

# 研究題目 自然免疫を基盤とした慢性難治性唾液腺疾患 (IgG4 関連疾患) の新規治療戦略

## 研究組織

研究代表者：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)

共同研究者：石丸 直澄 (徳島大学先端酵素学研究所)

研究分担者：緒方 謙一 (九州大学病院 顎口腔外科)

金子 直樹 (九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座)

## 【1】研究の概要

### [1-1] 本研究の目的・概要

IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) の唾液腺病変は慢性難治性であり、その病態形成にはヘルパーT細胞やB細胞などの獲得免疫が関与していることが知られているが、最近の研究では病原体センサーである Toll 様受容体 (TLR) を介した自然免疫の活性化もその発症に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

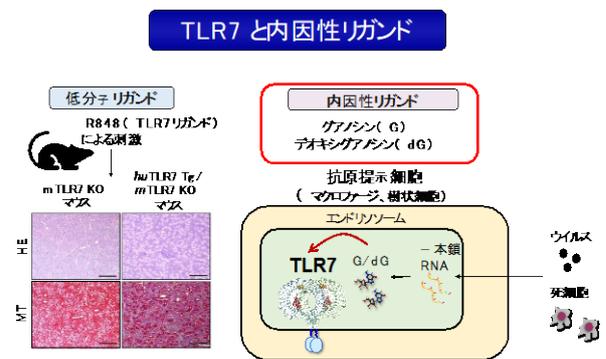
われわれは IgG4-RD の唾液腺病変における TLR ファミリーの発現を網羅的に解析し、TLR の中でも特に核酸シグナルセンサーである Toll 様受容体 7 (TLR7) が病変局所で強い発現を認め、その主な発現細胞が CD163 陽性 M2 マクロファージであることを明らかにした。さらに、マウス自身の TLR7 を欠失させ、ヒト TLR7 強発現させた (huTLR7 Tg/mTlr7 KO) マウスを作製し、その表現型についても検討を行った。その結果、huTLR7 Tg/mTlr7 KO マウスは、IgG4 関連疾患の好発部位である顎下腺、膵臓、および肺におけるリンパ球浸潤と線維化は有意に亢進しており、さらに血清 IgG1 (ヒトの IgG4 に相当) の上昇を認めたことから、IgG4-RD に類似していることが示唆された。

そこで本研究では、より本来の病態に近い環境に近づけるために、TLR7 の内因性リガンドであるグアノシン/デオキシグアノシンがリボソーム内に蓄積することで、恒常的に TLR7 が刺激するマウスを作製し、その表現型を検討した。

### [1-2] 研究の方法・経過

#### TLR7 内因性リガンドに着目した世界初の IgG4 関連疾患モデルマウスの樹立

まず、TLR7 応答を抑制するヌクレオシドトランスポーターである SLC29A3 を欠損させることにより、TLR7 の内因性リガンドであるグアノシン/デオキシグアノシンがリボソーム内に蓄積することで、恒常的に TLR7 が刺激するマウス (SLC29A3 欠損マウス) を作製した。



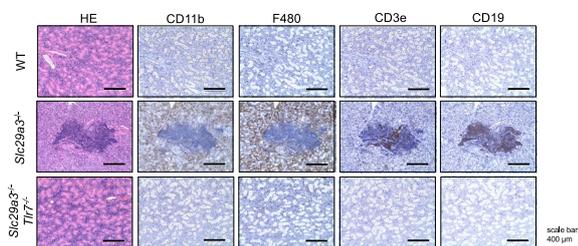
野生型、SLC29A3 欠損、SLC29A3/TLR7 両欠損マウスの顎下腺を使用し、重量および唾液分泌量測定、病理組織学的解析、フローサイトメトリー解析による浸潤細胞の同定、タンパク質多項目解析によるケモカイン産生解析、Real-time PCR による mRNA 発現解析を行った。ヒトサンプルとして健常者、SS 患者、IgG4-RD 患者の唾液腺を使用し、病理組織学的解析、mRNA 発現解析を行った。

## 【2】研究成果

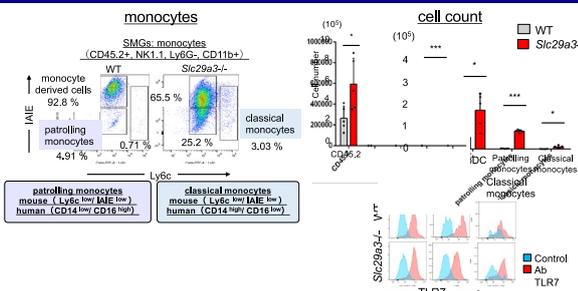
[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

SLC29A3 欠損マウスの顎下腺は、野生型と比較して重量および唾液分泌量が有意に少なかった。病理組織学的解析にて炎症細胞浸潤を認め、浸潤細胞の主体は CD3 および CD19 陽性細胞であったが、組織全体にわたって CD11b 陽性細胞の増加を認めた。FCM 解析にて Patrolling および Classical monocytes の増加を認めた。また、CXCL9 等のケモカインのタンパク発現レベルが亢進しており、Real-time PCR にて TLR7 依存的な mRNA 発現亢進を認めた。さらに、SS および IgG4-RD 患者の唾液腺において CD11b 陽性細胞の増加を認め、CXCL9 の mRNA 発現亢進を認めた。

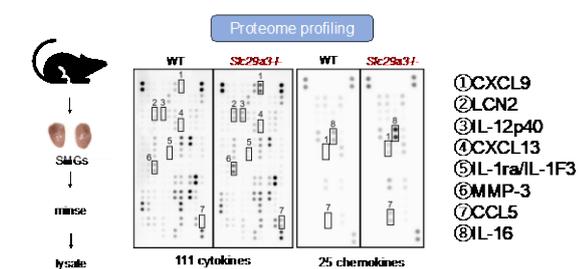
### 顎下腺における免疫細胞の発現と局在



### 血中の単球・マクロファージのサブタイプ



### 顎下腺におけるサイトカインの蛋白発現



SLC29A3 欠損マウスの唾液腺炎は、TLR7 依存的にマクロファージが活性化し、CXCL9 などのケモカイン産生により、リンパ球が浸潤することで引き起こされることが示唆された。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

IgG4-RD の治療薬としては、グルココルチコイドが第一選択薬であり著効するが、5 年以上

の長期経過では約 4 割の患者で再発することが報告されている。また、ステロイドの長期投与は、糖尿病や骨粗鬆症などの合併症も引き起こすため、新たな治療薬の開発が世界的に望まれている。米国では B 細胞を標的とした分子標的治療薬 (リツキシマブ) の治験が行われているが、効果が限定的であるのが現状である。

本研究により、臓器障害の原因となっている線維化に関わる分子 (TLR7 や SLC29A3) を抽出したが、今後はそれらの分子を標的としたグルココルチコイドに代わる IgG4-RD の新規治療薬開発に取り組む予定である。

### [3] 主な発表論文等

#### [3-1] 論文発表

- Hayashi Y, Kimura S, Yano E, Yoshimoto S, Saeki A, Yasukochi A, Hatakeyama Y, **Moriyama M**, et al. Id4 modulates salivary gland homeostasis and its expression is downregulated in IgG4-related disease via miR-486-5p. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 1870(2):119404, 2023.
- Allard-Chamard H, Kaneko N, Bertocchi A, Sun N, Boucau J, Kuo HH, Farmer JR, Perugino C, Mahajan VS, Murphy SJH, Premo K, Diefenbach T, Ghebremichael M, Yuen G, Kotta A, Akman Z, Lichterfeld M, Walker BD, Yu XG, **Moriyama M**, Maehara T, Nakamura S, Stone JH, Padera RF, Pillai S. Extrafollicular IgD-CD27-CXCR5-CD11c-DN3 B cells infiltrate inflamed tissues in autoimmune fibrosis and in severe COVID-19. *Cell Rep.* 42(6):112630, 2023.
- 坂本 瑞樹、金子 直樹、**森山 雅文**、前原 隆、中村 誠司 「臨床と病理 第 42 巻 第 2 号 2024 年 2 月号」 能登原 憲司、佐藤 康晴 編、特集：B 細胞と T 細胞から紐解く IgG4 関連疾患の病態形成メカニズム、127-133 頁、文光堂、2024
- 原 佑佳、陳 鵠、**森山 雅文** 「日本臨床 第 82 巻 第 3 号」 田中 良哉 編：特集：IgG4 関連疾患 II 基礎研究 3. IgG4 関連疾患における自然免疫応答 326-332 頁、日本臨床社、2024

#### [3-2] 学会発表

- 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業 自己免疫疾患に関する調査研究班 強皮症・皮膚線維化疾患の診断基準・重症度分類・診療ガイドライン・疾患

レジストリに関する研究班 合同開催 「医療講演会」 口腔乾燥の対処法 ～知って欲しいシェーグレン症候群の口腔症状～ ○森山 雅文 2023.9.1～9.30 Web 開催 オンデマンド配信

2. 第 31 回 日本シェーグレン症候群学会・学術集会 シンポジウム 3 「IgG4 関連疾患診断と治療の最前線」 IgG4 関連涙腺・唾液腺炎の診断およびモニタリングにおける顎下腺超音波検査の可能性を考える  
○森山 雅文、坂本 瑞樹、亀倉 隆太、坪井 洋人、折口 智樹、土橋 浩章、佐藤 康晴、高橋 裕樹、井上 大、高木 幸則、清水 真弓、川野 真太郎、中村 誠司 2023.9.23 浜松
3. 第 15 回 IgG4 関連疾患学会学術集会 イブニングセミナー 「IgG4 関連疾患の病因・病態」 IgG4 関連涙腺・唾液腺炎からみた病因・病態 ～IgG4 関連疾患モデルマウスの樹立を目指して～ ○森山 雅文 2024.3.8 倉敷

[3-3]成果資料等

該当なし

#### 【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

新規治療薬の開発には動物実験が不可欠であるため、徳島大学（石丸研究室）が有している唾液腺炎モデルマウスを用いて、世界初の IgG4-RD モデルマウスの樹立を目指す。