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

多数の IgG4 陽性細胞を伴う眼付属器濾胞辺縁帯リンパ腫における サイトカイン mRNA の発現解析

研究分担者　　吉野　正　　岡山大学大学院医歯薬学総合研究科　教授
研究協力者　　佐藤康晴　　岡山大学大学院保健学研究科　准教授

研究要旨：背景に IgG4 陽性細胞を伴う濾胞辺縁帯リンパ腫（IgG4-associated MZL）ついてのサイトカイン発現パターンは報告されていない。今回の研究において、IgG4-RD、IgG4-associated MZL、および背景に IgG4 陽性細胞を伴わない濾胞辺縁帯リンパ腫（IgG4-negative MZL）の 3 群を対象とし、T helper 2 （Th2）と regulatory T-cell （Treg）に関連する各種サイトカイン mRNA の発現を解析したところ、IgG4-RD と IgG4-associated MZL は同様のサイトカイン発現パターンを示しており、MZL の一部は IgG4-RD を背景として発生する可能性が示唆された。

A．研究目的

近年、我々は背景に多数の IgG4 陽性細胞を伴い、IgG4-RD の組織学的な診断基準を満たす眼付属器に発生した濾胞辺縁帯リンパ腫（MZL）の１例を報告し、IgG4-RD を背景に MZL が発生する可能性を指摘したが、この炎症性背景については明らかにしていなかった。

今回の研究において、IgG4-RD、背景に多数の IgG4 陽性細胞を伴う MZL（IgG4-associated MZL）、および背景に IgG4 陽性細胞を伴わない MZL（IgG4-negative MZL）の 3 群を対象とし、Th2 と Treg に関連する各種サイトカイン mRNA の発現パターンについてリアルタイム PCR 法を用いて解析を行った。

B．研究方法

眼付属器に発生した病変から採取した IgG4-RD11 例、IgG4-negative MZL11 例、IgG4-associated MZL6 例の生検組織を用いて検討を行った。採取した MZL の病変は全て原発巣であり、他臓器への浸潤は認めなかった。

パラフィン包埋された材料から miRNeasy FFPE Kit (QIAGEN)を用いて RNA の抽出を行い、cDNA を作成した。リアルタイム PCR は TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems)用いて行い、以下のプライマーを使用した：FOXP3、TGFβ1、interleukin (IL)-4、IL-5、IL-10、IL-13、β-actin。

（倫理面への配慮）

岡山大学 IRB で承認を得ており、データにつても個人が特定できないようにしている。

C．研究結果

IL-4、IL-5、IL-10、IL-13、TGFβ1、FOXP3 と β-actin の mRNA 発現についてリアルタイム PCR 法を用いて検討を行った。IgG4-RD と IgG4-associated MZL では IgG4-negative MZL と比較して IL-4、IL-10、IL-13、FOXP3 の発現が有意に亢進していた

(p< 0.05)。IL-5 の発現については有意な発現の亢進は認めなかった。

すなわち IgG4-RD と IgG4-associated MZL は同じサイトカインの発現パターンを示していた。

D. 考察

Th1/Th2 のバランスは正常な免疫応答に必須であり、Th1/Th2 のバランスの崩れがさまざまな疾患の原因とされている。Th1 優位の免疫反応はリウマチ、1 型糖尿病、多発性硬化症に関連している一方、Th2 優位の免疫反応は 1 型アレルギーに関連しているとされている。節外性 MZL は慢性炎症を背景として発生すると考えられており、多くは Th1 型の免疫反応が存在することが報告されている。一方、皮膚 MZL の背景には Th2 型の免疫反応が存在し、39%は IgG4 陽性であることが報告されている。

近年、IgG4-RD に Th2 サイトカイン（IL-4、IL-5、IL-13）と Treg サイトカイン（IL-10、Treg）が関連していることが報告されている。IL-4 と IL-10 は IgG4 へのクラススイッチを誘導し、IL-5 や IL-13 は好酸球浸潤に、TGFβ は線維化に関与していると考えられている。今回の研究では IgG4-RD、IgG4-associated MZL において、IgG4-negative MZL と比較し Th2 サイトカインと Treg サイトカインの発現亢進が認められた。

MZL の発生するメカニズムは現在明らかにされていないが、最近の報告では *Chlamydia psittaci* 感染が関与している可能性が指摘されている。我々は過去に多数の IgG4 陽性細胞を背景に伴う眼付属器 MZL の症例を報告し、MZL が IgG4-RD を背景に発生する可能性を指摘した。IgG4-RD 患者は悪性腫瘍発生のリスクがあるとされており、IgG4-RD 患者の 10.4%に肺癌、大腸癌、悪性リンパ腫などの悪性腫瘍の発生し、一般集団と比較して約 3.5 倍の悪性腫瘍発生リスクがあるとされている。IgG4-RD を背景として腫瘍の発生する機序は不明であるが、近年 IgG4 抗体が IgG1 抗体による抗腫瘍活性を阻害することが示されており、IgG4 抗体そのものが腫瘍の発生に関与している可能性が考えられる。また、今回の研究では IgG4-associated MZL と IgG4-RD では IgG4-negative MZL と比較し、Treg のマスターレギュレーターである FOXP3 の発現が亢進が認められた。Treg は、抗腫瘍免疫の抑制に関与する要因として近年注目されており、IgG4-RD における腫瘍の発生に関与している可能性が考えられる。

ステロイドによる治療は IgG4-RD の治療に有効である。一方、IgG4-associate MZL に対して最も効果的な治療法は明らかになっていないが、現段階では化学療法、放射線療法が必要であると考えられる。そのため、眼周囲領域の IgG4 関連疾患の診断においては、MZL の成分の有無について考慮する必要がある。

E. 結論

IgG4-associated MZL では IgG4-negative MZL と比較して、IgG4-assiciated MZL は IgG4-negative MZL と異なるサイトカイン mRNA 発現パターンを示しており、IgG4-RD と同様に Th2、Treg サイトカインの発現が亢進していることが示された。この結果から、一部の MZL は IgG4-RD を背景に発生し、この MZL は IgG4-negative MZL と異なる機序で発生する可能性が示唆された。

F．研究発表

1． 論文発表

1. Ohno K, <u>Sato Y</u>, Ohshima K, Takata K, Miyata-Takata T, Takeuchi M, Gion Y, Tachibana T, Orita Y, Ito T, Swerdlow SH, <u>Yoshino T</u>. A subset of ocular adnexal mariginal zone lymphomas may arise in association with IgG4-related disease. ***Sci Rep***. 2015; 5: 13539.
2. Takeuchi M, Ohno K, Takata K, Gion Y, Tachibana T, Orita Y, <u>Yoshino T</u>, <u>Sato Y</u>. Interleukin 13-positive mast cells are increased in immunoglobulin G4-related sialadenitis. ***Sci Rep*** 2015 Jan 9; 5: 7696.

2． 学会発表

1. **西田賢司、<u>佐藤康晴</u>、<u>吉野　正</u>．リンパ節における IgG4 関連疾患．第 104 回日本病理学会総会シンポジウム．平成 27 年 4 月 30 日～5 月 2 日． 於・名古屋．**
2. **<u>佐藤康晴</u>、<u>吉野　正</u>**. IgG4 **関連疾患の病理**. **第 104 回日本病理学会総会コンパニオンミーティング．平成 27 年 4 月 30 日～5 月 2 日． 於・名古屋．**
3. **竹内真衣、<u>佐藤康晴</u>、祇園由佳、<u>吉野　正</u>**. IgG4 **関連疾患の病態形成における樹状細胞による抗原提示の関与**. **第 104 回日本病理学会総会．平成 27 年 4 月 30 日～5 月 2 日． 於・名古屋．**
4. **荻野恭平、<u>佐藤康晴</u>、<u>吉野 正</u>**. **多数の** lgG4 **陽性細胞を伴ったびまん性大細胞型** B **細胞リンパ腫の** 1 **例**. **第 104 回日本病理学会総会．平成 27 年 4 月 30 日～5 月 2 日． 於・名古屋．**
5. **表 梨華、<u>佐藤康晴</u>、髙田尚良、<u>吉野 正</u>**. IgG4 **関連疾患と鑑別が困難だった上眼瞼腫瘤の** 1 **例**. **第 104 回日本病理学会総会．平成 27 年 4 月 30 日～5 月 2 日． 於・名古屋．**

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。