

(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

①ステロイド使用のないAIP患者血清と特発性膵炎患者血清との比較検討:

4963m/zのピーク蛋白のピーク強度がAIP患者で有意に高く($P < 0.05$)、2560m/zのピーク蛋白のピーク強度も有意ではないものの($P = 0.051$)、AIP患者で高値を示した。これらのピーク強度はステロイドを使用しているAIP患者ではより低い傾向を示したものの、アルコール性膵炎患者でも上昇していた。

②治療前後のAIP患者血清の比較検討:
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。

③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:

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。

④プロテインアレイによる自己抗体の探索:

抗EXOC3抗体、抗APIP抗体、抗WDR1抗体がAIP患者で上昇していたが、健常

者と比較して抗体価に有意差を認めなかった。また、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、特発性膵炎患者より AIP 患者に多く存在するピーク蛋白、および AIP 治療後にピーク強度が変化するピーク蛋白が認められた。後者のうち 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 値とよく相関しており、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 に関連した複数の蛋白を認めた。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。

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) 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 peptide-1 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis. The

- 5th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium (Seoul, Korea) 2010/10/2
- 7) Sasaki F, Ido A, Sakiyama T, Takami Y, Kumagai K, Nasu Y, Hashimoto S, Kanmura S, Moriuchi A, Uto H, Oketani M, Tsubouchi H. Osteoactivin expressed in intestinal macrophages negatively regulates inflammation. Digestive Disease Week 2010 (New Orleans, USA) 2010/5/5
- 8) Kanmura S, Sakiyama T, Morinaga Y, Sasaki F, Ibusuki K, Setoyama H, Funakawa K, Uto H, Ido A, Tsubouchi H. Human neutrophil peptides 1-3 induce IL-8 and VEGF in intestinal epithelial cells. The 4th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium (Tokyo, Japan) 2010/1/23
- 9) Hashimoto S, Uto H, Kanmura S, Oku M, Tanoue S, Nasu Y, Sasaki F, Moriuchi A, Fujita H, Hasegawa S, Yamamoto T, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Human neutrophil peptide-1 has cytotoxic effects on colon cancer cells and aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis. Digestive Disease Week 2009 (Chicago, USA) 2009/5/30
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 指宿和成、寄山敏男、上村修司、前田拓郎、有馬志穂、岩下祐司、隈元亮、佐々木文郷、山路尚久、瀬戸山仁、船川慶太、井戸章雄、坪内博仁 Human neutrophil peptideは腸管上皮細胞IL-8、ICAM-1の発現を亢進させる 第52回日本消化器病学会大会 横浜 2010/10/13
- 13) 佐々木文郷、井戸章雄、高見陽一郎、熊谷公太郎、那須雄一郎、橋元慎一、上村修司、船川慶太、寄山敏男、宇都浩文、桶谷真、坪内博仁 マウスDSS実験腸炎モデルにおけるオステオアクチビンの役割 第52回日本消化器病学会大会 横浜 2010/10/13
- 14) 上村修司、宇都浩文、佐々木文郷、橋元慎一、瀬戸山仁、船川慶太、寄山敏男、井戸章雄、坪内博仁 腸管上皮細胞のサイトカイン発現におけるHuman Neutrophil Peptide 1-3の作用 第46回日本消化器免疫学会総会 松山 2009/7/3
- 15) 橋元慎一、宇都浩文、上村修司、佐々木文郷、屋万栄、田ノ上史郎、森内昭博、藤田浩、長谷川将、山元隆文、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁 潰瘍性大腸炎患者血清中に上昇するHuman Neutrophil Peptide(HNP)-1の病態への関与 第95回日本消化器病学会総会 札幌 2009/5/7

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細胞を用いて、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 関連疾患の発症に自然免疫反応を介する BAFF の産生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

試みた。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)

京都大学倫理委員会で承認済みである。

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

健常人及び IgG4 関連疾患患者の末梢血より免疫担当細胞を精製し、様々な TLR 及び NLR ligands で刺激し、IgG4 の産生に関わる細胞及びサイトカインの同定を

C. 研究結果

NOD2 の ligand である Muramyl dipeptide (MDP) の刺激により、健常者の末梢血単核球による IgG4 の産生が亢進した。NOD2 の活性化による IgG4 の産生は T 細胞には依存しなかった。さらに、その機序として、NOD2 を活性化された monocytes が BAFF を産生することにより、B 細胞からの IgG4 の産生を誘導することが明らかになった。一方、IgG4 関連疾患患者の末梢血細胞は NOD2 のみならず TLR の活性化により、大量の IgG4 及び BAFF を産生した。

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。T 細胞非依存性に TLR/NLR 経路を介して、IgG4 の産生が誘導

されるという新たなメカニズムを同定することができた。また、本疾患のバイオマーカーや新規治療標的としてのBAFFの可能性が示唆された。本研究によりIgG4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

自然免疫シグナルはBAFFの産生を介して、IgG4の産生を誘導する。

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.
7. Akitake R, Watanabe T, Zaima C, Uza N, Ida H, Tada S, Nishida N, Chiba T: Possible involvement of T helper Type 2 responses to toll -like receptor ligands in IgG4-related sclerosing disease. *Gut* 2010;59:542-545.
8. Chung H, Watanabe T, Kudo M, Maenishi O, Wakatsuki Y, Chiba T: Identification and characterization of IgG4-associated autoimmune hepatitis.

- Liver Int 2010;30:222-231.
9. Chiba T: Are immunoglobulin G4-positive multiorgan lymphoproliferative syndrome and autoimmune pancreatitis different manifestations of a common clinicopathologic entity? (Selected Summary). Gastroenterology. 2010; 138:781-784.
 10. Tsuji Y, Hamaguchi K, Watanabe Y, Okumura A, Isoda H, Yamamoto N, Kikuchi O, Yamamoto H, Matsuda K, Ueno K, Tada S, Togashi K, Yamamoto H, Chiba T: Perfusion CT is superior to angiography in predicting pancreatic necrosis in patients with severe acute pancreatitis. J Gastroenterol 2010;45:1155-1162.
 11. Fukuhara M, Watanabe T, Ueo T, Ida H, Kodama Y, Chiba T: Enhanced cytokine responses to Toll-like and NOD-like receptor ligands in primary biliary cirrhosis-CREST overlap syndrome. Rheumatology 2010; 49:1602-1604.
2. 学会発表
1. 渡邊智裕、千葉 勉. 消化管粘膜に存在する IgG4 陽性形質細胞の IgG4 関連硬化性疾患における役割. 第 96 回日本消化器病学会総会・ワークショップ. 新潟. 2010.4.23.
 2. 窪田博仁、山田 敦、石津祥子、上田佳秀、児玉裕三、千葉 勉. IgG4 関連硬化性胆管炎との鑑別が困難であった胆管癌の 1 例. 日本消化器病学会近畿支部 第 93 回例会. 大
 3. 吉澤 淳、上田佳秀、上本伸二. 自己免疫性肝胆道疾患に対する肝移植症例の検討. 第 14 回日本肝臓学会・シンポジウム (JDDW2010). 横浜. 2010.10.13.
 4. 辻 喜久、能登原憲司、山本 博、千葉 勉. 重症急性膵炎に合併した NOMI の病理所見と治療選択についての考察. 第 52 回日本消化器病学会大会 (JDDW2010). 横浜. 2010.10.15.
 5. 辻 喜久、渡邊智裕、千葉 勉. 急性膵炎の重症化に関わる自然免疫担当分子の同定とその分子機序の解明. 第 52 回日本消化器病学会大会・パネルディスカッション (JDDW2010). 横浜. 2010.10.15.
 6. 廣田衛久、辻 喜久、下瀬川徹. Perfusion CT による自己免疫性膵炎と膵癌の識別. 第 52 回日本消化器病学会大会・ワークショップ (JDDW2010). 横浜. 2010.10.15.
 7. 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.
 8. 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.
 9. 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：制御性 T 細胞は自己免疫疾患に深く関わっていることは知られているが、1 型自己免疫性膵炎における役割は不明である。また近年 IgG4 産生に制御性 T 細胞が関わっており、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 1 型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、 $CD4^+CD25^+CD45RA^+$ (Naïve Treg) が減少し、 $CD4^+CD25^{high}$ 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 $CD4^+CD25^{high}$ 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。

4) また膵組織の得られた 6 例と膵外病変については肝組織 AIP18 例と PSC26 例について Treg と IgG4 陽性形質細胞について検討した。

(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。被験者の個人情報と保護し、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 ($3.45\% \pm 1.58\%$) は慢性アルコール性膵炎群 ($1.71\% \pm 0.98\%$)、特発性慢性膵炎群 ($1.80\% \pm 0.86\%$)、健常人群 ($1.57\% \pm 0.69\%$) 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 ($1.38\% \pm 0.64\%$) と比較して AIP 群 ($3.81\% \pm 1.52\%$) では有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

3) 膵組織については AIP では Treg は (24.6 ± 18.0 cells/HPF)、対象患者は (5.143 ± 4.35 cells/HPF) であった。IgG4 陽性細胞は AIP では (24.6 ± 18.0 cells/HPF)、対象患者では (1.90 ± 1.05 cells/HPF) であった。肝組織については AIP では Treg は (5.33 ± 1.53 cells/HPF)、PSC では (2.04 ± 1.59 cells/HPF) であった。IgG4 陽性細胞は AIP 患者では (14.3 ± 6.86 cells/HPF)、PSC では (3.58 ± 0.60 cells/HPF) で、膵臓、肝臓とも

に AIP 症例では Treg、IgG4 陽性細胞ともに増加していた。

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. 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*. 2011 Oct 3. doi: 10.1002/art.33386
2. Uchida K, Tomiyama T, Matsushita M, Okazaki K. Reply to the letter by A. Eshraghian et al. regarding "Oral steroid versus steroid pulse therapy for autoimmune pancreatitis" *J Gastroenterol*. 2011 Sep 24. [Epub ahead of print]

3. 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):1120-30.
4. Okazaki K, Uchida K, Koyabu M, Miyoshi H, Takaoka M. Recent advances in the concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease. *J Gastroenterol*. 2011;46(3):277-88. *Pancreas*. 2011;40(3):352-358.
5. 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. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(9):800-803.e2.
6. 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):352-8.
7. Kamisawa T, Kim MH, Liao WC, Liu Q, Balakrishnan V, Okazaki K, Shimosegawa T, Chung JB, Lee KT, Wang HP, Lee TC, Choudhuri G. Clinical characteristics of 327 Asian patients with autoimmune pancreatitis based on Asian diagnostic criteria. *Pancreas*. 2011 Mar;40(2):200-5
8. 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. *J Gastroenterol*. 2010 Dec 25. [Epub ahead of print]
9. Okazaki K, Uchida K, Miyoshi H, Ikeura T, Takaoka M, Nishio A. Recent Concepts of Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011;41(2):126-38.
10. Kusuda T, Uchida K, Satoi S, Koyabu M, Fukata N, Miyoshi H, Ikeura T, Sakaguchi Y, Yoshida K, Fukui T, Shimatani M, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Uemura Y, Kwon AH, Okazaki K. Idiopathic duct-centric pancreatitis (IDCP) with immunological studies. *Intern Med*. 2010;49(23):2569-75.
11. 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.
12. Okazaki K, Uchida K, Fukui T, Takaoka M, Nishio A. Autoimmune pancreatitis-a new evolving pancreatic disease? *Langenbecks Arch Surg*. 2010;395(8):989-1000.
 13. Kamisawa T, Okazaki K, Kawa S, Shimosegawa T, Tanaka M; Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: III. Treatment and prognosis of AIP. *J Gastroenterol*. 2010;45(5):471-7.
 14. Kawa S, Okazaki K, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; Working members of Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: II. Extrapancreatic lesions, differential diagnosis. *J Gastroenterol*. 45(4):355-369.2010
 15. Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: I. Concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol*. 2010; 45(3):249-65.
 16. Koyabu M, Uchida K, Miyoshi H, Sakaguchi Y, Fukui T, Ikeda H, Takaoka M, Hirohara J, Nishio A, Uemura Y, Uemoto S, Okazaki K. Analysis of regulatory T cells and IgG4-positive plasma cells among patients of IgG4-related sclerosing cholangitis and autoimmune liver diseases. *J Gastroenterol*. 2010;45(7):732-41
 17. Koyabu M, Uchida K, Fukata N, Kusuda T, Ikeura T, Sakaguchi Y, Yoshida K, Shimatani M, Fukui T, Matsushita M, Uemura Y, Kaibori M, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. Primary sclerosing cholangitis with elevated serum IgG4 levels and/or infiltration of abundant IgG4-positive plasma cells. *J Gastroenterol*. 2010;45(1):122-9.
 18. Asada M, Nishio A, Akamatsu T, Tanaka J, Saga K, Kido M, Watanabe N, Uchida K, Fukui T, Okazaki K, Chiba T. Analysis of humoral immune response in experimental autoimmune pancreatitis in mice. *Pancreas*. 2010;39(2):224-31.
 19. 2010;39(2):224-31.
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

7. Koyabu M, Uchida K, Miyoshi H, Kusuda T, Fukata N, Ikeura T, Sakaguchi Y, Yoshida K, Fukui T, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. Possible role of regulatory T cells in producing IgG4 in the involved organs with autoimmune pancreatitis. 2010/5 DDW 2010 New Orleans
8. Okazaki K. Overview of AIP: Agreement and Disagreement in Hawaii. Joint meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society. 2010/7 Fukuoka.
9. Okazaki K. Should Diffuse and Focal Types be Distinguished in the Diagnostic Procedure? Joint meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society. 2010/7 Fukuoka.
10. Kazushige Uchida, Takeo Kusuda, Masanori Koyabu, Hideaki Miyoshi, Norimasa Fukata, Yutaku Sakaguchi, Tsukasa Ikeura, Katsunori Yoshida, Masaaki Shimatani, Toshiro Fukui, Mitsunobu Matsushita, Makoto Takaoka, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki. Involvement of ICOS and IL-10 positive regulatory T cells in the development of autoimmune pancreatitis. Joint meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society. 2010/7 Fukuoka.
11. Kusuda T, Uchida K, Okazaki K. et al. Examination of the immunological difference in LPSP and IDCP. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010. 2010/07 Fukuoka.
11. K. Uchida, M. Koyabu, T. Kusuda, H. Miyoshi, N. Fukata, Y. Sakaguchi, T. Ikeura, K. Yoshida, M. Shimatani, T. Fukui, M. Matsushita, M. Takaoka, A. Nishio, K. Okazaki. Relationship between T cells and IgG4-positive plasma cells in the involved organs with autoimmune pancreatitis. International congress of Immunology 2010. 2010/8 Kobe.
12. K Uchida, T Kusuda, T Ikeura, Y Sakaguchi, K Yoshida, T Fukui, M Shimatani, M Matsushita, M Takaoka, A Nishio, K Okazaki. Analysis of ICOS and IL-10 positive regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. American Pancreatic Association Meeting.

2010/11 Chicago

国内学会

1. 楠田武生、内田一茂、三好秀明、福井由理、小藪雅紀、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
7. 楠田武生、内田一茂、岡崎和一. IgG4関連疾患としての自己免疫性膵炎(LPSP)と好中球病変(IDCP)における免疫学的相違に関する検討. 日本消化器病学会第96回総会. 新潟、2010年4月
8. 内田一茂、岡崎和一 自験例よりみた自己免疫性膵炎の治療法とその予後第18回消化器関連学会週間. 横浜、2010年10月
9. 楠田武生、内田一茂、岡崎和一. 悪性疾患を疑われ手術された自己免疫性膵炎の切除例の検討 第18回消化器関連学会週間. 横浜、2010年10月
- 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

IgG4 関連疾患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： IgG4 関連疾患においては花筵状線維化と呼ばれる特徴的な線維化がみられる。その病理学的特徴を明らかにする目的で、1) 1 型の自己免疫性膵炎 (AIP) ならびに IgG4 関連硬化性唾液腺炎 (IgG4-SS) に出現する紡錘形マクロファージの検討 [1 型 AIP 15 例, IgG4-SS 9 例, 2 型 AIP 2 例, 唾石症 10 例について CD163, α -smooth muscle actin (ASMA), IgG4 を免疫染色], 2) 膵管癌, 胆管癌に出現するマクロファージ, ならびに IgG4 陽性細胞の検討 (膵管癌 33 例, 胆管癌 11 例について CD163, ASMA, IgG4, IgG1 を免疫染色), 3) 1 型 AIP における線維化の検討 [1 型 AIP 9 例, 慢性膵炎 4 例について elastica van Gieson (EVG) 染色, コラーゲン (I 型, III 型, VI 型), ASMA の免疫染色] を行った。その結果, IgG4 関連疾患の中の 1 型 AIP および IgG4-SS において, CD163 陽性紡錘形マクロファージの顕著な増生がみられることが明らかとなり, マクロファージが IgG4 関連疾患の主要な構成要素であると結論できた。CD163 陽性マクロファージは花筵状線維化のような病理学的特徴を決定するもので, 今後は病理診断への応用も期待させる。膵管癌・胆管癌において出現する CD163 陽性紡錘形マクロファージは散在性で, 1 型 AIP にみられるびまん性で密な分布とは異なっていた。組織学的・免疫組織学的に IgG4 関連疾患類似の反応をきたす膵癌・胆管癌は, 極めて稀であった。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膵辺縁から小葉間に認められた。線維化の評価には EVG 染色が有用であった。

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 関連疾患の病理所見は高度のリンパ球, 形質細胞の浸潤と線維化で, 臓器により多少の組織像の相違はあるが, 閉塞性静脈炎や花筵状線維化 (storiform fibrosis) とよばれる特徴的な所見が出現する^{1,2)}。なかでも花筵状線維化は特異な形態を示す構造で, これを構成する成分についての解析は未だ十分に行われて

いない。私たちは 1 型の自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis; AIP) の病理学的解析の中で, 病変内に多数の紡錘形マクロファージの出現を見出した。そこで IgG4 関連病変におけるマクロファージの関与と特徴的な組織像との関連を明らかにする目的で, 1 型 AIP, IgG4 関連硬化性唾液腺炎 (IgG4-related sclerosing sialadenitis; IgG4-SS), AIP や IgG4 関連硬化性胆管炎の鑑別の上で重要な膵管癌, 胆管癌の切除材料を用いた解析を行った。

さらに, 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AIPの切除材料について、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) 1型AIPならびにIgG4-SSに出現する紡錘形マクロファージの検討

1型AIP 15例、IgG4-SS 9例の切除材料を用いた。対照として2型AIP 2例、唾石症 10例の切除材料を併せて解析した。組織像をHE標本にて検討した。代表的なブロックについてCD163、IgG4の免疫染色を行い、その結果を組織像と対比させた。

2) 膵管癌、胆管癌に出現するマクロファージ、ならびにIgG4陽性細胞の検討

膵管癌 33例、胆管癌 11例の切除材料を用いて、HE標本の所見とCD163、IgG4、IgG1（あるいはIgG）の免疫染色の結果を比較検討した。

3) 1型AIPにおける線維化の検討

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 α -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。実施に当たっては、倉敷中央病院医の倫理委員会の承認を得た（第461号）。

C. 研究結果

1) 1型AIPならびにIgG4-SSに出現する紡錘形マクロファージの検討

1型AIPにおいては花筵状線維化に一致し、CD163陽性マクロファージが集簇性に認められた(図1A, B)。この細胞は紡錘形で、通常の貪食像を示すマクロファージの形態とは異なっていた。細胞浸潤はCD163陽性細胞の分布に一致して認められ、IgG4陽性形質細胞の分布も同様であった。膵実質においては、小葉内、膵管病変においてCD163陽性紡錘形マクロファージの集簇性増生がみられた(図1C)。このような部分では必ずしも定型的な花筵状線維化の所見はみられなかったが、一部では形態学的に花筵状線維化と認識できた。

2型AIP 2例では、CD163陽性紡錘形マクロファージは主に小葉周囲に散在性に分布していた。CD163陽性細胞が集簇性にみられるときには、円形のマクロファージの形態を示していた。

IgG4-SSの組織像は1型AIPとはやや異なり、病変は主に小葉内に多数の過形成性リンパ濾胞を伴ってみられ、線維化は伴わないこともあった。1型AIPの特徴とされる導管の炎症や花筵状線維化、閉塞性静脈炎の頻度は低かった。IgG4関連硬

化性唾液腺炎について CD163 陽性細胞の分布を検討したところ、小葉内の炎症細胞が蜜に分布する部分に陽性の紡錘形マクロファージが集簇性にみられた (図 2A, B). 線維化を伴わない病変部分でも、小葉内には類似の所見がみられた. この所見は 1 型 AIP の小葉内病変と類似していた. 小葉内にはまた IgG4 陽性形質細胞が多数認められた. 小葉構造が消失するような炎症の場合、花筵状線維化を認めることがあるが、このような場所においても CD163 陽性マクロファージは集簇性に認められた.

対照に用いた唾石症においては、CD163 陽性紡錘形マクロファージは既存の結合組織に沿って散在性に存在し (図 2C, D), IgG4-SS にみられる集簇性の分布はほとんどの症例で認められなかった.

2) 膵管癌、胆管癌に出現するマクロファージ、ならびに IgG4 陽性細胞の検討

いずれの症例でも癌巣内に、紡錘形ならびに卵円形の CD163 陽性マクロファージが認められ (図 1D), その数は症例により異なっていた. CD163 陽性紡錘形マクロファージが集簇する像もみられたが、限局性的変化であり、1 型 AIP にみられるようなびまん性で密な増生は認められなかった. 一部の症例では、腫瘍細胞胞巣に沿ってマクロファージが配列する所見があり、腫瘍に対する反応としてのマクロファージの増生と思われた (図 3A). このような所見の周囲にはリンパ球、形質細胞の強い浸潤を伴っていたが、IgG4 陽性形質細胞は認められても一部に限局し、多くはなかった (図 3B).

一方で、多数のマクロファージは炎症

細胞、特に好中球の多い部分に多く認められた. このような炎症巣は残存する膵小葉構造内にみられることもあれば、腫瘍の中に線維芽細胞の増生をきたした、desmoplastic reaction として認識されることもあった. 膵小葉に炎症が強い場合に、小葉辺縁に CD163 陽性マクロファージが好中球浸潤や浮腫を伴って認められることがあり、これは 2 型 AIP に類似する所見であった (図 3C, D). 胆管癌で粘膜内に腫瘍が進展するケースでは、粘膜内の炎症細胞浸潤に一致して、多数の CD163 陽性マクロファージが同定された. いずれの場合も、IgG4 陽性形質細胞の増加を伴うことは稀であった.

膵管癌の 1 例では、典型的な花筵状線維化とは異なるものの、1 型 AIP 類似の組織像を示し、多数の IgG4 陽性形質細胞の浸潤、高い IgG4/IgG1 陽性形質細胞比を伴っていた. そのほかの症例の中にも部分的に、強拡大視野当たり 50 個を越える、極めて多数の IgG4 陽性形質細胞の集簇巣が観察された. また病変全体に、強拡大視野当たり 10 個を越える IgG4 陽性形質細胞のみみられる症例があったが、IgG1 あるいは IgG 陽性形質細胞数に対する比は低く、また組織像も LPSP 類似ではなかった.

3) 1 型 AIP における線維化の検討

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 4A, 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 4C)、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。

D. 考察

CD163 は単球・マクロファージに特異的に発現していると考えられており、近年ではヘモグロビン/ハプトグロビン複合体の受容体 (スカベンジャー受容体) で

あることが明らかにされている³⁾。CD163 は M2 マクロファージのマーカーとして、腫瘍免疫の観点からも注目されている。多数の CD163 陽性マクロファージの浸潤を伴う悪性腫瘍は、宿主の免疫応答を抑制し、またさまざまなサイトカイン産生を促進することにより、腫瘍の増生に有利に働くとされ、そのため予後不良であることが報告されている⁴⁻⁸⁾。

本研究において、1 型 AIP や IgG4-SS では CD163 陽性細胞の増生が顕著にみられ、この細胞がこれらの疾患における主要な構成要素であることが明らかとなった。細胞形態が紡錘形であることからこれらの細胞は従来から間質由来の細胞と考えられていたが、CD163 陽性であることから特殊なマクロファージであると考えられる。私たちはさらに、このような細胞が CD45 陽性で間質由来の細胞とは異なること、さらに他の単球・マクロファージマーカーである CD68 が一部陽性であることも確認している。

1 型 AIP において CD163 陽性紡錘形マクロファージは膵周囲脂肪組織、小葉、膵管において集簇性に多数認められ、花筵状線維化の形成に関与していることが明らかとなった。同様の細胞は 2 型 AIP や膵管癌においても認められるが、この場合には分布が散在性であり、集簇性に分布する 1 型 AIP とは大きく異なっていた。

IgG4-SS では主に小葉内に CD163 陽性紡錘形マクロファージが集簇性に分布していた。この所見は、結合組織に沿って散在性に CD163 陽性細胞が認められる唾石症と明らかに異なっていた。1 型 AIP と IgG4-SS は同じ IgG4 関連疾患に属するが、従来からその組織像はやや異なっ

いると考えられてきた^{9,10)}。しかしながら、小葉内のCD163陽性紡錘形マクロファージの増生は両者に共通して認められることより、実は共通の変化が存在していると解釈できる。また、IgG4-SSにおいては線維化を伴わないこともあるが、このような部分においても小葉内にCD163陽性紡錘形マクロファージの増生はみられ、この所見がIgG4-SSの初期から起こっている変化と推察される。

膵癌・胆管癌においては多数のCD163陽性マクロファージが認められ、一部では束状に増生していたが、1型AIPにみられるびまん性の密な増殖巣とは異なり、分布は散在性であった。腫瘍細胞胞巣に沿ってマクロファージが集簇する像は、癌に対する反応を思わせるものである。一方で、好中球浸潤の強い部分にマクロファージが集簇する像は、既存の膵組織の破壊や合併する炎症に伴う変化を思わせる。事実、小葉にみられるマクロファージの浸潤像は、2型AIPに認められるものに類似していた。いずれの場合も、CD163陽性マクロファージの数とIgG4陽性形質細胞の数、あるいは1型AIP類似の組織像との間に相関はみられなかった。

IgG4陽性形質細胞の出現が膵癌周囲にもみられることや、膵癌と自己免疫性膵炎の合併例が報告されている。今回検討した症例の中で、1型AIP様組織像かつ多数のIgG4陽性形質細胞浸潤をきたした症例は1例のみであった。膵管癌・胆管癌でみられるIgG4陽性形質細胞の増加は、ごく一部で集簇性に極めて多数みられるか、あるいは病変全体に強拡1視野10個を少し越える程度のもが多かった。後者の場合、IgG4/IgG1あるいはIgG4/IgG陽性

細胞比は極めて低く、膵癌・胆管癌に伴う反応性変化と1型AIP・IgG4関連硬化性胆管炎との鑑別に有用であった。

細胞外基質の検討では、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、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ることが明らかとなった。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。

1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らは¹¹⁾、III型コラーゲンの発現が1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¹²⁾、1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

IgG4 関連疾患の中の 1 型 AIP および IgG4-SS において、CD163 陽性紡錘形マクロファージの顕著な増生がみられることが明らかとなり、マクロファージが IgG4 関連疾患の主要な構成要素であると結論した。この細胞はまた、花筵状線維化のような病理学的特徴を決定するもので、今後は病理診断への応用も期待させる。

膵癌・胆管癌において出現する CD163 陽性紡錘形マクロファージの束状増生は散在性で、1 型 AIP にみられるびまん性で密な分布とは異なっている。組織学的・免疫組織学的に IgG4 関連疾患類似の反応をきたす膵癌・胆管癌は、極めて稀と考えられる。

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. Kawaguchi K, Koike M, Tsuruta K, Okamoto A, Tabata I, Fujita N. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis with cholangitis: a variant of primary sclerosing cholangitis extensively involving pancreas. *Hum Pathol* 1991; 22: 387-395.
2. Notohara K, Burgart LJ, Yadav D, Chari S, Smyrk TC. Idiopathic chronic pancreatitis with periductal lymphoplasmacytic infiltration. Clinicopathologic features of 35 cases. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1119-1127.
3. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SK, Moestrup SK. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature* 2001; 409:198-201.
4. Komohara Y, Ohnishi K, Kuratsu J, Takeya M. Possible involvement of the M2 anti-inflammatory macrophage phenotype in growth of human gliomas. *J Pathol* 2008; 216: 15-24.
5. Kawamura K, Komohara Y, Takaishi K, Katabuchi H, Takeya M. Detection of M2 macrophages and colony-stimulating factor 1 expression in serous and mucinous ovarian epithelial tumors. *Pathol Int* 2009; 59: 300-305.
6. Hasita H, Komohara Y, Okabe H, Masuda T, Ohnishi K, Lei XF, Beppu T, Baba H, Takeya M. Significance of alternatively activated macrophages in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101: 1913-1919.
7. Niino D, Komohara Y, Murayama T, Aoki R, Kimura Y, Hashikawa K, Kiyasu J, Takeuchi M, Suefuji N, Sugiya Y, Takeya M, Ohshima K. Ratio of M2 macrophage expression is closely associated with poor prognosis for angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL). *Pathol Int* 2010; 60: 278-283.

8. Kurahara H, Shinchi H, Mataka Y, Maemura K, Noma H, Kubo F, Sakoda M, Ueno S, Natsugoe S, Takao S. Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer. *J Surg Res* 2011; 167: e211-219.
9. Kitagawa S, Zen Y, Harada K, Sasaki M, Sato Y, Minato H, Watanabe K, Kurumaya H, Katayanagi K, Masuda S, Niwa H, Tsuneyama K, Saito K, haratake J, Takagawa K, Nakanuma Y. Abundant IgG4-positive plasma cell infiltration characterizes chronic sclerosing sialadenitis (Küttner's tumor). *Am J Surg Pathol* 2005; 29:783-791.
10. 能登原憲司, 和仁洋治, 津嘉山朝達. IgG4 関連硬化性唾液腺炎と自己免疫性膵炎の病理組織学的相違点. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究 平成 18 年度総括・分担研究報告書 2007; 237-240.
11. 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.
12. 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.
2. 学会発表
1. 能登原憲司. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis (1型AIP)におけるCD163陽性紡錘型細胞の増生. 第51回日本消化器病学会大会.

- 京都. 2009年10月.
2. Notohara K. Proliferation of CD163+ spindle-shaped macrophages in lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. The 40th anniversary Meeting of the American Pancreatic Association and Japan Pancreatic Society. Honolulu, HI, U.S.A. 2009年11月.
 3. Notohara K, Wani Y, Fujisawa M. Proliferation of CD163+ spindle-shaped macrophages in IgG4-related sclerosing disease: analysis of lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis and sclerosing sialadenitis. 99th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology, Washington, DC, U.S.A., 2010年3月.
 4. Notohara K, Zhang L, Miyabe K, Nakamoto S, Nakazawa T. Distinction of lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis from other mass-forming inflammatory diseases by CD163 and α -smooth muscle actin immunohistochemistry. 100th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology, San Antonio, TX, U.S.A., 2011年2月.
 5. Notohara K. Autoimmune pancreatitis: role of pathologists for making the diagnosis. 7th Asia Pacific International Academy of Pathology Congress. Taipei, Taiwan, 2011年5月.
 6. Notohara K. IgG4-related lymphadenopathy. 7th Asia Pacific International Academy of Pathology Congress. Taipei, Taiwan, 2011年5月.
 7. 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.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. Notohara K. Pathological findings of type 1 and type 2 AIP. The International Pancreatic Research Forum 2011. 大阪, 2011年11月.
 14. 能登原憲司. ボ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.
 15. Uchino K, Notohara K, Fujisawa M, Wani Y, Matsukawa A. Expression of other M2-macrophage markers in

CD163+ dendritic macrophages in lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. 101th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.

3. その他
該当なし

16. 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. 101th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.
17. 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. 101th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.
18. Notohara K, Miller DV. IgG4-positive plasma cells in ascending aortitis: are they diagnostic for IgG4-related aortitis/periaortitis? 101th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology. Vancouver, Canada. 2012年3月.

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