

画像検査で捉えられる炎症所見の出現とした。膵外病変は自己免疫性膵炎の国際診断基準 (ICDC for AIP) の記載に従い IgG4 関連の涙腺・唾液腺炎、硬化性胆管炎、後腹膜線維症とした。その他の IgG4 関連疾患の出現についても検討した。

(倫理面への配慮)

侵襲性の高い生検や膵管造影などの施行に際しては文書で同意を得た。遺伝子的検討は含まれておらず、特に倫理面に問題ないと判断した。診断の為に侵襲的な検査を施行する際には、十分に説明し書面で同意を得た。検体採取に際しては患者さんから同意を得た。

C. 研究結果

1. 再燃の頻度

再燃は 28 例 (33%) に認め、内訳は男 23 例、女 3 例、年齢中央値は 64 歳 (38-84 歳) であった。再燃回数は 60 回で、1 回が 14 例、2 回が 8 例で、12 回再燃した症例も認めた。従って、1/3 の症例に 1 もしくは 2 回再燃を認めた。

2. 再燃の部位ならびに症状

主な再燃部位は自己免疫性膵炎 26 回、硬化性胆管炎 18 回、涙腺・唾液腺炎 5 回、後腹膜線維症 4 回であった。その他に好酸球性胃腸症 8 回、好酸球性肺炎 5 回、間質性肺炎 2 回、血小板減少性紫斑病 1 回など多彩な病変を認めた。

3. 再燃の時期

1 回目、2 回目、3 回目の再燃時期の中央値、範囲はそれぞれ 33 ヶ月 (5-142 ヶ月)、66 ヶ月 (13-139 ヶ月)、122 ヶ月 (15-185 ヶ月) であった。表 1 に示す如く、72% がステロイド維持療法中に、その他の再燃はステロイド中止期に認めた。1 年以内に再燃を認めたのは 14% で、3 年以内は 54% であった。

3. 再燃の予測マーカー

表 2 に示す如く、診断時の活動性マーカーで再燃群に有意に異常値を示すものはなく、再燃の予測マーカーは同定できなかった。しかし、IgG と CIC が再燃群で高い傾向を認めた。経過中、複数回再燃を呈した症例で、経時的な IgG4 と CIC 測定値は、臨床的に明らかかな再燃が生ずる数ヶ月以前より上昇を認めた。

4. 再燃と膵石形成

表 3 に示す如く、診断時の膵石例は再燃、非再燃で有意差を認めなかったが、経過中の膵石形成 (膵石増大と新たな出現) は再燃群で有意に多く認めた。さらに、経過中の新たな膵石出現も再燃例で有意に多かった。

5. 再燃の経時的変化

図 1 に示す如く、再燃回数の経時的変化を検討すると、最近は減少してきている。患者管理が改善されてきたためと考えられる。

D. 考察

今回の検討では、自己免疫性膵炎の再燃は 1/3 の症例に認められたが、過去の報告では 30-50% でありほぼ同様であった。⁶⁻¹²⁾ 再燃回数はほとんどの例で 1~2 回であり、例外的に 12 回の例もあった。ステロイド治療は再燃を有意に減少させると報告され、^{7), 12)} 再燃例に対する標準的治療である。

再燃の病変部位として自己免疫性膵炎以外に硬化性胆管炎、涙腺・唾液腺炎、後腹膜線維症、間質性肺炎、好酸球性胃腸症、好酸球性肺炎、血小板減少性紫斑病など多彩な病変を認めた。これらの病変はステロイド治療に良好に反応し、多くは IgG4 関連疾患として認められている。

今回の検討では、再燃の 72% がステロイド維持療法中に認められた。再燃はステロイド治療後 3 年以内に発生し⁷⁾、56% が 1 年以内に、92% が 3 年以内と報告されている。¹²⁾ 今回の検討では、ほとんどの再燃はステロイ

ド維持療法中に認められたが、過去の報告ではステロイド維持療法中の再燃率は23%であり、これはステロイド中止した場合の34%と比較して低値である。今回の検討した症例は活動性が高く、維持療法を長期に施行する必用があり、結果的に維持療法中の再燃率が高くなった可能性が考えられた。

診断時の活動性マーカーで再燃を有意に予測可能なものは認めなかったが、IgGが比較的有用であった。過去には診断時の膵臓のび慢性腫大所見、黄疸、IgG、IgG4、CIC、可溶性IL2 receptor、補体などが再燃予測に有用と報告されている。⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾¹³⁾¹⁴⁾ 経過中、複数回再燃を呈した症例で、経時的なIgG4とCIC測定値は、臨床的に明らかな再燃が生ずる数ヶ月以前より上昇を認めたことより、これらの経時的測定が再燃予測に有用と考えられた。

今回の検討では最近の症例で、再燃回数が減少してきており、患者管理の改善が関連していると考えられる。前駆症状の注意深い観察、経時的な活動性マーカーの測定、再燃早期のステロイド治療が再燃に対する有効な管理方法と考えられる。

今回の検討では、再燃例で有意に膵石形成を多く認めた。このことは一部の自己免疫性例が慢性膵炎に移行しうることを示している。実際、慢性膵炎症例の7.4%で血清IgG4値の上昇を認め、¹³⁾ これらは慢性期の自己免疫性膵炎の可能性が考えられる。当初自己免疫性膵炎は膵石を認めないことが特徴とされていたが、膵石形成をきたす慢性期に移行しうる病態と考えられる。

E. 結論

自己免疫性膵炎症例の1/3で再燃を認め、膵石形成に至ると考えられる。前駆症状の注意深い観察、経時的な活動性マーカーの測定、再燃早期のステロイド治療が再燃に対する

有効な管理方法と考えられる。

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 pancreato-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. Takayama M, Hamano H, Ochi Y, et al. Recurrent attacks of autoimmune pancreatitis result in pancreatic stone formation. *Am J Gastroenterol* 2004;99:932-7.
7. Kubota K, Watanabe S, Uchiyama T, et al. Factors predictive of relapse and spontaneous remission of autoimmune pancreatitis patients treated/not treated

- with corticosteroids. *J Gastroenterol* 2011;46:834-42.
8. Kamisawa T, Okamoto A. Prognosis of autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2007;42 Suppl 18:59-62.
 9. Hirano K, Tada M, Isayama H, et al. Long-term prognosis of autoimmune pancreatitis with and without corticosteroid treatment. *Gut* 2007;56:1719-24.
 10. Kim HM, Chung MJ, Chung JB. Remission and relapse of autoimmune pancreatitis: focusing on corticosteroid treatment. *Pancreas* 2010;39:555-60.
 11. Wakabayashi T, Kawaura Y, Satomura Y, Watanabe H, Motoo Y, Sawabu N. Long-term prognosis of duct-narrowing chronic pancreatitis: strategy for steroid treatment. *Pancreas* 2005;30:31-9.
 12. Kamisawa T, Shimosegawa T, Okazaki K, et al. Standard steroid treatment for autoimmune pancreatitis. *Gut* 2009;58:1504-7.
 13. Kawa S, Hamano H, Ozaki Y, et al. Long-term follow-up of autoimmune pancreatitis: characteristics of chronic disease and recurrence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:S18-22.
 14. Takuma K, Kamisawa T, Tabata T, Inaba Y, Egawa N, Igarashi Y. Short-term and long-term outcomes of autoimmune pancreatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23:146-52.
- Ichijo T, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Ota M, Kawa S, Nakanuma Y, Tanaka E. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol*. 2011;46 Suppl 1:48-55.
- 2) Momose M, Kadoya M, Yano K, Miyasaka T, Fujinaga Y, Matsushita T, Yanagisawa S, Hamano H, Kawa S. Semiquantitative measurement of pulmonary hilar gallium-67 uptake using single photon emission computed tomography/computed tomography for the diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Jpn J Radiol*. 2010;28(10):733-9.
 - 3) Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L, Kamisawa T, Kawa S, Mino-Kenudson M, Kim MH, Klöppel G, Lerch MM, Löhner M, Notohara K, Okazaki K, Schneider A, Zhang L. International Consensus Diagnostic Criteria for Autoimmune Pancreatitis: Guidelines of the International Association of Pancreatology. *Pancreas*. 2011 Apr;40(3):352-358.
 - 4) Kawa S, Sugai S. History of Autoimmune Pancreatitis and Mikulicz' s Disease. *Current Immunology Reviews* 2011;7:137-143
 - 5) Kawa S, Fujinaga Y, Ota M, Hamano H, Bahram S. Autoimmune Pancreatitis and Diagnostic Criteria. *Current Immunology Reviews* 2011 ;7:144-161
 - 6) Fujinaga Y, Kadoya M, Hamano H, Kawa S, Momose M, Kawakami S, Watanabe T, Sugiyama Y , Uehara T. Radiologic Findings of IgG4-Related Disease. *Current Immunology Reviews* 2011;7:186-203
 - 7) Watanabe T, Fujinaga Y, Kawakami S, Hatta T, Hamano H, Kawa S, Kadoya M. Infraorbital nerve swelling associated with autoimmune pancreatitis. *Jpn J Radiol*. 2011 ;29:194-201.
 - 8) Tsushima K, Yokoyama T, **Kawa S**, Hamano H, Tanabe T, Koizumi T, Honda T, Kawakami S, Kubo K. Elevated IgG4 levels in patients demonstrating sarcoidosis-like radiologic findings. *Medicine (Baltimore)*.

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Umemura T, Zen Y, Hamano H, Joshita S,

2011 ;90:194-200.

- 9) Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Sumida T, Mimori T, Tanaka Y, Tsubota K, Yoshino T, **Kawa S**, Suzuki R, Takegami T, Tomosugi N, Kurose N, Ishigaki Y, Azumi A, Kojima M, Nakamura S, Inoue D; The Research Program for Intractable Disease by Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW) Japan G4 team. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. *Mod Rheumatol*. 2011 Sep 1. [Epub ahead of print]
 - 10) Ota M, Ito T, Umemura T, Katsuyama Y, Yoshizawa K, Hamano H, Kawa S. Polymorphism in the KCNA3 gene is associated with susceptibility to autoimmune pancreatitis in the Japanese population. *Dis Markers*. 2011;31:223-9.
 - 11) Yamamoto H, Suzuki T, Yasuo M, Kobayashi O, Tsushima K, Ito M, Urushihata K, Yamazaki Y, Hanaoka M, Koizumi T, Uehara T, Kawakami S, Hamano H, Kawa S, Kubo K. IgG4-Related Pleural Disease Diagnosed by a Re-Evaluation of Chronic Bilateral Pleuritis in a Patient Who Experienced Occasional Acute Left Bacterial Pleuritis. *Intern Med* 50: 893-897, 2011
 - 12) Maruyama M, Arakura N, Ozaki Y, Watanabe T, Ito T, Yoneda S, Maruyama M, Muraki T, Hamano H, Matsumoto A, Kawa S. Risk Factors for Pancreatic Stone Formation in Autoimmune Pancreatitis over a Long-term Course. *J Gastroenterol* (in press)
 - 13) Zen Y, Bogdanos DP, Kawa S. Type 1 autoimmune pancreatitis. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. (in press)
2. 学会発表
- 1) 村木崇、浜野英明、川 茂幸、「IgG4 関連硬化性胆管炎診断における IgG4 値の多施設検討」公聴会 IgG4 関連胆管炎の診断基準、第 46 回日本胆道学会学術集会、(宮崎) 2011. 9. 17
 - 2) 渡邊貴之、伊藤哲也、川 茂幸 「IgG4 関連疾患における甲状腺機能低下症の検討」- シンポジウム IgG4 関連疾患の概念と診断、第 53 回日本消化器病学会大会、(福岡)、2011. 9. 17
 - 3) 伊藤哲也、渡邊貴之、丸山真弘、米田傑、丸山雅史、児玉亮、尾崎弥生、村木崇、浜野英明、新倉則和、川茂幸、「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的解析」- パネルディスカッション 1 膵疾患の遺伝的探る、第 42 回日本膵臓学会大会、(弘前)、2011. 7. 30
 - 4) 伊藤哲也、渡邊貴之、丸山真弘、米田傑、丸山雅史、児玉亮、高山真理、村木崇、尾崎弥生、浜野英明、新倉則和、川茂幸、自己免疫性膵炎患者における抗 *H. pylori* IgG 値と IgG4 値の検討、第 97 回消化器病学会総会、(東京)、2011. 5. 15
 - 5) Kawa S, IgG4-related disease: a new disease group explaining Morbus Ormond, pancreatitis and SSA- or SSB-negative sialoadenitis. - Clinical Science Session, Too much immunoglobulin-diseases relevant for the rheumatologists. *EULAR2011* 2011. May 25th. London
 - 6) Kawa S, Ito T, Maruyama M, Watanabe T, Ozaki Y, Maruyama M, Yoneda K, Kodama R, Muraki T, Hamano H, Arakura N. How frequently does AIP relapse and how can it be prevented? Japanese experience. 4th AOPA & KPBA. Jeju, Korea. 2011. September 2nd.
 - 7) Kawa S. The utility of serum IgG4 concentrations as a biomarker. The First International Conference On IgG4-Related Disease (IgG4-RD). Boston, Massachusetts, USA. 2011. October 6th
 - 8) Kawa S Symposium 3 : Approach for Pathogenesis Humoral Immunity. 1) IgG4. Pancreas Research Forum (IPRF) 2011 OSAKA Japan. 2011. November 26th
 - 9) Ito T, Maruyama M, Watanabe T, Maruyama M, Yoneda S, Kodama R, Ozaki Y, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Kawa S, Clinical Features of IgG4 Negative Autoimmune Pancreatitis. 4th AOPA & KPBA. Jeju, Korea. 2011. September 3rd.
 - 10) Watanabe T, Maruyama M, Ito T, Fujinaga Y, Maruyama M, Yoneda S, Ozaki Y, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Kawa S. Thyroiditis: an IgG4-related disease. 4th AOPA & KPBA. Jeju, Korea. 2011. September 3rd.
 - 11) Maruyama M, Ozaki Y, Arakura N, Watanabe T, Ito T, Yoneda S, Maruyama M, Muraki T, Hamano H, Kawa S. Mechanism of Pancreatic Stone Formation in Patients with Autoimmune Pancreatitis. 4th AOPA & KPBA. Jeju, Korea. 2011. September 3rd.
 - 12) Ito T, Maruyama M, Watanabe T, Maruyama M, Yoneda S, Kodama R, Ozaki Y, Muraki T,

- Hamano H, Arakura N, Kawa S, Frequency and Prevention of Autoimmune Pancreatitis Relapse in a Japanese Population. Pancreas Research Forum (IPRF) 2011 OSAKA Japan. 2011. November 26th
- 13) Watanabe T, Maruyama M, Ito T, Fujinaga Y, Maruyama M, Yoneda S, Ozaki Y, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Kawa S. The Mechanism of Lower Bile Duct Stricture seen in IgG4-related Sclerosing Cholangitis. Pancreas Research Forum (IPRF) 2011 OSAKA Japan. 2011. November 26th
- 14) Maruyama M, Ozaki Y, Arakura N, Watanabe T, Ito T, Yoneda S, Maruyama M, Muraki T, Hamano H, Kawa S. Clinical Characteristics of Cases with Autoimmune Pancreatitis Showing Steroid Non-responsive Ductal Narrowing. Pancreas Research Forum (IPRF) 2011 OSAKA Japan. 2011. November 26th
- 15) Kubo K, Yamamoto H, Ito M, Hanaoka M, Yasuo M, Koizumi T, Honda T, Kawakami S, Kawa S. Clinical features of airway involvement in IgG4-related lung disease; Analysis of 6 cases. Chest 2011. Honolulu, Hawaii. 2011, Oct. 22-26

- 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
- 1) その他 該当なし

表1. 再燃とステロイド治療

	1回目	2回目	3回目	計
観察例	2	0	0	2 (4%)
導入	0	0	0	0
減量	0	0	1	1 (2%)
維持	17 (2.0–7.5 mg)	12 (2.5–10 mg)	2 (2.5–10 mg)	41(72%)
中止	9	2	2	13(23%)

表2. 再燃予測マーカー

	再燃群 ($n = 28$) median (0.25–0.75)	非再燃群 ($n = 56$) median (0.25–0.75)	P
IgG	2286(1904–3226)	2004 (1565–2750)	0.076
IgG4	640 (446–965)	508 (163–1001)	0.130
IC	8.10 (4.8–15.1)	5.65 (3.6–9.5)	0.093
sIL2R	983 (771–1228)	755 (525–1238)	0.136
C3	102 (77–124)	99 (73–122)	0.524
C4	23 (17–28)	22 (14–29)	0.379
IgE	317 (85–950)	192 (41–485)	0.247

Mann–Whitney U test

表3. 再燃と腓石形成

腓石	再燃群 <i>n</i> = 28	非再燃群 <i>n</i> = 56	<i>P</i>
診断時	4	13	0.501
経過中出现	14	13	0.013
新規出現	13	8	0.003
増大例	1	5	0.650
計	17	21	0.044

Chi-square test

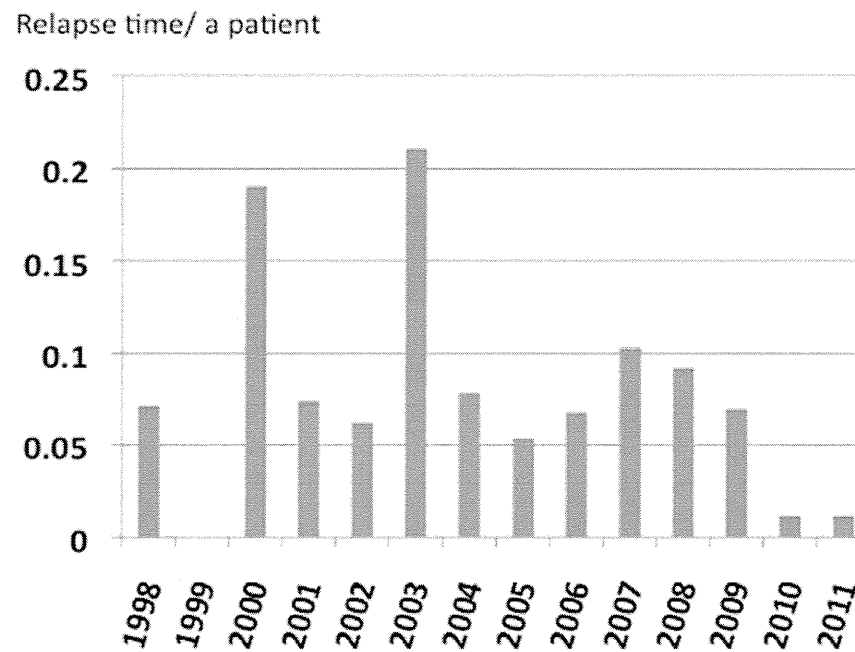


図1. 再燃の経時的変化

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
平成 23 年度分担研究報告書

IgG4 関連疾患におけるバイオマーカー探索

研究分担者	友杉 直久	金沢医科大学	教授
研究分担者	竹上 勉	金沢医科大学	教授
研究協力者	石垣 靖人	金沢医科大学	准教授

研究要旨： IgG4 関連疾患における病態の機構解明を目指し、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。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、診断確定に将来的には利用可能であると共に、これらの発現変動が疾患発症に関連することが予想された。今後は他の手法との統合解析も取り入れて情報量を増やし、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予定である。

共同研究者

河南崇典、高田尊信、中島章夫、岩男 悠、
正木康史、中村拓路、梅原久範

所属

金沢医科大学

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) を利用した。

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も配慮したうえで解析を行った。

A. 研究目的

参考文献参照でも示されているように、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。本研究では IgG4 関連疾患の患者における発症や病態の機構解明を目的とし、また疾患マーカーの探索を目指して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、

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そうな遺伝子マーカー群を複数同定できた。

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. [Ishigaki Y, Nakamura Y, Oikawa Y, Yano Y, Kuwabata](#)

- S, Nakagawa H, Tomosugi N, Takegami T: Observation of live ticks (*Haemaphysalis flava*) by scanning electron microscopy under high vacuum pressure. *PLoS ONE* (in press)
2. Yanaga K, Mekawa N, Shimomura N, [Ishigaki Y](#), Nakamura Y, Takegami T, Tomosugi N, Miyazawa S, Kuwabata S: Use of ionic liquid in fungal taxonomic study of ultrastructure of basidiospore ornamentation. *Mycological Progress*. (in press)
3. Ota N, Takano F, Muroga S, Kawabata T, [Ishigaki Y](#), Yahagi N, Ohta T: Garlic extract and its selected organosulphur constituents promote ileal immune responses ex vivo. *J Funct Foods* (in press)
4. Shimasaki T, [Ishigaki Y](#), Nakamura Y, Takata T, Nakaya N, Nakajima H, Sato I, Xia Z, Kitano A, Kawakami K, Tanaka T, Takegami T, Tomosugi N, Minamoto T, Motoo Y: Glycogen synthase kinase 3 β inhibition sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine. *J Gastroenterol.* (in press)
5. Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Sumida T, Mimori T, Tanaka Y, Tsubota K, Yoshino T, Kawa S, Suzuki R, Takegami T, Tomosugi N, Kurose N, [Ishigaki Y](#), Azumi A, Kojima M, Nakamura S, Inoue D: A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. *Mod Rheumatol.* 22:1-14 (2012)
6. [Ishigaki Y](#), Nakamura Y, Takehara T, Kurihara T, Koga H, Takegami T, Nakagawa H, Nemoto N, Tomosugi N, Kuwabata S, Miyazawa S: Comparative study of hydrophilic and hydrophobic ionic liquids for observing cultured human cells by scanning electron microscopy. *Microsc Res Tech* 74: 110-1108(2011)
7. Motoo Y, Shimasaki T, [Ishigaki Y](#), Nakajima H, Kawakami K, Minamoto T: Metabolic disorder, inflammation, and deregulated molecular pathways converging in pancreatic cancer development: implications for new therapeutic strategies. *Cancers* 3: 446-460 (2011)
8. Ikeda T, Li S, Tsuruoka N, [Ishigaki Y](#), Yoshitomi Y, Yoshitake Y, Yonekura H: Hypoxia down-regulates sFlt-1 (sVEGFR-1) expression in human microvascular endothelial cells by a mechanism involving mRNA alternative processing. *Biochem. J.* 436:399-407 (2011)
9. 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* 91:992-1006 (2011)
10. 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* 6:e16880(2011)
11. 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* 17:159-169 (2011)
12. [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* 74: 1024-1031 (2011)
13. 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* 3:40-45(2011)
14. 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.* 34:354-359 (2011)
 15. 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* 74:415-420(2011)
 16. 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)
 17. Guo J, Higashi K, Ueda Y, Ishigaki Y, Sakuma T, Oguchi M, Takegami T, Ohta Y, Zhang L, Xu K, Nishida H, Tonami H: VEGF-A and its isoform VEGF₁₂₁ mRNA expression measured by quantitative real-time PCR: correlation with F-18 FDG uptake and aggressiveness of lung adenocarcinoma: preliminary study. *Ann Nuc Med* 25:29-36 (2011)

2. 学会発表

1. 竹上勉、蔡開琳、張珺、石垣靖人、村上学: Biological significance of interaction of HCV protein NS3 and host proteins, 第34回日本分子生物学会、横浜、2011年12月
2. 石垣靖人、中村有香、島崎猛夫、元雄良治、中川秀昭、宮澤七郎、桑畑進、友杉直久、竹上勉: イオン液体を用いた走査型電子顕微鏡観察法の確立と EMT を誘導した細胞、第34回分子生物学会、横浜、2011年12月
3. Y.Yoshitake、T.Ikeda、Y.Yoshitomi、Y.Ishigaki、H.Yonekura: Increased expression of Epac2 during in vitro tube formation in human microvascular endothelial cells, The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan、横浜、2011年12月
4. Y.Tachi、T.Okuda、N.Kawahara、N.Kato、Y.Ishigaki、T.Hato、E.Hatano、T.Matsumoto: Does Hyaluronidase-4 digest chondroitin sulfate proteoglycans in a rat spinal cord hemisection model?, Neuroscience 2011、Washington、2011年11月
5. 島崎猛夫、石垣靖人、高田尊信、中村有香、川上和之、舟木洋、上田順彦、小坂健夫、友杉直久、源利成、元雄良治: 膵癌細胞における gemcitabine 誘導性 EMT に関連する新規分子の同定、第22回日本消化器癌発生学会、佐賀、2011年11月
6. N.Nakaya、Y.Ishigaki、Q.Bian、S.Ma、T.Shimasaki、H.Nakajima、Y.Motoo: Molecular mechanisms of TP53INP1 in the gemcitabine sensitivity、The International Pancreatic Research Forum 2011、大阪、2011年11月
7. 石垣靖人、中村有香、中川秀昭、友杉直久、竹上勉: 未知な細胞構造体、Processing body の構造と機能、第12回 医学生物学電子顕微鏡シンポジウム、浜松、2011年11月
8. 舘慶之、奥田鉄人、川原範夫、加藤伸郎、石垣靖人、波多野栄重、松本忠美: ラット脊髄切断モデルにおける Hyaluronidase-4 の発現について、第26回日本整形外科学会基礎学術集会、前橋、2011年10月
9. 石垣靖人、及川陽三郎、中村有香、中川秀昭、友杉直久、竹上勉: 走査型電子顕微鏡によるダニ (*Haemaphysalis flava*) の観察、第66回日本衛生動物学会西日本支部大会第6回日本衛生動物学会西日本支部例会、金沢、2011年10月
10. 島崎猛夫、石垣靖人、高田尊信、中村有香、川上和之、竹上勉、友杉直久、源利成、元雄良治: 膵癌の新規治療標的としての glycogen synthase kinase(GSK)3β: 化学療法戦略の新展開、第70回日本癌学会学術総会、名古屋、2011年10月
11. T.Takegami、M.Murakami、M.Nukuzuma、Y.Ishigaki: Physiological function of Japanese encephalitis virus protein NS4a、XV International Congress of Virology、札幌、2011年9月
12. 高田尊信、河南崇典、神澤輝美、岩男悠、正木康史、石垣靖人、中村拓路、中島章夫、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、友杉直久: IgG4 関連疾患患者血清のプロテオミクス解析、第36回日本医用マスペクトル学会年会、大阪、2011年9月
13. 池田崇之、吉富泰央、石垣靖人、吉竹佳の、米倉秀人: 低酸素刺激による微小血管内皮細胞の可溶性 VEGF 受容体 (可溶性 Flt-1) 産生の抑制、RNA フロンティアミーティング 2011、大府、2011年8月
14. 高田尊信、河南崇典、岩男悠、中島章夫、正木康史、石垣靖人、竹上勉、梅原久範、友杉直久: IgG4 関連疾患患者血清のプロテオミクス解析、IgG4 5th ミーティング、金沢、2011年8月
15. 東海林博樹、島村英理子、島田ひろき、八田稔久、石垣靖人: 胎盤栄養膜由来細胞株におけるガレクチンファミリーの発現、金沢医科大学医学会 第47回学術集会、内灘、2011年7月
16. 東海林博樹、島村英理子、石垣靖人、西望、中村隆範、島田ひろき、八田稔久: ラット胎盤由来細胞株 Rcho-1 におけるガレクチンファミリーの発現、第51回日本先天異常学会学術集会、東京、2011年7月
17. 池田崇之、吉富泰央、石垣靖人、吉竹佳の、米倉秀人: 低酸素刺激による微小血管内皮細胞の可溶性 VEGF 受容体 (可溶性 Flt-1) 産生の抑制、第47回医科大医学会学術集会、内灘、2011年7月
18. (中井隆人)、石垣靖人、辰野貴則、高野文英、太田富久、西浦英樹: コウヤマエキスの Nrf2 活性化による抗老化への可能性、第64回日本酸化ストレス学会学術集会、北海道、2011年7月
19. 島崎猛夫、石垣靖人、高田尊信、中村有香、川上和彦、上田順彦、小坂健夫、源利成、友杉直久、元雄良治: ゲムシタピン単剤療法の壁への挑戦: 新規標的分子の同定と膵癌化学療法への展望、第42回日本膵臓学会大会、弘前、2011年7月
20. 高田尊信、島崎猛夫、石垣靖人、元雄良治、友杉直久: 膵癌培養細胞 PANC-1 に対する塩酸ゲムシタピンの作用についてのプロテオミクス解析、金沢医科大学医学会第47回学術集会、内灘、2011年7月
21. 高田尊信、河南崇典、岩男悠、石垣靖人、正木康史、中村拓路、中島章夫、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、友杉直久: IgG4 関連疾患患者血清のプロテオミクス解析、日本プロテオーム学会 2011 年会、新潟、2011年7月
22. 舘慶之、奥田鉄人、川原範夫、波多野栄重、松本忠美、加藤伸郎、石垣靖人: ラット脊髄切断モデルにおける Hyaluronidase-4 の発現について、第26回日本脊髄外科学会、沼津、2011年6月
23. Y.Yoshitake、H.Osada、T.Ikeda、Y.Yoshitomi、Y.Ishigaki、H.sasaki、H.Yonekura: Ultraviolet B-induced expression of amphiregulin and growth differentiation factor 15 in human lens epithelial cells、36th FEBS Congress、Torino、2011年6月
24. T.Ikeda、Y.Yoshitomi、Y.Ishigaki、Y.Yoshitake、

- H. Yonekura : Hypoxia down-regulates sFlt-1 (sVEGFR-1) expression in human microvascular endothelial cells by a mechanism involving mRNA alternative processing, 36th FEBS Congress, Torino, 2011年6月
25. 高田尊信、河南崇典、岩男悠、石垣靖人、正木康史、中村拓路、中島章夫、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、友杉直久 : IgG4 関連疾患におけるプロテオミクスの解析、第 11 回日本蛋白質科学会年会、大阪、2011年6月
26. T. Ikeda、Y. Yoshitomi、Y. Ishigaki、Y. Yoshitake、H. Yonekura : Soluble VEGFR-1 production is down-regulated under hypoxia in human microvascular endothelial cells by a mechanism involving alternative mRNA 3' -end processing, The Molecular Biology Society of Japan The 11th Spring Symposium International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa、金沢、2011年5月
27. 池田崇之、吉富泰央、石垣靖人、吉竹佳の、米倉秀人 : 低酸素刺激による微小血管内皮細胞の可溶性 VEGF 受容体 (可溶性 Flt-1) 産生の抑制、日本生化学会北陸支部第 29 回大会、金沢、2011年5月
28. (彌永このみ)、前川二太郎、霜村典宏、中村有香、石垣靖人、竹上勉、友杉直久 : 担子菌類におけるイオン液体を用いた観察法、医学生物学電子顕微鏡技術学会第 27 回学術講演会および総会、徳島、2011年5月
29. 石垣靖人 : mRNA の分子構造可視化と結合タンパク質の機能解析、医学生物学電子顕微鏡技術学会 第 27 回学術講演会および総会、徳島、2011年5月
30. T. Okuda、Y. Tachi、N. Kawahara、N. Kato、Y. Ishigaki、E. Hatano、Y. Yasuda、T. Matsumoto : Hyaluronidase-4 expression in a rat spinal cord hemisection model、Second Annual Meeting of Cervical Spine Research Society Asia Pacific Section (CSRS-AP 2011)、Busan、2011年4月
31. 小林誠、長内和弘、石垣靖人、周敏、北楯祥子、四宮祥平、山谷淳代、齋藤雅俊、小島好司、藤本由貴、中川研、及川卓、土原一真、井口晶晴、黄正寿、榎博久 : LEC ラット肺胞 II 型上皮細胞における Rab38 遺伝子導入による発現遺伝子の検討、第 51 回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2011年4月
32. 石垣靖人、飯田香緒里、西村訓弘 : medU-net ワーキンググループ活動報告 (人材ワーキンググループ)、medU-net 第一回シンポジウム、東京、2011年3月

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

石垣靖人、友杉直久、正木康史、梅原久範 : 特願 2010-194326 「IgG4 関連疾患診断用マーカー及びその利用」(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
平成 23 年度分担研究報告書

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。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 細胞の活性化は、BCR と共刺激分子、及び、TLR を介するシグナルの共存により最大限に誘導され、その際、BCR-Syk を介する刺激が TLR、TRAF-6 を誘導して B 細胞の増殖、サイトカイン産生、抗体産生を齎すことを認めた。一方、IgG4 関連疾患患者 B 細胞では、CD80 発現と Syk リン酸化が無刺激下で亢進して病態形成に関与すると共に、またメモリー B 細胞、形質細胞が増加した。しかし、ステロイド開始により形質細胞は消失したが、ステロイド治療 1 年後まで、CD80 発現と Syk リン酸化が持続し、活性化したメモリー B 細胞は残存したままの状態であり、ステロイド治療だけでは B 細胞の制御には不十分である可能性が示唆された。また、Syk 阻害薬による B 細胞活性化阻害を介した治療への臨床応用が期待された。

共同研究者

山岡邦宏¹、平田信太郎²、岩田慈³

所属

産業医科大学医学部第一内科学 講師¹

同 講師²、同 助教³

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られる。本研究に於いては、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、SLE さらには、IgG4 関連疾患の病態形成過程への関与を明らかにすることを目的とした。

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、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。患者の個人情報や所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、TNF- α 、IL-6、IL-10 の産生、抗体産生能を誘導した。②Syk 阻害剤は、B 細胞の増殖、共刺激分子発現、サイトカイン産生、抗体産生能を濃度依存性に抑制した。③B 細胞に於いて BCR 架橋、CD40、TLR9 刺激の共存は、TLR9 の発現、TRAF-6 の発現、NF κ B のリン酸化を強く誘導し、これらは Syk 阻害薬により完全に抑制された。④SLE 患者末梢血 CD19+細胞における Syk のリン酸化は、健常人に比し有意に亢進し、SLE の疾患活動性指標 SLEDAI と有意な相関を示した。⑤SLE 患者 CD19+細胞における TRAF6 発現は、リン酸化 Syk の発現、及び、疾患活動性と有意に相関した。⑥IgG4 関連疾患の 1 症例に対し、ステロイド投与前後にリンパ球の解析を行った。投与前 CD19+B 細胞上の CD80、p-Syk は、健常人に比し高発現しており、またメモリーB 細胞、形質細胞の増加を認めた。しかし、ステロイド開始により形質細胞(short-lived plasma)は消失したが、ステロイド治療 1 年後まで、CD80、p-Syk などは発現が持続し、活性化したメモリーB 細胞は残存したままの状態であった。また、治療前は T 細胞上の ICOS が高発現したが、ステロイドにて 1 ヶ月後速やかに低下し、低下が維持された。

D. 考察

ヒトメモリーB 細胞では、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 と共刺激分子に加えて TLR を介するシグナルの共存により、活性化が最大限に誘導されることが示された。

また、SLE 患者 B 細胞では、BCR の Syk を介するシグナルが TRAF-6 の発現を誘導し、効率的な CD40、TLR9 のシグナルを促すことで、B 細胞の分化、活性化を齎し、SLE の病態形成に

において重要な役割を担うことが示唆された。SLE などの自己免疫疾患の発症、及び、増悪の際には、ss-DNA、ds-DNA、ウイルス蛋白、細菌の膜蛋白などによる刺激がトリガーとなるが、これらの結果は BCR-Syk の刺激が TLR を誘導して、これらのトリガーの受容機構を明らかにした。さらに、Syk 阻害により 3 者のシグナルを遮断することから、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して SLE への治療応用が示唆された。

さらに、IgG4 関連疾患の 1 症例に対し行ったリンパ球の表面抗原の解析では、治療前の CD19+B 細胞上の CD80、p-Syk は、健常人に比し高発現しており、またメモリーB 細胞、形質細胞の増加を認めた。しかし、ステロイド開始により形質細胞(short-lived plasma)は消失したが、ステロイド治療 1 年後まで、CD80、p-Syk などは発現が持続し、活性化したメモリーB 細胞は残存したままの状態であり、ステロイド治療だけでは B 細胞の制御には不十分である可能性が示唆された。

E. 結論

B 細胞の活性化は、BCR と共刺激分子、及び、TLR を介するシグナルの共存により最大限に誘導された。その際、BCR-Syk を介する刺激が TLR、TRAF-6 を誘導して B 細胞の増殖、サイトカイン産生、抗体産生を齎した。IgG4 関連疾患患者 B 細胞では、CD80 発現と Syk リン酸化が無刺激下で亢進して病態形成に関与すると共に、Syk 阻害薬による B 細胞活性化阻害を介した治療への臨床応用が期待された。

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, Maeshima Y, Yamaoka K. In vitro and in vivo analysis of a Jak inhibitor in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* (in press)
2. Tanaka Y, Harigai M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, et al. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody, injected subcutaneously every 4 weeks in Japanese patients with active rheumatoid arthritis in combination with methotrexate: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-FORTH study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis* (in press)
3. Tak PP, Mease PJ, Genovese MC, Kremer J, Haraoui B, Tanaka Y, Bingham III CO, et al. Efficacy and safety of ocrelizumab in patients with active rheumatoid arthritis with an inadequate response to at least one TNF inhibitor: results from the phase III SCRIPT trial. *Arthritis Rheum* (in press)
4. Maeshima K, Yamaoka K, Kubo S, Nakano K, Iwata S, Tanaka Y, et al. A JAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of IFN- γ and IL-17 production by human CD4⁺ T cells. *Arthritis Rheum* (in press)
5. Takeuchi T, Tanaka Y, Amano K, Hoshi D, Nawata M, Nagasawa H, et al. Clinical, radiographic, and functional effectiveness of tocilizumab for rheumatoid arthritis patients - REACTION 52-week study -. *Rheumatology* (in press)
6. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Tanaka Y, Ito K, et al. Postmarketing Surveillance of Tocilizumab for Rheumatoid Arthritis in Japan — Interim Analysis of 3,881 Patients. *Ann Rheum Dis* (in press)
7. Oshita K, Yamaoka K, Udagawa N, Fukuyo S, Sonomoto K, Tanaka Y. Human mesenchymal stem cells inhibit osteoclastogenesis through osteoprotegerin production. *Arthritis Rheum* (2011) 63, 1658-1667
8. Nakano K, Yamaoka K, Hanami K, Saito K, Sasaguri Y, Tanaka Y. Dopamine induces IL-6-dependent IL-17 production via D1-like receptor on CD4 naïve T-cells and a D1-like receptor antagonist SCH-23390 inhibits cartilage destruction in a human rheumatoid arthritis/SCID mouse chimera model. *J Immunol* (2011) 186, 3745-3752
9. Tanaka Y, Suzuki M, Nakamura H, Toyozumi S, Twillich S. Phase 2 study of tofacitinib (CP-690,550) combined with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate. *Arthritis Care Res* (2011) 63, 1150-1158
10. 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
11. 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

2. 学会発表

1. Tanaka Y. In vivo and in vitro analysis of a Jak

inhibitor in RA. Advances in Targeted Therapies 2011, Dubrovnik

2. Tanaka Y. Is biologic-free remission possible in patients with RA? Advances in Targeted Therapies 2011, Dubrovnik
3. Y. Tanaka, S. Hirata, M. Nawata, S. Kubo, K. Saito. Discontinuation of adalimumab after attaining remission in patients with rheumatoid arthritis. The Annual European Congress of Rheumatology 2011, London, England
4. Y. Tanaka, M. Harigai, T. Takeuchi, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, et al. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody administered subcutaneously every four weeks as monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate therapy: 4-week results of clinical and radiographic assessments. The Annual European Congress of Rheumatology 2010, London, England

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

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かった。それらを確認する目的で、多施設共同の前方視診断研究と治療研究を立ち上げ、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的臨床研究を行う。

- 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; 登録目標 100 例
- 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; 登録目標 46 例

(倫理面への配慮)

上記のいずれの試験も、患者自身への十分な説明の上、文書で同意の得られた症例のみ登録する。各施設の倫理委員会で承認を得て行われている。

C. 研究結果

上記の前方視的臨床研究につき、診断研究は当院を含め計 24 施設の承認を得て順調に登録され、2011 年 4 月 11 日に 103 例の登録にて試験登録終了とし、現在 CRF や病理標本など回収作業中である。また、治療研究は 17 施設の IRB 承認をえて、2011 年 1 月 13 日現在で 33 例の

登録を得ている。

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。

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; 診断基準は梅原班と岡崎班の合同ワーキンググループにて話し合いの結果、IgG4 関連疾患包括診断基準としてまとめられ、論文文化された。治療研究についても、登録が着実に進んでおり、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り、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

本疾患概念が生まれるまで、様々な既知の疾患として誤った診断や治療を受け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。

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 10 月に米国ボストンにて初の国際 IgG4 関連疾患会議が開催された。

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～新たな疾患概念～. 臨床血液 52(10)315-321 (1727-1733), 2011

2, 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

3, 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

4, 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)

5, 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

6, 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

7, 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

8, 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).

9, 正木康史、金原秀雄、濱野忠則、高見昭良、全陽、村上純、松井祥子、川野充弘. 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.

10, 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.

11, 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.

12, 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. 谷内江明宏監修、川茂幸・川野充弘編集. IgG4 モノグラフ. 石川県金沢市. 前田書店, 2010 年, pp41-47,

論文発表

2) 海外

1, Masaki Y. Dong L, Kurose N, Kitagawa K, Morikawa Y, Yamamoto M, Takahashi H, Shinomura Y, Imai K, Saeki T, Azumi A, Nakada S, Sugiyama E, Matsui S, Origuchi T, Nishiyama S, Nishimori I, Nojima T, Yamada K, Kawano M, Zen Y, Kaneko M, Miyazaki K, Tsubota K, Eguchi K, Tomoda K, Sawaki T, Kawanami T, Tanaka M, Fukushima T, Sugai S, Umehara H. 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, Notohara K, Kojima M, Takata K, Masaki Y, Yoshino T. 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 2010, 7:172-7
- 5, Saeki T, Nishi S, Imai N, Ito T, Yamazaki H, Kawano M, Yamamoto M, Takahashi H, Matsui S, Nakada S, Origuchi T, Hirabayashi A, Homma N, Tsubata Y, Takata T, Wada Y, Saito A, Fukase S, Ishioka K, Miyazaki K, Masaki Y, Umehara H, Sugai S, Narita I. 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, 51(1):13-20
- 7, Masaki Y, Iwao H, Nakajima A, Miki M, Sugai S, Umehara H. IgG4-related disease (IgG4+MOLPS)- diagnostic criteria and diagnostic problems. *Current Immunol Rev* 7(2):172-7, 2011
- 8, Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Sumida T, Mimori T, Tanaka Y, Tsubota K, Yoshino T, Kawa S, Suzuki R, Takegami T, Tomosugi N, Kurose N, Ishigaki Y, Azumi A, Kojima M, Nakamura S, Inoue D. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. The Research Program for Intractable Disease by Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW) Japan G4 team. *Mod Rheumatol*. 2011 Sep 1. [Epub ahead of print]
- 9, Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Yoshino T, Nakamura S, Kawa S, Hamano H, Kamisawa T, Shimosegawa T, Shimatsu A, Nakamura S, Ito T, Notohara K, Sumida T, Tanaka Y, Mimori T, Chiba T, Mishima M, Hibi T, Tsubouchi H, Inui K, Ohara H. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol*. 2012 Jan 5. [Epub ahead of print]
2. 学会発表 (国内)
- 1、正木康史, 岩男悠、中島章夫、菅井進、梅原久範. 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, 黒瀬望、北川和子、山本元久、高橋裕樹、川野充弘、佐伯敬子、松井祥子、安積淳、中田真司、折口智樹、西山進、西森功、坪田一男、江口勝美、住田孝之、菅井進、梅原久範. 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, 黒瀬望、岩男悠、中島章夫、山本元久、高橋裕樹、川野充弘、佐伯敬子、松井祥子、安積淳、西山進、全陽、住田孝之、小島勝、吉野 正、中村栄男、菅井進、梅原久範. 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、菅井進、梅原久範. 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、黒瀬望、山本元久、高橋裕樹、川野充弘、佐伯敬子、松井祥子、安積淳、西山進、住田孝之、菅井進、北川和子、梅原久範. 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、黒瀬望、山本元久、高橋裕樹、川野充弘、佐伯敬子、松井祥子、安積淳、西山進、全陽、住田孝之、小島勝、吉野正、中村栄男、菅井進、梅原久範. 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、岩男悠、中島章夫、三木美由貴、黒瀬望、河南崇典、梅原久範. シンポジウム”