

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業
IgG4 関連疾患の診断基準並びに治療指針の確立を目指した研究
分担研究報告書

IgG4 関連疾患症例の血清 microRNA の網羅的解析

研究分担者 高橋 裕樹 札幌医科大学 准教授

研究要旨:近年, microRNA には免疫修飾作用を有することがわかっている。今回、我々は IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) 患者血清中の microRNA を網羅的に解析し、病態に関わる可能性のある microRNA の探索を実施した。対象は IgG4-RD 9 例、シェーグレン症候群 (SS)・健常人各 3 例の血清である。東レ社製高感度 DNA チップ 3D-Gene® を使用し、IgG4-RD に特異的な microRNA を抽出し、次にその中から治療前後で変動した microRNA を同定した。健常人と比較し、IgG4-RD では 17 個の microRNA の有意な発現亢進を認め、それらは SS と重複しなかった。この中で miR-320c、miR-6501-3p、miR-6750-5p の発現が治療後に低下した。血清解析により、IgG4-RD の病態に関わり得る 3 つの microRNA が抽出された。

A . 研究目的

IgG4 関連疾患の病態は未だ不明であるが、Fukui らは、自己免疫性膵炎の組織では、TLR7 の過剰な発現を見出し、その TLR7 を発現している細胞は M2 マクロファージであることを報告している (Fukui Y, et al. J Gastroenterol. 50: 435-44, 2015.)。TLR7 のリガンドは 1 本鎖 RNA であることが知られており、近年、様々な病態で注目されている microRNA もリガンドになり得ることが判明している (Gantier MP, et al. J Immunol. 180: 2117-24, 2008.)。このことから、今回、私たちは、IgG4 関連涙腺・唾液腺炎 (ミクリッツ病) の患者血清を使用し、本疾患の病因、病態に関わる microRNA の網羅的探索を行った。

B . 研究方法

対象は、2008 年 4 月から 2014 年 11 月までに、札幌医科大学附属病院を受診した IgG4 関連涙腺・唾液腺炎 9 例、シェーグレン症候群 3 例、および健常コントロール 3 名とした。IgG4 関連涙腺・唾液腺炎の診断は、IgG4 関連疾患包括診断基準 (2011) (Umehara H, et al. Mod Rheumatol. 22: 21-30, 2012.) で確定診断であること、

およびシェーグレン症候群は、アメリカ・ヨーロッパシェーグレン症候群改訂診断基準 (Vitali C, et al. Ann Rheum Dis. 61: 554-558, 2002.) に基づき、行われた。IgG4 関連疾患、シェーグレン症候群の未治療時の血清、健常人の血清を、3D-Gene miRNA Oligo chips® (Toray Industries, Tokyo, Japan) を使用し、健常人、シェーグレン症候群に比較し、IgG4 関連涙腺・唾液腺炎で有意に高発現している microRNA を抽出した。次に IgG4 関連涙腺・唾液腺炎 3 名のステロイド治療前後の血清を用いて、有意な変化を示した microRNA を抽出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、札幌医科大学附属病院臨床研究審査委員会の承認を得て、実施した。

C . 研究結果

患者背景であるが、IgG4 関連涙腺唾液腺炎症例の性差 (男:女) は 1.3:1、平均年齢は 58.1 ± 15.2 歳 (S.D.) であった。一方、シェーグレン症候群症例は全例女性で、平均年齢は 56.3 ± 13.6 歳であった。健常人は全例男性で、 28.0 ± 2.6 歳であつ

た。血清 IgG4 濃度は IgG4 関連涙腺唾液腺炎は 1063 ± 382 mg/dL、シェーグレン症候群は 48 ± 18 mg/dL、健常人は 41 ± 32 mg/dL であった。

疾患特異的な microRNA の抽出に関して、健常人と比較した場合、IgG4 関連涙腺液遷延では、17 個の microRNA が抽出された。一方、シェーグレン症候群では 15 個の microRNA が抽出された。これらの中で互いに重複して抽出されたものは存在しなかった。IgG4 関連涙腺唾液腺炎で抽出された 17 個の microRNA の中で、ステロイド治療後に有意に発現が低下した microRNA は、miR-6501-3p、miR-6750-5p、miR-320c の 3 つであった。

D . 考察

microRNA は、転写後レベルで複数の標的遺伝子の発現を調節し、細胞および発生の様々なプロセスに関与するとされる非コード RNA 小分子である (Tili E, et al. Nat Clin Pract Rheumatol. 4: 534-541, 2008.)。近年、血清、血漿中に存在する microRNA 解析の手法が開発され、癌や神経疾患領域の研究において実用化されつつある (Konishi H, et al. Br J Cancer. 106: 740-747, 2012.)。microRNA が免疫応答を多彩に修飾することも判明し、治療標的になり得ることが予想されている (Kroesen BJ, et al. Immunology. 144: 1-10, 2015.)。

自己免疫性膵炎における疾患特異性 microRNA の解析では、miR-150-5p が着目されている。IgG4 関連涙腺・唾液腺炎でも miR-150-5p が高発現であったが、有意差はつかなかった (Hamada S, et al. Digestion. 91: 263-271, 2015.)。本検討では、3 つの microRNA が疾患特異的、かつ活動性を反映するマーカーとして抽出された。miR-6501-3p、miR-6750-5p に関しては、既報がないため、それ自体の機能解析については今後の課題である。miR-320c は、線維化との関連が指摘されている。ADAMTS5 発現低下を介し、TGF シグナルを入れ、線維化を進める可能性がある (Ukai T, et al. J Orthop Res. 30: 1915-1922, 2012.)。今後、症例数を増や

し、検討を継続していく予定である。

E . 結論

IgG4 関連涙腺・唾液腺炎の患者血清中では、miR-320c、miR-6501-3p、miR-6750-5p が、健常人に比較し有意に高発現していることが明らかになった。これらの microRNA 濃度はステロイド治療後に低下した。これらの 3 つの microRNA は、IgG4 関連疾患における新しい血清バイオマーカーになり得る可能性が示唆された。

F . 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

1. 山本元久, 矢島秀教, 清水悠以, 鈴木知佐子, 苗代康可, 高橋裕樹. IgG4 関連疾患症例血清中のマイクロ RNA の網羅的解析. 第 43 回日本臨床免疫学会総会, 神戸国際会議場 2015.10.23

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし