

体質、薬剤の効果・副作用の個人差などに関連する。遺伝子多型研究によりこれまで解析が難しかった多因子疾患の原因説明が明らかになると期待されている。⁸⁾ 自己免疫性膵炎症例については88例について検体が収集されており、涙腺・唾液腺炎の有無で検討することにより、これらの病変合併に関連する感受性遺伝子の検索が可能と考える。

B. 研究方法

遺伝子検体を Affimetrix 社製 SNP チップ、GeneChip Human Mapping 500k Array Set (500,568 SNPs) を用いて、自己免疫性膵炎 120 検体の全ゲノム網羅的な相関解析 (genome-wide association study: GWAS) を行った。Gene Analyzer は東海大学に設置してある機器を使用した。Affimetrix 社のビーズチップは国際 HapMap プロジェクトのデータをもとにタグ SNP を選択して搭載しており、効率よくゲノム全体をカバーしている2枚のアレイからなる。測定された各サンプルのデータは解析ソフトウェアを用いて SNP を判定した。自己免疫性膵炎の涙腺・唾液腺炎合併有無の2群間で比較し、涙腺・唾液腺炎合併に関連すると判定された SNP を判定し、その近傍の感受性候補遺伝子を同定した。さらにその遺伝子内に設けた SNP を用いて、fine mapping を行い、感受性候補遺伝子の確認解析を行う。

(倫理面への配慮)

「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的背景の検討」については、信州大学医学部倫理委員会の承認を受けた(平成20年3月25日承認)。

C. 研究結果

SNP の quality control として、call rate 95%以上、Hardy-Weinberg equilibrium P 値

が 0.001 以上、MAF (minor allele frequency) が 5% 以上で選択し、322,091 SNPs が統計解析に用いられた。偽陽性の SNP を除外するため、clustering analysis を行った。P<0.0001 を示す SNP の LD 領域にある他の SNP が何れも P<0.05 を示さなければ、偽陽性として除外した。自己免疫性膵炎症例を涙腺・唾液腺病変のある群とない群で比較して P<0.0001 で涙腺・唾液腺病変と相関した SNPs を 10 個の染色体上に 21 個同定した(データ非公開)。今後は近傍の遺伝子の検索、さらにその遺伝子内に設けた SNP を用いて、fine mapping を行い、感受性候補遺伝子の確認解析を行予定である。

D. 考察

自己免疫性膵炎症例で涙腺・唾液腺病変合併例は血清 IgG4 値が高く、活動性の高い病態と考えられる。これらの発症には非合併例とは異なった遺伝学的背景が存在する可能性がある。今回、10 個の有意な SNPs を同定できたので、関連する遺伝子を検索し、疾患活動性に関連する遺伝的背景を明らかにすることを試みる。

E. 結論

自己免疫性膵炎症例を涙腺・唾液腺病変のある群とない群で比較して、涙腺・唾液腺病変と相関した SNPs を 10 個の染色体上に 21 個同定した。

F. 参考文献

1. Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N: Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality, proposal of the concept of

- autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1561-1568.
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. 779-86.
 6. Hamano H, Arakura N, Muraki T, Ozaki Y, Kiyosawa K, Kawa S. Prevalence and distribution of extrapancreatic lesions complicating autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol*. 2006 Dec;41(12):1197-205.
 7. Yamamoto M, Ohara M, Suzuki C, Naishiro Y, Yamamoto H, Takahashi H, Imai K. Elevated IgG4 concentrations in serum of patients with Mikulicz's disease. *Scand J Rheumatol*. 2004;33(6):432-3.
 8. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T, Sato H, Sato H, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet*. 2002 ;32:650-4.
- G. 健康危険情報
該当なし
- H. 研究発表
1. 論文発表
 - 1) Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; 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;45:249-65.
 - 2) Kawa S, Okazaki K, 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: II. Extrapancreatic lesions, differential diagnosis. 2010;45:355-69.
 - 3) Kamisawa T, Okazaki K, Kawa S, Shimosegawa T, Tanaka M; Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: III. Treatment and prognosis of AIP. *J Gastroenterol*. 2010;45:471-7.
 - 4) Uehara T, Hamano H, Kawa S, Sano K, Oki K, Kobayashi Y, Nagaya T, Akamatsu T, Kurozumi M, Fujinaga Y, Tanaka E, Honda T, Ota H. Chronic gastritis in the setting of autoimmune pancreatitis. *Am J Surg Pathol*. 2010;34:1241-9.
 - 5) Ito T, Kitahara K, Umemura T, Ota M,

Shimozuru Y, Kawa S, Bahram S. A Novel heterophilic antibody interaction involves IgG4, Scand J Immunol 2010;71:109-14.

- 6) Umemura T, Zen Y, Hamano H, Joshita S, Ichijo T, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Ota M, Kawa S, Nakanuma Y, Tanaka E. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. J Gastroenterol. 2010 Sep 23. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- 1) 川茂幸、「自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別について」、第52回日本消化器病学会大会、(横浜)2010.10.15 ワークショップ 23 自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別
- 2) Kawa S, IAP Symposium 1: International Consensus on Autoimmune Pancreatitis, Serology-Are IgG and Autoantibodies necessary? Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, July 11-13, 2010, Fukuoka
- 3) Kawa S, IAP Symposium 1: International Consensus on Autoimmune Pancreatitis, OOI-Should they be included in the criteria? Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, July 11-13, 2010, Fukuoka
- 4) Ito T, Kitahara K, Arakura N, Umemura T, Hamano H, Ota M, Kawa S. A novel heterophilic antibody interaction involves IgG4, Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, July 11-13, 2010, Fukuoka I. 知的所有権の取得状況

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
新規疾患, IgG4 関連多臓器リンパ増殖性疾患 (IgG4+MOLPS) の確立のための研究
分担研究報告書

IgG4 関連疾患におけるバイオマーカー探索

研究分担者 竹上 勉 金沢医科大学総合医学研究所 教授

研究要旨：研究要旨：病態の機構解明を目指し、DNA マイクロアレイによるトランスクリプトーム解析を行った。健常人および治療前後の患者における末梢血リンパ球より全 RNA をサンプルとして解析した。抽出された変動遺伝子群の機能をデータベース上で検索すると、免疫や炎症に関わる遺伝子が含まれており、これらの発現変動が疾患に関連することが予想された。今後はプロテオミクスとの統合解析も取り入れて症例数を増やし、分子レベルでの発症機序解明や新規診断・治療法の開発を目指す。

共同研究者（研究協力者）

石垣靖人

所属

金沢医科大学総合医学研究所

Analysis (IPA)を用いた。

リアルタイム PCR によるバリデーションはアプライドバイオシステム社の ABI7700 を利用して行った。

(倫理面への配慮)

研究班における取り決めに従って倫理面に配慮したうえで解析を行った。

A. 研究目的

疾患の発症機構解明や病態解析には網羅的な遺伝子解析が有効であることは様々な疾患で明らかにされてきた（参考文献参照）。本研究では IgG4+MOLPS 患者における発症や病態の機構解明を目指し、患者および健常人末梢血リンパ球におけるトランスクリプトーム解析を行った。

B. 研究方法

健常人および患者の治療前後における末梢血リンパ球より全 RNA をサンプルとして抽出した。DNA マイクロアレイ解析のプラットフォームとしては、Affymetrix 社 Human Gene 1.0 ST アレイを利用し、GeneChip WT expression kit および GeneChip terminal labeling and control kit により調製した標識サンプルをハイブリダイズさせた。

解析ソフトウェアとしては Agilent 社 GeneSpring version 11.0 を利用し、遺伝子パスウェイデータベースには Ingenuity Pathways

C. 研究結果

患者および健常人の発現パターンを Principle component analysis により 3 次元に展開させると、異なる位置に分布することが明らかになった。治療前後において Fold change あるいは K-means クラスタリングを利用して変動した遺伝子を抽出するとともに、統計検定と Fold change を指標として病態にかかわらず患者で変動している遺伝子群を抽出した。

このようにして得られた変動遺伝子群の機能を検索すると、免疫や炎症に関わる遺伝子ファミリーが含まれており発症や病態との関わりが予想される。症例数を増やすとともにリアルタイム PCR によるバリデーションを進めた結果、疑い例と診断が確定した症例を識別できる遺伝子マーカーを複数同定した。

D. 考察

リンパ球におけるトランスクリプトームは明らかに病態を遺伝子レベルで反映するものであった。mRNA レベルにおいてより精度の高い診断が可能になることが期待される。今後はプロテオミクス解析とのデータの統合を進めるとともに、治療効果の判定に利用できるような遺伝子群の同定を進めていく必要があると考えられる。

E. 結論

末梢血リンパ球におけるトランスクリプトーム解析を行い、IgG4 疾患関連の診断や病態解析に役立つ遺伝子のスクリーニングに成功した。

F. 参考文献

Perez *et al.*, Gene expression and chromosomal location for susceptibility to Sjogren's syndrome.

J. Autoimmun. 33:99-108(2009)

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1. Nukuzuma S, Nakamichi K, Kameoka M, Sugiura S, Nukuzuma C, Miyoshi I, Takegami T: Efficient propagation of progressive multifocal leukoencephalopathy-type JC virus in COS-7-derived cell lines stably expressing Tat protein of human immunodeficiency virus type 1.

Microbiol Immunol 54: 758-762, 2010

2. Kurayama R, Ito N, Nishibori Y, Fukuhara

D, Akimoto Y, Higashihara E, Ishigaki Y, Sai Y, Miyamoto K, Endou H, Kanai Y, Yan K: Role of Amino Acid Transporter LAT2 in the Activation of mTORC1 Pathway and the Pathogenesis of crescentic Glomerulonephritis. *Lab. Invest* (in press)

3. Suzuki H, Osaki K, Sano K, Alam K, Nakamura Y, Ishigaki Y, Kawahara K, Tsukahara T: Comprehensive Analysis of Alternative Splicing and their Pathways in the Neuronal Differentiation in P19 cells. *PLoS ONE* (in press)

4. Osada H, Yoshitake Y, Ikeda T, Ishigaki Y, Takata T, Tomosugi N, Sasaki H, and Yonekura H: Ultraviolet B-induced Expression of Amphiregulin and Growth Differentiation Factor15 in Human Lens Epithelial Cells. *Mol Vision* (in press)

5. Ishigaki Y, Nakamura Y, Takehara T, Shimasaki T, Tatsuno T, Takano F, Ueda Y, Motoo Y, Takegami T, Nakagawa H, Kuwabata S, Nemoto N, Tomosugi N, Miyazawa S: Scanning electron microscopy with an ionic liquid reveals the loss of mitotic protrusions of cells during the epithelial-mesenchymal transition. *Microsc Res Tech* (in press)

6. Murayama T, Bi C, Li Y, Ishigaki Y, Takano F, Takegami T, Ohta T, Sumini H, Ubukata K, Takahashi T: Inhibitory Effects of Statins on Cytomegalovirus Production in Human Cells: Comprehensive Analysis of Gene Expression Profiles. *J Exp Clin Med* (in press)

7. Moriya J, Chen R, Yamakawa J, Sasaki K, Ishigaki Y, Takahashi T: Resveratrol improves hippocampal atrophy in chronic fatigue mice by enhancing neurogenesis and inhibiting apoptosis of granular cells. *Biol. Pharm. Bull.* (in press)
 8. Ishigaki Y, Nakamura Y, Takehara T, Nemoto N, Kurihara T, Koga H, Nakagawa H, Takegami T, Tomosugi N, Miyazawa S, Kuwabata S: Ionic liquid enables simple and rapid sample preparation of human culturing cells for scanning electron microscope analysis. *Microsc Res Tech* (in press)
 9. Zhang L, Higashi K, Ishigaki Y, Ueda Y, Sakuma T, Takegami T, Oguchi M, Xu K, Ohta Y, Nishida H, Tonami H: Assessment of VEGF-D expression measured by immunohistochemical staining and F-18 FDG uptake on PET as biological prognostic factors for recurrence in patients with surgically respected lung adenocarcinoma. *Ann Nuc Med* (in press)
 10. Xia QS, Ishigaki Y, Zhao X, Shimasaki T, Nakajima H, Nakagawa H, Takegami T, Chen ZH, Motoo Y: Human SMG-1 is involved in gemcitabine-induced pri-miR-155/BIC in human pancreatic cancer Panc-1 cells. *Pancreas* 40:55-60 (2011)
 11. Yamaguchi M, Hasegawa I, Yahagi N, Ishigaki Y, Takano F, Ohta T: Carotenoids modulate cytokine production in Peyer's patch cells ex vivo. *J Agric Food Chem* 58:8566-8572 (2010)
 12. Nakajima H, Ishigaki Y, Xia QS, Yonekura H, Yoshitake Y, Ikeda T, Nojima T, Tanaka T, Umehara H, Tomosugi N, Takata T, Shimasaki T, Nakaya N, Sato I, Koizumi K, Kawakami K, Minamoto T, Motoo Y: Induction of HITS, a newly identified TU3A/DDR1 family of protein (FAM107B), in cancer cells by heat shock stimulation. *Int J Oncol* 37:583-593 (2010)
 13. Xia QS, Ishigaki Y, Sun L, Chen R, Motoo Y: Effect of anti-cancer drugs on the expression of BIC/miR-155 in human pancreatic cancer PANC-1 cells. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 12:123-127 (2010)
 14. Ishigaki Y, Nagao A, Matsunaga T: Optimized gene silencing by co-expression of multiple shRNAs in a single vector." *RNA Interference: From Biology to Clinical Application*" in *Methods in Molecular Biology Series*, Humana press, Ed by Wei-ping Min 623:109-121 (2010)
 15. Ishigaki Y, Kurihara T, Nakamura Y, Zhao X, Takata T, Izumi S, Takegami T, Tomosugi N, Nakagawa H: Ultrastructural localization of Upf2 and its binding to mRNA molecules in human cells. *J. Electr. Microsc. Technol. Med. Biol.* 24:8-13 (2010)
2. 学会発表
 1. Takegami T, Murakami M, Ishigaki Y : Pathogenicity of Japanese encephalitis virus (JEV) and biological activity of JEV protein NS4a、44th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Sapporo (2010, 7)
 2. Takegami T, Murakami M, Ishigaki Y : Pathogenicity of Japanese encephalitis

- virus (JEV) and physiological role of JEV protein NS4a、1st Asia Pacific Workshop on Neurovirology Seoul (2010, 7)
3. 村上 学、竹上 勉：石川県内の水田近辺で採取したコガタアカイエカ採集と日本脳炎ウイルスの分離(2009-2010年度)、第58回日本ウイルス学会、徳島、2010年11月
 4. 竹上 勉、村上 学、奴久妻聡一：日本脳炎ウイルスの非構造蛋白 NS4a 変異と宿主応答の差異、第58回日本ウイルス学会、徳島、2010年11月
 5. 奴久妻聡一、中道一生、亀岡正典、杉浦重樹、奴久妻智代子、三好勇夫、竹上 勉：HIV-1 Tat は PML 型 JCV の増殖を促進する、第58回日本ウイルス学会、徳島 2010年11月
 6. 村上 学、竹上 勉：石川県内豚舎周辺で採取したコガタアカイエカからの JEV 分離 (2009~2010)、第17回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、東京 2010年12月
 7. Y. Yoshitake, H. Osada, T. Ikeda, Y. Ishigaki, T. Takata, N. Tomosugi, H. sasaki, H. Yonekura: Increased expression of amphiregulin (AREG) in human lens epithelial cells by UVB exposure、第33回日本分子生物学会、第83回日本生化学会大会、神戸、2010年12月
 8. H Nakajima, Y Motoo, Y Ishigaki, T Takata, T Ikeda, Y Yoshitake, H Yonekura, K Koizumi: Induction of HITS, a newly identified tumor suppressor protein (FAM107B), in cancer cells by heat shock stimulation、第33回日本分子生物学会第83回日本生化学会大会合同大会、神戸、2010年12月
 9. 石垣靖人、中村有香、竹原照明、根本典子、栗原孝行、古賀博則、中川秀昭、竹上 勉、友杉直久、宮澤七郎、桑畑進：イオン液体によるヒト培養細胞の SEM 観察、日本顕微鏡学会第54回シンポジウム、金沢、2010年11月
 10. 中島日出夫、石垣靖人、高田尊信：熱ショック誘導性新規がん抑制遺伝子の解析、第21回日本消化器癌発生学会総会、長野、2010年11月
 11. 島崎猛夫、石垣靖人、高田尊信、北野綾子、川上和之、友杉直久、源 利成、元雄良治：膵癌細胞の抗がん剤誘導性上皮間葉移行と GSK3 β 阻害による、第21回日本消化器癌発生学会総会、長野、2010年11月
 12. 中島章夫、石垣靖人、河南崇典、正木康史、中村拓路、岩男 悠、三木美由貴、坂井知之、澤木俊興、藤田義正、福島俊洋、竹上 勉、梅原久範：IgG4 関連疾患患者末梢血リンパ球におけるトランスクリプトーム解析、第19回日本シェーグレン症候群学会、浦安、2010年9月
 13. (T. Takahashi), T. Murayama, Y. Ishigaki, K. Ubukata : Inhibitory Effects of Various Statins on Cytomegalovirus Replication in Human Cells. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy、BOSTON、2010年9月
 14. (北野綾子)、島崎猛夫、近野祐里、中田光俊、東 朋美、石垣靖人、遠藤良夫、廣瀬まゆみ、崔 吉道、宮本謙一、元雄良治、川上和之、源 利成：Pathological role for deregulated glycogen synthase kinase(GSK)3 β in pancreatic cancer

- proliferation and invasion、第 69 回日本癌学会学術総会、大阪、2010 年 9 月
15. 島崎猛夫, 石垣靖人, 北野綾子, 高田尊信, 中村有香, 川上和之, 寺田光宏, 友杉直久, 源 利成, 元雄良治: Gemcitabine による膵癌細胞の EMT における glycogen synthase kinase (GSK) 3 β の役割とその制御、第 69 回日本癌学会学術総会、大阪、2010 年 9 月
 16. 石垣靖人, 高田尊信, 土田秀行, 友杉直久, 竹上勉: IgG4+MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群) の網羅的遺伝子発現解析、IgG4 サードミーティング、金沢、2010 年 8 月
 17. T Shimasaki, Y Ishigaki, T Takata, Y Nakamura, A Kitano, K Kawakami, N Tomosugi, T Minamoto, Y Motoo: Effect of GSK3 β inhibition against Gemcitabine-induced epithelial-mesenchymal transition and invasive ability of pancreatic cancer cells: its therapeutic implication、Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010、福岡、2010 年 7 月
 18. 橋本光正, 松井 理, 高田尊信, 友杉直久, 石垣靖人, 橋本優実, 岩淵邦芳: X 線の線量依存的にリン酸化される新規タンパク Plectin の機能解明、金沢医科大学医学会 第 46 回学術集会、内灘、2010 年 7 月
 19. 石垣靖人, 中村有香, 竹原照明, 中川秀昭, 竹上 勉, 友杉直久, 栗原孝行, 古賀博則, 宮澤七郎, 桑畑 進: イオン液体によるヒト培養細胞の SEM 観察、金沢医科大学医学会 第 46 回学術集会、内灘、2010 年 7 月
 20. 島田ひろき, 島村英理子, 内芝舞実, 東伸明, 増田浩子, 高田尊信, 土田秀行, 石垣靖人, 友杉直久, 八田稔久: ラット初乳中の蛋白、ペプチド成分のプロファイリング、第 50 回日本先天異常学会学術集会、淡路、2010 年 7 月
 21. 石垣靖人, 中村有香, 竹原照明, 二宮英明, 中川秀昭, 竹上 勉, 友杉直久, 栗原孝行, 古賀博則, 根本典子, 桑畑 進, 宮澤七郎: イオン液体を用いたヒト培養細胞の解析、医学生物学電子顕微鏡技術学会シンポジウム 2010 大分、別府、2010 年 5 月
 22. 石垣靖人, 中村有香, 竹原照明, 二宮英明, 中川秀昭, 竹上 勉, 友杉直久, 栗原孝行, 古賀博則, 根本典子, 宮澤七郎, 桑畑 進: イオン液体を用いたヒト培養細胞の解析、医学生物学電子顕微鏡技術学会シンポジウム 2010 大分、別府、2010 年 5 月
 23. 長田ひろみ, 吉竹佳の, 石垣靖人, 池田崇之, 山代陽子, 米倉秀人, 佐々木洋: UVB 曝露による培養水晶体上皮細胞の遺伝子発現変化、第 114 回日本眼科学会総会、名古屋、2010 年 4 月
- I. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
該当なし(特許出願)
 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
新規疾患, IgG4 関連多臓器リンパ増殖性疾患 (IgG4+MOLPS) の確立のための研究
分担研究報告書

IgG4 関連疾患のプロテオーム解析

研究分担者 友杉直久 金沢医科大学総合医学研究所 教授

研究要旨: IgG4 関連疾患とは、血清中の IgG4 の増加を特徴とする自己免疫疾患と考えられているが、その病因は不明である。我々は、プロテオミクス手法を用いて、血中蛋白質/ペプチドの特異的発現を手掛かりとして病態解明を進めており、最終的には IgG4 関連疾患バイオマーカーとして臨床応用を目指す。

共同研究者

高田 尊信

所属

金沢医科大学総合医学研究所

分析 LC-MS/MS により蛋白質/ペプチドを同定している。現在発現亢進 26 スポット、低下 22 スポットから同定作業を進めており、脂質代謝、免疫防御、凝固、炎症関連のマーカー76 候補が見つまっている。

A. 研究目的

IgG4 関連疾患とは、血清中の IgG4 の増加を特徴とする自己免疫疾患と考えられているが、その病因は不明である。我々は、プロテオミクス手法を用いて、血中蛋白質/ペプチドの特異的発現を手掛かりとして病態解明を行う。

B. 研究方法

健康人、IgG4 関連疾患治療前後の血清を、脱アルブミン、脱 IgG 処理したのち Cy 標識をし、2D-DIGE 蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析システムで解析した。Typhoon9400 によるディファレンシャル解析で発現量を相対的に評価した。

(倫理面への配慮)

IgG4 関連疾患の前方視的臨床研究は金沢医科大学倫理委員会で承認を得ている。

C. 研究結果

2D-DIGE でのディファレンシャル解析結果は、銀染色ゲル (pick 用ゲル) で再確認し、そのゲルスポットから蛋白質/ペプチドを抽出し、質量

D. 考察

血液プロテオーム解析では、IgG4 関連疾患の表現型が明らかになってきたが、その病因には至っていない。また、障害臓器特異性因子および共通因子も明らかになっていない。

E. 結論

今後は、プロテオーム解析から全体像 (オーミックスペース) の解明を進め、フェノーム解析 (表現形質) を目指す必要がある。

F. 参考文献

該当なし

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

該当なし

1. 論文発表
該当なし

2. 学会発表
該当なし

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
新規疾患, IgG4 関連多臓器リンパ増殖性疾患 (IgG4+MOLPS) の確立のための研究
分担研究報告書

IgG4 関連疾患における B 細胞シグナル異常の解明とその制御

研究分担者 田中良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授

研究要旨: IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値、及び、多臓器における IgG4 産生形質細胞浸潤を特徴とする慢性炎症性疾患である。しかし、B 細胞の IgG4 発現へのクラススイッチの機構は、病態形成過程で最も重要であるにも拘らず全く不詳である。B 細胞のクラススイッチには、B 細胞受容体、共刺激分子、サイトカインを介する多様な刺激伝達系が関与するとされる。本年度は、B 細胞受容体の細胞内アダプター蛋白の ITAM に結合してシグナルを伝達するチロシンキナーゼである Syk の B 細胞の活性化における役割を解明し、Syk を標的とした治療応用への可能性を追求することを目的とした。その結果、B 細胞の活性化は、BCR と共刺激分子を介するシグナルに加えて、TLR シグナルの共存により最大限に誘導された。BCR-Syk の刺激は、TLR の発現を誘導して B 細胞の増殖、炎症性サイトカイン産生、抗体産生を誘導した。Syk 阻害薬は BCR、共刺激シグナル、TLR シグナルにより誘導された B 細胞の活性化をほぼ完全に抑制し、治療応用が期待された。

共同研究者

山岡邦宏、平田信太郎、岩田慈

所属

産業医科大学医学部第一内科学

A. 研究目的

IgG4 関連疾患の病態組織では、IgG4 及び IgE 産生細胞の集積が特徴的に認められる。その過程には、Th2 細胞や IL-10 等の関与が報告されているが、多くは不詳である。申請者らは、B 細胞のクラススイッチには、多様な細胞外からの刺激を細胞内にインプットするシグナル伝達に異常があると考え、本研究の構想に至った。また、樹状細胞では特定の Jak/Stat シグナルをノックアウトすると IL-10 の産生が誘導されること、B 細胞では Syk シグナルを阻害すると B 細胞受容体のシグナルが遮断されるとの予備的成績を得た。以上より、本研究に於いては B 細胞や樹状細胞の Jak や Syk などのシグナル伝達に着目して B 細胞のクラススイッチの機構を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

ヒト末梢血ナイーブ (CD19+CD27-) およびメモリー B 細胞 (CD19+CD27+) に対し、SLE の病態モデルに適すると考えられる BCR 架橋、sCD40L、TLR9 のリガンドである CpG-ODN による刺激を施し、増殖、活性化マーカー (共刺激分子)、サイトカイン産生、抗体産性能に対する影響を確認すると共に、特異性の高い Syk 阻害剤を用いて、その効果および作用機序について検討した。

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、所属機関の倫理委員会、或は、IRB で承認を得た研究に限定し、患者からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が入属機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にす

る。

C. 研究結果

①BCR 架橋, sCD40L, CpG-ODN による刺激は、メモリーB 細胞に於いてナイーブ B 細胞に比し強力な細胞周期の進行に伴う増殖、CD80/86 の発現、サイトカイン TNF- α 、IL-6、IL-10 の産生、分化誘導因子である Xbp-1, Blimp-1 の発現亢進、およびそれに伴う抗体産生能の増強を誘導した。②Syk 阻害剤 (BAY61-3606)は、B 細胞の増殖、共刺激分子発現、サイトカイン産生、抗体産生細胞への分化をいずれも濃度依存性にほぼ完全に無刺激状態まで抑制した。③ナイーブ、メモリーB 細胞に於いて BCR 架橋は CD40、TLR9 シグナルとの組み合わせにより、TLR9 の発現、TRAF-6 の発現、NF κ B のリン酸化を強く誘導した。④TLR9, TRAF6 の発現、NF κ B のリン酸化は、Syk 阻害薬によりほぼ完全に抑制された。⑤無刺激下で TRAF-6 や NF κ B の活性化状態にある B 細胞株 Raji でも、Syk 阻害薬によりほぼ完全に抑制された。

D. 考察

これまでヒトメモリーB 細胞は、BCR を介する抗原シグナル、および、CD40 などの共刺激シグナルの共存により活性化されるとされてきた。しかし、今回の結果は、BCR を介するシグナルは Syk を介して TLR9 および TRAF-6 を強力に発現誘導し、BCR と共刺激分子を介するシグナルに加えて、TLR シグナルの共存により、B 細胞の活性化が最大限に誘導され、強力な増殖、分化誘導が齎されることが明らかとなった。これらの結果は BCR-Syk の刺激が TLR を誘導して、細菌やウイルス感染などのトリガーを受容するメカニズムを明らかにしたものである。

さらに、Syk 阻害により 3 者のシグナルをほぼ完全に遮断することが可能であることから、Syk を

標的とした低分子量化合物を用いた B 細胞活性化の制御を介する治療応用が示唆される。自己免疫疾患に対して Jak や Syk を標的とした低分子量化合物の有効性が治験で示されており、斯様な薬剤により疾患制御を目指す上に於いても、IgG4 関連疾患における B 細胞シグナル異常の解明は、極めて重要な位置づけにあると思われる。

E. 結論

B 細胞の活性化は、BCR と共刺激分子を介するシグナルに加えて、TLR シグナルの共存により最大限に誘導された。BCR-Syk 刺激は、TLR の発現を誘導して B 細胞の増殖、炎症性サイトカイン産生、抗体産生を誘導した。Syk 阻害薬は BCR、共刺激シグナル、TLR シグナルにより誘導された B 細胞の活性化を完全に抑制し、B 細胞活性化が関与する本疾患への治療応用が期待される。

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. [Tanaka Y](#), Takeuchi T, Mimori T, Saito K, Nawata M, Kameda H, Nojima T, Miyasaka N, Koike T. Discontinuation of infliximab after attaining low disease activity in patients with rheumatoid arthritis, RRR (remission induction by remicade in RA) study. Ann Rheum Dis (2010) 69, 1286-1291
2. Sawamukai N, Yukawa s, Saito K,

- Nakayamada S, Kambayashi T, Tanaka Y. Mast cell-derived tryptase inhibits apoptosis of human rheumatoid synovial fibroblasts via rho-mediated signaling. *Arthritis Rheum* (2010) 62, 952-959
3. Choo Q-Y, Ho PC, Tanaka Y., Lin H-S. Histone deacetylase inhibitors MS-275 and SAHA induced growth arrest and suppressed lipopolysaccharide-stimulated NF-kappaB p65 nuclear accumulation in human rheumatoid arthritis synovial fibroblastic E11 cells. *Rheumatology* (2010) 49, 1447-1460
 4. Suzuki K, Saito K, Tsujimura S, Nakayamada S, Yamaoka K, Sawamukai N, Iwata S, Nawata M, Nakano K, Tanaka Y. A calcineurin inhibitor, tacrolimus overcomes treatment-unresponsiveness mediated by P-glycoprotein on lymphocytes in refractory rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* (2010) 37, 512-520
 5. Iwata S, Saito K, Tokunaga M, Yamaoka K, Nawata M, Yukawa S, Hanami K, Fukuyo S, Miyagawa I, Kubo S, Tanaka Y. Phenotypic changes of lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus who are in longterm remission after B cell depletion therapy with rituximab. *J Rheumatol* (in press)
2. 学会発表
1. Y. Tanaka. Clinical development and Phase III studies of tocilizumab. 7th International Congress on Autoimmunity, Ljubljana, Slovenia. 平成 22 年 5 月
 2. Y. Tanaka, M Suzuki, H Nakamura, S Toyozumi, SH Zwillich. The oral JAK inhibitor tasocitinib (CP-690,550 (CP)) in combination with methotrexate (MTX) is efficacious in a dose-dependent manner in active rheumatoid arthritis (RA). The Annual European Congress of Rheumatology 2010, Rome, Italy. 平成 22 年 6 月
 3. Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike. The possibility of maintaining low disease activity after discontinuation of infliximab in RA patients: An interim report for the second year of the RRR study. The Annual European Congress of Rheumatology 2010, Roma, Italy, 平成 22 年 6 月
 4. Y. Tanaka, T. Abe, T. Takeuchi, A. Yamamoto, N. Miyasaka. Abatacept demonstrated long-term safety and efficacy in active RA patients who showed inadequate response to methotrexate: an analysis of the Japanese phase III open-label, long-term extension trial. The 14th Asian Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR) Congress, Hong Kong, China. 平成 22 年 7 月
 5. Tanaka Y. Paradigm shift of the treatment of rheumatoid arthritis by TNF-targeting biologics. The 14th International Congress of Immunology (ICI), Kyoto. 平成 22 年 8 月
 6. Tanaka Y. B cell depletion in systemic lupus erythematosus. The 14th International Congress of Immunology (ICI), Kyoto, 平成 22 年 8 月
 7. Y. Tanaka, M Harigai, T Takeuchi, H Yamanaka, N Ishiguro, K Yamamoto, TMU

Rahman, T Yoshinari, N Miyasaka, T Koike.
Golimumab, a Human Anti-TNF α
Monoclonal Antibody Administered
Subcutaneously Every Four Weeks in
Patients with Active Rheumatoid
Arthritis Despite Methotrexate Therapy:
24-Week Results of Clinical and
Radiographic Assessments. The 74th
National Meeting of American College of
Rheumatology, Atlanta, USA, 平成 22 年
11 月

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

新規疾患, IgG4 関連多臓器リンパ増殖性疾患 (IgG4+MOLPS) の確立のための研究
分担研究報告書

新規疾患, IgG4 関連多臓器リンパ増殖性疾患 (IgG4+MOLPS) の確立の
ための研究

研究分担者 正木 康史 金沢医科大学血液免疫内科学 准教授

研究要旨：IgG4⁺MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群) は今世紀に入り本邦より発信された疾患概念であり、その診断基準や治療指針などがまだ決まっていない。それらを確立する目的で、多施設共同の前方視研究を立ち上げ、多数の施設において倫理委員会承認を得て、既に多くの症例登録を得ている。そこから得られたサンプルを用いて、プロテオミクス解析、トランスクリプトーム解析、ファージディスプレイ・ライブラリーによる発現解析などが進行している。診断や予後予測に役立つ新たなバイオマーカーが近いうちに明らかにされる。

A. 研究目的

- 1) IgG4⁺MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群) の診断基準を確立する。
- 2) IgG4⁺MOLPS の診断および治療効果の指標に有用な血清学的、遺伝子学的、組織学的マーカーを探索する。
- 3) IgG4⁺MOLPS の治療指針を確立する。

B. 研究方法

多施設共同の前方視研究を行う。

①診断研究 IgG4⁺MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群)、Castleman 病その他の多クローン性高γグロブリン血症の鑑別診断のための多施設共同前方視的臨床研究

②治療研究：IgG4⁺MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群) のステロイド治療指針を決定するための第 II 相多施設共同前方視的治療研究
(倫理面への配慮)

上記のいずれの試験も、十分な説明の上、文書で同意の得られた症例を登録する。各施設の倫理委員会で承認を得て行う。

C. 研究結果

上記の前方視的臨床研究につき既に当院を含め 23 施設の承認を得ており、症例登録も診断研究 80 例、治療研究 12 例の登録を得ている (2011 年 1 月 31 日現在)。

基礎的研究として、IgG4⁺MOLPS 典型例の血清蛋白を用いたプロテオミクス解析、末梢血リンパ球由来の DNA マイクロアレイ解析が進行中であり、幾つかの興味深い新規のタンパクおよび遺伝子が同定されつつあり、更に詳細に検討を続けている。

プロテオミクス解析では、治療前の血清タンパクには、IgG1, IgG4, α 1-antitrypsin, Complement C4, C1q, など炎症性因子、Clusterin などの増加がみられた。

末梢血リンパ球のトランスクリプトーム解析では、治療前後で発現量の差が 3 倍以上あった遺伝子 30 個、患者群と健常人群との間に 3 倍以上差があった遺伝子 21 個を抽出した。その中から、Charcot-Leyden crystal protein (CLC), defensin alpha (DEFA), IL-8 receptor, membrane-spanning 4-domains subfamily A member 3 (MS4A3) などのリアルタイム PCR を検討したところ、治療前後、患者/健常人群間で有意差を認めた。

血清のプロテオミクス解析および末梢血リンパ球のトランスクリプトーム解析ともに、IgG4 関連疾患の治療前には、健常人および治療後とは大きく異なる発現パターンを呈することが判明した。その多くは炎症性因子であるが、IgG4 関連疾患バイオマーカーは不明である。症例数を増やすとともに、トランスクリプトーム解析ではリアルタイム PCR によるバリデーションを進める。

また、患者血清に対してファージディスプレイ型ランダムペプチドライブラリーを反応させて、対応抗原をスクリーニングする研究も静岡県立大学の伊藤邦彦教授との共同研究にて進めている。

D. 考察

症例登録も進み、診断基準はワーキンググループにてほぼ完成に近づき、近日中に論文化される。治療研究については、登録が少し遅れているものの着実に進んでおり、本疾患におけるステロイド治療の指針を将来公表できる。

基礎研究において、今回得られたマーカーのうち、いずれが IgG4 関連疾患の根本的な病因となるかは

まだ不明である。各々の解析の症例数を増やすとともに、血清蛋白と遺伝子発現の両面から、個々のマーカーの変動がどのような意義を有するかを順次検証して行く。

1) 達成度について

臨床試験は順調に倫理委員会承認施設数および登録症例数が増えてきている。それに伴い、臨床検体は蓄積され、解析が進められている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

IgG4⁺MOLPS という新たな概念が生まれるまで、本疾患は様々な既知の疾患として誤った診断及び治療を受けていた可能性がある。例えば、膵臓病変は膵臓癌として拡大手術を受けたり、リンパ節病変は悪性リンパ腫として抗がん剤治療を受けていた可能性がある。また涙腺・唾液腺病変はシェーグレン症候群として無治療経過観察されていた可能性がある。本疾患はステロイド治療で劇的な改善が認められるため、適切な診断と治療指針の確立が重要である。

また本疾患は 21 世紀に入り本邦より発信された概念であり、国際的な認知度が急速に高まってきている。2011 年秋には米国ボストンにて IgG4 関連疾患に関する初の国際会議が開催予定である。

E. 結論

IgG4⁺MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群) の診断基準および治療指針を確立する事は重要であり、現在進行中の多施設共同前方視臨床研究により目的が達成される。国際的にも急速に認知度が高まってきている疾患概念であり、本邦から適切な指針を発信する必要がある。

F. 参考文献

下記発表論文参照

G. 健康危険情報

本疾患では該当せず

H. 研究発表

1. 論文発表

1) 国内

- 1, 正木康史, 梅原久範. IgG4 関連疾患 (ミクリツ病) とシェーグレン症候群—19 世紀より続いた 2 つの病気をめぐる議論、そして今後. 医学のあゆみ (医歯薬出版株式会社) 2011 Vol. 236 No. 3: 175-181
- 2, 正木康史, 梅原久範. Castleman 病と IgG4 関連疾患—多クローン性高 γ グロブリン血症からの鑑別. 医学のあゆみ Vol235, No5, p443-448. 悪性リンパ腫 Update 医歯薬出版株式会社
- 3, 正木康史, 梅原久範. IgG4 関連疾患. *Frontiers in*

- Rheumatology & Clinical Immunology* Vol. 4 No. 4, 196-199. 2010-2011 (メディカルレビュー社)
- 4, 正木 康史, 中村拓路, 中島章夫, 岩男悠, 梅原久範. IgG4 関連疾患の診断と治療 *リウマチ科*, 44(5):607-613, 2010
- 5, 正木康史, 岩男悠, 中島章夫, 梅原久範. IgG4 関連疾患— 21 世紀にわが国より発信された新たな疾患概念— (免疫抑制薬の臨床応用実践編第 26 回) . 炎症と免疫 vol 18 no 3. 81-88 (295-302), 2010
- 6, 正木康史, 梅原久範. IgG4 関連疾患—その診断の混沌、および混沌から抜け出すための提言—. *臨床免疫学会誌*. 2009;32(6):478-83
- 7, 正木 康史, 梅原久範, 他. IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群(IgG4⁺MOLPS)の 114 例の臨床病理学的検討. *中部リウマチ学会誌* 2010 (in press).
- 8, 正木康史, ほか. 北陸支部教育セミナーまとめ—全身病としての IgG4 関連疾患. *日本内科学会雑誌*. 2009, 98, 187-194.
- 9, 正木康史, 梅原久範. IgG4 とリウマチ性疾患. *リウマチ科*. 2007. 38, 404-408.
- 10, 正木康史. IgG4 関連自己免疫疾患—AMOLPS /Mikulicz 病を中心に—. *リウマチ科*. 2006. 36, 504-509.
- 11, 菅井 進, 正木康史. 唾液腺疾患 - その診断と治療 -シェーグレン症候群とミクリツ病. *ENTONI* 2006. 69, 24-31

※図書

- 1, 正木康史. シェーグレン研究会における IgG4 関連疾患研究の経緯. *IgG4 モノグラフ* pp41-47, 前田書店, 2010 年

論文発表

2) 海外

- 1, Masaki Y, Umehara H. et al. Proposal for a new clinical entity, IgG4-positive multi-organ lymphoproliferative syndrome: Analysis of 64 cases of IgG4-related disorders. *Ann Rheum Dis* 2009;68;1310-1315; originally published online 13 Aug 2008; doi:10.1136/ard.2008.089169
- 2, Sato Y, Masaki Y, et el. IgG4-related sclerosing disease: special reference to autoimmune pancreatitis, lymph nodal lesion and lymphomagenesis of the ocular adnexa. *Pathol Int* 2010;60:247-258.
- 3, Masaki Y, Sugai S, Umehara H. IgG4-related diseases including so-called Mikulicz's disease and sclerosing pancreatitis: advancing diagnostic insights. *J Rheumatol* 2010;37:1380-5
- 4, Masaki Y, Iwao H, Nakajima A, Miki M, Sugai S, Umehara H. IgG4-related diseases (IgG4⁺MOLPS) - diagnostic problems and diagnostic criteria. *Curr Immunol Rev* 2010 (in press)

5, Saeki T, Masaki Y, Umehara H, et al.
Clinicopathological characteristics of patients
with IgG4-related tubulointerstitial nephritis.
Kidney Int. 2010. 78, 1016-1023

6, Masaki Y, Kurose N, Umehara H. IgG4-related
disease: a novel lymphoproliferative disorder
discovered and established in Japan in the 21st
century. J Clin Exp Hematopathol, 2010 (in press)

2. 学会発表 (国内)

1、正木康史, 他. 共同研究を推進するための
IgG4+MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群) 診
断基準 (案) の提案. IgG4 研究会 2009年3月7日

2、正木康史, 他. 107例の IgG4+MOLPS に対する
臨床病理学的検討と IgG4 関連 Mikulicz 病診断基準.
日本リウマチ学会 2009年4月21日

3、正木康史, 他. IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群
(IgG4+ Multi-Organ Lympho-Proliferative
Syndrome; IgG4+MOLPS) 103例の臨床病理学的検討. 日
本リンパ網内系学会. 2009年7月10日

4、正木康史, 他. IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群
(IgG4+MOLPS) の 114例の臨床病理学的検討. 日本シェ
ーグレン症候群学会. 2009年9月3日

5、正木康史, 他. IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群
(IgG4+MOLPS) の 114例の臨床病理学的検討. 中部リウ
マチ学会. 2009年9月5日

6、正木康史. IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群
(IgG4+MOLPS) の診断と治療. 日本内科学会北陸地方
会第48回生涯教育講演会. 2009年9月6日

7、正木康史, 他. IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群
(IgG4+MOLPS) の 114例の臨床病理学的検討と診断基
準 (案) の作成. 日本血液学会. 2009年10月25日

8、正木康史, 他. シンポジウム” IgG4 関連疾患つ
て一体何?” 血液内科の立場よりー多クローン性高
ガンマグロブリン血症よりみた鑑別疾患ー. IgG4 研
究会 2010年3月13日

9、正木康史, 他. IgG4 関連疾患診断における
IgG4 値、IgG4/IgG 比の検討. 日本リウマチ学会.
2010年4月22日

10、正木康史, 他. Retrospective analysis of 155
cases of IgG4-related disease. 日本血液学会. 2010
年9月26日

学会発表 (海外)

1, Masaki Y, Umehara H, et al.
on behalf of MOLPS/Mikulicz's disease Society of
Japan. Proposal for a new clinical entity,
IgG4-positive multi-organ lymphoproliferative
syndrome: Analysis of 64 cases of IgG4-related
lymphoproliferative disorders. 10th
International conference of malignant lymphoma.
Lugano, Swiss. 2008年6月6日.

2, Masaki Y, Umehara H, et al.

Clinico-pathological Analysis of 114 Cases of
IgG4+MOLPS (IgG4+ Multi-Organ
LymphoProliferative Syndrome). 10th
International Sjogren's syndrome symposium.
Brest, France. 2009年10月1日.

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

IV. 協力研究報告

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
新規疾患, IgG4 関連多臓器リンパ増殖性疾患 (IgG4+MOLPS) の確立のための研究
協力研究報告書

ミクリツツ病・IgG4 関連疾患の眼科的検討

研究協力者 北川 和子 金沢医科大学眼科 教授

研究要旨：ミクリツツ病および眼部以外の臓器における IgG4 関連疾患について、眼所見、眼部病理所見を検討した。ミクリツツ病では両側性の涙腺腫脹が確認され、血中 IgG 4 135mg/dl 以上、免疫染色で IgG4+/IgG+比が 40%以上認められた。涙腺の線維化はいずれも軽微で、乾性角結膜炎も軽症であった。ミクリツツ病および他臓器の IgG4 関連疾患について、サルコイドーシス診断の方法に準じて結膜組織を検索した。結膜は粘膜関連リンパ組織 (MALT) であり、IgG4 陽性形質細胞の浸潤が予想されたが、1 例を除きその比率は低く、診断価値については今後の検討が必要と思われた。しかし 1 例で非乾酪性類上皮肉芽腫が確認されたことより、サルコイドーシスの鑑別、ミクリツツ病との合併の有無の判定に有用な検査手段であることが示唆された。

共同研究者

黒瀬 望¹、正木 康史²

所属

金沢医科大学臨床病理学¹

金沢医科大学血液免疫内科²

(倫理面への配慮)

涙腺生検はリンパ腫等悪性腫瘍の除外に必須であり、また結膜生検はサルコイドーシスなど全身性炎症性疾患の検査法として確立しているものであり、施行前に十分な説明を行い、インフォームドコンセントを得た上で施行した。術後炎症もなく、施行によるトラブルは 1 件も認められなかった。

A. 研究目的

IgG4 関連疾患における眼付属器の病変、病理所見について検討する。

B. 研究方法

IgG4 関連疾患が疑われた症例について、眼科的所見、涙腺あるいは結膜組織における IgG4 陽性形質細胞浸潤の有無を検討するとともに、鑑別疾患となるサルコイドーシスを病理組織学的に除外する。眼科的検査としては、視力、眼圧、前眼部所見 (乾性角結膜炎の有無)、シルマーテスト、中間透光帯、眼底の異常の有無を検査した。結膜生検は坪田らの報告に準じた方法で行い、結膜生検はサルコイドーシス診断手順に準じて行った。

C. 研究結果

ミクリツツ病では乾性角結膜炎は一般に軽微であり、シェーグレン症候群とは明らかに異なっていた。他にぶどう膜炎、血管炎などの眼科的異常所見は観察されなかった。主訴は涙腺腫脹による眼瞼浮腫であることが多かった。涙腺腫脹の程度は症例により異なっていたが、いずれも上眼瞼耳側で触知可能であった。病理所見では、腺構造の破壊はなく導管周囲を中心としてリンパ球、形質細胞が浸潤し、一部に胚中心の形成が認められた。ステロイド投与により涙腺腫脹はすみやかに改善したが、ステロイド離脱が困難となった症

例も認められた。顎下腺炎、自己免疫性膵炎など他臓器の IgG4 関連疾患を含め、結膜組織における IgG4 陽性細胞の浸潤程度を検索したが、ミクリッツ病の 1 例で 42%の他はその出現頻度は低率であった。別のミクリッツ病の 1 例で非乾酪性類上皮肉芽腫が観察された。

D. 考察

ミクリッツ病はどの症例もかなり一様な病像を呈することが判明した。涙腺障害の少ないことが乾性角結膜炎が軽微である理由と考えられたが、線維化が強いとする報告もあり、今後の経過観察や長期罹患例での組織像の検討が必要と思われた。他臓器での IgG4 関連疾患の診断に関しては結膜生検は限界があるものと思われたが、低率でも陽性細胞が観察されることより、今後症例を蓄積しさらに検討することで、診断的価値のある方法になる可能性も残されている。生検部位としてはもともと非侵襲的な部位であり、もしそれが有用であれば、臨床的意義も大きいと考える。なお 1 例で非乾酪性類上皮肉芽腫が観察されたが、これは結膜生検を施行しなければ見いだせなかった所見であり、ミクリッツ病とサルコイドーシスの合併の有無を含め、今後の検討課題と考えられた。

E. 結論

ミクリッツ病は程度の差はあっても、かなりユニフォームな病態を呈する疾患と考えられた。ステロイド反応性は良いが依存性もあり、治療には注意が必要と思われた。結膜生検の診断価値は今後の課題であるが、サルコイドーシスとの鑑別を含め、非侵襲的で有用な方法と判断された。

F. 参考文献

Nichols, C. W.; Eagle, R. C., Jr.; Yanoff, M.; Menocal, N. G., Conjunctival biopsy as an aid in the evaluation of the patient with suspected sarcoidosis. *Ophthalmology* 1980, 87, (4), 287-91.

原田幸子; 佐々木洋; 甲田倫子; 藤沢来人; 阿久津行永, サルコイドーシスブドウ膜炎の結膜生検. *眼科臨床医報* 2001, 95, (3), 327-328.

Takahira, M.; Kawano, M.; Zen, Y.; Minato, H.; Yamada, K.; Sugiyama, K., IgG4-Related Chronic Sclerosing Dacryoadenitis. *Arch Ophthalmol* 2007, 125, (11), 1575-8.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

北川和子、柴田奈保子、黒瀬望、正木康史、澤木俊興、梅原久範、佐々木洋、山中宣昭
IgG4 関連疾患における結膜生検の有用性
第 19 回日本シェーグレン症候群学会
2010 年 9 月 9 日千葉

北川和子、黒瀬望、正木康史、梅原久範、友杉直久、佐々木洋
IgG4 関連涙腺炎の 5 例
第 35 回日本角膜学会
2011 年 2 月 17 日東京