

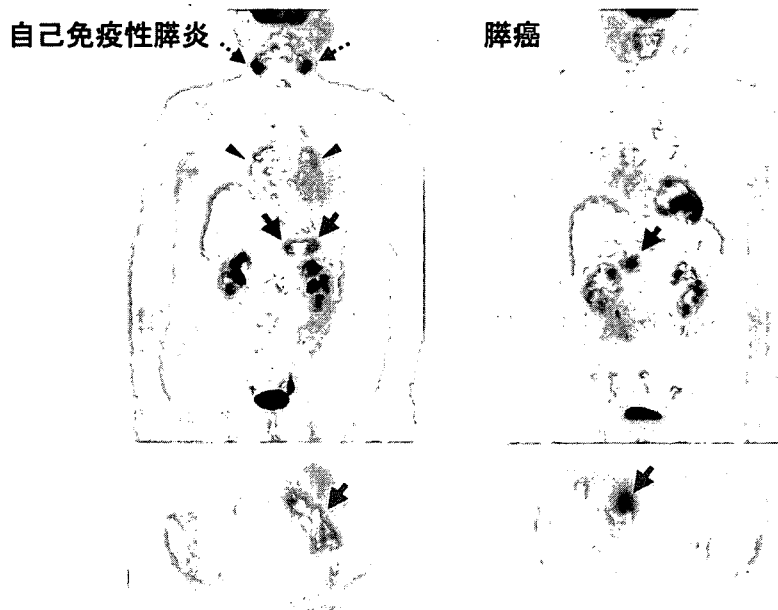


図1 自己免疫膵炎，膵癌症例のFDG-PET所見

従来，膵癌でのFDG集積の陽性率は90%以上と高く^{8,13)}，今回自己免疫性膵炎より低い要因については不明であった．自己免疫性膵炎全例でFDG集積を認めたことは，FDG-PETが炎症部位でも集積することを示している．慢性膵炎でも肉芽組織での集積が報告されている¹⁴⁾．自己免疫性膵炎へのFDG集積は病変局所へ浸潤している炎症細胞に起因すると考えられる．

FDG-PETによる良悪性の鑑別としてSUV maxが有用という報告があるが⁸⁾，今回の検討からはearly, delayed両時相とも有用性を認めなかった．一方，FDG集積の形状，集積パターン，局在などの集積様式が両者の鑑別に有用であった．自己免疫性膵炎での典型的なFDG集積は辺縁不整で，びまん性で，不均一で，多発であり，膵癌での典型的なFDG集積は辺縁整で，結節状で，均一で，単発であった．また，膵外病変への集積は自己免疫性膵炎では特徴的であった．したがって，FDGの集積様式と膵外病変への集積状況を総合的に評価することが，両者の鑑別に有用と考えられた¹⁵⁾．

E. 結論

集積パターンや膵外病変への集積状態を総合的に考慮することにより，FDG-PETを施行された症例の中から，自己免疫性膵炎が疑われる症例を選別可能であると考えられる．これらの症例に対して，IgG4測定やその他の画像診断法を

併用することにより自己免疫性膵炎の診断は可能と考えられる．

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: 1561-1568.
2. Erkelens GW, Vleggar FP, Lesterhuis W, van Buuren HR, van der Werf SD. Sclerosing pancreatico-cholangitis responsive to steroid therapy. *Lancet* 1999; 354: 43-44.
3. Horiuchi A, Kawa S, Hamano H, Ochi Y, Kiyosawa K. Sclerosing pancreato-cholangitis responsive to corticosteroid therapy: report of 2 case reports and review. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 518-522.
4. 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: 732-738.
5. Kawa S, Hamano H, Kiyosawa K. Pancreatitis. In: Rose NR, MacKay IR, editors. *The autoimmune diseases*. 4th ed. St Louis: Academic Press; 2006; P779-786.
6. Abraham SC, Wilentz RE, Yeo CJ, Yeo

- CJ, Sohn TA, Cameron JL, Boitnott, et al. Pancreaticoduodenectomy (Whipple Resection) in patients without malignancy. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 110–120.
7. Delbeke D, Rose DM, Chapman WC, Pinson CW, Wright JK, Beauchamp RD, et al. Optimal interpretation of FDG PET in the diagnosis, staging and management of pancreatic carcinoma. *J Nucl Med* 1999; 40: 1784–1791.
 8. Imdahl A, Nitzsche E, Krautmann F, Hogerle S, Boos S, Einert A, et al. Evaluation of positron emission tomography with 2-[18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose for the differentiation of chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Br J Surg* 1999; 86: 194–199.
 9. Nakamoto Y, Higashi T, Sakahara H, Tamaki N, Kogire M, Doi R, et al. Delayed (18)F-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography scan for differentiation between malignant and benign lesions in the pancreas. *Cancer* 2000; 15; 89: 2547–2554.
 10. Higashi T, Saga T, Nakamoto Y, Ishimori T, Fujimoto K, Doi R, et al. Diagnosis of pancreatic cancer using fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG PET) –usefulness and limitations in "clinical reality". *Ann Nucl Med* 2003; 17: 261–279. Review.
 11. Nakamoto Y, Sakahara H, Higashi T, Saga T, Sato N, Okazaki K, et al. Autoimmune pancreatitis with F-18 fluoro-2-deoxy-D-glucose PET findings. *Clin Nucl Med* 1999; 24: 778–780.
 12. Nakamoto Y, Saga T, Ishimori T, Higashi T, Mamede M, Okazaki K, et al. FDG-PET of autoimmune-related pancreatitis: preliminary results. *Eur J Nucl Med* 2000; 27: 1835–1838.
 13. Sperti C, Pasquali C, Decet G, Chierichetti F, Liessi G, Pedrazzoli S. F-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in differentiating malignant from benign pancreatic cysts: a prospective study. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 22–28.
 14. Kubota R, Yamada S, Kubota K, Ishiwata K, Tamahashi N, Ido T. Intratumoral distribution of fluorine-18- fluorodeoxyglucose in vivo: high

accumulation in macrophages and granulation tissues studied by microautoradiography. *J Nucl Med* 1992; 33: 1972–1980.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ozaki Y, Oguchi K, Hamano H, Arakura N, Muraki T, Kiyosawa K, Momose M, Miyata K, Aizawa T, Kawa S. Differentiation of autoimmune pancreatitis from suspected pancreatic cancer by FDG-PET. *J Gastroenterol* 2008; 43: 144–151.

2. 学会発表

- 1) 尾崎弥生, 浜野英明, 北原 桂, 高山真理, 新倉則数, 川 茂幸, 宮田和信, 相澤孝夫 FDG-PET による自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別について. 第 93 回消化器病学会総会, 青森 2007 年 4 月 19–21 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

膵癌周囲にみられる組織学的変化と自己免疫性膵炎の比較検討

研究報告者 能登原憲司 倉敷中央病院病理検査科 部長

共同研究者

和仁洋治, 津嘉山朝達 (倉敷中央病院病理検査科)

藤澤真義 (姫路赤十字病院検査部), 小嶋基寛 (国立がんセンター東病院)

伴 慎一, 清水道生 (埼玉医科大学国際医療センター病理診断科)

浜野英明 (信州大学医学部消化器内科), 上原 剛 (信州大学医学部附属病院臨床検査部)

加藤 洋 (癌研究会癌研究所病理部)

【研究要旨】

自己免疫性膵炎(autoimmune pancreatitis; 以下AIP)は臨床的に膵癌と鑑別困難で、鑑別的手段として、膵生検が注目されている。しかしながら、膵癌周囲にみられる炎症巣が生検時に採取され、誤ってAIPと判定されてしまう危険性もある。そこで私たちは、AIP16例と膵管癌52例の切除材料を用い、AIPと膵癌随伴性変化を組織学的に比較検討した。炎症細胞浸潤は膵管癌症例の約1/3で比較的高度であったが、膵管癌症例の多くはリンパ球浸潤が主体で、びまん性に豊富な形質細胞浸潤を伴うAIPとは異なっていた。しかしながら、部分的にはAIP類似の所見を伴う膵管癌症例があり、形質細胞が目立ち、また多数のIgG4陽性細胞が認められた。このような所見の多くは癌巣辺縁部で認められたが、癌巣周囲に厚く形成されている症例も1例あった。膵管癌では、高度の好中球浸潤、腫大した線維芽細胞の増生が特徴的であった。好酸球浸潤、小リンパ球集簇巣、濾胞中心を伴うリンパ濾胞の形成には両者の間に有意差はみられなかった。AIPと膵癌随伴性変化は概して鑑別可能であるが、稀に膵癌周囲にAIP類似の組織所見を認めることがあり、生検診断においては臨床像との対比を含む慎重な対応が必要である。特に腫大した線維芽細胞の増生を認めた場合には、膵癌の可能性を臨床的に慎重に除外するべきである。

A. 研究目的

自己免疫性膵炎(autoimmune pancreatitis; 以下AIP)は自己免疫現象を伴う特異な膵炎で、病理学的にはlymphoplasmacytic sclerosing pancreatitisと呼ばれる特徴的な所見を示す¹⁾。臨床的には、高齢男性に好発し、膵は腫大して主膵管や総胆管の狭細化をきたす。このような特徴は膵癌と重複しており、そのため臨床的には膵癌との鑑別が問題になる。

AIPと膵癌の鑑別的手段として、膵生検が注目されている。しかしながら、膵癌周囲にみられる随伴性膵炎や膵癌に対する反応性変化については未だ詳細な組織学的検討がなされていない。膵癌の境界は把握が困難で、その生検組織が偽陰性となり、膵癌周囲の炎症を伴った組織が採取されることもよくある。このような場合に、膵癌症例の生検標本が誤ってAIPと判定されて

しまう危険性もある。また、最近では膵癌とAIPの合併症例も報告されているが^{2~4)}、このような症例に見られるAIP様の変化が膵癌に対する反応性変化である可能性もある。このような点からも、膵癌周囲に見られる変化を明らかにすることは重要である。

私たちは、膵癌に随伴する炎症性・反応性変化を病理学的に明らかにし、このような変化がAIPと鑑別可能か否かを明らかにする目的で、切除材料を用いた病理組織学的検討を行った。

B. 研究方法

切除術の施行されたAIP 16例と膵管癌 52例を対象とした。H&E染色標本を再検討し、炎症細胞浸潤の種類・浸潤の程度、小リンパ球集簇巣(濾胞中心なし)・濾胞中心を伴うリンパ濾胞の有無、線維化、腫大した線維芽細胞の増生、膵

小葉内の炎症につき、その程度を評価した。閉塞性静脈炎や膵管を取り巻く炎症所見は生検組織で見られることは少ないため、評価対象から外した。膵癌周囲には、癌そのものに対する反応と膵癌に伴う閉塞性膵炎が起こっていると考えられるが、この両者はしばしば共存し、その区別が明瞭でないことも多い。そのため本研究では、これらを“膵癌随伴性変化”と総称し、一括して評価した。膵管癌症例においては、癌巣内、癌巣周囲の両者を評価の対象とした。炎症細胞浸潤の強い症例については、免疫染色にてIgG1, IgG4を染色した。膵管癌症例のうち48例では、膵近傍の転移のないリンパ節についても組織学的に検討し、IgG4の免疫染色を行った。

(倫理面への配慮)

この研究は倉敷中央病院病理検査科を中心として、個人情報保護に配慮を払いながら行われた。この研究は過去に切除された検体を用いる後向き研究で、研究対象者に与える不利益、危険性は最小限であり、また被験者の権利を脅かす危険性も低い。倫理面の問題はないと考える。

C. 研究結果

AIPではリンパ球、形質細胞の高度の浸潤を伴う線維化巣がびまん性に形成され(図1)、IgG4陽性形質細胞が多数、またIgG1陽性形質細胞と比べて同等数以上に認められた。評価対象とはしなかったが、膵管を取り巻く炎症所見や閉塞性静脈炎は容易に同定された。これらの所見は膵管癌にみられることの少ない特異なものであった。

リンパ球や形質細胞の浸潤自体は膵管癌52例のはほぼ全例でみられ、約1/3の症例では比較的高度であったが、膵管癌症例の多くではリンパ球浸潤が主体で、豊富な形質細胞浸潤を伴うAIPとは異なっていた(図2)。しかしながら、部分的にはAIP類似の所見を伴う場合があり、形質細胞が目立ち、また多数のIgG4陽性細胞が認められた(図3, 4)。このような所見の多くは癌巣辺縁部で癌細胞の周囲に認められ、生検診断に際しては問題になることは少ないと思われるが、膵管癌の1例では癌巣を囲むように、AIPと鑑別

困難な反応性変化が比較的厚く形成され、生検診断に際して問題となることが示唆された。

好中球浸潤はAIPの3例(19%)、膵管癌の38例(73%)にみられ、両者には有意差がみられた。AIPにみられる好中球浸潤は軽度であるのに対し、膵管癌例の好中球浸潤はしばしば高度であった(図5)。好酸球浸潤はAIPの7例(44%)、膵管癌の19例(37%)にみられ、有意差はなかった。小リンパ球集簇巣はAIPの13例(81%)、膵管癌の49例(94%)に、濾胞中心を伴うリンパ濾胞はAIPの7例(44%)、膵管癌の16例(31%)に認められ、いずれも有意差はみられなかった。

線維化にはAIPと膵管癌で違いはみられなかった。腫大した線維芽細胞の増生(いわゆる、癌周囲の硬化性反応)はAIPの3例(19%)、膵管癌の全例にみられ、両者には有意差があり、なおかつAIPでは極めて限局してみられるのみであった(図6)。膵小葉内にみられる浮腫を伴った炎症細胞浸潤は、AIPの5例(31%)、膵管癌の36例(69%)にみられ、有意差を認めた。

膵管癌症例のうち48例で、膵周囲リンパ節の検討を行った。IgG4陽性形質細胞は強拡大1視野あたり4例で20個以上、5例で10個以上認められた。陽性細胞の多い症例では、リンパ濾胞過形成と形質細胞過形成を来していた。原発巣におけるIgG4陽性形質細胞数とは必ずしも相関はなかった。癌巣周囲にAIP類似の変化が厚く認められた1例では、リンパ節においてもIgG4陽性形質細胞が強拡大1視野あたり20個以上と多数であった(図7, 8)。

D. 考察

AIPの組織学的特徴は、リンパ球、形質細胞の強い浸潤を伴う線維化がびまん性に形成されることである。しばしば好酸球浸潤を伴うが、好中球浸潤は稀である。このような炎症は膵管壁、静脈内、総胆管に及び、膵管を取り巻く炎症像、閉塞性静脈炎、硬化性胆管炎といった特徴的な所見を形成する。今回の検討でもAIPの全例でこのような特異な組織学的所見が認められ、切除材料においては正確な診断が可能であると考えられた。しかしながら生検組織の診断に際しては、膵管を取り巻く炎症像、閉塞性静脈炎な

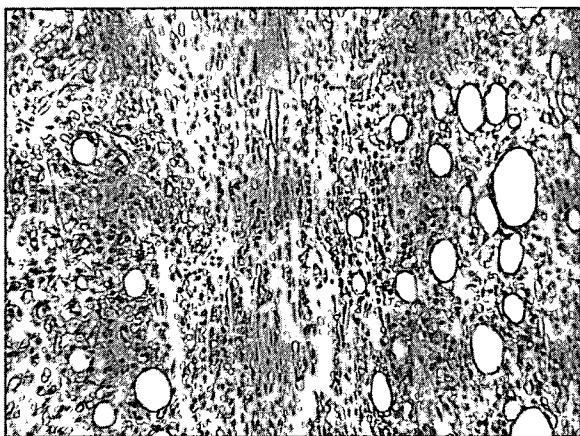


图1

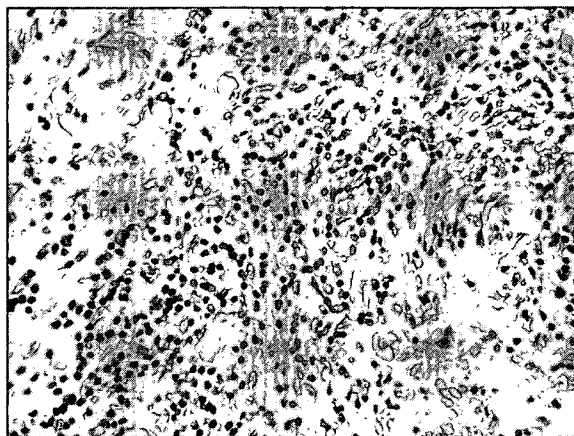


图2

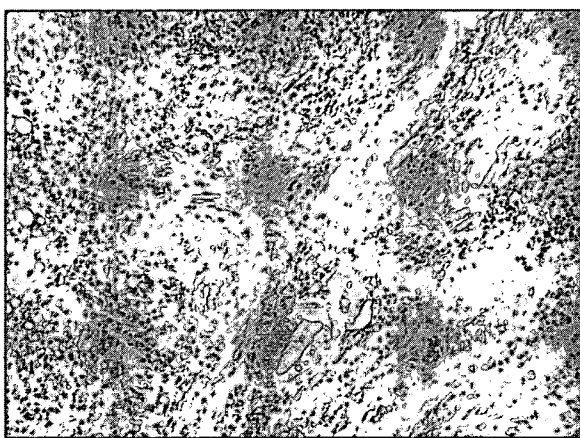


图3

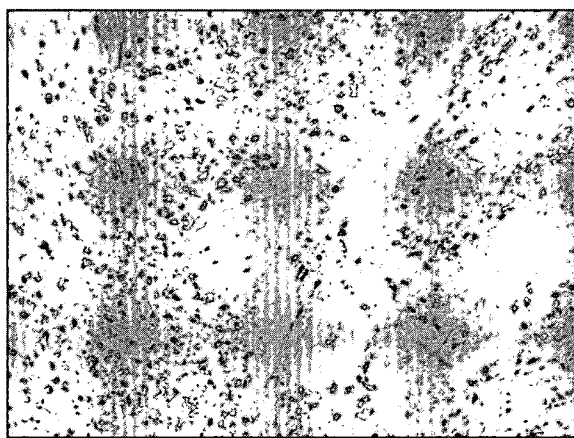


图4

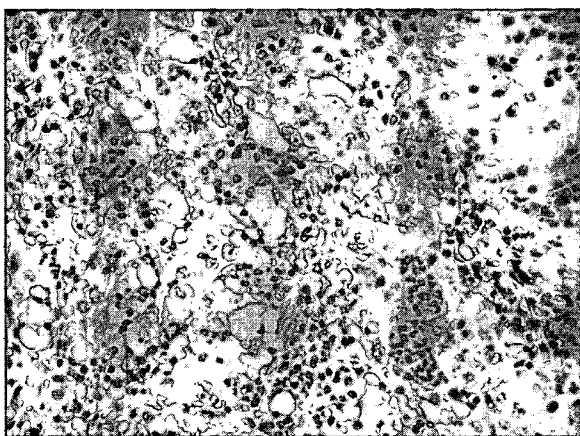


图5

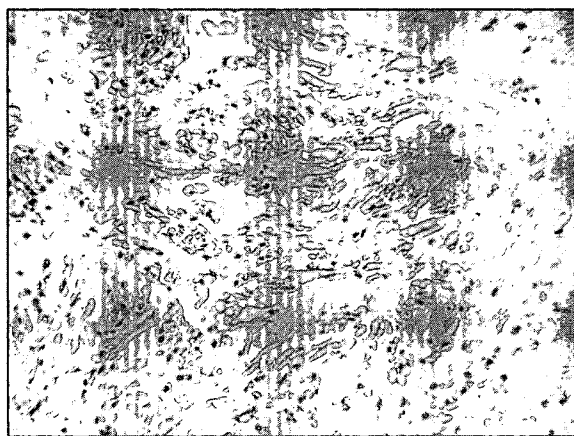


图6

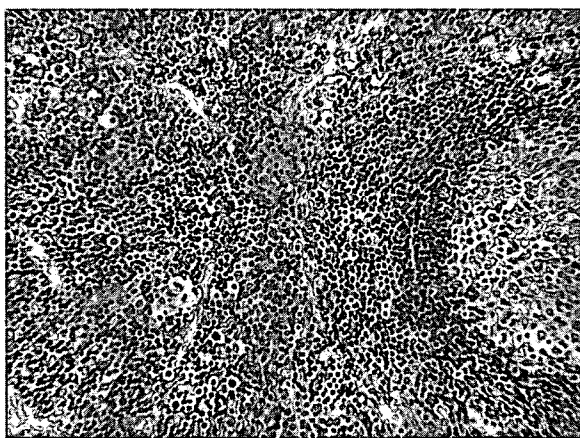


图7

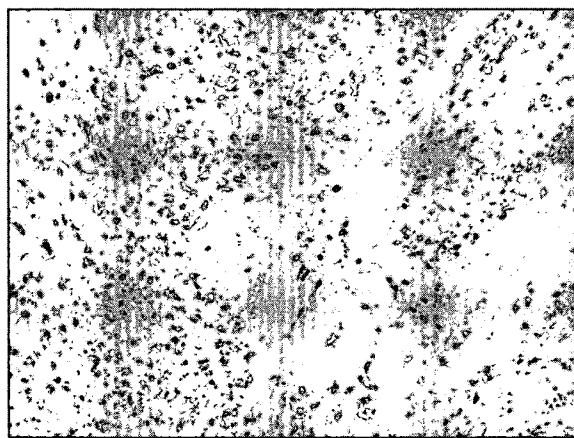


图8

どを見る頻度は低いと考えられ、また採取されている組織が必ずしも病変の全体像を反映したものとはいえず、AIPの診断がどこまで可能か明らかではない。特に、臨床的に鑑別が問題になる膵管癌については、膵癌随伴性変化のみが採取されて偽陰性になることもあり、このような変化とAIPとの鑑別は重要である。

膵癌随伴性変化を検討すると、約1/3の症例で比較的高度の炎症所見が見られた。ただしAIPとは異なり、膵管癌においてはリンパ球浸潤が主体を占めることが多く、また好中球浸潤はより高頻度に認められた。このような炎症を認めた場合には、炎症細胞浸潤の存在のみでAIPの診断を下すべきではない。また、好酸球浸潤や小リンパ球集簇の形成、濾胞中心を伴うリンパ濾胞の形成は両者で差はなく、このような所見もAIPの診断根拠とすべきではない。

膵癌においても時に、AIPと区別の困難な、形質細胞を多数含んだ線維化巣が形成され、多数のIgG4陽性形質細胞が認められた。同じような報告は以前にもなされており⁵⁾、また最近報告された膵癌患者における血清IgG4値の上昇を反映する組織所見と推察される⁶⁾。その多くは癌巣辺縁部で癌細胞の周囲に認められ、生検組織で採取されたとしても癌細胞の同定が可能と推測され、臨床的にはさほど問題にならないと考えられる。しかし、1例では癌巣周囲にAIP類似の反応が厚く形成され、さらにその中に多数のIgG4陽性形質細胞が、また膵周囲リンパ節においても多数のIgG4陽性形質細胞が認められた。このような変化が、膵癌に対する反応であるのか、膵癌とAIPの合併であるのかが問題になるが、本研究で見られた症例ではこのような病変が癌巣を囲むように形成されていたことから、膵癌に対する反応である可能性が高いと思われる。このことから、膵生検でAIPを示唆する所見が認められた場合、ごく稀ではあるが膵癌随伴性変化が採取されている可能性を否定できず、診断に当たっては臨床像との対比など、慎重な対応が必要と考えられる。

また、膵癌随伴性変化の中には腫大した線維芽細胞の増生したいわゆる癌周囲の硬化性反応がほとんどのケースで見られたが、AIPでみられ

る線維芽細胞は小型で、それとは異なっていた。このような反応を認めた場合には、膵癌の可能性を臨床的に慎重に除外する必要がある。

E. 結論

AIPと膵癌随伴性変化は概して鑑別可能であるが、稀に膵癌周囲にAIP類似の組織所見を認めることがあり、生検診断においては臨床像との対比を含む慎重な対応が必要である。膵癌随伴性変化においても炎症細胞浸潤やリンパ濾胞の形成はしばしば認められるため、このような所見のみでAIPの診断を下してはならない。特に腫大した線維芽細胞の増生を認めた場合には、膵癌随伴性変化である可能性を考え、膵癌の可能性を慎重に除外すべきである。

F. 参考文献

1. Notohara K, Burgart LJ, Yadav D, Chari ST, Smyrk TC. Idiopathic chronic pancreatitis with periductal lymphoplasmacytic infiltration. Clinicopathologic features of 35 cases. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1119–1127.
2. Inoue H, Mayatani H, Sawada Y, Yoshida Y. A case of pancreas cancer with autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2006; 33: 208–209.
3. Kamisawa T, Chen PY, Tu Y, Nakajima H, Egawa N, Tsuruta K, Okamoto A, Hishima T. Pancreatic cancer with a high serum IgG4 concentration. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6225–6228.
4. 坂下文夫, 棚橋利行, 山口和也, 長田真二, 杉山保幸, 安達洋祐. 自己免疫性膵炎に併発した膵尾部癌の1例. *日本消化器外科学会雑誌* 2006; 39: 78–83.
5. Zhang L, Notohara K, Levy MJ, Chari ST, Smyrk TC. IgG4-positive plasma cell infiltration in the diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Mod Pathol* 2007; 20: 23–28.
6. Ghazale A, Chari ST, Smyrk TC, Levy MJ, Topazian MD, Takahashi N, Clain JE, Pearson RK, Pelaez-Luna M, Petersen BT, Vege SS, Farnell MB. Value of serum IgG4 in the diagnosis of autoimmune pancreatitis and in distinguishing it from pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol*

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表
 - 1) Notohara K, Kojima M, Ban S, Hamano H, Uehara T, Fujisawa M, Nose S, Omonishi K, Wani Y, Tsukayama C, Shimizu M, Kato Y. Pancreatic ductal carcinoma-associated changes may histologically simulate autoimmune pancreatitis. 96th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. San Diego, CA, U.S.A. March 24-30, 2007
 - 2) 能登原憲司, 小嶋基寛, 伴 慎一, 浜野英明, 上原 剛, 清水道生, 加藤 洋. 膵癌に随伴する組織学的変化は, 自己免疫性膵炎に類似していることがある. 第38回日本膵臓学会大会, 福岡 2007年6月28-29日

H. 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

IgG4陽性形質細胞の出現する病態の検討

研究報告者 須田耕一 東京西徳洲会病院病理科 顧問

共同研究者

福村由紀, 高瀬 優, 阿部 寛, 柿沼千早 (順天堂大学人体病理病態学講座)

【研究要旨】

われわれは以前、腫瘍形成性アルコール性膵炎でもIgG4陽性形質細胞が多数認められること、IgG4陽性形質細胞が自己免疫性膵炎に特異的ではないことを報告した。今回、膵以外の諸臓器の炎症性過程におけるIgG4陽性形質細胞の出現を調べることを目的とし、肉芽もしくは炎症性腫瘍を形成する疾患である、歯根嚢胞(10例)、毛巣洞炎(2例)、胃潰瘍(1例)、およびエプーリス(5例)での手術症例で、H.E染色およびIgG4に対する免疫染色標本を用い検討した。結果、全症例で多数の形質細胞浸潤を見、特に肉芽組織内に多く認められた。IgG4陽性形質細胞は、Kamisawaらの基準での(−, 0~9個/HPF)~(3+, 100個以上/HPF)までさまざまな陽性率を示した。肉芽組織層を有する17症例では、いずれも、同層で高い陽性率を認めた。以上より、IgG4陽性形質細胞は、膵外臓器の慢性炎症においても肉芽組織内に多数出現しうる。したがって、病理組織標本上、IgG4陽性形質細胞が多数見られた際には潰瘍/炎症性腫瘍などの慢性炎症性疾患を鑑別疾患におく必要があると考えられた。

A. 研究目的

自己免疫性膵炎およびその膵外病変においては、摘出標本において免疫組織化学的にIgG4陽性形質細胞が多数出現する^{1~3)}。このため、「病理組織学的にIgG4陽性形質細胞を認めること」が本疾患群の診断上重要視されている⁴⁾。

しかしながら、われわれは、腫瘍形成性アルコール性膵炎を用いた検討から、IgG4陽性細胞が必ずしも自己免疫性膵炎に特異的ではなく、腫瘍形成部、特に、炎症の急性期よりも線維化に至る修復部分に出現することを報告した⁵⁾。

今回、諸臓器の炎症過程におけるIgG4陽性細胞の出現を検討することを目的に、膵外臓器で肉芽もしくは炎症性腫瘍を形成する下記の4種類の慢性炎症性疾患標本を用い、以下の検討を行った。

B. 研究方法

対象は、順天堂医院および関連施設で得られた、(1)歯根嚢胞10例、(2)仙尾部皮膚毛巣洞炎2例、(3)胃潰瘍1例、および(4)歯肉限局性非腫瘍性腫瘍(エプーリス)5例である(合計18症例)。

なお、歯根嚢胞は、歯根部(根尖部)に生じる炎症性嚢胞⁶⁾、毛巣洞炎は埋没した毛包組織を含む嚢胞⁷⁾で、いずれも周囲に炎症性肉芽組織を形成する。エプーリスは、歯肉部に生じる炎症性あるいは反応性の限局性腫瘍⁸⁾で、病理組織学的には肉芽組織からなるもの、線維性結合組織からなるもの、両者の混在するもの、などがあるとされる。

切除検体は、いずれもホルマリン固定後パラフィン包埋し、4μmの薄片を作成し、H.E染色、および、IgG4(抗IgG4抗体:製造元、The Binding Site; クローン; polyclonal; 希釈倍率、500倍)に対する免疫染色を行った。免疫染色結果の評価はKamisawaらの基準³⁾にほぼ準じて行った。すなわち、高倍率、High power field (HPF)で一視野あたりの陽性細胞数で評価し、0~9個/HPFの部分(−)、10~29/HPFを(1+)、30~99個/HPFを(2+)、100個以上/HPFを(3+)とした。

(倫理面への配慮)

本研究では遺伝子を用いた検討は行っていない。本研究では、年齢・性別、臨床・病理診断

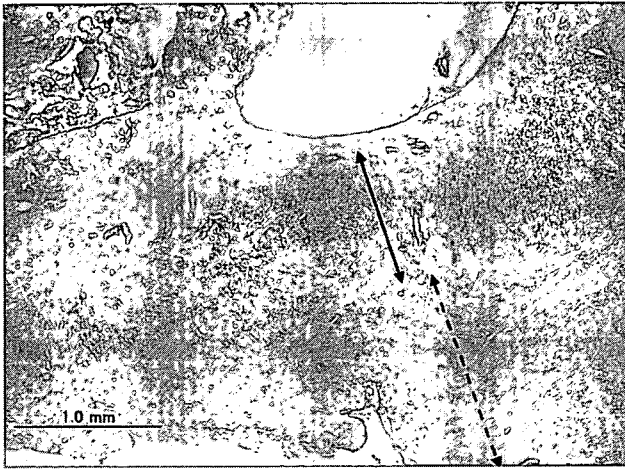


図1 歯根嚢胞の組織像 (35歳, 男性)

上皮は脱落し, 嚢胞壁には肉芽組織層(実線)と線維性結合組織層(点線)の二層構造が認められる. H.E.染色

名を除く個人情報を用いておらず, さらに個人情報の保護には配慮を保って検討を行ってきた. 倫理面の問題はないと考える.

C. 研究結果

対象例全例(18例)で標本の一部もしくは大半部に, 多数の形質細胞浸潤を認めた.

1. 歯根嚢胞

歯根嚢胞10症例中, 上皮層が2例で残存し, 残り8例で見られなかった. 嚢胞壁にはいずれの例でも肉芽組織層と線維性結合組織層の2つの層が認められ(図1), 前者に多数の(図2-a), また後者には血管周囲性にそれぞれ形質細胞浸潤を(図2-b)認めた. 2例では, 肉芽組織層内に形質細胞に加え, 多数の好中球浸潤を認めた(図2-c). 1例では, 肉芽組織層内に泡沫細胞の浸潤が多く見られ形質細胞のそれを上回っていた. 2例で肉芽組織内に壊死物質も混在していた(図2-d). 肉芽組織層では膠原線維の沈着はごく軽度で, 典型的な自己免疫性肺炎で見られるような storiform pattern は認めなかった.

IgG4免疫染色では, 3例が(2+)まで, 別の3例

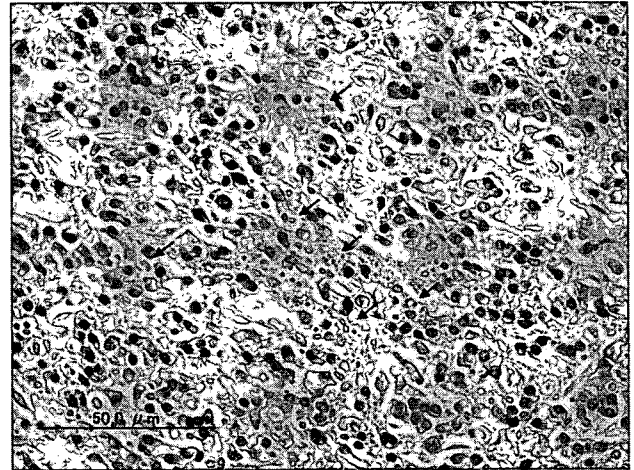
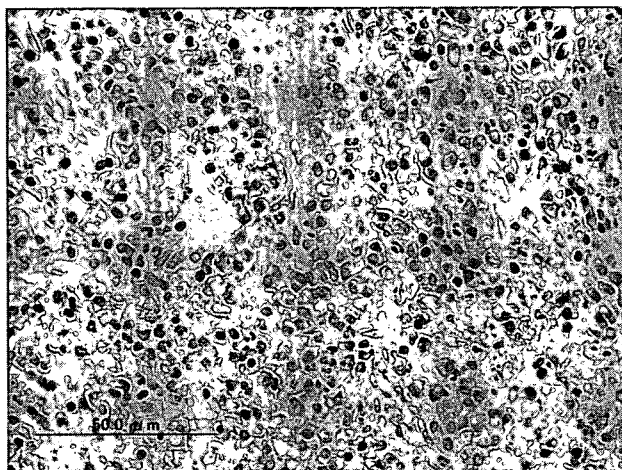
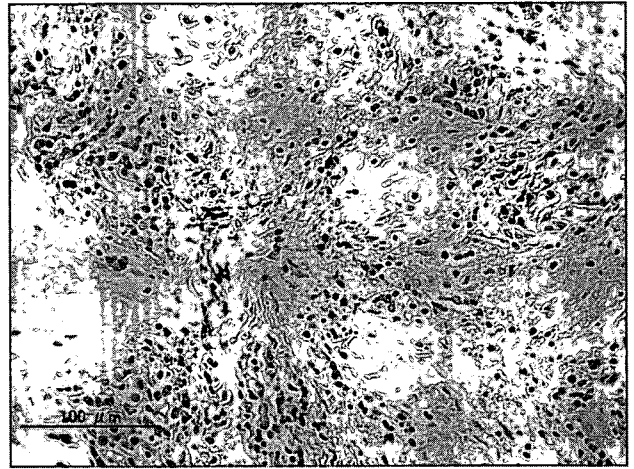
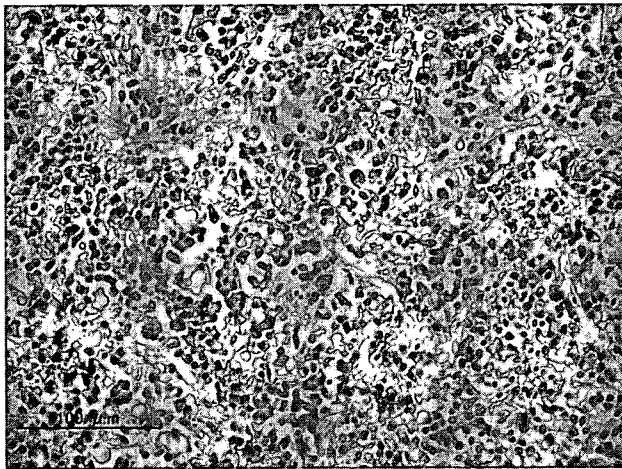


図2 歯根嚢胞

a | b
c | d

a: 肉芽組織層 (35歳, 男性). 多数の形質細胞浸潤を認める. H.E.染色

b: 線維性結合組織層 (35歳, 男性). 血管周囲性に形質細胞浸潤を認める. H.E.染色

c: 肉芽組織層 (15歳, 男性). 多数の形質細胞と多数の好中球の浸潤を認める. H.E.染色

d: 肉芽組織層 (28歳, 女性). 多数の形質細胞に混在し, 壊死物質(矢印)が認められる. H.E.染色

表1 歯根嚢胞症例における組織所見とIgG4陽性形質細胞

症例	年齢	性別	組織所見			IgG4陽性形質細胞の評価
			上皮層	好中球浸潤	壊死物質	
1	54	M	—	—	—	2+
2	35	M	—	—	—	2+
3	60	F	+	+	—	2+
4	34	M	—	—	—	1+
5	22	M	—	—	—	1+
6	48	M	+	—	—	1+
7	15	M	—	++	—	—
8	28	F	—	—	—	—
9	28	F	—	—	+	—
10	25	F	—	++	+	—

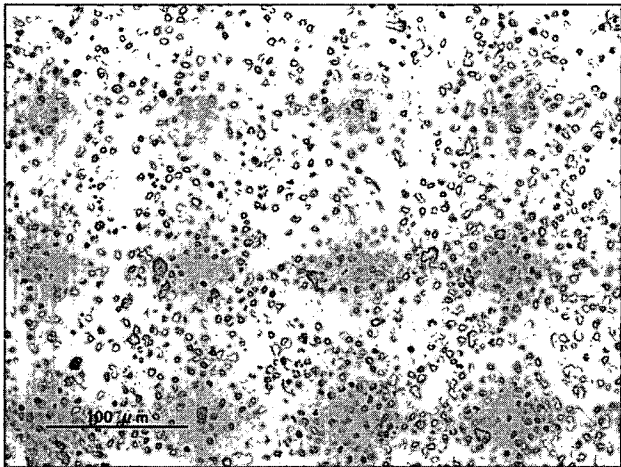


図3 歯根嚢胞，肉芽組織層におけるIgG4陽性形質細胞(54歳，男性)
多数の陽性細胞を認め，評価は(2+)である．IgG4に対する免疫染色

が(1+)までの部を示し，残りの4例は全体的に(—)に相当した(表1)．いずれも，IgG4陽性細胞は肉芽組織層で最も多く認められ(図3)，線維性結合組織層では少量であった．

2. 仙尾部皮膚毛嚢洞炎

毛嚢洞炎症例2例はいずれも，内部に毛包を含んだ嚢胞周囲に肉芽組織層と線維性結合組織層が認められた．肉芽組織層には，密な形質細胞浸潤に加え，さまざまな程度に好中球・ヘモジデリン貪食マクロファージの浸潤が認められた．線維性結合組織層では，血管周囲性の形質細胞浸潤が中等度に認められた．

IgG4免疫染色では，いずれにおいても肉芽層で(2+)まで，線維性結合組織層で(1+)のIgG4陽性形質細胞浸潤を認めた．肉芽層における同細胞浸潤は，好中球やマクロファージの少ない部分で多い傾向が見られた．

3. 胃潰瘍 (1症例)



図4 胃潰瘍の組織像(73歳，男性)
壊死層，滲出層，肉芽組織層(実線)，線維性結合組織層(点線)の4層構造が認められる．H.E.染色

胃潰瘍底部では，表層部より壊死層，フィブリン浸出層，肉芽組織層，線維性結合組織層の4層構造が認められ，肉芽層の下2/3の部で密な形質細胞浸潤を認めた．同部では，線維化・間質紡錘形細胞の増生も軽度に認められたが，storiform patternを呈する線維化は認めなかった(図4)．

IgG4染色では，胃潰瘍肉芽組織層で(3+)に相当する多量の陽性細胞を認めた．

4. 歯肉限局性非腫瘍性腫瘍(エプーリス)

エプーリス5症例中，2例は肉芽組織と線維性結合組織が混在(図5)，2例は主に肉芽組織から，1例は主に線維性結合組織から形成されていた．歯肉扁平上皮は全例で保たれていた．肉芽組織を有する症例(4例)では，同部に密な形質細胞浸潤を見，線維性結合組織層を有する症例(3症例)では，同部に少量～中等量の形質細胞の浸潤を認めた．肉芽組織を有する4症例中1例で，形質

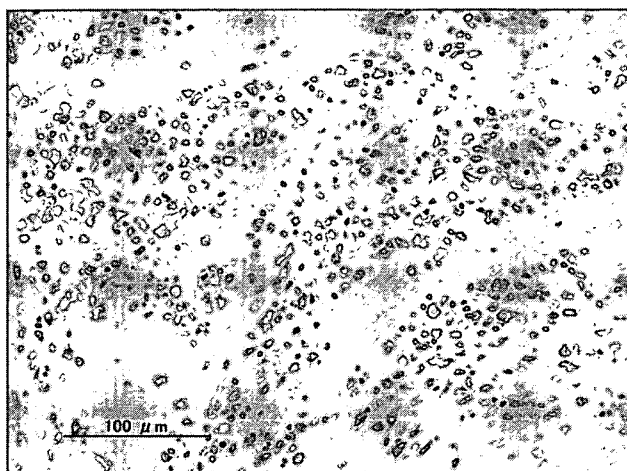


図5 胃潰瘍，肉芽組織層におけるIgG4陽性形質細胞(73歳，男性)

多数の陽性細胞を認め，評価は(3+)である．IgG4に対する免疫染色

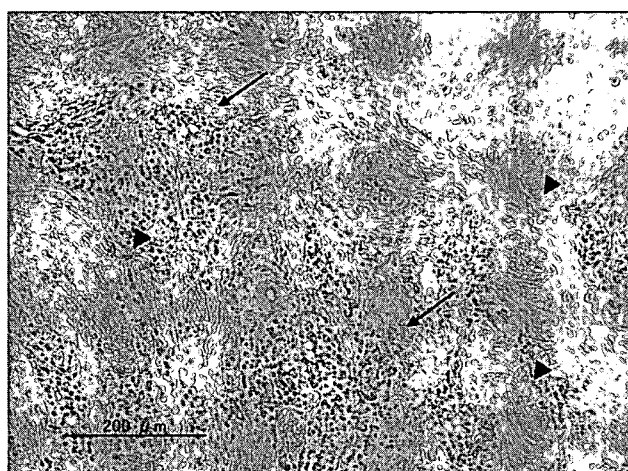


図6 エプーリスの組織像(67歳，男性)

肉芽組織(→)と線維性結合組織(矢頭)が混在している．H.E.染色

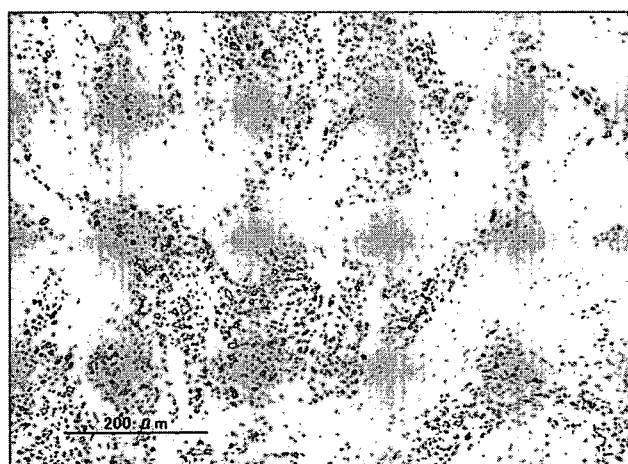


図7 エプーリス，肉芽組織におけるIgG4陽性形質細胞(67歳，男性)

多数の陽性細胞を認め，評価は(2+)である．IgG4に対する免疫染色

細胞に混在し多数の好中球浸潤を認めた．

エプーリス症例におけるIgG4免疫染色では，2例が(2+)まで，2例が(1+)までの部を有し，1例が(－)であった(表2)．

D. 考察

今回検討した，肉芽組織ないし炎症性腫瘤を伴う上記4種類の炎症性病変のうち，歯痕嚢胞，毛巣洞炎，胃潰瘍では，肉芽組織層と線維性結合組織層の2層からなる層構築が認められ，前者で，形質細胞の密な浸潤が認められた．エプーリスでは，肉芽組織と線維性結合組織が混在して認められ，症例により前者が優勢のものから後者が優勢のものまでさまざまであった．また，エプーリスにおいても，形質細胞浸潤は肉芽組織層で密に認められた．

近年，一部の胃潰瘍，特に線状形をとる胃潰瘍が自己免疫性膵炎の膵外病変である可能性が指摘されている⁹⁾．しかしながら，検討症例では膵腫大はなく，胃潰瘍は円形，また，形質細胞浸潤は主に肉芽組織内に見られ，他の部には乏しかったことより，自己免疫性膵炎関連疾患は否定的である．

われわれは以前の検討で，IgG4陽性形質細胞が腫瘤形成性膵炎の腫瘤部に出現すること，同細胞が自己免疫性膵炎に特異的ではないことを報告した⁴⁾が，今回の検討から，膵以外の臓器の慢性炎症性疾患においても同様な結果となった．すなわち，IgG4陽性形質細胞の出現は自己免疫性膵炎関連疾患に特異的ではなく，諸臓器の慢性炎症性疾患において肉芽組織内に多数出現する．

今回，一部の症例で，Kamisawaらの基準で(3+)に相当する高いIgG4陽性率を認めた．このことから，自己免疫性膵炎関連疾患と他の炎症性疾患とを鑑別する際，‘IgG4陽性形質細胞の密度(量的基準)’のみでの鑑別には限界があるといえよう．病理組織学的に多数のIgG4陽性形質細胞を認めた際，自己免疫性膵炎の他に，少なくとも，慢性炎症に伴う肉芽組織を鑑別診断にあげる必要がある．また今後は，自己免疫性膵炎のより重要な鑑別診断である癌浸潤部周囲の肉芽組織で，いかなる程度に高い陽性率を示しうるかに

表2 エプーリス症例における組織所見とIgG4陽性形質細胞

症例	年齢	性別	組織所見			IgG4陽性形質細胞の評価
			肉芽組織	線維性結合組織	好中球浸潤	
1	67	M	++	+	—	2+
2	70	M	++	+／—	—	2+
3	67	F	++	+／—	++	1+
4	73	M	+	++	—	1+
5	75	F	+／—	++	—	—

ついて、同疾患症例を用いた検討も必要であろう。

今回の検討で、歯根嚢胞およびエプーリスを用いたIgG4陽性細胞の検討では、(2+)～(—)と多様な結果が得られた(表1, 2)。(—)と判定された症例では、しばしば、肉芽組織内に多数の好中球や壊死物質が形質細胞に混在していた。このことは、好中球や壊死物質の出現する炎症の比較的急性期にはIgG4陽性細胞以外の形質細胞が主体をなす、すなわち、IgG4陽性細胞は炎症の時期により増減する可能性を示唆する。以前の自己免疫性膵炎を用いたわれわれの検討で、炎症性細胞浸潤を含めた組織形態が時期により変化を示すことを報告した^{11, 12)}が、多数の形質細胞の浸潤を伴う比較的早期の自己免疫性膵炎の中でもIgG4陽性細胞の割合が変化している可能性もある。

近年、IgG4陽性形質細胞は、免疫寛容／アレルギー反応抑制などの炎症沈静化の過程において作用するregulatory T細胞の出現に伴って出現することが報告されている¹⁰⁾。今回検討した病態とアレルギー／免疫過剰反応との関連は不明であるが、IgG4陽性形質細胞が線維性結合組織に接する肉芽組織内に多数認められたことは、本細胞が少なくとも上記の病態においては、組織修復過程ひいては炎症の沈静化に関わっている可能性が高いと考えられる。

E. 結論

IgG4陽性形質細胞は、膵外臓器の慢性炎症においても肉芽組織内に多数出現しうることが明らかとなった。病理組織標本上IgG4陽性形質細胞が多数見られた際には、潰瘍／炎症性腫瘍などの慢性炎症性疾患を鑑別診断におく必要があると考えられた。

F. 参考文献

1. Suda K, Takase M, Fukumura Y, Ogura K, Ueda A, Matsuda T, Suzuki F. Histopathologic characteristics of autoimmune pancreatitis based on comparison with chronic pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 355–358.
2. 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.
3. Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y, Tsuruta K, Okamoto A, Amemiya K, Egawa N, Nakajima K. Close relationship between autoimmune pancreatitis and multifocal fibrosclerosis. *Gut* 2002; 52: 682–687.
4. 岡崎和一, 西森 功, 下瀬川徹, 神澤輝美, 川茂幸, 大原弘隆, 田中滋城, 成瀬 達, 伊藤鉄英, 乾 和郎, 小泉 勝, 能登原憲司, 須田耕一, 大槻 眞. 自己免疫性膵炎の活動評価方法, 治療適応との再発に関する研究. 主任研究者 大槻眞, 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究 平成18年度総括・分担研究報告書 2007.
5. Takase M, Suda K, Nobukawa B, Fukumura Y, Suzuki F, Fujii H. Is IgG4-positive plasma cell specific in autoimmune pancreatitis? *Pancreas* (In Press).
6. 澤田 隆, 谷口邦久, 長塚 仁. 歯髄および根尖歯周組織の病変. 高木實監修. 口腔病理アトラス第二版. 東京, 文光堂. 2007; 68.
7. Rapini RP. *Practical Dermatopathology*. Elsevier Mosby. 2005; 141.
8. 武田泰典. 口腔・顎. 向井 清, 真鍋俊明, 深

山正久編. 外科病理学第4版. 東京, 文光堂.
2007; 123.

9. Shinji A, Sano K, Hamano H, et al: Autoimmune pancreatitis is closely associated with gastric ulcer presenting with abundant IgG4-bearing plasma cell infiltration. *Gastrointest Endosc* 59: 506-511, 2004.
10. Verhagen J, Blaser K, Akdis CA, Akdis M. Mechanism of allergen-specific immunotherapy: T-regulatory cells and more. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006; 26: 207-231.
11. Suda K, Takase M, Fukumura Y, Kashiwagi S. Pathology of autoimmune pancreatitis and tumor-forming pancreatitis. *J Gastroenterol* 2007; 42: 22-27.
12. Suda K, Nishimori I, Takase M, Oi I, Ogawa M. Autoimmune pancreatitis can be classified into early and advanced stages. *Pancreas* 2006; 22: 345-350.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

H. 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. 脾囊胞線維症

膵重炭酸イオン分泌における CFTR と SLC26 の機能連関の解析

研究報告者 石黒 洋 名古屋大学大学院健康栄養医学 准教授

共同研究者

Andrew Stewart (Molecular and Vascular Medicine Unit and Renal Division, Harvard Medical School)

山本明子, 中莖みゆき, 近藤孝晴 (名古屋大学大学院健康栄養医学)

洪 繁 (名古屋大学大学院消化器内科学), 成瀬 達 (三好町民病院)

大槻 眞 (産業医科大学消化器・代謝内科)

【研究要旨】

膵管上皮の管腔膜を介する HCO_3^- 分泌では, CFTR の anion conductance と SLC26 ファミリー輸送体による Cl^- - HCO_3^- exchange 機能が協調して効率のよい分泌が達成されていると考えられている. 本研究では, モルモットの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて, 細胞内アルカリ負荷後の, 管腔膜を介する HCO_3^- efflux を解析した. HCO_3^- efflux は, 管腔内 Cl^- に依存する部分と管腔内 Cl^- に依存しない部分に分けられた. 後者は管腔内の H_2DIDS によって抑制されたので, SLC26A6 によるものと推定された. また, 単離膵管に SLC26A6 と SLC26A3 の mRNA 発現を確認した.

A. 研究目的

cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) は, 膵導管や気道上皮などに発現する Cl^- チャネルであり, 最近同定された SLC26 ファミリー蛋白などいくつかのイオン輸送体と分子複合体を形成して, HCO_3^- 輸送を担っている¹⁾. CFTR は膵嚢胞線維症 (CF) の原因遺伝子であり, 1,000 種類以上の変異さらに多型がある. 変異の組み合わせによって重症から軽症の CF が発症し, mild な変異や多型が組み合わさると慢性膵炎の発症リスクを高める²⁾. しかし, 変異 CFTR の Cl^- チャネル機能の低下と臨床的な重症度が一致しないなど, 多くの解決すべき問題が残されている³⁾. 特に, CFTR の変異あるいは多型が, HCO_3^- 輸送分子複合体の機能に及ぼす影響の解析が待たれている.

従来から, マウス, ラット, モルモットの膵導管細胞の管腔膜に Cl^- - HCO_3^- exchange 活性が存在すること, その活性は機能的な CFTR の存在下でのみ cAMP によって刺激されることが報告されていた⁴⁾が, 分子は不明であった. 最近, 新たに同定された SLC26 という陰イオン輸送体ファミリー⁵⁾のいくつかは, 上皮膜組織 (消化管, 気道, 膵管, 尿細管) の管腔膜に発現し, 陰イオン交換

輸送体として機能することがわかってきた. 膵導管細胞には, SLC26A3 と SLC26A6 が存在する⁶⁾が, 生理学的なデータから SLC26A6 が主要な Cl^- - HCO_3^- exchanger であろうと考えられている (図 1)^{7,8)}.

本研究では, モルモットの膵臓から小葉間膵管を単離し, 管腔膜の Cl^- - HCO_3^- exchange 活性の生理学的特性, および SLC26A3 と SLC26A6 の mRNA 発現を検討した.

B. 研究方法

①モルモット単離小葉間膵管における管腔膜の Cl^- - HCO_3^- exchange 活性を解析した (図 2). モルモットから膵臓を摘出し, 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. 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. 単離膵管を microperfusion し, 表層を HCO_3^- - CO_2 を緩衝液で, 管腔内を Hepes 緩衝液で灌流した. acetate pulse あるいは管腔灌流液の Cl^- 除去により, 膵導管細胞にアルカリ (HCO_3^-) 負荷した. 表層灌流液に H_2DIDS (dihydro-4,4'-diisothiocyanatostilbene-2,2'-disulphonic acid) を加えて基底側膜を介する HCO_3^- efflux を

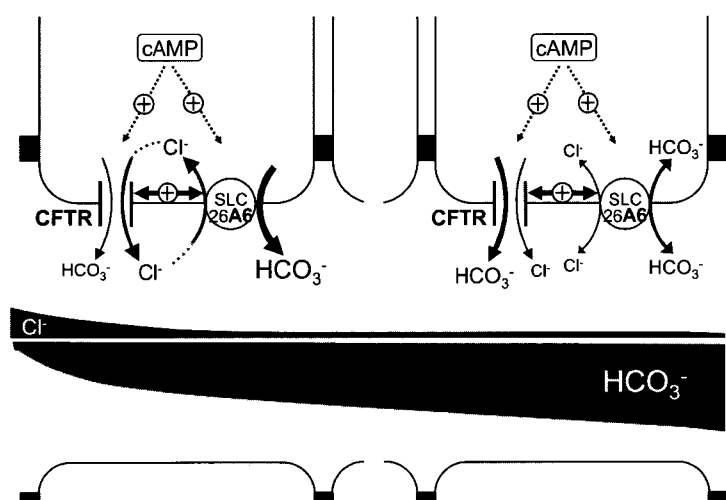


図1 膵導管細胞のHCO₃⁻分泌におけるSLC26A6の役割

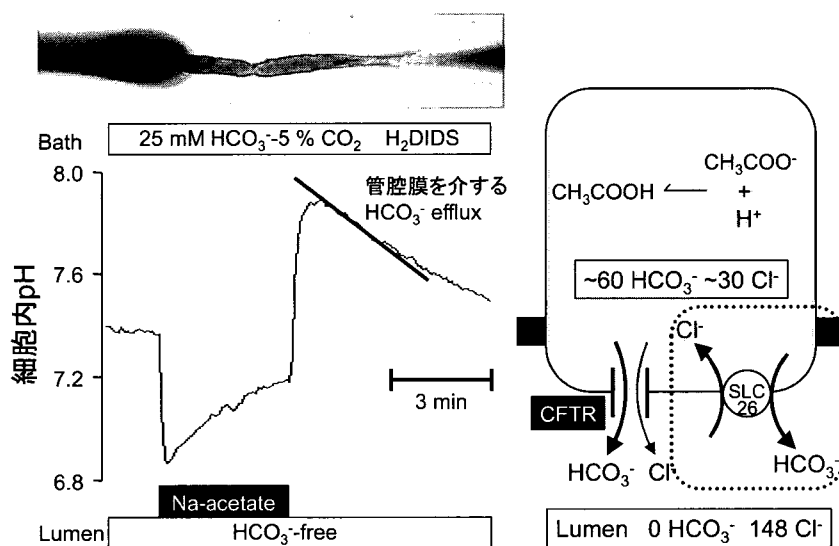


図2 管腔膜を介するHCO₃⁻分泌機構の解析

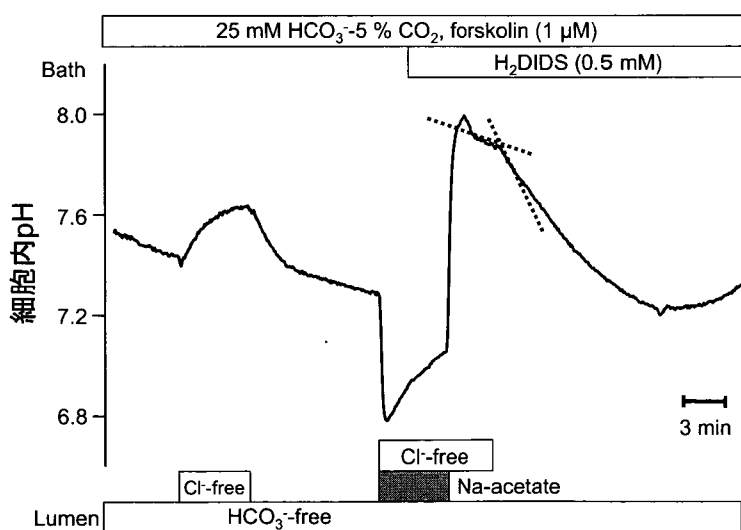


図3 管腔膜を介するHCO₃⁻分泌のCl⁻依存性

阻害しておけば、細胞内の変化(低下)を測定することにより管腔膜を介する HCO_3^- efflux(HCO_3^- 分泌)を経時的に観察することができる。

②モルモット単離小葉間腓管におけるSLC26A6およびA3のmRNA発現を検討した。ヒトとマウスに共通する配列からプライマーをデザインして、単離腓管のRT-PCRを行った。(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承認を受けて行った。

C. 研究結果

①実験は、forskolin ($1 \mu\text{M}$)を用いてcyclic AMPによって最大刺激された条件で行った。表層灌流液に H_2DIDS (0.5 mM)を加えて基底側膜を介する HCO_3^- effluxを阻害しておき、アルカリ(HCO_3^-)負荷後の管腔膜を介する HCO_3^- effluxのCl依存性を検討した(図3)。 HCO_3^- efflux機構は、管腔内Clに依存する部分と管腔内Clに依存しない部分に分けることができた。前者はCFTRのanion conductance、後者はSLC26ファミリー輸送体によるCl- HCO_3^- exchangeと推定される。管腔内Clに依存する部分は、管腔内に H_2DIDS (0.2 mM)を加えることにより強く抑制されたので、管腔膜の主要なCl- HCO_3^- exchangerはSLC26A6と推定された。また、最近開発されたCFTRの特異的阻害剤であるCFTRinh-172を用いて、CFTRとSLC26A6の機能連関の解析を行った。管腔内に H_2DIDS の存在下にさらにCFTRinh-172を加えると、 HCO_3^- effluxがほぼ完全に抑制されたが、CFTRinh-172単独では HCO_3^- effluxがかえって促進された。分子モデルを構築するためにはさらなる解析が必要ではあるが、nativeな腓導管上皮でも、CFTRとSLC26A6が相互に活性を調節していることを示唆している。

②モルモットのSLC26A6とSLC26A3の塩基配列は報告されていないが、ヒトとマウスに共通する配列からプライマーをデザインして単離腓管のRT-PCRを行ったところ、SLC26A6とSLC26A3のmRNA発現が確認された。

D. 考察

ヒト、モルモットなどの腓導管細胞の管腔膜

は、実に6倍以上の濃度勾配に逆らって HCO_3^- を管腔内へ輸送する。本研究では、モルモット腓管上皮管腔膜の HCO_3^- 輸送機構を解析した。腓液中の HCO_3^- は、腺房に近い細い腓管(介在部～小葉内～小葉間腓管の細い部分)から主に分泌され则认为られており、免疫組織学的検討により、この部位の腓管の管腔膜にCFTRとSLC26A6が共存すると報告されている⁹⁾。CFTRのanion conductanceとSLC26ファミリー輸送体によるCl- HCO_3^- exchange機能が協調して効率のよい分泌が達成されていると考えられている(図1)。CFTR機能が消失した ΔF マウスから単離した腓管では、Cl- HCO_3^- exchange活性が小さく⁴⁾ HCO_3^- 分泌がほとんどない。slc26a6ノックアウトマウスでは、単離腓管の管腔膜における(HCO_3^- efflux方向の)Cl- HCO_3^- exchange活性が小さい¹⁰⁾。しかし、マウスの腓液の HCO_3^- 濃度は最高でも 50 mM 程度でヒト(140 mM)に比べてかなり低いためか、*in vivo*での腓 HCO_3^- 分泌は、slc26a6ノックアウトマウスと正常マウスとの間に差はなかった¹⁰⁾。本研究では、腓液の HCO_3^- 濃度がヒトと同様に高いモルモットの腓臓から単離した小葉間腓管を用いて、管腔内のCl濃度が高い末梢の腓管では(図1)、SLC26A6によるCl- HCO_3^- exchangeが HCO_3^- 分泌の多くを担っていることを明らかにすることができた。

E. 結論

モルモットの腓臓から単離した小葉間腓管を用いて、細胞内アルカリ負荷後の、管腔膜を介する HCO_3^- 分泌を解析した。 HCO_3^- 分泌は、管腔内Clに依存する部分と管腔内Clに依存しない部分に分けられた。後者は管腔内の H_2DIDS によって抑制されたので、SLC26A6によるものと推定された。また、単離腓管にSLC26A6とSLC26A3のmRNA発現を確認した。

謝辞：Andrew Stewartは、ヒューマンサイエンス振興財団の助成により来日した。

F. 参考文献

1. Ko SB, Zeng W, Dorwart MR, Luo X, Kim KH, Millen L, Goto H, Naruse S, Soyombo A, Thomas

- PJ, Muallem S. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 343-350.
2. Cohn JA. Reduced CFTR function and the pathobiology of idiopathic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39 (Supp 2) : s70-77.
 3. Quinton PM. The neglected ion: HCO_3^- . *Nature Med* 2001; 7: 292-293.
 4. Lee MG, Choi JY, Luo X, Strickland E, Thomas PJ, Muallem S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator regulates luminal $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange in mouse submandibular and pancreatic ducts. *J Biol Chem* 1999; 274: 14670-14677.
 5. Mount DB, Romero MF. The SLC26 gene family of multifunctional anion exchangers. *Pflügers Arch* 2004; 447: 710-721.
 6. Greeley T, Shumaker H, Wang Z, Schweinfest CW, Soleimani M. Downregulated in adenoma and putative anion transporter are regulated by CFTR in cultured pancreatic duct cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1301-308.
 7. Steward MC, Ishiguro H, Case RM. Mechanisms of bicarbonate secretion in the pancreatic duct. *Annu Rev Physiol* 2005; 67: 377-409.
 8. Ishiguro H, Steward M, Naruse S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and SLC26 transporters in HCO_3^- secretion by pancreatic duct cells. *Sheng Li Xue Bao (Acta Physiologica Sinica/Chinese Journal of Physiology)* 2007; 59: 465-476.
 9. Shcheynikov N, Wang Y, Park M, Ko SB, Dorwart M, Naruse S, Thomas PJ, Muallem S. Coupling modes and stoichiometry of $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange by *slc26a3* and *slc26a6*. *J Gen Physiol* 2006; 127:511-524
 10. Ishiguro H, Namkung W, Yamamoto A, Wang Z, Worrell RT, Xu J, Lee MG, Soleimani M. Effect of *Slc26a6* deletion on apical $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger activity and cAMP-stimulated bicarbonate secretion in pancreatic duct. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G447-G455

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ishiguro H, Steward M, Naruse S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and SLC26 transporters in HCO_3^- secretion by pancreatic duct cells. *Sheng Li Xue Bao (Acta Physiologica Sinica/Chinese Journal of Physiology)* 2007; 59: 465-476.

2. 学会発表 該当なし

H. 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

わが国の嚢胞性線維症患者における責任CFTR遺伝子変異の解析

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（虎の門病院呼吸器センター内科），衛藤義勝（東京総合医科大学DNA医学研究所遺伝子治療部門）

【研究要旨】

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。CFは約80%の症例で膵外分泌機能障害(pancreatic insufficiency; PI)を伴うが、大多数は呼吸機能不全で死亡する。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、すでにわが国における20数例のCF患者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合計23例に及ぶ。本年度は新たに検討した11歳女児CF症例のCFTR遺伝子変異解析結果を報告する。日本人のCF患者におけるCFTR遺伝子変異は、国際的データベースにもこれまで報告のない変異、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明らかに様相が異なる。しかしながら、一部の症例では同一の遺伝子変異が共通に検出されている。今後も引き続き日本人CF症例を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、わが国独自の遺伝子変異スクリーニングシステムを確立する必要があるものと考えられる。

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は欧米白人種にきわめて高率に発症する疾患であるが、一方日本人をはじめとする東洋人種におけるCFの発症頻度は極めて低いと考えられている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から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)とおおむね矛盾しないため⁸⁾、わが国では、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、あるいは限られた数のエクソンでのPCR増幅とsingle strand conformation polymorphism (SSCP)解析などが検討されたが、有意なCFTR遺伝子異常は確認されず、変異状況は不明であった^{3,6)}。この主要な理由は、わが国のCF患者におけるCFTR変異が欧米患者と比較して、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ことに起因する。しかしながら、このような経緯の中、約10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)}。筆者らは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23例のCF症例において遺伝子変異を確認し得た。これらの中には、欧米でも極めて稀な変異や、これまで国際的な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)}。

Leu Phe Pro His Arg Asn Ser Ser Lys
G C T C T T T C C C C A C C T G G A A C T C A A G C A A

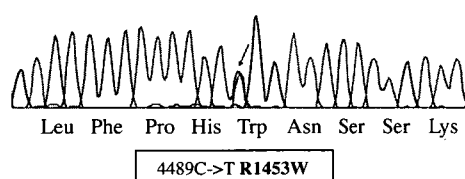


図1 CFTR遺伝子エクソン7のR1453W missense 変異

B. 研究方法

今年度1例の新規女性CF患者におけるCFTR遺伝子変異を新たに解析した。症例は解析時11歳の女児で、両親の血族結婚はなく満期正常分娩であった。4歳時より咳嗽、喀痰などの下気道炎症症状が出現し、粘稠な喀痰の培養では緑膿菌が持続的に検出されている。冬季に発熱するエピソードを繰り返し、また慢性副鼻腔炎の合併も指摘されていた。前医でCFを疑われ、米国某社の95種のCFTR遺伝子変異検査を受けるも、異常は確認されなかった。生後からこれまで肺外分泌機能障害を示唆する症状はなく、pancreatic sufficientと考えられた。Macroductを用いたピロカルピン負荷の汗試験で Cl^- 22 mEq/Lと、正常値を示した。

(倫理面への配慮)

「虎の門病院 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理委員会」において「日本人嚢胞性線維症患者におけるCFTR遺伝子変異の検索」研究の審査を受け、承認を得た研究計画(受付番号第2005-5号)に従い、当該症例のCFTR遺伝子変異検索の臨床的、遺伝学的意義を患者本人および両親に説明した上、同意を取得した。

C. 研究結果

今回の症例の遺伝子変異解析では、一つのアリルでエクソン24にミスセンス変異R1453Wが認められた(図1)。このR1453W変異はcDNAの4489番目の塩基にC->Tの置換が起こり、その結果1453番目のアミノ酸コドンがアルギニンからトリプトファンに置き換わったものである。5', 3'の近接領域を含む27すべてのエクソンの塩基配列を検討したが、R1453W以外の遺伝子異常は見いだせなかった。

R1453W変異はすでに筆者が1999年にわが国の65歳女性のびまん性汎細気管支炎症例で見出し、CFTR Data Baseに報告した変異である⁵⁾。

D. 考察

今回報告した症例では、一方のアリルのみの異常が確認され、もう一つのアリルには検索した範囲では、変異は見いだせなかった。汗の Cl^- 濃度異常もなく、肺病変も明らかではないことから、診断基準からは典型的とはいえないものの、臨床的には呼吸器病変主体のCFと考えられる症例であると考えられる^{1,3)}。

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1,550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。

E. 結論

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ことがすでに明らかにされている。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。今後もわが国の日本人CF症例を本研究班を中心に、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、頻度を明らかにしていきたい。