

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 28 日現在

機関番号：83301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462119

研究課題名(和文) サイトカインバランスからみたIgG4関連血管病変の病態解析

研究課題名(英文) Cytokine valance in Patients with Immunoglobulin G4-Related Aneurysm

研究代表者

笠島 里美 (Kasashima, Satomi)

独立行政法人国立病院機構(金沢医療センター臨床研究部)・その他部局等・その他

研究者番号：20444200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、サイトカイン(CKs)バランスに注目し、IgG4関連血管病変の病因病態の解明を目的とし、IgG4関連大動脈瘤(IgG4-AAA)、IgG4非関連炎症性大動脈瘤、通常の動脈硬化性大動脈瘤、解剖例の正常動脈を対象とし、術前血清CKs、組織のCKs発現細胞を免疫染色及びIn situ hybridizationにて同定した。IgG4-AAAのCKs発現には2つの側面がある事が解明された。1つはIL-10、IL-13優位なTh2優位あるいはTreg優位な環境であり他臓器のIgG4関連疾患と同様のサCKsである。もう1つは、特徴的なIL-6産生であり、IgG4-AAAの血管炎の側面を示す。

研究成果の概要(英文)：In this study, we identify a cytokine profile in the blood and local tissue of the patients with IgG4-AA, IgG4-AA), non-IgG4-related inflammatory abdominal aortic aneurysm, atherosclerotic AAA, almost normal aorta without dilatation were examined by (1) serum levels interleukin (IL)-4, IL-10, IL-13, and interferon (IFN)-g; (2) using resected the aortic tissues, immunohistochemical and mRNA-in situ hybridization (ISH), local expression of the cytokines described above, CD34, and CD163. Serum IL-10 in IgG4-AA were significantly higher than in atherosclerotic arteriopathies. IL-13 levels were elevated in 2 patients, all with IgG4-AA. Immunohistochemical analysis revealed that the number of immunopositive cells for IL-4, IL-10 and IL-13 were increased significantly in the adventitia of IgG4-AA than in aAAA and autopsy controls. ISH confirmed IL-10 and IL-13 mRNA expression in the adventitia of IgG4-AA. Co-expression of IL-13-mRNA and CD34-mRNA or CD168-mRNA was detected in IgG4-AA.

研究分野：組織形態学

キーワード：大動脈瘤 IgG4関連疾患 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) は、血清 IgG4 値高値、組織の IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする原因不明の線維形成性病変である。本疾患は血管でも生じ、多くは炎症性大動脈瘤、動脈周囲炎を呈する。IgG4-RD の病因として、他の臓器では、局所でのヘルパー T 細胞 (type1 helper T 細胞; Th1、type2 helper T 細胞; Th2) のバランスの乱れや局所で抑制的な作用を示す制御性 T 細胞 (Treg) が注目されており、その結果、種々のサイトカインが放出され、線維増生や IgG4 陽性形質細胞の増加が起ると推察されている。

2. 研究の目的

血管での IgG4-RD の病因は未だ不明である。本研究では、サイトカインバランスに注目し、IgG4 関連血管病変の病態、機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象

本研究では、IgG4 関連血管病変として、手術にて切除材料として得られた IgG4 関連大動脈瘤 (IgG4-AAA) (10 例) を対象とし、IgG4 非関連炎症性大動脈瘤 (5 例)、通常の大動脈硬化性大動脈瘤 (10 例)、解剖例の正常動脈 (10 例) を対象とした。

(2) 方法

本研究では、Th1 優位を示す IL-4、Th2 優位を示す IL-10、IL-13、Treg の亢進を示す IL-10・TGF- β 、線維化の目安となる IFN- γ 、炎症の中心となる IL-6 といったサイトカインを測定対象とした。術前血清を用いて ELISA にて各サイトカインを測定した。組織でのサイトカイン発現細胞を免疫染色で同定し、その形状からサイトカイン発現細胞の候補を免疫染色で検討した。次に、In situ hybridization (ISH) にて mRNA レベルでのサイトカイン発現を確認した。Dual ISH にて、サイトカイン発現細胞を同定した。IgG4 関連疾患の活動性として、血清 IgG4 値や外膜肥厚と血清及び組織のサイトカイン発現値との相関を検討し、病態に相関性の高いサイトカインを確認した。

(3) 統計

連続値については各群での値は正規分布をしなかったため、中央値を用いて Kruskal-Wallis 解析を用いた。P 値 0.05 以下を有意差とした。

4. 研究成果

(1) T 細胞の分布

免疫染色で確認すると、helper T 細胞の分布は IgG4 非関連炎症性大動脈瘤や動脈硬化性大動脈瘤でも多く、IgG4-AAA での特徴的な分布はなかったが、Treg (Fox3 陽性) の分布は他の 3 群に比較して IgG4-AAA が有意に多数分布していた。二重免疫染色では、IgG4-AAA において Foxp3 と IL-10、IL-13 の二重陽性像が認められ、Treg のサイトカイン発現が確認された。

(2) 血管外膜における免疫担当細胞、構成細胞の分布

免疫染色で検討すると、IgG4-AAA では、平滑筋 (smooth muscle actin 陽性)、間質の線維芽細胞 (CD34 陽性)、肥満細胞 (c-kit 陽性)、好塩基細胞 (IgE 陽性)、組織球 (CD68 陽性、CD163 陽性) の分布がいずれも高値であった。

(3) Th1/Th2、Treg に関わる血清及び組織像でのサイトカイン値

血清 IL-10 は、他の 3 群に比較して IgG4-AAA で高値、血清 IL-13 は、正常値よりも高値は IgG4-AAA でのみ認められた。組織の免疫染色では血管外膜に IL-4、IL-10 及び IL-13 陽性細胞は IgG4-AAA で有意に高頻度に認められた。ISH でも IgG4-AAA の外膜に IL-10 及び IL-13 の発現を確認した。IL-4 は血清値が低く、IFN- γ では組織での陽性細胞数が低く、IgG4-AAA と他の 3 群との有意差はなかった。組織での IL-4、IL-10、IL-13 陽性細胞数は、血清 IgG4 値や外膜肥厚、組織での IgG4 陽性細胞数と相関があった。

(4) 血清及び組織像での IL-6 値

血清 IL-6 は IgG4-AAA では他の 3 群と比較して有意に高値であった。組織でも IgG4-AAA の外膜に IL-6 が有意に多数分布していた。

(5) 組織像での IL-6 産生細胞の同定

Dual ISH では IgG4 関連大動脈瘤の外膜の IL-6 は、CD34、CD168 と共発現が確認され、血管内皮細胞、組織球、間質の線維芽細胞が IL-6 を産生していると言えた。組織での IL-6 陽性細胞数は、血清 IgG4 値や外膜肥厚と相関があった。

(6) まとめと考察

IgG4 関連大動脈瘤のサイトカインバランスには 2 つの側面があると推察された。

1 つは血管外膜における IL-10、IL-13 優位な Th2 優位あるいは Treg 優位な環境であり、他臓器の IgG4-RD と同様のサイトカインバランスであることが言え、allergic な免疫

異常が病因病態に関わっていることが言えた。これは、外膜に肥満細胞や好塩基球の分布が目立つことから支持される。

もう一つは、IgG4-AAA における特徴的な IL-6 産生である。血管炎、動脈硬化症でも血清 IL-6 が高く、病態に相関することが言われているが¹、主に中膜の組織球が中心のネットワークである。IgG4-AAA ではそれまで注目の低かった外膜でも IL-6 産生があり、内皮細胞、組織球、線維芽細胞など多彩な細胞がそれを担っていることが明らかになった。IgG4-AAA の血管炎としての側面を反映していると思われる。他臓器での IgG4-RD では IL-6 産生の報告は限局的であり、これが IgG4-AAA に特徴的なのかどうかを今後検討する必要がある。また、高安大動脈炎や側頭動脈炎では、血清 IL-6 高値が報告され、病態との相関が高いこと、抗 IL-6 療法が炎症像を抑える治療として効果的であることが報告されている。IgG4-AAA での内科的治療としてステロイドが有用である場合もあるが、動脈瘤壁を菲薄化させ、瘤破裂の合併症も報告されている。本研究の結果から IgG4-AAA のにおける IL-6 産生亢進が明らかになり、今後、血清 IL-6 のモニタリングによる IgG4-AAA の病態把握や抗 IL-6 療法などの応用が期待できる。

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6件)

Clinical outcomes after endovascular repair and open Surgery to treat Immunoglobulin G4-Related and nonrelated inflammatory abdominal aortic aneurysms. Kasashima S, Kasashima F, Kawashima A, Endo M, Matsumoto Y, Kawakami K. J Endovascular therapy in press Upregulated Interleukins (IL-6, IL-10, and IL-13) in Immunoglobulin G4-Related Aortic Aneurysm Patients. Kasashima S, Kawashima A, Zen Y, Ozaki S, Kasashima F, Endo M, Matsumoto Y, Kawakami K. J Vasc Surg. 2017 Apr 20. pii: S0741-5214(17)30354-3. doi: 10.1016/j.jvs.2016.12.140. IgG4 関連心血管病変. 笠島里美. 診断

と治療 2016;104(4):57-63.

希有な心血管疾患を見直す IgG4 関連疾患. 石坂信和, 笠島里美. 循環器内科 2015; 78(4):390-395.

Immunoglobulin G4-related periaortitis complicated by aortic rupture and aortoduodenal fistula after endovascular AAA repair. Kasashima S, Kawashima A, Kasashima F, Endo M, Matsumoto Y, Kawakami K, Kayahara M, Ohta H, Yano M, Marukawa Y. J Endovasc Ther. 2014 Aug;21(4):589-97. doi: 10.1583/14-4670R.1.

Clinical course after corticosteroid therapy in IgG4-related aortitis/periaortitis and periarteritis: a retrospective multicenter study. Mizushima I, Inoue D, Yamamoto M, Yamada K, Saeki T, Ubara Y, Matsui S, Masaki Y, Wada T, Kasashima S, Harada K, Takahashi H, Notohara K, Nakanuma Y, Umehara H, Yamagishi M, Kawano M. Arthritis Res Ther. 2014 Jul 23;16(4):R156. doi: 10.3748/wjg.v20.i15.4353.

[学会発表](計7件)

The 3rd International symposium on IgG4-RD & Associated conditions. Feb 15-18, 2017 in Maui. Clinical outcomes of IgG4-related aortic aneurysm patients after surgical procedures with comparison between endovascular repair and open surgical repair. Kasashima F, Kasashima S, Kawashima A, Endo M, Matsumoto Y, Kawakami K.

第57回日本脈管学会(奈良)2017年10月13日学術委員会企画シンポジウム 心血管領域におけるIgG4関連疾患:最近の知見より「IgG4関連心血管病変の病因・病態」笠島里美

The 32th World congress of Biomedical laboratory Science, Aug 31- Sep 4, 2016 in Kobe. Th2-type cytokines up regulation in patients with IgG4-related aortic aneurysm. Kasashima S, Kawashima A, Ozaki S, Zen Y.

The 2nd International symposium on IgG4-related disease. Feb 16-19, 2014 in Honolulu. Case report: IgG4-related periaortitis associated with rupture during low-dose steroid administration and aortoduodenal fistula following endovascular repair. Kasashima F, Kasashima S, Kawashima A, Endo M, Matsumoto Y, Kawakami K, Kayahara M, Ohta H, Yano M, Marukawa Y.

第105回 日本病理学会総会 (仙台)平成28年5月12日-5月14日「IgG4関連動脈瘤におけるIL-6産生亢進」 笠島里美, 川島篤弘, 全陽, 尾崎聡

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患政策研究事業) IgG4関連疾患の診断規準並びに治療方針の確立を目指した研究 IgG4関連心血管病変診断基準作成のための第一回meeting (東京)平成28年12月3日「IgG4心血管病変 病理所見のまとめ」 笠島里美

The 1st International symposium IgG4-related disease. Oct 4-7, 2011 in Boston. Elevated serum IL-6 levels in patients with IgG4-related chronic periaortitis. Kasashima F, Zen Y, Endo M, Matsumoto Y, Kawakami K, Takagi, Kasashima S, Kawashima A.

[図書](計 3 件)

別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ NO.34 (2015年11月20日発行) 免疫症候群 臓器特異的自己免疫疾患 IgG4関連大動脈炎 p559-562, IgG4関連動脈瘤 p563-566 笠島史成, 遠藤将允, 笠島里美

最新IgG4関連疾患 (2015年10月9日発行) 動脈病変 病理 笠島里美 p132-134

最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 42 (2013年11月25日発行) /循環器6 大動脈瘤・大動脈解離 改訂第2版 第二章 病理・病態生理 その他の大動脈瘤 (病因・病態生理) 笠島里美 p 66-75

6. 研究組織

(1)研究代表者

笠島 里美 (KASASHIMA Satomi)
金沢医療センター・臨床検査科, 病理診断科・科長

研究者番号 : 20444200

(2)研究分担者

尾崎 聡 (Ozaki Satoru)

金沢大学医薬保健研究域保健学系病態検査学・助教

研究者番号 : 40401921

(3)連携研究者

川島 篤弘 (KAWASHIMA Atsuhiko)

金沢医療センター・臨床検査科, 病理診断科・部長

研究者番号 : 90303304

笠島 史成 (KASASHIMA Fuminori)

金沢医療センター・心臓血管外科・医長

研究者番号 : 90303304

松本 康 (MATSUMOTO Yasushi)

金沢医療センター・心臓血管外科・部長

研究者番号 : 20262579