

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
IgG4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
分担研究報告書 P-III-②

IgG4 関連漏斗下垂体病変の臨床像

研究協力者 島津 章 国立病院機構京都医療センター 臨床研究センター長

研究要旨：最近注目されている IgG4 関連全身疾患の病態を明らかにするため、IgG4 関連硬化性疾患に併発する漏斗下垂体病変について 2000 年以降の論文および学会発表の報告(29 症例)からその臨床像をまとめた。中高年の男性に多く、下垂体前葉機能低下と尿崩症がともにある。下垂体茎腫大を伴う例が多く、ステロイドによく反応する。肥厚性硬膜炎像を伴う例があり下垂体周辺組織を巻き込む病態が想定される。診断には、併発する IgG4 関連全身疾患の存在および血清 IgG4 濃度測定(ステロイド補充前)が重要である。

共同研究者

沖 隆、藤澤 一朗、佐野 寿昭

所属

浜松医科大学第二内科 講師

市立岸和田市民病院放射線科 部長

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部
人体病理学教授

A. 研究目的

IgG4 関連全身疾患は、ミクリッツ病や自己免疫性膵炎などの研究から最近明らかにされた疾患概念であるが、その病態はまだ不明である。稀に下垂体茎および下垂体に病変が及んだ症例が報告されているが、いわゆる「リンパ球性下垂体炎」との異同は明らかでない。本研究では、IgG4 関連硬化性疾患に併発する漏斗下垂体病変の報告をまとめ、その臨床的特徴を明らかにする。

B. 研究方法

IgG4 関連硬化性疾患に合併した漏斗下垂体病変について、2000 年以降の論文発表および我が国の学会で発表された報告(抄録)に基づいて臨床的特徴をまとめた[1,2]。症例の選択基準は、一つ以上の IgG4 関連硬化性疾患または多巣性繊維硬化症に漏斗下垂体病変が疑われた例および下垂体腫瘍生検により炎症性偽腫瘍の組織像と多数の IgG4 陽性形質細胞浸潤が認められた例を取り上げた。

(倫理面への配慮)

本研究は、既に公表されている臨床データを利用したものであることから、「臨床研究に関する倫理指針」(平成 20 年厚生労働省告示第 415 号)に則り、特段の倫理面への配慮は不要である。

C. 研究結果

2000 年以降の報告は合計 29 例あり、その内訳は男性 23 例、女性 5 例、不明 1 例、年齢別では 40 歳代：3 例、50 歳代：6 例、60 歳代：8 例、

70 歳代：11 例であり、年齢中央値は 65 歳であった。

1)臨床症状

視床下部下垂体の関連症状として、全身倦怠感が 13 例、多尿 9 例、頭痛 8 例、視力・視野障害や眼球運動障害が 7 例、発熱 6 例、性機能低下 5 例、食欲低下 4 例、体重減少 4 例などであった。

2)下垂体機能

何らかの前葉機能低下症を 26 例に、中枢性尿崩症を 16 例に認めた。両者の合併例は 15 例であった。このうちステロイド補充後に多尿・口渴・多飲の症状が顕性化する仮面尿崩症は 4 例であった。また、尿崩症を初発として、その後前葉機能低下が進行したと考えられる症例が 5 例でみられた。

前葉機能低下は、性腺機能低下のみが 2 例、中枢性甲状腺機能低下のみ 1 例、ACTH 単独欠損が 1 例といった部分的なものから汎下垂体機能低下にいたるものまで多様である。負荷試験により分泌予備能まで精査されている症例は少ないため、特徴的な障害パターンがあるかは不明である。ホルモン別では、LH・FSH 障害 19 例、ACTH 障害 17 例、TSH 障害 15 例、GH 障害 13 例であった。下垂体茎障害による高 PRL 血症が 5 例、下垂体障害による PRL 分泌低下が 2 例であった。視床下部による下垂体ホルモン分泌調節の障害が疑われる例もあった。

3)下垂体画像所見

下垂体茎の腫大および腫瘍は 25 例にみられ、漏斗部の近位部のみ肥厚している例があった。一方、下垂体腫瘍(肥大)像は 16 例にみられた。このうち、下垂体肥大のみは 3 例であり、下垂体茎腫大と下垂体腫瘍が合併した例は 8 例であった。下垂体茎と下垂体が連続して一体化した腫瘍像が 5 例にみられ、うち 1 例では下垂体前葉は萎縮し下垂体後葉～下垂体茎の腫大であった。

尿崩症の症例で T1 強調画像による下垂体後半部の高信号は消失していたが、臨床的に尿崩

症が明らかでない例でも一部に T1 高信号の消失を伴っていた。

下垂体近傍の肥厚性硬膜炎が 6 例に認められた。4 例に副鼻腔病変、2 例に眼窩の病変がみられた。

4) 主要検査所見

血中免疫グロブリン IgG は 11 例中 9 例で増加し、IgG4 の増加は 16 例中 14 例で認められた。IgG4 が正常であった 2 例はステロイド治療中であった。

FDG-PET が施行された 2 例では、他の病変部位とともに下垂体部位にも明らかな取り込みが認められた。

5) 下垂体病理組織像

経蝶形骨洞的手術および開頭術による下垂体生検が 8 例で施行された。病理組織像は炎症性偽腫瘍の形態をとり、炎症性繊維性変化が主体で、リンパ球や形質細胞の炎症性細胞浸潤が強く認められた。これらの細胞は IgG4 免疫染色で陽性に染まった[3]。1 例は肉芽腫性下垂体炎の組織像であった[4]。

6) 併発の IgG4 関連疾患

IgG4 関連疾患として、肺病変 12 例、Mikulicz 病・涙腺・唾液腺病変 10 例、後腹膜繊維症 9 例、膵病変 7 例、リンパ節腫大 6 例、硬膜病変 5 例、肝・胆嚢病変 3 例、副鼻腔病変 3 例、腎病変 3 例、眼窩病変 2 例などであった。下垂体病変に先行する場合は 13 例、ほぼ同時期が 11 例、下垂体病変が先行する場合は 3 例であった。現在、併発する関連疾患を認めない下垂体病変単独が 2 例報告されている。

7) ステロイド治療に対する効果

ACTH 分泌低下に対する補充量から併発する後腹膜繊維症や肥厚性硬膜炎、自己免疫性膵炎などに対する薬理量まで、種々の用量のステロイドが用いられた。下垂体前葉機能障害は 6 例で不変、9 例で一部のホルモン分泌回復がみられた。特に補充量でも効果があった報告は注目される。尿崩症はほとんどの例で不変であるが、2 例で経過中寛解し、1 例でステロイド減量により再燃している。

下垂体腫瘍や下垂体茎腫大は経過観察できた症例でほぼ全例に改善がみられ、再燃は 4 例で報告された。

D. 考察

下垂体の炎症性疾患のなかでいわゆる下垂体炎は、その成因に自己免疫学的機序が想定されており、漏斗部にも炎症がみられ、自己免疫性視床下部下垂体炎と捉えられている。病理学的には、リンパ球性、肉芽腫性、黄色腫性、黄色肉芽腫性下垂体炎などに分類されるが、共通の基盤に由来するかどうかはまだ十分明らかでない。

典型的な前葉炎は妊娠後期～産褥期の女性に起き、下垂体腫瘍および下垂体機能低下の形をとる。一方、発生学的に異なる前葉と後葉を侵す前葉と後葉を同時に侵す汎下垂体炎の成因はまだ明らかでない。前葉もしくは後葉の炎症が下垂体全体に波及した可能性が指摘されている。また、脳神経症状や硬膜浸潤、視床下部への浸潤を示すアグレッシブな汎下垂体炎の症例も報告されており、典型的な視床下部下垂体炎と同じ疾患スペクトラムに属するかどうか不明である。

下垂体周囲組織の障害により、視力視野障害、下垂体前葉機能低下、尿崩症のほか、脳硬膜髄膜炎、海綿静脈洞炎、副鼻腔炎が引き起こされる。下垂体周囲組織を巻き込んだ慢性炎症として肥厚性硬膜炎や海綿静脈洞炎症候群を伴った傍トルコ鞍部非特異的炎症の病態が知られている。今回まとめた IgG4 関連漏斗下垂体病変では、トルコ鞍近傍の硬膜炎や副鼻腔病変、眼窩病変を伴う症例が 8 例にみられ、これらは傍鞍部非特異的炎症と同様、局所病変に伴う二次性下垂体炎とも考えられる。

多巣性繊維硬化症に伴う下垂体病変としてこれまでに報告された例は、今回の IgG4 関連下垂体病変とほぼ同様に下垂体前葉機能低下または尿崩症＋下垂体前葉機能低下の症状で発見され、ステロイド治療により比較的早期に下垂体腫瘍、下垂体茎腫大の縮小と下垂体機能の一部回復がみられるという特徴を有している。これらは全身性 IgG4 関連疾患に伴う二次性下垂体炎と位置づけられる。

尿崩症を初発とする症例や下垂体機能低下症単独の症例が一部にみられた。経過中に IgG4 関連疾患が発見されるまでは原発性下垂体病変として捉えざるを得ない。しかし IgG4 関連疾患における自己免疫機序もまだ明らかでないことから、自己免疫性視床下部下垂体炎の一型とするには時期尚早と考えられる。

IgG4 関連硬化性疾患に伴う漏斗下垂体病変について今までの報告例をまとめた。下垂体生検で IgG4 陽性形質細胞浸潤を伴う炎症性偽腫瘍が証明された症例はわずか 8 例に過ぎず、疾患の位置づけ、自己免疫性視床下部下垂体炎との関連についてまだ議論の余地がある。下垂体障害が疑われる例に対し積極的に血清 IgG4 濃度の測定を行い同様の症例を集積する必要がある。

E. 結論

IgG4 関連漏斗下垂体病変は中高年の男性に多く、下垂体前葉機能低下と尿崩症がともにある。下垂体茎腫大を伴う例が多く、ステロイド

によく反応する。肥厚性硬膜炎像を伴う例があり下垂体周辺組織を巻き込む病態が想定される。診断には、併発する IgG4 関連疾患の存在および血清 IgG4 濃度測定(ステロイド補充前)が重要である。

F. 参考文献

- 1) Shimatsu A, et al. Endocr J, 56: 1033, 2009
- 2) 島津 章.他. ホルモンと臨床, 投稿中
- 3) Wong S, et al. Hum Pathol, 38: 1720, 2007 4) Osawa S, et al. Neurol Med Chir (Tokyo), 49: 622, 2009

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

Shimatsu A, Oki Y, Fujisawa I, Sano T. Pituitary and stalk lesions (infundibulo-hypophysitis) associated with immunoglobulin G4-related systemic disease: an emerging clinical entity. Endocr J, 56(9): 1033-1041, 2009.12.22, (E-pub: Nov. 19, 2009)

2. 学会発表

島津 章, 島津智子, 臼井 健, 沖 隆, 藤澤一朗, 佐野寿昭. IgG4 関連漏斗下垂体病変の概念: 報告例のまとめ, シンポジウム 1「リンパ球性下垂体炎と IgG4 関連下垂体炎をめぐって」, 第 20 回日本間脳下垂体腫瘍学会, 西宮, 2010 年 2 月 19 日 (S-001, プログラム・抄録集, p.63)
Shimatsu A, Fujisawa I, Sano T, Shimazu S, Namba K, Nomura H, Tamanaha T, Tagami T, Usui T, Naruse M. Infundibulo-hypophysitis associated with IgG4-related systemic disease: is it primary or secondary? The 14th International Congress of Endocrinology, Kyoto, March, 27, 2010.
島津 章, 沖 隆, 藤澤一朗, 佐野寿昭. IgG4 関連下垂体病変の臨床的特徴. 第 107 回日本内科学会講演会, 東京, 2010 年 4 月 11 日

I. 知的所有権の取得状況

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

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
IgG4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
分担研究報告書 P-IV-①

接着制御分子破綻による自己免疫発症の機構

研究分担者 木梨達雄 関西医科大学附属生命医学研究所 教授

研究要旨：接着制御因子 Mst1 欠損マウスは加齢とともに肺、脾臓、肝臓、唾液腺などに免疫細胞が浸潤し、血清 IgG 値、自己抗体が陽性になる。この自己免疫様症状が T 細胞に起因していることが T 細胞特異的 Mst1 欠損によって明らかになった。さらに、Mst1 欠損マウスでは、胸腺細胞の正の選択の異常とともに、制御性 T 細胞の発生低下や抑制機能の低下が起こっており、Mst1 欠損胸腺細胞移入実験によって大腸炎やその他の組織の炎症が惹起された。これらの結果は Mst1 がリンパ球の動態のみならず、自己寛容維持に重要な役割を果たしていることを示している。今後 IgG4 関連疾患患者検体を用いて Mst1、RAPL の DNA メチル化解析を行い、発現低下がおこっているかどうか解析する。

共同研究者

植田祥啓 関西医科大学附属生命医学研究所
片貝智哉 関西医科大学附属生命医学研究所
羽廣克嘉 関西医科大学附属生命医学研究所
富山尚 関西医科大学第 3 内科
安田鐘樹 関西医科大学泌尿器科
片桐晃子 関西大学院理工学部

A. 研究目的

接着制御分子 RAPL は Mst1 と複合体を介してリンパ球の接着や体内動態を制御しているが(1, 2)、Mst1 の遺伝子欠損マウスは加齢とともに血清 IgG 値亢進、自己抗体陽性、脾臓、肺、肝臓、唾液腺などにリンパ球浸潤、おこり、自己免疫様症状を呈する。これらの病態はヒト難治性 IgG4 関連全身疾患との類似性をもつことから、その病因を探るとともに、IgG4 疾患における接着制御分子の異常の有無を明らかにする。RAPL、Mst1 とともにプロモーター領域は CpG に富み、腫瘍性疾患で DNA メチル化による発現低下が報告されている(3,4)。そこで IgG4 関連疾患において Mst1、RAPL 遺伝子の DNA メチル化を検討する。

B. 研究方法

接着制御分子 Mst1 欠損マウス(Mst1^{-/-})、T 細胞系列欠損マウス(Mst1 flox/flox;Lck-Cre)を用いて、T リンパ球の増殖、分化、サイトカイン産生を調べるとともに、B 細胞系列特異的 Mst1 欠損マウス(Mst1 flox/flox;mb1-Cre)と自己免疫様症状を比較検討する。末梢性寛容に重要な制御性 T 細胞の発生、抑制機能を抗原特異的増殖応答調べる。また、胸腺細胞移入実験による大腸炎発症モデルを用いて、in vivo における制御性 T 細胞の抑制機能を解析する。中心性寛容について TCR トランスジェニックマウス

を用いて解析する。IgG4 関連疾患における Mst1 発現を DNA メチル化を指標に調べる。そのため、Mst1、RAPL 遺伝子の sodium bisulfite 法によるメチル化マッピングを健常人で確立し、IgG4 関連自己免疫性膵炎患者 DNA 検体を検討する。

(倫理面への配慮)

マウスは SPF 環境において飼育し、適切な動物愛護の配慮のもとに実験を行う。本実験の遺伝子組換え動物実験計画は、関西医科大学動物実験委員会の承認を得ている。

承認番号：09-100、課題番号「接着分子インテグリンを介する細胞接着の分子機構」研究代表者 木梨達雄

患者検体を用いた DNA 解析は文書による説明、同意を得たうえで行う。解析データについては匿名化、連結可能匿名化を行い、個人情報として特定できないようにする。本解析は、関西医科大学医学倫理委員会の承認を得ている。

承認番号 関医倫第 0903 号 課題名「IgG4 関連疾患・自己免疫性膵炎における疾患関連遺伝子の解析」

主任研究者 岡崎和一 内科学第三講座・教授
分担研究者 木梨達雄

C. 結果

Mst1 欠損マウスにおいて、2 カ月齢よりエフェクター・メモリー T 細胞が増加し、10 カ月齢で自己抗体陽性、様々な臓器にリンパ球浸潤、IFN γ 、IL-4 が亢進していた。また、in vivo において T リンパ球の増殖が亢進していた。一方、B 細胞特異的 Mst1 欠損では全身性 Mst1 欠損で見られた接着やトラフィッキング異常に起因する末梢リンパ組織 B 細胞の減少、B 細胞の亜集団減少(辺縁洞 B 細胞、骨髄再循環 B 細胞)が観察されたが、メモリー細胞の増加、自己抗体などの免疫異常は検出されなかった。Mst1 欠損 T リンパ球は LFA-1 接着が低下しているが、抗原

特異的 T-APC 相互作用も減弱、抗原応答も低下していた。H-Y TCR Tg マウスと交配し、胸腺の正・負の選択を調べたところ、HY-female/Mst1^{-/-}における CD8SP が半減しており正の選択が低下していた。また HY-male/Mst1^{-/-}で CD8SP の割合がコントロール HY-male に比べてやや多かったことから、負の選択も影響を受けている可能性があるが、さらに解析個体数が必要である。Mst1 欠損マウスでは胸腺内 FoxP3 陽性 Treg が減少、また、抗原特異的抑制機能が低下していた。Mst1 欠損胸腺細胞を CD3 欠損マウスに移入すると 4 週以内によって著しい大腸炎が生じ、2 月 - 3 カ月後、様々な組織にリンパ球の浸潤が見られた。健常人の DNA を材料に RAPL, Mst1 プロモーター領域の sodium bisulfite 法によるメチル化マッピングを進めている。同様の手法で IgG4 関連疾患自己免疫性膵炎患者検体を解析する予定である。

D. 考察

T 細胞特異的 Mst1 欠損によって T 細胞における Mst1 欠損が原因で自己免疫が発症していることが明らかになった。胸腺では正の選択が低下しており、このため制御性 T 細胞の低下が起こっていると考えられる。末梢では制御性 T 細胞の減少は認められなかったが、抗原特異的抑制機能が低下しており、さらに移入実験などにより Mst1 欠損制御性 T 細胞異常が強く示唆された。Mst1 欠損による接着機能異常が制御性 T 細胞の発生、機能異常の原因である可能性が示された。これらの結果から Mst1 の発現低下は全身性の自己免疫疾患の原因あるいは増悪因子として作用する可能性を示しており、IgG4 関連疾患における Mst1 や RAPL のメチル化を推進する必要がある。

E. 結論

Mst1 欠損によって起こる全身性自己免疫症状は T 細胞に起因し、胸腺の正の選択異常、制御性 T 細胞の発生と抑制機能が低下していた。末梢性、中心性自己寛容における接着制御の重要性が示された。IgG4 関連疾患に Mst1 の遺伝子変異やメチル化など発現異常が関与するかどうかが今後明らかにする必要がある。

F. 参考文献

(1) Katagiri, K., M. Imamura, Kinashi, T. Spatiotemporal regulation of the kinase Mst1 by binding protein RAPL is critical for lymphocyte polarity and adhesion. *Nat. Immunol.* 7(9): 919-928. contributes to high-velocity migration of primary T cells on stromal cells isolated from lymph nodes” 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪国

2006

(2) Kinashi, T. Intracellular signalling controlling integrin activation in lymphocytes. *Nat. Rev. Immunol.* 5(7): 546-559. 2005
(3) Richter, A. M., Pfeifer, G.P., Dammann, R.H. The RASSF proteins in cancer; from epigenetic silencing to functional characterization." *Biochim Biophys Acta* 1796(2): 114-128. 2009
(4) Seidel, C., U. Schagdarsurengin, K. Blumke, P. Wurl, G.P. Pfeifer, S. Hauptmann, H. Taubert, and R. Dammann, *Frequent hypermethylation of MST1 and MST2 in soft tissue sarcoma.* *Mol. Carcinog.* 46(10): 865-871. 2007

G. 健康危険情報 なし

H. 研究発表

1. 論文発表

Ebisuno, Y., Katagiri, K., Katakai, T., Ueda, Y., Nemoto, T., Inada, H., Nabekura, J., Okada, T., Kannagi, R., Tanaka, T., Miyasaka, M., Hogg, N., Kinashi, T. Rap1 controls lymphocyte adhesion cascade and interstitial migration within lymph nodes in RAPL-dependent and -independent manners. *Blood* 28;115(4) 804-814. 2010

Katagiri K, Katakai T, Ebisuno Y, Ueda Y, Okada T, Kinashi T. Mst1 controls lymphocyte trafficking and interstitial motility within lymph nodes. *EMBO J.* 28(9) 1319-31. 2009

2. 学会発表

海外

1. Kinashi, T., "RAPL signaling in regulation of immune cell traffic and proliferation" First International Symposium of Clinical and Biological Implications for the role of the RASSF(the Ras association domain family) family of tumor suppressor proteins, Canada February 4th-9th 2009
2. Kinashi, T., "Regulation of lymphocyte trafficking by RAPL and MST1 signaling", The 2009 FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology) Summer Research Conference, Signal Transduction in The Immune System. Snowmass, Colorado June 21 - 26, 2009
3. Kinashi, T., "Regulation of lymphocyte trafficking by RAPL and Mst1 signaling" The 21st IUBMB and the 12th FAOBMB & International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai China, August 2-7 2009

国内

1. 片貝智哉, 木梨達雄 "ICAM-1 に対する LFA-1 依存的接着はリンパ節より単離したストローマ細胞上における T 細胞の高速移動に関与する / Laf-1 dependent adhesion to ICAM-1

際会議場) December 2-3 2009

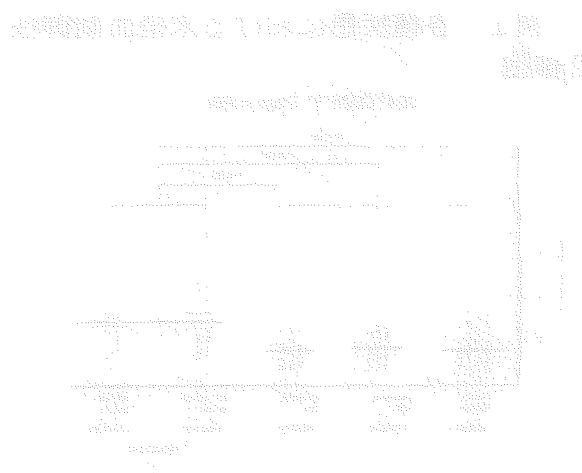
2. 河田美穂, 吉田行輝, 片桐晃子, 木梨達雄

“Rap1-RAPL によるリンパ球接着カスケードの制御 / Rap1 controls lymphocyte adhesion cascade in RAPL-dependent and -independent manners” 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪国際会議場) December 2-3 2009

3. 吉田行輝, 河田美穂, 福田光則, 木梨達雄, 片桐晃子 “Rab 蛋白質によるリンパ球極性形成と遊走の制御 / Regulation of lymphocyte polarization and motility by Rab proteins” 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪国際会議場) December 2-3 2009

4. 植田祥啓, 片桐晃子, 安田鐘樹, 富山尚, 片貝智哉, 羽廣克嘉, 池原進, 木梨達雄, “T 細胞の恒常性と免疫寛容における Mst1 キナーゼの役割 / The Ste20-like kinase Mst1 is essential for maintenance of T cell homeostasis and immunological tolerance” 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪国際会議場) December 2-3 2009

I. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)
なし



厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
IgG4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
分担研究報告書 P-IV-②

IgG4 関連疾患における標的抗原と免疫制御に関する研究
研究分担者 岡崎和一 関西医科大学内科学第三講座 主任教授

研究要旨：自己免疫性膵炎を始めとする IgG4 関連疾患は IgG4 高値を特徴とするが、その 臨床的意義は不明である。本研究では自己免疫性膵炎患者を対象に IgG4 関連疾患における制御性 T 細胞と IgG4 陽性形質細胞の関係について検討した。自己免疫性膵炎では膵および膵外病変において制御性 T 細胞が増加しており、制御性 T 細胞による IL-10 産生亢進を介した IgG4 産生制御機構の存在する可能性が示唆された。

共同研究者
内田一茂、小藪雅紀、楠田武生
所属
関西医科大学内科学第三講座

A. 研究目的

自己免疫性膵炎を始めとする IgG4 関連疾患は IgG4 高値を特徴とするが、その 臨床的意義は不明である。近年制御性 T 細胞と IgG4 産生の関わりについて報告がなされている。そこで今回我々は IgG4 関連疾患における制御性 T 細胞と IgG4 陽性形質細胞の関係について検討した。

B. 研究方法

37 名の自己免疫性膵炎患者・39 名の健常人・41 名の慢性膵炎患者（アルコール性膵炎 21 名、特発性膵炎 20 名）の末梢血中の Treg (CD4⁺CD25^{high}) をフローサイトメトリーを用いて解析を行った。また膵組織の得られた 6 例と膵外病変については肝組織 AIP18 例と PSC26 例について Treg と IgG4 陽性形質細胞について検討した。

(倫理面への配慮)

関西医科大学医学倫理委員会（関医倫枚小第 206 号、関医倫第 903 号）に承認され、各研究者の所属施設においても倫理委員会の承認後、説明文と同意書による同意を取得する。被験者は自由意志で研究に参加し、個人の人権を擁護し、意志を尊重する。被験者の個人情報情報を保護し、学会や専門雑誌に発表する場合も、個人情報情報はわからないようにする。

C. 研究結果

自己免疫性膵炎患者の Treg (3.17±1.61%) は健常人(1.86±0.82%)・アルコール性慢性膵炎患者(1.89±0.45%)・特発性慢性膵炎患者(1.85±0.64%)と比較し有意に増加していた。さらに IL-10 産生性 Treg については、IgG4 値とも正の相関(R=0.53)が認められた。膵組織については AIP では Treg は(24.6±18.0 cells/HPF)、対象患者は(5.143±4.35 cells/HPF)であった。IgG4 陽性細胞は AIP では(24.6±18.0 cells/HPF)、対象患者では(1.90±1.05cells/HPF)であった。肝組織については AIP では Treg は(5.33±1.53 cells/HPF)、PSC では(2.04±1.59 cells/HPF)であった。IgG4 陽性細胞は AIP 患者では(14.3±6.86 cells/HPF)、PSC では(3.58±0.60 cells/HPF)で、膵臓、肝臓ともに AIP 症例では Treg、IgG4 陽性細胞ともに増加していた。

図 1) 各種疾患における末梢血制御性 T 細胞

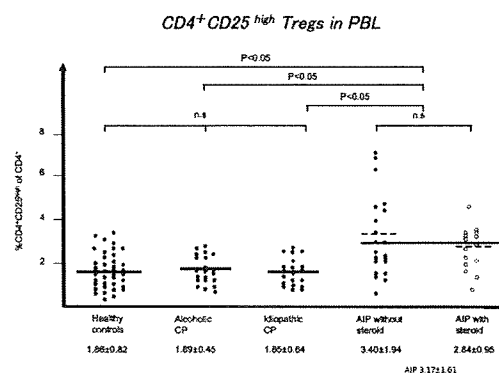


図2) 各種疾患における末梢血 naive 制御性 T 細胞

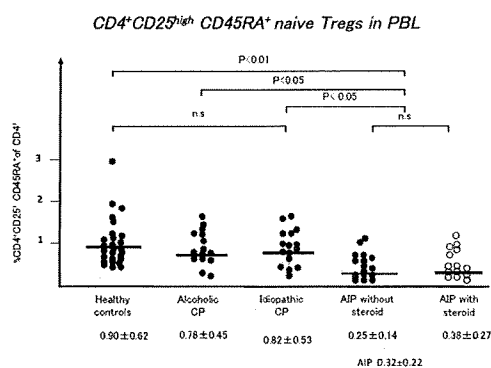


図3) 末梢血制御性 T 細胞と血清 IgG4 値の相関

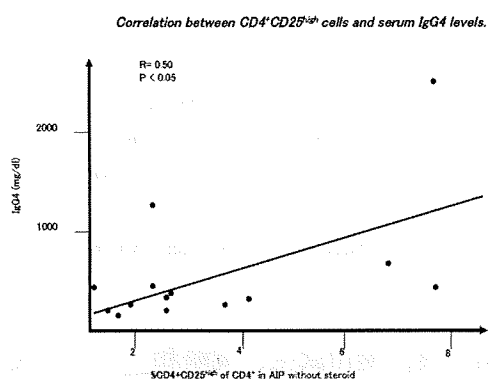


図4) IL-10 産生制御性 T 細胞と血清 IgG4 値の相関

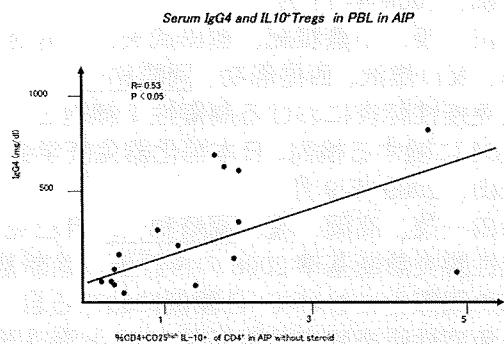
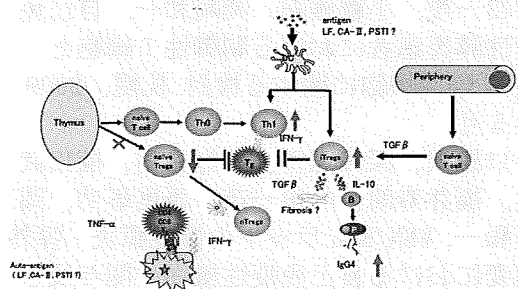


図5) 自己免疫性膵炎における制御性 T 細胞と IgG4 産生のメカニズム



D. 考察

IgG4 産生のメカニズムは増加した制御性 T 細胞により産生された IL-10 による可能性が示

唆された。

E. 結論

自己免疫性膵炎においては、膵病変、膵外病変ともに CD4+CD25high 細胞の増加が高 IgG4 血症に関与していることが示唆された。

F. 参考文献

- 1) Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N. Chronic pancreatitis caused by autoimmune abnormality. Proposal of concept of autoimmune pancreatitis. Dig Dis Sci 40:1561-1568, 1995.
- 2) Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. N Engl J Med 344:732-738, 2001.
- 3) Kamisawa T, et al. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. J Gastroenterol 38:982-4, 2003.
- 4) Miyoshi H, Uchida K, Taniguchi T, Yazumi S, Matsushita M, Takaoka M, Okazaki K. Circulating naive and CD4+CD25high regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. Pancreas. 2008;36:133-40.

G. 健康危険情報 なし

H. 論文発表

- 1) Koyabu M, Uchida K, Miyoshi H, Sakaguchi Y, Fukui T, Ikeda H, Takaoka M, Hirohara J, Nishio A, Uemura Y, Uemoto S, Okazaki K. Analysis of regulatory T cells and IgG4-positive plasma cells among patients of IgG4-related sclerosing cholangitis and autoimmune liver diseases. J Gastroenterol. 2010 Jan 20. [Epub ahead of print]
- 2) Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; Working members of Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: I. Concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2010 Jan 20. [Epub ahead of print]

- 3) Kawa S, Okazaki K, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; Working members of Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. J Gastroenterol. 2010 Feb 2. [Epub ahead of print]
- 4) Asada M, Nishio A, Okazaki K, et al. Analysis of Humoral Immune Response in Experimental Autoimmune Pancreatitis in Mice. Pancreas. 2009 Oct 2. [Epub ahead of print]
- 5) Koyabu M, Uchida K, Okazaki K, et al. Primary sclerosing cholangitis with elevated serum IgG4 levels and/or infiltration of abundant IgG4-positive plasma cells. J Gastroenterol. 2009 Sep 18. [Epub ahead of print]
- 6) Uchida K, Yazumi S, Okazaki K et al. Long-term outcome of autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2009 Apr 25. [Epub ahead of print]
- 7) Kamisawa T, Shimosegawa T, Okazaki K, et al. Standard steroid therapy for autoimmune pancreatitis. Gut. 2009 Apr 26. [Epub ahead of print]
- 8) Matsushita M, Fukui T, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Atypical retroperitoneal fibrosis associated with biliary stricture: IgG4-related sclerosing disease? Scand J Gastroenterol. 2009;44(9):1146-1147.
- 9) Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, et al. Japanese clinical guidelines for autoimmune pancreatitis. Pancreas. 2009;38(8):849-66.

2. 学会発表

国際学会

- 1) Uchida K, Miyoshi H, Okazaki K, et al. Analysis of Regulatory T cells in Patients with Autoimmune pancreatitis. 40 th Anniversary Meeting of American Pancreatic Association and Japan Pancreatic Society. 2009/05. Honolulu
- 2) Y Sakaguchi, T Kusuda, M Okazaki. AN ANIMAL MODEL FOR ACUTE, CHRONIC, AND SEVERE PANCREATITIS WITH THE ANALYSES OF REGENERATION MECHANISMS. 40 th Anniversary Meeting of American

Pancreatic Association (APA) and Japan Pancreatic Society (JPS). 2009/05. Honolulu

- 3) Okazaki K. How Do We Diagnose AIP? 40 th Anniversary Meeting of APA and JPS. 2009/05. Honolulu
- 4) Okazaki K. Subtypes of AIP (LPSP AND IDCP). 40 th Anniversary Meeting of APA and JPS. 2009/05. Honolulu
- 5) Okazaki K. ANATOMY of a FRIENDSHIP Gunter Kloppel & the Verona Pancreatic Team. 2009/09. Verona
- 6) Uchida K, Miyoshi H, Okazaki K, et al. Regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. European Pancreatic Club Meeting 2009, Szeged, Hungary
- 7) Uchida K, Miyoshi H, Okazaki K, et al. Analysis of CD4+CD25high regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. International Pancreatic Research Forum. 2009, Tokyo

国内学会

- 1) 内田一茂, 楠田武生, 岡崎和一. 自己免疫性膵炎における制御性T細胞に関する検討. 第51回日本消化器病学会大会, 京都, 2009年11月
- 2) 内田一茂, 小藪雅紀, 楠田武夫, 三好秀明, 坂口雄沢, 西尾彰功, 岡崎和一. 自己免疫性膵炎における制御性T細胞とIgG4に関する検討. 日本消化器免疫学会, 松山, 2009年9月
- 3) 内田一茂, 高岡亮, 岡崎和一. 自己免疫性膵炎診断基準2006の再評価 診断基準の国際化にむけて 自験例における自己免疫性膵炎臨床診断基準2006と海外診断基準との前向き比較検討. 東京, 2009年7月
- 4) 内田一茂, 小藪雅紀, 岡崎和一. 自己免疫性膵炎患者における制御性T細胞とIgG4陽性細胞に関する検討. 札幌, 2009年5月
- 5) 坂口雄沢, 深田憲将, 三好秀明, 楠田武生, 福井寿朗, 内田一茂, 西尾彰功, 岡崎和一. WBN/Kobラットの慢性膵炎・膵外病変における自己免疫性機序の関与及び制御性T細胞の免疫応答. 札幌, 2009年5月

H. 知的所有権の出願・取得状況

1) 特許取得 該当なし

2) 実用新案登録 該当なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
IgG4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
分担研究報告書 P-IV-③

IgG4 関連疾患における自然免疫系と獲得免疫系に関する研究
研究協力者：千葉勉 京都大学大学院医学研究科 消化器内科学 教授

研究要旨；IgG4 関連全身性硬化性疾患は IgG4 陽性形質細胞の障害臓器への著明な浸潤を特色とするが、IgG4 陽性細胞の誘導機序は明らかになっていない。我々は大腸粘膜への IgG4 陽性細胞浸潤を呈した本疾患を 2 例経験した。大腸粘膜は腸内細菌に暴露されていることから、本疾患の発症機序に腸内細菌由来抗原に対する過剰な免疫反応が関与していることが示唆される。本研究において腸内細菌由来抗原が IgG4 の産生を誘導するか否かを検討した。健康人の末梢血単核球を様々な TLR/NLR ligands で刺激したところ、NOD2 ligand である muramyl dipeptide(MDP)が効率よく IgG4 の産生を誘導することが明らかとなった。以上の結果から、IgG4 関連全身性硬化性疾患の発症に腸内細菌に対する免疫反応が関与していることが示唆された。

共同研究者

渡邊智裕

所属

京都大学大学院医学研究科 消化器内科学

IgG4 関連全身性疾患の病態機序の理解や新規治療法の開発においても重要であり、社会的にも果たす役割は大きいと思われる。

E. 結論

自然免疫担当分子である NOD2 の活性化により IgG4 産生が増強された。

F. 参考文献

Akitake R, Watanabe T, Zaima C, Uza N, Ida H, Tada S, Nishida N, Chiba T. Possible involvement of T helper type 2 responses to Toll-like receptor ligands in IgG4-related sclerosing disease. GUT 2010;59:542-545.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) Akitake R, Watanabe T, Zaima C, Uza N, Ida H, Tada S, Nishida N, Chiba T. Possible involvement of T helper type 2 responses to Toll-like receptor ligands in IgG4-related sclerosing disease. GUT 2010;59:542-545.

2) Chung H, Watanabe T, Kudo M, Maenishi O, Wakatsuki Y, Chiba T. Identification and characterization of IgG4-associated autoimmune hepatitis. Liver International 2010;30:222-231.

3) Matsui H, Watanabe T, Ueno K, Ueno S, Tsuji Y, Matsumura K, Nakatsuji M, Ueda Y, Chiba T. Colonic polyposis associated with autoimmune pancreatitis. Pancreas 2009;38:840-842.

2. 学会発表

1) IgG4 関連自己免疫性肝炎の臨床的特徴像及び治療反応性に関する検討。

鄭浩柄、渡邊智裕、工藤正俊。

第 9 5 回日本消化器病学会総会。

A. 研究目的

IgG4 関連全身疾患は IgG4 陽性形質細胞の罹患臓器への浸潤及び血清中の IgG4 抗体の高値を特色とする全身性疾患である。IgG4 の産生誘導機構に関わる自然免疫及び獲得免疫反応について詳細は明らかではない。そこで、我々は IgG4 の産生に自然免疫反応の主要分子である Toll-like receptor (TLR)及び NOD-like receptor (NLR)の活性化がどのように関わるのかその機序を解析した。

B. 研究方法

14 人の健康者の末梢血より単核球を精製し、様々な TLR 及び NLR ligands で刺激し、IgG4 の産生と Cytokine の産生を検討した。

(倫理面への配慮)

健康人より、同意を得た後に行った。

C. 研究結果

NOD2 の ligand である Muramyl dipeptide (MDP) 及び TLR4 ligand である LPS の刺激により、健康者の末梢血単核球による IgG4 の産生が亢進した。MDP による NOD2 の活性化は IgG1 の産生は増加させず、その効果は IgG4 抗体の産生に特異的であった。本研究により、NOD2 の活性化が IgG4 の産生に重要であることが判明した。

D. 考察

IgG4 の産生に重要な役割を果たす自然免疫反応の因子を同定した。本研究により IgG4 の産生の誘導機序の一部が明らかとなった。その意義は基礎的・学術的には IgG4 抗体の産生機序に役立つが、

I. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む。）

1) 特許取得 なし

2) 実用新案登録 なし

3) その他 なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
I g G4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
分担研究報告書 P-IV-④

マイクロサテライト 400 種を用いた自己免疫性膵炎関連遺伝子の相関解析について
分担研究者 川 茂幸 信州大学健康安全センター 教授

研究要旨:自己免疫性膵炎は多因子性遺伝子疾患と考えられ発症には複数の疾患感受性遺伝子の関与が推定される。本研究では感受性遺伝子について全染色体を網羅的に検索する目的で、マイクロサテライトマーカーによるゲノムワイド相関解析を施行した。ゲノムワイド相関解析により本疾患と有意な相関を示すマーカーとして、D1S2726、D5S410、D6S460、D10S548、D15S128、D20S186 を同定した。その中から D1S2726 について近傍の有意な感受性遺伝子を検索したところ KCNA3 を同定した。7つの SNPs で相関解析を施行して4つの SNPs で有意な相関を認めた。KCNA3 はカリウムチャンネル蛋白 Kv1.3 をコードし、Kv1.3 は T 細胞の膜電位と Ca シグナリングを調節し、その増殖と活性化に大きく関与している。Kv1.3 は特に effector memory T cell (T_{EM}) に豊富に表現されている。最終分化した T_{EM} は炎症局所で IFN-g や IL4 を産生し、late memory B cell (CD27+IgG+IgD-) を誘導し、IgG 産生に大きな役割を果たす。従って、本疾患に特異的に認められる血清 IgG4 値の上昇は Kv1.3 表現の増加ならびに late memory B cell の増殖による可能性が考えられた。

共同研究者 太田正穂
信州大学法医学教室
浜野英明、梅村武司、伊藤哲也、新倉則和
信州大学消化器内科

A. 研究目的

自己免疫性膵炎は多因子性遺伝子疾患と考えられ発症には複数の疾患感受性遺伝子の関与が推定される。われわれは現在までに、本症の病態に関連する関連遺伝子の検索を行ってきた。HLA 領域では class II 抗原遺伝子である DRB1*0405 と DQB1*0401 が有意に高頻度で認められ、これらの HLA 分子が何らかのペプチド抗原を T 細胞に呈示して発症の引き金になることが予想される。¹⁾ また、HLA 領域内において HLA 遺伝子以外の疾患感受性遺伝子をマイクロサテライトマーカーによる相関解析を施行した結果、ABCF1 (ATP-binding cassette, sub-family) を同定した。²⁾ HLA 領域外の候補遺伝子として、既存の自己免疫性疾患の発症に関与していると報告されている疾患感受性遺伝子を検討した。関節リウマチ、自己免疫性甲状腺疾患、SLE に共通の感受性遺伝子として FCRL3 (Fc receptor-like3) が報告されている。本疾患で検討したところ、FCRL3-110A/A 多型の頻度がコントロールに比して有意に高く、また血清 IgG4 値が FCRL3-110A/G, FCRL3-110G/G, に比較して有意に高かった。従って FCRL3-110 多型は HLA とは独立して本疾患の感受性に関連し、血清 IgG4 値に影響を及ぼしている可能性が考えられる。³⁾ CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte antigen4) は T 細胞表面上に発現し、CD80/CD86 と作用してその活性を抑制し、様々な自己免疫性疾患発症との関連が報告されてい

る。本疾患で検討した結果、コントロールに比較して+6230G/G の頻度が有意に高く、疾患感受性に関与していると考えられた。⁴⁾ これら以外にもいくつか感受性遺伝子が存在すると考えられ、全染色体を網羅的に検索する目的で、マイクロサテライトマーカーによるゲノムワイド相関解析を施行した。

B. 研究方法

対象は自己免疫性膵炎患者 64 例(男性 53 例、女性 11 例、平均年齢 62.4 歳; 38-79)、健常人 104 例である。400 個のマイクロサテライトマーカー (ABI Linkage Mapping Set v.2.5 - MD10; Applied Biosystems, Foster City, CA; an average heterozygosity of 79% and an intermarker distance of 9.4 ± 2.9 cM) でゲノムスキャンを施行した。その結果、マイクロサテライトマーカー D1S2726 が本疾患と最も強い相関がある locus と同定され、近傍には potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3 (KCNA3) 遺伝子が確認された。この遺伝子を疾患感受性候補遺伝子として、遺伝子内にある 7 つの SNPs について TaqMan® SNP Genotyping Assays を用いて SNP のタイピングを施行し、カイ 2 乗検定、Fisher's exact test により有意差検定を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究は「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的背景の検討」として信州大学医学部倫理委員会に申請し、承認されている(承認番号 No. 12)。遺伝子検体の採取に際しては同意書にて、患者さんの同意を得た。また侵襲的な検査施行に際しても、文書で同意を得た。

C. 研究結果

ゲノムワイド相関解析により本疾患と有意な相関を示すマーカーとして、D1S2726 (42.2% vs. 8.7%, $P_c = 0.0000037$) on chromosome (chr) 1p13.1、D5S410 (59.4% vs. 30.8%, $P_c = 0.0067$) on chr 5q31-33、D6S460 (35.9% vs. 16.3%, $P_c = 0.0010$) on chr 6q14、D10S548 (93.8% vs. 66.3%, $P_c = 0.00039$) on chr 10p12、D15S128 (57.8% vs. 31.7%, $P_c = 0.007$) on chr 15q15、D20S186 (54.7% vs. 30.8%, $P_c = 0.021$) on chr 20p12.2. を同定した。

その中から D1S2726 について、30.7kb 近傍のマーカー D1S0655i を用いてさらに検討し、Allele 266 が同様に本疾患と相関することを認めた。NCBI Map Viewer により 100-kb 近傍の有意な感受性遺伝子を検索したところ KCNA3 と KCNA2 を同定した。KCN3 について 7 つの SNPs で相関解析を施行し、4 つの SNPs で有意な相関を認めた (rs2840381: allele G, rs1058184: allele A, rs2640480: allele C, rs1319782: allele C) ($P < 0.007$, $P_c < 0.05$)。7 種類の SNPs を用いた Pairwise LD mapping による連鎖不平衡解析では、患者群、コントロール群とも 3 つのブロックに分けられた。(rs3762379, major block; rs2840381 to rs2821548, and rs3887820) (図 1)。メジャーブロックの GACC haplotype が患者群でより有意に認められた ($P = 0.014$, OR = 2.45)。しかし、6 つの polymorphic SNPs の pairwise haplotype (CGACCG) の頻度は両群間で有意差を認めなかった ($P = 0.07$)。

D. 考察

今回のゲノムワイド検索で本疾患と有意な相関を認めた感受性候補遺伝子 KCNA3 はカリウムチャンネル蛋白 Kv1.3 をコードしている。KV1.3 は T 細胞の膜電位と Ca シグナリングを調節し、その増殖と活性化に大きく関与している。KV1.3 は特に effector memory T cell (T_{EM}) に豊富に表現されている。最終分化した T_{EM} は炎症局所で IFN- γ や IL4 を産生し、late memory B cell (CD27+IgG+IgD-) を誘導し、IgG 産生に大きな役割を果たす。従って、本疾患に特異的に認められる血清 IgG4 値の上昇は KV1.3 表現の増加ならびに late memory B cell の増殖による可能性が考えられた。

E. 結語

自己免疫性膵炎の感受性遺伝子について、全染色体を網羅的に検索する目的で、マイクロサテライトマーカーによるゲノムワイド相関解析を施行し、有意な相関を示すマーカーを同定した。その中から D1S2726 について近傍の有意な

感受性遺伝子を検索したところ KCNA3 を同定し、7 つの SNPs で相関解析を施行して 4 つの SNPs で有意な相関を認めた。KCNA3 はカリウムチャンネル蛋白 Kv1.3 をコードし、KV1.3 は T 細胞の膜電位と Ca シグナリングを調節し、その増殖と活性化に大きく関与している。従って、本症の病態に関与していることが考えられる。

F. 参考文献

1) 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, 122:1264-1269, 2002

2) Ota M, Katsuyama Y, Hamano H, Umemura T, Kimura A, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Fukushima H, Bahram S, Inoko H, Kawa S: Two critical genes (HLA-DRB1 and ABCF1) in the HLA region are associated with the susceptibility to autoimmune pancreatitis. Immunogenetics 59: 45-52, 2007

3) Umemura T, Ota M, Hamano H, Katsuyama Y, Kiyosawa K, Kawa S: Genetic association of Fc receptor-like 3 polymorphisms with autoimmune pancreatitis in Japanese patients. Gut 55: 1367-1368, 2006

(4) Umemura T, Ota M, Hamano H, Katsuyama Y, Muraki T, Arakura N, Kawa S, Kiyosawa K: Association of autoimmune pancreatitis with cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphism in Japanese patients. Am J Gastroenterol 2008 ;103(3):588-94

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) 岡崎 和一, 川 茂幸, 神澤 輝実, 伊藤 鉄英, 乾 和郎, 入江 裕之, 入澤 篤志, 久保 恵嗣, 能登原 憲司, 長谷部 修, 藤永康成, 大原 弘隆, 田中 滋城, 西野 隆義, 西森 功, 西山 利正, 須田 耕一, 白鳥 敬子, 下瀬川 徹, 田中 雅夫自己免疫性膵炎診療ガイドライン 2009 膵臓 24 : S1-S54, 2009

2) Ito M, Yasuo M, Yamamoto H, Tsushima K, Tanabe T, Yokoyama T, Hamano H, Kawa S, Uehara T, Honda T, Kawakami S, Kubo K. Central airway stenosis in a patient with autoimmune pancreatitis. Eur Respir J.

2009;33:680-3.

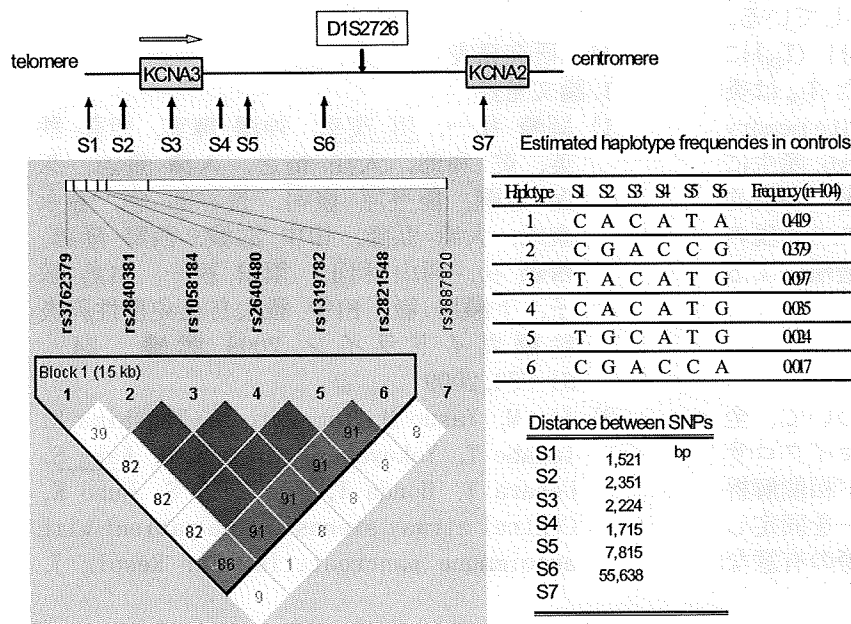
- 3) Tsushima K, Tanabe T, Yamamoto H, Koizumi T, Kawa S, Hamano H, Honda T, Uehara T, Kawakami S, Kubo K. Pulmonary involvement of autoimmune pancreatitis. *Eur J Clin Invest*. 2009;39:714-22.
- 4) Umemura T, Katsuyama Y, Hamano H, Kitahara K, Takayama M, Arakura N, Kawa S, Tanaka E, Ota M. Association analysis of Toll-like receptor 4 polymorphism with autoimmune pancreatitis. *Hum Immunol*. 2009;70:742-6.
- 5) Fujinaga Y, Kadoya M, Kawa S, Hamano H, Ueda K, Momose M, Kawakami S, Yamazaki S, Hatta T, Sugiyama Y. Characteristic findings in images of extra-pancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. *Eur J Radiol*. 2009 Jul
- 6) Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Ito T, Inui K, Irie H, Irisawa A, Kubo K, Notohara K, Hasebe O, Fujinaga Y, Ohara H, Tanaka S, Nishino T, Nishimori I, Nishiyama T, Suda K, Shiratori K, Shimosegawa T, Tanaka M. Japanese clinical guidelines for autoimmune pancreatitis. *Pancreas*. 2009;38:849-66.
- 7) Kawa S, Hamano H, Ozaki Y, Ito T, Kodama R, Chou Y, Takayama M, Arakura N. Long-Term Follow-Up of Autoimmune Pancreatitis: Characteristics of Chronic Disease and Recurrence. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2009;7:S18-S22
- 8) Ito T, Kitahara K, Umemura T, Ota M, Shimozuru Y, Kawa S, Bahram S. A Novel heterophilic antibody interaction involves IgG4, *Scand J Immunol* (in press)

2. 学会発表

- 1) 浜野英明、梅村武司、川茂幸、「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的背景と IgG4 のリウマトイド因子活性の検討」、第 51 回日本消化器病学会大会、(京都) 2009 ワークショップ
- 2) Kawa S, Hamano H; " Inflammation and carcinogenesis of the pancreas; AIP and Pancreatic cancer, Long term prognosis of AIP ". 5th Joint Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association". May 7-8, Sapporo, 2009
- 3) Ito T, Kitahara K, Kawa S, "Human IgG4 binds to each IgG subclass with Fc-Fc interaction" 40th Anniversary Meeting of American Pancreatic Society and Japan Pancreas Society, November 4-7, 2009, Hawaii
- 4) Kawa S: " Role of Serologic testing to diagnose AIP " AIP International Cooperative Study Group (APICS) Consensus Meeting, 2009, Nov 4, Hawaii
- 5) Kawa S, Hamano H, Fujinaga Y, Ozaki Y, Okazaki K, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M, mini symposium3: autoimmune pancreatitis "Differentiating AIP from Pancreatic Cancer" 40th Anniversary Meeting of American Pancreatic Society and Japan Pancreas Society, November 4-7, 2009, Hawaii

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
1. その他 該当なし



厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
分担研究報告書 P-IV-⑤

IgG4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
研究分担者 松田 文彦 京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

研究要旨: IgG4 関連全身疾患の発症と進行に関わる遺伝因子の探索を目的として、候補遺伝子アプローチによる関連解析を 2010 年度に開始するが、そのためのデータベースの整備、候補遺伝子の選択、解析手法の実装をおこなった。

A

研究目的

IgG4 関連全身疾患の発症と進行に関わる遺伝因子の同定を通して、疾患発症の分子機構の解明を目的とする。

B. 研究方法

遺伝子の一塩基多型を利用した関連解析を試みる。遺伝子の生物学的機能や動物モデルの解析結果を踏まえて候補遺伝子を選択し、タイピングを行う。関連解析で有意差を示す多型を選択し、独立検体群で再現性の検証を行う。

(倫理面への配慮)

検体収集施設で患者に説明と同意を行い、また検体はゲノム解析前の匿名化によりゲノム情報が個人情報と結びつかないよう配慮する。

C. 研究結果

公共データベースの情報を集約・分析し、候補遺伝子の選択を行った。また、本研究に特化した臨床情報データベースの構築と、既存の遺伝子データベースのカスタマイズをおこない、データの格納、品質管理、標準化を可能とした。

D. 考察

2010 年度に予定される関連解析の準備がほぼ整った。また、種々の患者臨床情報と遺伝子多型との間の関連

を解析するための QTL 解析が可能となった。

E. 結論

疾患関連遺伝子の同定により、IgG4 関連全身疾患の disease entity が明確になることを期待している。

F. 参考文献

特になし

G. 健康危険情報

特になし

H. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
IgG4 関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究
分担研究報告書 P-IV-⑥

プロテオミクス解析による新規診断マーカーの開発

分担研究者 坪内博仁 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻人間環境学消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨：ClinProt ビーズ、MALDI-TOF/MS 解析装置を用いて自己免疫性膵炎（AIP）患者、アルコール性膵炎患者、特発性膵炎患者、健常者の血清を比較検討した。特発性膵炎群に比べステロイド使用のない AIP 群で 4963m/z のピーク値が有意に高く ($P<0.05$)、2560m/z のピーク値も有意ではないものの ($P=0.051$) 高値を示した。これらのピーク値はステロイドを使用している AIP 患者群ではより低い傾向を示したものの、アルコール性慢性膵炎患者群では上昇していた。また、プロテインアレイによる免疫応答バイオマーカープロファイリングでは、AIP 患者群血清が健常者群血清より強く反応する自己抗原蛋白 34 個が同定された。プロテオミクス解析は AIP の新しいバイオマーカー探索に有用である可能性が示唆された。

共同研究者

寄山敏男、宇都浩文、高見陽一郎、
上村修司、岩下祐司、船川慶太、
井戸章雄

所属

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学

A. 研究目的

自己免疫性膵炎（AIP）を含む IgG4 関連全身疾患は高 IgG4 血症と病変腺組織中の著明な IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする疾患である。患者血清 IgG4 は疾患活動性の指標としても有用であるが、その病理的意義は不明であり、臓器特異性がない。簡便な臓器特異的診断マーカーがないため、侵襲性の高い内視鏡下の造影検査などが必要であり、新しい診断法の確立が必要である。プロテオミクスにより、簡便かつ迅速な臓器特異的診断法が確立できれば、侵襲的な検査も避けられ

る可能性がある。本研究の目的は、IgG4 関連全身疾患、特に AIP の新しい診断マーカーを同定することである。

B. 研究方法

AIP 患者（PSL 治療前、治療後を含む）、アルコール性慢性膵炎、特発性膵炎、健常者の血清を用いた。ClinProt ビーズ、MALDI TOF/MS 解析装置を用いたプロテオーム解析、およびプロテインアレイ（ProtoArray Human Protein Microarray）を用いた免疫応答バイオマーカープロファイリングにより検討した。なお、本研究は関西医科大学内科学第三講座（岡崎和一教授）との共同研究であり、関西医科大学附属病院および鹿児島大学附属病院で取得した患者サ

ンプルを使用した。

（倫理面への配慮）

a. 個人の人権の擁護:1) 研究内容について十分な説明を行い、研究への参加は任意であること、研究に参加しない場合でも、従来通り診療を受けることができることを示す。2) 参加者のデータは、厳重な秘密保持のもとに管理され、本研究のデータが参加者に不利益を及ぼすことはないと考えられる。

b. 個人情報の管理:1) ID 番号、氏名、住所、電話番号などの個人を特定できる情報を除いたものを作製し、新たな番号を付与し、本研究にはこの番号のみを用い、個人が特定できる名前などを用いない。2) 対象者由来の血液サンプルは個人が同定できる情報を消去して、番号を付与する。

c. 対象者に理解を求め同意を得る方法:担当医より、研究内容について説明を行ない、書面による同意を得る。

d. 研究等によって生じる個人への不利益:静脈穿刺は、侵襲性はほとんどなく、被験者に不当な危険が生じることはほとんどない。個人のプライバシーに関わる点については上記のように十分な配慮を行い、対象者の不利益が生じないようにする。

C. 研究結果

ClinProt の陽イオン交換ビーズを用いて、ステロイド使用のない AIP 群血清と特発性膵炎群血清との比較検討では、4963m/z のピーク値は前者で有意に高く ($P<0.05$)、2560m/z のピーク値も有意ではないものの ($P=0.051$)、前者で高値を示した。また、これらのピーク値はステロイドを使用している AIP 患者群ではステロイド使用のない AIP 群より低い傾向を示した。しかし、これらの 2 つのピーク値はアルコール

慢性膵炎患者でも上昇していた。次にステロイド使用のないAIP患者の血清IgG4値と蛋白ピーク強度の相関を検討した。WCXビーズを用いた解析では3239m/zのピーク値はIgG4値と正の、C8ビーズを用いた解析では2753m/zのピーク値がIgG4値と負に相関する傾向を示したが、有意差はなかった。症例数が少ないことが、有意差を認めにくかった原因の一つと考えられ、今後さらなる症例の集積・解析が必要である。また、これらのピーク蛋白の同定が必要である。プロテインアレイによる免疫応答バイオマーカープロファイリングでは、AIP患者群血清が健常者群血清より強く反応する自己抗原蛋白34個が同定された。この中には膵炎で過去に報告された自己抗原は含まれていなかった。現在、これらの抗体の疾患特異性、IgG4型自己抗体の有無を解析中である。

D. 考察

AIP患者血清を用いたプロテオミクスによるディフェレンシャル解析によりAIP群で高値を示すピークを認めたが、アルコール性慢性膵炎でも上昇しており、疾患特異性は低いと考えられた。しかしながら、ステロイド使用により低下する傾向があり、治療反応性のマーカーとなる可能性がある。また、病態に関連したタンパクが同定されれば、新規の治療法の創出に貢献できると考えられる。プロテインアレイにより同定された自己抗体は膵疾患ではすべて新規の抗体であった。他の膵疾患での発現頻度と比較し、特異性の高い自己抗体は新しいAIHのマーカーとなりうると考えられた。また、IgG4型自己抗体が含まれていれば、IgG4上昇メカニズムの解明に役立つものと期待される。

E. 結論

AIP患者血清を用いたプロテオーム解析は新しいバイオマーカー探索に有用である可能性が示唆された。今後のさらなる症例の集積、研究の推進が望まれる。

F. 参考文献

なし

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1. 上村修司、宇都浩文、坪内博仁. プロテオ

ーム解析からの治療戦略とは?. 分子消化器病 6 : 123-127 (2009)

2. Kanmura S, Uto H, Numata M, Hashimoto S, Moriuchi A, Fujita H, Oketani M, Ido A, Kodama M, Ohi H, Tsubouchi H. Human neutrophil peptides 1-3 are useful biomarkers in patients with active ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 15 : 909-917 (2009)
2. 学会発表
 1. 橋元慎一、宇都浩文、上村修司、佐々木文郷、屋万栄、田ノ上史郎、森内昭博、藤田浩、長谷川将、山元隆文、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁. 潰瘍性大腸炎患者血清中に上昇する Human Neutrophil Peptide(HNP)-1 の病態への関与. 第95回日本消化器病学会総会. 札幌 (2009/5/7)
 2. Hashimoto S, Uto H, Kanmura S, Oku M, Tanoue S, Nasu Y, Sasaki F, Moriuchi A, Fujita H, Hasegawa S, Yamamoto T, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Human neutrophil peptide-1 has cytotoxic effects on colon cancer cells and aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis. *Digestive Disease Week 2009*. Chicago, USA (2009/5/30)
 3. 上村修司、宇都浩文、佐々木文郷、橋元慎一、瀬戸山仁、船川慶太、寄山敏男、井戸章雄、坪内博仁. 腸管上皮細胞のサイトカイン発現における Human Neutrophil Peptide 1-3 の作用. 第46回日本消化器免疫学会総会. 松山 (2009/7/3)
 4. Kanmura S, Sakiyama T, Morinaga Y, Sasaki F, Ibusuki K, Setoyama H, Funakawa K, Uto H, Ido A, Tsubouchi H. Human neutrophil peptides 1-3 induce IL-8 and VEGF in intestinal epithelial cells. *The 4th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium*. 東京 (2010/1/23)

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

V. 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
内田一茂、 坂口雄沢、 岡崎和一	動物モデルによる解析	岡崎和一、川 茂幸、神澤輝 実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	56- 9
Kamisawa T, Okamoto A	Steroid therapy of autoimmune pancreatitis.	Joseph N	Current topics in steroid research	Rese arch Tren ds	India	2009	73-76
Kamisawa T, Tsuruta K, Sasaki T	IgG4-related sclerosing disease	Conrad K, Chan EKL, Fritzler MJ, Humbel RL, Landenberg P, Shoenfeld Y	From pathogenesis to therapy of autoimmune diseases	Past Scie nce Publ ishe rs	Lengeric h	2009	3-13
神澤輝実、 岡崎和一、 川 茂幸、 下瀬川 徹、大槻 眞	アジア診断基準 (Asian diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis)	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	107-110
神澤輝実、 瀬戸口京 吾、佐々木 綾子	硬化性唾液腺炎	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	117-119
神澤輝実、 能登原憲司	リンパ節腫大	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	125-127
神澤輝実	胃腸（十二指腸乳 頭部を含む）	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	134-136
神澤輝実	全身性疾患とし ての疾患概念へ のひろがりー IgG4関連硬化性 疾患	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	146-149
神澤輝実、 鶴田耕二、 岡本篤武	ステロイド治療	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	167-170
神澤輝実、 安食 元、 来間佐和子	ステロイド以外 の治療法	田中雅夫、下 瀬川徹、岡崎 和一、川 茂 幸、神澤輝実	新版 自己免疫性 膵炎	診断 と治 療社	東京	2009	171-172