

高齢者におけるアレルギー性炎症の機序と免疫のエイジング

札幌医科大学医学部 消化器・免疫・リウマチ内科学講座

講師 山本 元久

(共同研究者)

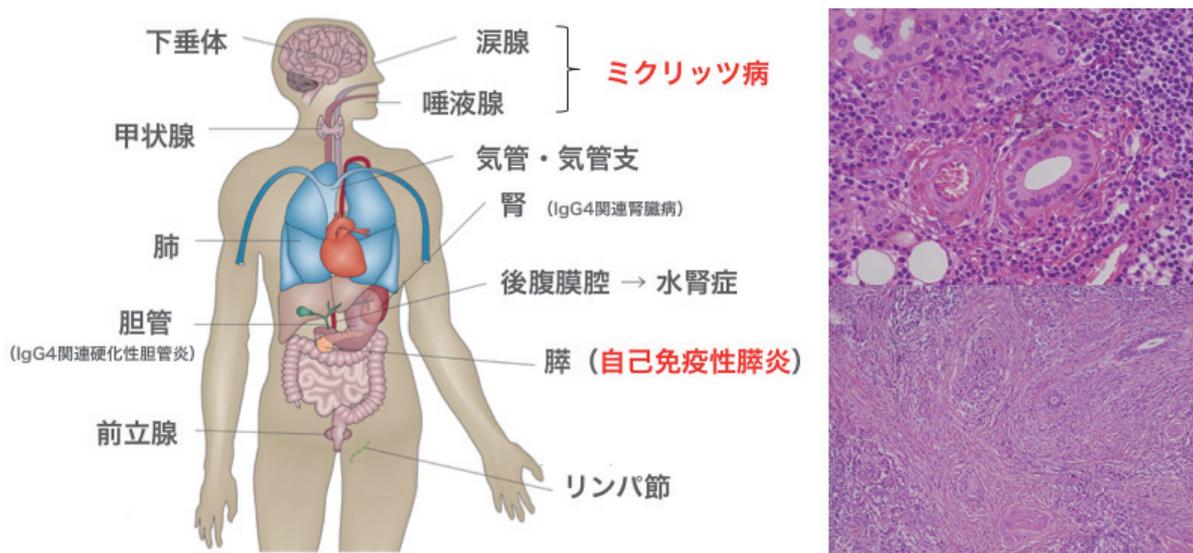
札幌医科大学医学部 消化器・免疫・リウマチ内科学講座 准教授 高橋 裕樹

札幌医科大学医学部 消化器・免疫・リウマチ内科学講座 大学院生 矢島 秀教

はじめに

「IgG4関連疾患」は、わが国で疾患概念が形成され、世界をリードしている領域である。本疾患は、中高年の男性に好発し、進行するとそのアレルギー性炎症(Th2型炎症)と線維化により、多臓器(膵、胆管、腎、肺、涙腺、唾液腺など)が不可逆的な機能障害を惹起する(図1)¹⁾。私たちの臨床的解析から、IgG4関連疾患では、一定の特異的なアレルゲンは存在せず、加齢に伴う免疫学的な変化がこの病態に大きく関与していると考えている。しかし、本疾患における免疫機能のエイジング(加齢)に関してはまだ十分解析されていない。そこで、高齢者におけるアレルギー性炎症の機序と免疫担当細胞のエイジング(加齢)の関係を本研究で明らかにし、IgG4関連疾患で惹起されるアレルギー性炎症の発症機序の解明に繋げていきたい。

図1 IgG4関連疾患の臓器障害と病理組織像



左. IgG4関連疾患の臓器障害, 右. IgG4関連疾患の炎症細胞浸潤と線維化

研究方法

A. IgG4関連疾患症例の病理標本におけるサイトカイン、転写因子の発現解析

当科で診断したIgG4関連疾患（主にミクリッツ病）の病理診断組織標本15検体（主に顎下腺）を用いて、アレルギー性炎症に関わるサイトカイン（IL-4、IL-13、IL-25、IL-33、TSLP）と転写因子（GATA3）および免疫機能の加齢に関連するサイトカイン（IL-15、オステオポンチン）と転写因子（CEBPA、SATB1）の免疫染色およびPCR法にて、それらの発現を確認する。

B. 健常人とIgG4関連疾患症例の末梢血リンパ球の解析

健常人8名（若年者:30歳以下、3名と高齢者:70歳以上、5名）とIgG4関連疾患症例8名（若年者3名と高齢者5名）の末梢血からリンパ球を採取し、フローサイトメトリーにてIL-15、オステオポンチン産生リンパ球の分画を解析する。ここで健常人において、年齢による産生されるサイトカインの差異、産生機能を評価するとともに、健常人とIgG4関連疾患症例の差異、IgG4関連疾患症例の中での年齢における差異を評価する。

C. IgG4関連疾患サイトカイン環境下 (*in vitro*) でのリンパ球機能解析

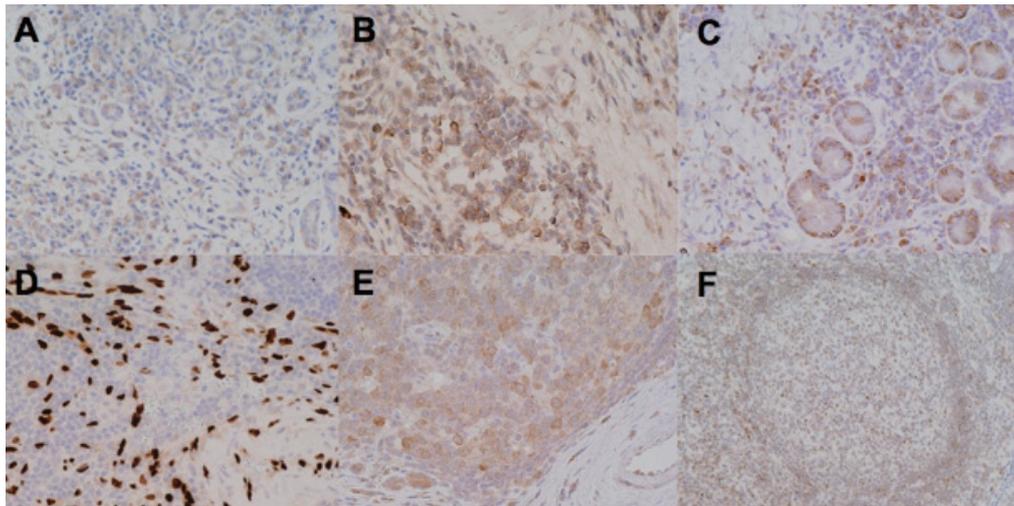
健常人から採取されたリンパ球にIL-15（0pg/ml, 10pg/ml, 50pg/ml）、オステオポンチン（0.5pg/ml, 2pg/ml, 5pg. ml）を添加し、3日間培養し、上清中のIFN γ 、IL-4、IL-21、グランザイム濃度を、ELISAキットを使用して解析する。

結 果

A. IgG4関連疾患症例の病理標本におけるサイトカイン、転写因子の発現解析

IgG4関連疾患症例の顎下腺組織を解析した結果、IL-4およびIL-13産生細胞の浸潤を認めた（図2A、2B）。これらの産生細胞を二重蛍光抗体法で同定した結果、CD4陽性よりヘルパーT細胞であった。また病変部位に形成する胚中心周囲炎症細胞（主にリンパ球）は、GATA3を発現していた（図2F）。さらに病変部位に浸潤するリンパ球にIL-25（図2C）、上皮とリンパ球にIL-33（図2D）、病変内に形成される異所性胚中心（主にB細胞）にTSLPの発現を認めた（図2E）。

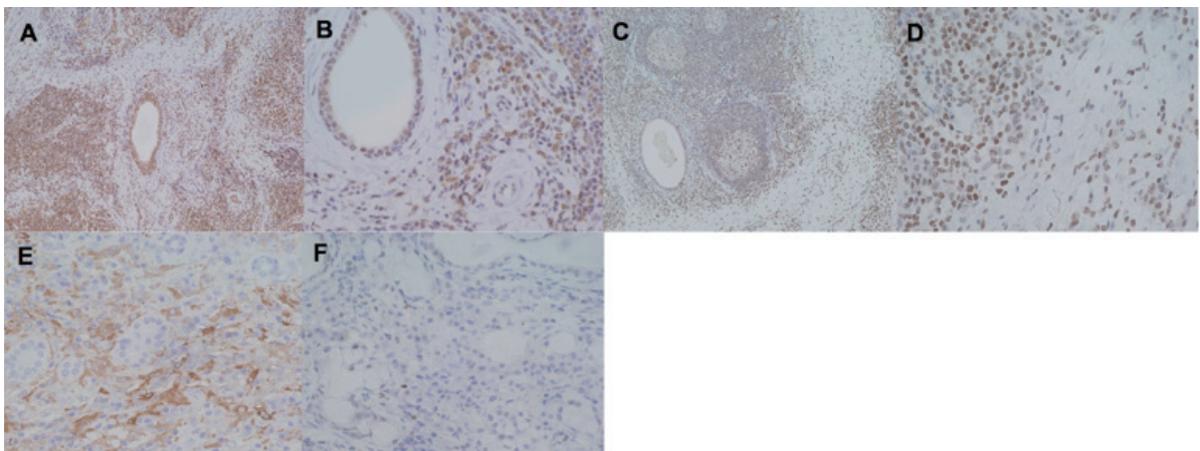
図2 顎下腺組織 (IgG4関連疾患) におけるTh2関連分子の発現



(A. IL-4, x400, B. IL-13, x400, C. IL-25, x400, D. IL-33, x400, E. TSLP, x400, F. GATA3, x200)

また、炎症部位には上記とは別に、IL-15とオステオポンチン産生細胞も顕著に浸潤していることが明らかになった (図3A-D)。そして、転写因子CEBPAおよびSATB1については、CEBPAの発現細胞は多く観察された (図3E) が、SATB1発現細胞は認めなかった (図3F)。

図3 顎下腺組織 (IgG4関連疾患) におけるIL-15、オステオポンチンの発現



(A. IL-15, x100, B. IL-15, x400, C. オステオポンチン, x100, D. オステオポンチン, x400, E. CEBPA, x400, F. SATB1, x400)

B. 健常人とIgG4関連疾患症例の末梢血リンパ球の解析

今回、末梢血CD4陽性Tリンパ球におけるIL-15とオステオポンチンの発現を検討した。健常人若年のIL-15発現率は 3.5 ± 1.1 (S. D.) %、オステオポンチン発現率は 1.0 ± 0.3 (S. D.) %、健常人高齢者のIL-15発現率は 7.9 ± 2.3 (S. D.) %、オステオポンチン発現率は 5.3 ± 1.6 (S. D.) %であった。一方、IgG4関連疾患若年症例のIL-15発現率は 9.4 ± 3.4 (S. D.) %、

オステオポンチン発現率は 4.0 ± 1.5 (S. D.) %、IgG4関連疾患高齢症例のIL-15発現率は 14.7 ± 3.4 (S. D.) %、オステオポンチン発現率は 7.8 ± 1.2 (S. D.) %であった。IL-15に関しては、健常人においては若年より高齢者の方が有意に高かった ($P < 0.05$) が、IgG4関連疾患では年齢の因子では有意差はつかなかった ($P = 0.08$)。健常人とIgG4関連疾患で比較すると若年、高齢者ともに、IgG4関連疾患の方が有意に高値を示した ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。オステオポンチンに関しては、健常人、IgG4関連疾患ともに若年より高齢者の方が発現率が有意に高かった ($P < 0.005$, $P < 0.01$)。健常人とIgG4関連疾患で比較すると若年、高齢者ともに、IgG4関連疾患の方が有意に高値を示した (ともに $P < 0.05$)。

C. IgG4関連疾患サイトカイン環境下 (*in vitro*) でのリンパ球機能解析

健常人から採取した末梢血単核球にIL-15、オステオポンチンを添加して培養し、上清中のサイトカイン濃度を測定した結果、高濃度のIL-15を添加した場合のみ、IL-4産生が軽度認められた。しかしIFN γ 、IL-21およびグランザイムB濃度は検出できなかった。

考 察

IgG4関連疾患は、臨床的には高齢者に多く²、病態的にはアレルギー性炎症が大きく関与していることが判明している³。そこで私たちは、加齢とアレルギー性炎症の関連性に着目し、IgG4関連疾患の病態の解析を行った。今回の検討により、罹患臓器組織および末梢血中にTh2以外にIL-15、オステオポンチン発現細胞が認められることが判明した。IL-15はNK細胞やメモリーCD8陽性T細胞の維持、増殖において必須であることは知られているが、それ以外にマスト細胞に対してアポトーシスを阻害、増殖を促進、IL-4産生を誘導する作用を有することが知られている⁴。またオステオポンチンはIL-12産生を促し、IL-10産生を抑制することから、Th1型炎症を誘導することが知られている。しかし免疫応答の時期によってはTh2型応答を正に制御し得る⁵。この2つのサイトカインは、加齢により末梢血に増加してくるsenescence-associated T細胞 (SA-T) に密接に関連する。SA-T細胞は、抗原受容体を介する増殖や免疫サイトカイン産生など獲得免疫機能を示さないが、恒常性維持増殖能を有し、オステオポンチンなどの向炎症性分子を産生する。SA-T細胞は、PD-1⁺CD44^{high}CD62L^{low}CD4⁺の形質をもつT細胞であり、TCR刺激には増殖を示さないが、IL-15に対して極めて強い増殖反応を示す特徴を有することがわかっている。SA-T細胞は加齢のみならず、白血病や全身性自己免疫疾患に伴って二次リンパ組織の胚中心で急速に増加し、これら病態に伴う獲得免疫機能不全や慢性炎症に関与していると考えられている⁶。まだ現段階では、本疾患における胚中心にSA-T細胞が存在するかは確認できていないが、SA-T細胞から産生されるオステオポンチンを介して、加齢とアレルギーをはじめとした慢性炎症の関連性がみえてくる。SA-T細胞と濾胞性ヘルパーT細胞との区別が表面マーカーのみでは難しいため、簡易な同定法とオステオポンチンを標的とした治療法の開発に挑んでいきたい。

要 約

IgG4関連疾患は高齢者に多く、アレルギー性炎症を背景とした慢性炎症性疾患である。本疾患の病態を検討することにより、高齢者におけるアレルギー性炎症の機序を解析した。IgG4関連疾患の顎下腺標本では、Th2関連分子の高発現とともに、IL-15とオステオポンチンを発現している細胞が多数確認された。またIgG4関連疾患症例の末梢血単核細胞の解析でもIL-15とオステオポンチン発現細胞が健常人に比して多かった。またこれらは健常人において加齢により発現が増加することが判明した。IL-15とオステオポンチンはアレルギーにも関与するため、高齢者におけるアレルギー性炎症の一因を担う可能性が示唆された。

文 献

1. Yamamoto M, Takahashi H, Shinomura Y. Mechanisms and assessment of IgG4-related disease: lessons for the rheumatologist. *Nat Rev Rheumatol.* 10:148-159, 2014.
2. Yamamoto M, Yajima H, Takahashi H, et al. Everyday clinical practice in IgG4-related dacryoadenitis and/or sialadenitis: results from the SMART database. *Mod Rheumatol.* 25: 199-204, 2015.
3. Tanaka A, Moriyama M, Nakashima H, et al. Th2 and regulatory immune reactions contribute to IgG4 production and the initiation of Mikulicz's disease. *Arthritis Rheum.* 64; 254-263, 2012.
4. Masuda A, Matsuguchi T, Yamaki K, et al. Interleukin-15 inhibits induces rapid tyrosine phosphorylation of STAT6 and the expression of interleukin-4 in mouse mast cells. *J Biol Chem.* 275: 29331-29337, 2000.
5. Xanthou G, Alissafi T, Semitekolou M, et al. Osteopontin has a crucial role in allergic airway disease through regulation of dendritic cell subsets. *Nat Med.* 13: 570-578, 2007.
6. 服部雅一, 湊長博. T-cell senescence and autoimmune diseases. *アレルギー* 64: 110-118, 2015.