

174. M2 マクロファージを標的とした IgG4 関連疾患の新規治療

森山 雅文

九州大学 大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野

Key words : IgG4 関連疾患, コラーゲン様構造マクロファージ受容体, Toll 様受容体, IL-33, M2 マクロファージ

緒言

IgG4 関連疾患 (IgG4-related disease: IgG4-RD) は、高 IgG4 血症と罹患臓器における著明な IgG4 陽性形質細胞浸潤や線維化を伴う腫脹を特徴とする、本邦から提唱された新たな全身性疾患概念である。複数の臓器に同時または異時的に多発性に病変を生じ、第一選択薬であるステロイド治療では高頻度に再燃するため根本的な治療が難しい。これまでの免疫組織学的検討により、IgG4-RD はヘルパー T (Th) 細胞サブセットのうち、特に Th2 免疫応答優位な疾患であることが明らかとなった。最近では、T 細胞や B 細胞による獲得免疫だけではなく、それに先立ち活性化するマクロファージ (MΦ) などを中心とした自然免疫も IgG4-RD の病態形成に関与している可能性が示唆されているが、いまだ詳細は不明である。そこで本研究では、病態形成に関わる新たな自然免疫関連分子の同定を行うことを目的として、IgG4-RD の顎下腺 (SMG) を用いた網羅的遺伝子解析を行い、発現変動遺伝子 (DEG) を抽出し、それらの機能解析および組織におけるバリデーションを行った。

方法および結果

1. DNA マイクロアレイを用いた網羅的解析¹⁾

IgG4-RD、慢性唾液腺炎 (CS)、健常者の SMG を用いて、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った。その結果、IgG4-RD と CS の間では 1,720 の発現変動遺伝子が抽出され、主成分分析 (principal component analysis) では、3 群間での遺伝子発現パターンは明らかに異なっていた (Fig. 1)。

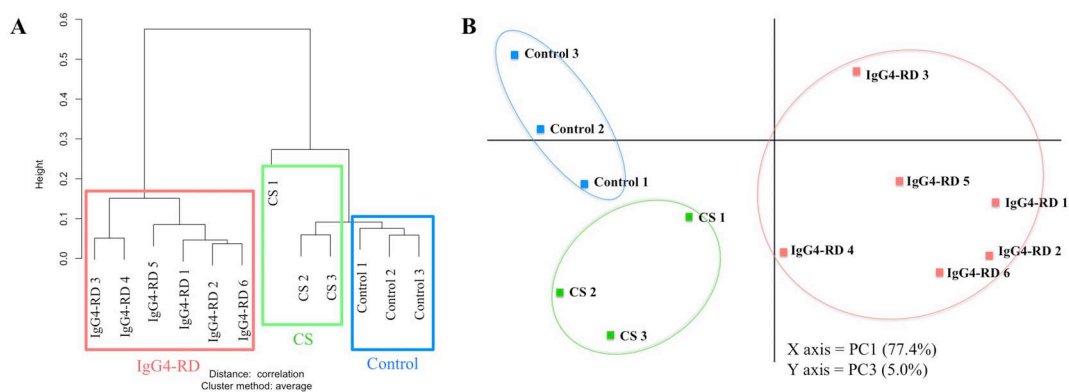


Fig. 1. Gene expression patterns in patients with IgG4-RD, CS, and controls
Hierarchical clustering (A) and principal components (PC) analysis (B) by using the quantile-normalized data.

機能解析では IgG4-RD 群には、T/B 細胞活性化、炎症反応およびケモタキシスなどに関する機能を持つ遺伝子群の変動が認められた。さらに、IgG4-RD 群において発現上昇を認めた DEG のうち、上位にコラーゲン様構造マクロファージ受容体 (MARCO) や Toll 様受容体 (TLR) 7 がリストアップされた。MARCO はスカベンジャー受容体の 1 つであり、リガンドを認識して貪食作用を促す働きを持つとされている。リガンドとしては、アセチル化 LDL、細菌の LPS、アポトーシス細胞、酸化脂質、カーボンナノチューブやシリカといったナノマテリアルなどが考えられている²⁾。興味深いことに、当院における IgG4-RD 患者の発症時期とナノマテリアルの一つである PM2.5 の大気中濃度の月別推移が相関していた (Fig. 2)。

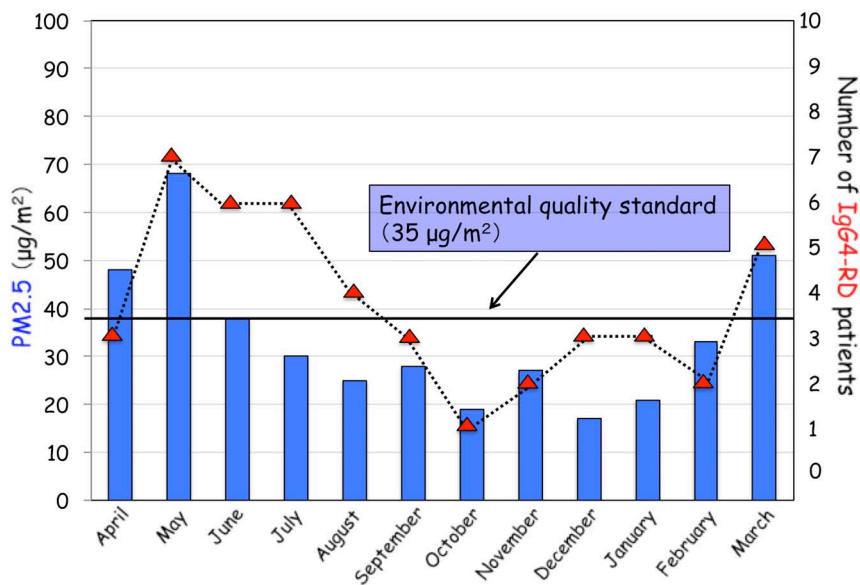


Fig. 2. Relationship between number of IgG4-RD patients and air concentration of PM2.5
The number of onset in a season was similar to the air concentration of PM2.5, a kind of nanomaterials (Fukuoka city, Japan).

一方、TLR7 は樹状細胞 (DC) や MΦ に発現し、外来微生物由来の一本鎖 RNA を認識することで生体防御に関わっている。また、自己に由来する RNA にも応答し、炎症を引き起こす可能性が指摘されており、自己免疫疾患やアレルギー疾患との関連も示唆されている³⁾。最近では、TLR7 のアゴニストでマクロファージを刺激することで Th2 細胞のサイトカイン産生を誘導する IL-33 が産生されることが報告されている⁴⁾。IgG4-RD、CS、シェーグレン症候群、健常者の唾液腺を用いて検討したところ、IgG4-RD における MARCO および TLR7 の mRNA 発現が他群と比較して有意に亢進していた。また、免疫組織化学染色では、IgG4-RD の SMG にのみ強い発現を認め、M2 MΦ (CD163 陽性細胞) の局在とほぼ一致していた。さらに、IL-33 と TLR ファミリーとの相関について検索したところ、TLR7 のみに IL-33 と正の相関を認めた。TLR7 と IgG4-RD との関連については、IgG4-RD の一つである自己免疫膵炎でも同様の報告があり、Fukui ら⁵⁾ は自己免疫膵炎の病変局所における TLR ファミリー (TLR1~11) の発現を検索した結果、膵臓での TLR7 陽性細胞の強い浸潤を認め、その発現細胞の多くが M2 マクロファージであることを報告している。以上より、MARCO および TLR7 は、IgG4-RD の病態形成に関わる新たな特異的自然免疫関連分子である可能性が示唆された。

2. TLR7 を用いた IgG4-RD モデルマウスの樹立

東京大学医科学研究所との共同研究にてヒト TLR7 トランスジェニック (huTLR7 Tg) マウスを作製し、各臓器における重量、リンパ球浸潤、線維化について同週齢の Wild type (WT) マウスと比較検討を行った。その結果、各臓

器の重量（腫脹）に有意差はなかったものの、唾液腺、膵臓などの IgG4-RD の好発臓器ではリンパ球浸潤（Fig. 3）および線維化（Fig. 4）が有意に亢進していた。

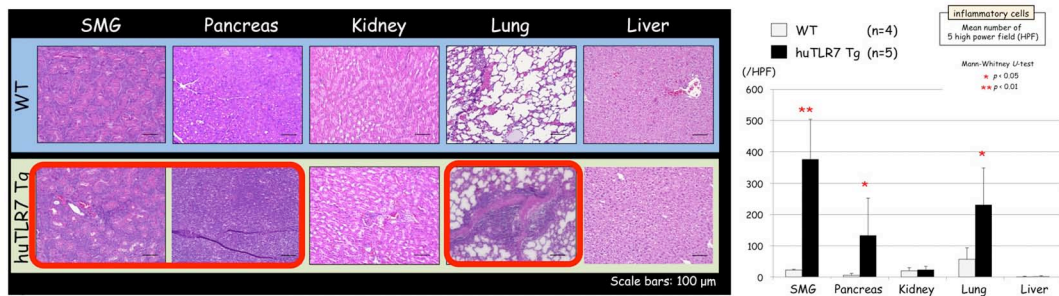


Fig. 3. Number of inflammatory cells in each organ from huTLR7 Tg and WT mice
huTLR7 Tg mice showed strong infiltration of inflammatory cells in SMGs, pancreas, and lungs compared with WT mice.

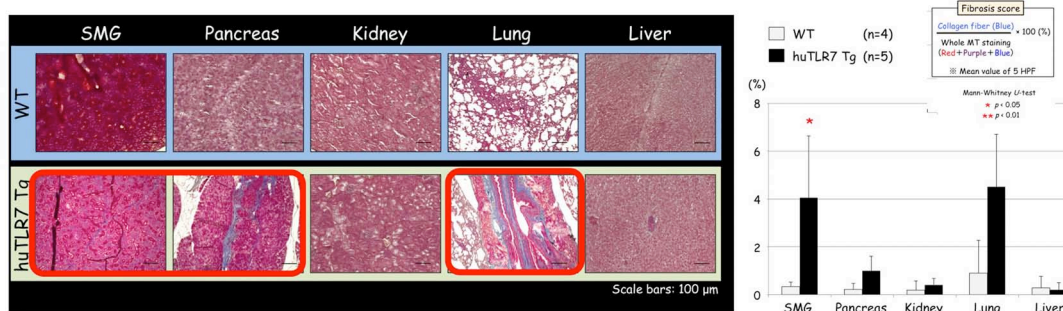


Fig. 4. Evaluation of fibrosis score in each organ
huTLR7 Tg mice showed significant fibrosis in SMG and lung compared with WT mice.

さらに、TLR7 アゴニスト（R848）により刺激した huTLR7 Tg マウスは血清中の IgG および IgG1（ヒトの IgG4 に相当）濃度が刺激前と比べて有意に増加した（Fig. 5）。これらの結果から、TLR7 による刺激が病変局所の M2 マクロファージを活性化して IL-33 の産生を促進させることで、IgG4-RD に特徴的な Th2 優位な病態を形成していることが示唆された。また、huTLR7 Tg マウスは世界初の IgG4-RD モデルマウスになり得る可能性が示唆された。

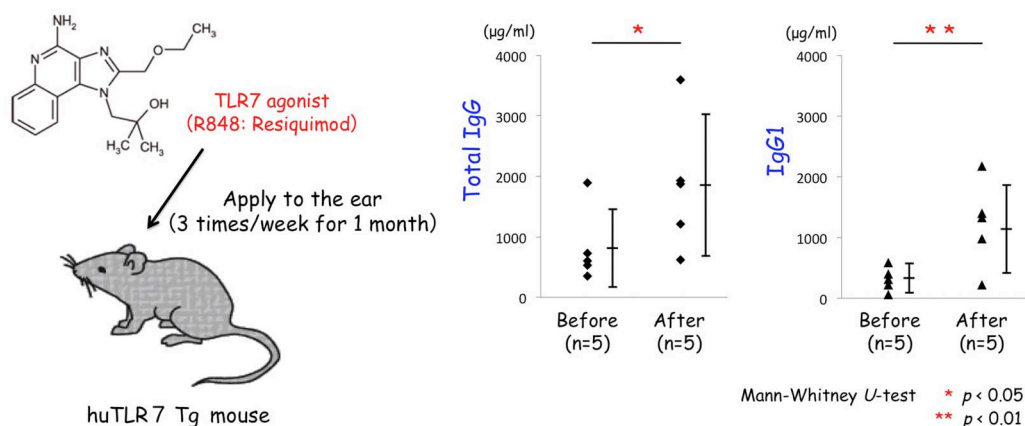


Fig. 5. Concentration of serum total IgG and IgG1 in huTLR7 Tg mice before/after the stimulation of TLR7 agonist

huTLR7 Tg mice showed significant increase of total IgG and IgG1 after TLR7 agonist stimulation.

考 察

IgG4-RD の病態形成には獲得免疫だけではなく、自然免疫も関与していることが考えられる。特に発症・病因に関しては、IgG4 がポリクローナルであり特定の病原性や抗原性が認められないことを考慮すると、MARCO や TLR7 などのパターン認識受容体を介した自然免疫の活性化が重要である可能性が示唆される。現在、IgG4-RD の第一選択薬としてはステロイドが用いているが、ステロイドを漸減していく過程で約 3 割が再燃するといわれている⁶⁾。一方、欧米ではリツキシマブ（抗ヒト CD20 ヒト・マウスキメラ抗体）による治療が多施設で行われており、ステロイドに対する難治症例でも一定の治療効果を上げている⁷⁾。しかし、リツキシマブは高価な薬剤であり、本邦においては保険適用外であることから、これらの治療に代わる有効な治療法が望まれている。本研究のような免疫学的アプローチにより病因が解明されれば、疾患特異的分子を標的とした根治的な治療法の確立が期待できる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、京都大学医学研究科消化器内科学講座の千葉勉および臨床免疫学の三森経世である。本稿を終えるにあたり、本研究をご支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Ohta M, Moriyama M, Maehara T, Gion Y, Furukawa S, Tanaka A, et al. DNA microarray analysis of submandibular glands in IgG4-related disease indicates a role for MARCO and other innate immune related proteins. *Medicine* 2016;95(7):e2853. doi: 10.1097/MD.0000000000002853. PubMed PMID: 26886650.
- 2) Jing J, Yang IV, Hui L, Patel JA, Evans CM, Prikeris R, et al. Role of macrophage receptor with collagenous structure in innate immune tolerance. *J Immunol*. 2013;190(12):6360-7. doi: 10.4049/jimmunol.1202942. PubMed PMID: 23667110.
- 3) Ewald SE, Barton GM. Nucleic acid sensing Toll-like receptors in autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2011; 23(1):3-9. doi: 10.1016/j.coi.2010.11.006. PubMed PMID: 21146971.
- 4) Chang YJ, Kim HY, Albacker LA, Baumgarth N, McKenzie AN, Smith DE, et al. Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-reactivity independently of adaptive immunity. *Nat Immunol*. 2011;12(7): 631-8. doi: 10.1038/ni.2045. PubMed PMID: 21623379.
- 5) Fukui Y, Uchida K, Sakaguchi Y, Fukui T, Nishio A, Shikata N, et al. Possible involvement of Toll-like receptor 7 in the development of type 1 autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol*. 2015;50(4):435-44. doi: 10.1007/s00535-014-0977-4. PubMed PMID: 25005350.

- 6) Yamamoto M, Takahashi H, Ishigami K, Yajima H, Shimizu Y, Tabeya T, et al. Evaluation and Clinical Validity of a New Questionnaire for Mikulicz's Disease. *Int J Rheumatol.* 2012;2012:283459. doi: 10.1155/2012/283459. PubMed PMID: 22649453.
- 7) Khosroshahi A, Bloch DB, Deshpande V, Stone JH. Rituximab therapy leads to rapid decline of serum IgG4 levels and prompt clinical improvement in IgG4-related systemic disease. *Arthritis Rheum* 2010;62(6): 1755-62. doi: 10.1002/art.27435. PubMed PMID: 20191576.