

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、その治療は副腎皮質ステロイドが中心である。しかし、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する。我々は 8 カラー FACS 解析により、IgG4-RD 患者末梢血では plasmablast の割合が特徴的に増加し、その背景に Tfh 細胞による B 細胞分化誘導の可能性を報告した。今年度は、免疫抑制薬アザチオプリン、CTLA4-Ig 製剤アバタセプトが奏効した IgG4-RD の 5 症例を経験した。顎下腺、下垂体、膵臓などを罹患臓器とする 3 例では、ステロイド減量中に再燃を認めたが、アザチオプリンの追加併用が奏効し、ステロイド漸減が可能であった。左腎門部腫瘤を認めた 1 例では、ステロイド中止後に再燃したが、アザチオプリン投与のみで軽快した。関節リウマチ合併ミクリッツ病の 1 例では、ステロイドを使用せずアバタセプトを投与し、IgG4 値低下、耳下腺腫脹の縮小を認め、末梢血 plasmablast 4.3%から 0.2%、Tfh 1.4%から 0.8%と著明に低下し良好な経過を辿った。以上の結果は、IgG4-RD における Tfh 細胞-B 細胞軸の重要性とそれらを標的とした分子標的治療の可能性に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 26 年度までに、我々は、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 カラーフォロースイトメトリーを用いてサブセット細胞表面形質を解析してきた。その結果、IgG4 関連疾患患者では、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。一方、IgG4 関連疾患の治療は副腎皮質ステロイドが中心である。しかし、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する。今年度は、ステロイド抵抗性の症例に対して、免疫抑制薬の使用を試み、さらに、8 カラーフォロースイトメトリーを用いたリンパ球表面形質との関連性を検討することを目的とした。

B . 研究方法

健常人 (HD; 23 名)、IgG4 関連疾患患者 (IgG4-RD; 16 名)、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類を試み、リンパ球表面形質の相違と患者背景、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。また、免疫抑制薬アザチオプリン、CTLA4-Ig 製剤アバタセプトが奏効した IgG4-RD の 5 症例を経験し、治療前後で 8 カラーフローサイトメトリーを用いたリンパ球表面形質の変化を検討した。

(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) IgG4-RD の患者背景 (平均 ± SD) は、年齢 60 ± 18 歳、罹病期間 1.6 ± 2.6 年、血清 IgG4 693 ± 546 mg/dl、CRP 0.7 ± 1.8 mg/dl、全例で血清 IgG4 が上昇し、肺、腎、後腹膜、唾液腺などの臓器病変が存在した。全例で病変部位の生検を施行し、組織中の IgG4 比率の上昇を確認したうえで確定診断した。

(2) 健常人、IgG4-RD、SjS 患者末梢血での古典的ヘルパー T 細胞 (Th1, Th2, Th17) のサブセット割合は差を認めなかった。一方 IgG4-RD 患者末梢血では、CD3+CD4+CCR7-CD45RA+エフェクター T 細胞、

CD3+CD4+CXCR5+ICOS+ Tfh 細胞、および CD19+CD27+CD20-CD38+抗体産生性形質芽細胞の割合が有意に高く、さらに Tfh は plasmablast の割合と相関していた。

(3) 涙腺・唾液腺以外に病変を有する重症度の高い群では、CD19+CD27+CD20-CD38+抗体産生性形質芽細胞と CD3+CD4+CXCR5+ICOS+ Tfh 細胞の割合の上昇が顕著であった。

(4) 免疫抑制薬アザチオプリンが奏効した IgG4-RD の 4 症例を経験した。顎下腺、下垂体、膵臓などを罹患臓器とする 3 例では、ステロイド減量中に再燃を認めたが、アザチオプリンの追加併用が奏効し、ステロイド漸減が可能であった。左腎門部腫瘍を認めた 1 例では、ステロイド中止後に再燃したが、アザチオプリン投与のみで軽快した。

(5) 関節リウマチ合併ミクリッツ病の 1 例では、ステロイドを使用せず、CTLA4-Ig 製剤アバタセプトを投与し、IgG4 値低下、耳下腺腫脹の縮小を認め、末梢血 plasmablast 4.3%から 0.2%、Tfh 1.4%から 0.8%と著明に低下し良好な経過を辿った。

D. 考察

IgG4-RD の病態は、Th2 細胞や B 細胞を起点とする IgG4 産生性形質細胞の関与が想定されてきたが、その詳細は不明であった。今回の検討により、IgG4-RD 患者末梢血では、エフェクター T 細胞や Tfh 細胞、抗体産生性形質芽細胞の割合が増加しており、これらの細胞群が相互に作用しながら、重症度や臓器障害の進展に関与することが示唆された。一方、IgG4-RD の治療は副腎皮質ステロイドが中心であるが、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する。今回の検討により、免疫抑制薬アザチオプリン、CTLA4-Ig 製剤アバタセプトが奏効したステロ

イド治療抵抗性の IgG4-RD の 5 症例を経験した。殊に、関節リウマチ合併ミクリッツ病の 1 例では、アバタセプトにより IgG4 値低下、耳下腺腫脹が縮小し、末梢血 plasmablast や Tfh 細胞が著明に低下し良好な経過を辿った。以上の結果は、IgG4-RD における Tfh 細胞-B 細胞軸の重要性とそれらを標的とした分子標的治療の可能性に重要な示唆を与えるものである。現在、このような末梢血中の細胞集団の増加が、実際の病変局所においても増加しているかを病理組織の免疫染色によって検討中である。

E. 結論

IgG4-RD の治療は副腎皮質ステロイドが中心であるが、免疫抑制薬アザチオプリン、CTLA4-Ig 製剤アバタセプトが奏効したステロイド治療抵抗性の IgG4-RD の 5 症例を経験した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kubo S, Nakayamada S, Nakano K, Hirata S, Fukuyo S, Miyagawa I, Hanami K, Saito K, Tanaka Y. Comparison of efficacies of abatacept and tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis by a propensity score-matching. *Ann Rheum Dis* (in press)
2. Isenberg DA, Petri M, Kalunian K, Tanaka Y, Urowitz MB, Hoffman RW, Morgan-Cox M, Iikuni N, Silk M, Wallace DJ. Efficacy and safety of subcutaneous tabalumab in patients with systemic lupus erythematosus: results from ILLUMINATE-1, a 52-week, phase 3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Rheum Dis* (in press)
3. Zhao J, Kubo S, Nakayamada S, Shimajiri S, Zhang X, Yamaoka K, Tanaka Y. Association of plasmacytoid dendritic cells with B cell infiltration in minor salivary glands in patients with Sjögren's syndrome. *Mod Rheumatol* (in press)
4. Tanaka Y, Emoto K, Cai Z, Aoki T, Schlichting D, Rooney T, Macias W. Efficacy and safety of baricitinib in Japanese patients with active rheumatoid arthritis on background methotrexate therapy: A 12-week, double-blind, randomized placebocontrolled study. *J Rheumatol* (in press)
5. 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* (2015) 74, 389-395
6. 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* (2015) 67, 63-73
7. 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* (2015) 67, 1250-60
8. Wang SP, Iwata S, Nakayamada S, Niuro H, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Kondo M, Kubo S, Yoshikawa M, Tanaka Y. Amplification of

- | | |
|--|--|
| <p>IL-21 signaling pathway through Bruton's tyrosine kinase in human B cell activation. <i>Rheumatology</i> (2015) 54, 1488-1497</p> <p>9. Iwata S, Yamaoka K, Niiro H, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Wang S-P, Kondo M, Yoshikawa M, Akashi K, <u>Tanaka Y</u>. Increased Syk phosphorylation leads to overexpression of TRAF6 in peripheral B cells of patients with systemic lupus erythematosus. <i>Lupus</i> (2015) 24: 695-704</p> <p>10. Kondo M, Yamaoka K, Sakata K, Sonomoto K, Lin L, Nakano K, <u>Tanaka Y</u>. IL-6/STAT3 signaling pathway contributes to chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. <i>Arthritis Rheum</i> (2015) 67, 1250-60</p> | <p>(予定を含む。)</p> <p>1. 特許取得
なし</p> <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|--|--|

2. 学会発表

1. 久保 智史、中山田 真吾、中野 和久、平田 信太郎、宮崎 祐介、好川真以子、齋藤和義、田中良哉. IgG4 関連疾患における末梢血リンパ球フェノタイプの解析. 第 43 回日本臨床免疫学会, 神戸, 2015.10.22-24
2. 佐藤友梨恵、中野和久、宮川一平、中山田真吾、澤向範文、平田信太郎、久保智史、齋藤和義、田中良哉. 遷延する頭痛を契機に診断された大動脈周囲炎・涙腺炎合併 IgG4 関連肥厚性硬膜炎の一例. 第 50 回九州リウマチ学会, 鹿児島, 2015.9.5-6
3. 吉成紘子、中野和久、平田信太郎、中山田真吾、澤向範文、久保智史、宮川一平、齋藤和義、田中良哉. ステロイド減量中止後 IgG4 関連疾患(IgG4RD)再燃にアザチオプリン(AZ)単剤が奏功した一例. 第 50 回九州リウマチ学会, 鹿児島, 2015.9.5-6

G . 知的財産権の出願・登録状況