

デザインした。

(2) ヒト IgG4 の定常領域をクローニングした。ヒト IgG4 定常領域は 6 つのエクソンからなるが、すべてを置換しようとする、ターゲットベクターが長くなりすぎるため、エクソンおよびイントロン 1, 6, 7 はマウス IgG1 遺伝子を残し、エクソンおよびイントロン 2~5 のみヒト IgG4 遺伝子に置換したキメラ蛋白となるように配列を設計した。ターゲット配列を直接に合成し、シーケンシングにより確認した上で、pBluescript II SK ベクターに挿入した。

(3) ベクターを C57BL/6 (B6) 系統の ES 細胞にエレクトロポレーションで導入し、PCR 法で確認した。サザンブロッティング法によりデザイン通りに相同組み換えが起こっている ES クローンを選別した。

(4) 白系の Balb/c 胚盤胞に ES クローンをインジェクションし、仮親用の ICR マウス胎内に戻し、毛色が黒色の仔キメラマウスを選別した。

(5) 得られたキメラマウスを野生型 B6 マウスと交配し F1 ヘテロマウスを作成し、PCR 法により選別した。

(6) 得られた F1 ヘテロマウスを Tg-Cre マウスと交配して Neo を除去し、PCR 法により選別した。

(7) Neo 除去ヘテロマウス同士を交配し、仔マウスの Wild, Hetero, Homo 型を PCR 法により検討した。

【倫理面への配慮】

遺伝子組み換えマウスの作成・使用については、京都大学に組み替え DNA 実験計画を提出し承認を得た (No. 130154)。マウスの実験操作については、京都大学大学院医学研究科に動物実験計画書を提出し承認を得た (MedKyo14148)。

C. 研究結果

(1) B6 系統の ES 細胞に pBluescript II SK ベクターをエレクトロポレーションで導入し、PCR 法とサザンブロッティング法で遺伝子ターゲットを確認できた ES クローンは 8 つであった。

(2) 白系の Balb/c 胚盤胞に黒系の B6 ES クローンをインジェクションして得た仔キメラマウスのうち、毛色が黒色の仔マウスを選別したところ、目視によるキメラ率 70~95% の仔マウスを得た (図 2)。

図2. ESクローンNo.16のインジェクションによるキメラマウス(♂)



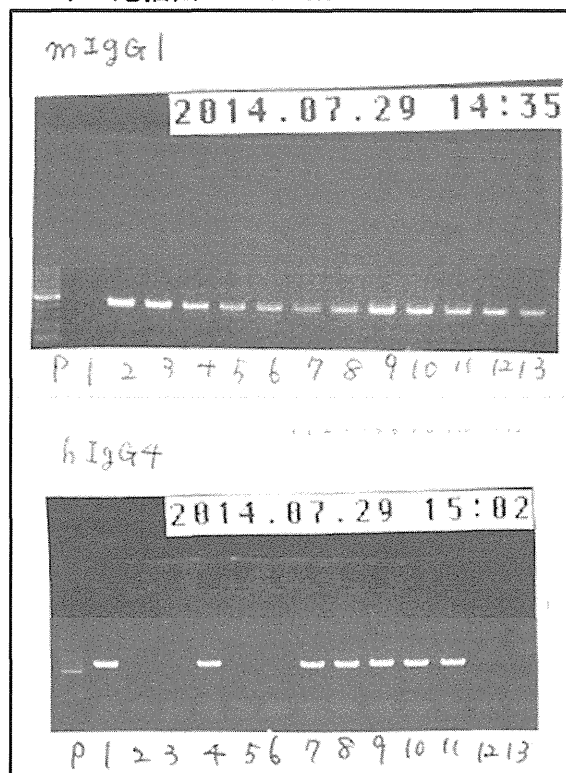
(3) 最終的に Neo 除去ヘテロマウスを得ることができた。

(4) 次に、ホモマウスの作成を試みた。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 (図 3)。仔マウスのタイピングの結果を図 4 に示す。

(5) ホモマウスの外観に異常はなかった。

図3. F1ヘテロマウス同士の交配で得た仔マウス尾抽出DNAのPCR



上段はマウスIgG1特異的配列で増幅し、下段はヒトIgG4特異的配列で増幅した。

No. 1はホモ接合型、No. 2と3は野生型、No. 4はヘテロ接合型を表す。

図4. 仔マウスの遺伝子タイピング

メンデル比
Wild : Hetero : Homo
= 31 : 56 : 26
性比 M : F = 56 : 57

D. 考察

F1 ヘテロマウス同士の交配によるメンデル比 (WT : Het : Homo) = 約 1 : 2 : 1 であったことから、本マウスの Homo マウスが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 で測定するなどの表現型の確認が必要である。

今回のモデルマウスにおいて、ヒト IgG4 サブクラスが発現する（すなわち、クラススイッチを起こす）ためのプロモーターは設けていない。したがって、遺伝子改変の標的となるマウス IgG1 サブクラスにクラススイッチを起こすような生理的刺激が入ると、マウス IgG1 の代わりにヒト IgG4 が発現するという仕組みである。今回、我々は、置換を受ける標的サブクラスとして IgG1 を選択したが、その理由は、IgG4-RD の病態において Th2 が重要と考えられており、マウスにおいて Th2 が誘導するサブクラスは IgG1 であるためである。

ヒト IgG4 定常領域は6つのエクソンからなるが、すべてを置換しようとする、ターゲティングベクターが長くなりすぎる。我々は、エクソンおよびイントロン1, 6, 7はマウス IgG1 遺伝子を残し、エクソンおよびイントロン2~5のみヒト IgG4 遺伝子に置換したキメラ蛋白となるように配列を設計した。その理由は、エクソン2~5は互いに近傍に分布するのに対し、エクソン1, 6, 7は距離が遠いところに位置するためである。エクソン1~7、すなわち、コーディング配列だけを挿入することも検討したが、イントロン1~6は膜型および分泌型免疫グロブリンのスプライシング調節にきわめて重要であり、イントロン配列を除去することはふさわしくないと考えられた。したがって、エクソン1, 6, 7はマウス IgG1 遺伝子を残すキメラ蛋白となった。ただし、当該部分の配列はマウスとヒトで高度に保存されている。

今後、本マウスの表現型の確認を行った上で、疾患モデル樹立へのステップに進む予定である。

E. 結論

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するマウスモデルを考案し、B6 マウス ES 細胞への遺伝子ターゲティング法により、遺伝子組み換えマウスを作成した。尾抽出 DNA を用いた PCR 法により、マウスゲノムへのヒト IgG4 遺伝子の挿入を確認することができた。今後、本マウスの表現型の確認を行った上で、IgG4-RD モデル樹立へのステップに進む予定である。

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) Katagiri K, Imamura M, Kinashi T. Spatiotemporal regulation of the kinase Mst1 by binding protein RAPL is critical for lymphocyte polarity and adhesion. *Nat Immunol.* 2006 Sep;7(9):919-28.
- 2) Miyawaki S, Nakamura Y, Suzuka H, Koba M, Yasumizu R, Ikehara S, Shibata Y. A new mutation, aly, that induces a generalized lack of lymph nodes accompanied by immunodeficiency in mice. *Eur J Immunol.* 1994 Feb;24(2):429-34.
- 3) Genton C, Wang Y, Izui S, Malissen B, Delsol G, Fournié GJ, Malissen M, Acha-Orbea H. The Th2 lymphoproliferation developing in LatY136F mutant mice triggers polyclonal B cell activation and systemic autoimmunity. *J Immunol.* 2006 Aug 15;177(4):2285-93.

IgG4 関連疾患における悪性腫瘍発症に関する研究

担当責任者 川 茂幸 信州大学総合健康安全センター 教授
研究協力者 浅野順平、小口貴也、金井圭太 信州大学医学部消化器内科 大学院生
伊藤哲也 信州大学医学部消化器内科 特任助教
村木 崇 信州大学医学部消化器内科 助教
浜野英明 信州大学医学部附属病院医療情報部 准教授
新倉則和 信州大学医学部附属病院内視鏡センター 准教授

研究要旨

IgG4 関連疾患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。本研究では IgG4 関連疾患患者に悪性腫瘍が有意に発症するかどうか、腫瘍随伴症候群として発症し得るかを検討した。IgG4 関連疾患と診断された 158 名(男性 119 名、女性 39 名、年齢中央値 72 歳)を対象とし、悪性腫瘍における標準化罹患比を算出し、また、日本の一般人口の年代別悪性腫瘍罹患率を対象として Kaplan-Meier 曲線にて比較検討した。腫瘍随伴症候群として IgG4 関連疾患が生じる可能性を検討するために診断後 1 年以内と 1 年以後の標準化罹患比をそれぞれ算出し、比較検討した。同様の検討を自己免疫性膵炎についても行った。158 名のうち、34 名に 36 例の悪性腫瘍が認められ、肺癌・大腸癌・前立腺癌が 5 例、胃癌・膵癌が 4 例であった。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 関連疾患は悪性腫瘍合併と有意に関連していた。IgG4 関連疾患診断 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)、診断 1 年以後における標準化罹患比は 1.48 (95%信頼区間：0.99-1.98) より、悪性腫瘍は IgG4 関連疾患診断 1 年以内に診断されることが多いと考えられた。一般人口の年代別悪性腫瘍罹患率を用い、Kaplan-Meier 曲線で比較検討した結果、IgG4-RD と診断してから 12 年以内においては IgG4-RD 患者は一般人口と比べ有意に悪性腫瘍を発症した。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。以上より、IgG4 関連疾患は悪性腫瘍発症と関連すると考えられた。一部の IgG4 関連疾患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 関連疾患診断 1 年以内に悪性腫瘍の合併に注意すべきである。

A. 研究目的

近年、IgG4 関連疾患 (IgG4-related disease: IgG4-RD) における悪性腫瘍発症との関連性およびその機序について感心が高まり検討されている。¹⁻³⁾ 慢性炎症が発癌に関与することは周知である。IgG4-RD は各臓器に炎症を生じる疾患群であることから、長期経過で種々の臓器に悪性腫瘍を発症する可能性はある。また、IgG4-RD は自己免疫異常の関与が示唆されており、腫瘍随伴症候群として発症している可能性も指摘されている。²⁾ しかし、両者の関係性については否定的な見解もあり、³⁾ 意見が分かれている。したがって、本研究では IgG4-RD 患者に悪性腫瘍が有意に発症するかどうか、腫瘍随伴症候群として発症し得るかを検討した。

B. 研究方法

当院で 1992 年から 2012 年の期間に IgG4-RD と診断された 158 名(男性 119 名、女性 39 名、年齢中央値 72 歳)を対象とし、IgG4-RD 診断時から 2013 年 12 月までの期間に悪性腫瘍を合併したかどうかを検索し、悪性腫瘍における標準化罹患比 (standardized incidence ratio: SIR) を算出した。また、腫瘍随伴症候群として IgG4-RD が生じる可能性を検討するために IgG4-RD 診断後 1 年以内と 1 年以後の SIR をそれぞれ算出し、比較検討した。同様の検討を自己

免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis: AIP) についても行った。さらに、IgG4-RD 患者が経過で悪性腫瘍が有意に発症するかどうかを検討するために、日本の一般人口の年代別悪性腫瘍罹患率を対象とし Kaplan-Meier 曲線にて比較検討した。発症年齢、性別、血清活動性マーカー値を悪性腫瘍発症群と非発症群において比較し、悪性腫瘍合併の危険因子を検索した。統計学的検定は連続データに対しては t 検定および Mann-Whitney 検定を用い、カテゴリーデータに対してはカイ二乗検定およびフィッシャーの正確確率検定を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を受けた (承認番号 2602)

C. 研究結果

IgG4-RD 158 名のうち、34 名に 36 例の悪性腫瘍が認められた。そのうち、肺癌・大腸癌・前立腺癌が 5 例、胃癌・膵癌が 4 例であった。AIP についても同様の傾向であった (表 1)。悪性腫瘍が根治に至ったのは 11 名であり、そのうち 8 名がステロイド治療を施行され IgG4-RD は寛解した。その 8 名は悪性腫瘍根治後、ステロイド治療中や治療後に IgG4-RD の再燃を来すことはなかった。

表1. 合併する悪性腫瘍

悪性腫瘍	IgG4-RD(158名)	AIP(109名)
全体	36	30
肺	5	4
大腸	5	3
前立腺	5	5
胃	4	3
膵	4	4
その他	13	11

全体での SIR 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ていた。IgG4-RD 診断 1 年以内における SIR は 3.53 (95%信頼区間 : 1.23-5.83)、診断 1 年以後における SIR は 1.48 (95%信頼区間 : 0.99-1.98) より、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。AIP についても同様の傾向であった (表 2)。各種癌に対して SIR を算出したが、有意な結果は得られなかったが、膵癌に関しては 5.48 (95%信頼区間 : 0.11-10.85) と高い傾向を認めた。

表2. 悪性腫瘍合併に対する標準化罹患比 (SIR)

	IgG4-RD		AIP	
	SIR	95% CI	SIR	95% CI
全体	2.01	1.34-2.69	2.08	1.32-2.85
同時診断例除外	1.60	1.07-2.13	1.71	1.01-2.41
IgG4-RD診断				
1年以内	3.53	1.23-5.83	3.91	1.02-6.80
1年以後	1.48	0.99-1.98	1.57	0.90-2.23

一般人口の年代別悪性腫瘍罹患率を用い、 Kaplan-Meier 曲線で比較検討した。その結果、IgG4-RD と診断してから 12 年以内においては IgG4-RD 患者は一般人口と比べ有意に悪性腫瘍を発症した (図 1)。

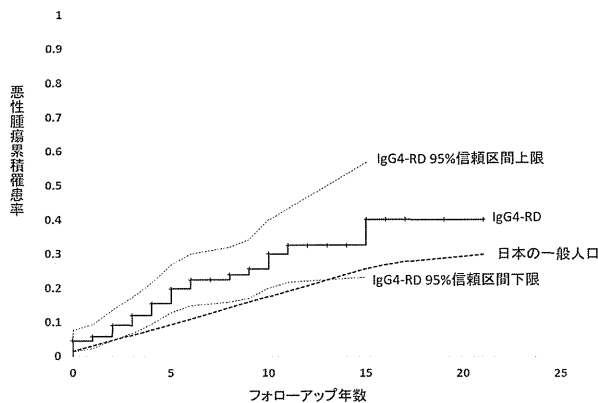


図1. 経時的悪性腫瘍発症数(IgG4-RD)

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 (表 3)。

表3. 悪性腫瘍合併発症に関連する危険因子

パラメータ	悪性腫瘍(+)	悪性腫瘍(-)	P値
IgG4-RD発症年齢	67.6	65.0	0.211
性(男/女)	29/5	90/34	0.194
罹患臓器数	3.03	2.56	0.054
ステロイド使用(有/無)	26/8	85/39	0.467
再燃(有/無)	7/26	20/58	0.799
飲酒(有/無)	10/22	36/79	0.834
喫煙(有/無)	20/14	69/46	0.939
IgG4(mg/dl)	749	430	0.005
免疫複合体 ($\mu\text{g/ml}$)	100	107	0.638
可溶性IL-2R(U/ml)	19.3	22.8	0.229

D. 考察

本研究では SIR ならびに年代別悪性腫瘍罹患率を用いた Kaplan-Meier 曲線による解析により、IgG4-RD は悪性腫瘍発症に有意に関連することを示した。悪性腫瘍根治後、寛解した IgG4-RD が再燃しなかったことや、IgG4-RD 診断 1 年以内に悪性腫瘍の発症が多いことから、IgG4-RD は腫瘍随伴症候群の性質を有すると考えられた。²⁾ 腫瘍随伴症候群は悪性腫瘍により発生した炎症性メディエーターが原因で全身性の炎症を生じる疾患群である。血清 IgG4 値が悪性腫瘍発症群で有意に高値であったことから、IgG4 は炎症性メディエーターの活性化に関与している可能性が考えられた。しかし、全ての IgG4-RD が悪性腫瘍を合併していないことから、長期にわたる慢性炎症による発癌、⁴⁾ 高齢により免疫監視機構の不全による発癌、⁵⁾ などの要因も考えられた。各種癌に対しては研究規模の関係もあり有意な結果は得られなかったが、膵癌は IgG4-RD との関連性を示唆する結果となった。より大規模な研究で IgG4-RD と膵癌の関連性を証明できるかもしれない。

E. 結論

IgG4-RD は悪性腫瘍の発症と関連すると考えられた。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を検索すべきである。

F. 健康危険情報

なし

文献

- 1) Yamamoto M, Takahashi H, Tabeya T, *et al*: Risk of malignancies in IgG4-related disease. *Modern rheumatology / the Japan Rheumatism Association* 2012, 22(3):414-418.
- 2) Shiokawa M, Kodama Y, Yoshimura K, *et al*: Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013, 108(4):610-617.
- 3) Hirano K, Tada M, Sasahira N, *et al*: Incidence of malignancies in patients with IgG4-related disease. *Intern Med* 2014, 53(3):171-176.

- 4) Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al: Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med 2001, 345(11):784-789.
- 5) Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G: Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. Nature reviews Immunology 2006, 6(10):715-727.
- G. 研究発表
1. 論文発表
- 1) Watanabe T, Maruyama M, Ito T, Maruyama M, Muraki T, Hamano H, Hasebe O, Kawa S. Mechanisms of Lower Bile Duct Stricture in Autoimmune Pancreatitis. Pancreas 2014;43:255-260
- 2) Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Ito T, Inui K, Irie H, Nishino T, Notohara K, Nishimori I, Tanaka S, Nishiyama T, Suda K, Shiratori K, Tanaka M, Shimosegawa T; The Working Committee of the Japan Pancreas Society and the Research Committee for Intractable Pancreatic Disease supported by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Amendment of the Japanese Consensus Guidelines for Autoimmune Pancreatitis, 2013 I. Concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2014;49:567-88.
- 3) Kawa S, Okazaki K, Kamisawa T, Kubo K, Ohara H, Hasebe O, Fujinaga Y, Irisawa A, Notohara K, Ito T, Inui K, Irie H, Nishino T, Nishimori I, Tanaka S, Nishiyama T, Suda K, Shiratori K, Tanaka M, Shimosegawa T; The Working Committee of the Japan Pancreas Society and the Research Committee for Intractable Pancreatic Disease supported by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Amendment of the Japanese Consensus Guidelines for Autoimmune Pancreatitis, 2013 II. Extrapancreatic lesions, differential diagnosis. J Gastroenterol. 2014;49(5):765-84.
- 4) Kamisawa T, Okazaki K, Kawa S, Ito T, Inui K, Irie H, Nishino T, Notohara K, Nishimori I, Tanaka S, Nishiyama T, Suda K, Shiratori K, Tanaka M, Shimosegawa T; The Working Committee of the Japan Pancreas Society and the Research Committee for Intractable Pancreatic Disease supported by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Amendment of the Japanese Consensus Guidelines for Autoimmune Pancreatitis, 2013 III. Treatment and prognosis of autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2014;49:961-70.
- 5) Uehara T, Hamano H, Suga T, Kawa S, Yoshizawa A, Kobayashi Y, Murata K, Oki K, Sano K, Onodera R, Ota H. Inflammation of colon adenoma in the setting of type 1 autoimmune pancreatitis. Pathol Int. 2014;64:67-74.
- 6) Uehara T, Hamano H, Kawa S, Kobayashi Y, Yoshizawa A, Oki K, Nakata R, Kobayashi A, Sano K, Ota H. Comparison of histopathological features of pancreatic carcinoma and type 1 autoimmune pancreatitis. Pathol Int. 2014;64:51-7.
- 7) Maruyama M, Watanabe T, Kanai K, Oguchi T, Asano J, Ito T, Ozaki Y, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Kawa S. Autoimmune pancreatitis can develop into chronic pancreatitis. Orphanet J Rare Dis. 2014 21;9(1):77. (on line journal)
- 8) Watanabe T, Muraki T, Arakura N, Kawa S. Reply to Intrapancreatic Biliary Stricture in Autoimmune Pancreatitis Should Not Be Included in IgG4-Related Sclerosing Cholangitis. Pancreas. 2014;43:1123.
- 9) Kawa S, Okazaki K, Notohara K, Watanabe M, Shimosegawa T; Study Group for Pancreatitis Complicated with Inflammatory Bowel Disease organized by The Research Committee for Intractable Pancreatic Disease (Chairman: Tooru Shimosegawa) and The Research Committee for Intractable Inflammatory Bowel Disease (Chairman: Mamoru Watanabe), both of which are supported by the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. Autoimmune pancreatitis complicated with inflammatory bowel disease and comparative study of type 1 and type 2 autoimmune pancreatitis. J Gastroenterol. 2014 Nov 16. [Epub ahead of print]
- 10) Ohkubo Y, Sekido T, Takeshige T, Ishi H, Takei M, Nishio S, Yamazaki M, Komatsu M, Kawa S, Suzuki S. Occurrence of IgG4-related hypophysitis lacking IgG4 bearing plasma cell infiltration during steroid therapy. Intern Med. 2014;53:753-7.
- 11) 渡邊貴之、村木 崇、川 茂幸: PSC と IgG4 関連疾患、小俣政男 (監)、椎名秀一郎、坂本直哉、丸澤宏之 (編)、Pp 74-79 肝疾患 Review 2014-2015、日本メデイカルセンター、2014
- 12) 川 茂幸: IgG4 関連疾患と腎臓病研究の流れ、1) 1 型自己免疫性膵炎の立場から、斉藤喬雄、西 慎一、Pp 2-4、IgG4 関連腎臓病のすべ、南江堂、2014
2. 学会発表
- 1) Watanabe T, Maruyama M, Ito T, Fujinaga Y, Ozaki Y, Maruyama M, Kodama T, Muraki T,

- Hamano H, Arakura N, Kadoya M, Suzuki S, Komatsu M, Shimojo H, Notohara K, Uchida M, Kawa S. Clinical Features of a New Disease Concept, IgG4-related Thyroiditis. International Symposium IgG4-RD and associated conditions. Feb 16-19th, Hawaii (Honolulu)
- 2) Maruyama M, Watanabe T, Kanai K, Oguchi T, Asano J, Ito T, Ozaki Y, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Matsumoto A, Kawa S. Long Term Outcomes of Type 1 Autoimmune Pancreatitis: Development to Pancreatic Stone Formation and Chronic Pancreatitis. IgG4-related Thyroiditis. International Symposium IgG4-RD and associated conditions. Feb 16-19th, Hawaii (Honolulu)
- 3) Oguchi T, Kawa S, Hamano H, Ota M. Association studies to identify susceptible genes for lachrymal/salivary gland lesions in type 1 autoimmune pancreatitis. IgG4-related Thyroiditis. International Symposium IgG4-RD and associated conditions. Feb 16-19th, Hawaii (Honolulu)
- 4) Kanai K, Maruyama M, Oguchi T, Asano J, Ito T, Ozaki Y, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Matsumoto A, Kawa S. Two siblings with type 1 autoimmune pancreatitis. IgG4-related Thyroiditis. International Symposium IgG4-RD and associated conditions. Feb 16-19th, Hawaii (Honolulu)
- 5) Ota M, Kawa S, Oguchi T, Watanabe T, Maruyama M, Kanai K, Muraki T, Hamano H, Arakura N. Risk HLA allele for predisposition to type 1 autoimmune pancreatitis. International Symposium IgG4-RD and associated conditions. Feb 16-19th, Hawaii (Honolulu)
- 6) Kawa S. The Recognition of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. International Symposium IgG4-RD and associated conditions. Feb 16-19th, Hawaii (Honolulu)
- 7) Kawa S, IgG4-related disease of AIP, International teleconference I, Autoimmune pancreatitis in Asian countries and its diagnostic guideline. 45th Annual Meeting for Japan Pancreas Society, 2014 July 11th Kokura.
- 8) Asano J, Oguchi T, Kanai K, Ito T, Muraki T, Hamano H, Arakura N, Kawa S. Close association between IgG4 related disease and malignancy: An analysis of 158 patients with long-term follow-up. 45th Anniversary Meeting for JPA and APA, 2014 Nov. 5-8th Hawaii
- 9) 丸山真弘、新倉則和、川茂幸、「自己免疫性膵炎の新たな病態と概念-膵石形成と慢性膵炎への移行-」、パネルディスカッション10:AIP-概念、診断、治療の update-、第 100 会日本消化器病学会総会、(東京)、2014. 4. 24
- 10) 丸山真弘、新倉則和、川茂幸、「自己免疫性膵炎の慢性膵炎進展に対する治療的介入の有用性の検討」、ワークショップ 14：慢性膵炎とその進展予防、第 56 回日本消化器病学会大会、(神戸)、2014. 10. 25

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

IgG4 関連疾患の臓器相関に関する研究

担当責任者 神澤 輝実 東京都立駒込病院内科 部長

研究協力者 小泉 理美、来間佐和子、千葉 和朗、田畑 拓久 東京都立駒込病院内科 医員

研究要旨

IgG4 関連疾患 132 例 236 病変中、65 例 (49%) が複数の IgG4 関連疾患を有していた。他の IgG4 関連疾患を合併する頻度は、自己免疫性膵炎では 42% で、他疾患 (75%~100%) より低率であった。血中 IgG4 値は、自己免疫性膵炎で 491.0 mg/dl で、他疾患 (524.5 mg/dl~979.0 mg/dl) より低値であった。血中 IgG4 値は、単一病変例 (307.4 mg/dl) より複数病変例 (783.2 mg/dl) で明らかに高値であった。それぞれの IgG4 関連疾患において合併しやすい病変は、自己免疫性膵炎では唾液腺炎 (25%) と涙腺炎 (12%)、IgG4 関連硬化性胆管炎では自己免疫性膵炎 (75%)、IgG4 関連唾液腺炎では涙腺炎 (57%) と自己免疫性膵炎 (38%) とリンパ節炎 (27%)、IgG4 関連涙腺炎では唾液腺炎 (84%) と自己免疫性膵炎 (26%) とリンパ節炎 (26%)、IgG4 関連リンパ節炎では唾液腺炎 (75%) と涙腺炎 (50%) と自己免疫性膵炎 (45%)、IgG4 関連後腹膜線維症では唾液腺炎 (58%) と自己免疫性膵炎 (42%) とリンパ節炎 (32%)、IgG4 関連腎病変では自己免疫性膵炎 (100%) と唾液腺炎 (67%) であった。多くの IgG4 関連疾患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 IgG4 関連涙腺炎は、13 例と 11 例が他病変より以前に診断されていた。IgG4 関連疾患では、一部の合併病変には臓器関連性を認めた。

A. 研究目的

全身性疾患である IgG4 関連疾患における臓器ごとの相互関係を明らかにする。

B. 研究方法

当院で 19991 年から 2013 年の間に診断された IgG4 関連疾患 132 例、236 病変を対象とした。内訳は、自己免疫性膵炎 85、IgG4 関連硬化性胆管炎 12、IgG4 関連唾液腺炎 56、IgG4 関連涙腺炎 38、IgG4 関連リンパ節炎 20、IgG4 関連後腹膜線維症 19、IgG4 関連腎病変 6 である。IgG4 関連疾患と診断された例では、エコー、CT、MRI による全身のスクリーニングを行った。組織学的検索は 61 病変においてなされた。これらにおいて、臨床所見、血液学的所見や臓器間合併率等を後ろ向きに検討した。

(倫理面への配慮)

データベースを用いた後ろ向き研究で、患者情報は厳重に管理した。

C. 研究結果

- 65 例 (49%) が複数の IgG4 関連疾患を有していた。他の IgG4 関連疾患を合併する頻度は、自己免疫性膵炎では 42% で、他疾患 (75%~100%) より低率であった。血中 IgG4 値は、自己免疫性膵炎で 491.0 mg/dl で、他疾患 (524.5 mg/dl~979.0 mg/dl) より低値であった (表 1)。ステロイド治療は主に有症状の 82 例 (62%) で施行された。
- 血中 IgG4 値は、単一病変例 (307.4 mg/dl) より複数病変例 (783.2 mg/dl) で明らかに高値であり ($p < 0.01$)、2 病変例で 655.2 mg/dl、3 病変例で 930.9 mg/dl、4 病変以上で 976.6 mg/dl であった (表 2)。
- それぞれの IgG4 関連疾患において合併しやすい

病変は、自己免疫性膵炎では唾液腺炎 (25%) と涙腺炎 (12%)、IgG4 関連硬化性胆管炎では自己免疫性膵炎 (75%)、IgG4 関連唾液腺炎では涙腺炎 (57%) と自己免疫性膵炎 (38%) とリンパ節炎 (27%)、IgG4 関連涙腺炎では唾液腺炎 (84%) と自己免疫性膵炎 (26%) とリンパ節炎 (26%)、IgG4 関連リンパ節炎では唾液腺炎 (75%) と涙腺炎 (50%) と自己免疫性膵炎 (45%)、IgG4 関連後腹膜線維症では唾液腺炎 (58%) と自己免疫性膵炎 (42%) とリンパ節炎 (32%)、IgG4 関連腎病変では自己免疫性膵炎 (100%) と唾液腺炎 (67%) であった (図 1-3)。

4. 多くの IgG4 関連疾患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 IgG4 関連涙腺炎は、13 例と 11 例が他病変より以前に診断されていた。

D. 考察

IgG4 関連疾患の合併病変を検討する際には、他の合併病変の有無のスクリーニングの方法と、どの病変を合併病変とするかにより結果が大きく異なる。自己免疫性膵炎における他の IgG4 関連疾患の合併率は 23%~91% と報告されているが、IgG4 関連疾患の診断にシンチグラフィを用いた検索では合併率は特に高くなる。本研究では 10 例で施行された FDG-PET の所見は、検査例数が少ないことより検討から除外した。自己免疫性膵炎の全国調査における他病変の合併率は、硬化性胆管炎 (53%)、唾液腺炎 (14%)、リンパ節炎 (13%)、後腹膜線維症 (8%)、涙腺炎 (7%) などである。この調査では下部胆管のみの硬化性胆管炎が合併する硬化性胆管炎に含まれているが、下部胆管狭窄は周囲の膵頭部の炎症による圧排などの影響も受けるので、今回の調査では下

部胆管狭窄のみの例は IgG4 関連硬化性胆管炎から除外した。

IgG4 関連硬化性胆管炎や IgG4 関連腎病変の単独発症例は稀であると報告されているが、本調査でも IgG4 関連硬化性胆管炎の 75%と IgG4 関連腎病変全例が自己免疫性膵炎を合併していた。IgG4 関連唾液腺炎と IgG4 関連涙腺炎は、従来 Mikulicz 病と呼ばれてきた如く、合併する頻度が高い。また、全身性の IgG4 関連リンパ節炎では、唾液腺炎と涙腺炎が各々33%に合併したと報告されている。

多くの IgG4 関連疾患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 IgG4 関連涙腺炎は、他病変より以前に診断される例が多かった。IgG4 関連疾患は潜在性に存在する可能性があり、各々の疾患の発症時期は明確でないが、唾液腺炎と涙腺炎は体表から容易に診断できるので、発症早期に診断される可能性が考えられる。

E. 結論

IgG4 関連疾患では、約半数で複数病変を認め、一部の合併病変には臓器関連性を認めた。

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

表1. 各臓器と合併病変

IgG4関連 合併臓器数	IgG4関連						
	AIP (n=85)	膵外硬化性 胆管炎 (n=12)	涙腺炎 (n=38)	唾液腺炎 (n=56)	リンパ節病変 (n=20)	後腹膜 線維症 (n=19)	腎病変 (n=6)
単	49	3	3	7	2	2	0
複数	36	9	35	49	18	17	6
2臓器	17	6	16	24	2	6	1
3臓器	13	2	10	15	9	6	2
4臓器	4	1	8	8	5	3	2
5臓器	1	0	1	1	1	1	0
6臓器	1	0	0	1	1	1	1
合併率 (%)	42	75	92	88	90	89	100
血中IgG4値 (mg/dl)	491.0	568.0	724.8	821.3	979.0	769.1	524.5

表2. 合併病変数と血中IgG、IgG4値

	単病変	複数病変	2病変	3病変	≥4病変	p値
n	67	65	36	19	10	ns
IgG (mg/dl)	2003.6	2330.6	2190.9	2432.8	2644.2	ns
IgG4 (mg/dl)	307.4	783.2	655.2	930.9	976.6	<0.01

図1. 自己免疫性膵炎と他臓器との関係

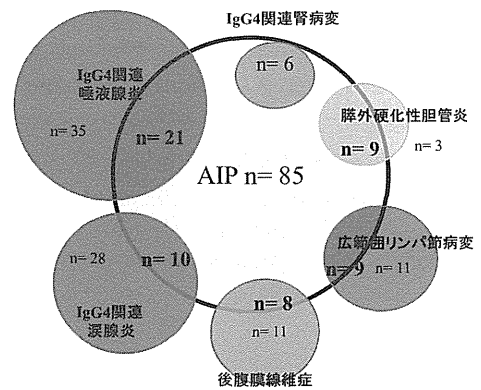


図2. IgG4関連唾液腺炎と他臓器との関係

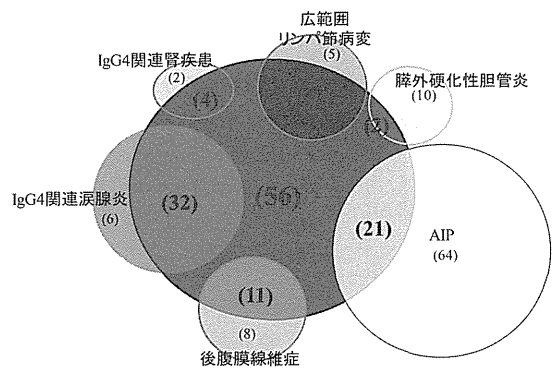
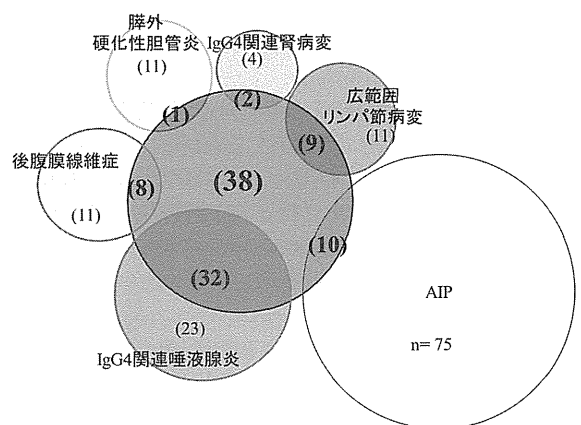


図3. IgG4関連涙腺炎と他臓器との関係



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

担当責任者 高橋 裕樹 札幌医科大学医学部消化器・免疫・リウマチ内科学講座 准教授
研究協力者 山本 元久 札幌医科大学医学部消化器・免疫・リウマチ内科学講座 助教

研究要旨

IgG4 関連疾患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 関連疾患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ため、私たちは当科症例を対象に後向きに検討した。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 関連疾患の顎下腺組織で解析した。IgG4 関連疾患では約 3 割の症例でステロイド性大腿骨頭壊死の発生を認めた。IgG4 関連疾患の顎下腺組織には、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た。

A. 研究目的

現在、IgG4 関連疾患（IgG4-RD）の寛解導入療法として、ステロイド治療が選択される。しかしステロイド治療による副作用は決して少なくはなく、特にステロイド性大腿骨頭壊死（G-AVN）はしばしば人工関節置換を要するなど、重篤な有害事象の一つである。IgG4-RD における G-AVN の発生頻度は明らかではないが、当院での日常診療上、全身性エリテマトーデス（SLE）と同程度に IgG4-RD に G-AVN が経験されることから、本病態の関連について着目した。

SLE の病態では、インターフェロン（IFN） α が病態の中心的な役割を担っていることが知られているが、近年、G-AVN においても、肝組織を用いた解析により、ステロイド大量投与直後の IFN α を誘導するシグナルが G-AVN の発生に関与することが示唆されている（Okazaki S. Rheumatol Int. 33: 51、2013、Terada K. Lab Invest. 92: 1318、2012。）。そこで今回、IgG4-RD における G-AVN 発生率を、他のリウマチ性疾患と比較検討するとともに、IgG4-RD の病態に SLE と同様、IFN α の関与が想定されることから、IgG4-RD の顎下腺組織を用いて IFN α や IFN α の誘導に関わるとされる Toll-like receptor（TLR）の発現について検討した。

B. 研究方法

2001 年 4 月から 2012 年 6 月迄に、当科でステロイド大量投与（ステロイドパルス療法、またはプレドニゾン換算 35 mg/日以上）を実施したリウマチ性疾患 144 例（うち IgG4-RD 25 例）を対象とし、投与 3 か月後に MRI で G-AVN 発生の有無を当院整形外科において判定した。次に IgG4-RD 顎下腺、対照としてシェーグレン症候群（SS）小唾液腺各 5 標本に対して抗 IFN α 、TLR7、TLR9 抗体染色を実施した。

（倫理面への配慮）

本研究は、札幌医科大学附属病院臨床研究審査委員会の承認を得て、実施した。

C. 研究結果

（1）各種疾患における G-AVN の発生率
G-AVN 発生は 144 例中 55 例に認められた。疾患別の発生率は、SLE 61.0%、SS 60.0%、血管炎 37.5%、IgG4-RD 28.0%であった。

（2）唾液腺組織における IFN α ・TLR7・TLR9 の発現

IgG4-RD 顎下腺、SS 小唾液腺標本ともに、免疫染色により炎症細胞浸潤の強い部分に IFN α の発現を認めた。また IgG4-RD では TLR7 発現細胞を高頻度に認める一方、TLR9 発現細胞は確認されなかった。一方、SS では TLR7・TLR9 発現細胞いずれも少数観察された。

D. 考察

今回の検討により、IgG4-RD の G-AVN 発生率は約 3 割と決して少なくはないことが判明した。ただし、SLE においてはさらに高率であり、これらの発生率は既存の報告に比して明らかに高値であり、その他の要因や再現性に関しては検討が必要であると思われた。

G-AVN はしばしば不可逆的な関節機能障害となるため、ステロイド大量療法の有害事象としては常にその危険性を考慮しなければならない。脊髄損傷時のステロイド超大量投与では骨壊死発生はほとんどない（Wing PC. Spinal Cord. 36: 633, 1998.）ことから、Okazaki らは背景にある慢性炎症に着目した。実際、動物実験では、ステロイド単独投与では壊死が起こらず、TLRs リガンドと大量ステロイドを投与した場合にのみ、有意な骨壊死発生頻度の上昇が観察され、G-AVN の発生には自然免疫系

の活性化が必要であることが示唆されている (Okazaki S, et al. Lab Invest. 95: 92-99, 2015.)。一般に、TLR シグナルを活性化させた状態にステロイド大量投与を行うと、炎症性サイトカイン産生を誘導する $\text{NF}\kappa\text{B}$ のみが down-regulate され、I 型 IFN 産生を導く IRF7 のシグナルのみが残存する。このことから G-AVN の発生に原疾患の病変局所の IFN α の関与が示唆されている。IgG4-RD においても高率に G-AVN が観察されたことから、IgG4-RD における自然免疫系の異常が想定された。今回、IgG4-RD の唾液腺組織においては TLR7、IFN α の強い発現がみられた一方、同様の慢性唾液腺炎を示す SS では観察されなかったことから、TLR7 と IFN α の発現亢進は IgG4-RD に特異的な現象であることが示唆された。これらの知見より、IgG4-RD においても自然免疫の発現異常の存在が示唆された。

IgG4-RD ではしばしば自然寛解例が経験され、また生命予後への影響も乏しいことから、積極的なステロイド使用による寛解導入には消極的な考え方もある。しかし、IgG4-RD の長期観察例の増加とともに、治療介入の遅延が不可逆的な機能障害を惹起することが確認されつつある (Shimizu Y, et al. Rheumatology (Oxford). 52: 679-83, 2013.)。ただし、G-AVN はその不可逆性と発症予測困難性から、ステロイド使用における制限因子の 1 つとなっている。IgG4-RD における G-AVN の発生にも自然免疫系の亢進が関わっている可能性から、G-AVN 予防の新たな戦略が想定でき、より安全に IgG4-RD においてステロイドを導入できる可能性が示された。

E. 結論

ステロイド治療後、IgG4-RD では約 3 割の症例に G-AVN の発生を認めた。IgG4-RD における G-AVN の発生には、ステロイドに加え、TLR7 および IFN α の発現亢進が関与する可能性より、G-AVN 発症予防の新たな治療標的として考慮することが示唆された。

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

- 1) 山本元久, 矢島秀教, 清水悠以, 鈴木知佐子, 苗代康可, 高橋裕樹, 篠村恭久. 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 の関与の検討. 第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2015. 4. 23-25, 名古屋 (予定)

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

IgG4-関連呼吸器疾患の治療と予後に関する研究

担当責任者	松井 祥子	富山大学保健管理センター 准教授
研究協力者	山本 洋	（信州大学医学部内科学第一講座）
	源 誠二郎	（大阪府立呼吸器アレルギーセンターアレルギー内科）
	半田 知宏	（京都大学大学院医学研究科呼吸器内科学）
	早稲田 優子	（金沢大学付属病院呼吸器内科）
	三嶋 理晃	（京都大学大学院医学研究科呼吸器内科学）
	久保 惠嗣	（長野県立病院機構）

研究要旨

IgG4 疾患は、高 IgG4 血症と共に、全身の諸臓器に腫大や結節、肥厚性病変を認め、組織所見ではリンパ球、IgG4 陽性形質細胞の著しい浸潤と線維化が生じる疾患と定義されている。涙腺、唾液腺、膵臓、後腹膜、腎臓、前立腺、リンパ節、などに病変を認めることが多いが、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。本研究では、主として包括診断基準により診断された IgG4 関連疾患の呼吸器病変について、その病態と治療について解析を行った。さらに IgG4 関連呼吸器疾患診断基準を用いた診断分類も用いて治療と予後の解析を行った。

A. 研究目的

IgG4 関連疾患の呼吸器病変は、高齢者、男性に好発し、高 IgG 血症、高 IgG4 血症とともに、画像所見では、縦隔内リンパ節腫大や気管支壁の肥厚、気管支血管束の肥厚、結節性陰影、浸潤影など多彩な陰影を認めることが知られている。しかし、その治療に関しては、十分な検討がなされていない。そこで、今回我々は、IgG4 関連呼吸器疾患の治療の実態を探ることを目的とし、IgG4 関連疾患包括診断基準 2011 にて診断された、呼吸器病変のある症例について、その臨床所見・検査所見・ステロイド治療の反応性・および予後について、後方視調査を行った。また、新たに策定された IgG4 関連呼吸器疾患診断基準を用い、確定診断された症例についてのステロイド治療の反応性と予後を検討した。

B. 研究方法

富山大学、および厚生労働省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」班（千葉班）、厚生労働科学研究委託費（難治性疾患等実用化研究事業）「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」班（三森班）に関連する施設において、呼吸器病変の経験がある主要施設から得た呼吸器疾患症例のデータを解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は富山大学倫理審査委員会における承認を得て行われた。

C. 研究結果

1) 患者背景と治療の実態

IgG4 関連疾患の呼吸器症例 77 例を解析した。背景は、男性 59 症例、女性 18 症例、平均年齢 65 ± 12 歳であった。

他臓器病変合併は 66 例 (85.7%) に認められ、呼吸器病変を除く臓器傷害数は、平均 1.2、傷害臓器が呼吸器病変のみ 12 例、呼吸器病変 + 1 臓器傷害 39 例、呼吸器病変 + 2 臓器傷害 20 例、呼吸器病変 + 3 臓器障害以上 6 例であった。主な傷害臓器病変は、顎下腺炎もしくは涙腺・顎下腺炎 36 例 (47%)、自己免疫性膵炎 29 例 (38%)、間質性腎炎・腎症 12 例 (16%)、後腹膜線維症 8 例 (10%) であった。

検査所見では、血清 IgG 3720 mg/dl、血清 IgG4 1334 mg/dl、CRP 1.47 mg/dl であった。また低補体血症は 52% (26/50 症例) に認められ、その平均補体価は 27.5 U/ml であった。

77 例に対する治療は、経過観察のみ 15 例、ステロイド治療 57 例、ステロイド治療 + 抗 IL-6 抗体投与 1 例、ステロイド治療 + 免疫抑制剤 3 例、外科的切除 1 例であった。

全体の平均観察期間は 31.7 ± 34.2 ヶ月であり、症例の予後は、不明 6 例 および経過中の悪性疾患発症 2 例を除くと、改善 61/69 例 (88.4%)、不変 4 例 (5.8%)、悪化 3 例 (4.3%)、であった。

2) IgG4 関連呼吸器疾患の診断基準を用いた分類による解析

厚生労働省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」班（千葉班）および厚生労働科学研究

費補助金（難治性疾患等克服研究事業）「IgG4 関連疾患に関する調査研究」班（H24-25 年度 千葉班）の呼吸器分科会により策定された「IgG4 関連呼吸器疾患の診断基準（日呼会誌 2015;4(19):129-131）により、呼吸器病変 77 症例の診断を分類した。

その結果、確定診断 47 例、準確診 23 例、疑診 7 例であった。この結果に基づき、確定診断症例 47 例について、その予後を再検討した結果、予後不明 5 例を除いて、改善 39/42 例（92.9%）、不変 2 例、悪化 1 例であった。改善症例の治療内容は、ステロイド剤投与 32 例、ステロイド剤＋免疫抑制剤 2 症例、無治療 8 例であった。また、不変 2 症例、悪化 1 症例は、いずれも無治療での経過観察例であった。

呼吸器病変のみの 12 症例を検討したところ、確診 6 例、疑診 6 例であり、確診 6 例の予後は、改善 3 例（全例ステロイド治療）、不変 1 例（無治療）悪化 1 例（無治療）不明 1 例であった。なお準確診の中に、2 例悪性疾患の併発（併発 1 例、経過中発症 1 例）が認められた。

D. 考察

IgG4 関連疾患の呼吸器病変は、自己免疫性膵炎や IgG4 関連腎臓病のプロフィールと類似し、中高年の男性に多く認められた。また検査所見では高 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認められた。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 症例あった（診断基準分類では、準確診 1 例、疑診 1 例）。いずれも間質性陰影を伴う呼吸器病変であり、IgG4 関連疾患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。

E. 結論

呼吸器病変においては、診断基準による確定診断例のステロイド反応性は良好であることが判明した。

今後は、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。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizushima I, Inoue D, Motohisa Yamamoto M, Yamada K, Takako Saeki T, Ubara Y, Matsui S, Masaki Y, Wada T, Kasashima S, Harada K,

Takahashi H, Notohara K, Nakanuma Y, Umehara H, Yamagishi M and Kawano M. Clinical course after corticosteroid therapy in IgG4-related aortitis/periaortitis and periarteritis: a retrospective multicenter study. *Arthritis research & Therapy*. 2014; 16: R156.

2. 学会発表

- 1) Matsui S, Tokui K, Okazawa S, Kambara K, Inomata M, Suzuki K, Yamada T, Miwa T, Hayashi R, Tobe K. Allergic manifestations in IgG4-related disease. ATS 2014 International Conference; 2014 May 17-21; San Diego.
- 2) Waseda Y, Matsui S, Yamada K, Watanabe S, Itho K, Matsunuma R, Takato H, Kawano M, Kasahara K. Evaluation of Lung Lesions in LAT^{Y136F} Mutant Mice ~Are They recognized as the models of IgG4 related lung disease?~. ERS annual congress 2014; 2014 Sep 6-10; Munich
- 3) 松井祥子, IgG4 関連呼吸器疾患. 第 26 回中部リウマチ学会; 2014 Aug 30; 新潟.
- 4) 松井祥子, 山本 洋, 源 誠二郎, 早稲田優子, 半田知宏, 三嶋理晃, 久保恵嗣. IgG4 関連呼吸器疾患の診断基準. 第 23 回日本シェーグレン症候群学会学術集会; 2014 Sep 12-13; 長崎.
- 5) 山田和徳, 早稲田優子, 塚雅彦, 渡辺知志, 伊藤清亮, 林龍二, 川野充弘, 松井祥子. IgG4 関連疾患モデルマウスの確立 ~Lat Y136F knock-in マウスの肺病変の解析~. 第 23 回日本シェーグレン症候群学会学術集会; 2014 Sep 12-13; 長崎.
- 6) 松井祥子. IgG4 関連呼吸器疾患の診断について. 第 34 回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会; 2014 Nov 2; 新潟.
- 7) 山本 洋, 安尾将法, 堀内俊道, 濱 峰幸, 市山崇史, 立石一成, 小林信光, 牛木淳人, 漆畑一寿, 花岡正幸, 久保恵嗣, 川上 聡, 吉澤明彦, 浜野英明, 川 茂幸, 松井祥子. IgG4 関連疾患の呼吸器病変と BAL 液中サイトカイン濃度-サルコイドーシスとの比較-. 第 34 回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会; 2014 Nov 2; 新潟.

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

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ッスルマン病 3 例の検討

担当責任者 川野 充弘 金沢大学附属病院リウマチ・膠原病内科 講師
研究協力者 山田 和徳 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科先進的地域医療研究講座 特任准教授
水島 伊知郎 金沢大学附属病院リウマチ・膠原病内科

研究要旨

多中心性キャッスルマン病 (MCD) はまれな良性リンパ増殖性疾患であるが、高 IgG4 血症と、リンパ節などの組織中に IgG4 陽性形質細胞 (IgG4+PC) 浸潤を認める例があり、組織学的所見のみでは IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) との鑑別が困難な例がある。MCD の腎組織所見はアミロイドーシスが最多で、尿細管間質性腎炎 (TIN) も 6.3%程度に報告されているが、腎組織への IgG4+PC 浸潤はこれまでに検討されていない。我々は、TIN を伴う、リンパ節生検で診断された MCD 3 例について検討した。3 例とも高 IgG4 血症、腎機能障害、検尿異常を呈し、腎生検で多数の IgG4+PC (>50/HPF) を伴う TIN を認めた。3 例とも線維化に乏しく、間質に境界明瞭な炎症細胞浸潤を認め、2 例は被膜を超え、1 例は髄質に浸潤を認めた。好酸球は認めなかった。1 例はメサンギウム増殖を認めたが、2 例は糸球体に大きな異常を認めなかった。線維化を除くと IgG4 関連腎臓病 (IgG4-RKD) の基準を満たした。3 例ともステロイドに抵抗性で、2 例はトシリズマブ、そのうち 1 例はさらにシクロホスファミドやリツキシマブを併用し、炎症反応や腎機能の改善を認めた。IgG4-RKD は多数の IgG4+PC 浸潤を伴う TIN が典型的であるが、MCD は IgG4-RKD に類似した腎病変を呈しうる。IgG4-RD に類似した組織所見を有しても、炎症反応上昇やステロイド抵抗性の場合、組織学的所見と臨床所見を合わせて MCD を鑑別する必要性が示唆された。

A. 研究目的

多中心性キャッスルマン病 (MCD) の腎病変と IgG4 関連腎臓病 (IgG4-RKD) との類似性とその鑑別に関して、当院での症例データを用いて検討する。

B. 研究方法

当院で診断された MCD 3 例の臨床データ、腎生検で得られた組織の光顕 (HE、PAS、PAM、マッソントリクローム染色)、免疫染色 (IgG4、CD138 染色) 所見を後方視的に解析した。

C. 研究結果

症例は男性 1 例、女性 2 例で、平均年齢は 61.0 歳 (53-66 歳) であった。3 例とも頸部リンパ節生検で形質細胞型キャッスルマン病と診断された。PET-CT 検査で FDG の集積を有する多発リンパ節腫脹を認め、MCD と診断された。3 例とも血清 CRP と IL-6 の上昇を認め {各平均 9.8 mg/dl (5.4-16.9 mg/dl)、47.3 pg/ml (13-113 pg/ml)}、高 IgG4 血症を随伴した {平均 IgG4 615 mg/dl (235-987 mg/dl)、平均 IgG4/IgG 11.6% (4.9-22.4%)}。低補体血症は認めなかった。腎機能障害 {平均血清 Cr 1.33 mg/dl (0.99-1.96 mg/dl)、平均 eGFR 38.3 ml/min/1.73m² (28-44 ml/min/1.73 m²)} と尿検査異常 {平均尿蛋白 2.3 g/gCr (0.76-5.1 g/gCr)、血尿あり、平均尿中 β 2MG 41143 ng/ml (18358-69077 ng/ml)、平均尿中 NAG 35.1 IU/l (16.3-52.4 IU/l)} を認めた。腎生検では 3 例と

も線維化に乏しく、間質に境界明瞭な炎症細胞浸潤を認めた。2 例は被膜を超え、1 例は髄質に浸潤を認めた。IgG4+PC 浸潤は平均 88.3/HPF (50-161/HPF) で、平均 IgG4/CD138 は 39.8% (32.0-55.2%) だった。好酸球は認めなかった。1 例はメサンギウム増殖を認めたが、2 例は糸球体に大きな異常を認めなかった。蛍光抗体法では免疫グロブリンや補体の沈着は認めなかった。治療は 3 例ともステロイドに抵抗性で、トシリズマブを併用した。1 例はさらにシクロホスファミドやリツキシマブを併用し、炎症反応や腎機能の改善を認めた。

D. 考察

MCD の腎病変は IgG4+PC 浸潤を伴う plasma cell-rich な TIN を呈しうることを示した。高 IgG4 血症を随伴し、組織学的には線維化以外は IgG4-RKD の診断基準を満たした。IgG4+PC 浸潤を伴う plasma cell-rich な TIN は ANCA 関連血管炎などでも報告され、IgG4-RKD に特異的な所見ではないが、被膜を超えた炎症細胞浸潤という IgG4-RKD の特徴的所見を併せ持った腎組織の報告は乏しい。組織学的には線維化が MCD における plasma cell-rich TIN と IgG4-RKD との鑑別に有用であった。

これまで MCD では高 IgG4 血症を随伴し、リンパ節、肺、皮膚に IgG4+PC 浸潤を認める例が報告され、組織学的所見のみでは IgG4-RD との鑑別が困難であるとされている。今回の検討で、MCD は腎臓でも IgG4-RD に非常に類似した組織所見を呈する

ことが明らかとなった。

一方、炎症反応の上昇や、ステロイド抵抗性の経過といった臨床所見は IgG4-RD よりも MCD を強く支持した。IgG4-RD と MCD の鑑別には組織学的所見と臨床所見とを合わせて検討する必要があると考えられた。

E. 結論

MCD の腎病変は IgG4-RKD に類似した組織所見を呈しうる。炎症反応上昇やステロイド抵抗性といった臨床所見と組織学的所見を合わせて MCD を鑑別する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

本内容を英文医学誌へ投稿準備中

2. 学会発表

- 1) Takeshi Zoshima, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano. A Case of Multicentric Castleman's Disease with IgG4 Related Disease Like Multiorgan Lesions Including Tubulointerstitial Nephritis. ASN 2014. Philadelphia. Nov.11-16, 2014

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

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

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

研究要旨：

IgG4 関連疾患（IgG4-RD）の治療には中等度～高用量ステロイドが奏功するが、再燃例が多く、時にステロイド難治例も経験される。また本疾患は高齢者が多いことからステロイドの長期投与による副作用も大きな問題となる。難治例・再燃例に対するリツキシマブの有効性が国内外で報告されているが、症例報告や少数例のケースシリーズにとどまり、いまだエビデンスとして確立されてはいない。本研究では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詩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。

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。治療には中等度～高用量ステロイドが奏功するが、易再燃性であり、高齢者が多いことからステロイドの長期投与による副作用も大きな問題となる。難治例・再燃例に対するリツキシマブの有効性が国内外で報告されているが、症例報告や少数例のケースシリーズにとどまり、いまだエビデンスとして確立されてはいない。

本研究では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詩を検討する研究プロトコルを作成し、本研究班の分担施設および協力施設で医師主導治験を行うことを目的とする。

B. 研究方法

本年度は、IgG4-RD の包括診断基準または自己免疫性膵炎診断基準を満足し、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、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案を作成する。

（倫理面への配慮）

プロトコルが確立すれば、PMDA との相談、対面助言を経て、研究代表施設および研究協力施設における IRB の認可を得る。

C. 研究結果

添付資料の通り、「IgG4 関連疾患・リツキシマブ多施設非盲検医師主導治験（案）」を作成した。

その要旨は、以下の通りである。

- 1) 4 群のアームを有する非盲検（open-label）試験である。
- 2) 難治性または再燃性の IgG4-RD 患者に本治験について説明を行い、リツキシマブ投与の自由意思を得た例をリツキシマブ投与群（R 群）、希望しなかった例を従来治療群（C 群）に割り付ける。
- 3) リツキシマブ投与群（R 群）をさらに、2 回投与群（RX2 群）と 4 回投与群（RX4 群）に割り付ける。割り付けは中央管理にて無作為化する。
- 4) 従来治療群（C 群）をさらに、ステロイド再増量群（C1 群）と免疫抑制薬併用群（C2 群）に割り付ける。選択は担当医に委ねられる。C1 群は、単に既存のステロイド療法を再度行う。C2 群は続行中のステロイドはそのままに免疫抑制薬（AZP, MTX, MZR, CsA, CPA, TAC）を add on する。免疫抑制薬の種類は担当医に委ねられる。
- 5) 目標症例数は、各群 10 例ずつ、計 40 例を予定する。
- 6) 主要エンドポイント
 - ①寛解達成率
 - ②治験介入後 12 か月間の追跡における寛解状態維持
- 7) 副次エンドポイント
 - ①有害事象（糖尿病の発症、既存の糖尿病の悪化、

感染症、骨壊死、圧迫骨折など)の発生

②ステロイド・スペアリング効果(治療介入6ヶ月および12か月後のステロイド投与量)

D. 考察

リツキシマブ(リツキサン®)はキメラ型抗CD20モノクローナル抗体であり、当初B細胞リンパ腫の治療薬として開発されたが、その後さまざまな自己免疫疾患にも適応が拡大され、わが国では難治性ANCA関連血管炎、免疫不全関連リンパ増殖性疾患、難治性ネフローゼ症候群に公知申請により適応が認可された。海外では関節リウマチにも適応が認められているが、わが国での適応はない。

IgG4-RDに対しても、国内外より難治例・再燃例に対するリツキシマブの有効性が報告されているが、症例報告や少数例のケースシリーズにとどまり、いまだRCTは行われていない。

この研究プロトコル作成に先立ち、米国から日米共同治験のオファーがなされたが、その内容は「二国間の多施設共同プラセボ対照(Double dummy)二重盲検第II相試験」であり、未治療のIgG4-RD患者にリツキシマブとステロイドを無作為に割り付け(互いのプラセボを用いる)、1年後の寛解導入・維持を比較するというものであった。しかし、新規患者への第一選択薬としてリツキシマブを用いるというプロトコルと、日米の体格差による投与量の違いなどから、わが国でこのプロトコルは受け入れがたいとする意見が多く、わが国独自のプロトコルを作成することとした。

今後、このプロトコル案のbrush upを図り、PMDAとの相談を経て、最終的なプロトコルを完成させ、IRBの承認を得て、医師主導治験を目指す予定である。

E. 結論

ステロイド難治性・再発性のIgG4-RDに対するリツキシマブの医師主導治験プロトコル案を作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

(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

20150311Ver.1.0 版

1. 目的

IgG4 関連疾患は 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、ステロイドが奏功するが、易再燃性であり、高齢者が多いことからステロイドの長期投与による副作用も大きな問題となる。難治例・再燃例に対するリツキシマブの有効性が国内外で報告されているが、いまだエビデンスとして確立されてはいない。

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、本研究班の分担施設および協力施設で医師主導治験を行うことを目的とする。

2. 対象患者

以下の 1)~3)のすべてを満たす、各分担研究者・協力者が所属する病院に通院中の患者。

- | |
|---|
| 1) IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) 包括診断基準 (Umehara, Mod Rheum 22:21-30, 2012) または自己免疫性膵炎診断基準 (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患者。 |
| 2) ①既存のステロイド療法 (表 1) を 4 週間以上用いても寛解基準に達しない患者《難治例》、または、②既存のステロイド療法 (表 1) を 4 週間以上用いて寛解したが漸減中に再び寛解基準を満たさなくなった患者《再燃例》。 |
| 3) 《除外基準》以下を除外できる患者。①リツキシマブ投与歴がある患者。②活動性の感染症を合併する患者。③潜在性結核を有する患者。④潜在性 HBV 感染を有する患者。 |
| ・直近のステロイド療法 (表 1) で上記の基準を満たせばよく、過去に複数回のステロイド増量を行っていてもかまわない。 |
| ・免疫抑制薬の併用があってもかまわない。免疫抑制薬はリツキシマブ投与時に中止する。 |

3. 患者の割り付け

- 1) 4 群のアームを有する非盲検 (open-label) 試験である。
- 2) 難治性または再燃性の IgG4-RD 患者に本治験について説明を行い、リツキシマブ投与の自由意思を得た例をリツキシマブ投与群 (R 群)、希望しなかった例を従来治療群 (C 群) に割り付ける。
- 3) リツキシマブ投与群 (R 群) をさらに、2 回投与群 (RX2 群) と 4 回投与群 (RX4 群) に割り付ける。割り付けは中央管理にて無作為化する。
- 4) 従来治療群 (C 群) をさらに、ステロイド再増量群 (C1 群) と免疫抑制薬併用群 (C2 群) に割り付ける。選択は担当医に委ねられる。C1 群は、単に既存のステロイド療法 (表 1) を再度行う。C2 群は続行中のステロイドはそのままに免疫抑制薬 (AZP, MTX, MZR, CsA, CPA, TAC) を add on する。免疫抑制薬の種類を選択は担当医に委ねられる。

4. 投与プロトコル

- 1) レジメン
 - a) RX2 群 - リツキシマブ 1 コースにつき 500 mg/m²/週×2 回、6 か月毎に計 4 コース
 - b) RX4 群 - リツキシマブ 1 コースにつき 500 mg/m²/週×4 回、6 か月毎に計 4 コース
 - c) C1 群 - 既存のステロイド療法 (表 1) の再施行
 - d) C2 群 - 免疫抑制薬 (AZP, MTX, MZR, CsA, CPA, TAC) の add on
- 2) 治験開始前に免疫抑制薬を併用していた場合の免疫抑制薬の投与プロトコル

- a) RX2 群・RX4 群：リツキシマブを投与する時に既存の免疫抑制薬を中止する。
- b) C1 群：ステロイドを 0.6 mg/kg/day に増量する時に既存の免疫抑制薬を中止する。
- c) C2 群：新規の免疫抑制薬を add on する時に既存の免疫抑制薬を中止する（＝切り替える）。

3) RX2 群・RX4 群・C2 群のステロイド投与プロトコル

続行中のステロイドはそのままにリツキシマブまたは免疫抑制薬を add on する。ステロイド投与量は、臨床症状、血液・画像検査をみながら漸減する。漸減速度は担当医に委ねられるが、表 2 の上限を守ること。

4) 免疫抑制薬の投与プロトコル (C2 群)

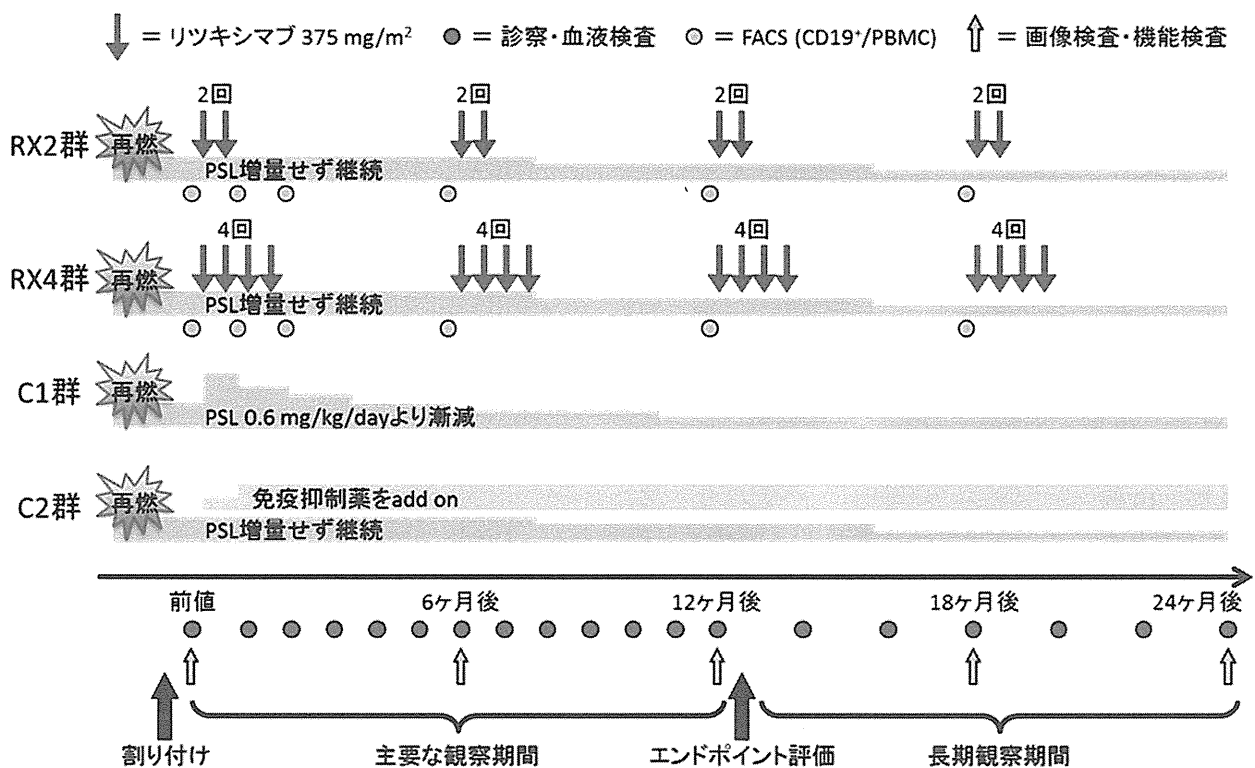
全身性自己免疫疾患に使用される方法に準ずる。投与量の調整は担当医に委ねられる。

5) 観察期間と観察項目

- a) 治験介入後、24 か月間（2 年間）観察する。
- b) 介入前と、介入後 4 週毎に、臨床症状の評価と血液検査・血清保存を行う。12 か月後～24 か月後は 8 週毎とする。
- c) 介入前と、介入後 6 か月毎に、画像検査（エコー・CT・MRI・X 線など）を行う。IgG4-RD の多くは腫瘤または臓器腫大を呈するため、その追跡に適した画像検査を選択する。
- d) 涙液・唾液分泌低下などの機能障害を有する例では、介入前と、介入後 6 か月毎に該当する機能検査を行う。

6) 長期観察用の期間（12 か月後～24 か月後の 1 年間）

本治験のエンドポイント評価は 12 か月後の時点で行う。12 か月後～24 か月後の 1 年間は、RX2 群・RX4 群について、保険承認が下りるまでリツキシマブを続行できるように設けている。



5. 主要エンドポイント

- ①寛解達成
- ②治験介入後 12 か月間の追跡における寛解状態維持

6. 副次エンドポイント

- ①有害事象（糖尿病の発症、既存の糖尿病の悪化、感染症、骨壊死、圧迫骨折など）の発生
- ②ステロイド・スペアリング効果（治療介入 6 ヶ月および 12 か月後のステロイド投与量）

7. 中止・終了のプロトコル

1) 無効・再燃による終了

①治療介入後 4 週間以上経ても寛解基準に達しない場合《無効》、または、②治療介入で寛解したが再び寛解基準を満たさなくなった場合《再燃》は、終了する。

a) RX2 群・RX4 群・C2 群の終了後は、担当医による最善の従来診療を継続する。

b) C1 群が無効・再燃により終了した場合、本治療の新規の組み込み基準を満たしている。本治療の C1 群・C2 群・RX2 群・RX4 群とまったく同一のプロトコルによる 2nd C1 群・2nd C2 群・2nd RX2 群・2nd RX4 群の患者として治療に入ってもよい。ここで RX2 群または RX4 群に組み込めることは治療協力患者への救済を兼ねる。ただし、2nd アームに入った患者から得たデータは参考データとし、他の 1st アームの統計とは統合しない。

2) 有害事象による終了

a) RX2 群・RX4 群・C2 群：注射時反応・アナフィラキシー、免疫抑制薬による各副作用、重篤な（＝入院加療を要する）感染症、その他の有害事象が発生し、担当医が治療を続けることができないと判断した場合、終了する。

b) C1 群：ステロイド療法の性格上、有害事象があったからといって中止はしないので、治療終了とはならない。①ステロイド漸減の速度上限（表 2）を超えて減量した場合や、②免疫抑制薬を add on した場合には、プロトコルの「逸脱」として終了する。

c) 有害事象による終了後は、担当医による最善の従来診療を継続する。

3) 治療期間が満期終了した場合

エンドポイント評価は 12 か月後の時点で行うため、本治療の主要な部分は最初の 1 年である。12 か月後～24 か月後の 1 年間は、長期観察用の期間として設けている（リツキシマブは続行可能）。24 か月後までに、保険診療としてリツキシマブ投与を行うことができるようになったら、保険診療に移行する。そうでない場合は、従来治療を継続する。

8. 目標症例数

- 1) RX2 群：10 例
- 2) RX4 群：10 例
- 3) C1 群：10 例
- 4) C2 群：10 例

（適切な症例数については統計学者および PMDA と相談する。本治療は無作為割り付け法ではないが、背景を合わせて比較するプロペンシティ法なども用いて解析する。）

9. 治療の体制

1) 厚労省 IgG4 関連疾患病態解明研究班（三森班）の各分担研究者の施設（12 の臨床関連施設）は、IgG4 関連疾患患者を専門的に診療している施設であり、治療参加患者を集める上で有利である。可能であれば協力者の施設も組み入れる。

2) 厚労省 IgG4 関連疾患ガイドライン策定研究班（千葉班）との連携をとることができる。

3) 販売元である全薬工業株式会社は、本治療に必要なリツキシマブを無償供与する。

4) 三森班の予算：検体輸送・検体保存の経費、保険診療で測定できない血中分子測定の費用、治療情報の記録・文書作成のための諸経費、損害保険の掛金、PMDA 相談費用、出張費、会合用の経費、論文作成費用などである。