

### C. 研究結果

#### 1) 膵内蛋白含量および膵内アミラーゼ含量

膵内蛋白含量の推移を図2に示す。DBTC膵炎群では14日目、28日目にはそれぞれ $50.9 \pm 14.0$ 、 $42.3 \pm 4.1$  mg/g pancreasと対照群に比し低下を認めたが、mMCP-1投与群では $71.4 \pm 5.9$ 、 $74.2 \pm 5.0$  mg/g pancreasと有意な改善を認めた。膵内アミラーゼ含量(図3)はDBTC膵炎群では14日目、28日目にはそれぞれ $5444.1 \pm 789.0$ 、 $4516.4 \pm 168.1$  SU/g pancreasと対照群に比し低下を認めたが、mMCP-1投与群では $13187.8 \pm 1144.9$ 、 $19414.9 \pm 1783.2$  SU/g

pancreasと有意な改善を認めた。

#### 2) 組織学検討

DBTC膵炎群では14日目には、単核球を中心とした炎症細胞浸潤、線維化が認められ、一部導管形成および脂肪変性が認められた(図4A)。28日目には膵腺房細胞の脱落、変性が著明となり、線維化は進行した(図4B)。一方、mMCP-1治療群では14日目(図4C)に軽度の炎症細胞浸潤認められたが、28日目(図4D)にはほぼ正常の組織像を示した。組織のまとめを図5に示すが、mMCP-1投与群では各因子において有意な改善を認めた。また、線維化の程度

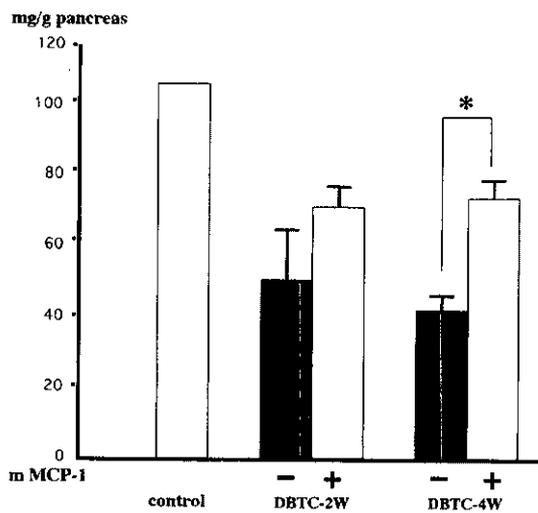


図2. DBTC慢性膵炎に対するmMCP-1の膵内蛋白含量に対する効果

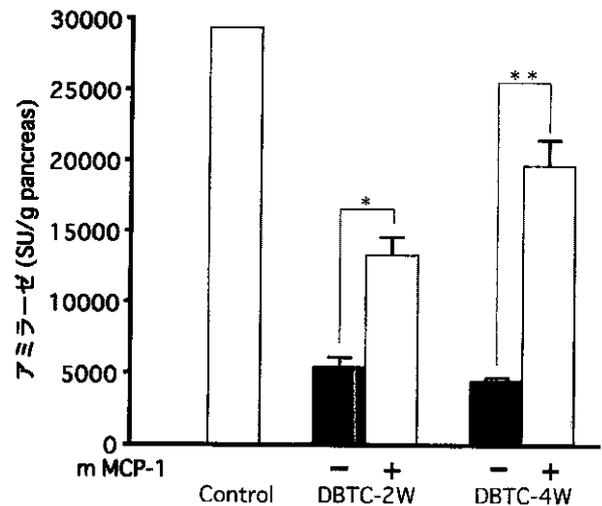


図3. DBTC慢性膵炎に対するmMCP-1の膵内アミラーゼ含量に対する効果

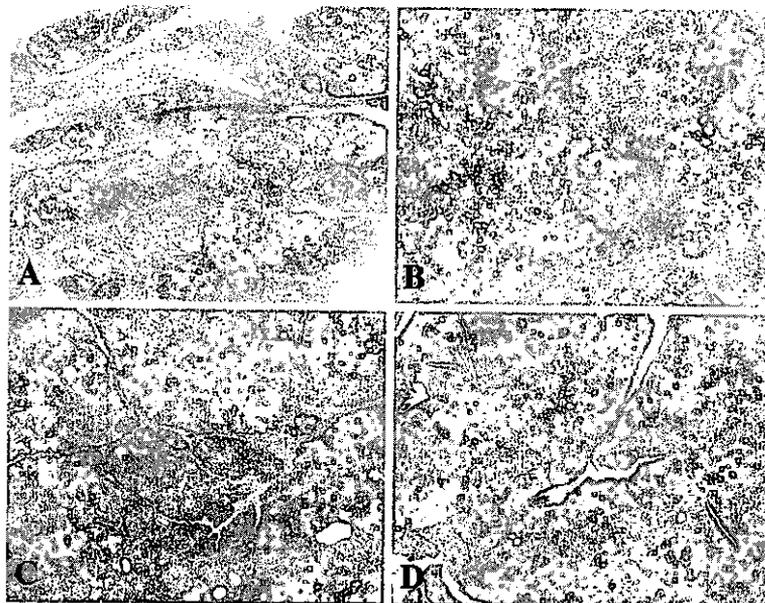


図4. DBTC慢性膵炎に対するmMCP-1投与による膵組織の変化 (HE染色)  
 A: DBTC慢性膵炎14日目 B: DBTC慢性膵炎28日目  
 C: mMCP-1治療群14日目 D: mMCP-1治療群28日目

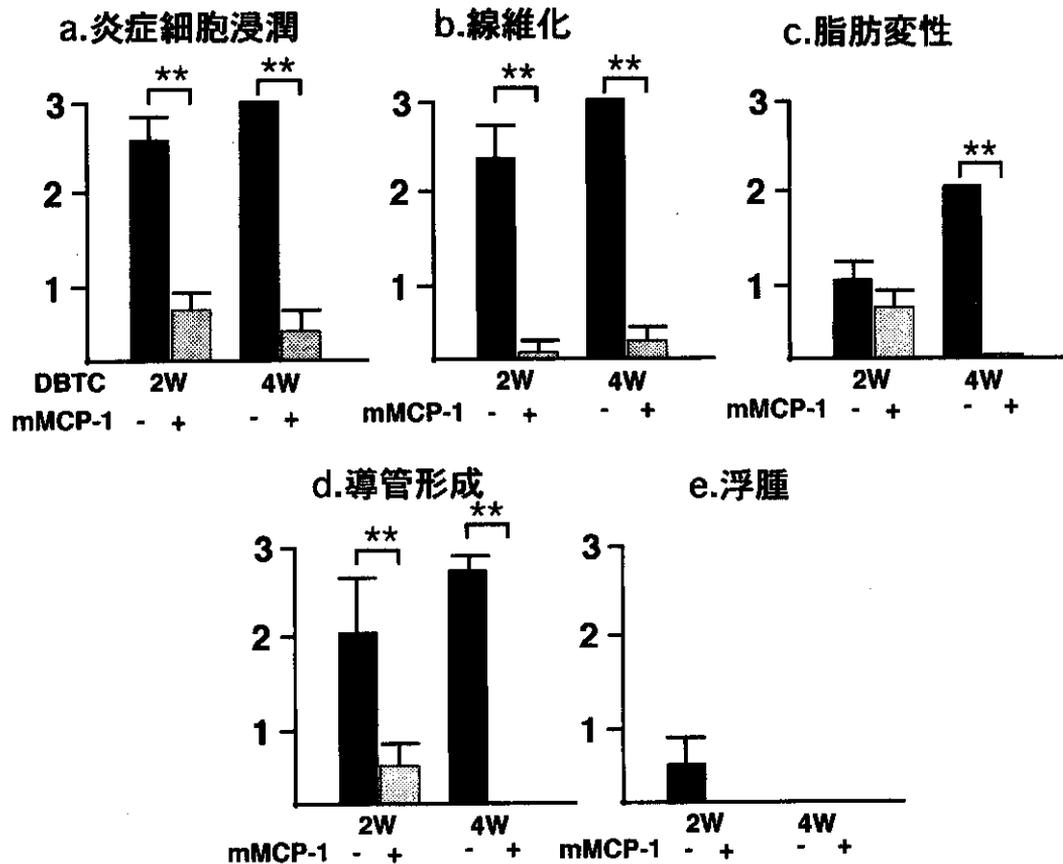


図5. 組織のまとめ

を検討するためにアザン染色をおこなったがDBTC膵炎群28日目には広範囲に染色が認められたが、mMCP-1投与群ではほとんど認められなかった。さらに、膵星細胞の活性化の指標として $\alpha$ SMA染色もおこなったが、DBTC膵炎群28日目には線維化に一致して広範囲に染色が認められたが、mMCP-1投与群ではほとんど認められなかった。

### 3) 遺伝子的検討

DBTC膵炎群ではMCP-1、PDGFおよびTGF- $\beta$  mRNAの発現は14日目、28日目に認められた。MCP-1 mRNAの発現は14日目がピークであった。一方、PDGFおよびTGF- $\beta$  mRNAの発現はMCP-1 mRNAの発現に遅れ28日目にピークが認められた。mMCP-1治療群ではそれぞれ発現の程度は抑制された。

### D. 考察

慢性膵炎は膵の実質の変性・脱落、間質の慢性の線維化および炎症細胞浸潤を主体とする疾患で、一般に反復する疼痛で始まり次第に膵内外分泌能が

低下する疾患である。臨床経過は、膵機能が比較的保たれ血中膵酵素の上昇を伴い上腹部痛や背部痛が主症状の代償期、膵組織の荒廃が進み、腹痛は軽減するものの膵内外分泌能不全により消化吸収障害や膵性糖尿病が主症状となる非代償期、その中間の移行期に分類される。治療に関しては成因と病期から病態を把握し適切な治療を選択しなければならないが、診断が得られれば早期に治療を行い、膵線維化の進展を抑えることが必要と考えられる<sup>9)</sup>。

最近、Sparmannら<sup>9)</sup>はDBTCをラット尾静脈に投与することで膵線維化モデルと成り得ることを報告した。さらに、我々は溶媒および投与経路を変えることにより、安定した膵線維化モデルの作成に成功し、また慢性膵炎モデルとして有用であることを報告した<sup>2)</sup>。このモデルではDBTC投与3日目までは浮腫性の急性膵炎の所見を呈し、組織学的には膵に顆粒球優位の炎症細胞浸潤が認められる。その後、7日目には単球優位の炎症細胞浸潤に変化し、その時期にはじめて線維化が出現する。そこで、我々は主に単球・マクロファージを炎症部位に遊走作用を持つMCP-1に注目し検討をおこなったが、MCP-1

は膵線維化に重要な役割を担っており、特に遺伝子レベルでの検討では線維化の増殖因子である PDGF や TGF- $\beta$  の発現の前に MCP-1 mRNA の発現が認められ、線維化初期段階の profibrogenic factor であると報告した<sup>2)</sup>。他の慢性膵炎モデル(WBN/Kob rat)においても MCP-1 が膵線維化に関与していることが報告されている<sup>3)</sup>。さらに我々の未発表のデータでは、膵星細胞に LPS で刺激すると濃度依存性に MCP-1 が産生されており、膵腺房細胞、単球のみならず膵星細胞においても MCP-1 が放出され膵線維化の関与が示唆され、MCP-1 は慢性膵炎の進展に強く関与していると考えられる。

本研究では DBTC 慢性膵炎の発症と膵線維化における MCP-1 の関与を検討する目的にて、内因性 MCP-1 と競合する mMCP-1 を作成し、ラット DBTC 慢性膵炎に対する mMCP-1 の効果を検討した。今回用いた mMCP-1 は MCP-1 の N 末端のアミノ酸 7 個を欠損させたもの<sup>6)</sup>で、大腿筋を用いた Northern Blot 法および血清を用いた Western Blot 法においても 3 日後にその発現が最強となり 7 日目まで持続し、28 日目にはほぼ消失する<sup>7)</sup>。そのため、線維化が出現する 7 日目の MCP-1 を block すべく、その 3 日前に mMCP-1 の投与をおこなった。さらにその操作を 1 週間毎におこなった(図 1)。その結果、DBTC 慢性膵炎で低下した膵内蛋白含量およびアミラーゼ含量は改善を認め、膵外分泌能を保持できたと考えられる。また、組織学的にも著明な改善を示し、膵線維化の程度のみならず、膵星細胞の活性化の指標である  $\alpha$ SMA 染色においても改善を示しており、慢性膵炎の進展に MCP-1 が関与していることが示唆された。現在、遺伝子レベルで MCP-1、IL-6、IL-1 $\beta$  などのサイトカインおよび PDGF、TGF- $\beta$  などの線維化増殖因子の発現への効果について詳細な検討をおこなっている。慢性膵炎に対して mMCP-1 による遺伝子治療の臨床応用への可能性も示唆されるが、今後の詳細な検討が必要と考えられる。

## E. 結論

DBTC 慢性膵炎に対する dominant negative MCP-1 agonist (mutant MCP-1) の効果を検討した。mMCP-1 投与にて酵素学的にも組織学的にも改善を認め、MCP-1 は慢性膵炎の進展に関与していることが示唆された。また、mMCP-1 による慢性膵炎の遺伝子治療への可能性が示唆された。

## F. 参考文献

- 1) Saurer L, Reber P, Schaffner T, Bühler MW, Buri C, Kappeler A, Walz A, Friess H, Mueller C. Differential expression of chemokines in normal pancreas and in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000; 118: 356-67.
- 2) Inoue M, Ino Y, Gibo J, Ito T, Hisano T, Arita Y, Nawata H. The role of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental chronic pancreatitis model induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2002; 25: e64-e70.
- 3) Sparmann G, Merckord J, Jäschke A, Nizze H, Jonas L, Löhr M, Liebe S, Emmrich J. Pancreatic fibrosis in experimental pancreatitis induced by dibutyltin dichloride. *Gastroenterology* 1997; 112: 1664-72.
- 4) 伊藤鉄英. 慢性膵炎の内科的治療. *臨牀と研究* 2001; 78: 579-80.
- 5) Xie M-J, Motoo Y, Su S-B, Mouri H, Sawabu N. Induction of chemokines in rat pancreatic acinar cell injury. *Pancreas* 2002; 24: 198-204.
- 6) Zhang Y, Rollins BJ. A dominant negative inhibitor indicates that monocyte chemoattractant protein 1 functions as a dimer. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 4851-5.
- 7) Egashira K, Koyanagi M, Kitamoto S, Ni W, Kataoka C, Morishita R, Kaneda Y, Akiyama C, Nishida KI, Sueishi K, Takeshita A. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy inhibits vascular remodeling in rats: blockade of MCP-1 activity after intramuscular transfer of a mutant gene inhibits vascular remodeling induced by chronic blockade of NO synthesis. *FASEB J* 2000; 14: 1974-8.

## G. 健康危険情報

該当なし

## H. 研究発表

1. 論文発表 該当なし

2. 学会発表

- 1) 石橋俊明, 伊藤鉄英, 河辺 顕, 有田好之,

久野晃聖, 井上直子, 小島瑞穂, 宜保淳也,  
江頭健輔, 大神吉光, 明石哲郎, 名和田新.  
各種急性膵炎モデルにおける mutant MCP-  
1 の効果. 第88回日本消化器病学会総会  
旭川 2002年4月

2) 宜保淳也, 伊藤鉄英, 久野晃聖, 井上正伸,  
有田好之, 河辺 顕, 小島瑞穂, 井上直子,  
明石哲郎, 名和田新. DBTC 慢性膵炎モデル  
における Camostat Mesilate 投与による  
治療効果の検討. 第88回日本消化器病学会  
総会 旭川 2002年4月

3) 宜保淳也, 伊藤鉄英, 名和田新. 慢性膵炎線  
維化におけるケモカインおよびサイトカイン  
の関与と comostat mesilate の治療効果.  
第33回日本膵臓学会大会 (ワークショップ)  
仙台 2002年9月

#### 1. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

### Ⅲ. 自己免疫性膵炎

#### 1) 共同研究プロジェクト

# 自己免疫性膵炎の疫学調査、自己免疫性疾患に合併する慢性膵炎の実態調査、自己免疫性膵炎の発症機序の解明と治療指針の作成

分担研究者 西森 功 高知医科大学第一内科 助手

## 【研究要旨】

自己免疫性膵炎は新しい疾患概念であり、その病態には不明な点が多い。本研究では自己免疫性膵炎の全国調査(一次調査)を行い受療者数を推計する。さらに、診断基準を満たさない症例(いわゆる疑診例)や他の自己免疫疾患に合併した慢性膵炎症例についても一次調査を行う。これらの症例の臨床像について二次調査を行い、自己免疫性膵炎の病態を明らかにすると共に、現在提唱されている診断基準の検証と改訂、治療についてのガイドラインの策定をめざす。

## A. 研究目的

膵腫大と膵管狭細像を示す膵炎症例に対し、ステロイド治療の奏効することが報告され、膵管狭細型膵炎として注目されるようになった<sup>1)</sup>。これらの症例では膵実質内に線維化とリンパ球および形質細胞の浸潤が認められ<sup>2)</sup>、血液検査で血中 $\gamma$ グロブリンやIgG値の上昇、抗核抗体が陽性を示すことより<sup>3)</sup>、自己免疫性膵炎(autoimmune pancreatitis)の疾患概念が提唱されている。また、2002年には日本膵臓学会から自己免疫性膵炎の臨床診断基準が発表され<sup>4)</sup>、本疾患概念はひろく認知されつつある。しかし、本症には未だ不明の点が多く、現在提唱されている診断基準も膵癌との鑑別に重点をおいた minimal consensusとしての性格が強いため、多数の症例による臨床像の解析と病態の解明が望まれている。

こういった状況を背景に、平成11-13年度本研究班(班長:小川道雄)ではいわゆる自己免疫性膵炎の実態調査を行い、基本的な臨床像について検討してきた<sup>5-9)</sup>。本調査研究では既に提示された診断基準をもとに、自己免疫性膵炎の全国調査(一次調査)を行い、患者数と受療者数を推計する。また、自己免疫性膵炎の診断基準を満たさないが同疾患が疑われる膵炎症例(いわゆる疑診例)、あるいは他の自己免疫性疾患に合併した慢性膵炎症例についても全国調査を行う。これらの症例の臨床像について二次調査を行い、自己免疫性膵炎の診断における問題点と合併する病態を明らかにする。また、前研究班では検討が不充分であった治療と予後についても詳細な調査を行い、ステロイド治療の適応と投与方法について、より適切なガイドラインの構築をめざす。

## B. 研究方法

### 1. 調査項目

平成14年1月1日から12月31日の1年間に医療機関を受診した膵炎症例(新規症例、継続療養症例を含む)につき、次の項目に該当する症例数を調査する。

- ①日本膵臓学会による自己免疫性膵炎診断基準(2002年)を満たす自己免疫性膵炎症例
- ②日本膵臓学会による自己免疫性膵炎診断基準(2002年)は満たさないが自己免疫性膵炎と考えられる慢性膵炎症例
- ③上記以外で自己免疫疾患(膠原病)に合併した慢性膵炎症例  
さらに、次の項目を満たす症例についても調査を行う。
- ④平成5年1月1日から平成14年12月31日の過去10年間において日本膵臓学会による自己免疫性膵炎診断基準(2002年)を満たす自己免疫性膵炎症例
- ⑤過去1年間の慢性膵炎症例(確診、準確診で自己免疫性膵炎を含まない)

### 2. 調査対象と方法

調査対象は全国の内科(消化器科を含む)、外科(消化器外科を含む)を標榜する診療科で層化無作為抽出法による調査を行う。抽出層は大学附属病院、一般病院500床以上、400-499床、300-399床、200-299床、100-199床、99床以下で、抽出率はそれぞれ、100%、100%、80%、40%、20%、10%、5%とする(表1)。特に患者が集中すると考えられる病院は特別階層病院として、全病院を調査対象とする。

調査は郵送法で第一次調査と第二次調査からなる。第一次調査は2003年1月24日に往復葉書にて依頼状、日本膵臓学会による自己免疫性膵炎診断基準

表1 自己免疫性膵炎全国調査対象病院

階層	対象診療科	抽出率 (%)	調査診療科
大学病院	340	100	340
特別階層病院	7	100	7
500床以上	709	100	709
400-499床	571	80	457
300-399床	1,147	40	459
200-299床	1,698	20	340
100-199床	3,919	10	392
99床以下	5,344	5	267
合計	13,735		2,971

(2002年)、調査票を対象科に発送した(調査票1、2)。同年3月31日を解答期限とし、期限までに返送のなかった診療科には2003年4月中に再度依頼を行う。第一次調査で「患者なし」と報告のあった診療科には礼状を出し、「患者あり」と報告のあった診療科には、依頼状と第二次調査票(患者個人票)を随時送付する。なお、第一次調査による受療患者数の推計には、難病の疫学調査班サーベイランス分科会の提唱する全国疫学調査マニュアル<sup>9)</sup>を用いる。また、調査は「疫学研究に関する倫理指針」(平成14年6月17日文科科学省・厚生労働省 平成14年7月1日施行)に従う。

### C. 研究結果と考察

本調査研究では一次調査票を既に発送し、現在各診療科からの解答を待っている。二次調査票(個人調査票)は草案を作製し、各委員の先生方の意見集約により最終調査票を作製中である。

二次調査と解析に際し重要と考えられる項目として、自己免疫性膵炎を取り巻く問題点を表2に列挙

した。まず、画像診断に際し具体的な膵管狭細像の基準と膵腫大の定義が可能な限り必要である。治療前に明らかな膵腫大と判断されない症例でも、ステロイド投与により膵臓の腫大が改善し、治療後にはむしろ膵萎縮を示す症例が報告されている。また、現在の診断基準では血清学的異常の参考値が示されているが、多数の自己免疫性膵炎例の解析によるエビデンスの呈示が必要である。さらに、現在の診断基準では膵癌を除外するため、膵管狭細像は膵臓全体の1/3以上を占めることが要件とされているが、明らかに自己免疫性膵炎と考えられる症例でも膵管狭細像が1/3以下の症例や膵管途絶を示す自己免疫性膵炎症例も報告されている。一方、典型的な膵画像所見を呈しながらも、血清学的異常がなく膵組織採取に同意の得られない症例でも、ステロイド投与により臨床症状の改善をみる症例がある。また、まれではあるが膵石や膵管拡張を示す自己免疫性膵炎症例が報告されている。これら現在の診断基準を満たさないが自己免疫性膵炎と考えられる症例に対し、疑診群の設定を考慮する必要がある。

自己免疫性膵炎に合併する病態として後腹膜線維症が知られているが、その他の臓器に線維化をきたす疾患、すなわち縦隔あるいは眼窩の線維症、リーデル甲状腺炎の合併の有無と共通する病態の把握が必要である。また、自己免疫性膵炎の炎症巣に連続し、膵内胆管壁に膵臓と同様の病変が存在することが知られている。これらの胆管病変は自己免疫性膵炎に出現する一連の病変と考えられているが、膵病変と連続しない胆管、すなわち肝門部胆管や肝内胆管に狭窄像と組織学的炎症巣のみられる症例がある。これら胆管病変はステロイド治療に良好な反応を示すことより、いわゆる原発性硬化性胆管炎とは

表2 自己免疫性膵炎の診断と治療における問題点

1. 診断
(1)膵管狭細像の具体的な基準
(2)膵腫大の定義
(3)血清学的異常の具体的な呈示
(4)疑診群設定の必要性
2. 合併症
(1)後腹膜線維症を含む全身性線維症の合併
(2)自己免疫性膵炎に合併する胆管病変と原発性硬化性胆管炎との異同
3. 治療
(1)自然緩解例の臨床的特徴
(2)ステロイドの投与方法：初期量、漸減方法、維持量、中止時期
(3)再燃時のステロイドの投与方法
(4)膵内外分泌機能に与えるステロイド治療の影響

## 調査票1

### 自己免疫性膵炎の全国調査のご依頼

拝啓

向春の候、先生方におかれましては益々ご健勝のこととお慶び申し上げます。

さて、私も厚生労働省特定疾患対策研究事業の難治性膵疾患に関する調査研究班では、調査研究の一環として、従来より膵炎の全国調査を行っております。ご承知のように、近年、膵腫大と膵管狭細像を呈し、ステロイド剤が奏効する膵炎症例が自己免疫性膵炎として報告されるようになりました。2002年末には日本膵臓学会より診断基準が初めて策定されましたが（下記をご参照ください）、本症は新しい疾患概念であり、その診断には依然として不明な点も多く、また治療指針も明確なものはありません。

これらの実状をふまえ、私ども研究班では自己免疫性膵炎の全国調査を行い、同症の罹患率、受療患者数を推計すると共に、新しく作成された診断基準の検定と治療指針ガイドラインの策定を計画しています。本調査研究の意図をお汲み頂き、ご協力のほど宜しくお願い申し上げます。

先生方ならびに貴施設の益々のご活躍をお祈り申し上げます。

敬具

平成15年1月吉日

厚生労働省特定疾患対策研究事業  
難治性膵疾患に関する調査研究班  
班長：大槻 真（産業医科大学第三内科）  
分担研究者：西森 功（高知医科大学第一内科）  
〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮  
Tel & Fax : 088-880-2338  
e-mail : nisao@kochi-ms.ac.jp

#### \*日本膵臓学会による自己免疫性膵炎診断基準（要約）

- ①膵画像検査によって得られた膵管像で特徴的な主膵管狭細像を膵全体の1/3以上の範囲で認め、さらに膵腫大を認める。
- ②血液検査で高γグロブリン血症(>2 g/dL)、高IgG血症(>1,800 mg/dL)、自己抗体(抗核抗体、リウマチ因子)のいずれかを認める。
- ③病理組織学的所見として膵にリンパ球、形質細胞を主とする著明な細胞浸潤と線維化を認める。

上記①を含んで2項目以上満たす症例を自己免疫性膵炎と診断する。なお、詳しくは膵臓学会ホームページ(<http://www.kojin.or.jp/suizou/index.html>)をご参照ください。

## 調査票2

厚生労働省特定疾患対策研究事業  
難治性膵疾患に関する調査研究班

### 自己免疫性膵炎の全国調査：一次調査票

御所属： \_\_\_\_\_ 病院 \_\_\_\_\_ 科

御氏名： \_\_\_\_\_

御住所： 〒 \_\_\_\_\_

記載年月日：平成15年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

お手数ですが、過去1年間（平成14年1月1日～平成14年12月31日）に貴科を受診された膵炎症例（新規症例、継続療養症例を含む）につき、以下の質問事項にお答えください。

- ① \*診断基準を満たす自己免疫性膵炎症例  
なし、あり（症例数 \_\_\_\_\_ 人）
- ② \*診断基準は満たさないが自己免疫性膵炎と考えられる膵炎症例  
なし、あり（症例数 \_\_\_\_\_ 人）
- ③ 上記以外で自己免疫性疾患（膠原病）に合併した慢性膵炎症例  
なし、あり（症例数 \_\_\_\_\_ 人）
- ④ 平成5年1月1日～平成14年12月31日（過去10年間）における \*診断基準を満たす自己免疫性膵炎症例  
なし、あり（男性 \_\_\_\_\_ 人、女性 \_\_\_\_\_ 人）
- ⑤ 過去1年間の慢性膵炎症例（確診、準確診例で自己免疫性膵炎を含まない）  
なし、あり（男性 \_\_\_\_\_ 人、女性 \_\_\_\_\_ 人）

#### 記入上の注意事項

- \* 1. 日本膵臓学会による自己免疫性膵炎診断基準(2002年)  
(往信はがきの要約、詳しくは日本膵臓学会ホームページをご参照ください。)
2. 後日、各症例について二次調査を行いますので御協力お願いいたします。
3. 平成15年3月31日までにご返送頂きますようお願いいたします。

御協力ありがとうございました。

異なる病態の可能性がある。ステロイド治療に反応しない、いわゆる原発性硬化性胆管炎と自己免疫性膵炎に合併する胆管病変の異同について検討が必要である。

治療に際しステロイド治療なしで自然緩解する例のあることより、自然緩解例の臨床的特徴の把握とステロイド治療の適応基準の設定が望まれる。また、2002年の本膵臓学会の診断基準には、治療指針の概略としてステロイドの投与が附記されているが、再燃時の投与方法を含め、より多数例における初期量、漸減方法、維持量、中止時期の検討が望まれる。また、ステロイド治療により糖尿病の悪化する例、あるいは改善する例が報告されているが、外分泌機能と併せ、ステロイド治療の膵機能に与える影響の把握が望まれる。

#### D. 参考文献

- 1) 土岐文武, 岩部千佳, 今泉俊秀. 膵管狭細型慢性膵炎の概念. 胆と膵 1997; 18: 411-9.
- 2) 須田耕一, 高瀬 優, 福村由紀. 自己免疫性膵炎

診断基準の解説 3.病理診断. 膵臓 2002; 17: 611-4.

- 3) 川 茂幸, 浜野英明. 自己免疫性膵炎診断基準の解説 2. 血清学的診断. 膵臓 2002; 17: 607-10.
- 4) 日本膵臓学会. 日本膵臓学会自己免疫性膵炎診断基準2002年. 膵臓 2002; 17: 585-7.
- 5) 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 小川道雄. いわゆる自己免疫性膵炎の実体調査－膵組織の得られた症例における病理学的所見の検討－. 厚生省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班 平成11年度研究報告書 2000: 56-65.
- 6) 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 小川道雄. いわゆる自己免疫性膵炎の実体調査－ステロイド剤が奏効した症例における臨床像の検討－. 厚生労働省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書 2001: 72-83.
- 7) 須田耕一, 西森 功, 大井 至, 小川道雄. いわ

ゆる自己免疫性膵炎の臨床病理学的検討. 厚生労働省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書 2001: 84-91.

- 8) 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 小川道雄. いわゆる自己免疫性膵炎の実体調査－膵癌およびアルコール性慢性膵炎との対比－. 厚生労働省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班 平成13年度研究報告書 2002: 100-10.
- 9) 橋本修二. 全国疫学調査に基づく患者数の推計方法. 大野良之編. 難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル. 名古屋: 厚生省特定疾患難病の疫学調査班 1994: 12-24.

#### **E. 健康危険情報**

該当なし

#### **F. 研究発表**

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

### Ⅲ. 自己免疫性膀胱炎

#### 2) 各個研究プロジェクト

# 炭酸脱水酵素アイソザイムⅣ遺伝子組み換え蛋白の作製と 自己免疫性膵炎における血中抗体の測定

分担研究者 西森 功 高知医科大学第一内科 助手

## 【研究要旨】

自己免疫性膵炎における自己免疫応答の標的抗原の解明のため、炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase; CA) アイソザイムに対する血中抗体の測定を行った。

まず、膵臓において発現の確認されている4種類のCAアイソザイム(Ⅱ, Ⅳ, Ⅸ, Ⅻ)を用い、Western blot法で血中抗体のスクリーニングを行った。その結果、既報のごとくCAⅡに対する血中抗体が自己免疫性膵炎を含む特発性慢性膵炎80例中24例(30%)で認められた。また、CAⅣに対する血中抗体も特発性慢性膵炎80例中4例(5%)に検出された。一方、CAⅨ, CAⅫに対する血中抗体は認められなかった。さらに、CAⅣに対する血中抗体をELISA法で検討した結果、自己免疫性膵炎11例中5例(46%)で陽性結果が得られた。CAⅡがほぼすべての臓器に発現されているのに対し、CAⅣの生理的発現組織は自己免疫性膵炎と合併疾患で障害を受ける臓器スペクトラムに一致している。以上の結果より、CAⅣが自己免疫性膵炎の病態における標的抗原であり、CAⅡに対する血中抗体は抗CAⅣ抗体との交差反応の結果として検出された可能性が示された。

## 共同研究者

宮地永輝、森本香理、岡本宣人、大西三朗  
(高知医科大学第一内科)

## A. 研究目的

膵臓に対する自己免疫応答が原因と考えられる膵炎、いわゆる自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis; AIP) の疾患概念が提唱され、厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班では全国調査を行

い臨床像の解明を行っている<sup>1)</sup>。しかし、その病態はほとんど解明されておらず、自己免疫反応における膵臓の標的抗原は今だ不明である。

我々は以前より、特発性慢性膵炎の一部あるいはシェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome; SjS) 患者において、炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase) アイソザイムⅡに対する血中抗体 (抗CAⅡ抗体) が検出されることを報告してきた<sup>2)</sup>。他の施設からもAIPにおける抗CAⅡ抗体が報告されている<sup>3,4)</sup>(表1)。しかし、抗CAⅡ抗体は特発性慢性膵炎やSjS以外に

表1. 慢性膵炎における carbonic anhydrase Ⅱ に対する血中抗体

報告年	報告者(文献)	疾患	陽性/n	頻度(%)	有意差
1996	Kino-Ohsaki, et al (2)	Idiopathic CP	11/33	33.3	p<0.05
		SjS	13/21	61.9	p<0.05
		Stone-CP	0/7	0	n/s
		Alcoholic CP	3/20	15.0	n/s
		Healthy control	1/21	4.8	-
2000	Frulloni, et al (3)	CP	20/78	25.6	p<0.05
		Healthy control	1/26	7.7	-
2000	Okazaki, et al (4)	Autoimmune-P	10/17	58.8	p<0.001
		Stone-CP	0/17	0	n/s
		Alcoholic CP	0/17	0	n/s
		Healthy control	0/17	0	-

P, pancreatitis; CP, chronic pancreatitis; SjS, Sjögren's syndrome

表 2. 自己免疫性肝疾患における carbonic anhydrase II に対する血中抗体

報告年	報告者	疾患	陽性/n	頻度(%)	有意差
1995	Gordon, et al (5)	AIC	5/6	83.3	p<0.001
		PBC	1/12	8.3	n/s
		PSC	0/12	0	n/s
		AIH	1/12	8.3	n/s
		Control	0/8	0	-
1997	Muratori et al (6)	AIC	1/2	50.0	n/s
		PBC	5/20	25.0	n/s
		AIH	3/7	42.6	n/s
		Healthy control	5/20	25.0	-
1999	Akisawa, et al (7)	AIC	7/23	30.4	p<0.05
		PBC	14/40	35.0	p<0.05
		AIH	3/10	30.0	n/s
		Healthy control	1/24	4.2	-

AIC, autoimmune choangitis; PBC, primary biliary cirrhosis; PSC, primary sclerosing cholangitis; AIH autoimmune hepatitis

表 3. 膠原病その他の疾患における carbonic anhydrase II に対する血中抗体

報告年	報告者	疾患	陽性/n	頻度(%)	有意差
1991	Inagaki, et al (8)	SLE	12/38	31.6	p<0.005
		SjS	5/24	20.8	p<0.05
		Healthy control	0/20	0	-
1992	Itoh, Reichlin (9)	SLE	21/106	25.4	p<0.001
		SjS	3/24	12.5	n/s
		RA	5/28	17.9	n/s
		Polymyositis	8/28	28.6	p<0.001
		PSS	7/28	25.0	p<0.01
Healthy control	2/67	3.0	-		
1999	Ono, et al (10)	SLE	14/58	24.1	p<0.001
		SjS	3/15	20.0	p<0.02
		PSS	4/24	16.7	p<0.001
		Dermatomyositis	3/12	25.0	p<0.0001
		Healthy control	1/30	3.3	-
1994	Kiechle, et al (11)	Endometriosis	16/23	69.6	p<0.05
		Healthy control	2/17	11.8	-

SLE, systemic lupus erythematosus; SjS, Sjögren's syndrome; RA, rheumatoid artheritis; PSS, progressive systemic sclerosis

も、原発性胆汁性肝硬変や autoimmune cholangitis などの胆管病変<sup>5,7)</sup>(表 2)、全身性エリテマトーデス、多発性筋炎、皮膚筋炎、全身性進行性硬化症などの膠原病<sup>8-10)</sup>、さらには子宮内膜症にも見出される<sup>11)</sup>(表 3)。また、生理的な CA II の存在部位は外分

泌腺導管に限らず、ほぼすべての組織にあることより<sup>12)</sup>、膵特異性の点からも AIP の病態における CA II の意義には疑問があった。

本研究では「AIP では膵臓により特異性の高い他の CA アイソザイムに対する免疫応答が存在し、CA

IIに対する血中抗体はこのCAアイソザイムに対する交差反応の結果として検出された」という仮説に基づき、膵臓に発現している他のCAアイソザイムIV, IX, XIIに対する血中抗体の測定を行った。

## B. 研究方法

### 1. CAアイソザイムIV, IX, XIIに対する血中抗体のスクリーニング

膵臓に発現されているCAアイソザイムIV, IX, XIIの蛋白翻訳領域cDNAをRT-PCR法により増幅し、プラスミドベクター(pGEX-4T-2)と大腸菌(JM109)を用いた蛋白発現システムにより、Glutathione-S-transferase(GST)との遺伝子組み換え融合蛋白を作製した。同遺伝子組み換え蛋白は水に不溶であったが、sodium dodecyl sulfate(SDS)処理により可溶化されたため、Western blot法により血中抗体のスクリーニングを行った。対象はAIPを含む特発性慢性膵炎患者80人、健常人30人で、200倍希釈血清を用いた。なお、同じ蛋白発現システムを用いてGST単独蛋白を作製し、ControlとしてWestern blotを行った。GST-CAアイソザイム融合蛋白において、期待される分子量に明らかなバンドの認められる場合にのみ陽性とした。

### 2. ELISA法による血中抗CAIV抗体の測定

上記で作製した遺伝子組み換えCAIV蛋白は水に不溶であったため、N末端シグナルペプチドとC末端glycosyl-phosphatidylinositol(GPI)アンカーを缺失する蛋白を作製した。作製した蛋白は変性、refolding後に水溶化され、ELISA法により抗体を検出することが可能となった。ELISAプレートへの固相には0.625-10 $\mu$ g/mlのCAIV蛋白を用い、血清の希釈倍率は100倍とした。対象はAIP11例および健常人5人の血清を用い、抗原(+)での吸光度(optimal density at 405 nm)から抗原(-)での吸光度を差し引いた値を評価対象とした。

表4. 炭酸脱水酵素アイソザイムに対する血中抗体(Western blot法)

CAアイソザイム	特発性慢性膵炎	健常人
CA II	24/80 (30%)	3/30 (10%)
CA IV	4/80 (5%)	1/30 (3%)
CA IX	0/80	0/30
CA XII	0/80	0/30

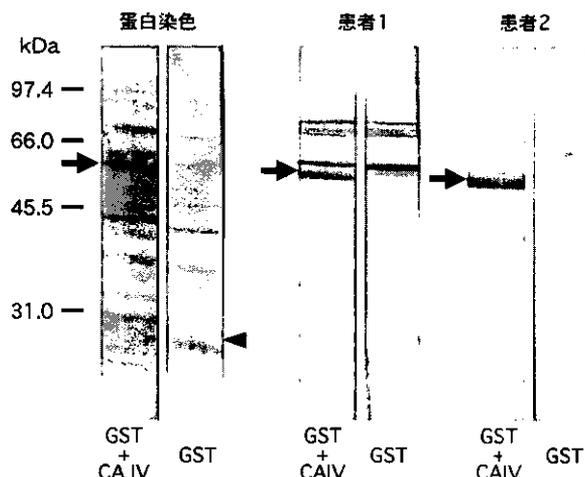


図1. Carbonic anhydrase IVに対する血中抗体(Western blotting, 矢印, GSTとCAIVの融合蛋白; 矢頭, GST蛋白)

## C. 研究結果

### 1. CAIV, IX, XIIに対する血中抗体のスクリーニング(Western blot法)

200倍希釈血清を用いWestern blot法によりCAIV, IX, XIIに対する血中抗体のスクリーニングを行った。その結果、特発性慢性膵炎患者80例中4例(5%)においてCAIVに対する血中抗体が検出された(表4)。しかし、健常人30人中1人でも同抗体が認められ、両者間に有意差はなかった。

図1にWestern blotにおける代表的な患者血清の反応プロフィールを示す。患者2ではGST-CAIV融合蛋白の分子量(約60kDa)に一致して特異的なバンドが見られた。患者1では同じ泳動位置に特異的なバンドが見られるほか、数本のバンドが認められた。しかし、これらのバンドはGST蛋白のみのプロットでも認められ、大腸菌の菌体成分に対する患者固有の血中抗体と考えられた。なお、GST蛋白(約30kDa)に対する抗体は検出されず、GST-CAIV融合蛋白に対する血中抗体はCAIVに対する免疫反応の結果生じたものであることが示された。

一方、CAIXおよびCAXIIに対する血中抗体は特発性慢性膵炎および健常人で認められなかった。なお既報のごとく<sup>2)</sup>、CAIIに対する血中抗体は特発性慢性膵炎80例中24例(30%)で認められ、健常人(30例中3例、10%)に比し有意差(p<0.05)が認められた。

### 2. CAIVに対する血中抗体の測定(ELISA法)

ELISA法により遺伝子組み換えCAIV蛋白に対する血中抗体の測定を行った。CAIV蛋白10 $\mu$ g/mlから0.625 $\mu$ g/mlまでの2倍希釈系列を作製しELISA

プレートに固相化した結果、AIPおよび健常人で良好な dose-response カーブが得られた(図2)。10  $\mu$ g/ml の CAIV 蛋白濃度において健常人 5 人の平均値および standard deviation (SD) は各々 0.042, 0.0114 であった。健常人の平均+2SD (0.0648) 以上の吸光度は AIP の 11 例中 5 例 (46%) で認められた。特に AIP の 1 例では 10  $\mu$ g/mL において健常人の mean + 9SD 以上の吸光度を示し、抗 CAIV 抗体高値と考えられた。

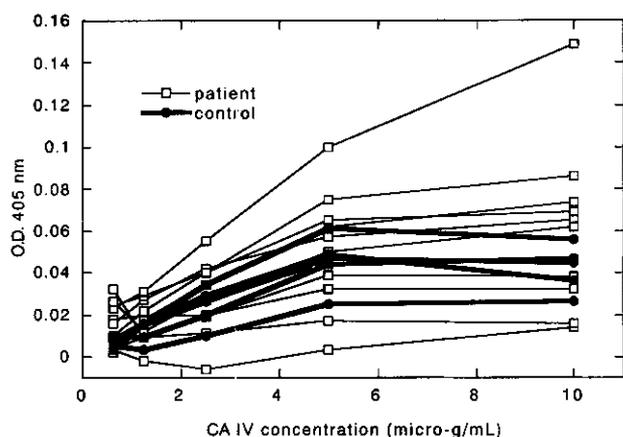


図2. Carbonic anhydrase IV に対する血中抗体 (ELISA 法)

#### D. 考察

AIP において血中抗 CA II 抗体が検出され、疾患標識マーカーとしての可能性が指摘されている<sup>2,4)</sup>。しかし、AIP の病態における CA II の意義について次の疑問点がある。(1) 同抗体は AIP や SjS のほか種々の疾患で検出され(表1-3)、健常人でも認められるという報告がある<sup>6)</sup>(表2)。(2) CA II は膵臓や唾液腺の導管以外にも、消化管上皮細胞や中枢神経系細胞など、ほぼすべての組織において発現がみられ<sup>12)</sup>、SjS などの合併症を含めても AIP の病態とは組織スペクトラムが異なる。(3) 特発性慢性膵炎や SjS では CA アイソザイム I に対する血中抗体(抗 CA I 抗体)も検出され、しかも抗 CA I 抗体と抗 CA II 抗体は CA I および CA II 蛋白による吸収試験により独立して出現することが示されている<sup>2)</sup>。これらのデータより、我々はつぎの仮説をたてた。すなわち、AIP では CA I および CA II 以外の第3の CA アイソザイムに対する免疫応答が primary に存在し、この第3の CA アイソザイムに対する血中抗体が CA I および CA II と交差反応した結果、抗 CA I 抗体と抗 CA II 抗体が検出された可能性がある(図3)。

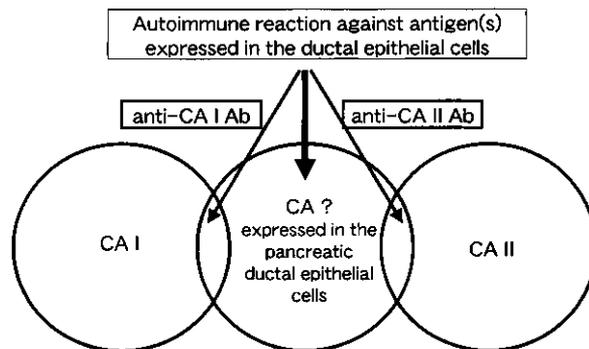


図3. 自己免疫性膵炎における炭酸脱水酵素アイソザイムに対する免疫応答(仮説)

上記の仮説に基づき、我々は膵臓に発現されている CA アイソザイムの cDNA クローニングと発現の検討を行ってきた<sup>12,14)</sup>。その結果、11種類の CA アイソザイムのうち、膵臓では CA I、CA II、CAIV、CAVB、CAIX、CAXII の発現がみられた。このうち、CA I は膵ランゲルハンス島の A 細胞<sup>15)</sup>、CAVB は細胞のタイプは不明であるがミトコンドリアに存在することが知られている<sup>13)</sup>。病理組織学的に AIP は導管炎を示すことより<sup>16)</sup>、膵管での発現が確認されている CAIV、CAIX、CAXII について AIP における血中抗体のスクリーニングを行った。その結果、CAIV に対する血中抗体が AIP 患者血中で確認され、CAIX および CAXII に対する反応は認められなかった。以上の結果より、CAIV が AIP の自己免疫病態における真の標的抗原である可能性が示唆された。なお、既報のように CA II に対する血中抗体も検出された。

AIP 患者における抗 CAIV 抗体の検出頻度は ELISA 法では健常人に対して有意差があったが、Western blot 法では健常人との間に有意差は認められなかった。これは Western blot 法では厳密な定量性がないため、明らかなバンドを示す症例のみ陽性と判断したためと考えられる。実際、ELISA 法で強陽性を示した症例は Western blot 法でも明らかなバンドを示した(図1、症例2)。図には示さなかったが、ELISA 法で境界領域の陽性値を示す症例は Western blot 法での判定でも慎重を要するものであった。今回、ELISA における検討は preliminary なものであり、さらに多くの AIP 症例や AIP に合併する SjS や原発性硬化性胆管炎症例、さらに対照疾患としてアルコール性慢性膵炎症例での検討が必要である。また、CA II と CAIV に対する抗体の交差反応性の確認、CAIV 蛋白におけるエピトープのマッピング、CAIV に対する細胞性免疫応答の検討などにより、

AIPの病因におけるCAIVの意義の解明が期待される。

#### E. 結論

自己免疫性膵炎において、これまで報告されてきたCA IIに対する血中抗体のほか、CAIVに対する血中抗体の存在が明らかとなった。CA IIがほぼすべての臓器に発現されているのに対し、CAIVの生理的発現組織は自己免疫性膵炎と合併疾患の当該臓器に一致している。以上の結果より、CAIVが自己免疫性膵炎の病態における標的抗原であり、CA IIに対する血中抗体は抗CAIV抗体との交差反応の結果として検出された可能性が示された。

#### F. 参考文献

- 1) 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 小川道雄. いわゆる自己免疫性膵炎の実体調査—ステロイド剤が奏効した症例における臨床像の検討—. 厚生労働省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書 2001: 72-83.
- 2) Kino-Ohsaki J, Nishimori I, Morita M, Okazaki K, Yamamoto Y, Onishi S, Hollingsworth MA. Serum antibodies to carbonic anhydrase I and II in patients with idiopathic chronic pancreatitis and Sjogren's syndrome. *Gastroenterology* 1996; 110: 1579-86.
- 3) Frulloni L, Bovo P, Brunelli S, Vaona B, Di Francesco V, Nishimori I, Cavallini G. Elevated serum levels of antibodies to carbonic anhydrase I and II in patients with chronic pancreatitis. *Pancreas* 2000; 20: 382-8.
- 4) Okazaki K, Uchida K, Ohana M, Nakase H, Uose S, Inai M, Matsushima Y, Katamura K, Ohmori K, Chiba T. Autoimmune-related pancreatitis is associated with autoantibodies and a Th1/Th2-type cellular immune response. *Gastroenterology* 2000; 118: 573-81.
- 5) Gordon SC, Quattrociochi-Longe TM, Khan BA, Kodali VP, Chen J, Silverman AL, Kiechle FL. Antibodies to carbonic anhydrase in patients with immune cholangiopathies. *Gastroenterology* 1995; 108: 1802-9.
- 6) Muratori P, Muratori L, Lenzi M, Bianchi FB. Antibodies to carbonic anhydrase in autoimmune cholangiopathy. *Gastroenterology* 1997; 112: 1053-4.
- 7) Akisawa N, Nishimori I, Miyaji E, Iwasaki S, Maeda T, Shimizu H, Sato N, Onishi S. The ability of anti-carbonic anhydrase II antibody to distinguish autoimmune cholangitis from primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* 1999; 34: 366-71.
- 8) Inagaki Y, Jinno-Yoshida Y, Hamasaki Y, Ueki H. A novel autoantibody reactive with carbonic anhydrase in sera from patients with systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *J Dermatol Sci* 1991; 2: 147-54.
- 9) Itoh Y, Reichlin M. Antibodies to carbonic anhydrase in systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 73-82.
- 10) Ono M, Ono M, Watanabe K, Miyashita Y, Inagaki Y, Ueki H. A study of anti-carbonic anhydrase II antibodies in rheumatic autoimmune diseases. *J Dermatol Sci* 1999; 21: 183-6.
- 11) Kiechle FL, Quattrociochi-Longe TM, Brinton DA. Carbonic anhydrase antibody in sera from patients with endometriosis. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 611-5.
- 12) Nishimori I, Onishi S. Carbonic anhydrase isozymes in the human pancreas. *Dig Liver Dis* 2001; 33: 68-74.
- 13) Fujikawa-Adachi K, Nishimori I, Taguchi T, Onishi S. Human mitochondrial carbonic anhydrase VB. cDNA cloning, mRNA expression, subcellular localization, and mapping to chromosome x. *J Biol Chem* 1999; 274: 21228-33.
- 14) Fujikawa-Adachi K, Nishimori I, Sakamoto S, Morita M, Onishi S, Yonezawa S, Hollingsworth MA. Identification of carbonic anhydrase IV and VI mRNA expression in human pancreas and salivary glands. *Pancreas* 1999; 18: 329-35.
- 15) Parkkila S, Parkkila AK, Juvonen T, Rajaniemi H. Distribution of the carbonic

anhydrase isoenzymes I, II, and VI in the human alimentary tract. Gut 1994; 35: 646-50.

- 16) 須田耕一, 西森 功, 小川道雄, 大井 至. いわゆる自己免疫性膵炎の臨床病理学的検討. 厚生労働省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書 2001; 84-91.

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

#### I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

# 自己免疫性膵炎における免疫遺伝学的背景の検討

研究協力者 川 茂幸 信州大学医学部内科学第二教室 助教授

## 【研究要旨】

自己免疫性膵炎において特定のHLA抗原との関連を証明することができれば、本疾患が自己免疫性疾患であることをより支持し、特定の抗原に対する免疫応答の存在を確信できるのではないかと考えられる。自己免疫性膵炎40例について、慢性石灰化膵炎41例、健常人201例を対象としてHLAの検討を行った。自己免疫性膵炎患者ではHLA-class I抗原について有意差を認めなかったがClass II抗原ではDR4, DQ4抗原が自己免疫性膵炎患者で頻度が有意に高かった(73% vs 44%,  $P=0.01$ , 58% vs 26%,  $P=0.001$ )。また、DR4, DQ4 subtypeではDRB1\*0405とDQB1\*0401 alleleの頻度が有意に高かった(58% vs 21%,  $P=0.000026$ , 58% vs 21%,  $P=0.000017$ )。このことよりこれらclass II抗原でpresentationされる特定の抗原ペプチドに対する免疫応答が発症の引き金になっているのではないかと考えられた。また、本疾患診断においてこれらHLAの検索は有用と考えられた。

## 共同研究者

吉沢 要、越知泰英<sup>1)</sup>、浜野英明<sup>2)</sup>、太田正穂<sup>3)</sup>

(1) 信州大学医学部内科学第二教室、2) 長野県癌検診救急センター、3) 信州大学医学部法医学教室)

## A. 研究目的

自己免疫性膵炎は膵管の不整狭細、膵腫大、閉塞性黄疸、血清IgG高値、リンパ球浸潤を伴う著明な線維化、ステロイドに対する良好な反応性によって特徴づけられる特異な慢性膵炎である。本疾患は(1)ステロイドが著効する(2)膵癌と鑑別困難例を認める、の2点より迅速かつ正確な診断が臨床的に求められている<sup>1-3)</sup>。われわれは本疾患ならびに関連疾患の血清値を測定した結果、本疾患の90%以上の患者血清でIgG4が特異的に増加していることを見出した。血清IgG4の上昇はアレルギー疾患など限られた病態でしか報告されていないため、本疾患の特異的な診断法となりうる可能性がある。またステロイド治療により値が有意に低下し、病態の活動性を反映すると考えられた。IgG4型免疫複合体の血清値も上昇しており、病態の活動性を反映していた<sup>4)</sup>。IgG4が上昇する自己免疫性疾患として天疱瘡、類天疱瘡が知られている<sup>6,7)</sup>。これらは細胞接着分子desmogleinに対するIgG4型自己抗体が病因として大きな役割を果たしていることが知られている<sup>8)</sup>。また天疱瘡ではHLA-DRB1\*0402と強い相関を認めることが報告されており、抗原呈示細胞においてHLA-DRB1\*0402がdesmoglein 3の分解ペプチドを呈示

し、これが天疱瘡における免疫応答の引き金になっていると考えられている<sup>9)</sup>。本疾患において特定のHLA抗原との関連を証明することができれば、本疾患が自己免疫性疾患であることをより強く支持することとなり、特定の抗原に対する免疫応答の存在を確信できるのではないかと考えられる。以上の背景より、本研究では自己免疫性膵炎とHLA抗原との関連について検討した。

## B. 研究方法

自己免疫性膵炎40例、慢性石灰化膵炎41例、健常人201例を対象とした。HLA-A, -B, -C, -DR, -DQはPCR-SSCP法によるlow resolution typingにて、HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1 alleleについてはPCR-RFLP法にて行った。 $\chi^2$ 検定にて $P<0.05$ を有意とした。HLA-DRB1\*0405とHLA-B54との相関についてはMantel-Haenszelのstratification analysisを行った。

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を得(平成13年3月5日審査)、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文部科学省・経済産業省告示第1号)を遵守して行った。

## C. 研究結果

自己免疫性膵炎患者と健常人の間では、HLA-class I抗原について有意差を認めなかった。Class II抗原ではDR4, DQ4抗原が自己免疫性膵炎患者で頻度が有意に高かった(73% vs 44%,  $P=0.01$ , 58% vs 26%,  $P=0.001$ )(表1)。また、DR4, DQ4 subtypeではDRB1\*0405とDQB1\*0401 alleleの頻度が自

表 1. 自己免疫性膵炎、慢性石灰化膵炎、健常人での HLA 抗原

HLA	Frequency (%)			Autoimmune Pancreatitis v.s. Chronic Calcifying Pancreatitis		Autoimmune Pancreatitis v.s. Normal Subjects	
	Autoimmune Pancreatitis	Chronic Calcifying Pancreatitis	Normal Subjects	Standard P	Corrected P	Standard P	Corrected P
	N=40	N=43	N=201	Value (Odds Ratio)	Value	Value (Odds Ratio)	Value
A24	50	56	43	0.60		0.40	
A26	18	23	31	0.52		0.08 <sup>a</sup>	
A11	20	16	22	0.66		0.79	
B54	20	9	14	0.17 <sup>a</sup>		0.33	
B59	13	2	5	0.074 <sup>a</sup>		0.047 <sup>a</sup> (3.05)	0.43
DR4	73	47	44	0.016 (3.03)	0.15	0.0011 (3.32)	0.010
DQ4	58	40	26	0.10		0.00011 (3.78)	0.001

<sup>a</sup> obtained by the Fisher's exact test

表 2. 自己免疫性膵炎、慢性石灰化膵炎、健常人における RRB1 と DQB1 allele

HLA	Frequency (%)			Autoimmune Pancreatitis v.s. Chronic Calcifying Pancreatitis		Autoimmune creatitis v.s. Normal Subjects	
	Autoimmune Pancreatitis	Chronic Calcifying Pancreatitis	Normal Subjects	Standard P	Correcte P	Standard P	Corrected P
	N=40	N=43	N=201	Value (O. Ratio)	Value	Value (O. Ratio)	Value
< DRB1*04>							
DRB1*0401	3	0	2	0.30 <sup>a</sup>		0.65 <sup>a</sup>	
DRB1*0403	3	14	9	0.061 <sup>a</sup>		0.17 <sup>a</sup>	
DRB1*0405	58	23	21	0.0015 (4.46)	0.013	0.0000029 (4.97)	0.000026
DRB1*0406	8	5	9	0.59 <sup>a</sup>		0.77 <sup>a</sup>	
DRB1*0410	3	9	2	0.19 <sup>a</sup>		0.84 <sup>a</sup>	
< DQB1*04>							
DQB1*0401	58	26	21	0.0031 (3.94)	0.028	0.0000020 (5.12)	0.000017
DQB1*0402	8	14	5	0.34		0.62 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> obtained by the Fisher's exact test

己免疫性膵炎患者で有意に高かった (58% vs 21%,  $P_c=0.000026$ , 58% vs 21%,  $P_c=0.000017$ ) (表2)。DRB1\*0405 と DQB1\*0401は日本人では100%連鎖不平衡の関係にあり、どちらの抗原が自己免疫性膵炎と関連しているか特定できない。また自己免疫性膵炎でもDRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotype との

関連が報告されているが、本疾患ではDRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotypeとB54との相関が認められている<sup>10</sup>。そこでDRB1\*0405とB54との相関をMantel-Haenzel の stratification analysis にて検討したが有為な相関を認めなかった。従って自己免疫性膵炎は自己免疫性膵炎とは免疫遺伝学的背景が異なっ

ていると考えられる。自己免疫性膵炎患者では慢性石灰化膵炎患者に対してもDRB1\*0405とDQB1\*0401の頻度が有意に高かった。

#### D. 考察

自己免疫性膵炎では健常人、慢性石灰化膵炎と比較してDRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotypeの頻度が有意に高かった。このことは自己免疫性膵炎ではこれら class II 抗原で presentation される特定の抗原ペプチドに対する免疫応答が発症の引き金になっているのではないかと考えられる。ただ日本人ではDRB1\*0405とDQB1\*0401は100%連鎖不平衡の関係にあり、どちらの抗原が自己免疫性膵炎と関連しているか特定できない。さらにDRB1\*0405ないしはDQB1\*0401近傍の抗原が真に病因と関連している可能性も否定できない。また、自己免疫性肝炎でもDRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotypeと相関を認めるが、この場合DRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotypeはB54とも相関を認めることが知られている<sup>10)</sup>。自己免疫性膵炎ではDRB1\*0405はB54と相関を認めないことより、自己免疫性肝炎とは免疫遺伝学的背景が異なっていると考えられた。

#### E. 結論

本疾患ではDRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotypeの頻度が有意に高く、このことよりこれら class II 抗原で presentation される特定の抗原ペプチドに対する免疫応答が発症の引き金になっているのではないかと考えられた。本疾患診断においてこれらHLAの検索は有用と考えられた。本研究より自己免疫性膵炎では特定の抗原に対する自己抗体が存在すると考えられ、この点よりも今後さらに研究を進めていく必要があると考えられた。

#### F. 参考文献

- 1) Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality, proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1561-8.
- 2) Horiuchi A, Kaneko T, Yamamura N, Nagata A, Nakamura T, Akamatsu T, Mukawa K, Kawa S, Kiyosawa K. Autoimmune pancreatitis simulating pancreatic lymphoma. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2607-9.
- 3) Ito T, Nakano I, Koyanagi S, Miyahara T, Migita Y, Ogoshi K, Sakai H, Matsunaga S, Yasuda O, Sumii T, Nawata H. Autoimmune pancreatitis as a new clinical entity, three cases of autoimmune pancreatitis with effective steroid therapy. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1458-68.
- 4) Horiuchi A, Kawa S, Akamatsu T, Aoki Y, Mukawa K, Furuya N, Ochi Y, Kiyosawa K. Characteristic pancreatic duct appearance in autoimmune chronic pancreatitis: a case report and review of the Japanese literature. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 260-3.
- 5) Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, Unno H, Furuya N, Akamatsu T, Fukushima M, Nikaido T, Nakayama K, Usuda N, Kiyosawa K. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *New Engl J Med* 2001; 344: 732-8.
- 6) Rock B, Martins CR, Theofilopoulos AN, Balderas RS, Anhalt GJ, Labib RS, Futamura S, Rivitti EA, Diaz LA. The pathogenic effect of IgG4 autoantibodies in endemic pemphigus foliaceus (Fogo Selvagem). *N Engl J Med* 1989; 320: 1463-9.
- 7) Bhol K, Mohimen A, Ahmed AR. Correlation of subclasses of IgG with disease activity in pemphigus vulgaris. *Dermatology* 1994; 189 Suppl 1: 85-9.
- 8) Ding X, Diaz LA, Fairley JA, Giudice GJ, Liu Z. The anti-desmoglein 1 autoantibodies in pemphigus vulgaris sera are pathogenic. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 739-43.
- 9) Wucherpfennig KW, Yu B, Bhol K, Monos DS, Argyris E, Karr RW, Ahmed AR, Strominger JL. Structural basis for major histocompatibility complex (MHC)-linked susceptibility to autoimmunity: Charged residues of a single MHC binding pocket confer selective presentation of self-peptides in pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11935-9.
- 10) Seki T, Ota M, Furuta S, Fukushima H, Kondo T, Hino K, Mizuki N, Ando A, Tsuji K, Inoko H, Kiyosawa K. HLA class II molecules and autoimmune hepatitis susceptibility in Japanese patients. *Gastroentero-*

logy 1992; 103: 1041-7.

## G. 健康危険情報

該当なし

## H. 研究発表

### 1 論文発表

- 1) Hamano H, Kawa S, Ochi Y, Unno H, Shiba N, Wajiki M, Nakazawa K, Shimojo H, Kiyosawa K. Sclerosing pancreatitis complicated with hydronephrosis caused by retroperitoneal fibrosis. *Lancet* 2002; 359: 1403-4.
- 2) Kawa S, Ota M, Yoshizawa K, Horiuchi A, Hamano H, Ochi Y, Nakayama K, Tokutake Y, Katsuyama Y, Saito S, Hasebe O, Kiyosawa K. HLA DRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotype is associated with autoimmune pancreatitis in the Japanese population. *Gastroenterology* 2002; 122: 1264-9.
- 3) Horiuchi A, Kawa S, Hamano H, Hayashi Y, Kiyosawa K. Does a lack of reactivity to  $\alpha$ -fodrin indicate the existence of primary autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1275-7.
- 4) Horiuchi A, Kawa S, Hamano H, Hayama M, Ota H, Kiyosawa K. ERCP features in 27 patients with autoimmune pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 494-9.
- 5) Akahane C, Takei Y, Horiuchi A, Kawa S, Nishimura K, Ikeda S. A primary Sjögren's syndrome patient presenting marked swelling of multiple exocrine glands and sclerosing pancreatitis. *Intern Med* 2002; 41: 749-53.
- 6) 川 茂幸, 自己免疫性膵炎. *信州医学雑誌* 2002; 50: 233-40.
- 7) 川 茂幸, 浜野英明. 自己免疫性膵炎診断基準の解説 2. 血清学的診断. *膵臓* 2002; 17: 607-10.

### 2 学会発表

- 1) Kawa S, Hamano H, Kiyosawa K. Autoimmune pancreatitis associated with high serum IgG4 concentration. 26th

International Congress of Internal Medicine. Kyoto May 26, 2002

- 2) Kawa S, Ota M, Yoshizawa K, Horiuchi A, Hamano H, Ochi Y, Saito S, Kiyosawa K. HLA DRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotype is associated with autoimmune pancreatitis in the Japanese population. Joint Meeting of the EPC and the IAP. Heidelberg, Germany June 19-22, 2002
- 3) 浜野英明, 川 茂幸, 吉沢 要. IgG4, 免疫複合体 (mRF 法), HLAによる膵管狭細型慢性膵炎診断の有用性の検討. 第88回日本消化器病学会総会 旭川 2002年4月24-26日
- 4) 高山真理, 川 茂幸, 浜野英明, 越智泰英, 三枝久能, 清澤研道, 堀内 朗, 長谷部修. 自己免疫性膵炎 (IgG4関連膵炎) 41症例の臨床的検討. 第88回日本消化器病学会総会 旭川 2002年4月24-26日
- 5) 浜野英明, 川 茂幸, 越智泰英, 三枝久能, 高山真理, 小松健一, 堀内 朗, 長谷部修, 清澤研道. ワークショップ: 自己免疫性膵炎 自己免疫性膵炎における血清IgG4測定の有用性. 第33回日本膵臓学会大会 仙台 2002年9月4-5日
- 6) 浜野英明, 川 茂幸, 清澤研道. 自己免疫性膵炎の発症と進展に關与する要因の検討. 第44回日本消化器病学会大会 横浜 2002年10月24-27日
- 7) 小松健一, 高山真理, 三枝久能, 浜野英明, 越智泰英, 川 茂幸, 清澤研道, 新倉則和, 長谷部修, 今井康晴. 経過中膵管内結石を発症し, ESWL 治療を施行した自己免疫性膵炎の一例. 第30回日本消化器病学会甲信越支部例会・第52回日本消化器内視鏡学会甲信越地方会合同地方会 2002年
- 8) 小松健一, 高山真理, 三枝久能, 横山太郎, 浜野英明, 越智泰英, 川 茂幸, 清澤研道. 非典型的な画像所見を呈し膵癌との鑑別が困難であった自己免疫性膵炎の一例. 第31回日本消化器病学会甲信越支部例会・第53回日本消化器内視鏡学会甲信越地方会合同地方会 新潟 2002年11月16-17日

### 1. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案特許 該当なし
3. その他 該当なし