

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
総合研究報告書（分担研究）

IgG4 関連疾患の病理学的解析

研究分担者 佐藤康晴 岡山大学大学院保健学研究科 教授
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 : 背景に IgG4 陽性細胞を伴う濾胞辺縁帯リンパ腫 (IgG4-associated MZL) に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。

研究 : 鑑別上問題となる形質細胞型キャスルマン病では、IgG4 関連疾患と比較して血清 IgA が著明に高値を示すため、血清 IgA の値は両者の鑑別に有用であるとされている。今回、IgG4 関連疾患と形質細胞型キャスルマン病について、組織中の IgA 発現を免疫組織化学の有用性を検討した。採血データが得られた IgG4 関連疾患 8 例で血清 IgA 値は 157 ± 81 mg/dl であったのに対して、キャスルマン病では 621 ± 192 mg/dl と有意に高値であった ($P < 0.001$)。組織学的検索では、キャスルマン病で多く認められた IgA 陽性細胞 (303 ± 238 個/3HPFs) は、IgG4 関連疾患では少数であった (31 ± 37 個/3HPFs) ($P < 0.001$)。したがって、病理学的に免疫染色で IgA 発現の差異を調べることは、両者の鑑別に有用であることが示唆された。

A . 研究目的

研究 : 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。

研究 : IgG4 関連疾患と形質細胞型キャスルマン病の鑑別において、IgA 免疫染色の有用性について検討した。

B . 研究方法

研究 : 眼付属器に発生した病変から採取した IgG4-RD 11 例、IgG4-negative MZL 11

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)を用いて行い、以下のプライマーを使用した:FOXP3、TGF 1、interleukin (IL)-4、IL-5、IL-10、IL-13、 β -actin。

研究 : 自施設における検体ファイルから、IgG4 関連疾患患者 12 例及び形質細胞型キャスルマン病患者 11 例のリンパ節病変の FFPE をもちいて検討した。

(倫理面への配慮)

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

C . 研究結果

研究 : IL-4、IL-5、IL-10、IL-13、TGF 1、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。

研究 : 非常に多くの形質細胞浸潤が

IgG4 関連疾患とキャスルマン病のリンパ節で観察された。IgG4 関連疾患とキャスルマン病の IgG 陽性細胞は 926 ± 315 cells/3HPFs($539-1472$ cells/3HPFs)及び 1735 ± 361 cells/3HPFs($1269-2591$ cells/3HPFs)であった。IgG4 関連疾患の IgG 陽性細胞のほとんどが IgG4 を発現しており(589 ± 295 cells/3HPFs)、全例で IgG4 関連疾患の診断基準を満たしていた。一方、キャスルマン病でも多くの症例で多数の IgG4 陽性細胞が浸潤しており(756 ± 481 cells/3HPFs)、11 例中 8 例で IgG4 関連疾患の組織学的診断基準を満たしていた。

キャスルマン病で非常に多く認められた IgA 陽性細胞(303 ± 238 個/3HPFs)は、IgG4 関連疾患では有意差をもって少数であった(31 ± 37 個/3HPFs) ($P < 0.001$)。

D . 考察

研究 : 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、TGF は線維化に關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* 感染が關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關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關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關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-associated 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 關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。

研究 : 過去の報告と同様に、形質細胞型キャスルマン病において、血清 IgA 値の上昇、貧血、低アルブミン血症、血小板高値、及び CRP 上昇などの検査値異常がみられた。さらに、形質細胞型キャスルマン病の症例のうち 72.7% が IgG4 關連疾患の診断基準(血清 IgG4 値 135mg/dl, 組織での IgG 陽性細胞/IgG4 陽性細胞比 40%)を満たしていた。したがって、IgG4 關連疾患に特徴的とされる組織中の IgG4 陽性細胞数の増加は、IgG4 關連疾患とキャスルマン病の組織学的な鑑別点としては不十分であり、血清学的所見、病理学的所見、及び臨床所見を含む包括的な診断手順が必要とされる。IgG4 關連リンパ節症と形質細胞型キャスルマン病を形態像のみで鑑別するのは困難であるが、免疫組織化学的に検出された組織中の IgA 発現の違いは両者の鑑別に有用であることが示唆された。生検時に有効な血清学的情報が得られなかった際にも、免疫組織化学的に IgA の発現を検索することで両者の鑑別に有用な情報が得られる可能性がある。

E . 結論

研究 : IgG4-associated MZL では IgG4-negative MZL と比較して、IgG4-associated 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。

研究 : IgG4 関連疾患の診断にあたっては、臨床情報、病理所見や血清 IgG4 値を含む検査所見を組み合わせて総合的に行われる必要がある。本研究により得られた IgA 免疫染色による知見は IgG4 関連疾患の新たな診断基準作成の一助となると考える。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Manabe A, Igawa T, Takeuchi M, Gion Y, **Yoshino T**, **Sato Y**. Immunohistochemical analysis of IgA expression differentiates IgG4-related disease from plasma cell-type Castleman disease. *Med Mol Morphol*. 2017; 50(1): 34-41.
2. Nishida K, Sogabe Y, Makihara A, Senoo A, Morimoto H, Takeuchi M, Gion Y, **Yoshino T**, **Sato Y**. Ocular adnexal marginal zone lymphoma arising in a patient with IgG4-related ophthalmic disease. *Mod Rheumatol*. 2016 Aug 11 online, DOI: 10.1080/14397595.2016.1216733
3. Igawa T, Hayashi T, Ishiguro K, Maruyama Y, Takeuchi M, Takata K, **Yoshino T**, **Sato Y**. IgG4-producing lymphoma arising in a patient with IgG4-related disease. *Med Mol*

Morphol. 2016; 49(4): 243-249.

4. Ohno K, **Sato Y**, Ohshima K, Takata K, Miyata-Takata T, Takeuchi M, Gion Y, Tachibana T, Orita Y, Ito T, Swerdlow SH, **Yoshino T**. A subset of ocular adnexal marginal zone lymphomas may arise in association with IgG4-related disease. *Sci Rep*. 2015; 5: 13539.
5. Takeuchi M, Ohno K, Takata K, Gion Y, Tachibana T, Orita Y, **Yoshino T**, **Sato Y**. 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. 柴田嶺、**佐藤康晴**、丸中秀格、折田頼尚、高田尚良、吉野正. IgG4 関連疾患に発症した diffuse large B-cell lymphoma(DLBCL)の一例. 第 105 回日本病理学会総会(平成 28 年 5 月 12 日~14 日 仙台)
2. 西田賢司、竹内真衣、片岡竜貴、井川卓朗、吉野正、佐藤康晴. IgG4 関連リンパ腫節症におけるマスト細胞の IgE 発現とその意義. 第 105 回日本病理学会総会(平成 28 年 5 月 12 日~14 日 仙台)
3. 井川卓朗、佐藤康晴、高田尚良、吉野正. IgG4-producing lymphoma arising in a patient with IgG4-related disease. 第 105 回日本病理学会総会(平成 28 年 5 月 12 日~14 日 仙台)
4. 西田賢司、**佐藤康晴**、**吉野正**. 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.

5. 佐藤康晴、吉野 正. 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.
6. 竹内真衣、佐藤康晴、祇園由佳、吉野 正. 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.
7. 荻野恭平、佐藤康晴、吉野 正. 多数の IgG4 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.
8. 表 梨華、佐藤康晴、高田尚良、吉野 正. IgG4 関連疾患と鑑別が困難だった上眼瞼腫瘍の 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.

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