

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 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、末梢血リンパ球のフェノタイプは殆ど不詳である。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。一方、その治療は副腎皮質ステロイドが中心であるが、ステロイド治療により、血清 IgG4 値の減少に加え末梢血中の Th17、Tfh、Plasmablast の減少が認められた。また、ステロイド減量中に再燃した症例では、アザチオプリンの追加併用が奏効し、1 例では CTLA4-Ig アパタセプト単独療法が奏功した。アパタセプトにより、IgG4 値低下、耳下腺腫脹縮小、末梢血 plasmablast と Tfh 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。

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。我々は、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。また、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た。さらに、副腎皮質ステロイドや CTLA4-Ig アパタセプト

等を用いた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(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、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) 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とも相関傾向を示し、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。

(6) 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、脾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。

(7) 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、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、病態形成への中心的な関与が示唆された。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 の病態形成過程における 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。

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、アザチオプリン、CTLA4-Ig アバタセプト等の治療介入により、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
11. 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
12. 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
13. 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
14. Tanaka Y, Martin Mola E. IL-6 targeting compared to TNF targeting in rheumatoid arthritis: studies of olokizumab, sarilumab and sirukumab.

- Ann Rheum Dis (2014) 73, 1395-1397
15. Kubo S, Yamaoka K, Kondo M, Yamagata K, Zhao J, Iwata S, Tanaka Y. The JAK inhibitor tofacitinib reduces the T cell stimulatory capacity of human monocyte-derived dendritic cells. Ann Rheum Dis (2014) 73, 2192-2198
 16. Wang S-P, Iwata S, Nakayamada S, Sakata K, Yamaoka K, Tanaka Y. Tofacitinib, a Jak inhibitor, inhibits human B cell activation in vitro. Ann Rheum Dis (2014) 73, 2213-2215

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.
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 T 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. S Hirata, S Nakayamada, S Kubo, N Yunoue, M Yoshikawa, K Nakano, K Yamaoka, K Saito, Y Tanaka.

Characteristic phenotype of peripheral blood lymphocytes in patients with IgG4-related disease, comparing to primary Sjögren syndrome and healthy donors. 2014 American College of Rheumatology Annual Meeting, Boston, USA, 平成 26 年 11 月 14 - 19 日

10. 平田信太郎、中山田真吾、久保智史、湯之上直樹、好川真以子、齋藤和義、田中良哉. IgG4 関連疾患患者における末梢血免疫細胞サブセットの解析: 原発性シェーグレン症候群患者および健常人との比較検討. 第 23 回日本シェーグレン症候群学会, 長崎, 平成 26 年 9 月 12 - 13 日
11. 鳥本桂一、岡田洋右、新生忠司、黒住旭、成澤 学、山本 直、森 博子、田中良哉. Basedow 病型 IgG4 甲状腺炎の臨床的特徴に関する検討. 第 14 回日本内分泌九州地方会, 佐賀, 平成 26 年 8 月 23 日

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