102　IgG4関連疾患の自己抗原同定による病態解明と臨床応用	児玉　裕三

【目的】IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値を特徴とし、全身臓器の腫大と線維化を同時性・異時性にきたす新しい疾患概念である。2001 年に我が国において自己免疫性膵炎の血清 IgG4 高値が発見されたことを契機に、各臓器病変が一連の全身性疾患であることが明らかとなってきた。一方、高 IgG／IgG4 値やステロイドへの反応性より、IgG4 関連疾患には自己免疫の関与が疑われてきたが、その原因は不明であり、2014 年に我が国の指定難病に指定された。我々はこれまでに、自己免疫性膵炎の患者血清より IgG を抽出しマウスへ投与するという極めて独創的な手法を用い、IgG4 関連疾患の膵病変である自己免疫性膵炎に自己抗体が存在することを証明した。また、膵臓組織の構成タンパク質のスクリーニングの結果、自己免疫性膵炎患者が持つ自己抗体の標的自己抗原がラミニン 511 であることを同定し報告した。本研究では、我々による自己免疫性膵炎の病原性自己抗原・自己抗体の発見を基に、IgG4 関連疾患のさらなる自己抗原・自己抗体の同定、および同疾患の病態を解明することを目指し以下の検討を行なった。

【方法】1. 自己免疫性膵炎の新規自己抗原・自己抗体の同定：我々は、自己免疫性膵炎の自己抗体が、膵臓上皮細胞を裏打ちする基底膜の構成タンパク質を標的としている可能性を考えてきた。本研究ではラミニン 511 以外の自己抗原について引き続きスクリーニングを行った。2. IgG4 関連疾患の病態解明：我々が発見した自己抗体による IgG4 関連疾患の診断能を評価すると共に、その臨床像との関連についての検討を行い、病態解明と臨床応用への可能性について検討した。

【結果】1. 自己免疫性膵炎の新規自己抗原・自己抗体の同定：IgG4 関連疾患の膵病変である自己免疫性膵炎の患者血清を用い、ラミニン 511 のサブファミリータンパク質、あるいは機能的に関連するタンパク質について ELISA 法を用いて検討を行った。その結果、新規自己抗原候補 X、および抗 X 自己抗体を同定した。2. IgG4 関連疾患の病態解明：まず、自己免疫性膵炎における抗ラミニン 511 抗体、および抗 X 自己抗体の診断能について評価を行った。その結果、診断基準を満たす自己免疫性膵炎患者 60 例のうち、抗ラミニン自己抗体陽性例を 32 例、抗 X 自己抗体陽性例を 5 例に認めた。一方、コントロール 112 例にはこれらの自己抗体陽性例は認められなかった。興味深いことに、抗ラミニン自己抗体陽性例には悪性腫瘍の合併を 1 例も認めなかったが、抗 X 自己抗体陽性の 5 例のうち 3 例に悪性腫瘍の合併を認めた。

自己免疫性膵炎における新規自己抗体の有無と悪性腫瘍合併との関連

抗ラミニン511 自己抗体	＋	－	－
抗X 自己抗体	－	－	＋
症例数	32	23	5
悪性腫瘍の合併	0（0%）	6（29%）	3 (60%)

102. IgG4 関連疾患の自己抗原同定による病態解明と臨床応用

児玉　裕三

神戸大学 大学院医学研究科 内科学講座 消化器内科学分野

Key words：IgG4 関連疾患，自己免疫性膵炎，自己抗原，自己抗体，悪性腫瘍

緒　言

IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値を特徴とし、全身の様々な臓器への IgG4 陽性リンパ球・形質細胞浸潤による腫大と線維化を同時性・異時性にきたす、我が国において確立された新しい疾患概念である。これらの各臓器の病変は、以前はそれぞれの領域で観察されていたが、2001 年の我が国における、自己免疫性膵炎の血清 IgG4 高値の発見を契機に、一連の全身性疾患であることが明らかとなってきた。その後、2011 年に IgG4 関連疾患包括診断基準が、2015 年には診断・治療に関する国際コンセンサスが策定され、全世界に広く受け入れられるようになり、罹患患者数は世界的に増加している。一方、高 IgG／IgG4 値やステロイドへの反応性より自己免疫の関与が疑われてきたが、その原因は不明であり、また特異的な診断法・治療法もなく、2014 年に我が国の指定難病に指定された。これまでに我々は、IgG4 関連疾患の膵病変である自己免疫性膵炎の症例において、様々な悪性腫瘍の合併率が高いことを示してきた。また、これらの悪性腫瘍の多くが自己免疫性膵炎の診断から 1 年以内に診断されていること、悪性腫瘍にも IgG4 陽性細胞浸潤が認められること、さらには悪性腫瘍の治療が奏功した例では自己免疫性膵炎の再発がみられなかったことより、自己免疫性膵炎の一部が傍腫瘍症候群として生じる可能性について提唱してきた［1］。一方我々は、自己免疫性膵炎の患者血清より IgG を抽出しマウスへ投与すると、患者 IgG がマウス膵臓へ沈着し、自己免疫性膵炎様の膵障害を再現するという極めて独創的な手法を用い、IgG4 関連疾患の膵病変である自己免疫性膵炎に自己抗体が存在することを証明した［2］。同研究では、自己抗体が膵臓組織の細胞外マトリックスを標的としていることをつきとめている。そしてさらに、膵臓組織の細胞外マトリックスタンパク質のスクリーニングの結果、我々は、自己免疫性膵炎患者が持つ自己抗体の標的自己抗原がラミニン 511 であることを同定し報告した［3］。このように、新しい疾患概念であり未だ不明な点の多い IgG4 関連疾患ではあるが、少しずつその臨床的な特徴、および自己抗原・自己抗体を中心とした病態が明らかとなってきている。本研究は、我々による自己免疫性膵炎の病原性自己抗原・自己抗体の発見を基に、IgG4 関連疾患のさらなる自己抗原・自己抗体の同定、および同疾患の病態を解明することを目的として行われた。

方　法

1.　自己免疫性膵炎の新規自己抗原・自己抗体の同定

我々は、自己免疫性膵炎の自己抗体が、膵臓上皮細胞を裏打ちする基底膜構成タンパク質のうち、ラミニン 511 と機能的に相互作用を有する複数のタンパク質を標的としている可能性を考えてきた。本研究ではラミニン 511 以外の自己抗原について ELISA 法を用いてスクリーニングを行った。

2.　IgG4 関連疾患の病態解明

我々がこれまでに集積した自己免疫性膵炎の診断基準を満たす 60 症例、および膵がん・良性膵疾患・各種の悪性疾患・各種の自己免疫性疾患・健常人を含むコントロール 112 例を用い、我々が発見した自己抗体による自己免疫性膵炎の診断能を評価した。さらにこれらの自己抗体の有無と、自己免疫性膵炎の臨床像、特に悪性腫瘍との関連についての臨床病理学的な検討を行い、病態解明と臨床応用への可能性について検討した。

結　果

1. 自己免疫性膵炎の新規自己抗原・自己抗体の同定

自己免疫性膵炎は、IgG4 関連疾患の膵病変と考えられている。血清 IgG4 高値に加え、画像的には膵臓のびまん性あるいは限局性の腫大、および主膵管の不整狭細像を臨床的な特徴とすることが知られている。一方、その病理所見は高度のリンパ球、形質細胞の浸潤と線維化、IgG4 陽性細胞形質細胞浸潤、花筵状線維化、および閉塞性静脈炎が特徴である。本疾患は、慢性膵炎の一種であるが、通常の膵炎のように激しい腹痛や、著しい血清膵酵素（アミラーゼ、リパーゼなど）の上昇を伴わない。この特徴の原因として我々は、本疾患の自己免疫の標的、あるいは炎症の主座が、膵上皮細胞ではなく膵臓の間質であることに起因するものと考えている。IgG4 関連疾患の胆管病変である IgG4 関連硬化性胆管炎においても、原発性硬化性胆管炎が胆管上皮の障害を特徴とすることに対し、IgG4 関連硬化性胆管炎では上皮を裏打ちする間質の障害であることが報告されており、上記の仮説を支持するものである。このように、IgG4 関連疾患の病態の主座は間質にある可能性が高い。事実、我々が自己免疫性膵炎の患者より抽出した IgG をマウス　へ投与すると、患者 IgG はマウス膵臓の細胞外マトリックスタンパク質に結合し膵障害をきたすことが確認された。また、我々が自己免疫性膵炎の患者血清を用い、ELISA 法により膵臓のマトリックスタンパク質のスクリーニングを行った結果、自己抗原として基底膜の構成タンパク質であるラミニン 511 が同定された。我々は、このラミニン 511 をマウスへ免疫することにより、マウスに抗ラミニン 511 自己抗体が産生され、さらに自己免疫性膵炎に極めてよく似た膵病変を誘導することから、ラミニン 511 はいわゆる病因となる自己抗原と考えている。一方、同様にラミニンサブファミリーの一つであるラミニン 332 を自己抗原とする類天疱瘡では、ラミニン 332 を含む様々なタンパク質が複合体を形成し、表皮と真皮の結合において機能していることが知られている。興味深いことに類天疱瘡患者は、ラミニン 332 のみならず、これと相互作用するタンパク質に対する自己抗体を持つことが報告されており、表皮-真皮結合を障害する自己免疫疾患と捉えられている。

これらの観察から、自己免疫性膵炎においても、ラミニン 511 と機能的な相互作用を有する複数のタンパク質を標的としている可能性を考えられた。本研究では、膵臓においてラミニン 511 と関連するタンパク質を中心に、ELISA 法を用いてスクリーニングを行ったところ、新規自己抗原候補 X、および抗 X 自己抗体を同定した。

2. IgG4 関連疾患の病態解明

1）自己免疫性膵炎における新規自己抗体の診断能

我々がこれまでに集積した自己免疫性膵炎の診断基準を満たす 60 症例、および膵がん・良性膵疾患・各種の悪性疾患・各種の自己免疫性疾患・健常人を含むコントロール 112 例の血清において、我々が発見した抗ラミニン 511 自己抗体、および抗 X 自己抗体を ELISA 法により測定した。カットオフはコントロール症例の値の平均値＋3SD に設定した。

その結果、自己免疫性膵炎 60 例のうち 32 例に抗ラミニン 511 自己抗体を認めたのに対し、コントロール 112 例の中には抗ラミニン 511 自己抗体を示す症例が 2 例存在したのみであった。これらの結果、抗ラミニン 511 自己抗体による自己免疫性膵炎の診断感度は 53%、特異度は 98%であった。一方、抗 X 自己抗体については、抗ラミニン 511 自己抗体陽性の自己免疫性膵炎 32 例には、抗 X 自己抗体を有する症例は認められず、抗ラミニン 511 自己抗体陰性の自己免疫性膵炎 28 例のうち 5 例に抗 X 自己抗体を認めた。コントロール 112 例の中には抗 X 自己抗体を示す症例は認められなかった。

このように自己免疫性膵炎においては、抗ラミニン 511 自己抗体陽性例と抗 X 自己抗体陽性例が相互排他的に存在することが明らかとなった。また、これらの両者の自己抗体を合わせると、自己免疫性膵炎の診断能は感度 57%、特異度 98%であった。

2）新規自己抗体の有無と悪性腫瘍合併との関連

次に、これらの抗ラミニン 511 自己抗体および抗 X 自己抗体自己抗体の有無と、自己免疫性膵炎の臨床像、特に悪性腫瘍の合併との関連についての臨床病理学的な検討を行った。その結果、抗ラミニン 511 自己抗体陽性例は陰性例と比較して、膵頭部病変が少なく膵体尾部病変が多いこと、アレルギー疾患の合併が少ないことなどが明らかとなった。さらに悪性腫瘍に関しては、抗ラミニン 511 自己抗体陽性の 32 例には悪性腫瘍の合併を認めらなかった（0／32 例、0%）。これに対し、抗ラミニン 511 自己抗体陰性および抗 X 自己抗体自己抗体陰性の 23 例には悪性腫瘍の合併を 6 例（6／23 例、23%）に認めた。さらに興味深いことに、抗 X 自己抗体自己抗体陽性の 5 例には悪性腫瘍の合併を 3 例（3／5 例、60%）に認めた（表 1）。

表 1. 自己免疫性膵炎における新規自己抗体の有無と悪性腫瘍合併との関連

抗ラミニン511 自己抗体	＋	-	-
抗X 自己抗体	-	-	＋
症例数	32	23	5
悪性腫瘍の合併	0（0%）	6（29%）	3（60%）

自己免疫性膵炎症例 60 例における、抗ラミニン 511 抗体陽性例、および抗 X 自己抗体陰性例の症例数、およびこれらの症例の悪性腫瘍の合併数（合併率）を示している。

上記の結果は、我々が提唱してきた、自己免疫性膵炎の一部が傍腫瘍症候群として生じるという仮説をするものと考えられた。すなわち、悪性腫瘍によって産生された何らかの抗原に対して自己抗体の産生が誘導され、この自己抗体が膵組織に発現する自己抗原に対して交差反応することにより、自己免疫性膵炎が発症するという可能性を考えた。そこで、抗 X 自己抗体陽性の自己免疫性膵炎 5 例のうち、悪性腫瘍を合併した 3 例において、合併した悪性腫瘍の組織における抗原 X の発現の有無について検討を行った。その結果、合併した 3 例の悪性腫瘍全例の間質において抗原 X の発現が確認された（図 1）。

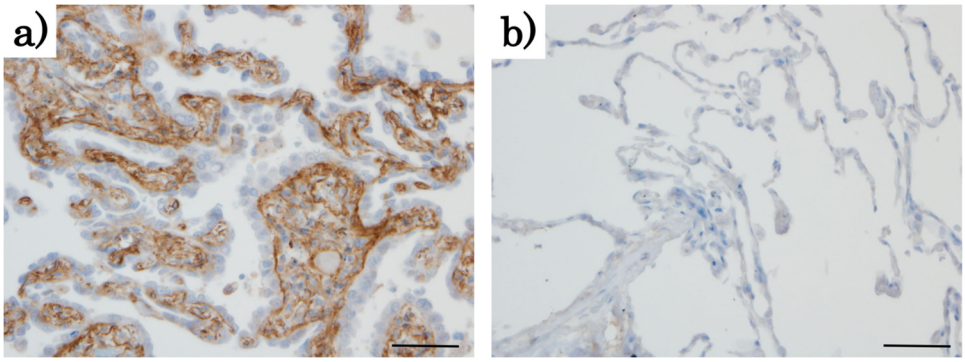


図 1. 抗 X 自己抗体陽性の自己免疫性膵炎に合併した悪性腫瘍における抗原 X の発現

a） 抗 X 自己抗体陽性の自己免疫性膵炎に肺がんが合併した症例の肺がん組織。抗原 X に対する疫組織化学染色により、肺がん組織における抗原 X の発現が確認された。

b） コントロールとして、正常肺組織を用いた抗原 X に対する免疫組織化学染色を行った。正常肺組織には抗原 X の発現は乏しかった。

（スケールバー：50μm）

考　察

IgG4 関連疾患は、我が国で確立された疾患概念であるが、その病因は不明であり我が国の指定難病に指定されている。その臨床上の大きな問題点の一つに、特異的な診断法の欠如があげられる。そのため、今回の検討により、我々が以前に報告した抗ラミニン 511 自己抗体に加え、新たな抗 X 自己抗体を発見し得た意義は極めて大きい。我々は、ラミニン 511 のファミリータンパク質、あるいはラミニン 511 と機能的に相互作用を持つ複数のタンパク質が IgG4 関連疾患の自己抗原となっており、その自己抗原の違いが IgG4 関連疾患における罹患臓器の違い、あるいは異時性多発を規定している可能性を考えている。本研究からは、抗 X 自己抗体を有する自己免疫性膵炎の症例数は、それ程多くはないことが想定されるが、本研究の手法を継続することにより、新たな自己抗原・自己抗体を発見し得ることが期待される。

また、本研究の結果は、以前より我々が提唱していた、一部の自己免疫性膵炎が傍腫瘍症候群として発症する可能性を支持するものとして興味深い。すなわち、何らかの悪性腫瘍が形成される際に抗原 X が新たに産生され、これにより抗X自己抗体の産生が誘導され、この抗X自己抗体が膵組織に発現する自己抗原Xに対して交差反応することにより、自己免疫性膵炎が発症するという病態が示唆される。もし、この仮説が正しければ、自己免疫性膵炎の自己抗体の種類により、悪性腫瘍の合併リスクを類推することが可能となり、臨床的に極めて有用となる可能性がある。今後、多数例の症例による検証が待たれる。

このように本研究では、IgG4 関連疾患の膵病変である自己免疫性膵炎を中心に、新たな自己抗原・自己抗体の発見、および傍腫瘍症候群としての発症機序の一端を明らかにすることが出来たと考えている。今後はさらに、自己免疫性膵炎のみならず、IgG4 関連疾患の自己抗原・自己抗体をベースとした病態の全体像を明らかにしたいと考えている。このような病態に基づいた自己抗体の測定法を確立や、病原性自己抗原・自己抗体の制御は、診断基準の改定や新規治療開発を含む、新たな診療体系の確立へとつながるものと期待される。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座の塩川雅広助教である。

文　献

1) Shiokawa M, Kodama Y, Yoshimura K, Kawanami C, Mimura J, Yamashita Y, Asada M, Kikuyama M, Okabe Y, Inokuma T, Ohana M, Kokuryu H, Takeda K, Tsuji Y, Minami R, Sakuma Y, Kuriyama K, Ota Y, Tanabe W, Maruno T, Kurita A, Sawai Y, Uza N, Watanabe T, Haga H, Chiba T. Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. Am J Gastroenterol. 2013 Apr;108(4):610-7. doi: 10.1038/ajg.2012.465. Epub 2013 Jan 15.

2) Shiokawa M, Kodama Y, Kuriyama K, Yoshimura K, Tomono T, Morita T, Kakiuchi N, Matsumori T, Mima A, Nishikawa Y, Ueda T, Tsuda M, Yamauchi Y, Minami R, Sakuma Y, Ota Y, Maruno T, Kurita A, Sawai Y, Tsuji Y, Uza N, Matsumura K, Watanabe T, Notohara K, Tsuruyama T, Seno H, Chiba T. Pathogenicity of IgG in patients with IgG4-related disease. Gut. 2016 Aug;65(8):1322-32. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310336. Epub 2016 Mar 10.

3) Shiokawa M, Kodama Y, Sekiguchi K, Kuwada T, Tomono T, Kuriyama K, Yamazaki H, Morita T, Marui S, Sogabe Y, Kakiuchi N, Matsumori T, Mima A, Nishikawa Y, Ueda T, Tsuda M, Yamauchi Y, Sakuma Y, Maruno T, Uza N, Tsuruyama T, Mimori T, Seno H, Chiba T. Laminin 511 is a target antigen in autoimmune pancreatitis. Sci Transl Med. 2018 Aug 8;10(453). pii: eaaq0997. doi: 10.1126/scitranslmed.aaq0997.