

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。相関解析はアリル頻度についてカイ 2 乗検定を行い、 $P<1 \times 10^{-5}$  の有意差で、遺伝子内に 2 種類以上の有意差を示す SNPs を含む遺伝子を疾患感受性候補遺伝子とした。その結果本疾患全症例と IgG4 高値群の両群でコントロールに対して強い相関を示した SNPs は 10 個あった (表 1)。その中で、*HLA-DQB1* は P 値が  $4.5 \times 10^{-6}$  でオッズ比 2.1 と強い相関を示した。このことはわれわれが以前 *HLA-DQB1\*04:05-DQB1\*04:01* ハプロタイプが本症と相関することを報告したことを追認するものであった。<sup>6)</sup> 選択された遺伝子のなかには免疫学的機序に関連する遺伝子 *FCER2* (FC fragment of IgE, low affinity II, receptor for CD23) や *MIST* が認められた。

#### D. 考察

自己免疫性膵炎と健常人で GWAS を用いた相関解析を行い、10 個の SNPs ならびに近傍の遺伝子 *FCER2*、*MIST* が疾患と有意に相関していることを同定した。*FCER2* は CD23 とも呼ばれ、低親和性 IgE 受容体として、主に成熟 B 細胞、単球、濾胞樹状細胞に発現し、B 細胞の活性化と IgE 産生の制御に関与している。また *MIST* は T 細胞および B 細胞抗原レセプター下流で免疫シグナリングを調節している SLP-76 と同じファミリーに属するアダプター分子であり、IgE レセプターを介した MAST 細胞の脱顆粒反応や、サイトカイ

ン刺激に伴う多様なシグナル伝達に関与している。

これらの遺伝子の詳細については今回呈示できないが、炎症、免疫等に関連するものを中心の検索を進める予定である。

GWAS による疾患感受性遺伝子検索は遺伝統計学的手法を用いていて、症例群と対照群で頻度の差を認めても、偶然による可能性が否定できない。より確証のある結果を得るためには、サンプル数を増やし、一次試験で得た結果を別の集団で再現する確認試験、および他施設で行われた複数の研究結果を統合して分析するメタアナリシスを行い、有意差を示した SNPs の妥当性を検討する必要がある。

#### E. 結論

自己免疫性膵炎の疾患感受性遺伝子を GWAS の手法で、同定を試み、2 個の免疫学的機序に関連する遺伝子を見出した。

#### 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 pancreaticholangitis responsive to steroid therapy. *Lancet* 1999; 354: 43-44.
3. Horiuchi A, Kawa S, Hamano H, Ochi Y, Kiyosawa K: Sclerosing pancreaticholangitis 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. P779-86
6. Kawa S, Ota M, Yoashizawa K, Horiuchi A, Nakayama K, Tokutake Y, Katsuyama Y, Saito S, Hasebe O, Kiyosawa K. HLA DRB1\*0405-DQB1\*0401 haplotype is associated with autoimmune pancreatitis in the Japanese population. *Gastroenterology* 2002;122:1264-1269.
7. Umemura T, Ota M, Hamano H, Katsuyama Y, Kawa S, Kiyosawa K Genetic association of Fc receptor-like 3 polymorphisms with autoimmune pancreatitis in Japanese Patients. *Gut* 2006;55:1367-8.
8. Umemura T, Ota M, Hamano H, Katsuyama Y, Muraki T, Arakura N, Kawa S, Kiyosawa K. Association of Autoimmune Pancreatitis with Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4 Gene Polymorphisms in Japanese Patients. *Am J Gastroenterol* 2008 ;103:588-94.
9. 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.
10. 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) 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*. 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, Löhr 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). 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 膵疾患の遺伝的拝啓を探る、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 25<sup>th</sup>. London
- 6) Kawa S. Ito T, Maruyama M, Watanabe T, Ozaki Y, Maruyama M, Yoneda S, 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 2<sup>nd</sup>.
- 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 6<sup>th</sup>
- 8) Kawa S. Symposium 3 : Approach for Pathogenesis Humoral Immunity. 1) IgG4. Pancreas Research Forum (IPRF) 2011 OSAKA Japan. 2011. November 26<sup>th</sup>
- 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 26<sup>th</sup>
- 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 26<sup>th</sup>
- 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 26<sup>th</sup>
- 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

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

プロテオミクス解析による自己免疫性膵炎診断マーカーの探索

研究分担者 坪内 博仁

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨：プロテオミクス解析の手法（ClinProt ビーズ、MALDI-TOF/MS 解析装置、二次元電気泳動）を用い、治療前後の自己免疫性膵炎（AIP）患者血清の比較検討を行った。2660m/z、2861m/z、3239m/z、5900m/z のピーク蛋白で、治療後の有意なピーク強度低下を認めた。このうち 2660m/z、2861m/z のピーク蛋白は fibrinogen alpha chain と同定された。また、二次元電気泳動による解析では、治療後に変化する 3 つの蛋白が同定された。現時点では疾患特異性のある蛋白は確認できていないが、治療後に変化する蛋白については活動性評価や治療効果予測に有用である可能性が示唆された。

共同研究者

寄山敏男、宇都浩文、前田拓郎、岩下祐司、橋元慎一、田ノ上史郎、上村修司、沼田政嗣、藤田 浩、船川慶太、井戸章雄

所属

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科  
消化器疾患・生活習慣病学

A. 研究目的

自己免疫性膵炎（AIP）を含む IgG4 関連全身硬化性疾患は、高 IgG4 血症と病変腺組織中の著明な IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする疾患である。血清 IgG4 は IgG4 関連全身硬化性疾患の活動性指標として有用であるが、臓器特異性がない。膵病変の評価には、侵襲性の高い内視鏡下の造影検査などが必要であり、AIP の簡便な診断法の確立が望まれる。本研究の目的は、プロテオミクスを用い、IgG4 関連全身硬化性疾患、特に AIP の新しい診断マーカーを同定することである。

B. 研究方法

AIP 患者（ステロイド治療前、治療後を含む）、アルコール性膵炎患者、特発性膵炎患者、膵臓癌患者および健常者の血清を用いた。ClinProt ビーズにより試料を調整し、MALDI-TOF/MS にて解析した。また、ProteoMiner Kit の前処置を行った後、二次元電気泳動による解析を行った。さらに、プロテインアレイ（ProtoArray Human Protein Microarray）を用いた免疫応答バイオマーカープロファイリングにより AIP 患者血清中の自己抗体を探索し、ELISA により抗体価を測定した。なお、本研究は関西医科大学内科学第三講座（内田一茂講師、岡崎和一教授）、信州大学健康安全センター（川 茂幸教授）との共同研究であり、関西医科大学附属病院、信州大学健康安全センターおよび鹿児島大学附属病院で取得した患者サンプルを使用した。

（倫理面への配慮）

a. 個人の人権の擁護:1) 研究内容につ

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

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

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

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

### C. 研究結果

ClinProt 陽イオン交換ビーズ (WCX) を用いた解析により、治療前後の AIP 患者血清を比較した結果、2660m/z、2861m/z、3239m/z、5900m/z のピーク蛋白で、治療後の有意なピーク強度低下が認められた。また、これらの治療前ピーク強度は治療前の IgG4 値とよく相関していた。MS/MS イオンサーチ法により 2660m/z、2861m/z のピーク蛋白は fibrinogen alpha chain と同定された。しかしこの 2 つのピーク

蛋白はアルコール性膵炎で特に上昇しており、AIP に特異的ではなかった。3239m/z、5900m/z のピーク蛋白については同定に至っていないが、5900m/z のピーク強度は他の膵炎と比較し AIP で特に上昇していた。また、ClinProt 疎水性ビーズ (C8) を用いた解析では、3224m/z など治療後有意にピーク強度が低下するピーク蛋白に加え、治療後にピーク強度が有意に上昇する 2953m/z などのピーク蛋白も認められたが、まだ同定には至っていない。

治療前後の AIP 患者血清を用いた二次元電気泳動による解析では、治療後に変化する蛋白のうち、3 つの蛋白

(apolipoprotein E、transthyretin、serum amyloid-P component) が同定された。ELISA による測定では apolipoprotein E と transthyretin が治療後に上昇し、serum amyloid-P component は治療後に低下していた。しかしながら、健常者、特発性膵炎患者、膵臓癌患者との比較では、疾患特異性は認められなかった。

プロテインアレイで示された自己抗体のうち、抗 EXOC3 抗体、抗 APIP 抗体、抗 WDR1 抗体が健常者と比較して AIP 患者で高い傾向にあったが、特発性膵炎患者、膵臓癌患者でも上昇しており、疾患特異性は認められなかった。

### D. 考察

ClinProt システムと MALDI-TOF/MS を用いたプロテオミクスで、AIP 治療後にピーク強度が変化するピーク蛋白が複数認められた。治療後にピーク強度が低下する 2 つのピーク蛋白は fibrinogen alpha chain と同定された。この 2 つのピーク蛋白に疾患特異性は認められなかったが、

IgG4 値とよい相関を示しており、疾患活動性や病態との関連を解析していく。また、他のピーク蛋白についても同定作業を続ける。

二次元電気泳動法による解析で、AIP 治療後に変化する 3 つの蛋白が同定されたが、疾患特異性は認められなかった。今後他の蛋白スポットの同定を行っていく一方、疾患活動性や病態との関連を検討していく。

#### E. 結論

プロテオミクス解析により、AIP 治療で変化する複数の蛋白が認められ、活動性評価や治療効果予測に有用である可能性が示唆された。

#### 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

該当なし

##### 2. 学会発表

- 1) Sakiyama T, Iwashita Y, Maeda T, Komaki Y, Taguchi H, Numata M, Fujita H, Musch MW, Chang EB, Tsubouchi H, Glutamine induces intestinal epithelial heat shock response via HSF-1 activation by polyamines, The 6th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium (Tokyo, Japan) 2012/1/28
- 2) Ibusuki K, Sakiyama T, Iwashita Y, Hashimoto S, Kanmura S, Tsubouchi H, Human neutrophil peptides induce IL-8 and ICAM-1 in intestinal epithelial cells, Digestive Disease

Week 2011 (Chicago, USA) 2011/5/10

- 3) Yamaji N, Ido A, Setoyama H, Numata M, Moriuchi A, Fujita H, Sakiyama T, Tsubouchi H, Hepatocyte growth factor inhibits colon cancer development in a mouse model of ulcerative colitis, Digestive Disease Week 2011 (Chicago, USA) 2011/5/10
- 4) Iwashita Y, Sakiyama T, Musch MW, Ropeleski MJ, Tsubouchi H, Chang EB, Glutamine enhances heat shock protein expression in intestinal epithelial cells via HSF-1 activation by polyamines, Digestive Disease Week 2011 (Chicago, USA) 2011/5/9
- 5) Hashimoto S, Uto H, Kanmura S, Sakiyama T, Sasaki F, Ibusuki K, Iwashita Y, Moriuchi A, Fujita H, Setoyama H, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H, Human neutrophil peptides exacerbate experimental colitis through a T cell-independent mechanism, Digestive Disease Week 2011 (Chicago, USA) 2011/5/8
- 6) 橋元慎一、宇都浩文、坪内博仁 Human Neutrophil Peptide-1 は T リンパ球非依存的に DSS 腸炎を悪化させる 第 19 回日本消化器関連学会週間 JDDW2011 福岡 2011/10/21
- 7) 橋元慎一、宇都浩文、寄山敏男、上村修司、岩下祐司、指宿和成、佐々木文郷、屋万栄、田ノ上史郎、那須雄一郎、藤田浩、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁 Human Neutrophil Peptide-1 は SCID マウスにおける DSS 大腸炎を増悪する 第 48 回日本消化器免疫学会総会 金沢 2011/7/21

#### I. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

IgG4 関連疾患における自然免疫系と獲得免疫系に関する研究

研究分担者 千葉 勉 京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座 教授

研究要旨：IgG4 関連全身性硬化性疾患は IgG4 陽性形質細胞の障害臓器への著明な浸潤を特色とするが、IgG4 反応の誘導機序は明らかになっていない。我々は IgG4 産生に関わる自然免疫反応の機序を解析した。健常人及び IgG4 関連疾患患者の末梢血単核球を様々な TLR /NLR ligands で刺激したところ、TLR/NLR 刺激に反応し、IgG4 関連疾患患者由来細胞は効率よく IgG4 の産生を誘導することが明らかとなった。その分子機序としては活性化された Monocytes から産生される BAFF が B 細胞より IgG4 産生を誘導することが明らかになった。以上の結果から、IgG4 関連全身性硬化性疾患の発症に自然免疫反応が関与していることが示唆された。

共同研究者

渡邊 智裕

所属

京都大学医学研究科消化器内科学講座

また、細胞内のシグナル伝達経路についても解析した。

(倫理面への配慮)

同意を得た後に行った。また、本研究は京都大学倫理委員会に承認済みである。

A. 研究目的

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

B. 研究方法

14 人の健常者及び 6 人の IgG4 関連疾患患者の末梢血より単核球を精製し、様々な TLR 及び NLR ligands で刺激し、IgG4 の産生と Cytokine の産生を検討した。

C. 研究結果

健常人と比べ、IgG4 関連疾患患者の末梢血細胞は TLR/NLR ligands に対する反応性が亢進しており、TLR/NLR ligands に反応し、大量の IgG4 を産生した。また、BAFF の産生が IgG4 関連疾患患者においては TLR/NLR ligands 刺激に対する BAFF の産生が亢進していた。

D. 考察

IgG4 の産生に重要な役割を果たす自然免疫反応の分子機序を同定した。IgG4 関連疾患患者の末梢血液細胞は TLR/NLR ligands に対する感受性が亢進しており、BAFF を介して、IgG4 の産生を誘導することが明らかになった。本研究により IgG4 の産生の誘導機序の一部が明らかとなった。その意義は基礎的・学術的に

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

#### E. 結論

IgG4 関連全身性硬化性疾患の発症に自然免疫反応が関与していることが示唆された。

#### F. 参考文献ならびに G. 健康危険情報 該当なし。

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Watanabe T, Yamashita K, Fujikawa S, Sakurai T, Kudo M, Shiokawa M, Kodama Y, Uchida K, Okazaki K, Chiba T. Activation of Toll-like receptors and NOD-like receptors is involved in enhanced IgG4 responses in autoimmune pancreatitis. *Arthritis Rheum* 2012(in press).
2. 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, Tsubouchi H, Inui K, Ohara H: Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD): general concept and details. *Mod Rheumatol* 2012;22:1-14.
3. Kishimoto M, Tsuji Y, Katabami N, Shimizu J, Lee KJ, Iwasaki T, Miyake Y, Yazumi S, Chiba T, Yamada K.

Measurement of canine pancreatic perfusion using dynamic computed tomography: Influence of input-output vessels on deconvolution and maximum slope methods. *Eur J Radiol* 2011;77:175-181.

4. Watanabe T, Tsuji Y, Kodama Y, Isoda H, Yamamoto H, Chiba T: Relationship between serum angiopoietin 2 level and perfusion CT parameters in severe acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1859-1861.
  5. Shiokawa M, Kodama Y, Hiramatsu Y, Kurita A, Sawai Y, Uza N, Watanabe T, Chiba T. Autoimmune pancreatitis exhibiting multiple mass lesions. *Case Rep Gastroenterol* 2011;5:528-533.
  6. Nishio A, Asada M, Uchida K, Fukui T, Chiba T, Okazaki K: The role of innate immunity in the pathogenesis of experimental autoimmune pancreatitis in mice. *Pancreas* 2011;40: 95-102.
- ##### 2. 学会発表
1. 塩川雅広、栗田 亮、澤井勇悟、辻喜久、宇座徳光、児玉裕三、河南智晴、千葉 勉. 自己免疫性膵炎の臨床像の検討. 第 97 回日本消化器病学会総会・ミニシンポジウム. 東京. 2011.5.15.
  2. Tomohiro Watanabe, Tsutomu Chiba. Activation of toll-like receptors and NOD-like receptors provides a mechanism for enhanced IgG4 receptors in autoimmune. 15th International Congress of Mucosa Immunology. Paris, France. 2011.7.8.

3. 塩川雅広. 自己免疫性膵炎における  
各種悪性腫瘍合併についての検討.  
第 19 回若手膵臓研究会. 福岡.  
2011.10.20.

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

## IgG4 関連自己免疫性膵炎における ICOS 陽性制御性 T 細胞の役割

研究分担者 岡崎和一 関西医科大学内科学第三講座 主任教授

研究要旨：ICOS 陽性制御性 T 細胞が高率に IL-10 を産生するとの報告がなされている。本研究では自己免疫性膵炎患者の制御性 T 細胞を膵組織や末梢血において解析し、IgG4 産生のメカニズムについて検討した。

### 共同研究者

内田一茂 関西医科大学内科学第三講座

### A. 研究目的

自己免疫性膵炎は血清 IgG、IgG4 の上昇や自己抗体の出現などの免疫学的異常を伴い、病理学的に IgG4 陽性形質細胞の浸潤を特徴とする新しい臨床的疾患概念である。しかしながら、IgG4 の役割は不明である。近年、制御性 T 細胞 (Treg) は、様々な自己免疫疾患への関与が示唆されている。我々は現在まで自己免疫性膵炎患者の末梢血における制御性 T 細胞について比較検討した結果、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> (Naïve Treg) が減少し、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> 細胞 (Treg) の増加していることを見いだした。また膵組織中にも Foxp3 陽性細胞が浸潤していることを見いだした。

近年 IgG4 産生には制御性 T 細胞の産生する IL-10 が関与していること、また、ICOS 陽性制御性 T 細胞が高率に IL-10 を産生するとの報告がなされている。本研究では自己免疫性膵炎患者の制御性 T 細胞を解析し、IgG4 産生のメカニズムについて検討した。

### B. 研究方法

1) 自己免疫性膵炎患者 (AIP) 44 例 (女性 14 名、男性 30 名; 平均年齢 65 歳) を対象とした。また、アルコール性慢性膵炎患者 20 例 (女性 0 名、男性 20 名; 平均年齢 59 歳)、特発性慢性膵炎患者 17 例 (女性 10 名、男性 7 名; 平均年齢 55 歳)、健常人 27 例 (女性 10 名、男性 17 名; 平均年齢 61 歳) を対照とした。

2) 自己免疫性膵炎患者、アルコール性慢性膵炎患者、特発性慢性膵炎患者、健常人の末梢血リンパ球の制御性 T 細胞、ICOS 陽性制御性 T 細胞の動態についてフローサイトメトリーを用いて検討した。

3) ICOS 陽性制御性 T 細胞の機能を調べるために自己免疫性膵炎患者と健常人の末梢血リンパ球の CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> 制御性 T cell の細胞内サイトカイン IL-10 と ICOS 陽性細胞の関係について検討した。

(倫理面への配慮)

関西医科大学医学倫理委員会に承認され、被験者は自由意志で研究に参加し、個人の人権を擁護し、意志を尊重する。被験者の個人情報保護し、学会や専門雑誌に発表する場合も、個人情報はわからないようにする。

### C. 研究結果

1) 末梢血 Treg 中の ICOS 陽性 Treg の割合は、AIP 群 (3.45% ± 1.58%) は慢性アルコール性膵炎群 (1.71% ± 0.98%)、特発性慢性膵炎群 (1.80% ± 0.86%)、健常人群 (1.57% ± 0.69%) と比較して有意に高値を示した (p < 0.05)。  
2) IL-10 陽性 Treg は健常人群 (1.38% ± 0.64%) と比較して AIP 群 (3.81% ± 1.52%) では有意に高値を示した (p < 0.05)。

### D. 考察

AIP 患者においては末梢血 ICOS 陽性 Treg が増加しており、IgG4 産生に関与している可能性が示唆された。その機序としては ICOS 陽性制御性 T 細胞が IL-10 を産生し、末梢血中や膵組織中の B 細胞が IgG4 を産生する形質細胞へのクラススイッチを促進させていると考えられる。

### E. 結論

ICOS 陽性制御性 T 細胞の増加が IgG4 関連自己免疫性膵炎における IgG4 産生に影響がある可能性がある。

### F. 参考文献

1) Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N. Chronic pancreatitis caused by autoimmune abnormality. Proposal of concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 40:1561-1568, 1995.

2) Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 344:732-738, 2001.

3) Kamisawa T, et al. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol* 38:982-4, 2003.

G. 健康危険情報  
なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Umehara H, et al., "Comprehensive Diagnostic Criteria (CDC criteria) for IgG4-related disease (IgG4-RD)", *Modern Rheumatology* (in press)

2) Kalaitzakis E, Levy M, Kamisawa T, Johnson GJ, Baron TH, Topazian MD, Takahashi N, Kanno A, Okazaki K, Egawa N, Uchida K, Sheikh K, Amin Z, Shimosegawa T, Sandanayake NS, Church NI, Chapman MH, Pereira SP, Chari S, Webster GJ. Endoscopic Retrograde Cholangiography Does Not Reliably Distinguish IgG4-Associated Cholangitis From Primary Sclerosing Cholangitis or Cholangiocarcinoma. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2011; 9(9):800-803, e2

3) Okazaki K, Uchida K, Miyoshi H, Ikeura T, Takaoka M, Nishio A. Recent Concepts of Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Disease. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2011; 41(2):126-138

4) Okazaki K, Uchida K. Immunological aspects of IgG4-related disease. *Current immunology reviews*. 2011; 7(2):204-211.

5) Tomiyama T, Uchida K, Matsushita M, Ikeura T, Fukui T, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. Comparison of steroid pulse therapy and conventional oral steroid

therapy as initial treatment for autoimmune pancreatitis. *Journal of Gastroenterology*. 2011;46(5):696-704.

6) Okazaki K, Uchida K, Koyabu M, Miyoshi H, Takaoka M. Recent advances in the concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease. *Journal of gastroenterology*. 2011; 46(3):277-288.

7) 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. *Modern Rheumatology*. 2011; DOI:10.1007/s10165-011-0508-6.

8) Sugumar A, Levy MJ, Kamisawa T, J M Webster G, Kim MH, Enders F, Amin Z, Baron TH, Chapman MH, Church NI, Clain JE, Egawa N, Johnson GJ, Okazaki K, Pearson RK, Pereira SP, Petersen BT, Read S, Sah RP, Sandanayake NS, Takahashi N, Topazian MD, Uchida K, Vege SS, Chari ST. Endoscopic retrograde pancreatography criteria to diagnose autoimmune pancreatitis: An international multicentre study. *Gut*. 2011; 60(5):666-670.

9) Kusuda T, Uchida K, Miyoshi H, Koyabu M, Satoi S, Takaoka M, Shikata N, Uemura Y, Okazaki K. Involvement of Inducible Costimulator- and Interleukin 10-Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-Related Autoimmune Pancreatitis. *Pancreas*. 2011;40(7):1120-1130.

10) Kamisawa T, Chari ST, Giday SA, Kim MH, Chung JB, Lee KT, Werner J, Bergmann F, Lerch MM, Mayerle J, Pickartz T, Lohr M, Schneider A, Frulloni L, Webster GJ, Reddy DN, Liao WC, Wang HP, Okazaki K, Shimosegawa T, Kloepfel G, Go VL. Clinical Profile of Autoimmune Pancreatitis and Its Histological Subtypes: An International Multicenter

- Survey. *Pancreas* 2011; 40(6):809-814
- 11) Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L, Kamisawa T, Kawa S, Mino-Kenudson M, Kim MH, Klöppel G, Lerch MM, Löhr 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; 40(3):352-358.
  - 12) Kamisawa T, Kim M-H, Liao W-C, Liu Q, Balakrishnan V, Okazaki K, Shimosegawa T, Chung JB, Lee KT, Wang H-P, Lee T-C, Choudhuri G. Clinical characteristics of 327 Asian patients with autoimmune pancreatitis based on asian diagnostic criteria. *Pancreas*. 2011; 40(2):200-205.
  - 13) Nishio A, Asada M, Uchida K, Fukui T, Chiba T, Okazaki K. The Role of Innate Immunity in the Pathogenesis of Experimental Autoimmune Pancreatitis in Mice. *Pancreas*. 2011; 40(1):95-102
  - 14) 岡崎和一. IgG4関連疾患. *BIO Clinica*. 2011; 26(11):1049-1055.
  - 15) 岡崎和一, 内田一茂, 福井由里, 池浦司. IgG4測定方法と正常値、診断的意義 *Modern Media*. 2011; 57(5):146-149
  - 16) 岡崎和一 自己免疫性膵炎治療の進歩. *クリニシアン* 2011;58(601):994-1000
  - 17) 岡崎和一 膵臓疾患の診療ガイドライン 自己免疫性膵炎診療ガイドライン2009 日本臨床. (別冊 膵臓症候群):469-480
  - 18) 岡崎和一, 中島淳, 岸本真房, 栗島亜希子, 内田一茂 各論 自己免疫性膵炎 臨床検査 2011; 55(8):753-761
  - 19) 岡崎和一 IgG4関連疾患 日本内科学会雑誌 2011; 100(9):2667-2675
2. 学会発表  
国際学会
1. Kazushige Uchida, Takeo Kusuda, Yutaku Sakaguchi, Katsunori Yoshida, Toshiro Fukui, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki. Possible role of ICOS and IL-10 Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. American Pancreatic Association Meeting. 2011/11. Chicago, USA.
  2. Kazushige Uchida, Takeo Kusuda, Yutaku Sakaguchi, Katsunori Yoshida, Toshiro Fukui, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki. Possible role of ICOS and IL-10 Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. American Pancreatic Association Meeting. 2011/11. Chicago, USA.
  3. Kazuichi Okazaki, Kimi Sumimoto, Tsukasa Ikeura, Kazushige Uchida, Makoto Takaoka. HOW to recognize the mimickers of pancreas cancer in AIP? Japanese experience. Joint Meeting of the 4th Asian-Oceanic Pancreas Association and 2011 Annual Congress of the Korean Pancreatobiliary Association 2011/09. Jeju, Korea
  4. Shinji Nakayama, Akiyoshi Nishio, Yutaku Sakaguchi, Katsunori Yoshida, Toshiro Fukui, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki. The Participation of innate and Acquired Immunity of Alcoholic Chronic Pancreatitis DDW2011 2011/05 Chicago, USA.
  5. Takeo Kusuda, Kazushige Uchida, Yutaku Sakaguchi, Katsunori Yoshida, Toshiro Fukui, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki. Involvement of ICOS and IL-10 Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. DDW2011 2011/05 Chicago, USA
  6. K Uchida, T Kusuda, H Miyoshi, T Ikeura, Y Sakaguchi, K Yoshida, T Fukui, M Shimatani, M Matsushita, M Takaoka, A Nishio, K Okazaki Possible role of ICOS positive and IL-10 producing regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and Indian Pancreas Club Kochi, Kerala, India 2011/02
- 国内学会
1. 楠田武生、内田一茂、三好秀明、福井由理、小薮雅紀、深田憲将、坂口雄沢、吉田勝紀、福井寿朗、池浦司、島谷昌明、高岡亮、西尾彰功、岡崎和一. 自己免疫

性膵炎(AIP)におけるIL-10とICOS陽性制御性T細胞に関する検討. 第21回日本サイトメトリー学会. 2011/06. 京都

2. Kazuichi Okazaki, Hisanori Umehara. Concept of IgG4-related Disease and Proposal of Comprehensive Diagnostic Criteria in Japan. 第20回日本シェーグレン症候群学会 2011/09 金沢市
3. 内田一茂、小藪雅紀、岡崎和一 IgG4関連疾患としての肝胆膵病変における制御性T細胞とIgG4陽性形質細胞の検討第97回日本消化器病学会総会 2011/05 東京
4. 内田一茂、岡崎和一 パネルディスカッション自験例よりみた自己免疫性膵炎の診断に関する検討 第42回日本膵臓学会大会 2011/07 弘前市
5. 岡崎 和一、内田 一茂 IgG4関連疾患としての肝胆膵病変における制御性T細胞とIgG4陽性形質細胞の検討 JDDW2011 2011/10 福岡市
6. 内田 一茂、西尾 彰功、岡崎 和一 IgG4関連疾患におけるIgG4陽性細胞と制御性T細胞に関する検討 第48回日本消化器免疫学会総会 2011/07 金沢市

H. 知的所有権の出願・取得状況

- 1) 特許取得 該当なし
- 2) 実用新案登録 該当なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

自己免疫性膵炎にみられる線維化の病理学的検討

研究協力者 能登原憲司 倉敷中央病院病理検査科 主任部長

研究要旨：1型の自己免疫性膵炎（AIP）にみられる“線維化巣”には豊富な細胞成分が含まれ、本当の線維化についてはあまり評価されてこなかった。そこで、線維化の程度を正確に評価し、慢性膵炎との違いを明らかにする目的で、9例の1型AIP、4例の慢性膵炎の切除材料を用い、elastica van Gieson (EVG)染色、コラーゲン（I型、III型、VI型）、 $\alpha$ -smooth muscle actin (ASMA)の免疫染色を行った。1型AIPにみられるコラーゲンはI型が主体であり、III型が一部陽性、VI型は陰性であった。EVG染色にて同定される線維化巣とI型コラーゲンの分布、ASMA陽性細胞の分布はよく一致し、膵辺縁から小葉間に及ぶ線維化巣全体に陽性所見がみられたが、細胞成分の豊富な花筵状線維化ではコラーゲンは乏しく、ASMA陽性細胞を認めるのみであった。小葉や膵管上皮周囲の炎症巣はEVG染色にて均一に淡く染色され、I型コラーゲンを弱く発現しており、ASMA陽性細胞は乏しかった。慢性膵炎にみられるコラーゲンのタイプも1型AIPと同様で、ASMA陽性細胞の数は症例によって異なっていた。1型AIPの線維化巣の中には、細胞成分に富む花筵状線維化のようにコラーゲン産生の乏しい部分がある一方で、I型コラーゲンを主体とする真の線維化が認められる。線維化の評価にはEVG染色が有用である。

共同研究者

和仁洋治（倉敷中央病院病理検査科）  
藤澤真義（姫路赤十字病院病理診断科）

A. 研究目的

IgG4関連疾患の組織学的特徴のひとつに線維化、特に花筵状線維化が挙げられる。私たちは今までの研究で、花筵状線維化にはCD163陽性紡錘形マクロファージの増生がみられることを報告し<sup>1)</sup>、花筵状線維化は単なる線維化巣ではなく、細胞成分の豊富な炎症巣であることを明らかにした。IgG4関連疾患にみられる本当の線維化は今まで注目されていなかったが、その評価はHE標本のみでは困難であり、特殊染色や免疫染色を用いて解析を

行うことが必要である。そこで私たちは、1型の自己免疫性膵炎（autoimmune pancreatitis; AIP）の切除材料を用い、特殊染色による線維化の評価、コラーゲンのタイプの同定、慢性膵炎との違いについて検討した。

B. 研究方法

1型AIP 9例、慢性膵炎 4例の切除材料を用いて検討を行った。線維化の評価はelastica van Gieson (EVG)染色にて行った。コラーゲン（I型、III型、VI型）、ならびに筋線維芽細胞・膵星細胞のマーカーである $\alpha$ -smooth muscle actin (ASMA)の免疫染色を行い、病変内での分布を検討した。

(倫理面への配慮)

この研究は倉敷中央病院病理検査科内で、個人情報の保護に配慮を払いながら行われた。この研究は診断目的で過去に得られた組織検体を用いる後向き研究で、研究対象者に与える不利益、危険性は最小限であり、また被験者の権利を脅かす危険性も低い。

### C. 研究結果

1型AIPにみられるコラーゲンはI型が主体であり、III型が一部陽性、VI型は陰性であった。EVG染色にて同定される線維化巣とI型コラーゲンの分布はよく一致していた。

細胞成分のきわめて豊富な花筵状線維化にはEVG染色にて同定される線維化は乏しく、いずれのタイプのコラーゲンの発現も弱かった。しかしこの部分には、ASMA陽性細胞は豊富に認められた。

それ以外の花筵状線維化にはEVG染色で線維化が同定され、特にI型コラーゲンが陽性となった(図A,B)。このような部分にも多数のASMA陽性細胞が同定されたが(図C)、一部ではASMA陽性細胞が減少したところもあった。

1型AIPの線維化は、膵周囲脂肪組織・膵辺縁から小葉間に及び、小葉間にはEVG染色で確認される線維化、I型コラーゲンともに豊富であった。ASMA陽性細胞は小葉間線維化巣にも豊富に同定された。一方、小葉内の炎症巣はEVG染色にて均一に淡く染色され、I型コラーゲンもびまん性に弱く陽性であった。しかし小葉内には、ASMA陽性細胞はきわめて少数であった。同様の所見は膵管上皮周囲にみられる炎症巣においても認められた。

慢性膵炎においては、EVG染色にて小葉間に線維化、I型主体、一部III型のコラーゲンの発現が認められ、さらにさまざまな程度に小葉内にも筋状に線維化が波及していた。小葉間線維化巣におけるASMA陽性細胞の数は症例によって異なっていた。小葉内には少数のASMA陽性細胞が同定された。仮性嚢胞を伴う症例においては、嚢胞壁に多数のASMA陽性細胞が増生し、周囲に比べて強いI型およびIII型コラーゲンの発現が認められた。

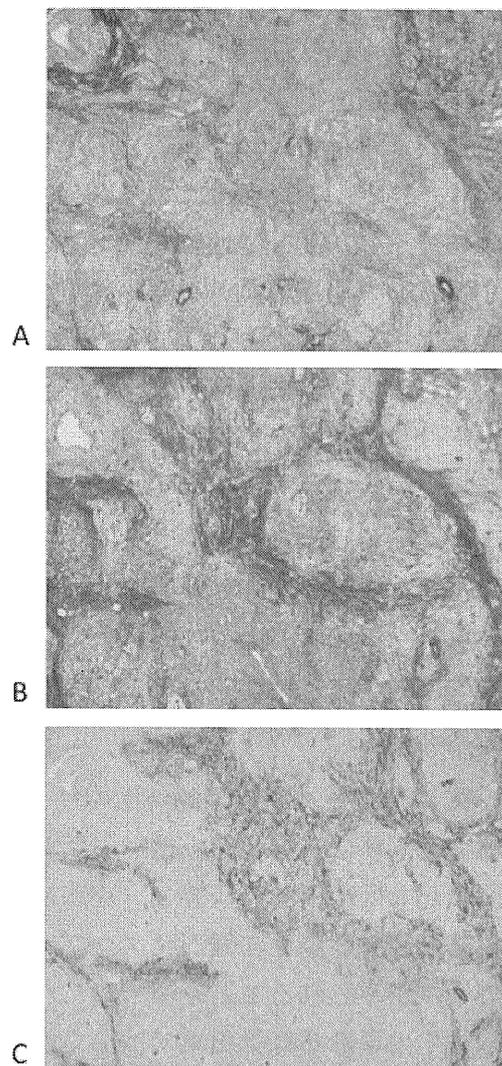


図. 1型自己免疫性膵炎にみられる線維化. A) EVG染色. B) 1型コラーゲンの免疫染色. C) ASMAの免疫染色.

### D. 考察

私たちの以前の検討で、1型AIPの特徴とされる花筵状線維化は紡錘形マクロファージ、炎症細胞など細胞成分の豊富な炎症巣であることが明らかになってきたが<sup>1)</sup>、今回の細胞外基質の検討でさらに、細胞成分の豊富な花筵状線維化の部分には線維化の所見もいずれのタイプのコラーゲンの形成も乏しいことが明らかとなった。一方で、花筵状線維化の中には確かに線維化が存在し、I型および一部III型のコラーゲンが認められた。EVG染色で同定される線維化とI型コラーゲンの分布はよく一致しており、線維化の評価にEVG染色が非常に有用であることが証明できた。

小葉内、膵管上皮周囲の炎症巣においては、線維化として認識することの困難な繊細な線維化、I型コラーゲン弱陽性所見が認められた。このような部位にはASMA陽性細胞は乏しく、線維化の機序は明らかに出来なかった。これは大変興味深い所見であったが、異なる抗体を用いた検討など、さらなる検索が必要と考える。

I型AIPにみられるコラーゲンはI型主体、一部III型で、慢性膵炎との差は認められなかった。Songら<sup>2)</sup>は、III型コラーゲンの発現がI型AIPよりもアルコール性慢性膵炎でより強かったと報告しているが、私たちの検討でも慢性膵炎症例の仮性嚢胞ではIII型コラーゲンの発現が強く認められた。III型コラーゲンは創傷治癒の初期段階で増加すると考えられており、アルコール性慢性膵炎は急性膵炎発作、仮性嚢胞、感染などの急性病変を合併することがあるため、このような差を生じた可能性がある。

近年マクロファージがVI型コラーゲンを産生することが明らかになっているが<sup>3)</sup>、I型AIP、慢性膵炎ともにVI型コラーゲンは同定されなかった。

#### E. 結論

I型AIPの線維化巣の中には、細胞成分に富む花筵状線維化のようにコラーゲン産生の乏しい部分がある一方で、I型コラーゲンを主体とする真の線維化が膵辺縁から小葉間に認められる。線維化の評価にはEVG染色が有用である。

#### F. 参考文献

1. 能登原憲司, 和仁洋治, 藤澤真義. IgG4関連疾患におけるCD163陽性紡錘形マクロファージの増生. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 IgG4関連全身疾患の病態解明と疾患概念確立のための臨床研究. 平成21年度総括・分担研究報告書 17-20.
2. Song MH, Kim MH, Jang SJ, Lee SK, Lee SS, Han J, Seo DW, Min YI, Song DE, Yu E. Comparison of histology and extracellular matrix between autoimmune pancreatitis and alcoholic chronic pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 272-278.
3. Schnoor M, Cullen P, Lorkowski J, Stolle K, Robenek H, Troyer D, Rauterberg J, Lorkowski S. Production of type VI collagen by human macrophages: a new dimension in macrophage functional heterogeneity. *J Immunol* 2008; 180: 5707-5719.

## G. 健康危険情報

該当なし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Notohara K, Wani Y, Fujisawa M. Pathologic findings of autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease. *Curr Immunol Rev* 2011, 7: 212-220.
2. Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L, Kamisawa T, Kawa S, Mino-Kenudson M, Kim MH, Klöppel G, Lerch MM, Löhr M, Notohara K, Okazaki K, Schneider A, Zhang L; International Association of Pancreatology: International consensus diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: guidelines of the International Association of Pancreatology. *Pancreas* 2011, 40: 352-358.
3. Zhang L, Chari S, Smyrk TC, Deshpande V, Klöppel G, Kojima M, Liu X, Longnecker DS, Mino-Kenudson M, Notohara K, Rodriguez-Justo M, Srivastava A, Zamboni G, Zen Y. Autoimmune pancreatitis (AIP) type 1 and type 2: an international consensus study on histopathologic diagnostic criteria. *Pancreas* 2011; 40: 1172-1179.
4. Notohara K, Wani Y, Fujisawa M. Pathology Congress. Taipei, Taiwan, 2011年5月.
5. Notohara K. IgG4-related lymphadenopathy. 7th Asia Pacific International Academy of Pathology Congress. Taipei, Taiwan, 2011年5月.
6. 能登原憲司. 自己免疫性膵炎の病理診断: 花筵状線維化の再検討. 第42回日本膵臓学会大会. 青森, 2011年7月.
7. 能登原憲司. IgG4 関連疾患の病理. 第12回東京びまん性肺疾患研究会. 東京, 2011年10月.
8. Notohara K, Wani Y, Fujisawa M. Storiform fibrosis in various organs involved by IgG4-related disease. International Symposium on IG4-Related Disease. Boston, MA, USA. 2011年10月.
9. 能登原憲司. IgG4 関連疾患の病理学的特徴. 第53回日本消化器病学会大会 (JDDW2011). 福岡. 2011年10月.
10. 宮部勝之, 能登原憲司, 中沢貴宏. 自己免疫性膵炎の診断における閉塞性静脈炎の特徴と定義. 第53回日本消化器病学会大会 (JDDW2011). 福岡. 2011年10月.
11. Notohara K, Hotta M, Wani Y, Matsuda T. Recurrent type 1 autoimmune pancreatitis. 第57回日本病理学会秋期特別総会サテライトシンポジウム. 東京, 2011年11月.
12. Notohara K. Pathological findings of type 1 and type 2 AIP. The International Pancreatic Research Forum 2011. 大阪, 2011年11月.
13. 能登原憲司. ポストンで新たに判明した IgG4 関連疾患における病理上の問題点. 第6回 IgG4 研究会. 金沢. 2012年3月.

### 2. 学会発表

1. Notohara K. Autoimmune pancreatitis: role of pathologists for making the diagnosis. 7th Asia Pacific International Academy of

11. Uchino K, Notohara K, Fujisawa M, Wani Y, Matsukawa A. Expression of other M2-macrophage markers in CD163+ dendritic macrophages in lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. 101<sup>th</sup> Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.
12. Miyabe K, Notohara K, Nakazawa T, Hayashi K, Naitoh I, Okumura F, Shimizu S, Yoshida M, Yamashita H, Ohara H, Joh T. Comparison of the immunohistochemical staining methods for the diagnosis of lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. 101<sup>th</sup> Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.
13. Notohara K, Uchino K, Wani Y, Fujisawa M, Miyabe K, Nakazawa T, Kawa S. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis with neutrophilic infiltration: comparison with cases without neutrophilic infiltration. 101<sup>th</sup> Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.
14. Notohara K, Miller DV. IgG4-positive plasma cells in ascending aortitis: are they diagnostic for IgG4-related aortitis/periaortitis? 101<sup>th</sup> Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.

- 該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他  
該当なし

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

## V. 研究成果の刊行に関する一覧