

機関番号：13601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790349

研究課題名（和文） IgG4 関連硬化性疾患の分子病理学的解

研究課題名（英文） Analysis of molecular alterations in IgG4-related sclerosing disease

研究代表者

上原 剛（UEHARA TAKESHI）

信州大学・医学部・講師

研究者番号：80402121

研究成果の概要（和文）：IgG4 関連硬化性疾患の原因究明と診断方法についての研究。IgG4 関連硬化性疾患患者の胃生検材料に、IgG サブクラス染色など行い解析した結果、IgG4 関連硬化性疾患患者の膵臓に認められる炎症性病変と同様の変化が認められた。胃生検は膵生検より簡便であり IgG4 関連硬化性疾患の診断に役立つと考えられた。また正常膵上皮および間質細胞を培養し IgG サブクラスを含む血清で刺激したが反応を得られなかった。

研究成果の概要（英文）：This study show diagnostic approach of IgG4-related sclerosing disease and cause investigation of IgG4-related sclerosing disease. Immunohistochemical staining was performed to IgG subclasses in the gastric biopsy got from IgG4-related sclerosing disease patient. The gastric inflammation consisted with pancreatic inflammation in IgG4-related sclerosing disease patient. The gastric biopsy is more useful than the pancreatic biopsy, so the gastric biopsy is diagnostic. Although, normal pancreatic epithelial cell and stroma cell were stimulated with human serum containing IgG subclasses, they didn't show any change.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：IgG4 関連硬化性疾患，自己免疫性膵炎，胃炎

## 1. 研究開始当初の背景

自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis:AIP)は2001年に信州大学附属病院消化器内科の浜野らにより、血清学的にIgG4の上昇がみられることが発見され、病因を解明するための糸口がつかめた。本研究には私も黎明期より参加して病理学的解析を担当している。病理組織学的解析では、膵管周囲に多数のIgG4陽性の形質細胞の浸潤が認められる特徴がある。また後腹膜線維症、シェーグレン症候群、硬化性胆管炎や前立腺炎など多くの炎症性疾患が合併することが知られており、これらの多くはAIPと同様に多数のIgG4陽性の形質細胞の浸潤が認められることから近年IgG4関連硬化性疾患と呼ばれている。

AIPの発症機序はいまだ不明である。遺伝学的背景として、家族内発症例は報告されていないが、HLA抗原としてはHLA-A31、DR4を高頻度に認めるとともに、DNAタイピングによるハプロタイプとしてMHCクラスII抗原上のHLADRB1\*0405-DQB1\*0401が疾患感受性因子である可能性が示唆されている。さらにクラスI抗原上のHLA-EとC3-2-11遺伝子近傍に存在し、TNF- $\alpha$ によって調節されるATP-binding cassette、sub-family F1(ABCF1)遺伝子に相関する可能性も示唆されている。

またAIPでは体液性免疫異常である自己抗体として、抗核抗体、抗carbonic anhydrase-II(CA-II)抗体、抗ラクトフェリン抗体、リウマチ因子、抗平滑筋抗体など多様な自己抗体の出現を認めるが疾患特異性は低い。AIPの細胞性免疫異常としてはナイーブ制御性T細胞(CD4+ CD25+ CD45RA+)の低下とメモリー制御性T細胞(CD4+ CD25+ CD45RA-)の増加が認められ、減少したナイーブ制御性T細胞がAIPの発症に関与し、一方メモリー制御性T細胞はIL-10、TGF- $\beta$ の産生を促しIgG4産生や線維化をきたす。上皮細胞におけるMHCクラスII抗原の発現は、炎症に伴う2次的な変化の可能性を否定できないが免疫学

的機序による膵炎の可能性を支持する所見である。また末梢血には好酸球やHLA陽性の活性化CD4、CD8陽性細胞、特にTh1型CD4陽性細胞の増加を認めるとの報告もある。しかしながらその発症原因は未だ不明である。

私はこれまでAIPに合併する硬化性胆管炎の病理組織学的検討(上原ら Pathol International, 2005)や、AIPに合併する前立腺炎の病理組織学的検討(上原ら Pathol International, 2008)を行ってきた。また、AIPに合併した硬化性胆管炎と、原発性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis;以下PSC)を病理組織学的に比較検討し、AIPに合併する硬化性胆管炎には膵臓に見られるものと同様にIgG4陽性形質細胞の浸潤などの特徴的な所見が見られ、ステロイド治療が著効することを報告した(上原ら Pathol International, 2005)。さらにAIPに合併する前立腺炎においてもAIPと同様の病態が認められ、ステロイド治療が著効するものがあると報告するなど(上原ら Pathol International, 2008)、AIPに関連する前立腺炎の存在を明らかにしてきた。近年、AIPに合併して炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis;以下UC)やクローン病(Crohn's disease;以下CD)がしばしば報告されている。逆にUCやCDには腸管外合併症として膵炎が比較的高頻度に認められ、AIPの診断基準を満たす膵炎も少なからず認められことから興味を持たれる。これら疾患の研究には、近年、分子生物学的手法や遺伝学的手法を用いた研究が数多く行われ成果を挙げていることから、同様の研究手法を用い、また当院では他の施設に比較して臨床検体も豊富に得られることから、これらを組み合わせIgG4関連硬化性疾患の研究を行うことは意義深いと考える。

## 2. 研究の目的

以下の2点に関して研究を行った。

(1)血清学的データや胃生検、大腸生検等で、IgG4関連硬化性疾患の早期発見に役立つ方

法を開発する。

(2) 「IgG4 関連硬化性疾患の原因は、IgG4 そのものにあるのではなく、何らかの疾患特異的な防御反応の結果、共通のメカニズムによって IgG4 産生に至る」という仮説を検証し疾患特異的な共通のメカニズムを特定する。

### 3. 研究の方法

(1) 信州大学医学部附属病院で、IgG4 関連硬化性疾患の既往のある症例をレトロスペクティブに検索する。その症例の中から IgG4 関連硬化性疾患に関連していると思われる胃生検症例を抽出する。より均一な疾患群にするため特に AIP を有する患者群に絞って検索する。これらの生検材料を用いて、一見ヘリコバクター・ピロリ感染に伴う慢性活動性胃炎に見える粘膜での IgG4 陽性細胞の浸潤について、非 IgG4 関連硬化性疾患群であるヘリコバクター・ピロリ感染に伴う慢性活動性胃炎患者との比較検討を IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 (The Binding Site, Birmingham, UK; dilution, 1:50) サブクラスを免疫染色を行い比較検討する。他の臓器と違い AIP 関連疾患患者の胃には元来ヘリコバクター・ピロリ感染を伴っている場合があるのでヘリコバクター・ピロリ感染の有無や複数個所からの採取検体を検索し、組織像の違いについても詳細に検討を加える。

(2) ヒト由来正常腭上皮培養細胞 (CS-ABI-515 DS ファーマ) と正常腭間質細胞 (CS-ABI-513 DS ファーマ) をヒト血清で培養し、IgG サブクラス (IgG1 Kappa shigematsu (BD-A50183H)、IgG2 Kappa shigematsu (BD-A50184H)、IgG3 lambda shigematsu (BD-A50186H)、IgG4 lambda shigematsu (BD-A50947H)) の入ったヒト血清で刺激し放出されるサイトカインの値などを計測する。また自己免疫性腭炎患者と非自己免疫性腭炎患者から採取された腭上皮細胞および腭間質細胞にも同様の IgG サブクラスによる刺激を行い両者の違いを観察する。

### 4. 研究成果

(1) 胃生検材料に IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 (The Binding Site, Birmingham, UK; dilution, 1:50) までのサブクラスを免疫染色し検討した結果ヘリコバクター・ピロリ感染による胃炎では IgG4 陽性形質細胞がほとんど認められないのに対して、IgG4 関連硬化性疾患群で

は多数の IgG4 陽性形質細胞が認められ、単位面積あたりの IgG4 陽性形質細胞の量が有意に高値であった。また炎症所見は他の IgG4 関連硬化性疾患と同様にリンパ球形質細胞浸潤、線維化、好酸球浸潤が認められることが証明された。またその炎症所見の存在する部位も通常のヘリコバクター・ピロリ感染による胃炎では表層付近に炎症が目立つのに対して、IgG4 関連硬化性疾患によるものと思われる胃炎では胃粘膜全層ないし深部に炎症細胞浸潤が目立つ場合が多く、胃全域に炎症を有する場合や、壁の肥厚を伴うなど、ヘリコバクター・ピロリ感染による慢性活動性胃炎とは異なる一定の特徴があることが証明された。またステロイド治療が IgG4 関連硬化性疾患に有用であることは他の臓器でも証明されているが、本検討でもステロイド治療が有効である可能性が示唆された。AIP を含む IgG4 関連硬化性疾患を疑う患者に対して比較的容易に観察、生検できる胃生検を用いて診断ができれば患者にとっては非常に有用である。今回の検討は胃生検を詳細に観察することによって IgG4 関連硬化性疾患の診断ができる可能性を示唆した点に意義があると考えられる。

(2) ヒト由来正常腭上皮培養細胞 (CS-ABI-515 DS ファーマ) と正常腭間質細胞 (CS-ABI-513 DS ファーマ) を培養し IgG サブクラス (IgG1 Kappa shigematsu (BD-A50183H)、IgG2 Kappa shigematsu (BD-A50184H)、IgG3 lambda shigematsu (BD-A50186H)、IgG4 lambda shigematsu (BD-A50947H)) の入ったヒト血清でそれぞれ刺激し反応を観察したが、培養細胞の条件設定が難しく反応を確認できなかった。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Yamamoto H, Suzuki T, Yasuo M, Kobayashi O, Tsushima K, Ito M, Urushihata K, Yamazaki Y, Hanaoka M, Koizumi T, Uehara T (他 4 名、11 番目), IgG4-related pleural disease diagnosed by a re-evaluation of chronic bilateral pleuritis in a

- patient who experienced occasional acute left bacterial pleuritis. Intern Med, 50, 893-7, 2011, 査読有
- ② Moteki H, Yasuo M, Hamano H, Uehara T (他1名、4番目), IgG4-related chronic rhinosinusitis: a new clinical entity of nasal disease. Acta Otolaryngol, 131, 518-26, 2010, 査読有
- ③ Uehara T (他12名、1番目), Chronic gastritis in the setting of autoimmune pancreatitis. Am J Surg Pathol, 34, 1241-9, 2010, 査読有
- ④ 川茂幸, 浜野英明, 上原剛, 病因と病態 (特集 膵炎—診断と治療の進歩) — (自己免疫性膵炎). 日本内科学会雑誌, 99, 76-81, 2010, 査読有
- ⑤ Tsushima K, Tanabe T, Yamamoto H, Koizumi T, Kawa S, Hamano H, Honda T, Uehara T (他2名、8番目), Pulmonary involvement of autoimmune pancreatitis. Eur J Clin Invest, 39, 714-22, 2009, 査読有
- ⑥ Ito M, Yasuo M, Yamamoto H, Tsushima K, Tanabe T, Yokoyama T, Hamano H, Kawa S, Uehara T (他3名、9番目), Central airway stenosis in a patient with autoimmune pancreatitis. Eur Respir J, 33, 680-3, 2009, 査読有
- ⑦ 藤永康成, 杉山由紀子, 角谷眞澄, 上田和彦, 黒住昌弘, 山崎幸恵, 浜野英明, 川茂幸, 上原剛 (他1名、8番目), 【自己免疫性膵炎の最前線】 自己免疫性膵炎の診断 膵癌との鑑別を中心に CT・MRI・PET. 肝胆膵画像, 11, 631-638, 2009, 査読有

[学会発表] (計5件)

- ① 茂木英明、工穰、宇佐美真一、安尾将法、濱野英明、上原剛 (他1名、6番目)、IgG4関連疾患における鼻副鼻腔病変の検討. 第5回IgG4研究会、2011.3.12、札幌
- ② 大學愛子、宮崎大吾、福島和広、下島恭弘、小林宣隆、上原剛 (他2名、6番目)、肥厚性硬膜炎の経過中に胸椎前面を中心とする背側胸膜の炎症性肥厚を認め multifocal fibrosclerosis と診断された1例. 第127回日本内科学会信越地方会、2010.11.13、松本
- ③ 上原剛、IgG4関連硬化性疾患の診断. 第

57回日本臨床検査医学会学術集会、2010.9.10、東京

- ④ 上原弥生、小林幸弘、堀川美栄子、上原剛 (4番目)、細胞診検体を用いた自己免疫性膵炎 (AIP) の検討. 第48回日本臨床細胞学会秋期大会、2009.10.30、福岡
- ⑤ 上原剛、IgG4関連硬化性疾患—消化器病変を中心に—. 第21回日本消化器病学会甲信越支部会、2009.6.13、松本

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上原 剛 (UEHARA TAKESHI)

信州大学・医学部・講師

研究者番号：80402121