

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業
IgG4 関連疾患の診断基準並びに治療指針の確立を目指した研究
分担研究報告書

IgG4 関連疾患患者末梢血の 8 カラーFACS 解析を用いた治療指針設定への応用

研究分担者 田中良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授
研究協力者 中山田真吾 産業医科大学医学部第一内科学講座 講師
研究協力者 平田信太郎 産業医科大学医学部第一内科学講座 講師
研究協力者 久保智史 産業医科大学医学部第一内科学講座 助教

研究要旨: IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) は IgG4 陽性形質細胞やリンパ球の浸潤と線維化を特徴とする全身性疾患であるが、末梢血リンパ球の細胞分類は未検討である。そこで当科で治療導入前の IgG4-RD 8 例、原発性 Sjögren 症候群 (pSS) 4 例、健常人 (HC) 8 名の末梢血単核細胞を用い NIH/FOCIS による Human Immunology Project に基づく 8 カラー FACS 分類を試みた。Umehara 基準にて診断した IgG4-RD 患者 8 例の背景(平均)は、年齢 56 歳、罹病期間 16.3 ヶ月、血清 IgG4 628 mg/dl。IgG4-RD では他群と比べ B 細胞中の CD19⁺IgD⁺CD27⁺ IgM memory B 細胞の割合が低く(IgG4-RD 9.9%, pSS 20.3%, HC 27.9%, p=0.0065)、CD19⁺CD20⁻CD38⁺ plasmablasts の割合が高かった(各 19.5%, 3.5%, 4.6%, p=0.0085)。クラスター解析により、plasmablasts の割合は CD3⁺CD4⁺CCR7⁻ effector memory T 細胞の割合と相関した。以上より IgG4-RD では、CD19⁺B 細胞に於ける plasmablast の割合が特徴的に高いことが示され、その背景に末梢での effector memory T 細胞による B 細胞の分化誘導が示唆された。これらの結果は、B 細胞標的療法の妥当性において重要な示唆を与えるものである。

A . 研究目的

IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値、多臓器における IgG4 産生形質細胞浸潤を特徴とする炎症性疾患である。IgG4 関連疾患の病態組織では、IgG4 及び IgE 産生形質細胞の集積が特徴的に認められる。その過程には Th2 細胞や B 細胞の関与が報告されるが、多くは不詳である。平成 24 年度は、我々は、B 細胞受容体の下流に存在し、BCR や共刺激分子、サイトカインを介するシグナルを集約するハブキナーゼである Btk に着目し、IgG4 関連疾患の病態形成過程への関与を解析してきた。平成 25 年度は、IgG4 関連疾患患者の末梢血の B 細胞、及び、T 細胞の量的、及び、質的異常を明らかにするため、

8 カラーフォローサイトメトリーを用いてサブセット分類を試み、その誘導機構と病的意義を検討した。

B . 研究方法

健常人(8 例)、Umehara 基準で診断した IgG4-RD 患者(8 例)、原発性シェーグレン症候群患者 (pSS; 4 名)より末梢血を採取し、NIH/FOCIS による Human Immunology Project Consortium (HIPC)に基づく、8 カラーフォローサイトメトリー (FACSVerse)解析を実施し、T 細胞、B 細胞のケモカイン受容体による細分画を試み、リンパ球フェノタイプと患者背景、血清 IgG、IgG4、CRP などの臨床的パラメータとの関連性を検討した。

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、所属機関の倫理委員会、或は、IRB で承認を得た研究に限定し、患者からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が入属機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にする。

C. 研究結果

- (1) Umehara 基準にて診断した IgG4-RD 患者 8 例の背景(平均)は、年齢 56 歳、罹病期間 16.3 ヶ月、血清 IgG4 628 mg/dl であった。
- (2) IgG4-RD では他群と比べ B 細胞中の CD19⁺IgD⁺CD27⁺ IgM memory B 細胞の割合が低かった(IgG4-RD 9.9%, pSS 20.3%, HC 27.9%, p=0.0065)。一方、CD19⁺CD20⁻CD38⁺ plasmablasts の割合が特徴的に高かった(各 19.5%, 3.5%, 4.6%, p=0.0085)。
- (3) クラスタ解析により、plasmablasts の割合は CD3⁺CD4⁺CCR7⁻ effector memory T 細胞の割合と相関した。

D. 考察

IgG4-RD 患者末梢血では CD19⁺B 細胞中の CD19⁺IgD⁺CD27⁺ IgM memory B 細胞の割合が有意に低く、CD19⁺CD20⁻CD38⁺ plasmablasts の割合が特徴的に高く、また、クラスタ解析により、plasmablasts の割合は CD3⁺CD4⁺CCR7⁻ effector memory T 細胞の割合と相関した。副腎皮質ステロイドのみでは疾患制御が十分にできない症例を少なからず経験し、斯様な症例には B 細胞除去療法である抗 CD20 抗体リツキシマブの使用

が提案されている。しかし、IgG4-RD では CD20 を高発現する memory B 細胞が少なく、CD20 を発現しない plasmablasts の割合が高いことが示され、CD20 抗体が必ずしもベストの選択薬ではないことを示唆する。さらに、plasmablast の増加の背景には、末梢での effector memory T 細胞による B 細胞の分化誘導が示された。これらの結果は、IgG4-RD における B 細胞標的療法の妥当性において重要な示唆を与えるものである。

E. 結論

IgG4-RD 患者では、末梢血 CD19⁺B 細胞に於ける plasmablast の割合が特徴的に高いことが示され、その背景に末梢での effector memory T 細胞による B 細胞の分化誘導が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Iwata S, Nakayamada S, Fukuyo S, Kubo S, Yunoue N, Wang S-P, Yoshikawa M, Saito K, Tanaka Y. Activation of Syk in peripheral blood B cells in patients with rheumatoid arthritis: A potential target for abatacept therapy. Arthritis Rheum [Epub ahead of print]
2. Iwata S, Yamaoka K, Niuro H, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Wang S-P, Kondo M, Yoshikawa M, Akashi K, Tanaka, Y. Increased Syk phosphorylation leads to overexpression of TRAF6 in peripheral B cells of patients with systemic lupus erythematosus. Lupus (in press)
3. Kondo M, Yamaoka K, Sakata K, Sonomoto K, Lin L, Nakano K, Tanaka Y. IL-6/STAT3 signaling pathway contributes to chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. Arthritis Rheum [Epub ahead of print]

4. Tanaka Y, Hirata S, Kubo S, Fukuyo S, Hanami K, Sawamukai N, Nakano K, Nakayamada S, Yamaoka K, Sawamura F, Saito K. Discontinuation of adalimumab after achieving remission in patients with established rheumatoid arthritis: 1-year outcome of the HONOR study. Ann Rheum Dis [Epub ahead of print]
 5. Ishizaki J, Saito K, Nawata M, Mizuno Y, Tokunaga M, Sawamukai N, Tamura M, Hirata S, Yamaoka K, Hasegawa H, Tanaka Y. Low complements and high titer of anti-Sm antibody as predictors of histopathologically proven silent lupus nephritis without abnormal urinalysis in patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatology [Epub ahead of print]
 6. Tanaka Y, Martin Mola E. IL-6 targeting compared to TNF targeting in rheumatoid arthritis: studies of olokizumab, sarilumab and sirukumab. Ann Rheum Dis (2014) 73, 1395-1397
 7. Kubo S, Yamaoka K, Kondo M, Yamagata K, Zhao J, Iwata S, Tanaka Y. The JAK inhibitor tofacitinib reduces the T cell stimulatory capacity of human monocyte-derived dendritic cells. Ann Rheum Dis (2014) 73, 2192-2198
 8. Wang S-P, Iwata S, Nakayamada S, Sakata K, Yamaoka K, Tanaka Y. Tofacitinib, a Jak inhibitor, inhibits human B cell activation in vitro. Ann Rheum Dis (2014) 73, 2213-2215
2. 平田信太郎、中山田真吾、久保智史、湯之上直樹、好川真以子、齋藤和義、田中良哉. IgG4 関連疾患患者における末梢血免疫細胞サブセットの解析：原発性シェーグレン症候群患者および健常人との比較検討. 第23回日本シェーグレン症候群学会, 長崎, 平成26年9月12 - 13日
 3. 鳥本桂一、岡田洋右、新生忠司、黒住旭、成澤学、山本直、森博子、田中良哉. Basedow病型IgG4甲状腺炎の臨床的特徴に関する検討. 第14回日本内分泌九州地方会, 佐賀, 平成26年8月23日

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

2. 学会発表

1. S Hirata, S Nakayamada, S Kubo, N Yunoue, M Yoshikawa, K Nakano, K Yamaoka, K Saito, Y Tanaka. Characteristic phenotype of peripheral blood lymphocytes in patients with IgG4-related disease, comparing to primary Sjögren syndrome and healthy