

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461038

研究課題名(和文) 自己免疫性膵炎の病態形成における自然免疫系異常に関する研究

研究課題名(英文) Involvement of innate immunity in the development of autoimmune pancreatitis

研究代表者

岡崎 和一 (OKAZAKI, Kazuichi)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：70145126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：1型自己免疫性膵炎(AIP)の病因・病態形成機序およびIgG4産生制御機序を解明することを目的として、患者および動物モデルを用いて、(A)病態抑制因子と(B)病態促進因子についてそれぞれ免疫学的・分子生物学的に検討する。(A)では免疫制御機能を有する制御性B細胞(Breg)、免疫抑制性自然免疫系細胞とIL-10分泌の関連性について検討する。(B)では、病態形成におけるIgE依存性慢性アレルギー炎症(IgE-CAI)の可能性について自然免疫系細胞(特に好塩基球/肥満細胞)の活性化とIgG4産生の関連性について明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of basophils in type 1 AIP via stimulation of Toll-like receptors (TLR). The ratio of basophils activated with TLR4 stimulation in type 1 AIP ($9.87\% \pm 1.148$) and atopic dermatitis ($11.768\% \pm 1.899$) were significantly higher than in healthy subjects ($5.051\% \pm 0.730$) ($p < 0.05$). Levels of basophils activated with TLR2 stimulation were clearly increased in seven cases of type 1 AIP. In the immunohistochemistry experiments, basophils were detected in the pancreatic tissue of type 1 AIP patients in 10 of 13 cases (76.9%). Furthermore, basophils expressed the same TLR in peripheral blood and tissue in five cases of type 1 AIP (TLR2 in two cases, TLR4 in 2 cases, and TLR2 and TLR4 in one case). In conclusion, The basophils activated via TLR signaling may play an important role in the pathophysiology of type 1 AIP.

研究分野：消化器内科学

キーワード：自己免疫性膵炎 IgG4関連疾患 自然免疫

1. 研究開始当初の背景

わが国より発信された新規疾患概念である IgG4 関連疾患としての 1 型自己免疫性膵炎 (AIP) の病因・病態形成機序および IgG4 産生制御機序は不明である。

2. 研究の目的

1 型自己免疫性膵炎 (AIP) の病因・病態形成機序および IgG4 産生制御機序を解明することを目的として、患者および動物モデルを用いて、(A) 病態抑制因子と (B) 病態促進因子についてそれぞれ免疫学的・分子生物学的に検討する。(A) では免疫制御機能を有する制御性 B 細胞 (Breg)、免疫抑制性自然免疫系細胞と IL-10 分泌の関連性について検討する。(B) では、病態形成における IgE 依存的慢性アレルギー炎症 (IgE-CAI) の可能性について自然免疫系細胞 (特に好塩基球/肥満細胞) の活性化と IgG4 産生の関連性について検討する。

3. 研究の方法

() 臨床例と () 動物モデルを用いて、IgG4 産生と (A) 病態抑制因子および (B) 病態促進因子との関連性を免疫学/分子生物学的に検討する。特に (A) では、従来解析した Treg 以外に、(1) 2 つの Breg 亜型 CD19⁺CD24^{high}CD38^{high}Breg, CD19⁺CD24^{high}CD27^{high} Breg の関与の有無、(2) 抑制機能を有する自然免疫担当細胞と IL-10 について検討する。(B) では、IgE-CAI と関連する血中ならびに組織中の活性化好塩基球 (Baso) について解析を行った。すなわち

() 臨床的検討：(1) AIP 群、疾患・健常コントロール群 (各 n=50) の末梢血 Breg 亜型 (CD19⁺CD24^{high}CD38^{high}, CD19⁺CD24^{high}CD27^{high} Breg) の FACS 解析、(2) 自然免疫系細胞の各リガンド刺激後 TLRs 発現 (RT-PCR/FACS) と IgG4 産生 (FACS/ELISA) の解析。抑制系 (CD68⁺CD163⁺M2, ILT-2⁺/ILT-3⁺) Mo/Mφ/DC では IL-10 産生、活性系 (CD68⁺CD163⁺M1-Mo/Mφ、CD203c⁺ Baso) では BAFF 産生量と IgE/ FcεR1 の関与する抗原特異的な活性化経路と TSLP を介する非特異的経路について FACS 解析を行う。(3) 切除組織を用いて浸潤 Breg, M2-Mφ, ILT-2⁺/ILT-3⁺ Mφ、TLRs/サイトカイン発現を免疫組織化学的、分子生物学的に検索する。

() 基礎的検討：疾患関連抗原に特異的な自己免疫性膵炎モデルマウスや poly-IC 免疫膵炎モデルマウスを作成し、末梢血、組織を用いて、臨床的検討に準じ免疫組織化学的、分子生物学的に検索する。

4. 研究成果

1 型 AIP の膵組織 (n=13) において好塩基球の浸潤について免疫組織化学法を用いて検討した。続いて浸潤している好塩基球の発現する TLR について検討した。1 型 AIP 患者 (n=40) の末梢血の TLR に対する好塩

基球の反応について検討した。対照群はアレルギー疾患患者 (気管支喘息 (n=10)、アトピー性皮膚炎 (n=10))、健常人の末梢血 (n=27) を使用し、末梢血を TLR1-9 のリガンドで刺激し、フローサイトメリーにて好塩基球の活性化を解析した。

1 型 AIP の膵組織においては、13 例中 10 例で通常局所では認められない好塩基球の浸潤が認められた。膵組織において好塩基球の浸潤が認められた患者の末梢血における好塩基球を TLR1-9 リガンド刺激すると、組織で発現が認められた TLR4 もしくは TLR2 の刺激によって活性化された

患者末梢血中の好塩基球は、TLR4 刺激において 1 型 AIP 患者群 (9.875 ± 1.148)、アトピー性皮膚炎患者群 (11.76 ± 1.899) では、健常人群 (5.05 ± 0.730) に比べ有意な差 (p<0.05) が認められたが、他の TLR 刺激では有意な差は認められなかった。

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 8 件)

1. Uchida K, Miyoshi H, Ikeura T, Shimatani M, Takaoka M, Okazaki K. Clinical and pathophysiological issues associated with type 1 autoimmune pancreatitis. Clin J Gastroenterol. 2016 Feb;9(1):7-12. doi: 10.1007/s12328-016-0628-9. 査読有
2. Uchida K, Tanaka T, Gershwin ME, Okazaki K. The Geoepidemiology and Clinical Aspects of IgG4-Related Disease. Semin Liver Dis. 2016 Aug;36(3):187-99. doi: 10.1055/s-0036-1584323. 査読有
3. Ikeura T, Horitani S, Masuda M, Kasai T, Yanagawa M, Miyoshi H, Uchida K, Takaoka M, Miyasaka C, Uemura Y, Okazaki K. IgG4-related Disease Involving Multiple Organs with Elevated Serum Interleukin-6 Levels. Intern Med. 2016;55(18):2623-8. 査読有
4. Uchida K, Okazaki K. Roles of Regulatory T and B Cells in IgG4-Related Disease. Curr Top Microbiol Immunol. 2016 Nov 6. [Epub ahead of print] 査読有
5. Kato K, Ikeura T, Yanagawa M, Tomiyama T, Fukui T, Uchida K, Takaoka M, Nishio A, Uemura Y, Satoi S, Yamada H, Okazaki K. Morphological and immunohistochemical comparison of intrapancreatic nerves between chronic

- pancreatitis and type 1 autoimmune pancreatitis. *Pancreatology*. 2017 Feb 20. pii: S1424-3903(17)30034-0. doi: 10.1016/j.pan.2017.02.009 査読有
6. Okazaki K, Uchida K. Autoimmune Pancreatitis: The Past, Present, and Future. *Pancreas*. 2015;44: 1006-16. 査読有
 7. Fukuhara T, Tomiyama T, Yasuda K, Ueda Y, Ozaki Y, Son Y, Nomura S, Uchida K, Okazaki K, Kinashi T. Hypermethylation of MST1 in IgG4-related autoimmune pancreatitis and rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;463: 968-74 査読有
 8. Mitsuyama T, Uchida K, Sumimoto K, Fukui Y, Ikeura T, Fukui T, Nishio A, Shikata N, Uemura Y, Satoi S, Mizuno N, Notohara K, Shimosegawa T, Zamboni G, Frulloni L, Okazaki K. Comparison of neutrophil infiltration between type 1 and type 2 autoimmune pancreatitis. *Pancreatology*. 2015;15: 271-80. 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

海外学会

- 1) K Uchida, T Mitsuyama, M Yanagawa, H Miyoshi, T Ikeura, M Shimatani, T Fukui, M Takaoka, A Nishio, N Mizuno, K Notohara, G Zamboni, L Frulloni, T Shimosegawa, K Okazaki. The Difference in Mechanisms of Neutrophil Infiltration between Type 1 and Type2 Autoimmune Pancreatitis. Annual Meeting of American Pancreatic Association.San Diego, USA. 2015/11
- 2) K Uchida, Y Fukui, T Mitsuyama, H Miyoshi, T Ikeura, M Shimatani, T Fukui, M Matsushita, M Takaoka, A Nishio, K Okazaki. The Pathophysiological Role of Toll-like Receptor Signaling in Type 1 Autoimmune Pancreatitis. Asian Pasific Digestive Week 2015. Taipei, Taiwan. 2015/12
- 3) K Uchida, Y Fukui, T Mitsuyama, M Yanagawa, H Miyoshi, T Ikeura, Y Sakaguchi, M Shimatani, T Fukui, M Takaoka, A Nishio, K Okazaki. Analysis of Innate Immune Response in Type 1 Autoimmune Pancreatitis. PCCA & IAP 2015. Shanghai, China. 2015/08.

国内学会

- 1) 内田一茂、岡崎和一 IgG4 関連疾患(特に 1 型自己免疫性膵炎)における B 細胞の役割 第 43 回日本臨床免疫学会総会 神戸、2015/10
- 2) 内田一茂、福井由理、光山俊行、柳川雅人、住本喜美、楠田武生、三好秀明、小藪雅樹、池浦 司、島谷昌明、高岡亮、岡崎和一 1 型自己免疫性膵炎における自然免疫の関与 第 32 回日本胆膵病態生理研究会 東京、2015/06
- 3) 内田一茂、高岡 亮、岡崎 和一 自己免疫性膵炎治療の現状と課題 当院における自己免疫性膵炎の治療 第 46 回日本膵臓学会大会 名古屋 2015/06
- 4) 内田一茂、高岡亮、岡崎和一 当院における IgG4 関連硬化性胆管炎の治療 第 101 回日本消化器病学会総会 仙台 2015/04
- 5) 内田一茂、福井由理、岡崎和一 1 型自己免疫性膵炎における M2 マクロファージと TLR について 第 101 回日本消化器病学会総会 仙台 2015/04

〔図書〕(計 1 件)

Kazuichi Okazaki ・ Springer ・ IgG4-related disease ・ 2017 ・ 128 頁

〔産業財産権〕なし

〔その他〕なし

6 . 研究組織

1) 研究代表者

岡崎 和一 (OKAZAKI,Kazuichi)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：2 6 4 6 1 0 3 8

(2) 研究分担者

西尾 彰功 (NISHIO,Akiyoshi)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：5 0 3 6 2 4 6 3

(3) 連携研究者

内田 一茂 (UCHIDA,Kazusige)

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：4 0 4 1 1 5 1 6

(4) 研究協力者

池田 司 (IKEURA,Tsukasa)

光山 俊行(MITSUYAMA,Toshiyuki)

加藤 孝太 (KATO,Kota)

福原 貴太郎 (FUKUHARA,Takataro)