

# 慢性膵炎と自己免疫性膵炎の発症に関わる自然免疫反応

渡邊 智裕 工藤 正俊

近畿大学医学部消化器内科

Innate immune responses associated with chronic pancreatitis and autoimmune pancreatitis

Tomohiro Watanabe MD, PhD and Masatoshi Kudo MD, PhD

Department of Gastroenterology and Hepatology, Kindai University Faculty of Medicine

## はじめに

慢性膵炎と自己免疫性膵炎は膵臓の慢性炎症性疾患であるが、両者の疾患表現型は大きく異なっている。慢性膵炎は主にアルコールの過剰摂取を背景に発症し、進行に伴い膵臓は萎縮する。自己免疫性膵炎は自己免疫を背景に発症し、膵臓はむしろ腫大する。病因や表現型が異なる2つの慢性炎症性膵臓疾患が共通の自然免疫反応を基盤に発症することを最近、我々は見出した<sup>1,2</sup>。本稿では慢性炎症性膵臓疾患の発症に関わる自然免疫反応について、概説する。

## 慢性膵炎の臨床像

慢性膵炎はアルコールの摂取過剰、喫煙、疾患感受性遺伝子などの多彩な原因を背景として発症するが、飲酒過剰によるものが大半を占める。進行に伴い、膵臓の外分泌機能障害による下痢や消化吸収不良、内分泌機能障害による糖尿病が出現する<sup>1,3</sup>。慢性膵炎の病態生理は十分に解明されていないため、根治療法は存在しない。また、慢性膵炎患者には高率に膵癌が発生することが知られている<sup>1,3</sup>。このように、慢性膵炎の発症機序の解明は慢性膵炎の新規治療法の開発だけでなく、膵癌の予防法の開発につながる可能性が示唆されている。

## アルコール性膵炎と膵臓酵素

消化管ホルモンである Cholecystikinin (CCK) は膵臓の腺房細胞に発現する CCK receptor (CCKR) を介して、膵臓酵素の分泌を促進する。腺房細胞から分泌される膵臓酵素前駆体の Trypsinogen は十二

指腸粘膜の Enterokinase により、活性化型の Trypsin に変換される<sup>4</sup>。消化分解作用を有する Trypsin により、消化管での消化吸収が営まれる。しかしながら、過剰飲酒や高脂肪食の摂取は CCK-CCKR 経路を過剰に活性化し、膵臓内で膵臓酵素の活性化を引き起こす。このように、消化分解作用を有する膵臓酵素の膵臓内活性化が膵炎の病態の主体であると考えられてきた。実際に、Trypsinogen 関連遺伝子の変異が遺伝性膵炎の原因遺伝子として同定されており、「膵臓酵素の異所性活性化による膵臓組織の自己消化」が膵炎の病態の主体であることは間違いない<sup>5</sup>。

## アルコール性膵炎と腸内細菌

Trypsinogen は主要な膵臓酵素であり、Trypsinogen が Trypsin に膵臓内で変換されることが膵炎発症の Trigger であると考えられてきた。最近、Trypsinogen の発現が非常に低下した遺伝子改変マウスが作成された。予想外にも、Trypsinogen の欠損状態においても野生型マウスと同等の実験膵炎の発症が認められることが判明した<sup>6-8</sup>。これらの事実は膵炎の発症メカニズムを「膵臓酵素の異所性活性化による組織自己消化」のみで説明することが不可能であることを証明するものである。

臨床的に、膵炎患者では腸管バリア機能の破綻と Bacterial Translocation が観察される<sup>1</sup>。そこで、我々は膵炎の発症機序について、腸内細菌に対する自然免疫反応という視点から解明を進めた。Nucleotide-binding oligomerization domain 1 (NOD1) は上皮細胞や抗原提示細胞などの自然免疫担当細胞

に発現し、自然免疫反応の一翼を担っている<sup>9,10</sup>。我々は NOD1 ligand である FK156 と CCKR agonist であるセルレインを用いた新規の急性膵炎モデルを樹立し、以下の事実を見出した<sup>11</sup>。

- 1) 急性膵炎の発症に伴い、膵臓へ移行した腸内細菌を膵臓腺房細胞に発現する NOD1 が認識する。
- 2) NOD1 を介する自然免疫反応経路は CCKR 経路と協調し、膵臓腺房細胞における nuclear factor-kappaB (NF- $\kappa$ B) と signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) を活性化する。
- 3) NF- $\kappa$ B と Stat3 経路の活性化により、膵臓腺房細胞がケモカイン C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) を産生する。また、CCL2 の産生には I 型 IFN 経路の活性化が必要である。
- 4) CCL2 の産生に反応した C-C chemokine receptor type 2 (CCR2) 陽性マクロファージが膵臓に浸潤し、膵炎を引き起こされる。

このように、我々は飲酒により活性化される CCKR 経路と腸内細菌により活性化される NOD1 経路が膵臓腺房細胞のレベルにおいて、相乗的・協調的に作用し急性膵炎を引き起こすことを明らかにした。

#### 慢性膵炎の発症に関わる自然免疫反応

飲酒により活性化される CCKR 経路と腸内細菌により活性化される NOD1 経路の双方が急性膵炎の発症に関わることが明らかになった。そこで、我々は慢性膵炎の発症にも CCKR 経路と NOD1 経路が関与するのではないか？と考えた。この目的のために、NOD1 ligand である FK565 と CCKR agonist であるセルレインを用いた新規の慢性膵炎モデルの樹立を目指した<sup>12</sup>。幸運にも、新規の慢性膵炎モデルの樹立に成功し、この疾患モデルとヒトアルコール性慢性膵炎の発症に関わる免疫反応の解明を行い、以下の事実を見出した。

- 1) セルレインによる CCKR 刺激と FK565 による NOD1 刺激を繰り返し行うことにより、膵臓の腺房構造の破壊・炎症細胞浸潤・線維化を伴う、慢性膵炎を誘導することができる。
- 2) この慢性膵炎モデルでは膵臓腺房細胞、免疫細胞、膵臓星細胞において、NF- $\kappa$ B と Stat3 経路の活性化が認められる。
- 3) この慢性膵炎モデルでは様々なサイトカイン反応が誘導されている。自然免疫関連サイトカ

インでは膵臓における IFN- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 の発現上昇が著明であった。また、線維化関連サイトカインでは膵臓における IL-33, IL-13, TGF- $\beta$ 1 の発現上昇が著明であった。

- 4) 膵臓から腺房細胞とマクロファージを分離培養したところ、腺房細胞が IFN- $\beta$  と IL-33 を産生し、マクロファージが TNF- $\alpha$  を産生することが判明した。マクロファージが産生する TNF- $\alpha$  と腺房細胞が産生する IFN- $\beta$  に反応して反応して、腺房細胞は IL-33 を産生した。
- 5) I 型 IFN 受容体の欠損マウスあるいは IL-33 受容体に対する中和抗体を投与されたマウスはこの慢性膵炎モデルの誘導に抵抗性を示した。
- 6) ヒトの慢性膵炎の膵臓組織において、IL-33 を産生する腺房細胞が数多く同定された。

以上の結果から、「腺房細胞が産生する I 型 IFN (IFN- $\beta$ ) と IL-33」がアルコール性慢性膵炎の発症に関わる自然免疫反応であることが明らかになった。アレルギー反応に関わると考えられていた IL-33 が<sup>13</sup>、I 型 IFN の存在下で慢性炎症を引き起こすという新たなメカニズムを同定した。

#### 自己免疫性膵炎の臨床像

自己免疫性膵炎は自己免疫を基盤に発症する慢性炎症性膵臓疾患である<sup>2</sup>。臨床症例の解析により、自己免疫性膵炎の大半が全身性の IgG4 関連疾患が膵臓に発現したものであることが明らかになった<sup>2</sup>。IgG4 関連疾患は血清 IgG4 値の上昇、IgG4 陽性形質細胞の罹患臓器への浸潤、花筵状線維化と呼ばれる特殊な形態の線維化、多臓器病変を特色とする新規疾患概念である<sup>14,15</sup>。IgG4 関連疾患は本邦の内科医から世界に向けて提唱された新規疾患概念であり、国内外の消化器内科医・膠原病内科医・消化器疾患研究者・免疫疾患研究者から大きな注目を集めている。IgG4 関連疾患は高齢の男性に多く、膵臓・唾液腺・胆管を中心とする全身の至る臓器に病変を引き起こす。IgG4 関連疾患・自己免疫性膵炎患者では罹患臓器の分布を反映した多彩な症状を呈する。また、自己免疫性膵炎患者では膵臓は腫大し、膵臓が萎縮する慢性膵炎とは対照的である。さらに、自己免疫性膵炎患者では悪性腫瘍の併発が多いことが報告されている<sup>16,17</sup>。

IgG4 関連疾患・自己免疫性膵炎の病態生理は解明されていないが、治療にはステロイドによる免疫抑制が用いられる<sup>14,15</sup>。ステロイドは本疾患に効果的であるが、副作用の観点から病態生理に立脚した新

規治療法の開発が望まれている。

### IgG4 抗体の病原性と自己免疫性膵炎の標的抗原

自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患は IgG4 産生反応の亢進を最大の免疫学的な特色としている。しかしながら、IgG4 抗体については、補体や Fc 受容体の活性化能力が乏しいことが知られており、本疾患における IgG4 抗体の病原性については意見が分かれていた<sup>18</sup>。Shiokawa らは自己免疫性膵炎患者の血清から分離した IgG1 あるいは IgG4 抗体を新生児マウスに投与し、それぞれの病原性を検討した。その結果、IgG4 抗体よりはむしろ IgG1 抗体に病原性があることを見出した<sup>19</sup>。また、最近、自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患の標的抗原として Laminin 511<sup>20</sup> と Annexin A11<sup>21</sup> が同定されたが、これらの標的抗原に対しても IgG1 型抗体の方が IgG4 型抗体よりも病原性を発揮していることが確認されている。このように、自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患で上昇している IgG4 抗体については病的に働いている可能性は少ないと考えられつつある。

### 自己免疫性膵炎の発症に関わる自然免疫反応

自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患の発症には T ヘルパータイプ 2 細胞、制御性 T 細胞、濾胞性ヘルパー T 細胞などの T 細胞が関与することが判明しているが、自然免疫反応については明らかになっていない<sup>2</sup>。我々は腸管粘膜に IgG4 陽性細胞が数多く浸潤した IgG4 関連型自己免疫性膵炎の症例を経験した。消化管粘膜は腸内細菌に絶えず曝露されていることから、腸内細菌に対する免疫反応が本疾患の発症に関与する可能性が示唆された<sup>22</sup>。興味深いことに、本症例の末梢血単核球は腸内細菌由来抗原で刺激した際に、大量の IgG4 を産生した。その効果は T helper type 2 (TH2) 型サイトカインの亢進と TH1 型サイトカインの抑制を伴っていた<sup>22</sup>。この症例の経験を契機に、我々は腸内細菌に対する自然免疫反応という観点から自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患の病態解明を目指した。

IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者の末梢血単核球を用いた解析により、本疾患の末梢血免疫細胞は Toll-like receptor (TLR) ligands 及び NOD-like receptor ligands に反応して、大量の IgG4 を産生することが明らかになった<sup>23</sup>。さらに、末梢血単核球を T 細胞、単球、B 細胞の各分画に分離し、様々な組み合わせで培養したところ、単球に発現する自然免疫反応受容体 NOD2 が活性化されると T 細胞非依存性に B 細胞が IgG4 産生形質細胞へと分化する

ことが判明した<sup>23</sup>。さらに、B 細胞による IgG4 の産生には単球の産生する B cell activating factor (BAFF) が必要であることも見出した<sup>23</sup>。興味深いことに、IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者の末梢血単球は腸内細菌由来抗原の存在下で健常人の B 細胞を IgG4 産生形質細胞へと分化させた。同様の現象は IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者の末梢血好塩基球にも確認された<sup>24</sup>。IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者の末梢血免疫細胞を用いたこれらの結果は自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患の病態に自然免疫反応が関与することを最初に証明したものである。しかしながら、自己免疫性膵炎の炎症局所で起こっている免疫反応についてはアプローチできなかった。

### 形質細胞様樹状細胞の活性化と自己免疫性膵炎

自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患の膵臓局所における免疫反応を解明するためには適切なモデル動物が必要である。MRL/MpJ マウスに polyinosinic-polycytidylic acid (poly (I:C)) を繰り返して投与することにより、腺房構造の破壊、炎症細胞の浸潤、線維化を伴う自己免疫性膵炎を誘導することができる。本モデルでは IgG4 関連疾患の好発臓器である唾液腺にも慢性炎症が生じることが分かっており、ヒトの自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患の病態を解明する上で有用なモデルであると考えられる<sup>25</sup>。この自己免疫性膵炎モデルの発症機序は明らかになっていなかったが、我々は本モデルマウスの膵臓には形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cells, pDCs) が集積することを見出した<sup>26</sup>。pDCs は I 型 IFN (IFN- $\alpha$ ) の産生に特化した特殊なタイプの樹状細胞である<sup>27</sup>。このモデルにおける自己免疫性膵炎の発症は pDCs の除去または I 型 IFN 経路の中和により、抑制された<sup>26</sup>。さらに、自己免疫性膵炎モデルマウスの膵臓では IL-33 の発現上昇が認められ、IL-33 経路の中和により自己免疫性膵炎の発症は有意に抑制された<sup>28</sup>。膵臓から pDCs を分離し、産生するサイトカインを調べたところ、pDCs が I 型 IFN と IL-33 の双方を産生することが明らかになった<sup>28</sup>。さらに、pDCs は自らが産生する I 型 IFN に反応して、IL-33 を産生することも判明した。

I 型 IFN, IL-33, BAFF を産生する pDCs が IgG4 関連型自己免疫性膵炎の膵臓局所に存在することが確認された<sup>26,28</sup>。また、IgG4 関連型自己免疫性膵炎患者の末梢血 pDCs は B 細胞を I 型 IFN 依存性に IgG4 陽性形質細胞へと分化させることも確認された<sup>26,28</sup>。これらの結果から「pDCs が産生する I 型 IFN (IFN- $\alpha$ ) と IL-33」が自己免疫性膵炎の

発症に関わる自然免疫反応であることが明らかになった。

### おわりに

膵臓の慢性炎症性疾患である慢性膵炎と自己免疫性膵炎の発症に関わる自然免疫反応について解説した。慢性膵炎・自己免疫性膵炎ともに I 型 IFN-IL-33 経路の活性化を基盤に発症することが明らかになった (図 1)。しかしながら、I 型 IFN と IL-33 を産生する細胞が異なっており、慢性膵炎では膵臓腺房細胞が、自己免疫性膵炎では形質細胞様樹状細胞がこれらのサイトカインを産生する。慢性膵炎と自己免疫性膵炎の臨床病型は異なる点が多いにも関わらず、共通のサイトカイン反応を背景に発症することは非常に興味深い。産生細胞の違いによる臨床病型の差異発現のメカニズム解明が今後の課題である。また、今回の成果は I 型 IFN-IL-33 経路が慢性膵疾患の新規治療標的として有望であることを示唆している。慢性膵炎及び自己免疫性膵炎ともに病態生理の理解に基づいた根治療法は開発されていないため、本知見の臨床応用が期待される。

### 文 献

1. Watanabe T, et al. (2017) Immunopathogenesis of pancreatitis. *Mucosal Immunol* 10: 283-298.
2. Watanabe T, et al. (2018) Mechanistic Insights into Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Disease. *Trends Immunol* 39: 874-889.
3. Braganza JM, et al. (2011) Chronic pancreatitis. *Lancet* 377: 1184-1197.
4. Saluja AK, et al. (2007) Why does pancreatic overstimulation cause pancreatitis? *Annu Rev Physiol* 69: 249-269.
5. Whitcomb DC. (2010) Genetic aspects of pancreatitis. *Annu Rev Med* 61: 413-424.
6. Ji B, Logsdon CD. (2011) Digesting new information about the role of trypsin in pancreatitis. *Gastroenterology* 141: 1972-1975.
7. Sah RP, et al. (2013) Cerulein-induced chronic pancreatitis does not require intra-acinar activation of trypsinogen in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 1076-1085 e2.
8. Dawra R, et al. (2011) Intra-acinar trypsinogen activation mediates early stages of pancreatic injury but not inflammation in mice with acute pancreatitis. *Gastroenterology* 141: 2210-2217 e2.
9. Watanabe T, et al. (2010) NOD1 contributes to mouse host defense against *Helicobacter pylori* via induction of

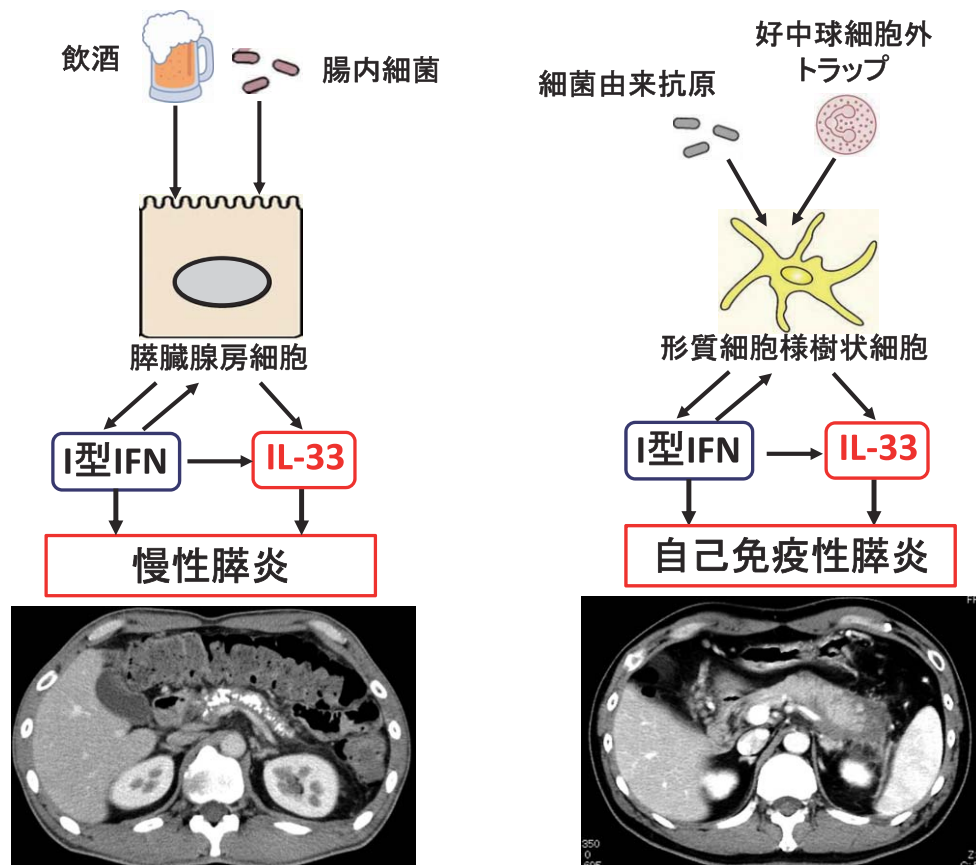


図 1 慢性膵炎と自己免疫性膵炎の発症に関わる自然免疫反応

- type I IFN and activation of the ISGF3 signaling pathway. *J Clin Invest* 120: 1645–1662.
10. Watanabe T, et al. Nucleotide-binding oligomerization domain 1 and gastrointestinal disorders. (2017) *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 93: 578–599.
  11. Tsuji Y, et al. (2012) Sensing of Commensal Organisms by the Intracellular Sensor NOD1 Mediates Experimental Pancreatitis. *Immunity* 37: 326–338.
  12. Watanabe T, et al. (2016) Nucleotide-binding oligomerization domain 1 acts in concert with the cholecystokinin receptor agonist, cerulein, to induce IL-33-dependent chronic pancreatitis. *Mucosal Immunol* 9: 1234–1249.
  13. Cayrol C, et al. (2014) IL-33: an alarmin cytokine with crucial roles in innate immunity, inflammation and allergy. *Curr Opin Immunol* 31C: 31–37.
  14. Stone JH, et al. (2012) IgG4-related disease. *N Engl J Med* 366: 539–551.
  15. Kamisawa T, et al. (2015) IgG4-related disease. *Lancet* 385: 1460–1471.
  16. Okamoto A, et al. (2019) Recent Updates on the Relationship between Cancer and Autoimmune Pancreatitis. *Internal Medicine* (in press).
  17. Shiokawa M, et al. (2013) Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 108: 610–617.
  18. Aalberse RC, et al. (2009) Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin Exp Allergy* 39: 469–477.
  19. Shiokawa M, et al. (2016) Pathogenicity of IgG in patients with IgG4-related disease. *Gut* 65: 1322–1332.
  20. Shiokawa M, et al. (2018) Laminin 511 is a target antigen in autoimmune pancreatitis. *Sci Transl Med*; 10.
  21. Hubers LM, et al. (2018) Annexin A11 is targeted by IgG4 and IgG1 autoantibodies in IgG4-related disease. *Gut* 67: 728–735.
  22. Akitake R, et al. (2010) Possible involvement of T helper type 2 responses to Toll-like receptor ligands in IgG4-related sclerosing disease. *Gut* 59: 542–545.
  23. Watanabe T, et al. (2012) Activation of Toll-like Receptors and NOD-like Receptors Is Involved in Enhanced IgG4 Responses in Autoimmune Pancreatitis. *Arthritis & Rheumatism* 64: 914–924.
  24. Watanabe T, et al. (2013) Toll-like receptor activation in basophils contributes to the development of IgG4-related disease. *J Gastroenterol* 48: 247–253.
  25. Kamata K, et al. (2018) Autoimmune Pancreatitis Mouse Model. *Curr Protoc Immunol* 120: 15 31 1–15 31 8.
  26. Arai Y, et al. (2015) Plasmacytoid Dendritic Cell Activation and IFN-alpha Production Are Prominent Features of Murine Autoimmune Pancreatitis and Human IgG4-Related Autoimmune Pancreatitis. *J Immunol* 195: 3033–3044.
  27. Ganguly D. (2018) Do Type I Interferons Link Systemic Autoimmunities and Metabolic Syndrome in a Pathogenetic Continuum? *Trends Immunol* 39: 28–43.
  28. Watanabe T, et al. (2017) Chronic Fibro-Inflammatory Responses in Autoimmune Pancreatitis Depend on IFN-alpha and IL-33 Produced by Plasmacytoid Dendritic Cells. *J Immunol* 198: 3886–3896.