

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  
平成 28 年度 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 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。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 follicular helper T 細胞 (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、IgG4 関連疾患患者の病理組織を検討したところ、Tfh の浸潤が明らかとなり、末梢血中の Tfh の増多は病理における Tfh の浸潤の程度を反映していた。また、ステロイド薬などの治療介入により、血清 IgG4 値の減少に加えて末梢血中の Th17、Tfh、Plasmablast の減少が認められた。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 産生形質細胞浸潤とその式の線維化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 27 年度までに、8 カラーフローサイトメトリーを用いて 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、質的異常を解析してきた。その結果、IgG4 関連疾患患者では、末梢血において effector memory T 細胞と CD19<sup>+</sup>B 細胞に於ける plasmablast の割合が特徴的に高いことが示された。さらに、副腎皮質ステロイドや CTLA4-Ig アパタセプトを用いた治療によって、末梢血のリン

パ球の量的、質的異常が改善されるとの予備的成績が得られた。今年度は、末梢血に於ける T 細胞異常が組織でも見られるかを検討し、さらに、ステロイド等の治療が末梢血のリンパ球フェノタイプへの及ぼす影響を検討し、治療指針設定の根拠を示す事を目的とした。

**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、リンパ球フェノタイプと

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、ステロイド等の治療前後で 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。さらに、生検組織に於けるリンパ球異常を免疫染色により検討し。

#### (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 の患者背景は、年齢 60 歳、罹病期間 19 ヶ月、血清 IgG 2735 mg/dl、CRP 0.7 mg/dl で、腺症状のみが 7 例、腺外症状を 9 例、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、病変部位の生検組織中の IgG4 比率の上昇を確認した。

(2) IgG4RD のリンパ球フェノタイプに関して健常人と比較したところ、T 細胞のサブセットにおいて、Treg および Tfh の増加が認められた。また B 細胞では Plasmablast の著明な上昇が認められた。これらリンパ球フェノタイプ同士の関連を検討したところ、Plasmablast と Tfh がクラスターを形成し、実際に T 細胞サブセットの中で Plasmablast と Tfh は正の相関を認めた。

(3) 臨床像との関連を検討すると、血清 IgG が Plasmablast や Tfh と相関し、他の T 細胞

フェノタイプとの関連は見られなかった。また Plasmablast は血清 IgG4 と相関傾向を示し、Naive T 細胞が血清 IgG4 と逆相関した。

(4) 病理組織を検討したところ、病態部位における Tfh の浸潤が明らかで、末梢血中の Tfh の増多は組織における Tfh の浸潤の程度を反映していた。

(5) 治療前後での検討では、ステロイド薬などの治療介入により、IgG4 の減少に加えて Th17、Tfh、Plasmablast の減少が認められた。

### 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、B 細胞の分化に関わる Tfh 細胞と抗体産生性形質芽細胞は相互に相関しながら増加しており、重症度や臓器障害の進展および治療反応性を反映することが示された。さらに、IgG4-RD 患者の病変局所には、Tfh 細胞の浸潤が末梢血の割合と相関して検出され、Tfh 細胞 - 形質芽細胞軸の制御が IgG4-RD の新たな治療戦略へつながることが期待された。

### E. 結論

IgG4-RD 患者末梢血では Tfh 細胞と plasmablast の割合が特徴的に増加し、末梢血中の Tfh の増多は病理組織における Tfh の浸潤の程度を反映していた。また、ステロイド薬などの治療介入により、血清 IgG4 値の減少に加えて末梢血中の Th17、Tfh、Plasmablast の減少が認められた。以上、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。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ishikawa Y, Miyagawa I, Nakano K, Satoh Y, Todoroki Y, Kubo S, Nawata A, Nakayamada S, Saito K, Tanaka Y. The occurrence of hypertrophic pachymeningitis with infiltration of IgG4-positive plasma cells and with different etiology: Report of three cases. *Mod Rheumatol* (in press)
2. Aletaha D, Bingham III CO, Tanaka Y, Agarwal P, Kurrasch R, Tak PP, Popik S. Efficacy and safety of sirukumab, an anti-IL-6 cytokine monoclonal antibody, in patients with active rheumatoid arthritis despite anti-TNF therapy: results from the randomized, double-blind, placebo-controlled, global, phase 3 SIRROUND-T study. *Lancet* (in press)
3. Cohen SB, Tanaka Y, Mariette X, Curtis JR, Lee EB, Nash P, Winthrop KI, Charles-Schoeman C, Thirunavukkarasu K, DeMasi R, Geier J, Kwok K, Wang L, Riese R, Wollenhaupt J. Long-term safety of tofacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis up to 8.5 years: integrated analysis of data from the global clinical trials *Ann Rheum Dis* (in press)
4. Taylor PC, Keystone EC, van der Heijde D, Weinblatt ME, del Camen Morales L, Gonzaga JR, Yakushin s, Ishii T, Emoto K, Veatie S, Arora V, Rooney T, Schlichting D, Macias WL, de Bono S, Tanaka Y. Baricitinib versus placebo or adalimumab in rheumatoid arthritis. *New Engl J Med* (2017) 376, 652-662
5. 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* (2016) 75, 1321-7
6. 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* (2016) 75, 323-331
7. Takeuchi T, Tanaka Y, Iwasaki M, Ishikura H, Saeki S, Kaneko Y. Efficacy and safety of the oral Janus kinase inhibitor peficitinib (ASP015K) monotherapy in moderate to severe rheumatoid arthritis patients in Japan: A 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled phase IIb study. *Ann Rheum Dis* (2016) 75, 1057-1064
8. Takeuchi T, Tanaka Y, Ishiguro N, Yamanaka H, Yoneda Y, Ohira T, Okuno N, Hennant HK, van der Heijde D. Effect of Denosumab on Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis: A Dose-response Study of AMG 162 (Denosumab) in Patients with Rheumatoid Arthritis on Methotrexate to Validate Inhibitory Effect on Bone Erosion (DRIVE) -A Twelve-Month, Multicenter, Randomized,

- Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase II Clinical Trial- Ann Rheum Dis (2016) 75, 983-990
9. Winthrop K, Park SH, Gui A, Cardiel MH, Gomez-Reino JJ, Tanaka Y, Kwok K, Lukic T, Mortensen E, Ponce de Leon D, Riese R, Valdez H. Tuberculosis and other opportunistic infections in tofacitinib-treated patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis (2016) 75, 1133-1138
  10. Schett G, Emery P, Tanaka Y, Burmester G, Pisetsky DS, Naredo E, Fautrel B, van Vollenhoven R. Tapering biologic and conventional DMARD therapy in rheumatoid arthritis - Current evidence and future directions. Ann Rheum Dis (2016) 75, 1428-1437
  3. 佐藤友梨恵、中野和久、平田信太郎、宮川一平、久保智史、中山田真吾、齋藤和義、野口紘嗣、栗田大輔、田中良哉. IgG4 関連疾患との鑑別を要した血管免疫芽球性リンパ腫の一例. 第 314 回日本内科学会九州地方会. 平成 28 年 8 月. 宮崎
  4. 佐藤友梨恵、中野和久、平田信太郎、宮川一平、久保智史、澤向範文、中山田真吾、齋藤和義、田中良哉. IgG4 関連疾患呼吸器疾患との鑑別を要した肺クリプトコッカス症の一例. 第 52 回九州リウマチ学会. 平成 28 年 9 月. 熊本
  5. Kubo S, Nakayamada S, Yoshikawa M, Miyazaki Y, Zhao J, Miyagawa I, Iwata S, Nakano K, Saito K, Tanaka Y. Characteristic phenotype of peripheral blood lymphocytes in patients with IgG4-related disease. 第 60 回日本リウマチ学会. 平成 28 年 4 月横浜

## 2.学会発表

1. 永安 敦、中野 和久、久保 智史、中山田 真吾、岩田 慈、平田 信太郎、宮川 一平、花見 健太郎、齋藤 和義、田中 良哉. ADA 上昇を伴う両側胸水を呈し、外科的胸膜生検で診断し得た IgG4 関連呼吸器疾患 (IgG4-RRD) の 1 例. 第 316 回日本内科学会九州地方会. 平成 29 年 1 月. 福岡
2. Kubo S, Nakayamada S, Yoshikawa M, Miyazaki Y, Zhao J, Miyagawa I, Iwata S, Nakano K, Saito K, Tanaka Y. Characterization of peripheral blood lymphocyte phenotype in patients with IgG4-related disease. 2016 ACR Annual Meeting 第 82 回米国リウマチ学会年次総会. 平成 28 年 11 月. ワシントン D.C.

## 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