

自己免疫性膵炎における血中IgG4高値例と低値例との臨床病理学的差異

研究報告者 神澤輝実 東京都立駒込病院内科 医長

共同研究者

陳 鵬羽, 屠 聿揚, 中嶋 均, 江川直人 (東京都立駒込病院内科)

【研究要旨】

自己免疫性膵炎では、多くの症例で血中IgG4値が高値を呈する。われわれは、自検の自己免疫性膵炎24症例において、血中IgG4高値例と低値例とで、臨床病理学的差異があるか否かにつき検討した。血中IgG4高値は17例(150~1,890 mg/dl)、低値は7例(11~128 mg/dl)であった。両群間で、男女比、診断時の年齢、膵腫大の程度、自己抗体の陽性率、糖尿病の合併頻度、胆管狭窄と唾液腺腫大の有無の頻度に明らかな差を認めなかったが、IgG4高値例では開腹時腹部リンパ節腫大を高率に認めた($p < 0.05$)。また、IgG4高値例で唾液腺の機能低下が著しかった。免疫組織化学的に膵臓、胆嚢壁に浸潤したIgG4陽性形質細胞の数は両群間で差を認めなかったが、IgG4高値例では、胃粘膜に明らかに多いIgG4陽性形質細胞の浸潤を認めた($p < 0.01$)。自己免疫性膵炎では、IgG4が関連した変化を諸臓器に認めるが、IgG4低値例ではその変化が膵臓に比較的限局し全身の変化は軽微であった。

A. 研究目的

自己免疫性膵炎では、血中IgG4値が高率に上昇し、膵臓癌との鑑別に有用であることが報告された¹⁾。しかし、本症における血中IgG4高値の率は施設により異なり、最近では68%との報告がある²⁾。われわれは、自検の自己免疫性膵炎症例において血中IgG4高値例と低値例とで、臨床病理学的差異があるか否かにつき検討した。

B. 研究方法

当院で経験した自己免疫性膵炎患者のうち、ステロイドなどの治療前に血中のIgG4値を測定した24例を対象とした。これらは、膵管狭細像($n = 24$)、膵腫大($n = 23$)、膵組織所見($n = 9$: 膵頭十二指腸切除術6例、開腹膵生検2例、エコー下膵生検1例)、ステロイド治療が著効($n = 16$)などの所見より総合的に自己免疫性膵炎と診断された。

Hamanoらの報告²⁾に従い、血中IgG4値が135 mg/dl以上を高値例、それ以下を低値例とし、両群の臨床的所見を比較検討した。また、99mテクネシウムを用いたシンチグラフィにおいて、顎下腺と耳下腺の集積能(PCR: Ratio of cumulative peak count to injected radionuclide)と排出能(WR: Ratio of washout = peak count

before ascorbic acid administration - lowest count after administration / peak count before administration)を検索した³⁾。さらに、これらの患者の切除および生検により採取された諸臓器(膵9例、胆管8例、胆嚢8例、胃粘膜15例、腹部リンパ節6例)のパラフィン切片において、抗IgG4抗体による免疫組織化学的検索を行い、浸潤するIgG4陽性形質細胞の数を検索した。(倫理面への配慮)

切除および生検されたパラフィン切片を用いた免疫組織化学的検討であり、研究対象者のプライバシーは保護されており、倫理面に特に問題はないと考える。

C. 研究結果

1. 臨床的検討

血中IgG4高値は17例(150~1,890 mg/dl)、低値は7例(11~128 mg/dl)であった。両群間で、男女比、診断時の年齢、膵腫大の程度、自己抗体の陽性率に差を認めなかったが、IgG4高値例では血中IgGが高値を呈する例が多かった($p < 0.01$) (表1)。

2. 合併病変

合併病変として、糖尿病の合併頻度、胆管狭窄と唾液腺腫大の有無の頻度に明らかな差を認

表1 血中IgG4値高値例と低値例の臨床所見

	IgG4高値	IgG4低値
IgG4値(mg/dl)	692 ± 492 (150~1890)	58 ± 42 (11~128)
症例数	17	7
男女比	13:4	5:2
年齢(歳)	67.0 ± 6.6	64.1 ± 22.3
び慢性:限局性	9:8	4:3
血中IgG値(高:低)	13:4**	0:7
自己抗体(+:-)	8:9	2:5

mean ± SD, **: p < 0.01

表3 血中IgG4値高値例と低値例の唾液腺機能

	IgG4高値例 (n = 10)	IgG4低値例 (n = 4)	コントロール群 (n = 10)
顎下腺			
PCR (%)	10.4 ± 8.0**+	23.3 ± 8.5 *	35.3 ± 8.4
WR (%)	45.6 ± 27.2**	56.4 ± 28.4	87.3 ± 9.1
耳下腺			
PCR (%)	17.8 ± 7.1**	18.4 ± 4.3**	43.9 ± 6.8
WR (%)	54.5 ± 23.7**	59.2 ± 12.1*	79.8 ± 10.5

PCR: Ratio of cumulative peak count

WR: Ratio of washout

** : p < 0.01 compared with control

* : p < 0.05 compared with control

+ : p < 0.05 compared with low serum IgG4

めなかったが、IgG4高値例では開腹時腹部リンパ節腫大を高率に認めた(p < 0.05)(表2)。

3. 唾液腺機能

IgG4高値例でも低値例でも、唾液腺の機能はコントロールより低下していた。しかし、IgG4高値例では低値例より、顎下腺の集積能が明らかに低下していた(p < 0.05)(表3)。

4. 病理組織学的、免疫組織化学的検討

組織学的に膵臓と胆管壁におけるリンパ球と形質細胞の浸潤と線維化の程度に両群間で差を認めなかったが、IgG4高値の2例で胆嚢壁に著しいリンパ球と形質細胞の浸潤と線維化による肥厚を認めた。胃粘膜におけるリンパ球と形質細胞の中等度の浸潤をIgG4高値の5例に認めたが、低値例ではみられなかった。

免疫組織化学的に膵臓、胆嚢壁に浸潤したIgG4陽性形質細胞の数は両群間で差を認めなかったが、胆管壁と腹部リンパ節に浸潤したIgG4陽性形質細胞の数はIgG4高値例で多い傾向があった(p < 0.1)。また、IgG4高値例では、胃粘膜に明らかに多いIgG4陽性形質細胞の浸潤を

表2 血中IgG4値高値例と低値例の合併病変

	IgG4高値	IgG4低値
糖尿病(+:-)	11:6	3:4
胆管狭窄(+:-)	13:1	6:1
腹部リンパ節腫大(+:-)	5:0*	0:3
頸部リンパ節腫大 または唾液腺腫大(+:-)	6:10	0:7

*: p < 0.05,

表4 血中IgG4値高値例と低値例の諸臓器におけるIgG4陽性形質細胞の浸潤の程度

IgG4陽性形質細胞数(/hpf)	IgG4高値	IgG4低値
膵臓	64 ± 33	46 ± 32
胆管	63 ± 26	25 ± 12
胆嚢	57 ± 17	23 ± 6
胃	15 ± 7**	2 ± 1
腹部リンパ節	57 ± 18	26 ± 8

** : p < 0.01

認めた(p < 0.01)(表4)。

D. 考察

自己免疫性膵炎は膵腫大、膵管狭細像、高ガンマグロブリン血症、高IgG血症、自己抗体陽性、膵における密なリンパ球と形質細胞の浸潤を伴う線維化などを特徴とする特殊な膵炎である⁴⁾。自己免疫性膵炎では、硬化性胆管炎による胆管狭窄、硬化性唾液腺炎による唾液腺腫大、腹部、頸部リンパ節腫大などの膵外病変⁵⁾や糖尿病の合併³⁾を高率に認める。一方、われわれは、自己免疫性膵炎患者の全身諸臓器の病理組織学および免疫組織化学的検索より、CD4陽性Tリンパ球、CD8陽性Tリンパ球とIgG4陽性形質細胞の密な浸潤を全身諸臓器に認め、膵臓、胆道系、唾液腺、後腹膜に線維化を認めるIgG4が関連した全身疾患の概念を提唱し、自己免疫性膵炎はその膵病変であることを報告した^{6~8)}。

自己免疫性膵炎患者では、高頻度に血中IgG4値が上昇するが、血中IgG4高値例と低値例との違いがあるか否かは不明である。そこで、自己免疫性膵炎における血中IgG4高値例と低値例との臨床病理学的差異につき検討した。

臨床的所見では、両群に明らかな差はなかつ

たが、IgG4高値例では腹部リンパ節腫大例が多く認められた。また、自己免疫性膵炎患者では、唾液腺機能の低下を認めるが、IgG4高値例では低値例より唾液腺機能低下がより著しかった。さらに、IgG4高値例も低値例も諸臓器に多数のIgG4陽性形質細胞の浸潤を認めるが、IgG4高値例では胆管壁、腹部リンパ節、胃粘膜に浸潤するIgG4陽性形質細胞の数が低値例より多かった。つまり、全身的疾患の観点から自己免疫性膵炎血中IgG4高値例と低値例とを比較検討すると、両群ともIgG4が関連した変化を諸臓器に認めるが、IgG4低値例ではその変化が膵臓に比較的限局し全身の変化は軽微であったと考えられる。

E. 結論

自己免疫性膵炎では、IgG4が関連した変化を諸臓器に認めるが、IgG4低値例ではその変化が膵臓に比較的限局し全身の変化は軽微であった。

F. 参考文献

1. 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. *N Engl J Med* 2001; 344 : 732-738.
2. Okazaki K. Autoimmune pancreatitis is increasing in Japan. *Gastroenterology* 2003; 125 : 1557-1558.
3. Kamisawa T, Egawa N, Inokuma S, Tsuruta K, Okamoto A, Kamata N, Nakamura T, Matsukawa M. Pancreatic endocrine and exocrine function and salivary gland function in autoimmune pancreatitis before and after steroid therapy. *Pancreas* 2003; 27 : 235-238.
4. Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A, Kamata N. Clinical difficulties in the differentiation of autoimmune pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2003; 98 : 2694-2699.
5. Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Extrapaneatic lesions in autoimmune pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39 :

904-907.

6. Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y, Tsuruta K, Okamoto A, Amemiya K, Egawa N, Nakajima H. Close relationship between autoimmune pancreatitis and multifocal fibrosclerosis. *Gut* 2003; 52 : 683-687.
7. Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y, Eishi Y, Koike M, Tsuruta K, Okamoto A, Egawa N, Nakajima H. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol* 2003; 38 : 982-984.
8. Kamisawa T, Nakajima H, Egawa N, Funata N, Tsuruta K, Okamoto A. IgG4-related sclerosing disease incorporating sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. *Pancreatology* 2005; 6 : 132-137.

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kamisawa T, Egawa N, Tsuruta K, Okamoto A, Funata N. Primary sclerosing cholangitis may be overestimated in Japan. *J Gastroenterol* 2005; 40 : 318-319.
- 2) Kamisawa T, Yoshiike M, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Treating patients with autoimmune pancreatitis: results from a long-term follow-up study. *Pancreatology* 2005; 5 : 234-240.
- 3) Kamisawa T, Egawa N, Shimizu M, Igari T. Autoimmune dorsal pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30 : 94-95.
- 4) Kamisawa T. Clinical subtype of autoimmune pancreatitis. *Intern Med* 2005; 44 : 785-786.
- 5) Kamisawa T, Okamoto A, Funata N. Clinicopathological features of autoimmune pancreatitis in relation to elevation of serum IgG4. *Pancreas* 2005; 31 : 28-31.
- 6) Kamisawa T, Matsukawa M, Ohkawa M. Autoimmune pancreatitis associated with retroperitoneal fibrosis. *JOP* 2005; 6: 260-263.

- 7) Kamisawa T. Angiographic findings in patients with autoimmune pancreatitis. *Radiology* 2005; 236 : 371.
- 8) Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Extrapancreatic lesions in autoimmune pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39 : 904-907.
- 9) Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A, Hayashi Y, Funata N. Gastrointestinal findings in patients with autoimmune pancreatitis. *Endoscopy* 2005; 37 : 1127-1130.
- 10) Kamisawa T, Nakajima H, Egawa N, Funata N, Tsuruta K, Okamoto A. IgG4-related sclerosing disease incorporating sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. *Pancreatol* 2005; 6 : 132-137.
- 11) 神澤輝実. 自己免疫性膵炎の膵外病変. *日消誌* 2005; 102 : 289-295.
- 12) 神澤輝実, 佐伯俊一, 吉池雅美, 屠 聿揚, 中嶋 均, 江川直人, 鶴田耕二, 岡本篤武, 雨宮こずえ. 原発性硬化性胆管炎と自己免疫性膵炎の類似点と相違点. *消化器画像* 2005; 7 : 329-333.
- 13) 神澤輝実, 屠 聿揚, 江川直人, 中嶋 均, 鶴田耕二, 岡本篤武, 松川昌勝. 自己免疫性膵炎と後腹膜線維症. *肝胆膵* 2005; 50 : 599-602.
- 14) 神澤輝実, 桑田 剛, 陳 鵬羽, 吉池雅美, 屠 聿揚, 中嶋 均, 江川直人, 馬場裕之, 鶴田耕二, 岡本篤武, 堀口慎一郎. 自己免疫性膵炎はIgG4関連硬化性疾患の膵病変である. *消化器科* 2005; 41 : 301-302.
- 15) 神澤輝実. IgG4関連硬化性疾患の病態. 荒川泰行編. *消化器病学の進歩2005—モノグラフ—消化器病学のニューフロンティア編*. メディカルレビュー社, 東京 2005; 233-235.
2. 学会発表
- 1) 神澤輝実. 多彩な病態—自己免疫性膵炎. 膵炎・膵癌セミナー, 東京 2005年2月4日
- 2) 神澤輝実, 岡本篤武, 船田信顕. IgG4関連硬化性疾患の病態と診断と治療. 第91回日本消化器病学会総会, 東京 2005年4月14-16日
- 3) Kamisawa T, Nakajima H, Egawa N, Okamoto A, Amemiya K. IgG4-related sclerosing disease incorporating sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. The 106th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association. Chicago, U.S.A. May 20-25, 2005
- 4) Kamisawa T, Nakajima H, Okamoto A. Morphological changes after steroid therapy in autoimmune pancreatitis. The 106th Annual Meeting of the American Society of Gastrointestinal Endoscopy. Chicago, U.S.A. May 20-25, 2005
- 5) Kamisawa T, Nakajima H, Okamoto A. Gastrointestinal findings of patients with autoimmune pancreatitis. The 106th Annual Meeting of the American Society of Gastrointestinal Endoscopy. Chicago, U.S.A. May 20-25, 2005
- 6) 神澤輝実. 自己免疫性膵炎の最前線. 日本消化器内視鏡学会, 東京 2005年5月27日
- 7) 神澤輝実, 屠 聿揚, 中嶋 均, 江川直人. 高齢者に好発する新しい疾患概念 “IgG4 関連硬化性疾患” の提唱. 第30回老年消化器病研究会, 東京 2005年6月3日
- 8) 神澤輝実. 膵炎診療の最前線. 第206回青森市消化器病集団会, 青森 2005年7月8日
- 9) 神澤輝実. 自己免疫性膵炎の Up-to-date. 第135回日本消化器内視鏡学会東北支部例会, 盛岡 2005年7月16日
- 10) 神澤輝実, 屠 聿揚, 江川直人, 岡本篤武, 鶴田耕二. Autoimmune dorsal pancreatitis の提唱. 第36回日本膵臓学会大会, 東京 2005年7月28-29日
- 11) 神澤輝実, 屠 聿揚, 江川直人, 岡本篤武, 鶴田耕二. 自己免疫性膵炎における血中IgG4高値例と低値例との臨床病理学的差異の検討. 第36回日本膵臓学会大会, 東京 2005年7月28-29日
- 12) 神澤輝実, 屠 聿揚, 江川直人, 岡本篤武, 鶴田耕二. 自己免疫性膵炎の膵外病変の検討—IgG4関連硬化性疾患の提唱—. 第36回日本膵臓学会大会, 東京 2005年7月28-29日
- 13) 神澤輝実, 佐伯俊一, 江川直人. IgG4関連硬化性疾患とPSC. 第41回日本胆道学会学術集会, 岡山 2005年9月29-30日

- 14) 神澤輝実, 屠 聿揚, 江川直人. IgG4 関連硬化性疾患の実態. 第47回日本消化器病学会大会, 神戸 2005年10月5-8日
- 15) 神澤輝実. 自己免疫性膵炎— up-to-date —. 第5回肝胆膵Forum in Tokyo, 東京 2005年11月11日

I. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

自己免疫性膵炎の病理学的検討

研究報告者 大原弘隆 名古屋市立大学大学院臨床機能内科学 講師

共同研究者

中沢貴宏, 安藤朝章, 高田博樹, 林 香月, 城 卓志 (名古屋市立大学大学院臨床機能内科学)

【研究要旨】

自己免疫性膵炎(autoimmune pancreatitis; AIP)の疾患概念が普及するにつれて唾液腺, 硬化性胆管炎などの膵以外の全身の諸臓器にさまざまな疾患が合併することが報告されている. そこで本研究は, AIP患者において, 膵臓以外の他のどの臓器が障害されるかを病理学的に明らかにするために抗IgG4抗体を用いて免疫染色を行った. 膵管, 肝内外胆管, 唾液腺にIgG4陽性の形質細胞の浸潤が多数認められ, さらに患者血清中に膵管, 肝内肝外胆管, 胆嚢, 唾液腺上皮に対するIgG4に属する抗臓器抗体の存在が確認された. また炎症性偽腫瘍はAIPと同様IgG4陽性の形質細胞の浸潤を多数認め, 閉塞性静脈炎も両者ともに高率に認められた. 以上のことより, AIPでは膵管, 肝内外胆管, 胆嚢, 唾液腺が標的臓器であることが判明した. また炎症性偽腫瘍も病理学的には自己免疫性膵炎と類似の像を呈しており疾患概念としては近縁のものと考えられた.

A. 研究目的

自己免疫性膵炎は膵腫大, 膵管狭細像, 高IgG4血症, ステロイドに対する良好な反応性に特徴づけられる慢性膵炎である¹⁾. 疾患概念が普及するにつれて唾液腺, 硬化性胆管炎などの膵以外の全身の諸臓器にさまざまな疾患が合併することが報告されてきている²⁻⁴⁾. そこで本研究は自己免疫性膵炎における膵臓以外の他のどの臓器が障害されるかを病理学的に明らかにするために抗IgG4抗体を用いて免疫染色を行なった. さらに自己免疫性膵炎はしばしば, 肝外胆管周囲や肝内胆管周囲に腫瘤を形成し, 病理学的には炎症性偽腫瘍であると報告された⁵⁾. そこで全身の炎症性偽腫瘍, 特に形質細胞の浸潤が著明なplasma cell granulomaの病理組織像についても検討した.

B. 研究方法

1. 1993年より2004年までに自己免疫性膵炎と診断された20症例から切除および生検により得られた膵臓, 肝臓, 胆管, 胃, 十二指腸, 大腸, 唾液腺の組織を用いて, 抗IgG4抗体陽性の形質細胞の浸潤の有無, およびその程度についてABC法で検討した. 強拡大で10視野中のIgG4

陽性形質細胞数を測定し, 平均値を計算してスコア化した. (スコア0:0/強拡大, 1:<20/強拡大, 2:20~50/強拡大, 3:>50/強拡大). コントロールとして6例の慢性石灰化膵炎, 10例の原発性硬化性胆管炎, 5例のシェーグレン症候群, 3例の慢性胃炎の患者の組織を用いた.

2. 自己免疫性膵炎の患者から得られた血清を用いて抗臓器抗体の有無について検討した. AIP患者の血清中に臓器および組織特異性のある自己抗体が存在するか否かを調べる目的で, AIP患者の血清を他疾患で切除された諸臓器(膵臓, 肝臓, 胆管, 唾液腺, 食道, 胃, 小腸, 大腸, 肺)の病理切片と一晚反応させたのち, 抗IgG4抗体で免疫染色を行い, その陽性率を検討した. IgG4陽性上皮細胞の領域を測定し, スコア化した(スコア0:0~5%, 1:6~20%, 2:21~50%, 3:51%以上).

3. 炎症性偽腫瘍(plasma cell granuloma, 膵2例, 膵臓1例, 脾臓1例)と自己免疫性膵炎6例の病理組織像を比較し両者の類似性を検討した. 抗IgG4抗体陽性の形質細胞の浸潤の程度をABC法で, 閉塞性静脈炎の有無についてelastica van Gieson (EVG)染色にて検討した. 抗IgG4抗体陽性の形質細胞の浸潤の程度は全形質細胞に対す

表1 自己免疫性膵炎におけるIgG4陽性形質細胞の浸潤の程度

		スコア				P値*
		0	1	2	3	
膵管上皮	自己免疫性膵炎(n = 5)	1	1	1	2	p < 0.05
	慢性石灰化膵炎(n = 6)	5	1	0	0	
肝内胆管	自己免疫性膵炎(n = 11)	0	2	8	1	p < 0.05
	原発性硬化性胆管炎(n = 10)	5	5	0	0	
肝外胆管	自己免疫性膵炎(n = 8)	1	3	1	3	p < 0.05
	原発性硬化性胆管炎(n = 4)	3	1	0	0	
唾液腺	自己免疫性膵炎(n = 3)	0	0	1	2	p < 0.05
	シェーグレン症候群(n = 5)	5	0	0	0	

*The Mann-Whitney test

表2 自己免疫性膵炎の患者血清中の抗臓器抗体の検出

	血清								P値*
	自己免疫性膵炎(n = 6)				コントロール(n = 6)				
	0	1	2	3	0	1	2	3	
膵管上皮	0	5	1	0	6	0	0	0	p < 0.05
肝内胆管上皮	1	4	1	0	6	0	0	0	p < 0.05
肝外胆管上皮	0	1	4	1	6	0	0	0	p < 0.05
胆嚢上皮	0	1	4	1	6	0	0	0	p < 0.05
唾液腺導管上皮	0	1	0	5	6	0	0	0	p < 0.05

*The Mann-Whitney test

る比で表した。

(倫理面への配慮)

切除および生検されたパラフィン切片を用いた免疫組織学的検索であり、研究対象者のプライバシーは保護されており、倫理面の問題はな
いと考える。

C. 研究結果

1. AIP患者においては、膵管、肝内外胆管、唾液腺にIgG4陽性の形質細胞の浸潤が多数認められたが、肝臓、胃、十二指腸、大腸での浸潤は軽度であった。またコントロールとして用いた慢性石灰化膵炎の膵臓、原発性硬化性胆管炎の胆管、シェーグレン症候群の唾液腺においては、IgG4陽性の形質細胞の浸潤は軽度であった(表1)。

2. AIP患者血清中に膵管、肝内肝外胆管、胆嚢、唾液腺上皮に対するIgG4に属する抗臓器抗体の存在が確認された(表2)。

3. 炎症性偽腫瘍(28.3 ± 16.5%)はAIP(45.5 ± 12.0%)と同様にIgG4陽性の形質細胞の浸潤を多数認めた。また閉塞性静脈炎は炎症性偽腫瘍では4例中3例に、自己免疫性膵炎では全例に認め

表3 炎症性偽腫瘍と自己免疫性膵炎の病理像の比較

	閉塞性静脈炎	IgG4陽性形質細胞/ 全形質細胞 (mean ± SD)
自己免疫性膵炎 (n = 6)	6/6例(100%)	45.5 ± 12.0%
炎症性偽腫瘍 (n = 4)	3/4例(75%)	28.3 ± 16.5%

られた(表3)。

D. 考察

AIPでは主に膵管、肝内外胆管、唾液腺にIgG4陽性の形質細胞の浸潤を多数認めた。しかし慢性石灰化膵炎の膵臓、原発性硬化性胆管炎の胆管、シェーグレン症候群の唾液腺においては、IgG4陽性の形質細胞の浸潤は軽度でありこれらの疾患とAIPは異なる疾患概念である可能性が大きいことが判明した。またわれわれはAIPの膵外合併症としては硬化性胆管炎、唾液腺病変、後腹膜線維症の頻度が高いことを報告してきたが⁶⁾、病理学的にもこれらが障害される臓器であることを裏づける結果となった。

自己免疫性膵炎の発症の機序はいまだ解明され

ていない。標的抗原として carbonic anhydrase II, Lactoferrin などの可能性⁷⁾、膵管上皮に対する抗臓器抗体の存在⁸⁾が報告されている。今回の検討では、膵管上皮のみではなく、肝内肝外胆管、胆嚢、唾液腺上皮に対する IgG4 に属する臓器抗体の存在が確認された。

炎症性偽腫瘍は大きく Inflammatory myofibroblastic tumor と Plasma cell granuloma に分類されるが、AIP と同様に形質細胞の浸潤が著明な Plasma cell granuloma について検討した。IgG4 陽性の形質細胞の浸潤を多数認めたこと、閉塞性静脈炎を高率に認めたことより、病理学的には両者は類似の所見を呈しており疾患概念としては近縁のものと考えられた。

以上より AIP は膵臓のみでなく、肝内外の胆管、唾液腺も標的にする疾患であり、従来から欧米で報告された multifocal fibrosclerosis という疾患概念⁹⁾と一致するものと考えられた。さらに膵臓に病変を認めず他の部位に発症する炎症性偽腫瘍も同一の疾患概念の範疇に属するものと考えられた。

E. 結論

AIP では膵管、肝内外胆管、胆嚢、唾液腺が標的臓器であり、それらに対する抗臓器抗体が血清中に存在した。また炎症性偽腫瘍も病理学的には AIP と類似の像を呈しており疾患概念としては近縁のものと考えられた。

F. 参考文献

1. 日本膵臓学会. 自己免疫性膵炎診断基準 2002 年. 膵臓 2002; 17 : 585–587.
2. 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 小川道雄. 自己免疫性膵炎の実態調査. 膵臓 2002; 17 : 619–627.
3. Nakazawa T, Ohara H, Sano H, Aoki S, Kobayashi S, Okamoto T, Imai H, Nomura T, Joh T, Itoh M. Cholangiography can discriminate sclerosing cholangitis with autoimmune pancreatitis from primary sclerosing cholangitis. Gastrointest Endosc 2004; 60 : 937–944.
4. Nakazawa T, Ohara H, Sano H, Aoki S, Kobayashi S, Okamoto T, Nomura T, Joh T, Itoh M. Clinical

differences between primary sclerosing cholangitis and sclerosing cholangitis with autoimmune pancreatitis. Pancreas 2005; 30 : 20–25.

5. Zen Y, Harada K, Sasaki M, Sato Y, Tsuneyama K, Haratake J, Kurumaya H, Katayanagi K, Masuda S, Niwa H, Morimoto H, Miwa A, Uchiyama A, Portmann BC, Nakanuma Y. IgG4-related sclerosing cholangitis with and without hepatic inflammatory pseudotumor, and sclerosing pancreatitis-associated sclerosing cholangitis. Am J Sur Pathol 2004; 28 : 1193–1203.
6. Ohara H, Nakazawa T, Sano H, Ando T, Okamoto T, Takada H, Hayashi K, Kitajima Y, Nakao H, Joh T. Systemic extra-pancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. Pancreas 2005; 31 : 332–337.
7. 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 : 573–581.
8. 北川元二, 石黒 洋, 水野伸匡, 吉川俊之, 早川哲夫, 成瀬 達. 自己免疫性膵炎における抗膵管抗体について. 膵臓 2002; 17 : 641–644.
9. Comings DE, Skubi KB, Eyes JV, Motulsky AG. Familial multifocal fibrosclerosis. Ann Intern Med 1967; 66 : 884–892.

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Ohara H, Nakazawa T, Sano H, Joh T, Takahashi S. Histopathologic similarities of inflammatory pseudotumor to autoimmune pancreatitis: A morphologic and immunohistochemical study of four cases. Pancreas 2006; 32 : 115–117.
 - 2) Ohara H, Nakazawa T, Sano H, Ando T, Okamoto T, Takada H, Hayashi K, Kitajima Y, Nakao H, Joh T. Systemic extra-pancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. Pancreas 2005; 31 :

232-237.

- 3) Aoki S, Nakazawa T, Ohara H, Hitoshi Sano, Nakao H, Joh T, Murase T, Eimoto T Itoh M. Immunohistochemical study of autoimmune pancreatitis using anti-IgG4 antibody and patients' sera. *Histopathology* 2005; 47 : 147-158.
 - 4) Nakazawa T, Ohara H, Sano H, Aoki S, Kobayashi S, Okamoto T, Nomura T, Joh T , Itoh M. Clinical differences between primary sclerosing cholangitis and sclerosing cholangitis with autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30 : 20-25.
 - 5) Okamoto T, Yamada T, Kuno A, Ogawa K, Tang M, Sano H, Ohara H, Nakao H, Kataoka H, Shirai T, Itoh M. FTY720, an immunosuppressant, attenuates chronic pancreatitis in rats suppressing T cell infiltration. *Pancreas* 2005; 30 : 64-70.
 - 6) Inui K, Tazuma S, Yamaguchi T, Ohara H, Tsuji T, Miyagawa H, Igarashi Y, Nakamura Y, Atomi Y. Treatment of pancreatic stones with extracorporeal shock wave lithotripsy. Results of a multicenter survey. *Pancreas* 2005; 30 : 26-30.
 - 7) 中沢貴宏, 佐野 仁, 大原弘隆. 自己免疫性膵炎. *Medicina* 2005; 42 : 1420-1423.
 - 8) 中沢貴宏, 大原弘隆, 佐野 仁, 安藤朝章, 岡本 哲, 高田博樹, 林 香月, 喜多嶋康弘, 中尾春寿, 城 卓志. 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の鑑別. *肝胆膵* 2005; 50 : 635-644.
 - 9) 中沢貴宏, 大原弘隆, 佐野 仁, 安藤朝章, 岡本 哲, 高田博樹, 林 香月, 喜多嶋康弘, 中尾春寿, 城 卓志. 自己免疫性膵炎に合併する胆管病変—胆管像による鑑別—. *消化器科* 2005; 41 : 284-288.
 - 10) 中沢貴宏, 大原弘隆, 佐野 仁, 安藤朝章, 岡本 哲, 高田博樹, 林 香月, 喜多嶋康弘, 祖父江 聡, 中尾春寿, 城 卓志. 自己免疫性膵炎に伴う硬化性胆管炎—原発性硬化性胆管炎(PSC)と比較して—. *胆と膵* 2005; 26 : 751-759.
2. 学会発表
 - 1) 青木 茂, 中沢貴宏, 佐野 仁, 大原弘隆, 安藤朝章, 岡本 哲, 久野 篤, 今井英人, 林 香月, 高田博樹, 城 卓志. 抗 IgG4 抗体および患者血清を用いた自己免疫性膵炎の免疫組織学的検討. 第 91 回日本消化器病学会総会, 東京 2005 年 4 月 14-16 日
 - 2) 高田博樹, 大原弘隆, 中沢貴宏. 内視鏡的膵管ステンティングの有効性の検討—偶発症とその対策を含めて—. 第 69 回日本消化器内視鏡学会総会, 東京 2005 年 5 月 26-28 日
 - 3) 今井英人, 中沢貴宏, 大原弘隆. ERCP 後膵炎の臨床的検討—診断と発症要因を中心に—. 第 36 回日本膵臓学会大会, 東京 2005 年 7 月 28-29 日
 - 4) 中沢貴宏, 佐野 仁, 大原弘隆. 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臨床病理学的検討. 第 41 回日本胆道学会, 岡山 2005 年 9 月 29-30 日
 - 5) 青木 茂, 中沢貴宏, 大原弘隆. 抗 IgG 抗体および患者血清を用いた自己免疫性膵炎の免疫組織学的検討. 第 47 回日本消化器病学会大会, 神戸 2005 年 10 月 5-7 日
 - 6) 岡本 哲, 山田珠樹, 喜多嶋康弘, 林 香月, 高田博樹, 久野 篤, 佐野 仁, 中沢貴宏, 大原弘隆, 伊藤 誠. 免疫抑制剤である FTY720 は, T 細胞の浸潤を抑えることにより慢性膵炎を抑制する. 第 47 回日本消化器病学会大会, 神戸 2005 年 10 月 5-7 日
 - 7) 佐野 仁, 大原弘隆, 中沢貴宏. ESWL を中心とした膵石症治療の長期予後. 第 47 回日本消化器病学会大会, 神戸 2005 年 10 月 5-7 日
 - 8) 高田博樹, 大原弘隆, 中沢貴宏. 内視鏡的ステンティングの有効性の検討. 第 47 回日本消化器病学会大会, 神戸 2005 年 10 月 5-7 日
 - 9) 安藤朝章, 中沢貴宏, 大原弘隆. 硬化性胆管炎と腹部臓器相関. 第 103 回日本消化器病学会東海支部例会, 名古屋 2005 年 12 月 3 日
 1. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
 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

自己免疫性膵炎の治療指針の検討と長期予後調査

研究報告者 田中滋城 昭和大学医学部第二内科学 助教授

共同研究者

吉田 仁, 新川淳一, 池上覚俊, 北村勝哉, 本間 直, 山崎貴久, 井廻道夫
(昭和大学医学部第二内科学)

今村綱男 (国家公務員共済組合連合会虎の門病院消化器科)

【研究要旨】

自己免疫性膵炎(autoimmune pancreatitis ; AIP)の治療指針の検討と長期予後調査を行った。AIP自験13例(年齢中間値62.2歳, 男女比9:4)をヒトAIPとして, *aly/aly* 雄性マウスをAIP自然発症動物モデルとして検討した。自己免疫異常をヒトAIPの成因と仮定すると, 血清自己抗体の陽性率は61.5%, 高IgG血症は84.6%, IgG4陽性率は72.7%であった。先行疾患に気管支喘息・アレルギー性鼻炎が5例あった。Prednisolone (PSL)治療の効果としてヒト膵における再生の解明を試みた。同意が得られたAIP症例から膵組織を採取しPSL投与中の膵再生を検討した。免疫組織化学的にKi-67で再生細胞を, pancreatic/duodenal homeobox-1 (Pdx-1)で膵progenitor細胞を識別した。PSL投与中膵腺房, 導管, ラ氏島細胞数は増加しKi-67陽性所見を認め, 膵progenitor細胞は導管様細胞であると推定された。一方, PSL投与後54.5%に膵萎縮がみられ膵石症をきたす例もあり, 治療過程で膵再生あるいは膵萎縮・膵石合併がいかにかに生じるかについては課題を残した。また, PSLによる副症状, 膵内・外分泌機能の経過には症例間で相違がみられ, 形態的相違である膵再生や萎縮との関連が推定された。さらに, PSL維持療法中または中止後にAIPの再燃が示唆される例があり, 再燃の診断基準とPSLの再開・増量基準の確立には, 各症例の経過観察のさらなる蓄積と多角的な診断法の検討が重要であると考えられた。AIPの長期予後として発症4年後に浸潤型膵管癌の合併が1例にみられ, PSLの奏効性などから予後良好と推察されていたAIPにも厳重な経過観察が必要と考えられた。

A. 研究目的

自己免疫性膵炎(AIP)診断基準2002が日本膵臓学会により提唱され¹⁾, その後主膵管狭細と膵腫大は「全膵管長の3分の1以上の」から「特徴的な」と改定され²⁾, 2005年には本研究班から治療についてのコンセンサスが発表された³⁾。AIP疑診例が減り, 発症初期よりAIPの診断と治療ができるようになった。一方, 時期尚早あるいは不要なPSLの投与が行われる可能性や, 膵管癌との厳密な鑑別診断の必要性が生じた。AIPの病因論としては, 初期は自己抗体陰性例が多く, IgG4関連疾患の膵症状と捉えている報告⁴⁾をみるが, 一定の見解に至るにはなお症例や基礎研究の蓄積が必要である。

AIPは一般的にはPSLが奏効し, 主症状である黄疸の改善はみられるが, 糖尿病の推移には症例間で相違があり, 形態的に膵萎縮を呈する症

例もあり, 治療過程や長期予後を十分に調査し検討する必要がある。

膵炎の修復・再生という観点からは, 急性膵炎の再生は動物モデルでは多数報告されているが, ヒト膵炎ではエビデンスが少ない。以前われわれはPSLによるヒトAIPの膵修復症例を組織所見で示した⁵⁾が, 再生における幹細胞の識別はなされていなかった。

本研究では, PSL投与中のヒトAIP膵組織から膵progenitor細胞の検出を試みた。また, PSL投与中の経過をAIP症例間で比較し, 再燃例を詳細に検討し, 膵形態の推移や合併症など一部動物モデルも併せて長期予後について検討した。

B. 研究方法

1. ヒトAIP

PSL投与前にEUSまたはCTガイド下で針生検

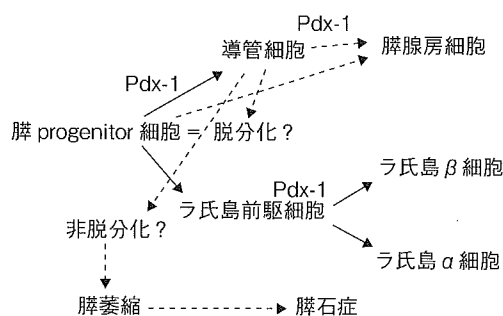


図1 ヒトAIPにおける膵再生・萎縮過程についての仮説

により採取した膵を治療前の膵とし、PSLを30 mg/日より開始し10 mg/日に漸減投与中に針生検により採取した膵を治療過程の膵として免疫組織染色に供した。AIPの炎症活動期をもとに修復期における膵再生と細胞分化過程を検討するため、細胞周期のS期、G₂期、M期に相当する細胞核を抗ヒトKi-67抗体により、膵progenitor細胞を抗pancreatic/duodenal homeobox-1(Pdx-1)抗血清(大阪大学大学院病態情報内科 梶本佳孝先生、金藤秀明先生よりご提供)により染色し検討した。また、長期予後として治療開始後最長8年間の血液検査と膵形態観察を行い、AIP再燃(IgG4再上昇かつ主膵管再狭細または膵再腫大を呈した症例)、膵萎縮、膵石の有無、悪性腫瘍などの合併症について検討した。

2. 動物モデル

AIPモデルには既報のようにaly/aly雄性マウス(alyマウス)を、対照にはaly/+雄性マウス(ともに日本クレア株式会社)を用いた。alyマウス膵の長期予後について120週齢マウスの膵組織を用い、炎症細胞浸潤、膵実質細胞の脱落につき検討した。

(倫理面への配慮)

臨床研究ではヘルシンキ宣言に準じ対象AIP症例の健康と権利を擁護しAIPの概念と診療を十分に説明し、書面にて同意が得られた患者に対して膵針生検を施行した。

動物実験は社団法人実験動物学会の指針に従いエーテル吸入による浅麻酔下でペントバルビタールを腹腔内注入し深麻酔下で開腹後膵を摘出し、心腔より脱血犠牲死した。なお、本動物実験は、昭和大学動物実験委員会による動物実験承認のもとで施行された。

C. 研究結果

1. AIP自験例(ヒトAIP)

AIP 13例の年齢中間値は62.2歳、男女比は9:4であった。自己抗体陽性率は61.5% (8例)、高IgG血症($\geq 1,800$ mg/dl)は84.6% (11例)、IgG4陽性(≥ 135 mg/dl)は72.7% (11例中8例)であった。先行疾患として、気管支喘息、アレルギー性鼻炎を5例に認めた。治療についてはPSLが84.6% (11例)に投与され、無治療緩解例は15.4% (2例)であった。PSL投与中膵腺房細胞、導管細胞核およびラ氏島細胞核にKi-67陽性所見を認め、また、特に導管様細胞に一致してPdx-1陽性所見を認めた(図1)。PSL投与中の耐糖能異常または糖尿病の改善は2例、増悪は6例であった。

PSL前後での膵組織再生所見を2例(2例中)に認め、外分泌機能(BT-PABA試験)の改善を5例(9例中)に認めた。PSL長期投与11例のうち膵萎縮を54.5% (6例)に、膵石症を9.1% (1例)に認めた。PSL自己中止1例は膵萎縮を呈した。悪性腫瘍の合併は3/13例(23.1%)であり、膵管癌の合併を1/13例(7.7%)に認めた。

IgG4再上昇例は5/13例(38.5%)に認められた。PSL開始量の内訳は30 mg/日が4例であり、40 mg/日が1例で、この症例はITPを合併していた(図2, 3)。AIPの再燃をIgG4再上昇かつ主膵管再狭細または膵再腫大と定義した場合、PSL開始量が30 mg/日の2例(15.4%)に再燃を認めた(図2, 3)。

2. AIP動物モデル(aly/aly雄性マウス)

2年以上の長期生存個体の膵組織を検討したが、炎症細胞浸潤、膵内・外分泌細胞の萎縮、脱落いずれも認めなかった。

初期投与量	PSL 30 mg/日	PSL 40 mg/日	PSL (-)
再燃指標 \ 症例数	10 例	1 例	2 例
IgG, IgG4 再上昇 IgG4(中間値) mg/dl 他疾患の合併 再上昇時PSL 維持,増量時PSL	4 例 166 ~615 (373) (MALToma 1) 0~7.5 mg/日 0~15 mg/日	1 例 967 (ITP 1) 10 mg/日 30 mg/日	0
AIP再燃疑診 再上昇時PSL 維持,増量時PSL	2 例 0~2.5 mg /日 0~10 mg /日	0	0
AIP再燃確診 確診の根拠 再上昇時PSL 維持,増量時PSL	2 例 (膵管狭細1, 膵腫大1) 5~7.5 mg /日 5~15 mg /日	0	0

図2 AIP自験例におけるIgG4再上昇例の治療内容

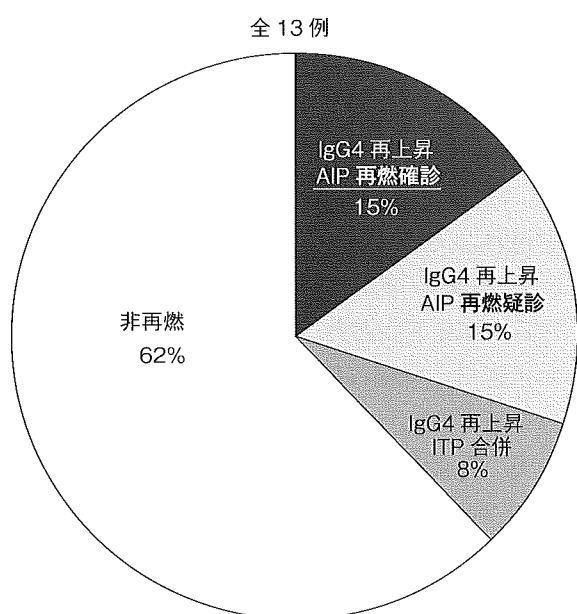


図3 AIP自験13例におけるIgG4再上昇例の内訳

D. 考察

ヒトAIPの膵組織を用いてPSL投与中の膵再生過程を観察し、膵progenitor細胞は導管細胞に類似した形態を呈する導管様細胞であると推定された。ヒト膵炎では脱分化あるいは傷害膵内に遺残した導管様細胞から、内・外分泌細胞の再生が始まり、再分化が成立し膵が修復されると考えられた(図1)。一方、PSL投与例で糖尿病の増悪や膵萎縮は過半数に生じ膵石症合併をきたす例もあり、脱分化過程またはその後の膵再生過程にcytokineなどの液性因子を介した障害が生じた可能性が推測された。

AIPの再燃に関しては、PSL維持療法中や中止後に血清IgG4の再上昇をきたした例は38.5%、加えて主膵管の再狭細または膵の再腫大をきた

しAIPの再燃確診と考えられた例が15.4%、形態学的に主膵管再狭細または膵再腫大を呈さず、血液検査でも血清総/直接bilirubinまたは胆道系酵素再上昇を伴わず再燃疑診と推測された例が15.4%であり、AIP再燃確診・疑診両群間でPSLの投与量や投与期間に有意差はなかった。先の本研究班調査ではPSL維持療法後中止例に再燃が多くみられたが、治療前の血清IgG4などに有意差はなかった³⁾。自験再燃例では気管支喘息などのアレルギー性疾患の罹病期間が長く関連性が推定されたが、再燃の関連因子の確定には至っていない。AIPの再燃の診断基準、PSLの適切な維持量や中止基準の確立には、今後さらなる詳細な検討が必要であると考えられた。

AIPの長期予後として、悪性腫瘍の合併がみられた3例のうち1例に浸潤型膵管癌の合併がみられた。AIP発症4年後に切除した膵組織の非癌部には、リンパ球浸潤を伴う中等度の膵炎所見が残存しており、PSLの奏効性に疑問を残した。浸潤型膵管癌の合併例は、われわれが考えていた“比較的予後良好な”AIPの診療に重大な問題点を喚起した。

E. 結論

PSL維持療法中または中止後にAIPの再燃が示唆される例があり、再燃(確診・疑診)の診断基準とPSLの再開・増量基準の確立には、各症例の経過観察のさらなる蓄積と多角的な診断法の検討が重要であると考えられた。PSL投与による副症状、膵内・外分泌機能には症例間で相違がみられ、膵の再生や萎縮との関連が推定さ

れた。AIPの長期予後としてAIP発症4年後に浸潤型膵管癌の合併が1例にみられ、PSLの奏効性などから予後良好と推察されていたAIPにも嚴重な経過観察が必要と考えられた。

F. 参考文献

1. 日本膵臓学会診断基準検討委員会. 日本膵臓学会自己免疫性膵炎診断基準2002. 膵臓 2002; 17: 585-587.
2. 厚生労働省難治性膵疾患調査研究班(大槻 眞 班長)自己免疫性膵炎診断基準改定案作成委員. 自己免疫性膵炎診断基準の改定案. 膵臓 2005; 20: 560-563.
3. 西森 功, 岡崎和一, 須田耕一, 川 茂幸, 神澤輝実, 田中滋城, 大原弘隆, 白鳥敬子, 成瀬達, 伊藤鉄英, 小泉 勝, 大槻 眞. 自己免疫性膵炎の治療—厚生労働省難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患調査研究班の自己免疫性膵炎の治療に関するコンセンサス—. 膵臓 2005; 20: 343-348.
4. Kamisawa T, Okamoto A, Funata N. Clinicopathological features of autoimmune pancreatitis in relation to elevation of serum IgG4. Pancreas 2005; 31: 28-31.
5. Saito T, Tanaka S, Yoshida H, Imamura T, Ukegawa J, Seki T, Ikegami A, Yamamura F, Mikami T, Aoyagi Y, Niikawa J, Mitamura K. A case of autoimmune pancreatitis responding to steroid therapy. Evidence of histologic recovery. Pancreatology 2002; 2: 550-556.

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 北村勝哉, 吉田 仁, 山崎貴久, 本間 直, 今村綱男, 池上覚俊, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎の重症度判定基準の再検討と新たな予後因子の有用性. 荒川泰行編. 消化器病学の進歩 2005 —モノグラフ肝・胆・膵編. メディカルレビュー社, 東京 2005; 161-164.
- 2) 北村勝哉, 吉田 仁, 山崎貴久, 本間 直, 今

村綱男, 池上覚俊, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎の合併症と予防法. 消化と吸収, 2005; 28: 23-29.

2. 学会発表

- 1) 本間 直, 吉田 仁, 山崎貴久, 北村勝哉, 埜勝博, 今村綱男, 池上覚俊, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. ラット急性膵炎における protease-activated receptor (PAR) -2 の関与. 第 91 回日本消化器病学会総会, 東京 2005 年 4 月 14-16 日
- 2) 北村勝哉, 吉田 仁, 今村綱男, 池上覚俊, 埜勝博, 本間 直, 山崎貴久, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎合併膵嚢胞および膵性腹水に対する経乳頭のドレナージの有用性. 第 69 回日本消化器内視鏡学会総会, 東京 2005 年 5 月 26-28 日
- 3) 本間 直, 吉田 仁, 山崎貴久, 北村勝哉, 埜勝博, 今村綱男, 池上覚俊, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. ラット急性膵炎における macrophage/ 単球の動員と PAR-2 の関与. 第 36 回日本膵臓学会大会, 東京 2005 年 7 月 28-29 日
- 4) 北村勝哉, 吉田 仁, 山崎貴久, 本間 直, 今村綱男, 池上覚俊, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎の合併症の治療法と予防法. 第 47 回日本消化器病学会大会, 神戸 2005 年 10 月 5-8 日
- 5) 吉田 仁, 鈴木 裕, 三井秀雄, 杉山政則, 跡見裕, 山崎貴久, 本間 直, 北村勝哉, 池上覚俊, 新川淳一, 田中滋城, 井廻道夫. 限局性主膵管狭窄を呈した自己免疫性膵炎の一例. 第 287 回日本消化器病学会関東支部例会, 東京 2005 年 12 月 9-10 日
- 6) 山崎貴久, 北村勝哉, 吉田 仁, 本間 直, 池上覚俊, 倉橋利徳, 田中滋城, 井廻道夫. 術前診断にて膵管内乳頭腫瘍との鑑別に苦慮した慢性膵炎の 1 例. 第 287 回日本消化器病学会関東支部例会, 東京 2005 年 12 月 9-10 日

1. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

4. 胰囊胞線維症

わが国における Cystic Fibrosis 患者の *CFTR* 遺伝子変異検索

研究報告者 吉村邦彦 国家公務員共済組合連合会虎の門病院呼吸器センター内科 部長

共同研究者

安斎千恵子（国家公務員共済組合連合会虎の門病院呼吸器センター内科）

衛藤義勝（東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部門）

【研究要旨】

およそ80%と極めて高率に膵外分機能障害(pancreatic insufficiency)を伴う嚢胞性線維症(cystic fibrosis; CF)は、従来わが国では稀な疾患と考えられていたが、その臨床的実態と原因遺伝子 *CFTR* の変異様相は、次第に明らかにされつつある。PCR増幅および直接塩基配列解析を用いた遺伝子変異の検出により、これまですでにわが国の約20例のCF症例においてその遺伝子変異が確認された。この中でわれわれが解析し得た症例はこれまで17例に及ぶ。日本人のCF患者における *CFTR* 遺伝子変異は、これまで世界的に報告のない新規の変異もしくは、世界的にもかなり稀なものが大半を占め、欧米人の *CFTR* 変異スペクトラムと極めて様相を異にしている。またこのうち一部の症例では同一の遺伝子変異が共通に検出されてきている。今後も日本人CF症例をさらにできる限り多く集積・解析し、原因となる *CFTR* 遺伝子の病的変異の種類や頻度を明らかにしたうえで、日本独自の遺伝子変異スクリーニング体制を確立していきたい。

A. 研究目的

嚢胞性線維症(cystic fibrosis, CF)は肺、膵臓、消化管などの全身の外分泌管腔臓器を冒す常染色体劣性遺伝性疾患であり、cAMP依存性Cl⁻イオンチャネル*CFTR*をコードする遺伝子の突然変異に起因する¹⁻⁵⁾。CFは欧米白人種に高率に発症するが、一方日本人を含む東洋人種におけるCFの発症頻度は極めて低いとこれまで考えられていた³⁾。わが国のCF症例に関しては昭和57年からの厚生省特定疾患難治性膵疾患研究班による全国調査の結果、29例の確診例が報告されているが⁶⁾、Yamashiroら⁷⁾の報告によるとわが国ではこれまでに文献的に約120例のCF臨床診断例が記載され、発症頻度も出生35万人あたり1人程度と推定された。これはハワイ在住の東洋人でのCF発症頻度(出生9万人以上あたり1人)と概ね矛盾しないため⁸⁾、これらを勘案するとおよそ出生10万人あたり1人程度の発症率と考えられる。わが国の患者における *CFTR* 遺伝子変異解析に関して、過去にはDNA検体の得られた患者でのΔF508など欧米で頻度の高い数種の変異検索、ないしは限られたエクソンでのPCR増幅-single strand conformation polymorphism

(SSCP)解析などが検討されたのみであり、有意な *CFTR* 遺伝子異常は確認されないまま、その変異状況は長い間不明であった^{3,6)}。その後の解析から明らかになるように、この主要な理由はわが国のCF患者における *CFTR* 変異が欧米のそれらと比較した場合に、変異の頻度もさることながら、そのスペクトラムが全く異なっているためであった。しかしながら、このような経緯の中、数年前から漸くわが国での *CFTR* 変異の状況が明らかにされてきている^{3,6)}。著者らはPCR-SSCP法、直接シーケンス法などによる27エクソンすべての変異検出体制を確立し、当研究班によるわが国での全国調査で集積された症例などを中心にCF確診例ないし疑診例の *CFTR* 遺伝子変異検索を進めてきた^{3,6)}。この結果、これまでに合計17例のCF症例において遺伝子変異を確認し得た。欧米でも極めて稀な変異や、これまで全世界のCF Mutation Database (CFMD)に登録記載のない *CFTR* 変異が大半を占めている^{9,10)}。

B. 研究方法

今年度1例の新規男性CF患者における *CFTR*

表1 わが国でこれまでに確認されたCF症例の臨床的特徴とそのCFTR遺伝子変異

Case	Age	Sex	PI/PS	Cl-	Mutation	Exon	Mutation	Exon	Outcome
1	15y	F	PI	201	H1085R	17b	H1085R	17b	alive
2	1y5m	F	PI	126	M152R	4	1540del10	10	alive
3	1y1m	F	PI	ND	Δ F508	10	L571S	12	deceased
4	15y	M	PI	74	125C	1	Q98R	4	alive
5	42y	F	PS	ND	E217G	4	Q1352H	22	deceased
6*	21y	M	PI	166	125C	1	L441P	9	alive
7*	16y	F	PI	100	125C	1	L441P	9	deceased
8	9y	F	PI	166	1540del10	10	1540del10	10	alive
9*	30y	M	PS	403	125C+T1086I	1, 17b	125C+T1086I	1, 17b	alive/ABPA
10*	28y	F	PS	ND	125C+T1086I	1, 17b	125C+T1086I	1, 17b	alive
11	17y	F	PS	ND	R75X	3	R347H	7	alive
12	26y	F	PI	121	E267V	6b	T663P	13	alive/TP
13	28y	M	PI	117	125C	1	460insAT	4	deceased
14	11y	M	PI	154	125C+dele16-17b	1,16-17b	125C+dele16-17	1,16-17b	deceased
15	24y	F	PI	91	L548Q	11	2848delA	15	alive
16	2y	F	PI	ND	L441P	9	ND	?	deceased
17	18y	M	PS	93	dele16-17b	16-17b	V1318I+dele16-17b	16-17b,21	alive/ABPA

PI/PS: pancreatic insufficiency/sufficiency, CP: consanguineous parents, * siblings, TP: live lung transplantation, ABPA: allergic bronchopulmonary aspergillosis

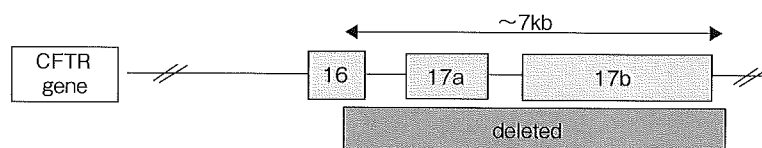


図1 CFTR遺伝子のエクソン16, 17a, 17bを含む約7 kbの欠失
本症例は両アリルに同一の変異が存在するホモ接合体である。

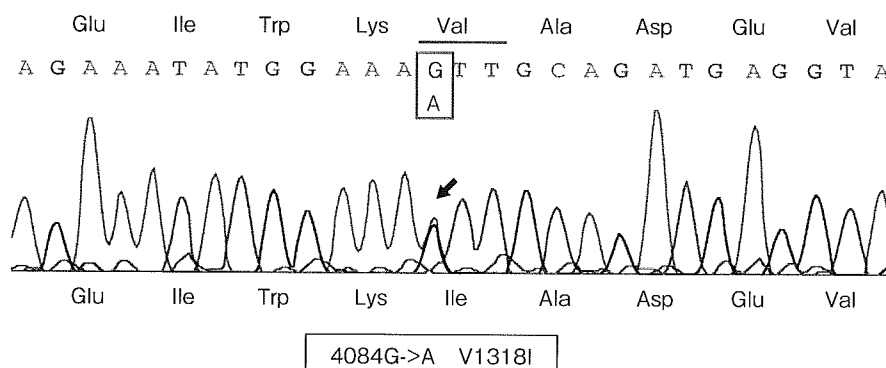


図2 CFTR遺伝子エクソン21のV1318I missense 変異

遺伝子変異を解析した。症例は解析時18歳で、両親の血族結婚はなく満期正常分娩であった。4歳時より気道炎症症状あり、気管支喘息の診断を受けた。以後も複数回の肺炎と気胸の入院治療歴がある。喀痰中には黄色ブドウ球菌、緑膿菌を持続的に排出し、また血中IgE値が高値で、抗アスペルギルスIgE、IgG抗体が高く、臨床的にアレルギー性気管支肺アスペルギルス症(ABPA)の合併が疑われていた。胎便イレウスの既往はなく、また明らかな膵機能不全の合併は

なかったが、両側精管欠損に伴う無精子症を合併していた。当院にて施行した汗試験でCl⁻ 93 mEq/Lであり、典型的なCFと臨床診断された。(倫理面への配慮)

CFTR遺伝子変異検索の臨床的、遺伝学的意義を説明のうえ、同意を取得した。

C. 研究結果

今回提示した症例(表1の症例17)の遺伝子変異解析では、まずエクソン16, 17a, 17bに至る約

7 kb長の広範な欠失(deletion)がホモ接合体で認められた(図1). また, 1つのアレルのエクソン21にミスセンス変異V1318Iが認められた. 前者のdele16-17bは, カナダのTorontoのHospital for Sick ChildrenのChevalier-Porstらが2000年に日系のCF患者から検出した変異として報告しているものであり, わが国でもこれまでに一例の今回の症例とは血縁関係のないCF症例で確認されている⁶⁾(表1の症例14).

後者の変異はcDNAの4084番目の塩基にG->Aの置換が起こり, その結果1318番目のアミノ酸コドンがバリンからイソロイシンに置き換わったものである(図2). これまで, CMDBには報告のない変異である.

われわれの施設においてCFTR遺伝子変異解析が行われ, 現時点までに変異が突き止められたCF症例の一覧を表1に示す. このうち6例が同一変異を両アレルに有するホモ接合体, また, 11例が2種以上の異なった変異を2つのアレルに有する複号ヘテロ接合体であった. 表2に全17症例におけるアレル頻度を示した.

D. 考察

わが国のCF研究は, 本研究班およびその前身である厚生省特定疾患難治性肺疾患調査研究班を中心に進められ, 主に肺機能不全を呈した重症例の集積と全国施設での実態調査などに主眼が置かれてきた. しかしながら, これら症例における原因遺伝子CFTRの変異解析と遺伝子診断に関しては必ずしも十分ではなかった. 近年わが国においても変異検出体制が確立され, 着実に変異の様相が明らかにされつつある^{3,6,9,10)}. 今年度研究でも改めて明らかにされたように, すでに全世界では1,400種以上の変異が報告されているにもかかわらず, わが国のCF患者におけるCFTR遺伝子変異は極めて稀なもの, あるいはこれまで報告のないものが大半を占め, 欧米人の変異スペクトラムと全く様相を異にしている^{3,6)}. したがって欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異は検出され得ない. 一方, CFTRが成因や病態の形成に関わる, いわゆるCFTR-関連疾患は多岐にわたり, さらにその概念が拡大しつつある³⁾. 例えば, 男性不妊の先天

表2 わが国のCF症例のCFTR遺伝子変異のアレル頻度

125C	10
T1086I	4
dele16-17b	4
1540del10	3
L441P	3
H1085R	2
R75X	1
Q98R	1
M152R	1
E217G	1
460insAT	1
E267V	1
R347H	1
deltaF508	1
L548Q	1
L571S	1
T663P	1
2848delA	1
Q1352H	1
V1318I	1

(ホモ接合体 6例, 複号ヘテロ接合体 11例)

性両側精管欠損症(CBAVD)¹¹⁾, びまん性汎細気管支炎(DPB)¹²⁾, 慢性膀胱炎, 慢性副鼻腔炎¹³⁾などでは, 健常者やその他の疾患対照に比べ明らかに変異CFTR対立遺伝子の保有率が高いことがこれまでに明らかにされており, さらにその範疇に属する疾患の概念が拡大している³⁾.

E. 結論

世界上の地理, 人種や民族によりCFTR変異のスペクトラムが大きく異なっている. したがって, 診断や保因者スクリーニングのうえで, 対象集団の人種, 民族性が極めて重要である. 今後わが国の日本人CF症例について本研究班を中心に, さらに単一臓器病変のみを呈するCFTR-関連疾患にもその対象を広げて, できる限り多く解析し, 原因となるCFTR遺伝子の病的変異の種類, 頻度を明らかにし, わが国独自の, 疾患特異的なスクリーニング体制をさらに確立していかなければならないものと考えられる.

F. 参考文献

1. Welsh MJ, Tsui L-C, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, 7th edn. McGraw-Hill, New

- York, 1995; 3799–3876.
2. Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. *Science* 1992; 256 : 774–779.
 3. 吉村邦彦. のう胞性線維症. *日内会誌* 2003; 92 : 1198–1205.
 4. Tsui L-C. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 : S47–S53.
 5. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>.
 6. 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. 日本人嚢胞性線維症症例のCFTR遺伝子変異解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性腺疾患に関する調査研究 平成16年度総括・分担研究報告書 2005; 265–268.
 7. Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, Shioya T, Nagata S, Ohtsuka Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24 : 544–547.
 8. 吉村邦彦. 日本人におけるCystic Fibrosisの実態とそのCFTR遺伝子変異. *Ther Res* 2005; 26 : 1467–1475.
 9. Yoshimura K, Wakazono Y, Iizuka S, Morokawa N, Tada H, Eto Y. A Japanese patient homozygous for the H1085R mutation in the CFTR gene presents with a severe form of cystic fibrosis. *Clin Genet* 1999; 56 : 173–175.
 10. Morokawa N, Iizuka S, Tanano A, Katsube A, Muraji T, Eto Y, Yoshimura K. Severe cystic fibrosis in a Japanese girl caused by two novel CFTR gene mutations M152R and 1540del10. *Hum Mut, Mutation and Polymorphism Report* #109, 2000 (online) .
 11. Anzai C, Yoshimura K, Morokawa N, Okada H, Kamidono S, Eto Y. High prevalence of mutations of the CFTR gene in Japanese individuals with congenital bilateral absence of the vas deferens. *J Cystic Fibrosis* 2003; 2 : 14–18.
 12. Yoshimura K, Iizuka S, Anzai C, Morokawa N, Tanabe O, Kojima A, Nakata K, Eto Y. Diffuse panbronchiolitis is closely associated with mutations of the CFTR gene. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161 : A77.
 13. 吉村邦彦, 坂本 晋. Cystic fibrosisと鼻・副鼻腔病変. *JOHNS* 2003; 19 : 920–824.
- G. 健康危険情報**
該当なし
- H. 研究発表**
1. 論文発表
 - 1) 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. 日本人嚢胞性線維症症例のCFTR遺伝子変異解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性腺疾患に関する調査研究 平成16年度総括・分担研究報告書 2005; 265–268.
 - 2) 宮本 篤, 安斎千恵子, 高谷久史, 杉野圭史, 坂本 晋, 泉川公一, 川畑雅照, 岸 一馬, 坪井永保, 本間 栄, 吉村邦彦. CFTR遺伝子変異のホモ接合体を呈するCystic Fibrosisの2症例. *Therapeutic Research* 2005; 26 : 1453–1456.
 - 3) 吉村邦彦. 日本人におけるCystic Fibrosisの実態とそのCFTR遺伝子変異. *Therapeutic Research* 2005; 26 : 1467–1475.
 2. 学会発表
 - 1) 安斎千恵子, 児島 章, 宮本 篤, 坂本 晋, 高谷久史, 川畑雅照, 岸 一馬, 坪井永保, 本間 栄, 衛藤義勝, 吉村邦彦. 日本人cystic fibrosis患者におけるCFTR遺伝子変異解析. 第45回日本呼吸器学会学術講演会, 幕張2005年4月14–16日.
- I. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)**
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

膵嚢胞線維症における $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ Exchanger

研究報告者 成瀬 達 名古屋大学大学院消化器内科学 助教授

共同研究者

洪 繁, 吉川俊之, 二口祥子, 北川元二 (名古屋大学大学院消化器内科学)

山本明子, 石黒 洋, 中莖みゆき, 近藤孝晴 (名古屋大学大学院健康栄養医学)

【研究要旨】

嚢胞線維症(cystic fibrosis; CF)では、膵導管細胞からの HCO_3^- と水の分泌が低下し、膵液が酸性化する。CFの原因遺伝子であるCFTRは、膵では導管細胞の管腔膜に発現し HCO_3^- 分泌に中心的な役割を果たしている。本年度は、CFの動物モデル(ΔF マウス)から単離した小葉間膵管を用いて細胞内pHを測定することにより、管腔膜の $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchanger (NHE)の調節機構を検討した。膵導管細胞においては、通常は正常CFTRが管腔膜のNHEを抑制しているが、CFTR機能が障害されている ΔF マウスでは、管腔膜NHEの活性が大きくcyclic AMP (cAMP)によってさらに増大することがわかった。CFの膵では、管腔膜 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchangerが膵液の酸性化に関与している可能性がある。

A. 研究目的

嚢胞線維症(cystic fibrosis; CF)は、CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)遺伝子変異を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である。CFTRは、全身の上皮膜細胞の管腔膜に発現しcAMPにより活性化される Cl^- チャネルである。CFTR遺伝子変異により、CFTR蛋白の合成、調節機能、あるいはチャネル機能が障害されると、上皮膜を介する陰イオン輸送、水輸送が障害される。膵臓では、膵導管細胞からの HCO_3^- と水の分泌が減少し、膵液が酸性化する。CFTR exon 10ノックアウトマウスでは、セクレチン刺激後の十二指腸液(≡膵液)のpHが6.6と酸性に傾く(wild typeマウスでは8.1)と報告されている¹⁾。

細胞外の Na^+ と交換で細胞内の H^+ を排出する $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchanger (NHE)は、SLC9ファミリーに属し²⁾9つのisoformがある。NHE1は多くの臓器に発現しており、細胞内pHが酸性に傾いたときに活性化され、細胞内pHを一定に保つ役割を果たしている。NHE3は、上皮膜細胞の管腔膜に局在し、生理的条件下においても管腔膜を介して(Na^+ の濃度勾配を利用して) H^+ を分泌しており、重要な生体機能を担っている。近位尿細管では尿の酸性化(HCO_3^- の再吸収)を担って

いる。最近、マウスの(十二指腸に近い)太い膵管の管腔膜にNHE3が発現していると報告されている³⁾が、その生理的役割は不明である。

本年度は、欧米人のCFTR遺伝子変異の70%を占める $\Delta F508$ 変異を導入した ΔF マウスから小葉間膵管を単離し、膵導管細胞における管腔膜NHE活性を測定した。管腔膜NHEのCFTRによる制御機構を明らかにし、膵液の HCO_3^- 分泌の低下さらには酸性化への関与を検討した。

B. 研究方法

1. ワイルドタイプ(WT/WT)、 ΔF ホモ接合体マウス($\Delta F/\Delta F$)から膵臓を摘出し、コラゲナーゼで処理した後、実体顕微鏡下で直径約100 μm の小葉間膵管を単離した。

2. 単離膵管を $\text{HCO}_3^- - \text{CO}_2$ を含まないHepes緩衝液で($\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$ cotransportと $\text{Cl}^- - \text{HCO}_3^-$ exchangeの影響を除外するため) 37°Cにて表層灌流し、管腔を別個に灌流(microperfusion)した。pH感受性蛍光色素であるBCECFを用いたmicrofluorometryにより細胞内pHを測定した。 NH_4^+ パルスによる酸負荷後、管腔側に Na^+ を加えたときの細胞内pHの回復速度(dpH/dt)を測定し、管腔膜のNHE活性の指標とした。

3. adenylylate cyclaseを刺激するforskolinを用

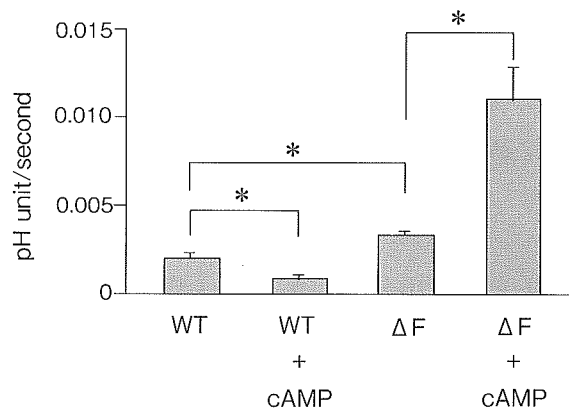


図1 wild type マウス (WT/WT) および CF マウス ($\Delta F / \Delta F$) の管腔膜 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange 活性と cAMP 刺激の効果 (*; $p < 0.01$)

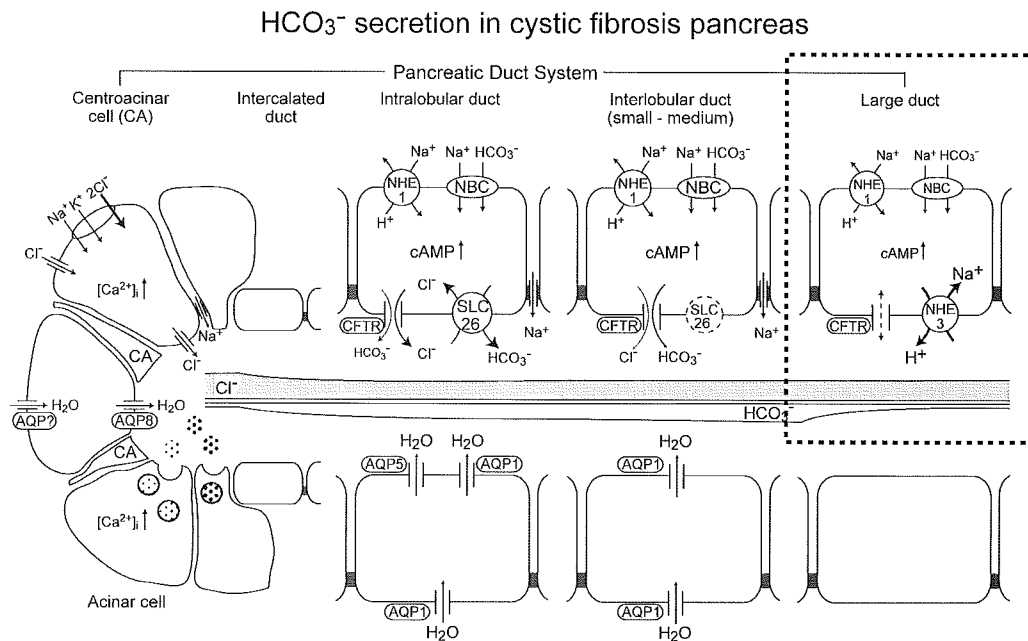


図2 嚢胞線維症の膵 HCO_3^- 分泌障害における管腔膜 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange

いて、cAMPによる調節機構を調べた。また、NHE阻害剤(HOE642)を用いて、NHE阻害薬の治療薬としての可能性を検討した。(倫理面への配慮)

動物実験は名古屋大学医学部動物実験委員会の承認(承認番号;17049)を受けて行った。 ΔF マウスを用いた研究については、名古屋大学医学部組換えDNA安全委員会による承認(承認番号;99-20)を得て行った。

C. 研究結果

1. Wild type マウス (WT/WT) の膵導管細胞管腔膜 NHE 活性と cAMP 刺激の効果

管腔膜 NHE の活性は、 0.0020 ± 0.0002 pH unit/sec (mean \pm SD, $n = 8$) であり、HOE642

($100 \mu\text{M}$) によりほぼ完全に抑制された。forskolin ($1 \mu\text{M}$) を加えると、管腔膜 NHE 活性は 0.0008 ± 0.0002 pH unit/sec ($n = 9$) と有意に ($p < 0.01$) 抑制された(図1)。

2. CF マウス ($\Delta F / \Delta F$) での膵導管細胞管腔膜 NHE 活性と cAMP 刺激の効果

管腔膜 NHE の活性は 0.0033 ± 0.0002 pH unit/sec ($n = 6$) であり、wild type (WT/WT) に比べて有意に ($p < 0.01$) 高かった。forskolin ($1 \mu\text{M}$) を加えると、管腔膜 NHE 活性は 0.0110 ± 0.0018 pH unit/sec ($n = 6$) とさらに増大した(図1)。

D. 考察

腺房に近い proximal duct では、 HCO_3^- の分泌