

## IgG4 関連呼吸器疾患診断の手引きについて

富山大学 保健管理センター<sup>1</sup> 金沢大学大学院細胞移植学呼吸器内科<sup>2</sup>  
大阪府立呼吸器アレルギー医療センター アレルギー内科<sup>3</sup>  
松井祥子<sup>1</sup> 早稲田優子<sup>2</sup> 源誠二郎<sup>3</sup>

IgG4 関連疾患は、臓器局所における炎症細胞浸潤と線維化の程度によって多彩な症状と画像所見を呈することが知られている。過去の報告も、肺炎症性偽腫瘍、器質化肺炎、間質性肺炎、縦隔線維腫、胸膜炎など、炎症の部位や細胞浸潤・線維化の程度は、きわめて多彩である。

IgG4 関連疾患における呼吸器病変は、現在までのところ国内外において数十例の報告しかなく、IgG4 関連疾患の臓器病変の中では、発症頻度は高くないことが推察されている。ただしこれまでは、呼吸器疾患を扱う臨床医の視点が反映されていなかった可能性がある。

今回、呼吸器疾患ワーキンググループ(WG)では、富山大学と金沢大学にて経験した IgG4 関連疾患約 50 例を検討し、呼吸器病変ありと考えられた約 30 例から、「IgG4 関連呼吸器疾患」の診断への手がかりとなる所見を抽出した。

これまでに、結節性陰影（肺炎症性偽腫瘍）や間質性陰影（間質性肺炎）が代表的な IgG4 関連の胸部画像所見として報告されていたが、それ以外にみられる共通の所見として、以下の点が挙げられた。

- (1) 気管支血管束周囲の陰影が多い。
- (2) その結果として、粒状影やすりガラス影から強い浸潤影に至るまで、強弱のある多彩な陰影が認められる。

呼吸器病変では、他の実質性臓器病変と異なり、組織内に IgG4 細胞浸潤の認められないこともあるため、その診断は容易ではない。手がかりとなる所見から、どのように呼吸器疾患を診断していくかを、WG で検討していきたい。

また詳細な検討には、できるだけ多くの IgG4 関連疾患症例の呼吸器症状や画像のデータ蓄積が必要であり、今後は多方面の施設からのご協力も仰ぎたいと考えている。

## IgG4 関連疾患における IgG4 サブクラス自己抗体同定の試み

京都大学大学院医学研究科 臨床免疫学

川端大介 細野祐司 中嶋蘭 三森経世

[背景] IgG4 関連疾患は血清 IgG4 の上昇と IgG4 産生形質細胞の多臓器への浸潤を特徴とする慢性炎症性疾患である。本疾患における IgG4 の病因的意義はいまだ不明であり、制御性 T 細胞や補体活性化機序が病態に関与していると考えられているが、IgG4 産生が Th2 サイトカインによる B 細胞のポリクローナルな活性化によるものか、特定の自己抗原の認識による B 細胞活性化が存在するかどうかは明らかではない。

[研究目的] IgG4 関連疾患患者血清における IgG4 サブクラス自己抗体の検出とその対応抗原の同定を目的とした。

[方法] IgG4 関連疾患患者血清 IgG4 を吸着させた抗ヒト IgG4 モノクローナル抗体結合トシル基活性化磁性ビーズを作成し、<sup>35</sup>S メチオニン標識 Hela 細胞抽出物と反応させ、形成された免疫沈降物を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動し、オートラジオグラフィーで検出し患者血清 IgG4 が結合する抗原の蛋白成分の同定を試みた。

[結果] 患者血清 IgG4 の認識する明らかな自己抗原は検出されなかった。

[結語] 今回の結果から本疾患に於いて IgG4 サブクラス自己抗体は病態に関与していない可能性が推測されたが、自己抗原ソースとして用いる細胞株の変更によって異なる結果が得られる可能性が残されており、今後の検討課題と考えられた。

## IgG4 関連疾患と鑑別を要した多中心性キャッスルマン病の免疫組織化学的検討

金沢医科大学臨床病理学<sup>1</sup>、病理学Ⅱ<sup>2</sup>

黒瀬 望<sup>1</sup> 中田聡子<sup>1</sup> 木下英理子<sup>1</sup> 湊 宏<sup>1</sup> 野島孝之<sup>1</sup> 佐藤勝明<sup>2</sup>

【緒言】IgG4 関連疾患ではTh2 関連サイトカインの発現亢進に伴い、IgE 抗体の産生、CD4、CD25 陽性の制御性T細胞(Tregs)の増加、IL-10 やTGF- $\beta$ の活性化がみられ、その結果、IgG4 の産生や線維性硬化が引き起こされると考えられている。IgG4 関連疾患の診断基準は、①血清学的な高IgG4血症(135mg/dl以上)、②免疫組織化学的に、IgG4/IgG陽性形質細胞比が40%以上である。しかし、血清IL-6の高値を示す多中心性キャッスルマン病においてもIgG4 関連疾患の診断基準を満たす場合があり、現在、この2つの疾患を明確に区別する基準はない。今回我々は、Th2細胞の活性化、TregsやTh1細胞の機能抑制、B細胞の形質細胞分化に関与しているIL-6と、Tregsの特異的マーカーであるFOXP3を用いて、IgG4 関連疾患と多中心性キャッスルマン病が免疫組織化学的に鑑別可能か検討してみた。

【材料および方法】多中心性キャッスルマン病(剖検例)、キャッスルマン腫瘍(硝子血管型)とIgG4 関連疾患と診断した7例((リンパ節;1、脾;1、胆管;1、肺;1、唾液腺;3)を用いて、IgG4(HP6025;Binding Site)、IgG(Polyclonal;DAKO)、IL-6(10C12;Leica)、FOXP3(236A/E7;abcam)を免疫組織化学的に検討した。また、トルイジンブルー染色(pH7.0)にて、肥満細胞の有無を検討した。

【結果】多中心性キャッスルマン病では、IgG4/IgG陽性形質細胞比が40%以上を示す臓器が複数認められる他、IL-6強陽性の形質細胞が多数出現していた。FOXP3の発現はみられず、肥満細胞が血管周囲、導管周囲に多数浸潤していた。一方、キャッスルマン腫瘍ではIgG4/IgG陽性形質細胞比が40%以下で、IL-6は陰性だった。FOXP3の発現は低く、肥満細胞も目立たなかった。次に、IgG4 関連疾患を線維性硬化のない部位[IgG4-f(-)]、線維性硬化の目立つ部位[IgG4-f(+)]に区分し、同一切片中で検討した所、IgG4-f(-)ではIL-6は陰性でリンパ球集簇巣が目立ち、FOXP3陽性リンパ球の増加が認められた。また、肥満細胞が血管周囲、導管周囲に多数浸潤していた。IgG4-f(+)では、IL-6は陰性～軽度陽性で、リンパ球集簇巣は目立たず、FOXP3陽性リンパ球の低下が認められた。また、肥満細胞浸潤は目立たなかった。両者のIgG4/IgG陽性形質細胞比に大きな差異はなかったが、IgG4-f(+)ではIgG4陽性の形質細胞数が少ない傾向があった。

【結語】多中心性キャッスルマン病では、IL-6の強発現に伴い、Tregsの機能抑制がおこっていると考えられた。一方、IgG4 関連疾患では、リンパ球集簇巣内にTregsの機能亢進が認められたが、線維性硬化が進み、リンパ球集簇巣がなくなるにつれ、Tregsの機能抑制がおこっていると考えられた。また、肥満細胞が両疾患の線維性硬化に関与していることが示唆された。今後、多中心性キャッスルマン病とIgG4 関連疾患を鑑別する上で、IL-6、FOXP3が重要な免疫染色となりうると考えられ、症例の更なる検討に努めたい。

## IgG4 関連疾患における IgG4 クラススイッチ関連分子の解析

筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学<sup>1</sup>

九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座顎顔面腫瘍制御学分野<sup>2</sup>

坪井洋人<sup>1</sup> 松尾直美<sup>1</sup> 飯塚麻菜<sup>1</sup> 中村友美<sup>1</sup> 松本功<sup>1</sup> 中村誠司<sup>2</sup> 住田孝之<sup>1</sup>

**【目的】** IgG4 関連疾患は血清 IgG4 の上昇と病変組織への IgG4 陽性形質細胞の浸潤を特徴とする全身性疾患である。近年注目されている疾患であり、臨床像については解析がすすんでいるが、病因・病態に関する基礎的研究は不十分である。最近になり、本症患者の末梢血中および病変局所における、Th2 細胞および Treg 細胞の増加、それらの産生するサイトカインの上昇が報告され、IgG4 クラススイッチとの関連が注目されている。今回我々は、本症における IgG4 クラススイッチ亢進の分子メカニズムを明らかにするため、PBMC および唾液腺における IgG4 特異的ならびに非特異的クラススイッチ関連分子の発現を定量 PCR で検討した。さらに本症の病因・病態に関連する分子を検索するため、DNA アレイを行った。

**【方法】** 1) IgG4 関連疾患、シェーグレン症候群 (SS)、健常人 (HC) の PBMC (それぞれ N=3)、および IgG4 関連疾患 (N=3)、SS (N=3)、HC (N=1) の口唇唾液腺より RNA を抽出した。IgG4 特異的クラススイッチに関連する分子として、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-13)、Treg サイトカイン (IL-10、TGF  $\beta$ )、GATA3、Foxp3、非特異的クラススイッチに関連する分子として、AID、CD40/CD154、IRF4、BAFF、APRIL の発現を定量 PCR で比較した。

2) IgG4 関連疾患、SS (それぞれ N=3) の口唇唾液腺を用いて DNA アレイを行った。

**【結果】** 1) IgG4 関連疾患における、IgG4 特異的・非特異的クラススイッチ関連分子の発現を SS および HC と比較検討中である。

2) IgG4 関連疾患の口唇唾液腺において、SS と比較して高発現している分子を検索中である。

**【結論】** クラススイッチに関連するこれらの分子が、本症の病因・病態に関与している可能性を証明したい。

## IgG4<sup>+</sup>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

金沢医科大学総合医学研究所

石垣靖人 高田尊信 土田秀行 友杉直久 竹上 勉

目的 : IgG4<sup>+</sup>MOLPSの病態・病因解析を目的して、以下の2つの解析を進めている。

- (1) IgG4<sup>+</sup>MOLPS の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を行う。
- (2) IgG4<sup>+</sup>MOLPS の患者末梢血における血清プロテオミクス解析を行う。

材料と方法 :

- (1) 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 Analysis (IPA) を用いた。
- (2) プロテオミクス解析には2次元電気泳動から発現差異のあるスポットを抽出してから日立ナノフロンティア質量分析装置を利用して同定を行った。

結果 :

患者および健常人の発現パターンを Principle component analysis (PCA) 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。治療前後において変動した遺伝子を抽出するとともに、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群が含まれており発症機序や病態との関わりが予想される。現在、リアルタイムPCRによるバリデーションを進めるとともに、プロテオミクス解析との統合を目指して解析を進めている。

まとめ :

今後は様々なデータセットとのデータの統合・比較を進めるとともに、病因や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きたい。

# 講演会議事録

## IgG4<sup>+</sup>MOLPSの前方視臨床研究の現状報告

金沢医科大学血液免疫内科学

正木康史 梅原久範

目的：下記の目的のために、2つの前方視的臨床研究を進めている。

(1) IgG4<sup>+</sup>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ガイドラインを確立する。

(2) IgG4<sup>+</sup>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。

前方視臨床研究：

1、診断基準確立のための研究： UMIN :R000002823

「IgG4<sup>+</sup>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年間で、目標40例以上

2、治療指針確立のための研究： UMIN :R000002820

「IgG4<sup>+</sup>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」：5年間で、目標46例

倫理委員会承認および症例登録状況：

2010年6月25日現在、19施設（金沢医科大学、長岡赤十字病院、倉敷成人病センター、信州大学、富山大学、西群馬病院、群馬県立がんセンター、札幌医科大学、関西医科大学、諫早総合病院、群馬大学、長崎大学、都立駒込病院、筑波大学、京都大学、神戸海星病院、愛媛大学、金沢大学、福井大学、以上承認順）で既に倫理委員会承認を得ている。そのうち診断研究／治療研究両方に承認ありは12施設、診断研究のみの施設は7施設である。

2010年6月25日現在、診断研究48例、治療研究9例の症例が登録された。

まとめ：

各施設の担当の諸先生の御尽力により徐々に倫理委員会承認施設数も、登録症例も着実に増えてきた。本邦発のIgG4関連疾患に対する、より質の高いエビデンスを確立するために前方視臨床研究が必須であり、今後とも積極的な症例登録をお願いしたい。

### 【議事録】

吉野先生：症例数が増えて有意差が出るのは、偽陽性というのか？

正木先生：よくわかりません。

川先生：最初から100症例が妥当だったのか？

正木先生：当初、エンドポイントをはっきり決めておらず、40例と決めましたが統計学的には100例が妥当ということになった。

佐伯先生：疑い例も積極的に参加した方がいいのか？

正木先生：金沢医大は疑い例が多いが、大半なのは確定例でステロイド治療がどの程度効くかどうかだ。

## 消化器領域における IgG4 関連疾患～自己免疫性膵炎を中心に～

関西医科大学内科学第三講座（消化器肝臓内科）

岡崎 和一

消化器領域における IgG4 関連疾患には自己免疫性膵炎、硬化性胆管炎などがあるが、新たに IgG4 関連疾患としての自己免疫性肝炎や腸病変の存在する可能性も示唆されている。本邦における自己免疫性膵炎は IgG4 関連疾患が殆どをしめ、診療ガイドラインも作成された。欧米では好中球病変も自己免疫性膵炎の亜型とされて分類されており、これらを含めた診断基準の国際化もなされつつある。以上を背景に、わが国における自己免疫性膵炎および国際化のながれの中における IgG4 関連疾患としての位置づけを中心に概略をお話します。

### 【議事録】

- ・症例数もあるが、**fibrosclerotic** のはっきりしているものと。していないものがある。
- ・国際的なコンセンサスがある投与量は？
- ・**0.5-0.6mg/kg** 最初の判定は2週間で行う。
- ・**duration** は3年、3年以内で90%以上が再発するデータがあるが、コンセンサスは得られていない。
- ・ステロイドを診断基準に入れることについて、膵臓は **biopsy** をし難いこともある。日本は **ERCP** をするが、欧米では訴訟の事もあり難しいところもある。



## IgG4 関連腎症の診断基準作成にむけて

金沢大学附属病院 リウマチ・膠原病内科

川野 充弘

IgG4 関連腎症の疾患概念の確立と診療指針の作成を目的として、日本腎臓学会のワーキンググループである「IgG4 関連腎症ワーキンググループ」が発足し、2009年8月30日に第1回会議が東京で開催された。2010年6月16日、神戸の第3回会議では、日本腎臓学会倫理審査委員会で2010年5月24日に承認された「IgG4 関連腎症の臨床病理学的特徴を明らかにするための多施設共同後方視的検討(IgG4RN study)」の研究計画書が提示され、本格的に後方視的研究がスタートした。これは、2010年7月1日より2013年3月31日までの期間に、50症例を目標に、これまでに学会報告された症例や論文化された症例を中心に、臨床所見、他臓器所見、腎生検所見、血液生化学的所見あるいは免疫学的所見からIgG4 関連腎症が疑われる症例を日本全国から登録して、各症例の腎生検標本をバーチャルスライド化し臨床的、病理学的検討を行う研究である。

これと平行して、「IgG4 関連腎症の診断基準」作成への取り組みもスタートした。中心的病理所見は1. 繊維化及びリンパ球・形質細胞浸潤を特徴とする、2. 浸潤形質細胞の40%以上はIgG4陽性形質細胞であるの2項目を満たす間質性腎炎であるが、これに加えて腎病理に特徴的な所見として1. 病変部と非病変部の境界明瞭な間質性腎炎、2. 腎皮膜を超えて広がる間質性腎炎、3. 深部髄質に及ぶ間質性腎炎、4. 尿細管炎が目立たない間質性腎炎、5. PAM染色で“bird's eye pattern”という特徴的な繊維化を伴う、6. 腎臓にリンパ濾胞形成がある、7. 好酸球浸潤があるの7項目を抽出した。これら7項目の合計得点により病理学的特徴のみでシェーグレン症候群に伴う間質性腎炎のような他の間質性腎炎と鑑別が可能かどうかを検討する。その際に、自己免疫性膵炎やミクリッツ病のような明らかなIgG4 関連疾患に伴う間質性腎炎と腎以外には明らかなIgG4 関連疾患の病変を認めない間質性腎炎を比較検討し、腎画像診断の有用性を取り込んだ「IgG4 関連腎症診断基準」の素案を提示する予定である。

本講演では、以上の2項目につき、現在までの進行状況を報告する。

### 【議事録】

利波先生：造影剤を使用するのであれば、latephare も見た方が良い。腎盂腎炎の鑑別として。

小島先生、佐藤先生：IPL の症例はキャッスルマン病ではないのか？IgG4 としてじゃいけないのではないのか？

川野先生：キャッスルマン病は否定したが、リンパ節生検ではIPL と診断された。

浜野先生：腎病変は呼吸病変と同じく非常に多彩と考えられる。腎は尿細管炎のみでなくて、2つのタイプがあるのではないのか。腎病変は様々なタイプがあると考えられるので、ある所見のみで腎病変を否定する事は出来ないのではないのか？

川野先生：腎病変は難しいことは感じており、今後腎学会でも検討していく。

## IgG4 関連呼吸器疾患診断の手引きについて

富山大学 保健管理センター<sup>1</sup> 金沢大学大学院細胞移植学呼吸器内科<sup>2</sup>

大阪府立呼吸器アレルギー医療センター アレルギー内科<sup>3</sup>

松井祥子<sup>1</sup> 早稲田優子<sup>2</sup> 源誠二郎<sup>3</sup>

IgG4 関連疾患は、臓器局所における炎症細胞浸潤と線維化の程度によって多彩な症状と画像所見を呈することが知られている。過去の報告も、肺炎症性偽腫瘍、器質化肺炎、間質性肺炎、縦隔線維腫、胸膜炎など、炎症の部位や細胞浸潤・線維化の程度は、きわめて多彩である。

IgG4 関連疾患における呼吸器病変は、現在までのところ国内外において数十例の報告しかなく、IgG4 関連疾患の臓器病変の中では、発症頻度は高くないことが推察されている。ただしこれまでは、呼吸器疾患を扱う臨床医の視点が反映されていなかった可能性がある。

今回、呼吸器疾患ワーキンググループ(WG)では、富山大学と金沢大学にて経験した IgG4 関連疾患約 50 例を検討し、呼吸器病変ありと考えられた約 30 例から、「IgG4 関連呼吸器疾患」の診断への手がかりとなる所見を抽出した。

これまでに、結節性陰影（肺炎症性偽腫瘍）や間質性陰影（間質性肺炎）が代表的な IgG4 関連の胸部画像所見として報告されていたが、それ以外にみられる共通の所見として、以下の点が挙げられた。

- (1) 気管支血管束周囲の陰影が多い。
- (2) その結果として、粒状影やすりガラス影から強い浸潤影に至るまで、強弱のある多彩な陰影が認められる。

呼吸器病変では、他の実質性臓器病変と異なり、組織内に IgG4 細胞浸潤の認められないこともあるため、その診断は容易ではない。手がかりとなる所見から、どのように呼吸器疾患を診断していくかを、WG で検討していきたい。

また詳細な検討には、できるだけ多くの IgG4 関連疾患症例の呼吸器症状や画像のデータ蓄積が必要であり、今後は多方面の施設からのご協力も仰ぎたいと考えている。

### 【議事録】

- ・基礎疾患がある場合は感染症のこともあるが、そこはどうか？
- ・除外すべき疾患で病理が中心にならず臨床的判断も加えれば鑑別は可能。
- ・呼吸器だけで診断出来るのはかなり特殊。
- ・肺だけの症例の所見は？
- ・検診で見つかったもの。
- ・BAL などの所見は？
- ・BAL は全く所見はないと考えている。
- ・殆どみんなステロイド治療をしている。
- ・リンパ節に局限している症例もあるのか？
- ・それはある。
- ・broncho-vascular band は変化はあるか？
- ・治療によって余り変わらない事が多い。
- ・リンパ節なしはよくなるが粒状影や肥厚などは変化がないことが多い。

## IgG4 関連疾患における IgG4 サブクラス自己抗体同定の試み

京都大学大学院医学研究科 臨床免疫学

川端大介 細野祐司 中嶋蘭 三森経世

[背景] IgG4 関連疾患は血清 IgG4 の上昇と IgG4 産生形質細胞の多臓器への浸潤を特徴とする慢性炎症性疾患である。本疾患における IgG4 の病因的意義はいまだ不明であり、制御性 T 細胞や補体活性化機序が病態に関与していると考えられているが、IgG4 産生が Th2 サイトカインによる B 細胞のポリクローナルな活性化によるものか、特定の自己抗原の認識による B 細胞活性化が存在するかどうかは明らかではない。

[研究目的] IgG4 関連疾患患者血清における IgG4 サブクラス自己抗体の検出とその対応抗原の同定を目的とした。

[方法] IgG4 関連疾患患者血清 IgG4 を吸着させた抗ヒト IgG4 モノクローナル抗体結合トシル基活性化磁性ビーズを作成し、<sup>35</sup>S メチオニン標識 Hela 細胞抽出物と反応させ、形成された免疫沈降物を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動し、オートラジオグラフィーで検出し患者血清 IgG4 が結合する抗原の蛋白成分の同定を試みた。

[結果] 患者血清 IgG4 の認識する明らかな自己抗原は検出されなかった。

[結語] 今回の結果から本疾患に於いて IgG4 サブクラス自己抗体は病態に関与していない可能性が推測されたが、自己抗原ソースとして用いる細胞株の変更によって異なる結果が得られる可能性が残されており、今後の検討課題と考えられた。

### 【議事録】

梅原：自己抗体は疾患によって出現率は 20%とか高くても 80%程度なので、抗核抗体が出ている患者さんであるとか、N 数を増やす必要がある。

川端：N 数を増やすとか、細胞採を変更して検討する必要がある。

吉野：Hila を使う妥当性は？

川端：Hila 細胞を使った理由は、報告が多く自己抗体を検出する方法としては一般的だと思う。

川：岡崎先生の研究の自己免疫性膵炎でも自己抗体を調べたが、逸脱酵素に対する自己抗体などしか検出できなかった。Hila 細胞以外の細胞採は？

川端：唾液腺組織を検討している。

住田：IgG4 抗体の特徴は monovalency に動くこととその affinity の低さがあり、この研究方法では難しいと思う。コントロールの IgG4 を使うか、腎などの免疫複合体を形成している IgG4 を使用したらどうか？

## IgG4 関連疾患と鑑別を要した多中心性キャッスルマン病の免疫組織化学的検討

金沢医科大学臨床病理学<sup>1</sup>、病理学Ⅱ<sup>2</sup>

黒瀬 望<sup>1</sup> 中田聡子<sup>1</sup> 木下英理子<sup>1</sup> 湊 宏<sup>1</sup> 野島孝之<sup>1</sup> 佐藤勝明<sup>2</sup>

【緒言】 IgG4 関連疾患では Th2 関連サイトカインの発現亢進に伴い、IgE 抗体の産生、CD4、CD25 陽性の制御性 T 細胞 (Tregs) の増加、IL-10 や TGF- $\beta$  の活性化がみられ、その結果、IgG4 の産生や線維性硬化が引き起こされると考えられている。IgG4 関連疾患の診断基準は、①血清学的な高 IgG4 血症 (135mg/dl 以上)、②免疫組織化学的に、IgG4/IgG 陽性形質細胞比が 40% 以上である。しかし、血清 IL-6 の高値を示す多中心性キャッスルマン病においても IgG4 関連疾患の診断基準を満たす場合があり、現在、この 2 つの疾患を明確に区別する基準はない。今回我々は、Th2 細胞の活性化、Tregs や Th1 細胞の機能抑制、B 細胞の形質細胞分化に関与している IL-6 と、Tregs の特異的マーカーである FOXP3 を用いて、IgG4 関連疾患と多中心性キャッスルマン病が免疫組織化学的に鑑別可能か検討してみた。

【材料および方法】 多中心性キャッスルマン病 (剖検例)、キャッスルマン腫瘍 (硝子血管型) と IgG4 関連疾患と診断した 7 例 (リンパ節; 1、膵; 1、胆管; 1、肺; 1、唾液腺; 3) を用いて、IgG4 (HP6025; Binding Site)、IgG (Polyclonal; DAKO)、IL-6 (10C12; Leica)、FOXP3 (236A/E7; abcam) を免疫組織化学的に検討した。また、トルイジンブルー染色 (pH7.0) にて、肥満細胞の有無を検討した。

【結果】 多中心性キャッスルマン病では、IgG4/IgG 陽性形質細胞比が 40% 以上を示す臓器が複数認められる他、IL-6 強陽性の形質細胞が多数出現していた。FOXP3 の発現はみられず、肥満細胞が血管周囲、導管周囲に多数浸潤していた。一方、キャッスルマン腫瘍では IgG4/IgG 陽性形質細胞比が 40% 以下で、IL-6 は陰性だった。FOXP3 の発現は低く、肥満細胞も目立たなかった。次に、IgG4 関連疾患を線維性硬化のない部位 [IgG4-f(-)]、線維性硬化の目立つ部位 [IgG4-f(+)] に区分し、同一切片中で検討した所、IgG4-f(-) では IL-6 は陰性でリンパ球集簇が目立ち、FOXP3 陽性リンパ球の増加が認められた。また、肥満細胞が血管周囲、導管周囲に多数浸潤していた。IgG4-f(+) では、IL-6 は陰性～軽度陽性で、リンパ球集簇は目立たず、FOXP3 陽性リンパ球の低下が認められた。また、肥満細胞浸潤は目立たなかった。両者の IgG4/IgG 陽性形質細胞比に大きな差異はなかったが、IgG4-f(+) では IgG4 陽性の形質細胞数が少ない傾向があった。

【結語】 多中心性キャッスルマン病では、IL-6 の強発現に伴い、Tregs の機能抑制がおこっていると考えられた。一方、IgG4 関連疾患では、リンパ球集簇内に Tregs の機能亢進が認められたが、線維性硬化が進み、リンパ球集簇がなくなるにつれ、Tregs の機能抑制がおこっていると考えられた。また、肥満細胞が両疾患の線維性硬化に関与していることが示唆された。今後、多中心性キャッスルマン病と IgG4 関連疾患を鑑別する上で、IL-6、FOXP3 が重要な免疫染色となりうると考えられ、症例の更なる検討に努めたい。

### 【議事録】

- ・マストセルは増えているということか?
- ・明らかに増えていない。
- ・IgG4 関連疾患でのマストセルの関連性は?
- ・TGF- $\beta$  もあるため何らかの関連があるのでは。
- ・multiple eastleman disease は IgG4 の基準を満たす?
- ・満たす
- ・病理学的に MeD と IgG4 の違いがあるか

## IgG4 関連疾患における IgG4 クラススイッチ関連分子の解析

筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学<sup>1</sup>

九州大学大学院歯学研究院口腔顎顔面病態学講座顎顔面腫瘍制御学分野<sup>2</sup>

坪井洋人<sup>1</sup> 松尾直美<sup>1</sup> 飯塚麻菜<sup>1</sup> 中村友美<sup>1</sup> 松本功<sup>1</sup> 中村誠司<sup>2</sup> 住田孝之<sup>1</sup>

【目的】 IgG4 関連疾患は血清 IgG4 の上昇と病変組織への IgG4 陽性形質細胞の浸潤を特徴とする全身性疾患である。近年注目されている疾患であり、臨床像については解析がすすんでいるが、病因・病態に関する基礎的研究は不十分である。最近になり、本症患者の末梢血中および病変局所における、Th2 細胞および Treg 細胞の増加、それらの産生するサイトカインの上昇が報告され、IgG4 クラススイッチとの関連が注目されている。今回我々は、本症における IgG4 クラススイッチ亢進の分子メカニズムを明らかにするため、PBMC および唾液腺における IgG4 特異的ならびに非特異的クラススイッチ関連分子の発現を定量 PCR で検討した。さらに本症の病因・病態に関連する分子を検索するため、DNA アレイを行った。

【方法】 1) IgG4 関連疾患、シェーグレン症候群 (SS)、健常人 (HC) の PBMC (それぞれ N=3)、および IgG4 関連疾患 (N=3)、SS (N=3)、HC (N=1) の口唇唾液腺より RNA を抽出した。IgG4 特異的クラススイッチに関連する分子として、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-13)、Treg サイトカイン (IL-10、TGF $\beta$ )、GATA3、Foxp3、非特異的クラススイッチに関連する分子として、AID、CD40/CD154、IRF4、BAFF、APRIL の発現を定量 PCR で比較した。

2) IgG4 関連疾患、SS (それぞれ N=3) の口唇唾液腺を用いて DNA アレイを行った。

【結果】 1) IgG4 関連疾患における、IgG4 特異的・非特異的クラススイッチ関連分子の発現を SS および HC と比較検討中である。

2) IgG4 関連疾患の口唇唾液腺において、SS と比較して高発現している分子を検索中である。

【結論】 クラススイッチに関連するこれらの分子が、本症の病因・病態に関与している可能性を証明したい。

### 【議事録】

吉野：IRF4が1回目が発現が亢進しているimmature B-cellというのは骨髄内のB-cellか？

坪井：おそらく骨髄は出ている。

吉野：末梢血リンパ球でAIDが亢進しているのは興味深い。

坪井：AIDが亢進している末梢細胞が病変に行っていると考え易い。

吉野：胚中心に関して検討して欲しい。

岡崎：病変ではTh2優位だが、末梢血ではTh1優位ということも言われている。その他の単球のtoll-like receptorが関与しているという報告もあるが・・・

坪井：違う細胞に関しては検討していないので解らないが、関与している可能性はある。

## IgG4<sup>+</sup>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

金沢医科大学総合医学研究所

石垣靖人 高田尊信 土田秀行 友杉直久 竹上 勉

目的 : IgG4<sup>+</sup>MOLPSの病態・病因解析を目的として、以下の2つの解析を進めている。

- (1) IgG4<sup>+</sup>MOLPS の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を行う。
- (2) IgG4<sup>+</sup>MOLPS の患者末梢血における血清プロテオミクス解析を行う。

材料と方法 :

- (1) 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 Analysis (IPA) を用いた。
- (2) プロテオミクス解析には2次元電気泳動から発現差異のあるスポットを抽出してから日立ナノフロントィア質量分析装置を利用して同定を行った。

結果 :

患者および健常人の発現パターンを Principle component analysis (PCA) 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。治療前後において変動した遺伝子を抽出するとともに、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群が含まれており発症機序や病態との関わりが予想される。現在、リアルタイムPCRによるバリデーションを進めるとともに、プロテオミクス解析との統合を目指して解析を進めている。

まとめ :

今後は様々なデータセットとのデータの統合・比較を進めるとともに、病因や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きたい。

### 【議事録】

- ・その遺伝子はネットワークにのっているか？
- ・今にはのっていない。

## 病理中央診断会 プログラム

### 病理診断チーム

吉野 正 先生 (岡山大学大学院病態制御学腫瘍制御学病理学)  
中村 栄男 先生 (名古屋大学医学部・大学院医学系研究科病理組織医学)  
小島 勝 先生 (獨協医科大学病理学形態)  
黒瀬 望 先生 (金沢医科大学病態診断医学)  
廣川 満良 先生 (隈病院病理細胞診断部)

司会：正木 康史 (金沢医科大学 血液免疫内科学)

### 症例プレゼンテーション

臨床プレゼンは各症例2分、病理討論は8分

- 1、筑波大学 坪井洋人先生、住田孝之先生
- 2、諫早総合病院 藤川敬太先生
- 3、長岡赤十字病院 佐伯敬子先生
- 4、札幌医科大学 山本元久先生
- 5、金沢医科大学 中島章夫先生

施設名 筑波大学附属病院 担当医 坪井洋人、住田孝之

年齢：77 歳、 性別：女、 主訴：口腔内乾燥感、両側顎下部腫脹

病歴：2009年4月から口腔内乾燥感、両側顎下腺腫張、口腔内潰瘍が出現した。7月中旬から胸、背中に紅斑が出現し次第に両下腿、両上肢に広がった。8月近医を受診した際に血液検査所見で白血球減少、補体低下、IgG高値、抗核抗体陽性、抗DNA抗体陽性を認め、SLE、シェーグレン症候群が疑われ当科紹介入院となった。

身体所見：貧血黄疸なし、口腔内潰瘍あり、両側顎下腺の腫大あり、頸部・腋窩リンパ節軽度腫大、心音異常なし、肺音清、腹部異常所見なし、関節の腫脹・圧痛なし、四肢体幹に3~15mmの紅斑あり

データ：Hb 12.2 g/dl, WBC 1300 / $\mu$ l, (Seg 18.7 %, Lym 50.0 %, Eos 2.2 %), PLT 11.9 万 / $\mu$ l, CRP 0.75 mg/dl, BUN 14.2 mg/dl, Cr 0.88 mg/dl, T-bil 0.4 mg/dl, TP 9.2 g/dl, Alb 3.3 g/dl, LDH 306 U/l, AST 37 U/l, ALT 23 U/l, ALP 204 U/l,  $\gamma$  GTP 17 U/l, Amy 132 U/l

IgG 4801 mg/dl, IgA 282 mg/dl, IgM 59 mg/dl, IgE 156 U/ml

IgG1 2380 mg/dl, IgG2 989 mg/dl, IgG3 509 mg/dl, IgG4 586 mg/dl,

C3 23 mg/dl, C4 0 mg/dl, CH50 5.9 U/ml, IL6 10.5 pg/ $\mu$ l, sIL2R 2389 U/ml

RF 1 U/ml, ANA 1280 倍 (Homo pattern), ADNA (RIA) 211.9 IU/ml

抗SS-A抗体陰性/抗SS-B抗体陰性 (オクタロニー法)

画像所見：全身造影CT：涙腺・耳下腺・顎下腺の腫大、腓体尾部の腫大、両腎の不均一な造影効果、肺気管支血管束のびまん性肥厚、縦隔を主体とする全身リンパ節腫大、肝腫大

MRCP：腓体尾部の実質びまん性腫大、同部位の主膵管狭細化

Ga シンチ：両側涙腺・耳下腺・顎下腺に強い集積増加、両側肺門・両側腎臓に集積増加

臨床診断：

# 1：SLE (口腔内潰瘍、WBC 減少、ADNA 陽性、ANA 陽性)

# 2：IgG4 関連疾患 (IgG4 高値、頸部リンパ節・口唇唾液腺生検でIgG4 陽性を伴う形質細胞・リンパ球浸潤、両側涙腺・耳下腺・顎下腺腫大、全身性リンパ節腫大、AIP、間質性腎炎、肺病変)

問題点/特徴：IgG4 関連疾患に高度の好中球減少・ADNA 高値を伴い、SLE の分類基準も同時に満たした症例。PSL30 mg/日ですべての所見は改善した。



施設名 諫早総合病院 担当医 藤川

年齢 : 68 歳、 性別 : 女

病歴 : 2009年8月上旬より両顎下腺腫脹を自覚。9月に精査目的で当科紹介。

身体所見 : 両顎下腺腫大あり。

データ :

Hb 12.0 g/dl, WBC 3910 / $\mu$ l, (Eos 9 %), PLT 16.8 / $\mu$ l

CRP 0.05 mg/dl, BUN 15 mg/dl, Cr 0.5 mg/dl,

T-bil 0.8 mg/dl (D-bil \_\_\_\_\_ mg/dl), TP 7.0 g/dl, Alb 3.9 g/dl

LDH 171 U/l, AST 23 U/l, ALT 34 U/l, ALP 199 U/l,  $\gamma$  GTP 55 U/l

Amylase 64 U/l, Lipase \_\_\_\_\_ IU/l

IgG 1620 mg/dl, IgA 180 mg/dl , IgM 294 mg/dl, IgE 159 U/ml,

IgG1 809mg/dl, IgG2 862 mg/dl, IgG3 105 mg/dl, IgG4 419 mg/dl,

C3 90.8mg/dl, C4 21.4mg/dl, CH50 36 U/ml

IL6 \_\_\_\_\_ pg/ $\mu$ l, sIL2R 637U/ml

RF 陰性 , ANA <20 倍 ( \_\_\_\_\_ pattern)

その他

画像所見 :

PET-CT ; 両顎下腺、膵体部、大腸に FDG-PET 集積

腹部造影 CT ; 膵体部に 24mm 大の腫瘍性病変あり。

MRCP ; 膵管の軽度狭小化、ERCP ; 膵管の明らかな異常なし

CS ; 異常所見なし

臨床診断 :

# 1 : IgG4 関連疾患(Kuttner 腫瘍、膵腫瘍)

# 2 : 2型糖尿病

問題点/特徴 :

PET-CT が膵腫瘍の発見に有用であった。PSL30mg(0.8mg/kg)で治療開始し顎下腺腫大、膵腫瘍は縮小傾向にある。

施設名 長岡赤十字病院 担当医 佐伯敬子

年齢：65歳、性別：男

病歴：頻尿を主訴に泌尿器科受診。前立腺肥大と左水腎症を指摘された。CTで左腎盂尿管移行部に造影される結節あり。腎盂拡張、壁肥厚。

大網、胃脾間膜の脂肪濃度上昇、小結節散在。下腸管膜動脈分岐部レベルに後腹膜線維症、Th7-12右椎体周囲軟部影、右胸膜肥厚、肺結節影など指摘された。

尿管鏡では尿管粘膜異常なく、尿細胞診 class II。後腹膜線維症よりIgG4関連疾患疑われ紹介された。

身体所見：170cm 77.6Kg 両顎下腺腫脹あり。それ以外特記すべきことなし。

データ：

Hb 14.2 g/dl, WBC 6700 / $\mu$ l, (Eos 5.1 %), PLT 19.6 / $\mu$ l

CRP 0.09 mg/dl, BUN 17.9 mg/dl, Cr 1.18 mg/dl,

T-bil 0.4 mg/dl (D-bil 0.1 mg/dl), TP 7.8 g/dl, Alb 4.1 g/dl

LDH 180 U/l, AST 20 U/l, ALT 16 U/l, ALP 129 U/l,  $\gamma$  GTP 21 U/l

Amylase 67 U/l, Lipase \_\_\_\_\_ IU/l

IgG 2563 mg/dl, IgA 156 mg/dl, IgM 41 mg/dl, IgE 283 U/ml,

IgG1 1700 mg/dl, IgG2 1160 mg/dl, IgG3 327 mg/dl, IgG4 1330 mg/dl,

C3 77 mg/dl, C4 13 mg/dl, CH50 38 U/ml

IL6 \_\_\_\_\_ pg/ $\mu$ l, sIL2R 913 U/ml

RF <5, ANA <40 倍 ( \_\_\_\_\_ pattern)

その他 lip biopsy 施行 (供覧)

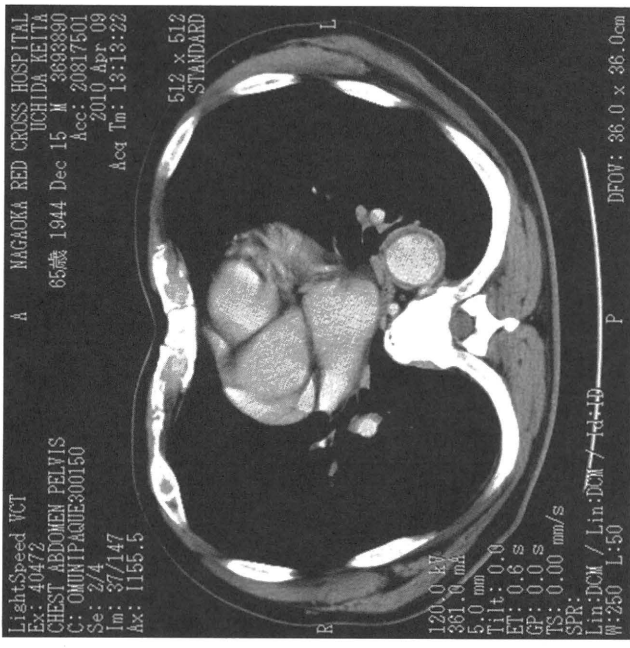
画像所見：上記のとおり

臨床診断：

# 1：後腹膜線維症、左尿管腫瘤、左水腎症

# 2：両顎下腺炎

問題点／特徴：当初尿管癌、腹膜播種も疑われたが放射線科より IgG4 関連疾患の可能性を指摘された。



施設名 札幌医科大学 第一内科 担当医 山本 元久

年齢: 59 歳、 性別: 男

病歴: 2008年頃に両側顎下部腫脹を認めたため、2009年3月に地元の耳鼻科を複数施設受診するも確定診断に至らなかった。同年秋頃には口渇も顕著となり、近医クリニック(内科)を受診したところ、膠原病を疑われ、札幌市内の前医(内科)を受診した。血清学的に抗核抗体、抗SS-A抗体は陰性で、高IgG4血症を認めた。同院で顎下腺生検を勧められ、同年12月に実施した結果、リンパ腫は否定され、組織中に著明なIgG4陽性形質細胞浸潤を認めたことから、IgG4関連顎下腺炎(キュットナー腫瘍)と診断された。しかし糖尿病とHBVキャリアであり、臓器障害もなかったことから、治療は行わず、経過観察されていた。2010年になり、血液検査上、徐々に腎機能障害を呈したため、腹部CTを撮影した結果、右水腎症を指摘された。その原因として、後腹膜にある腫瘤性病変が尿管を圧排しているものと考えられ、同年6月に当院泌尿器科を紹介、腎生検と腹腔鏡下後腹膜腫瘍生検が実施された。その結果、悪性腫瘍は否定された。7月下旬に当科紹介となった。

身体所見: 身長 154.0 cm、体重 50.0 kg、血圧 128/68、脈拍 72、整。上眼瞼腫脹は認めない。右顎下腺摘出後、左顎下部腫脹を認める。胸部聴診上、異常なし。腹部触診上、肝脾触知せず。

データ:

Hb 12.0 g/dl, WBC 7200 / $\mu$ l, (Eos 4.9 %), PLT 32.9 万 / $\mu$ l

CRP 1.19 mg/dl, BUN 18 mg/dl, Cr 1.1 mg/dl,

T-bil 0.7 mg/dl (D-bil 0.2 mg/dl), TP 7.8 g/dl, Alb 3.5 g/dl

LDH 169 U/l, AST 23 U/l, ALT 17 U/l, ALP 168 U/l,  $\gamma$  GTP 16 U/l

Amylase 23 U/l, Lipase 未 IU/l

IgG 2054 mg/dl, IgA 419 mg/dl, IgM 166 mg/dl, IgE 542 U/ml,

IgG1        mg/dl, IgG2        mg/dl, IgG3        mg/dl, IgG4 874 mg/dl (前医),

C3 106 mg/dl, C4 24 mg/dl, CH50 >66.0 U/ml

IL6 未 pg/ $\mu$ l, sIL2R 未 U/ml

RF 84, ANA        倍 (        pattern) 上記空欄は結果未到着