

201442064A

厚生労働科学研究委託費
難治性疾患実用化研究事業

**IgG4関連疾患の病因病態解明と
新規治療法確立に関する研究**

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 三森 経世

平成27（2015）年3月

厚生労働科学研究委託費
難治性疾患実用化研究事業

IgG4関連疾患の病因病態解明と 新規治療法確立に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 三森 経世

平成27（2015）年3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究
委託事業による委託業務として、国立大学法人
京都大学が実施した平成26年度「IgG4 関連疾
患の病因病態解明と新規治療法確立に関
する研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
（三森 経世）	1
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 《合同研究》IgG4 関連疾患治療実態調査 （三森 経世, 吉藤 元, 白柏 魅怜）	6
2. IgG4 関連疾患のオミックス解析による病因解明に関する研究 （松田 文彦）	10
3. IgG4 関連疾患の顎下腺を用いた DNA マイクロアレイ解析に関する研究 （中村 誠司, 森山 雅文）	12
4. DNA マイクロアレイによる IgG4 関連疾患の口唇唾液腺における遺伝子発現解析 （住田 孝之, 坪井 洋人, 中井 雄治, 飯塚 麻菜, 浅島 弘充, 高橋 広行, 廣田 智哉, 近藤 裕也, 古川 祥子, 田中 昭彦, 森山 雅文, 松本 功, 吉原 俊雄, 中村 誠司, 阿部 啓子）	14
5. IgG4 関連疾患患者に於けるリンパ球フェノタイプと病態形成との関連に関する研究 （田中 良哉, 中山田 真吾, 平田 信太郎, 久保 智史）	17
6. IgG4 関連疾患の病態形成におけるマスト細胞の関与に関する研究 （吉野 正, 佐藤 康晴）	19
7. 結膜 MALT リンパ腫における IgG4 陽性細胞に関する研究 （後藤 浩）	21
8. IgG4 関連腎臓病における間質線維化に関する研究 （川野 充弘, 原 怜史）	23
9. 自己免疫性膵炎における自然免疫の役割に関する研究 （岡崎 和一）	25
10. IgG4 関連疾患の病因病態解明と新規治療法確立に関する研究 （渡邊 智裕）	27
11. IgG4 関連疾患における IgG の役割に関する研究 （千葉 勉, 児玉 裕三）	29
12. モデルマウスを用いた IgG4 関連疾患における APRIL の役割に関する研究 （川野 充弘, 山田 和徳）	31
13. IgG4 関連疾患のモデル動物作成に関する研究 （吉藤 元）	33
14. IgG4 関連疾患における悪性腫瘍発症に関する研究 （川 茂幸, 浅野 順平, 小口 貴也, 金井 圭太, 伊藤 哲也, 村木 崇, 浜野 英明, 新倉 則和）	36
15. IgG4 関連疾患の臓器相関に関する研究 （神澤 輝実, 小泉 理美, 来間 佐和子, 千葉 和朗, 田畑 拓久）	40
16. IgG4 関連疾患におけるステロイド性大腿骨頭壊死の発生と IFN α に関する研究 （高橋 裕樹, 山本 元久）	42
17. IgG4-関連呼吸器疾患の治療と予後に関する研究 （松井 祥子）	44

1 8. IgG4 関連腎臓病に類似した尿細管間質性腎炎を伴う多中心性キャスルマン病 3 例の検討 (川野 充弘, 山田 和徳, 水島 伊知郎)	47
1 9. IgG4 関連疾患のリツキシマブ医師主導治験のプロトコル作成 (三森 経世, 吉藤 元) (資料) IgG4 関連疾患・リツキシマブ多施設非盲検医師主導治験プロトコル案	49
III. 学会等発表実績	55
IV. 研究成果の刊行物・別冊	74

I. 委託業務成果報告（総括）

IgG4関連疾患の病因病態解明と新規治療法確立に関する研究

業務主任者 三森 経世 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・教授

研究要旨：

IgG4-RD は今世紀に我国で新たに確立された疾患概念であり、血清 IgG4 高値と罹患臓器への著明な IgG4 陽性物質細胞の浸潤を特徴とし、従来は無関係と考えられていた全身諸臓器の病的変化を包含する。しかし、IgG4-RD の真の原因はいまだ不明である。また IgG-RD はステロイドが奏功するものの、治療抵抗例・再燃例に対する治療法は確立されておらず、これらの課題解決は診療の質を高め、患者の QOL を向上させるために必須である。本年度は本研究班発足の初年度であり、1)遺伝子やトランスクリプトーム解析、病理学的解析、免疫学的解析、マウスモデル構築などを通じた IgG4-RD の病因と病態の探索、2)ステロイド療法のエビデンスを確立、3)難治例・再発例に対する新しい治療法の開発を検討することを目指した。本研究班は松田班（難病のオミックス解析による原因究明と遺伝子診断ネットワーク構築）および千葉班（IgG4-RD ガイドライン策定等）との連携体制を構築して推進する。

研究分担者（業務担当責任者）

千葉 勉（京都大学大学院医学研究科教授）
松田 文彦（京都大学大学院医学研究科教授）
渡邊 智裕（京都大学大学院医学研究科准教授）
吉藤 元（京都大学大学院医学研究科講師）
岡崎 和一（関西医科大学内科学第三講座教授）
下瀬川 徹（東北大学大学院医学系研究科教授）
神澤 輝実（東京都立駒込病院・内科部長）
川 茂幸（信州大学総合健康安全センター教授）
中村 誠司（九州大学大学院歯学研究院教授）
住田 孝之（筑波大学大学院医学医療系内科教授）
吉野 正（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科教授）
川野 充弘（金沢大学リウマチ・膠原病内科講師）
田中 良哉（産業医科大学第一内科学講座教授）
高橋 裕樹（札幌医科大学内科学第一講座准教授）
後藤 浩（東京医科大学眼科教授）
松井 祥子（富山大学保健管理センター准教授）

A. 研究目的

IgG4 関連疾患（IgG4-RD）は日本が世界に先駆けて報告した新規疾患概念であり、近年国際的に注目されている。その発端は自己免疫性膵炎における血清 IgG4 高値（Hamano H. NEJM, 2001）の報告に始まり、その後いわゆるミクリッツ病でも IgG4 高値が認められ（Yamamoto M. Scand J Rheumatol, 2004）、さらに多くの臓器で同様の病態が報告され、これらを統合する全身性の新規疾患として位置づけられた（Umehara H. Mod Rheumatol, 2012）。

本疾患は、その発見から疾患概念の確立、診断基準の制定へと常に日本が世界をリードしてきた。H21-23 年度の厚労省難治性疾患克服研究事業の 2 つの IgG4 研究班（梅原班、岡崎班）は連携よく活動し、「IgG4-RD の概念確立と病名統一」、「IgG4-RD

包括診断基準策定」(Umehara H: Mod Rheumatol 2012) を成し遂げた。第 1 回 IgG4-RD 国際シンポジウム（H23 年 10 月、ボストン）では上記 2 班で確立した疾患名と概念の同意確認がなされた。その後 H24 年度から旧 2 班が合併した研究班（千葉班）が組織され、臓器別 7 分科会による各臓器における IgG4-RD の実態調査や診断基準の策定作業を開始し、病因解明のために DNA 検体が収集され網羅的遺伝子解析が開始された。H26 年 2 月には米国と日本の研究者が共同で第 2 回 IgG4-RD 国際シンポジウム（ホノルル）を主催し、国際的な診断基準と治療指針のコンセンサスが検討された。

しかし、IgG4-RD の真の原因と治療抵抗例・再燃例に対する治療法は確立されておらず、これらの課題解決は診療の質を高め、患者の QOL を向上させるために必須であり、喫緊の課題である。そこで、本研究では、各領域の専門家により遺伝子解析、病理学的解析、免疫学的解析、マウスモデル構築などを通じて同疾患の病因と病態を探索するとともに、ステロイド療法のエビデンスを確立し、予後規定因子を突き止め、ステロイド治療に抵抗する難治例・再発例に対するリツキシマブ療法などを用いた新しい治療法を検討することを目的とする。

B. 研究方法

1. IgG4-RD の病態解明と新規治療ターゲット開発に関する研究

主として分担研究による様々なアプローチから、IgG-RD における病因と病態形成機構を探索し、治療反応性や予後を規定する新たな因子を見だし、さらには新たな治療ターゲットとなりうるかを検討する。

a. IgG4-RD の網羅的解析（トランスクリプトーム、プロテオーム解析）による新たな病因分子、新規疾

患マーカーの探索（下瀬川（睦）、中村（唾液腺）、住田（唾液腺・末梢血））

b. IgG4-RD の末梢血および病変組織における細胞サブセットの検討（岡崎、田中、後藤）

c. IgG4-RD におけるマスト細胞の役割と各種臓器における臨床病理学的解析（吉野）

d. IgG4-RD における BAFF および APRIL の役割に関する研究および IgG4 関連腎症における線維化の病理学的解析（川野）

e. IgG4 産生に関わる自然免疫反応経路の検討（岡崎、渡邊）

f. IgG4-RD モデルマウスの開発とそれを用いた病態解析（千葉、吉藤、岡崎、川野、渡邊）

g. IgG4-RD の長期予後および悪性腫瘍との関連の検討（千葉、川）

h. IgG4-RD 症例データベースに基づく病態・診断・治療に関する臨床研究（高橋、神澤、松井）

2. IgG4-RD のゲノム・オミックス解析に関する研究（松田が中心となり全員が参加）

前千葉班（H24-25）において倫理委員会承認を受けた全国の施設より IgG4-RD が登録され、DNA 検体が収集されている。さらに症例を追加して、DNA チップを用い全ゲノム解析による疾患感受性遺伝子の同定を進める。さらに症例を絞って、ステロイド治療前後におけるトランスクリプトーム解析とプロテオミックス解析を行い、治療抵抗性や感受性因子の同定、および治療効果予測因子の同定をおこなう。

本解析は「集約的オミックス解析による難病の原因究明と疾患別遺伝子診断ネットワークの構築」研究班（京都大学松田文彦教授）と連携して推進する。

3. ステロイド療法のエビデンス確立と予後規定因子の探索（三森が中心となり全員参加）

分担研究施設から IgG4-RD 症例臨床データを古い順から 10 例ずつ集積し、ステロイド初期投与量、維持量、寛解率、再燃率、難治例の特徴などを解析し、ステロイド標準治療指針の作成に役立てる。

さらに後向き研究および前向き研究により、IgG4-RD で標準的ステロイドに抵抗する症例およびステロイド単独で再燃を繰り返す症例を集積し、患者背景、臨床・検査所見、治療前後の血清マーカーとともに、遺伝子解析およびプロテオミックス解析の結果を組み合わせ、その関連因子を解析する。

4. 難治例に対する新規治療法の確立（三森が中心となり全員参加）

標準的ステロイド治療に抵抗する難治例および再燃例を対象として第二次選択薬としての免疫抑制薬などの使用状況とその有効性及び安全性を後向きおよび前向き調査により解析する。また難治症例に対するリツキシマブ（抗 CD20 抗体）による B 細胞除去療法の有効性と安全詩を検討する研究プロトコルを作成する。

（倫理面への配慮）

IgG4 関連疾患の病因・病態の解明、診断および

治療法開発のための「IgG4 関連疾患・自己免疫性膵炎における疾患関連遺伝子の解析」「IgG4 関連疾患のステロイド投与における免疫応答に関する網羅的オミックス解析」の両プロトコルが、十分な倫理的配慮の元にヘルシンキ宣言が言明する諸原則の範囲内で作成され認可を得ている。当研究班の研究分担施設においても既に承認を得ている。これらのプロトコルには、IgG4 関連疾患症例の臨床データ採取についてのプロトコルも含まれる。個人情報保護に関しては、患者情報は各施設にて暗号化し、年齢、性別、治療経過、検査所見および血清を京都大学事務局に送付、匿名化された患者データと血液は事務局コーディネーターが管理する。

各分担研究においても患者への臨床介入を行なう場合および患者からの検体を使用する必要がある場合は、当該施設の倫理委員会規定を遵守することを求めた。動物実験においてはワシントン条約に定められた規約を遵守し、当該実験動物施設において定められた実験動物運営規定に基づいて、各施設の実験動物委員会による審査が行われた上での実験がなされるものとした。組換え DNA 実験については文部科学省の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に従い、当該施設の DNA 実験安全委員会の承認を得て行うこととした。

C. 研究結果

1. ステロイド療法のエビデンス確立と予後規定因子の探索（三森および全員）

包括診断基準または自己免疫性膵炎診断基準により確定診断された IgG4-RD 計 134 例が集積された。男性 86 例（64%）、女性 48 例（36%）、発症年齢 60 ± 12 歳、観察期間 5.5 ± 3.7 年であり、罹患臓器では、顎下腺 68 例（51%）、涙腺 57 例（43%）、膵 62 例（46%）が多かった。122 例（91%）でステロイド療法が行われ、初回最大量（PSL 換算）は、 31.1 ± 6.8 mg/day（ 0.54 ± 0.15 mg/kg/day）であった。初回ステロイドの有効率は 90%と高かったが、28%が再燃した。初回ステロイド投与量で層別化して再燃率を比較したところ、 0.40 - 0.69 mg/kg/day の区間で再燃率は最低であったが、 0.39 mg/kg/day 以下では再燃率が高くなる傾向にあった。初回ステロイド量 0.40 - 0.69 mg/kg/day の間で再燃率が低くかつ変化がなかったことから、現在の標準量とされる 0.6 mg/kg/day を見直せる可能性が示唆された。

2. IgG4-RD のゲノム・オミックス解析に関する研究（松田）

51 研究機関から収集した IgG4-RD の 674 例（自己免疫性膵炎 407 例、ミクリッツ病 219 例、合併例 40 例）、対照群 1,848 検体を対象として、SNPs アレイ（Illumina 社）でゲノムスキャンを行い、すでに報告のある HLA 領域に加えて、新たに第 1 染色体上

に有意な関連遺伝子が見出された。

また、自己免疫性膵炎 97 検体、ミクリッツ病 95 検体、対照群 176 検体を解析対象とし、SureSelect (アジレント社) でエクソン部分を抽出後、HiSeq2000 (イルミナ社) でシーケンズ解析した Exome 解析では、第4染色体に有意な関連領域が検出されたが、関連は自己免疫性膵炎のみで見られた。

いずれの解析においても、今後再現性の検証、候補領域のファインマッピングの実施が不可欠である。

3. IgG4-RD の病態解明と新規治療ターゲット開発に関する研究

a. IgG4-RD の網羅的解析

1) IgG4-RD の顎下腺を用いた DNA マイクロアレイ解析に関する研究 (中村) : 自然免疫応答の異常が IgG4-RD の病態形成に関与していることが報告されており、IgG4-RD の病態形成に関与する自然免疫関連分子の同定を目的に、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った。その結果、IgG4-RD ではコラーゲン様構造マクロファージ受容体 (MARCO) の発現が亢進しており、M2 マクロファージ (CD163 陽性細胞) と局在が一致していた。これらの結果から、MARCO は IgG4-RD の疾患関連分子の1つであることが考えられ、IgG4-RD の新規標的分子治療にも応用できる可能性が示唆された。

2) DNA マイクロアレイによる IgG4-RD の口唇唾腺における遺伝子発現解析 (住田) : IgG4-RD の病態に関与する分子を網羅的に解析することを目的とし、IgG4-RD (N=5)、シェーグレン症候群 (SS) (N=5)、健常人 (N=3) の LSG より抽出した RNA を用いて DNA マイクロアレイを行い、遺伝子発現パターンを主成分分析で比較した。IgG4-RD の LSG における遺伝子発現のパターンは、SS とは異なっており、IgG4-RD の LSG では CCL18、LTF が高発現し、病態形成に関与する可能性が示唆された。IgG4-RD の病変局所で主にマクロファージが産生した CCL18 は、T 細胞、B 細胞の病変局所へのケモタキシス、線維化誘導を介して、IgG4-RD の病態形成に寄与する可能性が示唆される。

b. IgG4-RD の細胞学的・病理学的研究

1) IgG4-RD 患者に於けるリンパ球フェノタイプと病態形成との関連に関する研究 (田中) : IgG4-RD の発症過程では、T 細胞および B 細胞の活性化による過剰な IgG4 産生を介した多臓器障害が生ずるが、これらのリンパ球サブセットの分化と病態形成との関連性は不詳である。T 細胞、B 細胞サブセットのバランス異常を介して IgG4 産生細胞への分化の偏向を誘導する過程を解明することを目的とし、健常人 (8 例)、IgG4-RD (8 例)、原発性 SS (4 名) の末梢血を NIH/FOCIS による Human Immunology Project に基づき 8 カラーフローサイトメトリーで解析した。その結果、IgG4RD では CD19+B 細胞に於ける plasmablast の割合が特徴的に高いこと、末梢血に於ける濾胞性ヘルパー T 細胞 (Tfh) を含むエフェクタ

ー T 細胞の割合が高く、血清 IgG4 値、および抗体産生性 plasmablast 数と統計的に相関性を認めた。これらの末梢血リンパ球サブセットの異常が IgG4-RD の免疫病態へ関与することが示唆された。

2) IgG4-RD の病態形成におけるマスト細胞の関与に関する研究 (吉野) : IgG4-RD の病変部では Th2 および Treg サイトカインの発現が亢進しており、病態形成機序に重要な役割を果たしていると考えられている。これらサイトカインが、リンパ球や形質細胞の浸潤、IgG4 産生、線維化、好酸球浸潤、高 IgE 血症などの特徴的な所見を形成していると推測される。近年、T 細胞以外に様々な細胞がサイトカインを産生する候補として挙げられている。IgG4 関連顎下腺炎においては、IL-4、IL-10、IL-13 および TGF- β の各種サイトカイン陽性細胞がコントロール群に比して有意に増加しており、いずれのサイトカイン陽性細胞も c-kit 陽性を示すことから、マスト細胞が産生していると考えられた。

3) 結膜 MALT リンパ腫における IgG4 陽性細胞に関する研究 (後藤) : 結膜に発生したリンパ増殖性疾患における IgG4 陽性細胞の浸潤の有無について検討した。結膜粘膜関連リンパ組織 (MALT) リンパ腫 54 例、反応性リンパ組織過形成 (RLH) 8 例、濾胞性リンパ腫 3 例を対象とし、MALT リンパ腫 2 例、RLH 2 例で IgG4(+)/IgG(+)細胞比が 40%以上を示した。また、MALT リンパ腫 5 例において IgG4(+)/IgG(+)細胞比が 10%~40%と上昇していた。結膜のリンパ増殖性疾患、なかでも MALT リンパ腫と IgG4 関連眼疾患の鑑別は慎重に行う必要がある。

4) IgG4 関連腎臓病における間質線維化に関する研究 (川野) : IgG4 関連腎臓病 (IgG4-related kidney disease: IgG4-RKD) は組織学的に、IgG4 陽性形質細胞浸潤による尿細管間質性腎炎を特徴とするが、病期が進行すると浸潤したリンパ球形質細胞を取り囲む形状の Bird's-eye pattern fibrosis (storiform fibrosis) と称される特異な間質線維化を呈する。IgG4-RKD の剖検例を用いて間質線維化の特徴的分布と組成を明らかにした。病変は同一症例の同一腎で多彩なステージが混在し、病変は主に皮質と動脈周囲に分布しており、特に中型血管 (弓状動脈や小葉間動脈) 周囲の分布は剖検例で初めて確認された。特徴的な細胞外基質成分として、動脈周囲及び神経周囲病変では collagen type I を含み、一方皮質領域では collagen type IV がみられた。Bird's-eye pattern fibrosis は皮質領域のみに観察され、collagen type IV を有し、collagen type I が殆ど含まれないことが特徴的であった。これらの結果から、IgG4-RKD に特徴的な間質線維化は線維性 collagen のみならず間質型 collagen を豊富に含む sclerosing fibrosis であるといえる。

d. IgG4-RD と自然免疫

1) 自己免疫性膵炎における自然免疫の役割に関する研究 (岡崎) : IgG4 関連疾患の膵病変である自己免

疫性膵炎の病態解明を目的として自己免疫性膵炎と自然免疫の関わりを、TLRとその陽性細胞について検討した。TLR7陽性細胞は、マクロファージ特にM2マクロファージが有意に多いことがわかった。M2マクロファージは、炎症抑制作用、Th2型免疫反応、線維化に関わっていることが知られており、1型自己免疫性膵炎においてもTLR7を介したM2マクロファージがこれらに関わっている可能性が示唆された。

2)自己免疫性膵炎発症に関与する自然免疫反応(渡邊):マウスにPoly(I:C)を投与することにより、ヒト自己免疫性膵炎に類似する膵炎病変を誘導することが可能であった。膵炎が誘導されたマウスの膵臓組織ではI型IFN及びその関連分子(CXCL9、CXCL10、CXCL11)の発現が亢進し、さらに形質細胞様樹状細胞(PDC)が多数浸潤していることが確認された。I型IFN受容体に対する抗体を投与することにより、自己免疫性膵炎の発症が抑制された。PDCはI型IFNの主要な産生細胞であり、I型IFN経路の活性化とともに、PDCの浸潤が自己免疫性膵炎マウスに認められたことから、自己免疫性膵炎の発症にはPDCによるI型IFNの産生が関与する可能性が示唆された。

e. IgG4-RDモデルマウスの開発と病態解析

1)IgG4関連疾患におけるIgGの役割に関する研究(千葉):IgG4関連疾患には自己免疫機序の関与が示唆されているが、その病態は不明である。IgG4-RDの患者血清よりIgGあるいはIgG4を抽出し、新生児マウスに皮下注射することによりその病的意義について検討した。その結果、患者IgGあるいはIgG4は、マウス膵臓において自己免疫性膵炎に一致する病変を誘導した。これらより、IgG-RDのIgGあるいはIgG4は、自己抗体としての病原性をもつ可能性が考えられた。

2)モデルマウスを用いたIgG4-RDにおけるAPRILの役割に関する研究(川野):Lat Y136F knock-inマウスは膵臓、腎臓、唾液腺、肺においてIgG1(ヒトのIgG4に対応)陽性細胞浸潤と線維化を認め、ヒトIgG4-RDのモデル動物となる。IgG4-RD病変におけるAPRILの意義について検討し、4週齢、10週齢のLat Y136F knock-inマウスの膵臓、腎臓、唾液腺、肺において炎症部位に一致してAPRILの発現を認めた。一方、Lat Y136F knock-inマウスの非炎症部や野生種においては、APRILの発現はほとんど認めなかった。これらの結果から、APRILはIgG4-RDの病変形成に関与している分子であることが推測された。

3)IgG4-RDのモデル動物作成に関する研究(吉藤):IgG4-RDの病態解明のために重要臓器を患者から採取して調べることはしばしば困難であり、疾患動物モデルが必要である。しかし、ヒトと異なりマウスはIgG4を持たない。そこで、ヒトIgG4を保有する遺伝子改変マウスを考案した。マウスのIgG1サブクラス定常領域をヒトIgG4サブクラス定常領域と

置換し、抗体の可変領域(VDJ領域)の生理的遺伝子再構成機構は温存されるモデルをデザインし、作成することに成功した。ヒトIgG4定常領域ノックイン・ヘテロマウスを得て、数代にわたってヘテロマウス同士の交配を行い、得られた計113の仔マウスのWild、Hetero、Homo型をPCR法により検討したところ、メンデル比(WT:Het:Homo)=31:56:26、性比(M:F)=56:57であった。ホモマウスの外観に異常はなく、胎生致死的ではないと考えられた。今後、IgG4のmRNAおよび蛋白の発現をQT-PCRおよびELISAで測定して表現型の確認を行い、その後、疾患モデル樹立へのステップに進む予定である。

f. IgG4-RD症例データベースに基づく病態・診断・治療に関する研究

1)IgG4-RDにおける悪性腫瘍発症に関する研究(川):IgG4-RDと悪性腫瘍発症との関連性については肯定的、否定的な見解があり意見が分かれている。IgG4-RDと診断された158名を対象とし、悪性腫瘍における標準化罹患比を算出した。158名中34名に36例の悪性腫瘍が認められ、全体での標準化罹患比は2.01(95%信頼区間:1.34-2.69)となりIgG4-RDは悪性腫瘍合併と有意に関連した。診断1年以内における標準化罹患比は3.53(95%信頼区間:1.23-5.83)で、悪性腫瘍はIgG4-RD診断1年以内に診断されることが多いと考えられた。悪性腫瘍発症群は非発症群と比べ診断時において血清活動性マーカーであるIgG4、可溶性IL-2受容体、免疫複合体が有意に高値であった。一部のIgG4-RDは腫瘍随伴症候群の可能性があり、血清活動性マーカーが高い症例は特にIgG4-RD診断1年以内に悪性腫瘍の合併に注意すべきである。

2)IgG4-RDの臓器相関に関する研究(神澤):IgG4-RDの49%が複数の臓器病変を有していた。血中IgG4値は、単一病変例より複数病変例で明らかに高値であった。また、それぞれのIgG4-RDにおいて合併しやすい病変の組み合わせが認められた。多くのIgG4-RDの合併病変は同時期に診断されていたが、IgG4関連唾液腺炎と涙腺炎は他病変より前に診断される傾向があった。以上のようにIgG4-RDでは、一部の合併病変には臓器関連性が認められた。

3)IgG4-RDにおけるステロイド性大腿骨頭壊死の発生とIFN α に関する研究(高橋):IgG4-RDの寛解導入療法には、ステロイド治療が第一選択であるが、ステロイド性大腿骨頭壊死の発生が懸念される。今までにIgG4-RDにおけるステロイド性大腿骨頭壊死の発生率は検討されていない。大腿骨頭壊死症発症を後向きに検討し、また骨壊死発生に関与が示唆されるIFN関連の自然免疫分子の発現をIgG4-RDの顎下腺組織で解析した。IgG4-RDでは約30%の症例でステロイド性大腿骨頭壊死の発生を認めた。IgG4-RDの顎下腺組織には、IFN α とTLR7の発現が亢進していた。ステロイド性大腿骨頭壊死の発生にこれらの分子の関与が推定され、ステロイド性大腿

骨頭壊死発生予防のための新たな治療戦略が示唆される。

4)IgG4 関連呼吸器疾患の治療と予後に関する研究 (松井)： IgG4-RD は呼吸器にも病変を認めることがある。しかし、呼吸器病変は、肺門・縦隔リンパ節腫大や気管支壁の肥厚など、画像所見が軽微であることが少なくないため、その病態を含めた全貌は十分に明らかにはされていない。IgG4-RD で呼吸器病変を有する 77 例 (男 59、女 18、平均年齢 65 歳) のプロフィールは、自己免疫性膵炎や IgG4 関連腎臓病と類似し、中高年の男性が多く、検査所見では高 IgG 血症、高 IgG4 血症を伴い、炎症反応に乏しく、低補体血症を生じることが確認された。また IgG4 関連呼吸器疾患診断基準を用いた確定診断症例のステロイド有効率はきわめて高いと考えられた。一方、ステロイド投与後の悪化例が 2 症例あり、IgG4-RD に合併する他の病態を見ている可能性が示唆された。また肺病理検体がない場合の診断には、悪性疾患の合併に注意が必要と考えられた。IgG4 関連呼吸器疾患診断基準を用いて呼吸器病変を分類し、適切な治療に反映させていく必要があると考えられた。

4. IgG4 関連疾患のリツキシマブ医師主導治験のプロトコル作成 (三森、吉藤)

我国における標準的ステロイド治療に抵抗する難治例および再燃例を対象として、リツキシマブ (抗 CD20 抗体) による B 細胞除去療法の有効性と安全性を検討する研究プロトコルを作成した。今後プロトコルの brush up を図り、本研究班の分担施設および協力施設で実現可能な医師主導治験を目指す。

D. 考察

IgG4-RD は今世紀に我国で新たに確立された疾患概念であり、血清 IgG4 高値と罹患臓器への著明な IgG4 陽性形質細胞の浸潤を特徴とし、従来は無関係と考えられていた全身諸臓器の病的変化を包含する。本疾患は、その発見から疾患概念の確立、診断基準の策定へと日本が世界をリードしてきた。

しかし、IgG4-RD の真の原因はいまだ不明である。また IgG-RD はステロイドが奏功するものの、治療抵抗例・再燃例に対する治療法は確立されておらず、これらの課題解決は診療の質を高め、患者の QOL を向上させるために必須である。本研究班では、各領域の専門家により遺伝子解析、病理学的解析、免疫学的解析、マウスモデル構築などを通じて同疾患の病因と病態を探索するとともに、ステロイド療法のエビデンスを確立し、難治例・再燃例に対する新たな治療法を検討することを目的として組織された。

まず、ステロイド療法のエビデンス確立のために、各分担研究組織から IgG4-RD 症例データを集積し、高齢男性に多い疾患であること、初期ステロイドが奏功することを確認した。しかし、平均 PSL 量およ

び再燃率から、従来の推奨量である 0.6mg/kg/日よりも少ない PSL 量 (0.4-0.5mg/kg/日) でも有効である可能性が示唆された。

松田班との共同研究による IgG4-RD のゲノム解析では、HLA の他に新たな疾患感受性遺伝子として、第 1 染色体および第 4 染色体上に有意の関連遺伝子が発見された。これらは免疫や炎症に関わる重要な分子であることから、疾患の病因・病態解明や新規治療ターゲットの探索につながる可能性が期待される。

研究分担者による各個研究では、IgG4-RD のトランスクリプトーム解析、細胞・病理学的解析、自然免疫の関与、種々の臓器病変の臨床研究においてそれぞれ意義の深い成果が明らかにされている。特に、IgG4-RD 罹患組織において M2 マクロファージが特異的に増加していることが複数の異なる手法による研究で明らかにされたこと、患者 IgG および IgG4 が新生仔マウスに自己免疫性膵炎類似の病態を引き起こし IgG4 の病原性を示唆する可能性が得られたことは本疾患の病態形成機序の解明に重要な手掛かりを与えてくれるものと思われる。また、いくつかの異なる IgG4-RD 動物モデルが開発されたことは、本疾患の病態解明とともに新規治療の検証などにおける有用性が期待できる。

E. 結論

IgG4-RD は血清 IgG4 高値と罹患臓器への著明な IgG4 陽性形質細胞の浸潤を特徴とし、全身諸臓器の病的変化を包括する。しかし、IgG4-RD の真の原因はいまだ不明であり、ステロイドが奏功するものの、治療抵抗例・再燃例に対する治療法は確立されておらず、これらの課題解決は診療の質を高め、患者の QOL を向上させるために必要である。

本年度は、遺伝子やトランスクリプトーム解析、細胞・病理学的解析、免疫学的解析、マウスモデル構築、種々の臓器病変の臨床的解析などを通じた IgG4-RD の病因と病態の追及がなされ、一定の成果があった。また班全体でステロイド療法の実態を調査し至適用量を推定することができた。さらには難治例・再燃例に対するリツキシマブの有効性の検討など新しい治療法の開発を検討中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

「III. 学会等発表実績」参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Ⅱ. 委託業務成果報告（業務項目）

《合同研究》IgG4 関連疾患治療実態調査

業務主任者 三森 経世 京都大学大学院医学研究科 内科学講座臨床免疫学 教授
担当責任者 吉藤 元 京都大学大学院医学研究科 内科学講座臨床免疫学 院内講師
研究協力者 白柏 魅怜 京都大学大学院医学研究科 内科学講座臨床免疫学
IgG4 関連疾患の病態解明と新規治療法の確立に関する研究班研究分担者

研究要旨

【目的】IgG4 関連疾患（IgG4-related disease: IgG4-RD）はステロイドが有効だが易再燃性であり、副作用で難治する例も見られる。ステロイドの有効率・再燃率・副作用などの臨床情報集積はいまだ不十分であり、標的臓器に関わりなく一律に定められている標準治療（PSL 0.6 mg/kg/day より漸減）が妥当かどうか検討を要する。多施設共同による症例調査を行った。

【対象】厚生労働省 IgG4 関連疾患の病態解明と新規治療法を確立に関する研究班分担研究施設より、包括診断基準または自己免疫性膵炎診断基準により確定診断された IgG4-RD 計 134 例の臨床情報を後方視的に集積し解析した。

【結果】男性 86 例（64%）、女性 48 例（36%）、発症年齢 60 ± 12 歳、観察期間 5.5 ± 3.7 年だった。罹患臓器では、顎下腺 68 例（51%）、涙腺 57 例（43%）、膵 62 例（46%）が多かった。122 例（91%）でステロイド療法が行われ、初回最大量（PSL 換算）は、 31.1 ± 6.8 mg/day (0.54 ± 0.15 mg/kg/day) であった。初回ステロイドの有効率は 90%と高かったが、28%が再燃した。初回ステロイド投与量で層別化して再燃率を比較したところ、0.40-0.69 mg/kg/day の区間で再燃率は変わらなかったが、0.39 mg/kg/day 以下では再燃率が高くなる傾向にあった。治療標的臓器別に再燃率を解析したところ、眼窩（50%）、下垂体（50%）で高い傾向にあった。副作用は、糖尿病（32%）、骨粗鬆症（15%）、感染症（5%）等を認めた。免疫抑制薬は 9 例（7%）に併用、アザチオプリンが最も多く使われ、概ね有効であった。転帰は、生存 126 例（94%）、死亡 1 例（1%）、転院 7 例（5%）だった。

【結論】IgG4-RD はステロイドの有効率が高く、生命予後は良いが、再燃率が高く、ステロイド糖尿病などの副作用が問題となる。初回ステロイド量 0.40-0.69 mg/kg/day の間で再燃率に変化がなかったことから、現在使われている 0.6 mg/kg/day を見直せる可能性が示唆された。

A. 研究目的

IgG4 関連疾患（IgG4-related disease: IgG4-RD）は、血清 IgG4 濃度上昇と、病変局所への IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする原因不明の多臓器硬化性疾患である。日常診療では、ステロイドが有効だが易再燃性であり問題となる。高齢に多い疾患でありステロイド副作用で苦しむ例も見られるが、ステロイドの有効率・再燃率・副作用・免疫抑制薬の使用状況・転帰などの臨床情報集積はいまだ不十分であり、現在、我々が標的臓器に関わりなく一律に行っている治療（PSL 0.6 mg/kg/day より漸減）がリスク・ベネフィット比において真に妥当かどうか、検討を要する。今回、当研究班で、多施設共同による症例調査を行った。

B. 研究方法

当研究班の臨床系 12 施設（京都大学、札幌医科大学、東京医科大学、都立駒込病院、信州大学、関西医科大学、産業医科大学、岡山大学、富山大学、九州大学、筑波大学、金沢大学）で、包括診断基準（文献 1、2011 年）または自己免疫性膵炎の診断基準（日本膵臓学会・厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班、2011 年）により確定診

断された IgG4-RD 134 例の臨床情報を後方視的に集積し、治療・効果・副作用・転帰等を調査した。各施設で経過が追える最も古い症例から serial に約 10 例ずつを収集した。

表 1. 協力施設一覧と症例数

施設	症例数
京都大学免疫・膠原病内科	17
信州大学	15
関西医科大学	11
京都大学消化器内科	10
東京都立駒込病院	10
筑波大学	10
金沢大学	10
札幌医科大学	10
富山大学	10
東京医科大学	9
産業医科大学	9
九州大学	9
岡山大学	4
計	134

【倫理面への配慮】

前年度までの IgG4 関連疾患研究班において、IgG4 関連疾患の病因・病態の解明、診断および治療法開発のための「IgG4 関連疾患・自己免疫性膵炎における疾患関連遺伝子の解析」「IgG4 関連疾患のステロイド投与における免疫応答に関する網羅的オミックス解析」の両プロトコルが、十分な倫理的配慮の元にヘルシンキ宣言が言明する諸原則の範囲内で作成され認可を得ている。当研究班の研究分担施設においても既に承認を得ている。これらのプロトコルには、IgG4 関連疾患症例の臨床データ採取についてのプロトコルも含まれている。

C. 研究結果

(1) 疫学

男性 86 例 (64%)、女性 48 例 (36%) と男性の発症率は女性の約 2 倍だった (図 1)。発症年齢のピークは 60 代 (60 ± 12 歳) (図 2)、観察期間は 5.5 ± 3.7 年だった。

図1. 性別

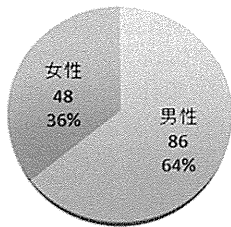
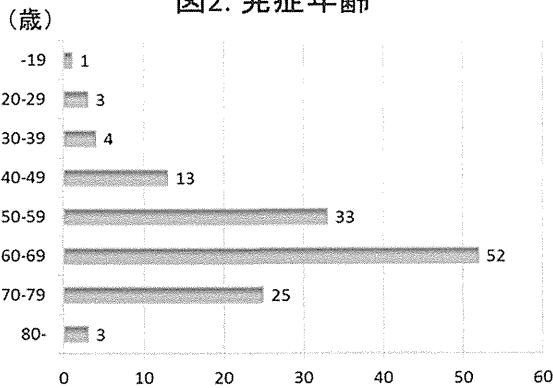


図2. 発症年齢



(2) 病型

罹患臓器 (延べ数) は、顎下腺 68 例 (51%)、涙腺 57 例 (43%)、膵 62 例 (46%)、リンパ節 56 例 (42%) が多かった (図 3)。

(3) ステロイド治療の実態

初回最大ステロイド量 (すべて PSL 換算) は、31.1 ± 6.8 mg/day (0.54 ± 0.15 mg/kg/day) と 0.6 mg/kg/day よりやや少なかった (図 4)。

図3. 罹患臓器 (延べ数)、N = 134

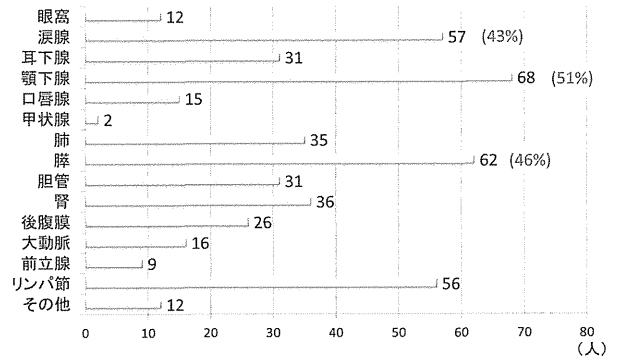


図4. 体重換算最大ステロイド量

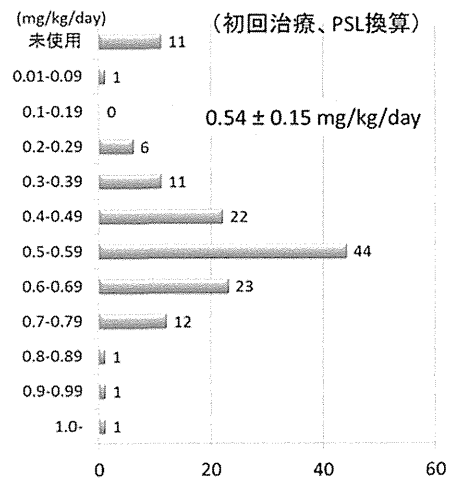


表2. 有効の定義

水腎症・胆道閉塞などの機能症状の改善
or
腫瘍径縮小 ≥ 50%
or
腫瘍径縮小 ≥ 10%
血清IgG4低下 ≥ 10%

表3. 再燃の定義

症状再燃による結果的な
①ステロイド投与量20%以上の再増量 or
②免疫抑制薬の併用開始
をもってretrospectiveに再燃と定義

独自の定義 (表 2, 3) を用いて検討したところ、初回ステロイドの有効率は 90% と高かったが、再燃率も 28% と高かった。初回ステロイド投与量で層別化して再燃率を比較したところ、0.40-0.69 mg/kg/day の区間で再燃率は変わらなかったが、0.39 mg/kg/day 以下では再燃率が高くなる傾向にあった (図 5)。治療標的臓器別に再燃率を解析したところ、眼窩 (50%)、下垂体 (50%) で高い傾向にあった (図 6)。

図5. 初回ステロイド量で層別化した再燃率

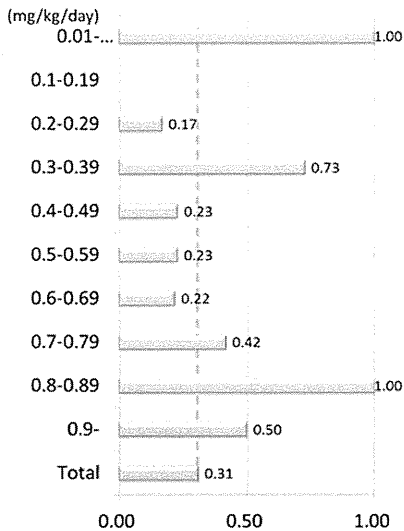
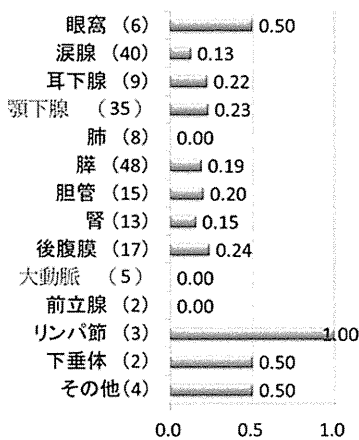


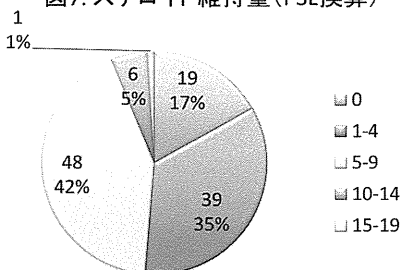
図6. 臓器別再燃率



男女別で再燃率をみると、男性で30%と、女性の24%に比べて再燃率が高かった。

33例中31例で、再燃直前のステロイド量 (PSL換算) は10 mg/day未満であった。約半数の症例でステロイド維持量を5 mg/day未満に減量できており、17%の症例でステロイドを中止できていた。(図7)

図7. ステロイド維持量 (PSL換算)



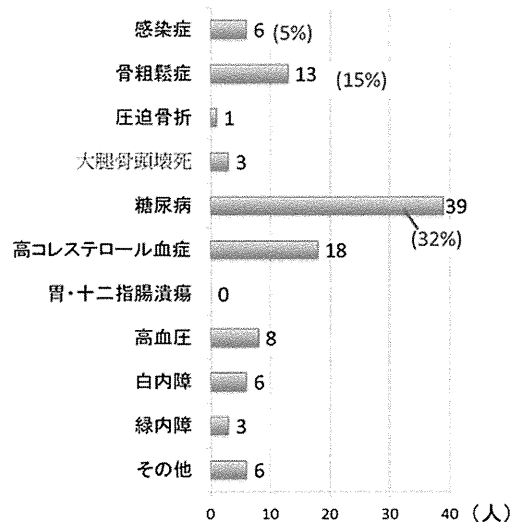
(4) 免疫抑制薬の使用状況

免疫抑制薬は134例中9例(7%)、すなわち、再燃33例の27%に併用され、おおむね有効であり、特に副作用を認めなかった。最も使われていたのはアザチオプリンだった。

(5) 治療関連合併症・転帰

ステロイド副作用(図8)は、総計において122例中64例(52%)にみられ、内訳では、糖尿病(32%)、骨粗鬆症(15%)、感染症(5%)などが多かった。転帰について、生存126例(94%)、死亡1例(1%)、転院7例(5%)と、生命予後は良好と考えられた。

図8. ステロイド副作用(のべ数)



D. 考察

IgG4-RD症例のステロイド使用量を調べたところ、一般的に現在、標的臓器に関わりなく一律に行われているPSL 0.6 mg/kg/dayよりもやや少ないステロイド初期投与量が使われており、ステロイドの有効率は高い(90%)が、再燃も多い(約30%)傾向にあった。

男性例で再燃率が高かったことは、最近の山本らの報告(文献2)に一致していた。山本らの報告では脾病変の再燃率が高かったが、我々の今回の検討では、眼窩腫瘍(再燃率:約30%)や後腹膜線維症の再燃率が高かった。これらの症例では、ステロイドの慎重な漸減等の注意を要すると考えられた。再燃例には、AZAなどの免疫抑制薬の併用がオプションになると考えられた。

今回の検討(図5)で、初回ステロイド量0.40-0.69 mg/kg/dayの間で再燃率に変化がなかったが、0.39 mg/kg/day以下では再燃率が高くなる傾向にあったことから、現在使われている0.6 mg/kg/dayを0.4 mg/kg/dayまで引き下げられるのではないかと考えられた。

33例中31例で、再燃直前のステロイド量(PSL換算)は10 mg/day未満であったことから、ステロイド維持量が「少ない」ことはIgG4-RD再燃のリス

ク因子となりうるかもしれない。ほかに、ステロイド減量の「速さ」も再燃のリスク因子となりうるかもしれないが、未検討であり、追加調査をする予定である。

E. 結論

12施設共同によるIgG4-RD確定診断134例の後ろ向き調査を行った。IgG4-RDはステロイドの有効率が高く、生命予後は良いが、再燃率が高く、高齢発症が多いこともあって、ステロイド糖尿病などの副作用が問題となる。今回の検討で、初回ステロイド量0.40-0.69 mg/kg/dayの間で再燃率に変化がなかったことから、現在使われている0.6 mg/kg/dayを見直せる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 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

I. 参考文献

- 1) Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Yoshino T, Nakamura S, Kawa S, Hamano H, Kamisawa T, Shimosegawa T, Shimatsu A, Nakamura S, Ito T, Notohara K, Sumida T, Tanaka Y, Mimori T, Chiba T, Mishima M, Hibi T, Tsubouchi H, Inui K, Ohara H. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol*. 2012 Feb;22(1):21-30. doi: 10.1007/s10165-011-0571-z. Epub 2012 Jan 5.
- 2) Yamamoto M, Nojima M, Takahashi H, Yokoyama Y, Ishigami K, Yajima H, Shimizu Y, Tabeya T, Matsui M, Suzuki C, Naishiro Y, Takano K, Himi T, Imai K, Shinomura Y. Identification of relapse predictors in IgG4-related disease using multivariate analysis of clinical data at the first visit and initial treatment. *Rheumatology (Oxford)*. 2015 Jan;54(1):45-9. doi: 10.1093/rheumatology/keu228. Epub 2014 Jun 6.

IgG4 関連疾患のオミックス解析による病因解明に関する研究

担当責任者 松田 文彦 京都大学大学院医学研究科ゲノム医学センター 教授

研究要旨

IgG4 関連疾患の病因・病態解明、および診断や治療効果、予後予測に資する分子マーカーの同定を目的に、患者検体を用いた網羅的オミックス解析を行う。本年度は、ゲノム網羅的な関連解析から、HLA 領域が疾患と関連することを明らかにした。今後、本成果の臨床応用に向けて、IgG4-RD と関連する HLA ハプロタイプの特定を進める計画である。

A. 研究目的

IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) は、我が国から提唱された疾患概念であり、血清 IgG4 高値と全身諸臓器の IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする原因不明の疾患群である。自己免疫性膵炎、涙腺唾液腺炎（ミクリッツ病）などを含むが、疾患概念が確立してから日が浅く、その病因・病態はほとんど不明である。そこで本研究では、IgG4-RD の網羅的オミックス解析から、病因・病態を解明し、ひいては診断、治療効果や予後の予測、再発リスク評価などに資する分子マーカーを探索することを目的とした。

B. 研究方法

共同研究者や難病研究班と連携して IgG4-RD の患者検体を収集し、集約的にオミックス解析を行う。具体的には、ゲノム網羅的な関連解析や次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析に加え、血液中の転写物、代謝物、脂質、ペプチド、タンパク質の解析を行い、全ての情報と臨床情報とを統合したオミックス解析から、難病の病因・病態解明を進める。横断面での解析に加え、治療介入直後で時系列に収集した検体（介入前、介入後 30、180、360、720 日）を用いた縦断的な検討も行う計画である。このうち本年度は、IgG4-RD のゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行った。

なお、対照群には、滋賀県長浜市民を対象とした「ながはま 0 次コホート事業」で収集した 10,082 例分のゲノム DNA、末梢血 RNA、血漿、血清検体を用いる。このうち 300 例で疾患群と同様にオミックス解析を行い、コントロールデータを確保した。加えて、5ヶ所の難病解析拠点で行った 1,208 検体のエクソーム解析から、日本人標準的な塩基配列情報とその遺伝子変異の情報も得ている（「日本人の遺伝子変異データベース (HGVD)」）。

(倫理面への配慮)

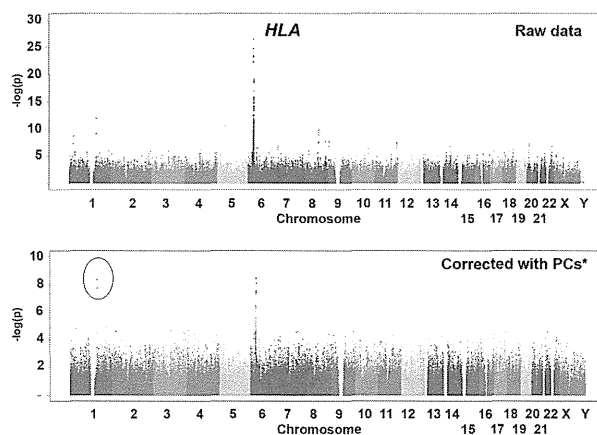
IgG4-RD のオミックス解析は、京都大学医の倫理委員会から承認を得ている。対象者には十分な説明を行った上で、書面で同意を得る。共同研究者や一般研究班からの検体を受け入れる場合は、それぞれが所属する研究機関で倫理的承認を得ていることを確認する。

コントロールデータとする“ながはま 0 次コホー

ト研究”では、京都大学と長浜市とで制定した個人情報保護に関する市の条例（ながはまルール）に則って対象者 10,082 人から研究活用に関する同意を得た。

C. 研究結果

これまでに、共同研究機関を通じて IgG4-RD の基準を満たす 674 例の患者検体（自己免疫性膵炎 407 例、ミクリッツ病 219 例、合併例 40 例）を収集した。イルミナ社のアレイを用いてゲノム網羅的な一塩基多型 (SNP) タイピングを行い、定法に則ってクォリティーコントロールを行った後、地域住民 1,848 例を対照に関連解析を行った。



IgG4 関連疾患のゲノム網羅的解析

その結果、6 番染色体の HLA 領域が IgG4-RD と強く関連した。加えて、1 番染色体の遺伝子 A にも強い関連を示す SNP が検出された。

D. 考察

ゲノムワイド関連解析から、HLA 領域が IgG4-RD と強く関係することが示された。当該領域と IgG4-RD との関連は既に報告されていることから、HLA が疾患感受性を示すことは確定的といえる。本結果を臨床応用するためには、いずれの HLA ハプロタイプが疾患と関連するかを明示する必要がある。現在、HLA 領域を高密度にシーケンシングし、IgG4-RD に関連する

ハプロタイプの特定を進めている。

HLA 領域以外にも、染色体 1 番に候補遺伝子を同定した。遺伝子も医学・生物学的に IgG4-RD との関わりが妥当であると考えられた遺伝子座であったことから、当該領域のファインマッピングを進め、疾患と関連する変異を同定する計画である。

本研究で同定された候補遺伝子と疾患との関わりについて確証を得るためには、独立した検体で再現性を検証する必要がある。現在、さらなる検体収集を進めることで、検証研究を行う基盤を整えている。

E. 結論

IgG4-RD のゲノムワイド関連解析から、HLA 領域が疾患と関連することを明らかにした。当該成果の臨床応用に向けて、IgG4-RD と関連する HLA ハプロタイプの特定を進めている。HLA 領域以外にも候補遺伝子を同定した。当該領域のファインマッピングから原因変異を同定し、臨床応用への道筋を付ける。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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 関連疾患の顎下腺を用いた DNA マイクロアレイ解析に関する研究

担当責任者 中村 誠司 九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座（教授）
研究協力者 森山 雅文 九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座（助教）

研究要旨

近年、自然免疫応答の異常が IgG4 関連疾患（IgG4-RD）の病態形成に関与していることを報告されている。しかし IgG4-RD と自然免疫との関連については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、IgG4-RD の病態形成に関与する自然免疫関連分子の同定を目的に、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った。その結果、IgG4-RD ではコラーゲン様構造マクロファージ受容体（MARCO）の発現が亢進しており、M2 マクロファージ（CD163 陽性細胞）と局在が一致していた。これらの結果から、MARCO は IgG4-RD の疾患関連分子の 1 つであることが考えられ、IgG4-RD の新規標的分子治療にも応用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

IgG4 関連疾患（IgG4-RD）は、罹患臓器への著明な IgG4 陽性形質細胞の浸潤と重度の線維化を特徴とする全身性の疾患である。われわれはこれまで、IgG4 関連涙腺・唾液腺炎（IgG4-DS）患者の唾液腺のヘルパーT（Th）細胞に注目し、IgG4-DS が Th2 優位の疾患であり、この Th2 が IgG4 産生を誘導していることを明らかにしてきた。さらに近年、自然免疫応答の異常が Th2 の免疫応答を促進させ、IgG4-RD の病態形成に関与していることを報告されている。しかし IgG4-RD と自然免疫との関連については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、IgG4-RD の病態形成に関与する自然免疫関連分子の同定を目的に、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

IgG4-DS 患者（n=3）と健常者（n=3）の顎下腺を用いて DNA マイクロアレイを行い、両群の遺伝子発現を検定し、IgG4-DS 患者群で発現増加、減少した遺伝子を抽出した。さらに Gene Ontology (GO) アノテーションを用いて発現変動遺伝子の機能解析を行った。さらに抽出した遺伝子のうち、発現が有意に亢進していた遺伝子については、IgG4-DS 患者（n=5）、シェーグレン症候群患者（n=10）および健常者群（n=10）の唾液腺を用いて PCR および免疫組織化学染色にて validation を行った。（倫理面への配慮）

本研究は生体材料を使用するため、主治医が説明文書を使用して患者に説明し、患者及び家族から書面で同意書を得る。解析結果の論文などでの公表に際しては、患者の個人を識別できる情報は公表しない。個人情報保護のため、検体は符号により匿名化し、符号を結びつける対応表および個人情報を実験責任者が厳重に保管する。

C. 研究結果

IgG4-DS 患者群と健常者群の間には、明らかに発現の異なる遺伝子が多数存在しており、IgG4-DS で発現増加した遺伝子は 450 個、減少した遺伝子は 732 個であった（adjust p -value < 0.01 ）。機能解析では、IgG4-DS では T 細胞・B 細胞活性化、ケモタキシスなどの免疫反応に関連する遺伝子群の発現増加が認められた。PCR による validation では、IgG4-RD 患者はコラーゲン様構造マクロファージ受容体（MARCO）の発現が健常者群と比較して有意に亢進していた（ $p < 0.001$ ）。MARCO は Class A スカベンジャー受容体として M2 マクロファージに高発現している。免疫組織化学染色では、IgG4-RD 患者の唾液腺のみに MARCO および M2 マクロファージ（CD163 陽性細胞）がリンパ濾胞周囲に強い発現を認めた。さらに、M2 マクロファージの細胞数および M2/M1+M2 ratio は、他の群と比べて有意に高かった。

D. 考察

M2 マクロファージは、Th2 サイトカインによって活性化され、創傷治癒や線維化を促進する。最近の報告では単球/マクロファージが BAFF や APRIL というサイトカインを産生し、直接形質細胞の IgG4 産生を促進することが示唆されている。今回の研究結果から、IgG4-RD の発症・病態形成には MARCO を介した M2 マクロファージの関与が考えられる。

E. 結論

MARCO は IgG4-RD の疾患関連分子の 1 つであることが考えられ、IgG4-RD の新規標的分子治療にも応用できる可能性が示唆された。また、われわれの最新の研究では Th2 細胞を活性化する IL-33 という新規サイトカインもこの M2 マクロファージから産生されることがわかっており（論文作成中）、今後は M2 マクロファージを標的とした新規標的分子治療法の確立を目指す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Furukawa S, Moriyama M, Tanaka A, Maehara T, Tsuboi H, Iizuka M, Hayashida JN, Ohta M, Saeki T, Notohara K, Nakamura S. Preferential M2 macrophages contribute to fibrosis in IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis, so-called Mikulicz' s disease. Clin Immunol 156:9-18, 2014.
- 2) Tsuboi H, Nakai Y, Iizuka M, Asashima H, Hagiya C, Tsuzuki S, Hirota T, Miki H, Hagiwara S, Kondo Y, Tanaka A, Moriyama M, Matsumoto I, Nakamura S, Yoshihara T, Abe K, Sumida T. DNA microarray analysis of labial salivary glands in IgG4-related disease. Comparison with Sjögren' s syndrome. Arthritis Rheum 66(10):2892-9, 2014.
- 3) Moriyama M, Furukawa S, Kawano S, Goto Y, Kiyoshima T, Tanaka A, Maehara T, Hayashida JN, Ohta M, Nakamura S. The diagnostic utility of biopsies from the submandibular and labial salivary glands in IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis, so-called Mikulicz' s disease. Int J Oral Maxillofac Surg 43(10):1276-81, 2014. IF: 1.280
- 4) Furukawa S, Moriyama M, Kawano S, Tanaka A, Maehara T, Hayashida JN, Goto Y, Kiyoshima T, Shiratsuchi H, Ohyama Y, Ohta M, Imabayashi Y, Nakamura S. Clinical relevance of Küttner tumour and IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis. Oral Dis 2014, in press.
- 5) Moriyama M, Tanaka A, Maehara T, Furukawa S, Nakashima H, Nakamura S. T helper subsets in Sjögren' s syndrome and IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis: A critical review. J Autoimmun 51:81-88, 2014

2. 学会発表

- 1) 第 59 回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会「IgG4 関連涙腺・唾液腺炎 (IgG4-DS) の病態形成における M2 マクロファージの関与」古川 祥子、森山 雅文、田中 昭彦、前原 隆、林田 淳之將、大山 恵子、太田 美穂、山内 昌樹、中村 誠司 東京、2014. 10. 18
- 2) 第 23 回日本シェーグレン症候群学会学術集会「Küttner 腫瘍と IgG4 関連涙腺・唾液腺炎の臨床的意義」古川 祥子、森山 雅文、川野真太郎、田中 昭彦、前原 隆、林田 淳之將、後藤 雄一、大山 順子、太田 美穂、中村 誠司 東京、2014. 10. 18
- 3) 第 55 回 日本神経学会学術大会シンポジウム「IgG4 関連疾患の病態形成における Th 細胞および自然免疫細胞の関与」森山 雅文、田中 昭彦、前原 隆、古川 祥子、太田 美穂、中村 誠司 福岡、2014. 5. 21
- 4) 第 24 回 日本口腔内科学会・第 27 回 日本口腔診断学会 合同学術大会シンポジウム「IgG4 関連涙腺・唾液腺の疾患概念と免疫学的特徴」森山 雅文、田中 昭彦、前原 隆、古川 祥子、中村 誠司 福岡、2014. 9. 20

H. 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