

受賞対象論文

Takeuchi M, Sato Y, Ohno K, Tanaka S, Takata K, Gion Y, Orita Y, Ito T, Tachibana T, Yoshino T : T helper 2 and regulatory T-cell cytokine production by mast cells : a key factor in the pathogenesis of IgG4-related disease. Mod Pathol (2014) 27, 1126-1136.

竹内 真衣

Mai Takeuchi



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 病理学 (腫瘍病理)

Department of Pathology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

<プロフィール>

平成20年3月 神戸大学医学部卒業
 平成22年4月 神戸大学医学部附属病院 病理診断科 医員
 平成24年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 病理学 (腫瘍病理) 特別研究学生
 平成26年4月 神戸大学医学部附属病院 病理診断科 医員
 平成26年12月 神戸大学医学部附属病院 病理診断科 特定助教
 平成27年3月 神戸大学大学院医学研究科卒業
 平成27年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 病理学 (腫瘍病理) 助教
 現在に至る

研究の背景と経緯

2012~2013年にかけて神戸大学大学院医学研究科より大学院の特別研究学生として岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病理学 (腫瘍病理/第二病理) 講座でお世話になりました。その際に、吉野正教授と現・保健学研究科准教授で当時講師をされていた佐藤康晴先生の下でIgG4関連疾患の臨床病理学的な研究に携わらせて頂いたのが本研究を始めたきっかけです。IgG4関連疾患は本邦から発信された新しい疾患概念で、まだ発見から日が浅いため解明されていない事が多く研究のやりがいがある分野でした。IgG4関連疾患は全身の様々な臓器に腫瘍や肥厚性病変を形成する疾患です。IgG4関連疾患の疾患概念ができるまでは、それぞれの臓器で腫瘍を形成する原因不明の疾患として自己免疫性膵炎、ミクリッツ病などという別々の病気として認識されていました。現在ではいずれも血中のIgG4の上昇を伴い特徴的な組織所見を示すIgG4関連疾患という同一スペクトラムの疾患と考えられています。

IgG4関連疾患は組織学的に特徴的な所見を呈します。臓器によって少しずつ異なる部分もありますが、典型的には花むしろ状の線維化、リンパ球・形質細胞の密な浸潤、閉塞性静脈炎などが認められます。浸潤

する形質細胞の多くがIgG4陽性となり、IgG4陽性細胞とIgG陽性細胞の数を比較した時に40%以上がIgG4陽性である事が重要となります。なぜIgG4関連疾患ができるのかについては現時点でもまだ十分に分かりませんが、interleukin (IL)-4, IL-5, IL-10, IL-13, transforming growth factor (TGF) β 1といったT helper 2 (Th2) 細胞, regulatory T cell (Treg) 細胞のサイトカインが上昇していることが重要と言う報告があり、恐らくこれらのサイトカインの影響で上述したような線維化やリンパ球・形質細胞浸潤, IgG4の上昇などの特徴的な所見が形成されると考えられており、病態形成に深く関わっているものと考えられています^{1,2)}。

私が2年間の課題として与えられたテーマは、これらのサイトカインを分泌している細胞が何かを証明する事でした。普通に考えればTh2, Tregのサイトカインを産生するのはT細胞であろうという事が予想されますが、その他の細胞、特にマスト細胞の関与について調べてみようと言われました。なぜマスト細胞に着目したかについては、IgG4関連疾患の患者背景には気管支喘息やアレルギー疾患が多く、高IgE血症が高頻度に認められることが知られており、アレルギー、IgEと密接な関連を有するマスト細胞が関係をし

ている可能性が考えられた事、近年ではマスト細胞が種々のサイトカインやケモカインを産生しシグナル伝達に重要な役割を果たしていることが知られてきたためです^{3,4)}。

研究成果の内容

1. Real-time PCR による各種サイトカインの発現亢進の確認

IgG4 関連疾患の病態形成に重要とされている IL-4, IL-5, IL-10, TGF β 1 のサイトカインの発現について、Real-time PCR による確認を行いました。今回は唾液腺（顎下腺）の IgG4 関連疾患について検討を行いました。対象コントロールとしては、通常の炎症性疾患として唾石症を、正常として頭頸部癌の手術の際に摘出された顎下腺を使用しました。Real-time PCR の結果、IL-4, IL-10, TGF β 1 は IgG4 関連疾患対象コントロールよりも発現が亢進している事が確認され、これまで多施設で報告されている結果と同様でありました。IL-5 についてはどの症例でも発現は低値に留まっており、有意差はみられませんでした。IL-5 については発現亢進が確認されなかったと言う報告が過去にもあり、今回もそれに類似した結果でした。

2. 免疫染色による各種サイトカイン陽性細胞の確認

免疫染色の結果、IgG4 関連疾患では各種サイトカインの陽性細胞がコントロールの2群よりも有意に多く認められました。免疫染色で確認されたサイトカイン陽性細胞は、形態的に多辺形でリンパ球と異なる形態を示し、マスト細胞に類似していました。マスト細胞の数についても c-kit 陽性細胞をカウントし評価したところ、IgG4 関連疾患のマスト細胞の数は正常よりは増加していましたが、唾石症とは有意差は無く、むしろ唾石症の方が多い傾向が見られました。

3. サイトカイン陽性細胞がマスト細胞である事の証明

本当にサイトカインをマスト細胞が産生しているかについて、マスト細胞のマーカーである c-kit と各種サイトカインの蛍光二重染色を行い検討しました。その結果、サイトカイン陽性細胞と c-kit 陽性細胞が一致する事が確認され、少なくとも IgG4 関連疾患の病態形成に重要とされているサイトカインの一部はマスト細胞である事が証明されました。唾石症ではマスト細胞の数自体は多いもののサイトカイン陽性細胞はほとん

ど見られず、サイトカイン陽性のマスト細胞は IgG4 関連疾患に特異的に見られるようでした。

4. IgE の免疫染色による検討

IgE がマスト細胞の活性化に強い影響を有していることをふまえ、免疫染色で IgE の評価を行いました。その結果、IgG4 関連疾患では通常見られないような IgE 強陽性細胞が多数認められることが分かりました。コントロール症例では膜に IgE 弱陽性を示す通常のマスト細胞のみで IgG4 関連疾患で見られたような強陽性細胞はほとんど見られませんでした。IgE は正常ではマスト細胞の膜に弱陽性となるはずですが、IgG4 関連疾患ではあたかも細胞質にも陽性となるような強陽性像を示していました。マスト細胞マーカーの c-kit と IgE の蛍光二重染色ではこれらの IgE 強陽性細胞がマスト細胞である可能性が示唆されました。

研究成果の意義

今回の研究結果は、これまで IgG4 関連疾患との関係性が指摘されていなかったマスト細胞が IgG4 関連疾患の病態形成機序に重要な役割を果たしている可能性を示唆するものです。IgG4 関連疾患において従来 T 細胞が何らかの原因で活性化し産生亢進すると考えられてきた Th2/Treg サイトカインですが、今回の知見からは高 IgE 血症やアレルギーを背景として活性化されたマスト細胞が少なくともこれらのサイトカインの一部を産生し病態形成に寄与している可能性が示唆されました（図）。興味深い事に、これらの Th2/Treg サイトカインは IgE の産生を亢進させる働きが

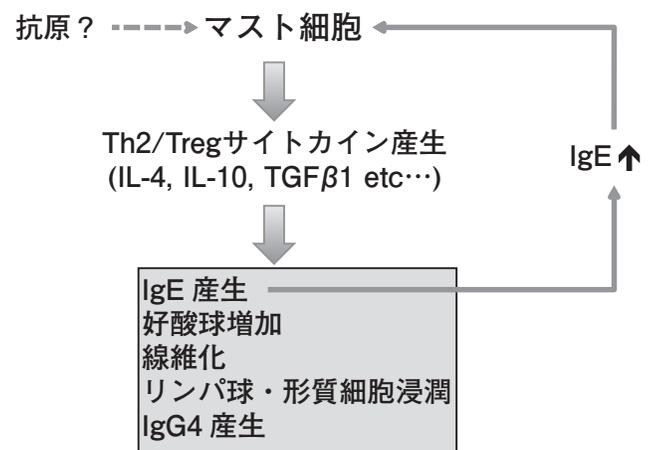


図 IgG4 関連疾患におけるマスト細胞の役割の仮説

ある事が分かっており、更にマスト細胞を活性化させ持続的にサイトカイン産生が亢進する原因となる可能性が考えられます。IgG4 関連疾患において IgE を免疫染色で評価した報告はこれまでありませんが、特徴的な IgE の染色性を示すマスト細胞がサイトカイン産生亢進と関連している可能性が示唆されます。IgG4 関連疾患の治療法はステロイドの投与で多くの症例で効果が見られますが、ステロイド抵抗性の症例や再発例についてはまだ治療法が確立されていません。病態形成機序が解明される事で治療の方向性が明確になると考えられ、今回の研究はその一助となる事が期待されます。

今後の展望

その後、Th2 サイトカインの一つである IL-13 についても同様の検討を加え、IL-13 も IgG4 関連疾患においてマスト細胞が産生している可能性が示唆されました⁵⁾。今回は唾液腺のみの検討でしたが、今後は他の臓器の IgG4 関連疾患でも検討を加えて行きたいと考えております。IgG4 関連疾患においては近年何らかの抗原に対する異常な免疫応答の持続が原因ではないかと言う推測がなされています。抗原については自己抗原という説も外来抗原と言う説もありますが、まだ特定はされていません。もしかすると何らかの抗原に対する異常な免疫応答の一端としてマスト細胞の活性化

が起きている可能性があります。今後はマスト細胞を活性化させる原因やその経路について検討を加えて行きたいと考えています。

文 献

- 1) Zen Y, Fujii T, Harada K, Kawano M, Yamada K, Takahira M, Nakanuma Y : Th2 and regulatory immune reactions are increased in immunoglobulin G4-related sclerosing pancreatitis and cholangitis. *Hepatology* (2007) 45, 1538-1546.
- 2) Tanaka A, Moriyama M, Nakashima H, Miyake K, Hayashida JM, Maehara T, Shiozaki S, Kubo Y, Nakamura S : Th2 and regulatory immune reactions contribute to IgG4 production and the initiation of Mikulicz disease. *Arthritis Rheum* (2012) 64, 254-263.
- 3) Gri G, Frossi B, D'Inca F, Danelli L, Betto, E, Mion F, Sibillano R, Pucillo C : Mast cell : an emerging partner in immune interaction. *Front Immunol* (2012) 3, 120.
- 4) Amin K : The role of mast cells in allergic inflammation. *Respir Med* (2012) 106, 9-14.
- 5) Takeuchi M, Ohno K, Takata T, Gion Y, Tachibana T, Orita Y, Yoshino T, Sato Y : Interleukin 13-positive mast cells are increased in immunoglobulin G4-related sialadenitis. *Sci Rep* (2015) 5, 7696.

平成28年1月受理
〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1
電話：086-235-7150 FAX：086-235-7156
E-mail：maitake@okayama-u.ac.jp