破壊像と繊維化が認められており、この病態には Th17 細胞、Th1 細胞と Th2 細胞が関わり、繊維化にはペリオスチンや TGF などのサイトカインや分子が関与していると推測される。本研究では、IgG4 関連硬化性疾患の病態、特に Th17 の関与および繊維化におけるペリオスチン分子の関与について検討するとともに Th17 およびペリオスチンを標的とした治療法を開発することが目的である。

## 3. 研究の方法

IgG4 関連硬化性疾患の病態、特に Th17 の関与および繊維化におけるペリオスチン分

子の関与について免疫組織学的に検討した。1) 血清 IgG4 濃度と組織中の IgG4 陽性形質細胞の浸潤の程度との関連: IgG4 関連硬化性疾患患者から得られた血清と組織標本のそれぞれの IgG4 について測定した。血清中の IgG4 の濃度は ELISA で組織中の IgG4 陽性形質細胞は免疫組織学的に染色し細胞数を測定した。IgG4 関連硬化性疾患の疾患活動性と IgG4 の値との関連性について検討を行った。また、硬化性病変のマーカーである繊維化の程度は腺組織の損傷と繊維組織の増殖の程度を目安として、繊維化と IgG4 との関連についても検討した。

2) 腺組織中のペリオスチン、ペンドリン、ステロイド受容体、NFkB、IkB の測定: 心筋梗塞後の創傷治癒機転としてペリオスチンが発現し心筋組織の高度を高めることが報告されている。IgG4 関連硬化性疾患でもその繊維化にはペリオスチンが関与していると推測される。この点を確認するために、本疾患患者から得られた腺組織のホルマリン固定、パラフィン切片を用いて免疫組織化学的に検討する。免疫染色には適切な抗原賦活化前処理を加えた ABC 法を用いる。抗ペリオスチン抗体、抗ペンドリン抗体、抗ステロイド受容体  $\alpha$  および  $\beta$  抗体、抗 NFkB 抗体、抗 IkB 抗体、抗 AP-1 抗体を 1 次抗体とし、光学顕微鏡にてこれら抗体の発現を検討した。また、本疾患の治療薬として現在ステロイドが使用されているが、その反応性には個人差がありステロイド受容体の発現が関与していると見込まれる。この点を検討するために腺組織に浸潤した炎症細胞に焦点を絞り、好中球やリンパ球の細胞内におけるステロイド受容体の局在について蛍光顕微鏡を用いて検討した。

3) Th17 細胞およびペリオスチン発現の抑制: IgG4 関連硬化性疾患患者から得られた Th17, Th1, Th2, Tc1, Tc2 細胞と各種薬剤 (特に種々のプロテインキナーゼのインヒビター、抗ヒスタミン剤、抗アレルギー剤、ステロイド剤など) を混合培養し産生する各種サイトカインの量を測定することによってインバランスの有無や、インバランスを正常化するために有効な薬剤やその組み合わせ、さらにその濃度を検討する。

## 4. 研究成果

IgG4 関連硬化性疾患患者から得られた血清中の IgG4 の値は高値で、外科的に得られた腺組織には多くの IgG4 陽性形質細胞が認められた。また、自己免疫性膵炎や硬化性胆管炎などの致死的な全身的な疾患を合併している率は約 60% であった。また、興味深いことに 25 例中 2 症例で顎下腺癌と眼窩の悪性リンパ腫が認められ、IgG4 関連疾患を基礎とした悪性腫瘍の発生が疑われた。臨床的

には、IgG4 関連疾患では自己免疫性膵炎など致死的な全身合併症や悪性腫瘍を併発する可能性があることが極めて重要なポイントであることが確認された。

IgG4 硬化性疾患では CD4 陽性細胞が局所に浸潤していることから、Th1 および Th2 のバランスが崩れている可能性が疑われる。この点を確認するために、末梢血中の Th1 細胞および Th2 細胞を検討したところ、Th1 にシフトしたインバランスが認められた。さらに IgG4 関連硬化性疾患の病態と関連する硬化の機序を検討する目的で、ペリオスチンと IL-17 の発現を唾液腺局所で検討した。その結果、ペリオスチンと IL-17 の過剰発現が認められた。ペンドリンの発現は、対照と比較して減弱しており、これは腺管構造の破壊に伴う変化と考えられた。耳下腺、顎下腺など唾液腺の腫脹を初発症状とすることが多いが、膵臓や胆管に病変が進展し自己免疫性膵炎や硬化性胆管炎などの重篤な合併症をおこす可能性がある。全身合併症を引き起こすか否かを予測するバイオマーカーについても検討を加えた。その結果、この病態には Th17 細胞、Th1 細胞と Th2 細胞が関わり、繊維化にはペリオスチンや TGF などのサイトカインや分子が関与していると推測されたが、日常臨床で測定することは困難であり、これらの分子の検索に代わる簡便な方法として IgG4 値および IgG4/IgG 値が高い場合には全身合併症を引き起こす可能性が有意に高いことが確認された。

治療としては、ステロイドの内服が有効であるが、合併症もありなるべく減量あるいは中止が望ましい。しかし、ステロイド中止あるいは減量による IgG4 関連疾患の再燃や再発も認められ、離脱が困難であることステロイドに代わる新たな治療法の開発急務であると考えられた。本研究の結果を踏まえて、唾液腺局所にペリオスチンおよび IL-17 の強い発現が認められることから、これらの所見から、IgG4 関連硬化性疾患の硬化にはペリオスチンと IL-17 が重要な役割を果たしており、これら分子を標的とした治療法の開発が新たな道を開く可能性があると考えられた。

#### 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 9 件)

- ① Ohta N, Watanabe T, Ito T, Kubota T, Suzuki Y, Ishida A, Aoyagi M, Matsubara A, Izuhara K, Kakehata K: Clinical and pathological characteristics of organized hematoma. *Int. J Otolaryngology* 2013 (査読あり)
- ② Ohta N, Kurakami K, Ishida A, Furukawa T,

et al : Clinicopathological characteristics of IgG4-related sclerosing sialadenitis.

*Laryngoscope* 122:572-577, 2012 (査読あり)

- ③ Ohta N, Makihara S, Okano M, Kurakami K, Ishida A, Furukawa T, Suzuki Y, et al: The roles of IL-17 and Th1 and Tc1 cells in patients with IgG4-related sclerosing sialadenitis *Laryngoscope* 122:2169-2174, 2012 (査読あり)
- ④ Suzuki Y, Yamazaki Y, Hozumi Y, Okada M, Tanaka T, Iseki K, Ohta N, Aoyagi M, Fuji S, Goto K: NMDA receptor-mediated Ca(2+) influx triggers nucleocytoplasmic translocation of diacylglycerol kinase  $\zeta$  under oxygen-glucose deprivation conditions, an in vitro model of ischemia, in rat hippocampal slices. *Histochem Cell Biol* 137:499-511, 2012, (査読あり)
- ⑤ Ishida A, Ohta N, Suzuki Y, Kakehata S, Okubo K, Ikeda H, Shiraiishi H, Izuhara K Expression of Pendrin and Periostin in Allergic Chronic Rhinosinusitis. *Allergology Int.* 61(4):589-595, 2012 (査読あり)
- ⑥ Meng H, Ohtake H, Ishida A, Ohta N, Kakehata S, Yamakawa M. IgA production and tonsillar focal infection in IgA nephropathy. *J Clin Exp Hematol.* 2012;52(3):161-70. (査読あり)
- ⑦ Nishizawa K, Matsubara A, Nakagawa T, Ohta N, Izuhara K, Shinkawa H: The role of periostin in eosinophilic otitis media. *Acta Otolaryngol* 132:838-844, 2012 (査読あり)
- ⑧ 倉上和也, 太田伸男, 欠畑誠治: IgG4 関連疾患 その最新の知見について 耳鼻免疫アレルギー 30:9-14, 2012 (査読あり)
- ⑨ 倉上和也, 他 唾液腺導管癌を合併した IgG4 関連硬化性疾患の 1 例 耳鼻臨床 2011; 130:158-162 (査読あり)

[学会発表] (計 8 件)

- ① 太田伸男, 倉上和也, 古川孝俊, 鈴木祐輔, 櫻井真一, 稲村和俊, 石田晃弘, 欠畑誠治: IgG4 関連硬化性疾患背線維化に関する検討. 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 倉敷市芸文館, 倉敷; 2013 年 2 月 9 日
- ② 倉上和也, 太田伸男, 石田晃弘, 稲村和俊, 鈴木祐輔, 古川孝俊, 欠畑誠治: IgG4 関連疾患への悪性腫瘍合併に関する検討. 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 倉敷市芸文館, 倉敷; 2013

- 年 2 月 9 日
- ③ 太田伸男, 倉上和也, 鈴木祐輔, 石田晃弘, 和気貴祥, 出原賢治: IgG4 関連硬化性疾患患者におけるペリオスチンおよび TGF-beta の発現. 第 62 回日本アレルギー学会, 大阪国際会議場, 大阪; 2012 年 11 月 30 日
- ④ Ohta N, Kurakami K, Suzuki Y, Ishida A, Kakehata S: IgG4-related sialadenitis. Pearls and pitfalls in management. American academy of Otolaryngology-Head and Neck surgery Annual meeting, September 11, 2012, Convention Center, Washington DC, USA
- ⑤ 太田伸男, 倉上和也, 牧原靖一郎, 岡野光博, 石田晃弘, 鈴木祐輔, 欠畑誠治: IgG4 関連硬化性疾患患者の Th1, Th2, Tc1, Tc2 細胞および IL-17. 第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 琵琶湖ホテル, 大津; 2012 年 2 月 18 日
- ⑥ 倉上和也, 太田伸男, 石田晃弘, 稲村和俊, 鈴木祐輔, 古川孝俊, 欠畑誠治: IgG4 関連疾患の合併症に関する検討. 第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 琵琶湖ホテル, 大津; 2012 年 2 月 18 日
- ⑦ 古川孝俊, 太田伸男, 石田晃弘, 倉上和也, 欠畑誠治: IgG4 関連硬化性疾患と Epstein-Barr virus 感染との関連性についての検討. 第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 琵琶湖ホテル, 大津; 2012 年 2 月 18 日
- ⑧ 太田伸男: ミニシンポジウム IgG4 関連硬化性疾患患者における Th1, Th2, Tc1, Tc2 細胞および IL-17 の役割. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 新高輪国際パミール館, 東京; 2011 年 11 月 12 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

太田 伸男 (Nobuo Ohta)  
山形大学・医学部・講師  
研究者番号: 20282212

### (2) 研究分担者

倉上 和也 (Kazuya Kurakami)  
山形大学・医学部・助教  
研究者番号: 30571640  
古川 孝俊 (Takatoshi Furukawa)  
山形大学・医学部・助教  
研究者番号: 80466630  
鈴木 祐輔 (Yusuke Suzuki)  
山形大学・医学部・助教  
研究者番号: 50466629

窪田 俊憲 (Toshinori Kubota)  
山形大学・医学部・助教  
研究者番号: 80536954