

Chiba T, Mishima M, Hibi T, Tsubouchi H, Inui K, Ohara H: Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011.

*Mod Rheumatol.* 22(1):21-30, 2012.

## 2. 学会発表

1) 杞山和弘、川端大介、細野祐司、湯川尚一郎、吉藤元、大村浩一郎、藤井隆夫、三森経世. IgG4 関連疾患における血清 BAFF/BLyS (B 細胞活性化因子)とその臨床的意義の検討. 第 19 回日本シェーグレン症候群学会、千葉、(2010 年 9 月 10 日).

2) 杞山和弘、川端大介、細野祐司、湯川尚一郎、野島崇樹、大村浩一郎、藤井隆夫、三森経世. IgG4 関連疾患における血清 BAFF/APRIL とその臨床的意義の検討. 第 55 回日本リウマチ学会 (ワークショップ W80 「IgG4 と免疫疾患 3」)、神戸、2011 年 7 月 19 日.

## 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

図1 蛋白免疫沈降法を用いたIgG4サブクラス自己抗体スクリーニング

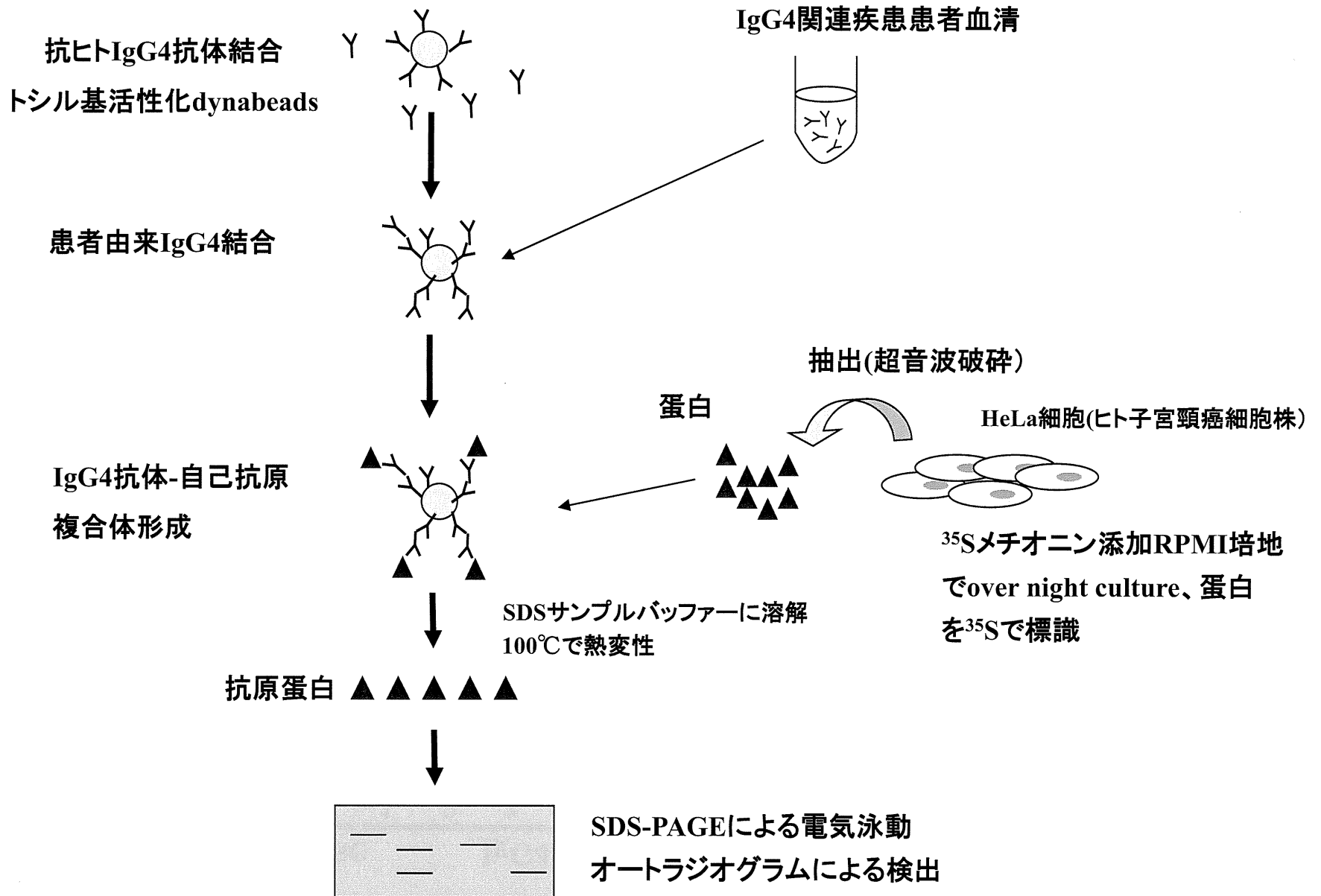
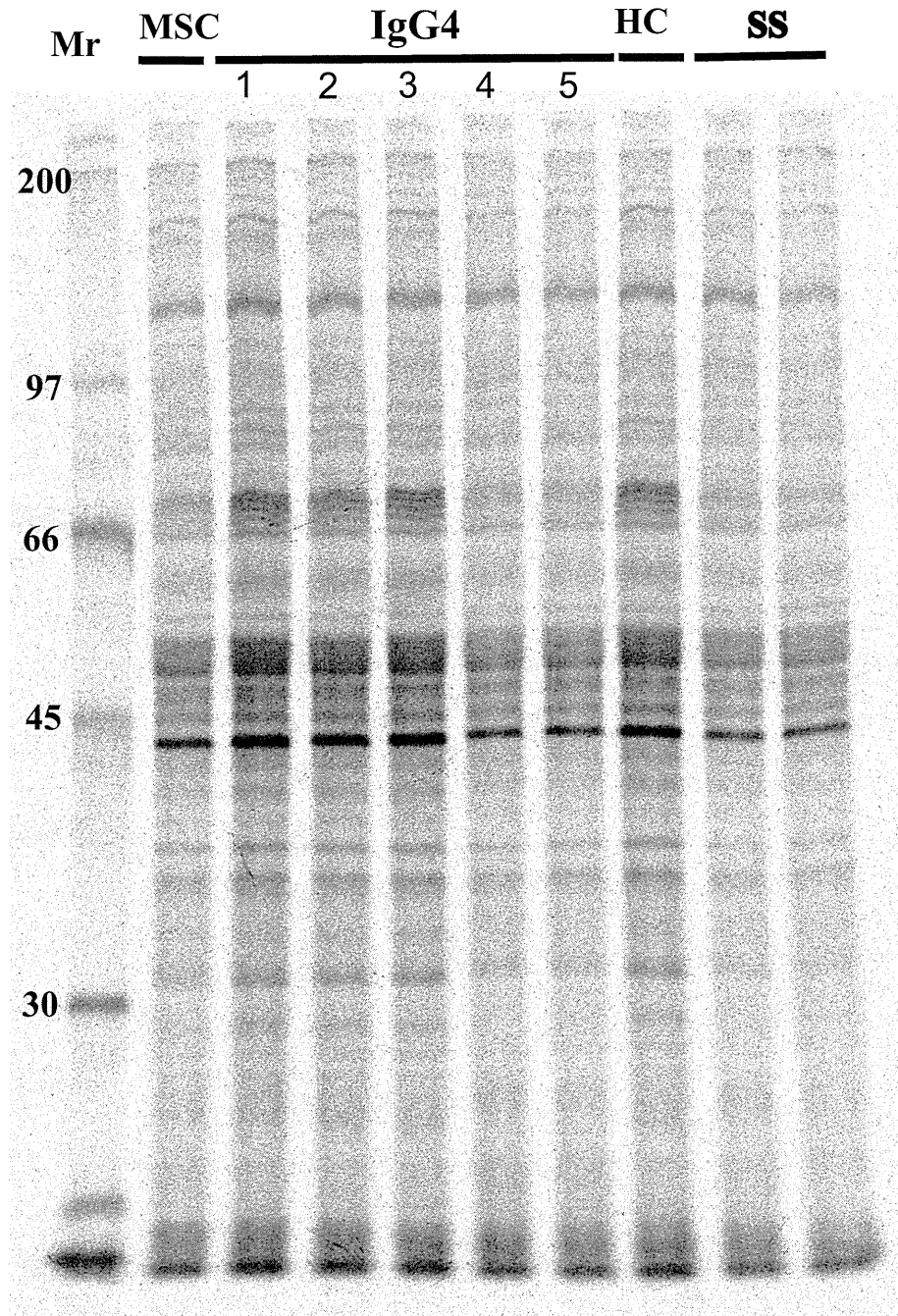


图2



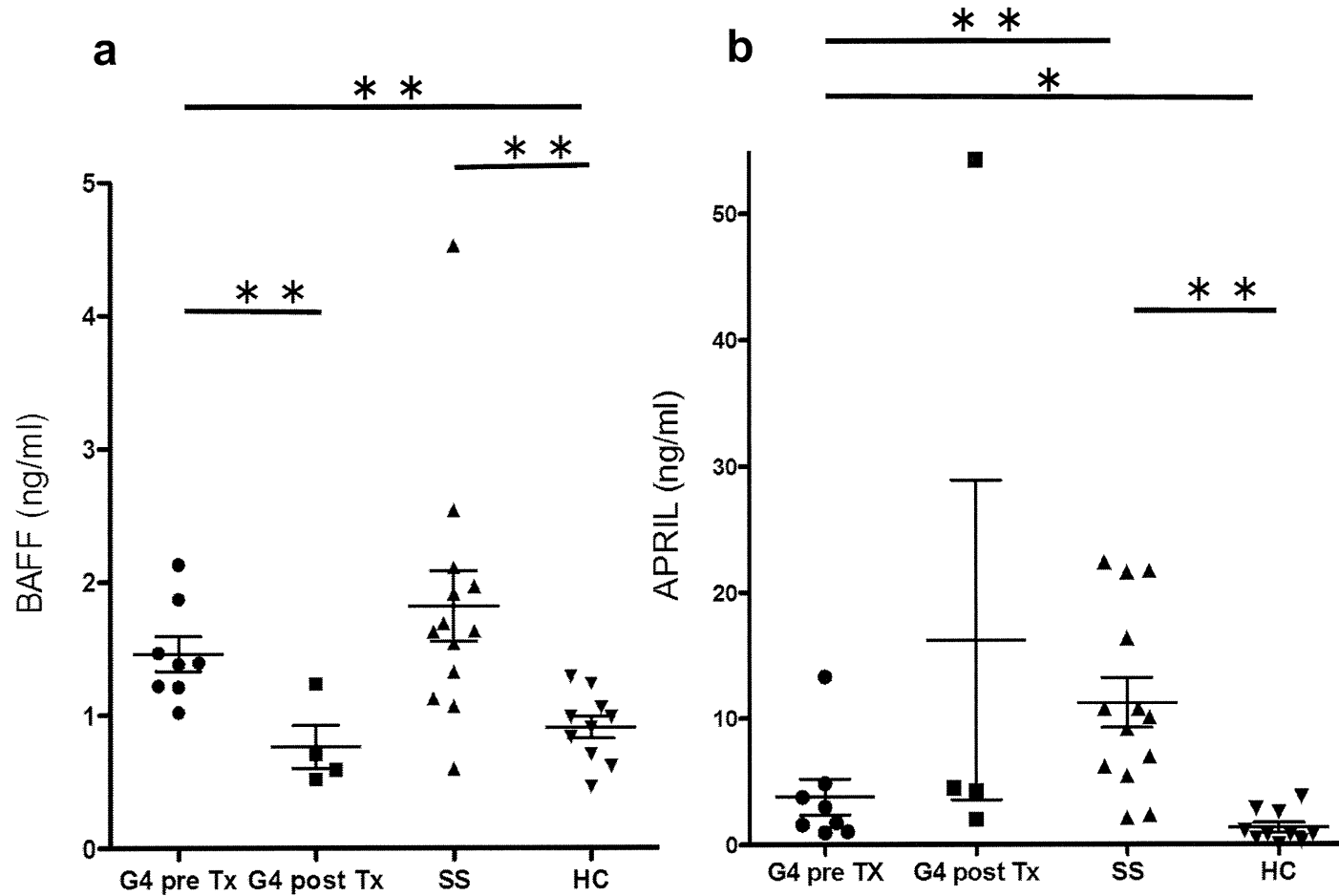
MSC; maxillary sinus carcinomas  
IgG4; IgG4-related disease  
HC; Healthy control  
SS; Sjogren syndrome

表1 IgG4関連疾患患者の臨床プロフィール

	Age/Sex	Serum IgG4 (mg/dl)	RF	ANA	Clinical manifestations	Biopsy / IgG4/IgG ratio
1	73/M	2890	<6	40	Lymph, Mikulicz, Prostatitis	Prostate / 0.60
2	76/M	2210	<6	40	Mikulicz, RPF	Submandibular gland / 0.40
3	79/M	1460	<6	160 (SS-A)	IN, IP, Kuttner, Lymph, RPF	Submandibular gland / 0.73
4	66/M	1090	30.3	40	AIP, IN, Kidney (pseudo tumor)	Kidney / 0.70
5	73/M	592	<6	320	IN, IP, Lymph, RPF, Sialadenitis (submandibular gland)	Submandibular gland / 0.43
6	62/F	736	52.0	<40	Sialoadenitis (parotid gland), Lymph	Parotid gland / 0.30 *
7	77/F	738	<6	<40	Mikulicz	n.d.
8	74/M	389	<6	<40	Retro-orbital tumor	Retro-orbital tumor/ 0.48
9	77/M	655	<6	80	RPF	n.d.
10	76/M	458	<6	<40	AIP, RPF	Retroperitoneal / 0.70
11	62/M	315	<6	40 (SS-A)	AIP, RPF	Pancreas / 0.43
12	79/M	309	n.d	<40	RPF	n.d.

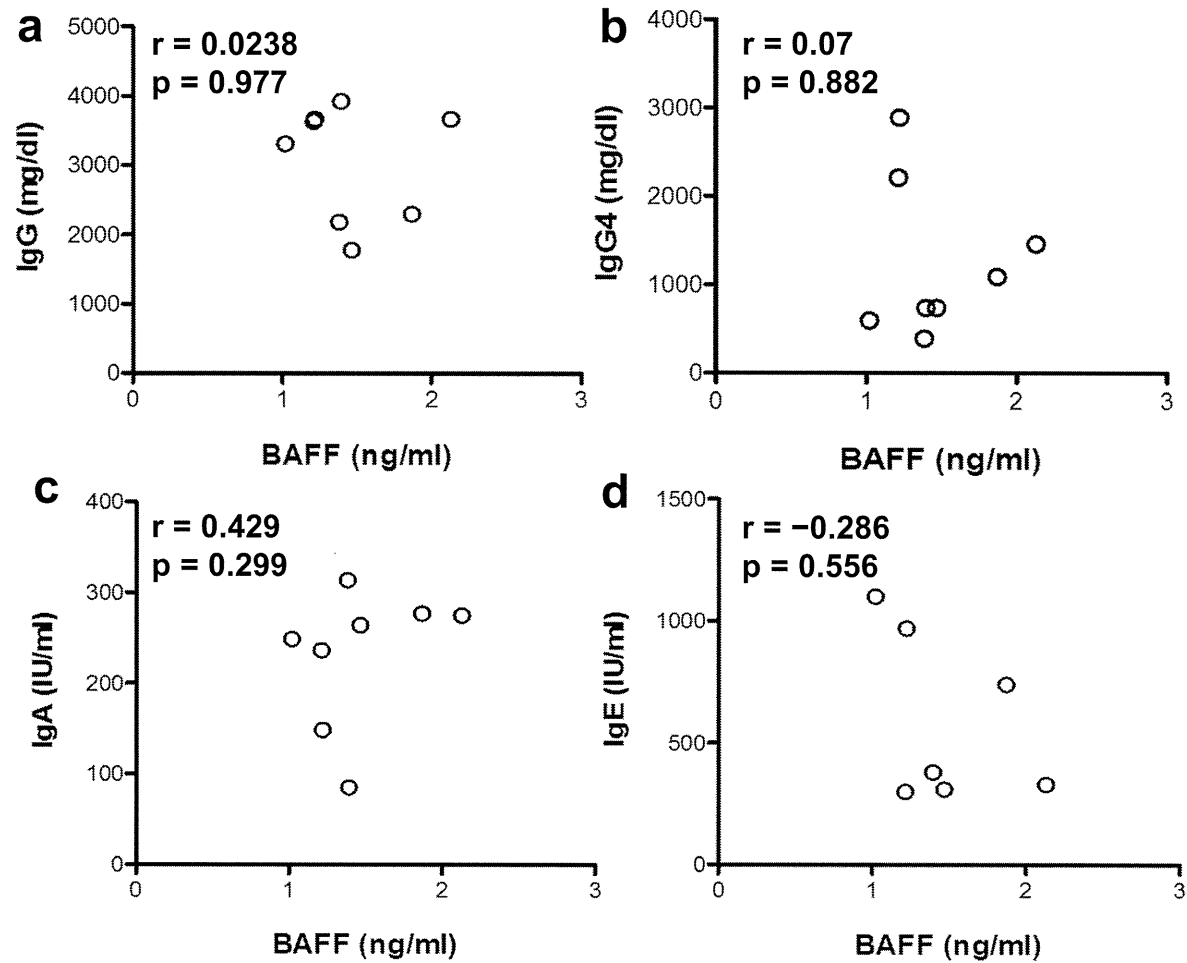
\*; IgG4陽性形質細胞 >100/HPF, RF; rheumatoid factor, ANA; anti-nuclear antibody, AIP; autoimmune pancreatitis, IN; interstitial nephritis, IP; interstitial pneumonia, Lymph; lymphadenopathy, RPF; retroperitoneal fibrosis, n.d.; not determined, SS-A; anti-SS-A antibody,

結果1 IgG4関連疾患、シェーグレン症候群、健常者における血清BAFF/APRIL値

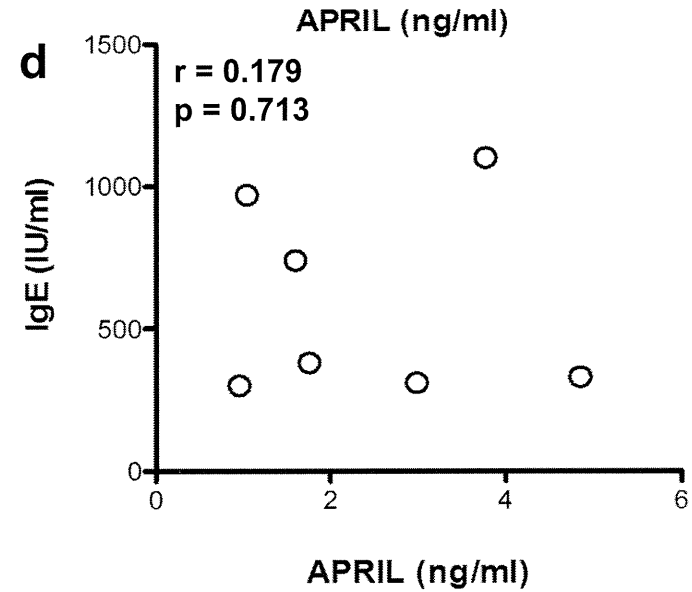
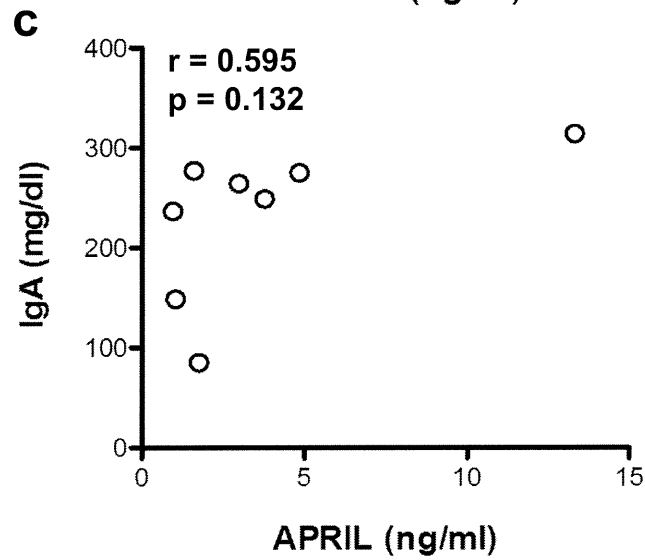
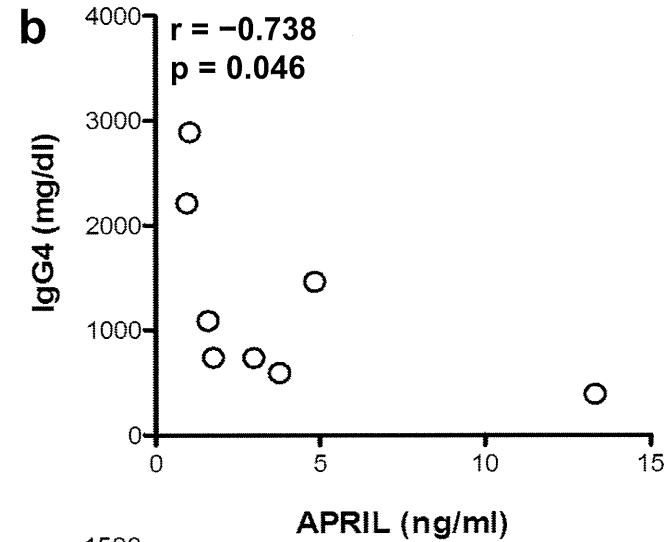
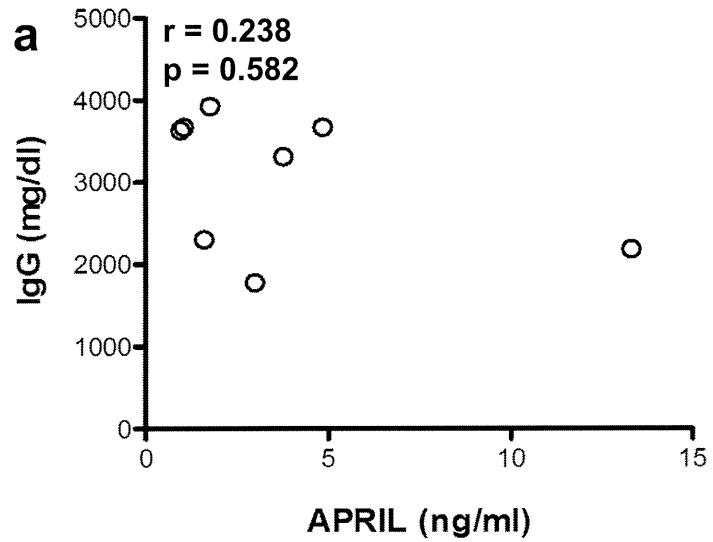


a. IgG4関連疾患患者における血清BAFF濃度. G4 pre Tx:ステロイド治療前患者. G4 post Tx:ステロイド治療後患者. SS: シェーグレン症候群患者: HC: 健常者. b. IgG4関連疾患患者における血清APRIL濃度. G4 pre Tx:ステロイド治療前患者. G4 post Tx:ステロイド治療後患者. SS: シェーグレン症候群患者: HC: 健常者. \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ .

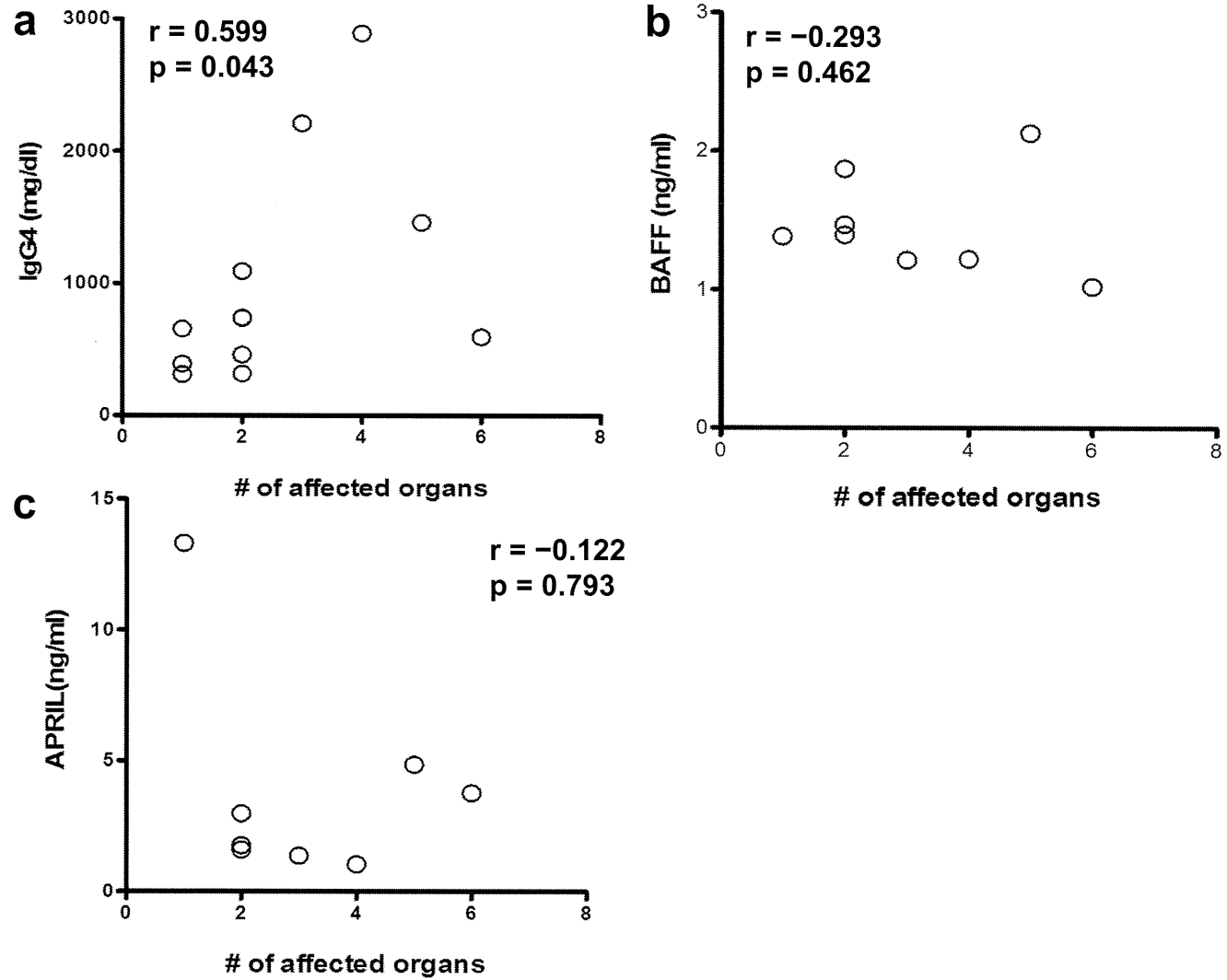
結果2 血清BAFFと血清IgG, IgG4, IgA, IgEとの相関 (治療前)



結果3 血清APRILと血清IgG,IgG4,IgA,IgEの相関(治療前)



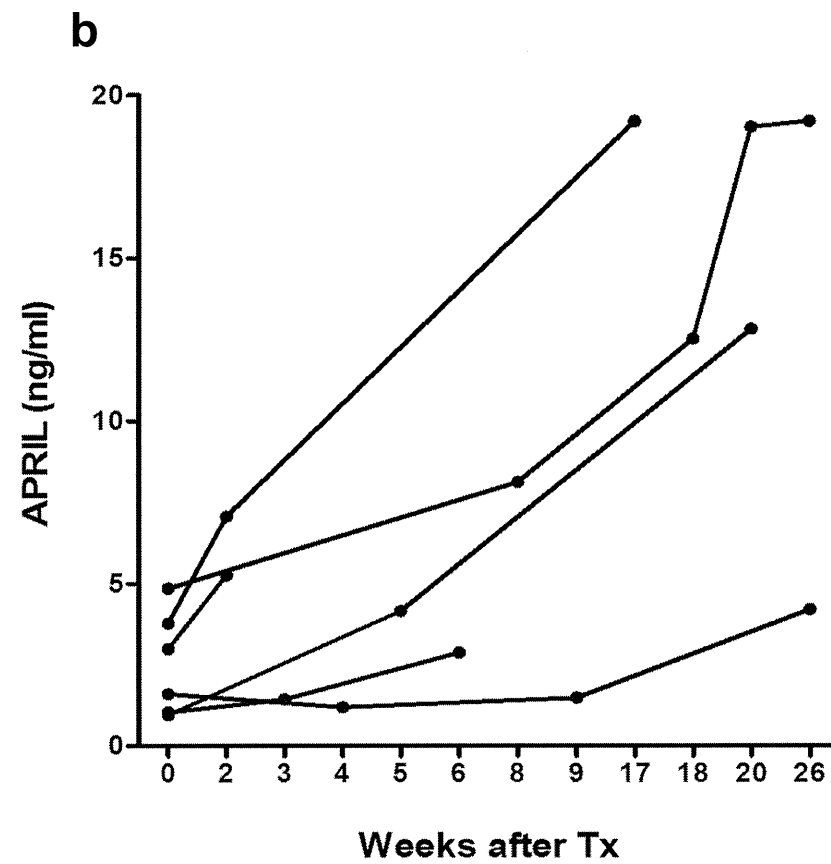
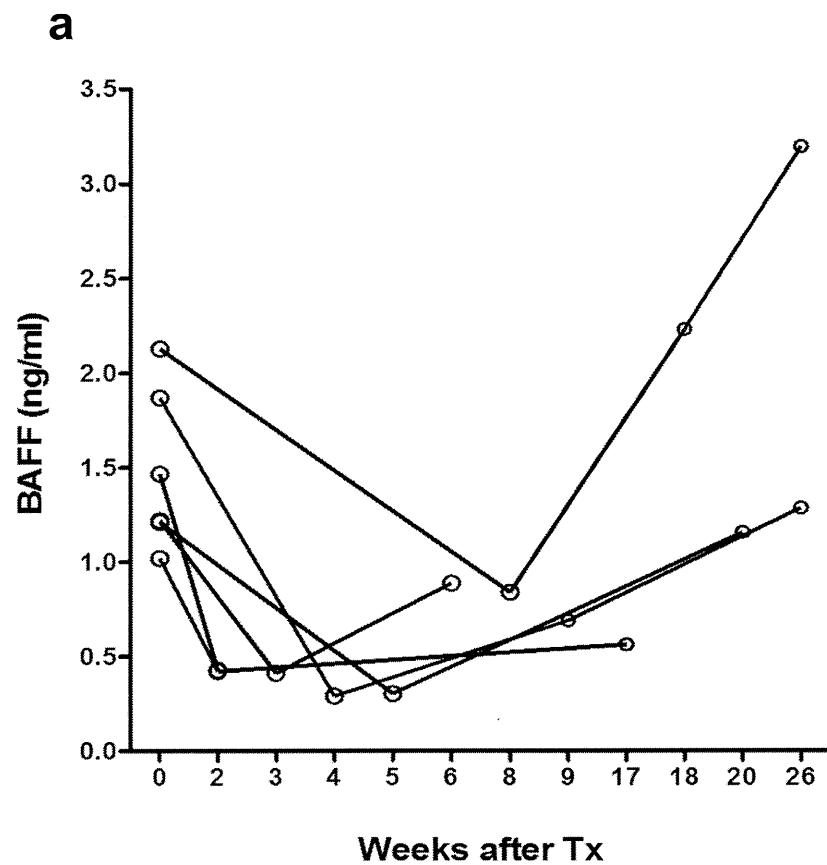
結果4 IgG4関連疾患患者の血清IgG4/BAFF/APRILと障害臓器数の相関(治療前)



Affected organs; Lacrimal gland, Salivary gland, Lung, Pancreas, Kidney, Retroperitoneum, Lymph node, Thyroid gland, Prostate, Orbit



結果5 IgG4関連疾患におけるステロイド治療後の血清BAFF, APRIL値の推移



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 22 年度～平成 23 年度 分担総合研究報告書

IgG4 関連疾患における  
IgG4 クラススイッチ関連分子の解析

研究分担者 住田孝之 筑波大学医学医療系内科

(膠原病・リウマチ・アレルギー) 教授

研究協力者 坪井洋人 筑波大学医学医療系内科

(膠原病・リウマチ・アレルギー) 講師

研究要旨

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慢性疾患である。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進んでいるが、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、本症患者末梢血中および病変局所における Th2 細胞および制御性 T 細胞 (Treg 細胞) の増加、それらの細胞が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、末梢血単核球 (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。平成 22 年度から平成 23 年度にかけて、症例数を増やし、また健常人 (HC) の口唇唾液腺 (LSG) での解析を追加した。IgG4 関連疾患 (N=4)、シェーグレン症候群 (SS) (N=6)、HC (N=6) の PBMC、および IgG4 関連疾患 (N=11)、SS (N=13)、HC (N=3) の LSG より RNA を抽出した。IgG4 特異的クラススイッチ関連分子として、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-13)、Treg サイトカイン (IL-10、TGF $\beta$ )、および転写因子 (GATA3、Foxp3) の発現を、非特異的クラススイッチ関連分子として、AID、CD40/CD154、IRF4、BAFF、APRIL の発現を定量 PCR で比較した。その結果、SS および HC と比較して、IgG4 関連疾患の LSG では IL-10、TGF $\beta$ 、AID の発現が有意に上昇していた。IgG4 関連疾患の LSG において、IL-10、TGF $\beta$ 、AID の強発現は、IgG4 クラススイッチ亢進や線維化といった IgG4 関連疾患の特徴的な病態に寄与している可能性が示唆された。

共同研究者

中村誠司、森山雅文、田中昭彦  
九州大学大学院歯学研究院  
顎顔面病態学講座

ラインの策定がすすみ、臨床的には疾患の理解が広まりつつある。その一方で、病因・病態に関しては、IgG4 上昇や IgG4 陽性形質細胞の意義、IgG4 クラススイッチ亢進の分子メカニズムを含めて不明な点が多く、十分な解析はなされていない。

A. 研究目的

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慢性疾患である。近年注目されている病態であり、ミクリッツ病・自己免疫性腭炎をはじめとして、硬性胆管炎、間質性腎炎、後腹膜線維症、間質性肺炎、炎症性偽腫瘍 (肺、眼窩、肝など)、偽リンパ腫 (乳腺など)、前立腺炎、下垂体炎、大動脈炎、リンパ節腫脹、甲状腺炎等の多彩な病変が報告されている<sup>1)</sup>。各領域で診断基準や治療ガイ

最近になり、本症患者末梢血中および病変局所における Th2 細胞および制御性 T 細胞 (Treg 細胞) の増加、それらの細胞が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<sup>1)</sup>。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、末梢血単核球 (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。

## B. 研究方法

平成 22 年度から平成 23 年度にかけて、症例数を増やし、また健常人 (HC) の口唇唾液腺 (LSG) での解析を追加した。IgG4 関連疾患 (N=4)、シェーグレン症候群 (SS) (N=6)、HC (N=6) の PBMC、および IgG4 関連疾患 (N=11)、SS (N=13)、HC (N=3) の LSG より RNA を抽出した。IgG4 関連疾患の症例は、全例 IgG4 関連疾患包括診断基準 (2011 年)<sup>2)</sup> を満たし、SS の症例は全例厚生省改訂診断基準 (1999 年)<sup>3)</sup> を満たしていた。IgG4 特異的クラススイッチ関連分子として、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-13)、Treg サイトカイン (IL-10、TGF $\beta$ )、および転写因子 (GATA3、Foxp3) の発現を、非特異的クラススイッチ関連分子として、AID、CD40/CD154、IRF4、BAFF、APRIL の発現を定量 PCR で比較した。

## C. 研究結果

### 1. IgG4 関連疾患、SS、HC の背景

IgG4 関連疾患、SS の平均年齢は HC と比較し、それぞれ有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test)。抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体陽性率は、IgG4 関連疾患ではともに 0%、SS ではそれぞれ 93.8%、56.3%であり、SS で有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Fisher's exact probability test)。IgG4 値は IgG4 関連疾患では  $942.2 \pm 612.5$  mg/dl と高値であった。CH50 は IgG4 関連疾患では、SS と比較し、有意に低値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test)。また IgG4 関連疾患では、LSG における IgG4 陽性形質細胞/IgG 陽性形質細胞比は  $62.0 \pm 3.5\%$  と高値であった (表 1)。

### 2. IgG4 特異的クラススイッチ関連分子の発現

1) サイトカイン (IL-4、IL-13、IL-10、TGF $\beta$ )  
PBMC では、IgG4 関連疾患、SS、HC の間で、サイトカイン産生に有意差は認められなかった。一方、IgG4 関連疾患の LSG では、SS・HC と比較して、IL-10・TGF $\beta$  の産生が有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 1)。また IgG4 関連疾患の LSG では、IL-4 の産生は HC と比較して有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 1)。

#### 2) 転写因子 (GATA3、Foxp3)

PBMC では、IgG4 関連疾患、SS、HC の間で、GATA3、Foxp3 の発現に有意差は認められなかった。IgG4

関連疾患の LSG では、HC と比較して、Foxp3 の発現は有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 1)。また IgG4 関連疾患の LSG では、SS と比較して、GATA3 の発現は有意に低値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 1)。

### 3. IgG4 非特異的クラススイッチ関連分子の発現

#### 1) CD40、CD154、BAFF、APRIL

IgG4 関連疾患の PBMC では、SS と比較して、CD40、CD154 の発現は有意に低値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 2)。また、IgG4 関連疾患の LSG では、HC と比較して、BAFF の発現は有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 2)。

#### 2) IRF4、AID

IgG4 関連疾患の LSG では、SS・HC と比較して、AID の発現は有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 2)。また、IgG4 関連疾患の PBMC では、HC と比較し、AID の発現は有意に高値であった ( $P < 0.05$ 、Mann-Whitney's U-test) (図 2)。

## D. 考察

本研究に参加した IgG4 関連疾患患者では、抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体の陽性率が低く、血清 IgG4 は高値、LSG における IgG4 陽性形質細胞/IgG 陽性形質細胞比も高値であり、過去の報告と一致<sup>1)</sup> していた。

IgG4 関連疾患、SS、HC の 3 群間で、IgG4 特異的クラススイッチ関連分子および IgG4 非特異的クラススイッチ関連分子の発現を PBMC と LSG において比較した。IgG4 関連疾患において、SS・HC と比較して共に有意に発現が変化していた分子に注目した。その結果、IgG4 特異的クラススイッチ関連分子では、IgG4 関連疾患の LSG において、Treg サイトカイン (IL-10、TGF $\beta$ ) の発現が有意に上昇していた。IgG4 関連疾患の LSG では、IL-10 の強発現が IgG4 や IgE へのクラススイッチ亢進に寄与し、さらに TGF $\beta$  の強発現は組織の線維化に関与する可能性が示唆された (図 3)。

一方、IgG4 非特異的クラススイッチ関連分子では、IgG4 関連疾患の LSG において、AID の発現が有意に上昇していた。AID は非特異的なガンマグロブリンのクラススイッチに必須の分子であり、LSG における AID の強発現は、IL-10 とともに IgG4 特異的なクラススイッチ亢進にも寄与する可能性が考えられた (図 3)。

Treg サイトカインやAIDがLSG局所で高発現していたことから、IgG4 関連疾患におけるIgG4 のクラススイッチ亢進は、障害臓器局所で生じている可能性が示唆された。

#### E. 結論

SS および HC と比較して、IgG4 関連疾患の LSG では IL-10、TGF $\beta$ 、AID の発現が有意に上昇していた。IgG4 関連疾患の LSG において、IL-10、TGF $\beta$ 、AID の強発現は、IgG4 クラススイッチ亢進や線維化といった IgG4 関連疾患の特徴的な病態に寄与している可能性が示唆された。

#### F. 参考文献

- 1) Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, et al. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. *Mod Rheumatol* 2012;22:1-14.
- 2) Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, et al. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol* 2012 (Epub ahead of print).
- 3) Fujibayashi T, Sugai S, Miyasaka N, Hayashi Y, Tsubota K. Revised Japanese criteria for Sjögren's syndrome (1999): availability and validity. *Mod Rheumatol* 2004;14:425-434.

#### G. 健康危険情報

なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hasebe, N., Kawasaki, A., Ito, I., Kawamoto, M., Hasegawa, M., Fujimoto, M., Furukawa, H., Tohma, S., Sumida, T., Takehara, K., Sato, S., Kawaguchi, Y., and Tsuchiya, N. Association of UBE2L3 polymorphism with diffuse cutaneous systemic sclerosis in a Japanese population. *Ann. Rheum. Dis.* (in press)
2. Tanaka, Y., Matsumoto, I., Iwanami, K., Inoue, A., Minami, R., Umeda, N., Kanamori, A., Ochiai, N., Miyazawa, K., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Six-transmembrane epithelial antigen of prostate 4 (STEAP4) is expressed on monocytes/neutrophils, and is regulated by TNF antagonist in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* (in press).
3. Tsuboi, H., Nakamura, Y., Iizuka, M., Matsuo, N., Matsumoto, I., and Sumida, T. Generation and functional analysis of monoclonal antibodies

against the second extracellular loop of human M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Mod. Rheumatol.* (in press)

4. Kondo, Y., Matsumoto, I., Iizuka, M., Wakamatsu, E., Zhaojin, Y., Tsuboi, H., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Takahashi, S., and Sumida, T. Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum.* 64:162-172, 2012.

5. Okada, Y., Shimane, K., Kochi, Y., Tahira, T., Suzuki, A., Higasa, K., Takahashi, A., Horita, T., Atsumi, T., Ishii, T., Okamoto, A., Fujio, K., Hirakata, M., Amano, H., Kondo, Y., Ito, S., Takada, K., Mimori, A., Saito, K., Kamachi, M., Kawaguchi, Y., Ikari, K., Mohammed, W. O., Matsuda, K., Terao, C., Ohmura, K., Myouzen, K., Hosono, N., Tsunoda, T., Nishimoto, N., Mimori, T., Matsuda, F., Tanaka, Y., Sumida, T., Yamanaka, H., Takasaki, Y., Koike, T., Horiuchi, T., Hayashi, K., Kubo, M., Kamatani, N., Yamada, R., Nakamura, Y., and Yamamoto, K. A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. *PLoS Genet.* 2012 January; 8(1): e1002455. Published online 2012 January 26.

6. Kawasaki, A., Furukawa, H., Kondo, Y., Ito, S., Hayashi, T., Kusaoi, M., Matsumoto, I., Tohma, S., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. TLR7 single-nucleotide polymorphisms in the 3' untranslated region and intron 2 independently contribute to systemic lupus erythematosus in Japanese women: a case-control association study. *Arthritis Reas. Ther.* 13(2):R41,2011.

7. Yoshiga, Y., Goto, D., Segawa, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Ito, S., Taniguchi, M., and Sumida, T. Activation of natural killer T cells by a-carba-GalCer (RCAI-56), a novel synthetic glycolipid ligand, suppresses murine collagen-induced arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 164(2):236-247,2011.

8. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Horikoshi, M., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. Involvement of NK 1.1-positive  $\gamma\delta$ T cells in interleukin-18 plus interleukin-2-induced interstitial lung disease. *Am. J. Res. Cell. Mol. Biol.* 45(3):659-666,2011.

9. Hikami, K., Kawasaki, A., Koga, M., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Arinami, T., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 63:755-763, 2011.

10. Tsuboi, H., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Sugihara, M., Suzuki, T., Ogishima, H., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Matsumoto, I., and Sumida, T. Importance of serine727 phosphorylated STAT1 in IFN $\gamma$ -induced signaling and apoptosis of human salivary gland cells. *Int. J. Rheum. Dis.*14:86-91, 2011.

11. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., Ito, S., and Sumida, T. Inhibition of TGF- $\beta$  signaling attenuates IL-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease. *Clin. Exp. Immunol.* 160: 394-402. Epub 2010 Jan 19.

12. Tashiro, T., Nakagawa, R., Inoue, S., Omori-Miyake, M., Chiba, T., Fujii, S-I, Shimizu, K., Mori, K., Yoshiga, Y., Sumida, T., Watarai, H., and Taniguchi, M. Induction of Th1-biased cytokine production by  $\alpha$ -carba-GalCer, a neoglycolipid ligand for natural killer T cells. *Int. Immunol.* 22:319-28. Epub 2010 Feb 24.

13. Sumida, T., Tsuboi, H., Iizuka, M., Nakamura, Y., and Matsumoto, I. Functional role of M3 muscarinic acetylcholine receptor (M3R) reactive T cells and anti-M3R autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Autoimmunity Reviews* 9:615-617,2010.

14. Tsuboi, H., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. New epitopes and function of anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Clin. Exp. Immunol.* 162:53-61,2010.

15. Chen, Q., Lamphier, M., Muramoto, K., Ding, Y., Ynag, H., Mackey, M., Li, W., Liu, D., Inoue, Y., Massaki, N., Patel, T., Groom, A., Reynolds, D., Perron, S., Shirota, H., Matsumoto, I., Sumida, T., Spyvee, M., Schiller, S., ZGusovsky, F., and Marc, K. Prostaglandin E2 stimulation of EP4 promotes Th1 differentiation and Th17 expansion and is critical for autoimmune disease. *Br. J. Pharmacol.* 160: 292-310, 2010.

16. Shen, N., Fu, Q., Deng, Y., Qian, X., Zhao, J., Kaufman, K.M., Tang, Y., Chen, J-Y, Yang, W., Wong, M., Kawasaki, A., Tsuchiya, N., Sumida, T., Kawaguchi, Y., Yum C-Y, Takasaki, Y., Hashimoto, H., Harley, J.B., Guthridge, J.M., Grossman, J.M., Cantor, R.M., Song, Y.W., Bae, S, Cehn, S, Hahn, B.H., Lau, Y.L., and Tsao, B.P. Gender specific association of X-linked TLR7 with male systemic lupus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 10715838-43, 2010.

17. Iizuka, M., Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Tsuboi, H., Nakamura, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Pathogenic role of immune response to M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive in Sjogren's

syndrome-like sialoadenitis. *J. Autoimmunity* 35: 383-389, 2010.

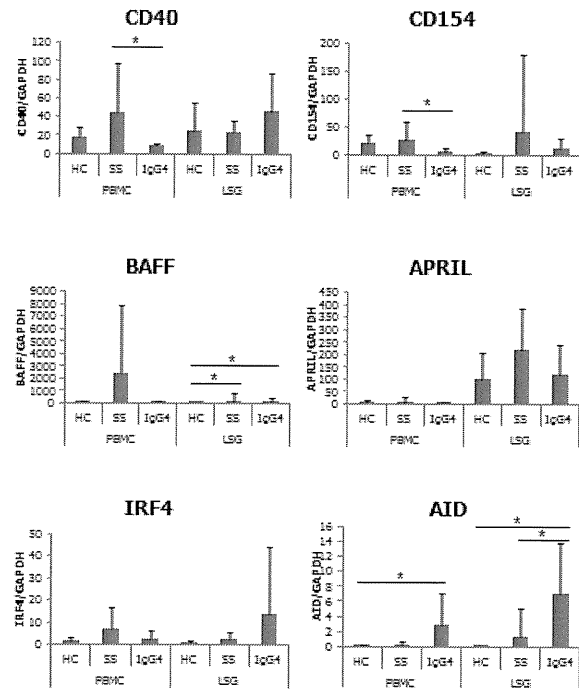
- I. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
1. 特許取得
  2. 実用新案登録
  3. その他

表1 IgG4関連疾患、SS、HCの背景

項目	IgG4関連疾患 (n=15)	SS (n=15)	HC (n=10)
年齢(歳)	62.9 ± 10.5 *	55.9 ± 15.7 *	40.9 ± 17.1
性別(男性/女性)	6/9	2/14	5/5
抗SS-A抗体(%)	0/1	93.3	n.d.
抗SS-B抗体(%)	0/1	53.3	n.d.
血清IgG4 (mg/dl)	542.5 ± 612.5	n.d.	n.d.
血清IgE (U/ml)	284.0 ± 317.5	n.d.	n.d.
CH50 (U/ml)	33.5 ± 17.5 †	50.5 ± 15.3	n.d.
IgG4/IgG in LSG (%)	52.0 ± 3.5	n.d.	n.d.

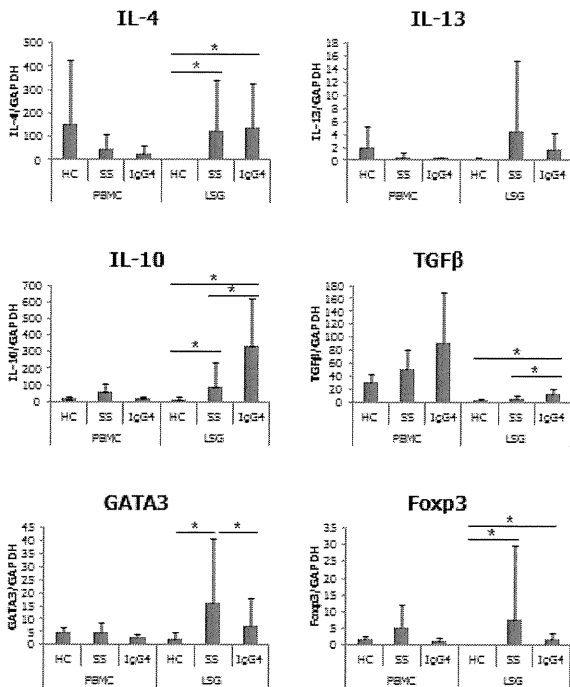
Data are mean ± SD.  
 n.d.: not determined.  
 \*p<0.05, compared with the SS group (Mann-Whitney U Test or Fisher's exact probability test).  
 †p<0.05, compared with the healthy control subjects (Mann-Whitney U Test or Fisher's exact probability test).

図2 IgG4非特異的クラススイッチ関連分子の発現



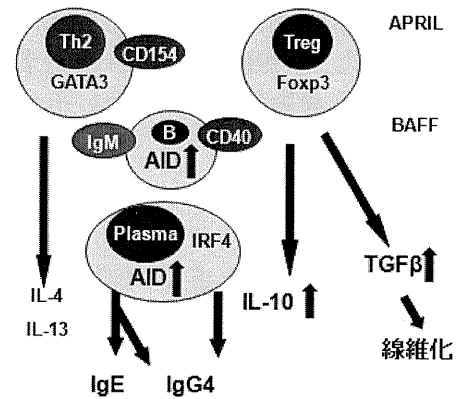
\* P<0.05, Mann-Whitney's U-test

図1 IgG4特異的クラススイッチ関連分子の発現



\* P<0.05, Mann-Whitney's U-test

図3 IgG4関連疾患のLSGにおける病態



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 22 年度～平成 23 年度 分担総合研究報告書

涙腺腫脹をきたした IgG4<sup>+</sup>MOLPS (IgG4 関連多臓器リンパ増殖症候群)  
関連疾患の線維化病変に関わる病理学的研究と臨床的考察

研究分担者 坪田一男 慶應義塾大学医学部眼科 教授  
研究協力者 小川葉子 慶應義塾大学医学部眼科 特任准教授

研究要旨：涙腺腫脹をきたした 4 症例の涙腺組織について臨床的、病理組織学的解析を行った。病変部位に集積する線維芽細胞の活性化状態や特徴を解析し Ig G4 関連疾患に特異的な線維芽細胞の浸潤の有無を検討する。今後は症例数を増やし、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。

#### A. 研究目的

IgG4+MOLPS 患者においては涙腺腫脹は標的臓器の中で頻度が高いと報告されている。近年眼科領域では、IgG4+MOLPS 患者の涙腺の病態解析がすすめられている。本疾患の発症機構解明や病態解析には外分泌腺を代表する涙腺組織の炎症および病的な線維化のメカニズムを解明することは全身的な病態解明にもつながる可能性がある。また臨床的経過を詳細に検討することは他疾患の鑑別に重要である。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、涙腺腫脹をきたした患者における臨床経過と涙腺組織解析を行いその病態を追究することを目的とする。

#### B. 研究方法

涙腺腫脹をきたした患者の診断目的にて生検を施行した涙腺組織で IgG4 関連疾患の診断を得た症例について、診断後不要な涙腺組織検体について患者に対し説明と同意のもと病理学的手法で解析を行った。剖検検体の正常涙腺組織と比較検討した。HE、マロリー染色に加えて、電子顕微鏡を用いた超微形態を解析した。過去に涙腺腫脹をきたした症例で涙腺生検を施行した 2 症例について臨床経過および病理組織を併せ検討した。

(倫理面への配慮)

人涙腺結膜の組織解析には、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得ている。

(承認番号 2009-277) 課題名「ドライアイにおける涙腺、角結膜および涙液、血液の病態の解析」

#### C. 研究結果

IgG4+MOLPS 患者における臨床的ドライアイの症状は比較的軽度であった。涙腺組織は炎症細胞浸潤と線維化を認めた。

電子顕微鏡による超微形態の観察では間質にはコラーゲン線維が増加していた。涙腺上皮内の分泌顆粒の構造は比較的良好に保たれていたが一様に分布していた。過剰に蓄積する部位も認められた。さらに細胞質内小器官に変化が認められた。基底膜近傍の間質には通常では存在しない顆粒が認められ、涙腺上皮基底膜は正常に比して肥厚が認められた。

過去に涙腺腫脹をきたし涙腺生検を施行した 2 症例の診断はそれぞれ眼窩偽腫瘍と悪性リンパ腫であった。

眼窩偽腫瘍の診断の一例は 12 年前に副腎皮質ステロイド全身治療に著効を示し、涙腺腫脹の縮小が見られた。涙腺が腫脹していた当時は血清 Ig G が高値であり、Ig G 4 関連疾患が存在したと考えられたが、現在は涙腺腫脹が軽快しており、血清 Ig G 4 値は正常範囲内となっている。他の一

例はシェーグレン症候群の診断をうけていたが、1 2年間の経過観察後に両側涙腺腫脹が生じ生検により悪性リンパ腫と確定診断に至った。

#### D. 考察

Ig G4 関連疾患の涙腺間質は、高度な線維化には過剰な病的なコラーゲンの蓄積が関与しており、線維化に関与する線維芽細胞は特殊な線維が細胞である可能性が考えられた。間質の線維化、基底膜の肥厚、上皮内分泌顆粒の蓄積、涙腺上皮細胞内小器官の変化をきたすメカニズムの解明のために今後のさらなる検討が必要である。

臨床的に涙腺腫脹をきたす疾患について Ig G 4 関連疾患、悪性リンパ腫、涙腺炎、木村病、サルコイドーシス等、他の疾患との鑑別が重要である。

#### E. 結論

Ig G4 関連疾患涙腺組織を解析し、間質の高度な線維化と、涙腺上皮の基底膜の肥厚、上皮内の分泌顆粒の蓄積、細胞内小器官の病的変化等を認めた。診療では涙腺腫脹をきたす疾患では Ig G4 関連疾患をはじめ、同様に涙腺腫脹所見を呈する他疾患を常に念頭に置く必要がある。

#### F. 参考文献

Yamada K, et al. Clonal relationship between infiltrating immunoglobulin G4 (IgG4)-positive plasma cells in lacrimal glands and circulating IgG4-positive lymphocytes in Mikulicz's disease. *Immunology, Clinical and Experimental Immunology*, 152: 432-439;2008

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

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* 2012, 22:1-141.

##### 2. 学会発表

###### 国際学会

##### 1.

Ogawa Y, Shimmura S, Morikawa S, Inaba T, Okano H, Matsuzaki Y, Tsubota K. Donor fibroblast chimerism in animal model of ocular chronic graft versus host disease. The Association of Research for Vision and Ophthalmology (ARVO) 2011. Fort Lauderdale, FL, USA May 2-6,2010

##### 2.

Hirasawa M, Noda K, Suzuki M, Ogawa Y, Ozawa Y, Tsubota K: Localization of transcriptional factors associated with epithelial-mesenchymal transition in choroidal neovascularization The Association of Research for Vision and Ophthalmology (ARVO) 2011. Fort Lauderdale, FL, USA. May 2-6, 2010.

##### 3

Inagaki E, Ogawa Y, Matsumoto Y, Kawakita T, Shimmura S, Tsubota K: Matrix metalloproteinase (MMP9) is expressed during corneal perforation in chronic graft-versus-host disease The Association of Research for Vision and Ophthalmology (ARVO) 2011. Fort Lauderdale, FL, USA May 2-6, 2010.



- 4 Kawashima M, Kawakita T, Maida Y, Kamoi M, Ogawa Y, Matsutomi K, Shimmura S, Tsubota K: Measurement of telomere length in lacrimal gland tissue sections using quantitative fluorescence in situ hybridization (Q-FISH) The Association of Research for Vision and Ophthalmology (ARVO) 2011. Fort Lauderdale, FL, USA May 2-6, 2010.
- 5 Inaba T, Hisatsune C, Sasaki Y, Ogawa Y, Mikoshiba K, Tsubota K: Role of Inositol 1,4,5,-Triphosphate Receptors and Ca<sup>2+</sup> Signaling in Tear Secretion The Association of Research for Vision and Ophthalmology (ARVO) 2011. Fort Lauderdale, FL, USA May 2-6, 2010.
- 6 Tsubota K, Kawashima M, Inaba T, Dogru M, Ogawa Y, Namamura S, Shinmura K, Higuchi A, Kawakita T. Keynote Adress; The tearome :Not Just Hype : Anti-aging approach for the treatment of dry eye. 6<sup>th</sup> International Conference on the Tear Film & Ocular Surface; Basic Science and Clinical Relevance. Florence, Italy, Sep 22-25, 2010
- 7 Ogawa Y, Shimmura Y, Morikawa S, Mabuchi Y, Inaba T, Okano H, Matsuzaki Y, Tsubota K : Bone marrow mesenchymal stem cells trigger pathogenic fibrosis in chronic graft-versus-host-disease. 6<sup>th</sup> International Conference on the Tear Film & Ocular Surface; Basic Science and Clinical Relevance. Florence, Italy, 22-25, 2010
- 8 Inaba T, Hisatsune C, Sasaki Y, Ogawa Y, Mikoshiba K, Tsubota K: Chronically distributed IP3 receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> Signaling in exocrine glands causes Sjogren's syndrome –like autoimmune disease. 6<sup>th</sup> International Conference on the Tear Film & Ocular Surface; Basic Science and Clinical Relevance. Florence, Italy, 22-25, 2010
- 9 Ban Y, Ogawa Y, Ibrahim OMA, Tatematsu Y, Dogru M, Tsubota K. Morphologic evaluation of meibomian glands in chronic graft-versus-host disease. 6<sup>th</sup> International Conference on the Tear Film & Ocular Surface; Basic Science and Clinical Relevance. Florence, Italy, 22-25, 2010
10. Ogawa Y. Symposium 22. Cicatrizing ocular surface disease. GVHD dry eye. The 2<sup>nd</sup> Asia Cornea Society Biennial Scientific Meeting. Kyoto, Japan, 1-3, Dec, 2010.
11. Ogawa Y, Shimmura S, Morikawa S, Mabuchi Y, Yaguchi T, Inaba T, Kawakami Y, Okano H, Matsuzaki Y, Tsubota K. A Significant Role of Mesenchymal Stem Cells in Immune Processes and Pathogenic Fibrosis in Ocular Chronic Graft Versus Host Disease. The Association for Research in Vision and

Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, USA. 2011/5/4

12. Higa K, Kato N, Yoshida S, Ogawa Y, Shimazaki J, Tsubota K, Shimmura S. Aquaporin 1 Positive Mesenchymal Cell Imply Existence Of Cornea Limbal Niche Cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, USA. 2011/5/4

13. Yaguchi S, Ogawa Y, Shinmura S, Tsubota K. Lacrimal Gland Inflammation and Fibrosis in Murine Model Of Ocular Graft Versus Host Disease. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, USA. 2011/5/3

14. Inaba T, Hisatsune C, Kawakita T, Sasaki Y, Ogawa Y, Mikoshiba K, Tsubota K. Role Of Muscarinic Acetylcholine Receptors and Ca<sup>2+</sup> Signaling in Tear Secretion. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, USA. 2011/5/3

15. Uchino Y, Kawakita T, Miyazawa M, Ishii T, Onouchi H, Yasuda K, Ogawa Y, Shimmura S, Ishii N, Tsubota K. Role of Intracellular Oxidative Stress in The Mechanism of the Dry Eye Disease. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, USA. 2011/5/3

16. Tatematsu Y, Ogawa Y, Shinmura S, Dogru M, Nagai T, Yaguchi S, Yamazaki K, Kameyama K, Kawakami Y, Tsubota K. Mucosal Microvilli in Dry Eye Patients with Chronic Graft-versus-Host Disease. The

Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, USA. 2011/5/3

17. Ogawa Y, Kamoi M, Uchino M, Ban Y, Yaguchi S, Inagaki E, Tsubota K. Ocular chronic graft-versus-host disease. 1st Ocular cGVHD International Consensus Meeting. KEIO Global Clinical Research Program. Florida, USA. 2011/10/20.

国内学会

1.

小川葉子 シンポジウム 4 眼表面サイエンスの最前線 眼表面炎症と上皮—間葉転換 第 114 回日本眼科学会総会 名古屋平成 22 年 4 月 15-18 日

2.

平沢 学、野田航介、小沢洋子、小川葉子、鈴木美砂、坪田一男、石田 晋. 学術展示受賞講演ヒト脈絡膜新生血管組織における上皮間葉系移行 (EMT) 関連転写因子の局在 第 114 回日本眼科学会総会 名古屋 平成 22 年 4 月 15-18 日

3

村戸ドール、松本幸裕、若松タイスヒトミ、佐藤エンリケアダン、オサマモハメドアリイブラヒム、小島隆司、海道美奈子、石田玲子、小川葉子、小畑博人、坪田一男 : シェーグレン症候群眼表面における最新の画像診断技術 第 15 回シェーグレン症候群セミナー 東京 平成 22 年 5 月 22 日

4

小川葉子、榛村重人、川北哲也、吉田悟、河上 裕、坪田一男

眼慢性移殖片対宿主病における上皮間  
葉転換 第 30 回日本炎症再生医学会  
平成 22 年 8 月 5-6 日

5

稲葉隆明、小川葉子、御子柴克明、坪田  
一男 IP3R 欠損マウスを用いたシェー  
グレン症候群の病態解明 第 19 回シェ  
ーグレン症候群学会 東京 平成 22 年  
9 月 9-10 日

6.

小川葉子 第 6 回ドライアイリサーチ  
アワード受賞講演 Epithelial  
mesenchymal transition in human ocular  
chronic graft-versus-host disease. オキュラ  
ーサーフェス専門別研究会 第 64 回日  
本臨床眼科学会 神戸 平成 22 年 11 月  
12-15 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  
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 22 年度～平成 23 年度 分担総合研究報告書

IgG4 関連リンパ節症の病理学的解析

研究分担者 吉野 正 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授  
研究協力者 佐藤康晴 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 講師

研究要旨：IgG4 関連リンパ節症は組織学的に 5 型に分類され、多彩な像を示すことが判明した。また、multicentric Castleman's disease や angioimmunoblastic T-cell lymphoma などとの鑑別が困難な例が存在することも明らかになった。

A. 研究目的

IgG4 関連リンパ節症の組織像を明らかにし、その診断基準を確立することを目的とする。

B. 研究方法

我々の研究室にある症例ファイルから IgG4 関連リンパ節症を抽出し、臨床病理学的に解析を行った。

(倫理面への配慮)

データは個人が特定できないように集計して解析を行った。

C. D. 研究結果および考察

IgG4 関連リンパ節症は組織学的に 5 型に分類された。中には組織学的に multicentric Castleman's disease や angioimmunoblastic T-cell lymphoma との鑑別が非常に難しい例が存在した。また、IL-6 の過剰産生によって引き起こされる病態においても、IgG4 関連疾患の診断基準を満たす例が存在し、「非 IgG4 関連疾患」が IgG4 関連疾患と誤診されている可能性も示唆された。

上記に加えて、これまで胚中心進展性異形性 (PTGC) とされてきた原因不明のリンパ腫大の中に IgG4 関連リンパ節症が含まれて

いることが判明した。とくにこのタイプは、その多くが限局性の顎下リンパ節腫脹で発症し、高頻度に節外臓器（とくに涙腺、唾液腺）病変を形成することが判明した。なかには全身病変へと移行する例も認められた。組織学的にも低悪性度リンパ腫との鑑別が問題となった。

E. 結論

IgG4 関連疾患の病理診断においては、悪性リンパ腫や他の炎症性疾患との鑑別が非常に問題となることが多い。また、組織学的診断基準を満たす「非 IgG4 関連疾患」が存在するため、病理検査のみで容易に診断せず、他の検査データも合わせて総合的に診断することが重要である。

F. 参考文献

研究発表参照

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表