

事例解説

事例1（平成27年10月26日・月曜日に提示）

Aさんは近畿大学医学部を卒業した医師で、初期臨床研修の1年目です。今日は内科の外来で、65歳の男性患者さんを診察しました。主訴は、両側の耳下腺と顎下腺の腫脹、及び口腔と眼球の乾燥感です。腫れた唾液腺に痛みは無いとのことですが、唾液が出にくい
ため食事が進まず、この半年あまりの間に体重が10kg近く減少したとのこと。既往歴では、約1年前の肺炎以外には特別のことはありません。

触診で両側耳下腺と顎下腺の腫瘤性腫大を確認したAさんは、患者さんの上眼瞼外側が膨らんでいるのに気づき、頭部のCTをオーダーしました。また、血液検査に抗SS-A抗体と抗SS-B抗体を加えました。

□ キーワード例

初期臨床研修	内科外来
65歳	男性
唾液腺の腫脹	疼痛の欠如
口腔乾燥感	眼球乾燥感
唾液分泌の低下	体重減少
既往歴	肺炎
触診	腫瘤性腫大
上眼瞼	頭部CT検査
血液検査	SS-A、SS-B

□ こんなことを考えてみよう

耳下腺や顎下腺が腫脹する疾患にはどのようなものがあるだろうか？

唾液が出にくくなる病気にはどのようなものがあるだろうか？

眼球の乾燥感の原因は何だろうか？

唾液が出ないと体重が減少するのだろうか？

腫脹した唾液腺に圧痛はあったのだろうか？

Aさんは、頭部CTで何を見たいと考えたのだろうか？

抗SS-A抗体、抗SS-B抗体とはどのようなものだろうか？

Aさんは、どのような疾患を疑って抗SS-A抗体、抗SS-B抗体の検査を加えたのだろうか？

□ 解説

今年のテュートリアルでは、最近医師国家試験にも出題されるようになった**IgG4関連疾患**を採り上げます。IgG4関連疾患の詳細については、次回以降にも順次記述して行きますが、血清IgG4高値と、全身諸組織へのIgG4陽性形質細胞浸潤、及び線維化を特徴とする多臓器の炎症性疾患であり、かつては腫瘍と誤診されて外科的治療の対象となった症例もありました。この疾患は我が国でその存在が気付かれ、その疾患概念や診断基準が「我が国発」で世界的に受け容れられた、新しい病気です¹⁻³⁾。正しく診断されればステロイドによる治療

が奏効する症例が多いことから、その疾患概念や診断基準を理解することが臨床的に重要であるばかりでなく、基礎免疫学の観点からも、IgGサブクラス概念、免疫グロブリン分子の構造、特にヒンジ部のアミノ酸配列と機能の関係、抗体の抗原結合部位の構成、クラススイッチの分子機構、サイトカインによるクラススイッチの制御機構、サイトカインと炎症の関係などを学ぶ、またとない機会を提供してくれます。

さて、初期臨床研修医のAさんが出逢った今回の症例は、高齢の男性でした。一般にIgG4関連疾患は高齢者に多く(我が国での平均年齢は62歳)¹⁾、また男女比は殆ど同じとされています。病変部にリンパ球とIgG4陽性の形質細胞がびまん性または結節性に浸潤し、線維化を伴うことにより、冒された器官の腫大や結節形成により、導管や静脈の圧迫や通過障害を生じ、同時に線維化による機能不全も起こります。リンパ球と形質細胞の浸潤及び線維化は、同時に、或いは時を異にして全身のあらゆる器官・組織を冒しうるので、冒された器官・組織によって多彩な症状・所見を生じることになります。両側性(または、片側がより大きい)の耳下腺、顎下腺、および/または涙腺の無痛性腫脹が表に出ている場合は、ミクリッツ病(Mikulicz' disease)、或いは慢性硬化性唾液腺炎(Küttner腫瘍)として捉えられ、自己免疫性膵炎、自己免疫性下垂体炎、橋本甲状腺炎またはRiedel甲状腺炎(甲状腺外を含む線維化が著明)、硬化性胆管炎、尿細管間質性腎炎、リンパ形質細胞動脈炎、前立腺炎、後腹膜線維化症などとして現れる場合もあります。また、44%にアレルギー症状を伴うとされ⁴⁾、アレルギー性鼻炎や気管支喘息が認められます。キャスルマンリンパ腫(IL-6の過剰発現による)とされていた症例の中にも、実際にはIgG4関連疾患が含まれていた可能性があります。

我が国で採用されたIgG4関連疾患の包括的診断基準²⁾では、上記の臨床所見と、血清学的検査によるIgG4の高値(135mg/dl以上)に加えて、病理組織所見が重要視され、冒された器官・組織における著明なリンパ球・形質細胞の浸潤と線維化、IgG4/IgG陽性細胞比40%以上で、かつ高倍率視野で平均10個を超えるIgG4陽性細胞の増加が、基準項目に挙げられています。

鑑別診断としては、各器官の悪性腫瘍やリンパ腫、Sjögren症候群やサルコイドーシス、好酸球性肉芽腫、多発性血管炎などが重要で、診断を誤ると正しい治療に繋がらないことになります。

事例1では、AさんはSjögren症候群を疑って検査を進めています。

Sjögren症候群については、第6週に非常勤講師の泉山朋政先生(東仙台リウマチ内科クリニック院長)をお迎えして、実症例の画像を交えた解説を行って頂きました。ここでは、Sjögren症候群の詳細な病態を理解することは求めませんが、事例に出て来たSS-A抗体、SS-B抗体などの用語から、「抗体」について考えて貰い、免疫反応と疾患との関わりから、「自己抗体」についてもある程度調べて、疑問を持って貰うのが狙いです。

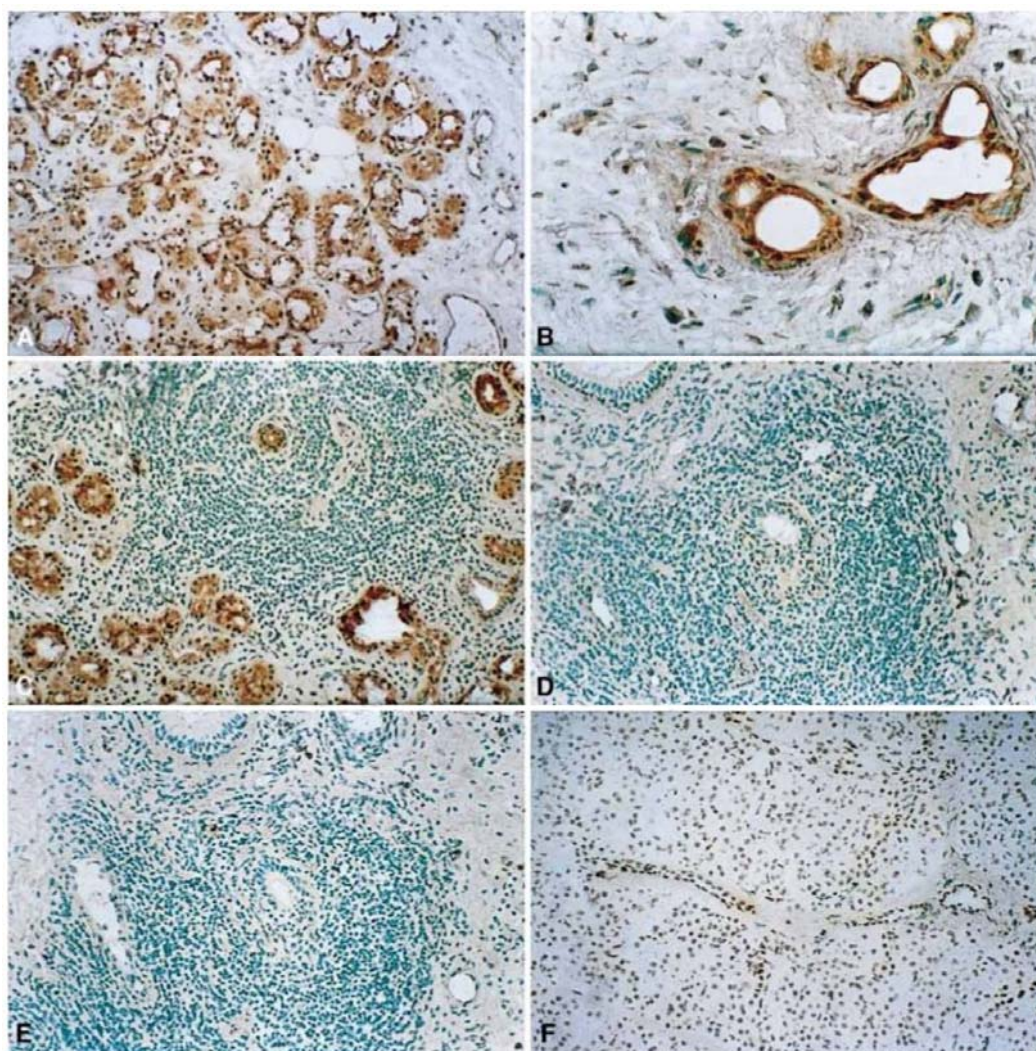
Sjögren症候群は、原因不明で進行性の、自己免疫性外分泌腺炎です。涙腺と唾液腺の分泌低下により乾燥症候群を呈し、しばしば肺や腎臓も冒されます。他の膠原病と合併するか否かによって、原発性と続発性のSjögren症候群に分ける場合もあります。Sjögren症候群の頻度は高く、膠原病・リウマチ性疾患の中では関節リウマチ(RA)に次いで多く見られ、中年女性に好発します⁵⁾。男女比は1:14とされ、男女比が殆ど同じとされるIgG4関連疾患との違いがあります。涙腺や唾液腺には導管周囲のリンパ球浸潤が見られ、これは初期にはTリンパ球主体ですが、後にBリンパ球が増加して、濾胞状となることもあります。局所で増殖するBリンパ球は25%の症例において単クローン性で、患者の一部にはリンパ腫(欧米では約5%)やMタンパク血症を合併する例もあります。涙腺と唾液腺以外には通常目立った変化を

示しませんが、消化管の粘膜萎縮、慢性膵炎などを伴うこともあり、軽度の間質性肺炎が約3割の症例に認められると言います。一方、多発性の関節痛は頻繁に認められますが、関節破壊の程度は軽く、RAとの合併例を除くと、関節変形に進展する例は少ないようです。

原発性Sjögren症候群の20～30%では、抗SS-B/La抗体が陽性で、比較的疾患特異性が高いとされます。SS-B/La抗原は48kDの細胞核内リン酸化タンパク質で、RNAと結合しており、RNAポリメラーゼIIIの転写終了因子として、転写終了後のRNAからRNAポリメラーゼIIIを解離させる機能があると言われています。

一方、抗SS-A/Ro抗体はSjögren症候群の50～70%で検出されますが、他の膠原病でも陽性となることがあり、疾患特異性は低いとされます。本抗体陽性の母親から産まれた新生児には、一過性の紅斑や房室ブロックなどが生じることがあり(新生児ループス)、発症に関わる自己抗体の1つと考えられます。SS-A/Ro抗原は核と細胞質に存在し、矢張りRNAと結合していますが、その機能は不明です。

IgG4関連疾患ではSS-B/Laに対する自己抗体も、SS-A/Roに対する自己抗体も、殆ど検出されません(泉山先生コメント: 或いは、「SS-B/La、SS-A/Ro抗体が陰性の場合に、IgG4関連疾患による唾液腺炎を考える」と言うべきかも知れません)。



Sjögren症候群の唾液腺炎。C, D, EがSjögren症候群の唾液腺で、導管周囲にリンパ球浸潤があり、腺房が破壊されて減少している。ここでは、患者血清中に正常の唾液腺(A, B)及び患者唾液腺(C)と反応する自己抗体が存在すること、そのような抗体は別疾患患者(D)や健常者(E)の血清中には存在しないことを観察している。Sakamoto, M., M. Miyazawa, S. Mori, and R. Fujisawa. *J. Oral Pathol. Med.* 28:20-25, 1999.

事例2（10月28日・水曜日に提示）

患者さんの頭部CT画像では、両側の耳下腺と顎下腺、それに涙腺にびまん性の腫大が認められました。また、抗SS-A抗体、抗SS-B抗体は何れも陰性でしたが、血清中のIgG4が348mg/dlと上昇しており、白血球数が13,000/mm³に増加していて、その53%が好酸球でした。

血清IgG4濃度の上昇という検査結果を見て、Aさんは学生の頃に聞いた宮澤先生の免疫学の講義のことを思い出しました。ヒトの免疫グロブリンには、同一個体の体内に同時に検出されるアイソタイプという種類の違いがあり、確かIgGにはIgG1からIgG4のサブクラスがあったはずですが、Aさんは、IgG4はIgGのサブクラスの中で一番濃度が低かったはずだと思いました。

□ キーワード例

頭部CT画像	耳下腺、顎下腺、涙腺
びまん性腫大	抗SS-A抗体
抗SS-B抗体	血清IgG4
白血球数	白血球増多症
好酸球	免疫グロブリン
アイソタイプ	IgG
サブクラス	サブクラスの濃度

□ こんなことを考えてみよう

頭部CT画像の所見から何がわかるだろうか？
唾液腺や涙腺が腫れているのは何故だろうか？
唾液腺や涙腺で、何かの細胞が増殖しているのだろうか？
抗SS-A抗体、抗SS-B抗体陰性の結果は、何を示唆するのだろうか？
末梢血白血球数の正常値は？
通常、末梢血白血球中の好酸球の割合はどれくらい？
好酸球の機能は何？
好酸球が増えるのはどういう時？
好酸球が増えるしくみは？
抗体と免疫グロブリンの関係は？
IgGとは何？
免疫グロブリンのアイソタイプとは？
サブクラスとは何か？

□ 解説

先ず月曜日の事例の纏めをしましょう。皆さんは、AさんがSjögren症候群を念頭に検査を進めていたことに気付いたでしょうか？また、抗SS-B/La抗体や抗SS-A/Ro抗体の「疾患特異性」や、その「病原性」のことを調べたでしょうか？**IgGクラスの自己抗体が経胎盤性に移行し、新生児ループスを起こすこと**については、毎年の講義で解説し、試験にも出しています。十分にディスカッションして下さい。また、Sjögren症候群は中年の女性に多いことから、高齢男性である今回の症例は、もしSjögren症候群であるすると少し非定型的な事例になり

ます。そのことにも気付いたでしょうか？

さて、今回の検査データでは、抗SS-A抗体、抗SS-B抗体は陰性ということになり、その代わりにIgG4高値が明らかとなりました。ここから、免疫グロブリンの構造と機能に関する自己学習を進めて貰います。

既に、月曜日の午後から火曜日の講義で、抗体の生理機能、抗体の分子実体は免疫グロブリンであること、免疫グロブリン分子のドメイン構造と機能の関係、免疫グロブリンのアイソタイプ(クラス・サブクラス)と機能差などを十分に説明しています。今回の事例を基礎に、白板に免疫グロブリン分子の基本構造を描き、重鎖と軽鎖、抗原結合部位、アイソタイプの種類とそれがどの部分のアミノ酸配列の違いを反映するのかなどを、お互いに説明してみましょう。また、ヒトの血清中における免疫グロブリン各アイソタイプの濃度がどのようであったかも復習して下さい。

皆さんは、基本的な知識として、健常人血清中の免疫グロブリンアイソタイプは、IgG > IgA > IgM > IgD >> IgE の順に濃度が高いこと、IgGとIgAのサブクラスは、その番号の順に濃度が高いことを憶えているはずです。健常人血漿中の各免疫グロブリンサブクラスの平均濃度は、IgG1からIgG4に向けてほぼ1/3ずつになると憶えれば良く、IgG1 9mg/ml (900 mg/dl)、IgG2 3mg/ml (300mg/dl)、IgG3 1mg/ml (100mg/dl)、IgG4 0.5mg/ml (50mg/dl)です。従って、IgG4が348mg/dlというこの症例の値は、健常人平均値の6倍を超える高値となります。IgG4関連疾患包括的診断基準(2011)では、高IgG4血症の基準を135mg/dl以上と定めていますので、本事例はこの項目に合致します。

一方、白血球の機能と炎症との関連については、生理学のコースでも学んでいる筈ですし、このコースの先週の講義でも詳しく触れています。末梢血における白血球増多症は(感染を含む)炎症状態の反映ですが、好酸球が50%以上に増えるのはかなり特殊な炎症の場合です。一般には、好酸球数が1,500/mm³以上を好酸球増多症とし、5,000/mm³以上は高度の好酸球増多症と考えます。好酸球数が2,000/mm³以上になると、組織傷害病変が出現すると言われます。

前述の通り、IgG4関連疾患では気管支喘息やアレルギー性鼻炎などの **I 型アレルギー症状**を伴うことが多いのですが、I 型アレルギー反応の病変部には好酸球が集積します。また、I 型アレルギー患者の末梢血で好酸球の増加が見られることもよくあります。好酸球増多症の原因で一番多いのは薬物アレルギーで、次いで気管支喘息や寄生虫感染症があり、アレルギー性鼻炎の場合は、鼻汁中に好酸球が見られるが、血中の好酸球は増加しないことが多いと言われます⁶⁾。

来週になると事例でも講義でも触れて行きますが、IgG4関連疾患の病態形成機構として、Th2サイトカインの過剰発現があると考えられています。Th2サイトカインのうち、IL-5は骨髄での好酸球分化に対して選択的に重要な役割を果たし、実際抗IL-5抗体の投与によって末梢血やアレルギー病変部の好酸球数は激減することが知られています。IgG4関連疾患患者における好酸球増多症の発生には、IL-5を含むTh2サイトカインの過剰発現が関わっていると考えられます。

事例3（10月30日・金曜日に提示）

Aさんは、患者さんのIgG4高値を契機に、ヒトの免疫グロブリンのことを勉強し直しました。ヒトのIgGのサブクラスの間で、血液中の濃度が違うだけでなく、機能の違いも大きいようです。また、サブクラス間で機能が異なるのは、その分子構造の違いに基づくらしいと気が付きました。

勉強をしているうちに、IgGのサブクラス毎でポリペプチド鎖間のジスルフィド結合の位置が違っていることに気が付きました。また、ヒンジの長さやアミノ酸配列も異なるようです。そのうちに、一部の文献に「IgG4は機能的に単価の抗体である」との記述があるのに行き当たりました。IgG分子の抗原結合部位は2か所あって、抗体は二価の筈です。IgG4が単価とはどういうことでしょうか？また、「機能的に」単価とは何を意味するのでしょうか？

□ キーワード例

免疫グロブリン	IgG
サブクラス	血中濃度
機能差	分子構造
ポリペプチド	ジスルフィド結合
ヒンジ	アミノ酸配列
抗原結合部位	単価抗体
機能的単価	

□ こんなことを考えてみよう

免疫グロブリンを構成するポリペプチドの種類と分子量は？
重鎖と軽鎖のアミノ酸数は？
ジスルフィド結合って何？
ポリペプチド鎖内とポリペプチド鎖間のジスルフィド結合の違いは？
抗体分子のドメイン構造とは？
免疫グロブリン分子を構成するポリペプチドは、お互いにどのように繋がっているの？
 α らせんと β シートとは？
抗体分子をパパイニンやペプシンで分解するとどうなる？
IgG分子には何個の抗原結合部位があるの？

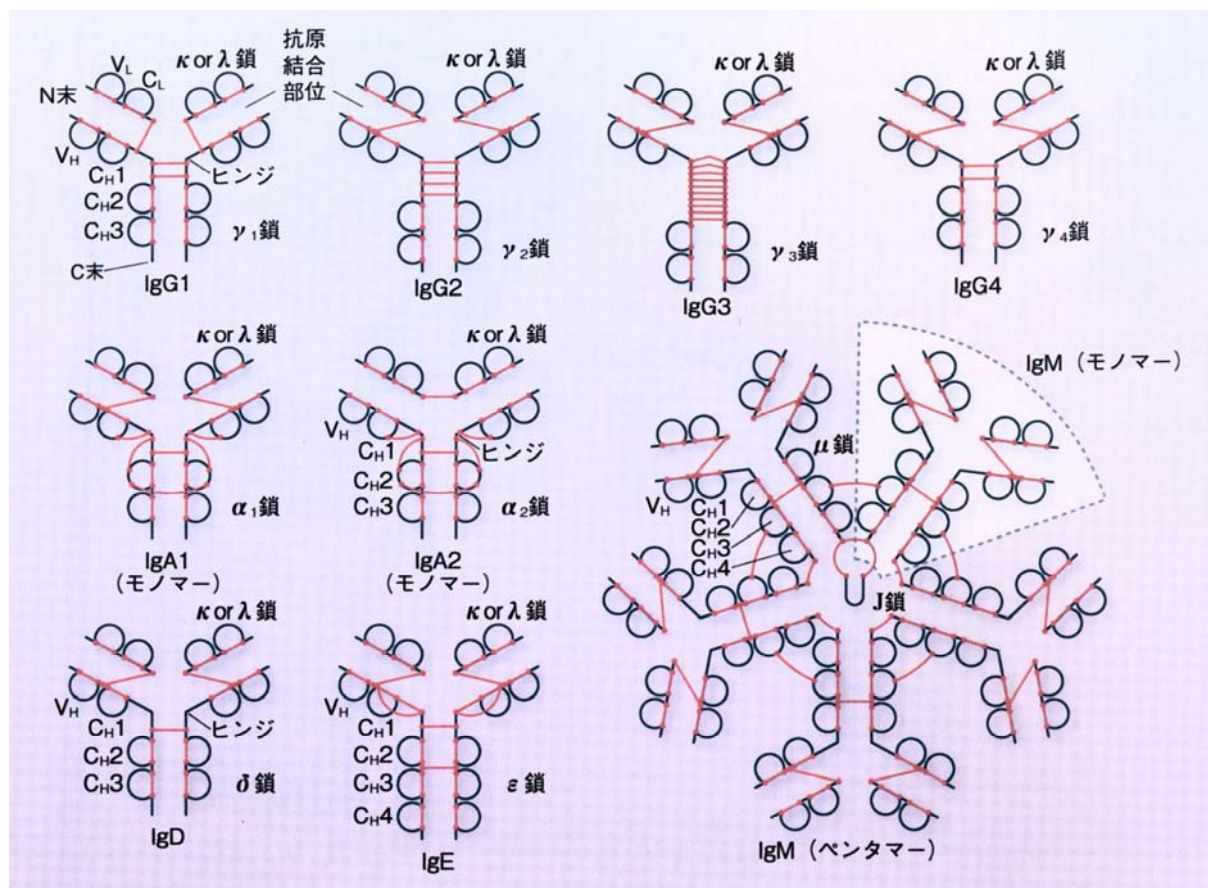
□ 解説

来週は創立記念日を含む連休となり、まる一週間講義と実習がありません。そこで、この一週間の間に、事例を足掛かりとして、皆さんに免疫グロブリンの分子構造、特にポリペプチド鎖間の結合がどのように維持されているかを考えて貰いたいと思います。

免疫グロブリン分子の基本構成とドメイン構造については、既に火曜日までの講義で十分に解説しています。しかし、IgG4の特殊性については講義では深く触れません。今回の事例をきっかけに、皆さんが自ら文献をあたり、納得が行くまで議論してくれることを期待しています。

さて、IgGのポリペプチド構成については、基本的に「同一の軽鎖ポリペプチド2本と、矢張り同一の重鎖ポリペプチド2本が、互いにジスルフィド結合で結ばれている」と教科書にも記

載されています。また、このモデルに基づいて、IgG分子をパパインやペプシンなどのタンパク質分解酵素で処理した場合に生じる断片の大きさやポリペプチド構成も説明されています。しかし、教科書にも記載されているIgG分子のポリペプチド構成をよく見ると、**重鎖と軽鎖、及び重鎖同士を繋ぐジスルフィド結合の位置や数が、IgGのサブクラスによって微妙に異なっているのがわかります⁸⁾**。



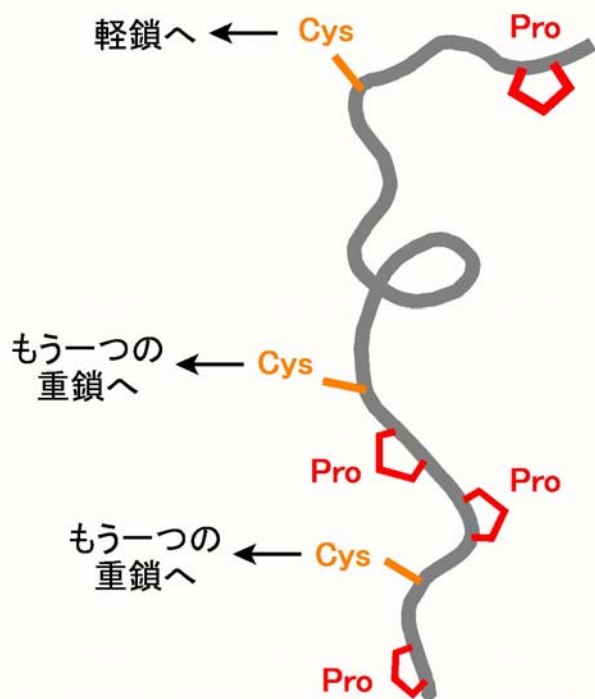
IgGの分子構造を記述するとき典型的に扱われるIgG1では、軽鎖のC末端にあるシステインと、重鎖のCH1ドメインC末端とヒンジの境界近くにあるシステインの間で、L鎖-H鎖間のジスルフィド結合が形成されています。また、ヒンジ部の2か所にH鎖間のジスルフィド結合があり、1つの抗原結合部位を持つL鎖-H鎖の組が、このS-S結合で結ばれて、二価のIgG分子が構成されているように見えます。

ところが、同じIgGでもIgG2, IgG3, IgG4のサブクラスになると、ポリペプチド鎖間のジスルフィド結合の数や位置がIgG1とは異なっています。即ち、これらサブクラスでは重鎖CH1ドメインのN末端寄りにあるシステインと、軽鎖のC末端のシステイン間でL鎖-H鎖間のジスルフィド結合が形成されており、ヒンジ部のH鎖間ジスルフィド結合はIgG2ではIgG1より数多く、IgG3ではヒンジが極端に長くて、そこに多数のH鎖間ジスルフィド結合が形成されています。一方、IgG4ではL鎖-H鎖間のジスルフィド結合はIgG2やIgG3に似た位置にあって、H鎖間のジスルフィド結合はむしろIgG1に似ているように見えます。

アミノ酸配列のレベルで見ると、IgG4(IgG2も)のCH1ドメインには、131番目の位置にシステインがあり、これが軽鎖との(L鎖-H鎖間)ジスルフィド結合形成に関わっています⁹⁾。一方、IgG1では同じ位置がセリンであって、ジスルフィド結合が形成できません。これに対して、IgG1のヒンジ部分はIgG2やIgG4のヒンジに較べて3アミノ酸残基分長く、そこに220番目のシステインが含まれます。このシステインがL鎖-H鎖間のジスルフィド結合形成に関わります。

それでは、重鎖間のジスルフィド結合はどうでしょうか？ IgG1ではヒンジにCPPCのモチーフ

IgG1のヒンジ

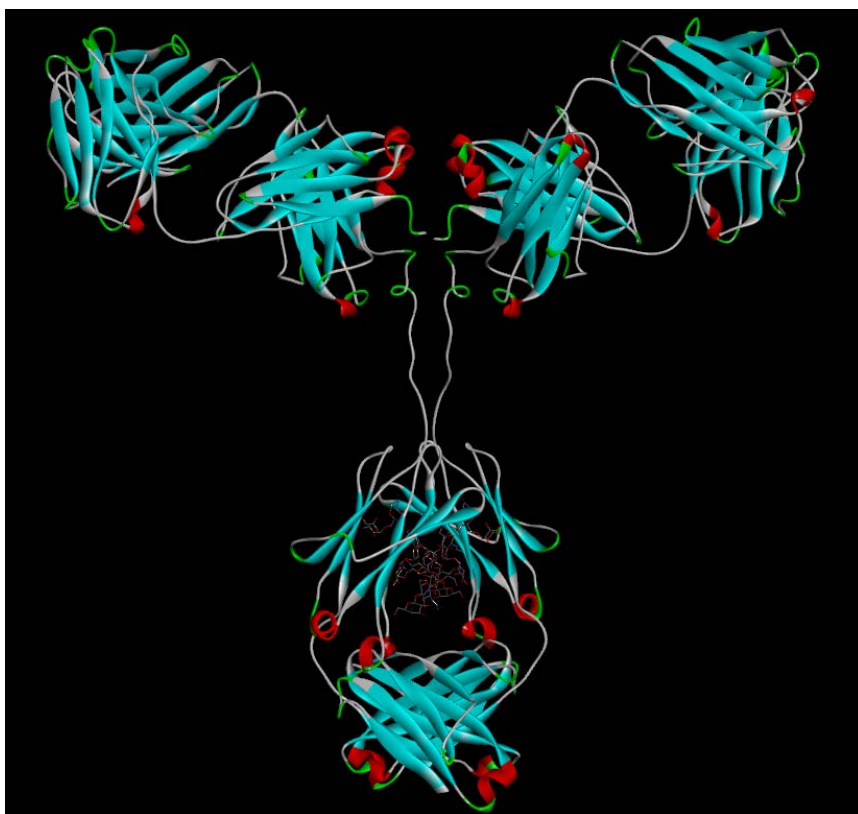


IgG4のヒンジ



フを形成する2個のシステインがあり、これらの間でH鎖間のジスルフィド結合が形成されます。IgG4でも対応する位置に2個のシステインがありますが、そのアミノ酸配列はCPSCに変わっています。プロリンはコラーゲンなどの線状ポリペプチドに多く含まれるアミノ酸残基で、ポリペプチドの長軸に沿った回転には有利ですが、折れ曲がりには阻害します。IgG4のヒンジでは、このプロリンの1つがセリンに置換されていることにより、システインを含むCPSCモチーフ部分がIgG1のCPPCモチーフより折れ曲がりやすくなります(上の図)。その結果、この部の2つのシステインは、ポリペプチド鎖間よりもポリペプチド鎖内でジスルフィド結合を形成する確率が高くなり、IgG4の重鎖は、ヒンジ部分で折れ曲がってCH1ドメインとCH2ドメインが互いに接近した立体構造を形成します。実験的にも、CPSCのモチーフを含むオリゴペプチドは、ペプチド鎖内でジスルフィド結合を形成し易いことが証明されています。

さて、IgG1でH鎖間のジスルフィド結合を形成しているヒンジのシステインが、IgG4ではH鎖内でのジスルフィド結合形



成(ヒンジの折れ曲がり)に使われてしまうと、IgG4はH₂L₂の4本のポリペプチドを繋ぐことが出来ず、H鎖とL鎖のポリペプチドそれぞれ一本ずつ(H₁L₁)の「半抗体」になってしまうように思われます。実は、ヒトのIgG4分子を非還元条件下で電気泳動すると、実際にH鎖とL鎖一本ずつに対応する、分子量約70kDの「半抗体」分子が検出されます⁹⁾。ところが、IgG4のアミノ酸配列に改変を加え、IgG1と同じようにヒンジの226番目のセリンをプロリンに置換すると、「半抗体」は検出されなくなります。このことから、ヒンジにCPSCモチーフを持つIgG4は、H₁L₁になり易いことがわかります。

勿論、IgG分子のH₂L₂構成を支えているのは、H鎖間のジスルフィド結合だけではありません。実際にはCH3ドメイン同士の相互作用(βシートの重なり)も重要です(前頁の立体構造図)。しかし、CH3ドメイン間の相互作用は非共有結合ですから、複数のIgG4分子の間で、H₁L₁の半抗体分子が互いに結合と解離を繰り返し、熱力学的平衡状態を形成していると考えられます。このため、生体内に存在するIgG4分子は、2つの抗原結合部位が互いに異なり、抗原分子を架橋できない、「機能的単価抗体」になっているものと考えられる訳です。

実際、単クローン性のIgG4は、半抗体同士で結合と解離を繰り返してもそれぞれの抗原結合部位は同じですので、二価抗体としての機能を示し、これに対して生体内から精製したIgG4分子は、機能的に単価抗体として振る舞うことが観察されています。

IgG4分子のこのような特性は、このサブクラスが同一抗原に対する免疫応答の末期(或いは、反復する免疫応答の末)に産生されることにも関連して、免疫応答の収束や炎症反応の抑制に関わるのではないかと推察されています⁴⁾。即ち、抗原を凝集することの出来ないIgG4は免疫複合体を形成せず、補体活性化能がありません。また、単価抗体として機能するIgG4は、他のアイソタイプの抗体と抗原との結合を阻害し、既に形成された免疫複合体を解離させる効果も考えられます。I型アレルギーに対する「減感作」療法にも、機能的単価抗体であるIgG4の産生誘導により、IgEと抗原の結合に競合するメカニズムが働いているのではないかと考え方もあります。

皆さんは、1週間の休みの間に上記のようなIgG4分子の構造と機能の相関について、じっくりと考えて下さい。

事例4（11月 9日・月曜日に提示）

Aさんは、診断の確定のため患者さんの同意を得て口唇腺の生検を行うことにしました。病理検査室には、CD138とIgG4の免疫染色もお願いしました。

病理組織学的検査の結果は、小唾液腺にびまん性にリンパ球と形質細胞の浸潤があり、一部はリンパ濾胞を形成していること、太い導管の破壊はないが、腺房実質を巻き込む広汎な線維化が認められること、免疫染色でCD138陽性の形質細胞浸潤が多数認められ、浸潤した形質細胞の多くがIgG4陽性であることでした。

臨床所見と検査データからIgG4関連疾患の診断が下され、グルココルチコイドによる治療が開始されました。

□ キーワード例

生検	患者の同意
病理検査	免疫染色
CD138	IgG4
小唾液腺	びまん性
リンパ球浸潤	リンパ濾胞
導管の破壊	腺房
線維化	形質細胞
IgG4関連疾患	グルココルチコイド

□ こんなことを考えてみよう

生検はどのように行うのか？
生検に対して患者の同意が必要な理由は？
病理検査とはどのようなものか？
病理検査はどこで行われているのか？
免疫染色はどのように行うのか？
病理組標本織の免疫染色と蛍光セルソーター法とはどのように違うのか？
リンパ球の浸潤と線維化の関係は？
病理組織所見は患者の病態を説明するだろうか？
CD138って何？
形質細胞はどのように分化するのか？
リンパ濾胞はどのように形成されるのか？
リンパ濾胞にはどのような細胞が集まっているのか？
グルココルチコイドの作用は？

□ 解説

まず、事例3に関して行った自己学習の成果を十分に纏めて下さい。皆さんは、IgG4分子の立体構造の特異さを十分に認識しているでしょうか？ヒンジ部のアミノ酸配列と、ポリペプチド鎖間及び鎖内ジスルフィド結合の頻度の関係を、きちんと調べて来たでしょうか？

白板に図を描いて、IgG4分子の立体構造がIgG1とどう異なるかを、視覚的に纏めて下さい。また、「機能的単価抗体」の意味についても、H₁L₁の半抗体の結合が、生体内で平衡状態にあることをお互いに説明して下さい。

さて、Aさんは診断確定のために、患者さんの小唾液腺から生検を行うことにしました。前述の通り、IgG4関連疾患包括医診断基準(2011)では、病理組織学的所見が重視されています。今回の症例では、包括的診断基準の1. に当たる複数器官のびまん性腫大があり(視診・触診、及び頭部CTで確認)、2. の血清IgG4高値(135mg/dl以上)も既に分かっています。今回小唾液腺の病理学的検査により、3. の①に当たる著明なリンパ球、形質細胞浸潤と線維化を認め、更に3. の②のIgG4陽性形質細胞浸潤(基準では、IgG4/IgG陽性細胞比率40%以上、かつIgG4陽性細胞が高倍率視野で一視野あたり10個を超える)も確認されました。従って、本症例はIgG4関連疾患の確定診断例となります。

皆さんは既に、ユニット第4週の実習で蛍光セルソーターによる細胞表面抗原の検出を体験しています。従って、CD番号には馴染みがあります。また、細胞表面抗原を標識抗体で検出する原理も理解しているはずです。また、来週にはELISA法の実習を行いますので、固相化した抗原に標識抗体を反応させ、酵素反応により発色を行って抗原を検出するという原理も理解できるはずです。免疫組織化学反応による組織標本中での抗原分布の検出・同定について、その原理と応用を自己学習して下さい。

なお、CD138は形質細胞に発現する膜貫通型の糖タンパク質で、成熟Bリンパ球には発現していません。細胞外マトリクスとの相互作用に関与すると考えられています。形質細胞の分化抗原としてのCD138については、Bリンパ球の活性化に関する河原の講義でも触れます。

また、グルココルチコイドについては既に生理学のコースで学んでいる筈ですし、過去の事例でも何度も採り上げています。これについても自己学習をして下さい。

事例5（11月11日・水曜日に提示）

それにしても、IgG4関連疾患では、どうしてIgG4などという特殊なサブクラスの抗体が増えるのだろうか、Aさんは不思議に思いました。そういえば、学生時代に宮澤先生の講義でクラススイッチの話聞いた覚えがあります。クラススイッチは、Tリンパ球の産生するサイトカインで制御されていた筈です。

Aさんは、患者さんの同意を得て生検で採取した小唾液腺を使い、定量的PCR法でサイトカイン遺伝子の発現量を調べて見ようと考えました。

□ キーワード例

サブクラス	クラススイッチ
分子機構	Tリンパ球
サイトカイン	クラススイッチの制御
生検	小唾液腺
PCR法	定量
遺伝子発現	

□ こんなことを考えてみよう

クラススイッチの分子機構はどのようなものだろうか？
免疫グロブリン重鎖遺伝子は、どのような順番で並んでいるのか？
IgG4の定常部遺伝子はどこにあるか？
クラススイッチに関わる酵素は？
定常部と可変部の繋ぎ換えは、どのようにして起こるのだろうか？
S-S組換えって何？
クラススイッチと親和性成熟が同時に起こる理由は？
免疫グロブリンのクラススイッチは、サイトカインによりどのように制御されているだろうか？
クラススイッチに関連するサイトカインは、どのようなTリンパ球から産生されるのか？
IgG4へのクラススイッチと、炎症や線維化とは関連があるのだろうか？
定量的PCR法とは、どのような技法だろうか？

□ 解説

先ず事例4の纏めを行って下さい。皆さんは、免疫組織化学法について、その原理を説明できるでしょうか？白板に図を描いて、お互いの理解を確認して下さい。また、IgG4関連疾患包括的診断基準に照らして、この症例がどのように診断されるかも確認して下さい。

事例1や2に記述されている患者さんの症状や所見は、病理組織所見と一致するでしょうか？ IgG4関連疾患における涙腺・唾液腺炎では、一般に乾燥症状の程度は比較的軽いとされます。しかし、炎症が激しく、唾液腺や涙腺の実質に広汎な線維化が生じている場合には、産生・分泌障害が起こって乾燥症状が出る場合もあり得ます。この症例では、線維化による涙腺・唾液腺の実質破壊が特に急速に進行していたものと考えられ、そのため摂食困難による体重減少も起こったと考察されます。

クラススイッチの分子機構については、月曜日と火曜日の講義で詳しく述べています。皆

さんは、S-S組換えの機構、これに関わるAID酵素の機能、可変部の体細胞高頻度突然変異とクラススイッチが同時に進行する理由などを互いに問い掛け、復習して下さい。

この週の講義ではサイトカインとTリンパ球のエフェクター機能についても学びます。エフェクターTリンパ球の分化、Th1, Th2, Th17細胞の誘導機構と生理機能、それにT-B細胞間相互作用による抗体産生の誘導は、全て今週の学習項目です。今回の事例について自己学習を進めることにより、講義の予習と復習の効果が発揮されることを狙っています。

組織からのmRNAの抽出や、定量的PCR法の原理については、既に生化学やゲノム生物学の講義で触れているはずです。白板に図を描いて、互いに説明して下さい。

アイソタイプ	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
毒素・ウイルス中和	+	++	++	++	++	++	++	—
マクロファージ Fc レセプターへの結合	—	+++	±	++	+	+	+	—
補体活性化(古典経路)	+++	++	+	++	—	—	—	—
補体活性化(第二経路)	—	—	—	—	—	+	—	—
肥満細胞 Fc レセプターへの結合	—	—	—	—	—	—	—	+++
上皮細胞 polyIg レセプターによる輸送	—	—	—	—	—	+	++	—
胎盤通過能	—	+++	+	++	±	—	—	—
サイトカインによるクラススイッチの誘導		IFN- γ IL-4 IL-10		IFN- γ IL-4 IL-10	IL-4 IL-13	IL-5 TGF- β IL-10	上皮細胞 APRIL	IL-4 IL-13

事例6 (11月13日・金曜日に提示)

小唾液腺から抽出したmRNAを用いた定量的なRT-PCR法の結果、患者さんの唾液腺では、健常者に較べてIL-4とIL-10の発現が高く、またIGF- β の発現も上昇していることがわかりました。また、患者さんの小唾液腺では、AIDの発現が健常人に較べて著しく高くなっていました。

Aさんは、IL-4に加えて、IL-10やTGF- β の発現が高まっていることは何を意味するのだろうかと考えました。また、IgG4産生細胞の増加と唾液腺の線維化との間に、どのような関係があるのだろうかと思いました。

□ キーワード例

mRNAの抽出	RT-PCR法
健常者との比較	IL-4
IL-10	TGF- β
AID	遺伝子発現
IL-10産生細胞	TGF- β の生理機能
IgG4関連疾患における線維化の機構	

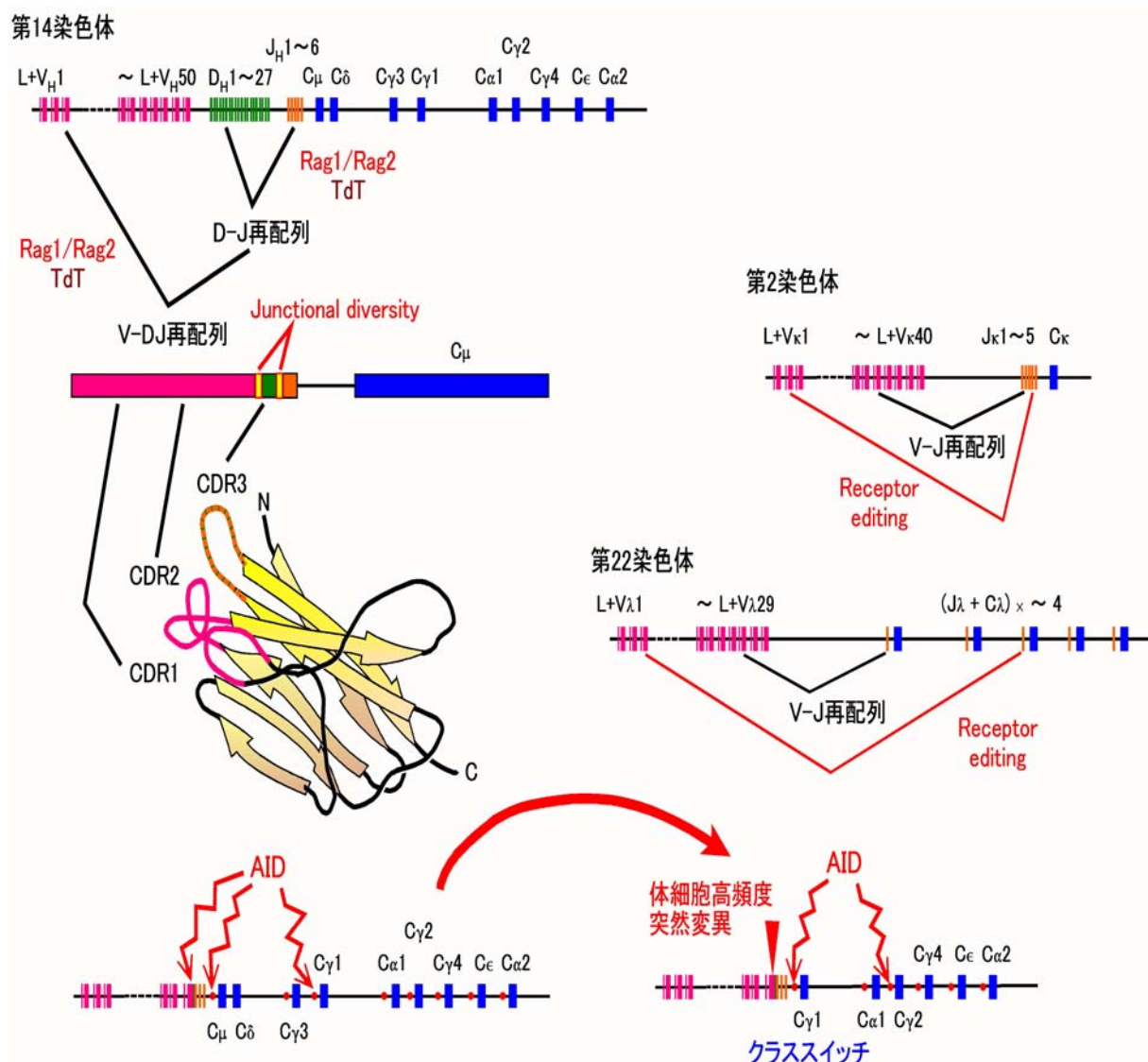
□ こんなことを考えてみよう

IgG4関連疾患は、何型のアレルギー反応だろうか？
IgG4は、線維化病変形成の原因だろうか？
IL-4は、どのような細胞から産生されるのか？
IL-10を産生するのはどのような細胞か？
IL-4を産生する細胞とIL-10を産生する細胞は同じか、違うか？
TGF- β はどのような細胞から産生されるのか？
TGF- β は、組織の線維化と関連があるだろうか？
AIDを発現するのはどのような細胞か？
AIDの発現は、どのように制御されているのだろうか？

□ 解説

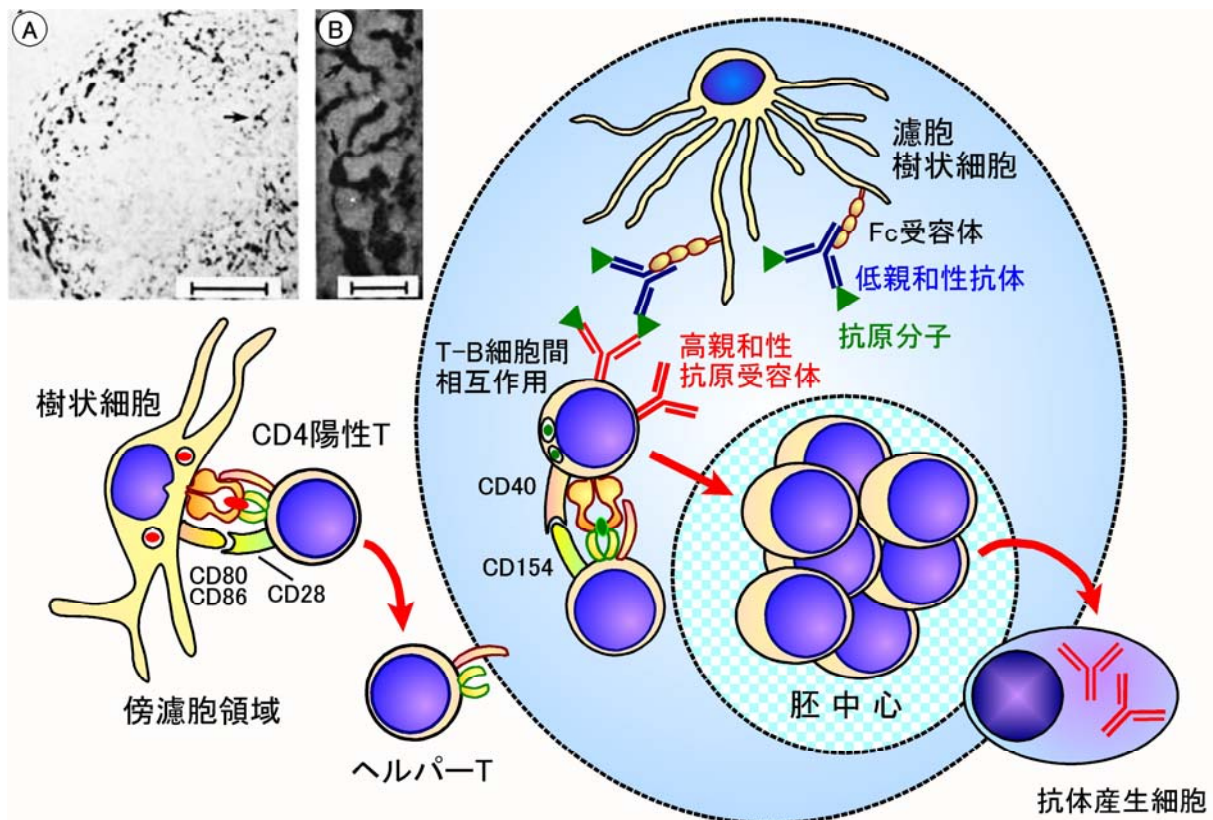
免疫グロブリンのクラススイッチは、遺伝子断片の再構成が終わって、(軽鎖可変部との組合せで)抗原結合部位を形成できるポリペプチドをコードするようになった重鎖可変部の遺伝子に対して、定常部の遺伝子が μ 鎖のそれから γ 鎖や α 鎖、或いは ϵ 鎖のものへと切り替わる現象です。これにより、最初に抗体産生を誘導した抗原への結合能を保ったままで、アイソタイプがIgMからIgG、IgA、或いはIgEへと変わることができます。実際には、クラススイッチと同時に可変部遺伝子に体細胞高頻度突然変異が起これ、その後元の抗原に対する結合能が上昇した可変部を発現する子孫細胞だけが選択されることにより、抗原結合部位の親和性成熟も起こります。このため、同一抗原に反応するIgMに比べ、IgGの方が抗原結合能が高くなっているのが一般的です。

抗体産生の過程で、クラススイッチと親和性成熟が同時に起こるのは、可変部の体細胞高頻度突然変異と、定常部のクラススイッチ組換えに関わる**分子機構が同じもの**だからです。即ち、活性化したBリンパ球では、AIDと呼ばれるシチジンデアミナーゼが発現し、活発に転写されている免疫グロブリン遺伝子で、ほどけて一本鎖となったDNAに結合、そのシトシン



塩基をウラシルに置換します。シトシンの代わりにウラシルが存在する一本鎖DNAが複製の鋳型となれば、反対鎖には、本来グアニン塩基があるべきところにアデニンが入ることになり、G-to-A変異が生じます。これが、体細胞高頻度突然変異の1つの機構です。一方、ウラシルの入ったDNA鎖は、ウラシルDNAグリコシラーゼにより脱塩基反応が起こり、無塩基部位が生じます。無塩基部位にはAPエンドヌクレアーゼによりニックが入り、DNAリガーゼ等、塩基除去修復経路の下流の酵素による修復が起こります。修復の際に誤った塩基を持つヌクレオチドが取り込まれれば、これも突然変異の原因となり、一方でニックによる断端が染色体上の別の部位の断端と結合すれば、遺伝子の再構成が起こることになります。後者がクラススイッチにおけるS-S組換えの機構です。

タンパク質性の抗原に対する抗体産生はT細胞依存性で、同一の抗原と反応するT-B細胞間の相互作用が、Bリンパ球の活性化と抗体産生細胞への分化に必要です。この際、細胞表面の膜型免疫グロブリンで抗原を取り込んだBリンパ球は、これをリソソーム酵素により分解してMHC class II分子上にペプチドとして提示し、このMHC class IIとペプチドの複合体を認識するT細胞抗原受容体を持ったCD4陽性エフェクターT細胞(ヘルパーT細胞)はCD40L (CD154)を発現し、CD40を介してBリンパ球に活性化シグナルを入れます。膜型免疫グロブリンの架橋によるシグナルとCD40からのシグナルを受けたBリンパ球は、分裂・増殖してクローンを拡大するとともに、抗体産生細胞へと分化を始めます。この際、免疫グロブリン

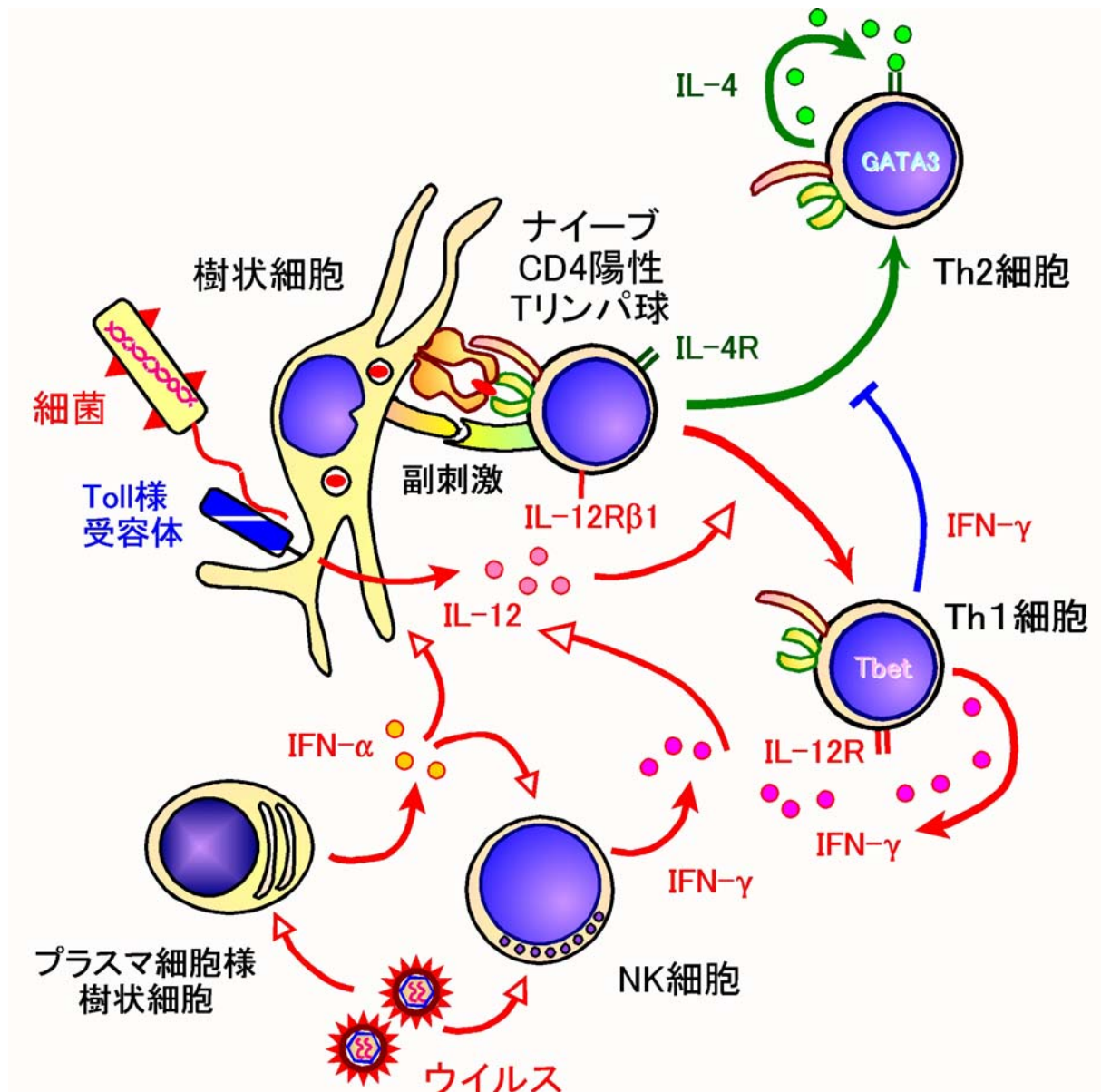


ン遺伝子の転写が活性化して、その部のDNAが一本鎖にほどけますが、CD40からのシグナルはB細胞特異的シチジンデアミナーゼであるAIDの発現を誘導しますから、上記のように体細胞高頻度突然変異とクラススイッチが進行することになります。この時、ヘルパーT細胞が産生するサイトカインの種類により、定常部のどのアイソタイプのS領域が転写活性化されるかが変わり、Th1サイトカインであるIFN- γ の存在下では、S γ 1やS γ 3を含む領域の転写が活性化されるためにIgG1やIgG3へのクラススイッチが促進され、一方Th2サイトカインであるIL-4やIL-13の存在下では、IgG4やIgEへのクラススイッチが促進されます。また、IL-10も、IgG4へのクラススイッチに関与することが知られています。

ナイーブなCD4陽性T細胞がTh1細胞に分化するか、Th2細胞に分化するか、或いはTh17細胞に分化するかを決定付けるのは、ナイーブCD4陽性T細胞活性化の際のサイトカイン環境で、樹状細胞などの発現するToll様受容体にどのような刺激が加わるかによって、このサイトカイン環境が変化します。細菌細胞壁の多糖類やLPS、細菌由来のCpG DNAなどの存在下では樹状細胞がIL-12を産生し、Th1細胞への分化が促進されます。一方、ウイルス感染時は、エンドソーム内のウイルスRNAを認識したプラズマ細胞様樹状細胞などからI型インターフェロンが産生され、これが樹状細胞からのIL-12産生を促進するとともに、ウイルス感染細胞を認識したナチュラルキラー細胞がIFN- γ を産生し、Th1細胞への分化を促進します。

一方、Toll様受容体によって認識されるような病原体関連分子構造を持たない、寄生虫や花粉などの抗原が繰り返し侵入した場合は、ナイーブCD4陽性T細胞はTh2細胞へと分化し、IL-4, IL-5, IL-13などを産生するようになります。

Th2細胞が更に活性化を繰り返すと、最終的にはIL-10を産生するようになりますが、IL-10は他のT細胞の活性化を抑制する、「抑制性サイトカイン」です。IL-10を産生する細胞には制御性T (Treg) 細胞もあり、Tregはまた、TGF- β も産生します。TGF- β には炎症反応抑制効果があることを、ユニット第3週の講義でも述べていますが、TGF- β はまた、線維芽細胞



を活性化することによって組織の線維化を引き起こすサイトカインでもあります。IgG4は機能的に「半抗体」で、抗原を架橋せず、むしろ他のクラスの免疫グロブリンと競合して、免疫複合体の形成やFc受容体を介する細胞の活性化を抑制する可能性があると言いましたが、IL-10やTGF- β など、免疫・炎症反応を抑制するサイトカインとIgG4が共存することは、このアイソタイプの産生が免疫反応の終息に寄与するという仮説と合致します。

IgG4関連疾患の患者末梢血や病変部組織では、Th2細胞とTreg細胞の活性化に関わる遺伝子(GATA3, FoxP3)の発現が健常人に比べて増加しており、Th2及びTregに由来するサイトカインであるIL-4, IL-10, TGF- β の発現が、Sjögren症候群と比較しても増加していることが報告されています^{10, 11)}。AIDの発現上昇とIgG4へのクラススイッチは、その結果であると考えられます。

それでは、IgG4関連疾患では、増加したIgG4が病変形成の主役なののでしょうか？上記の通り、IgG4は機能的に「半抗体」で、免疫複合体を形成する能力が低いため、II型またはIII型の機構でアレルギー性の組織傷害に関与するとは考え難いのです。また実際、IgG4関連疾患で検出されるIgG4に、自己抗原との反応性は見出されていません。

従って、実際にはIgG4関連疾患におけるIgG4産生亢進は「随伴現象」であり、線維化性病変形成の真の原因は、Th2及びTreg細胞の過剰活性化によるTGF- β の発現亢進ではないかと考えられています¹⁰⁾。どのような抗原刺激がTh2細胞を活性化しているのか、この疾患の患者では、何故Th2とTregの持続的で過剰な活性化が起こるのかについては、現在のところ不明です。

事例7（11月16日・月曜日に提示）

グルココルチコイド投与により、患者さんの涙腺・唾液腺の腫脹は軽快し、末梢血の好酸球数も正常化しました。1年程の経過観察で、病勢の進行は止まったかと思いましたが、患者さんは相変わらず物が飲み込みにくいと言い、胸部に鈍い痛みも続いていると訴えます。

食道通過障害の原因を探るため、Aさんが胸部のCT検査を行ったところ、胸部大動脈瘤が見つかりました。胸部外科に紹介して手術の適応と判断され、胸部大動脈瘤の人工血管による修復が行われました。切除された大動脈壁には外膜から中膜にかけてリンパ球と形質細胞の浸潤があり、免疫組織化学でIgG4陽性細胞が多数含まれていることがわかりました。

IgG4産生細胞が血管壁にも浸潤していたことから、Aさんの指導医はリツキシマブによる治療も考慮すると言いました。

□ キーワード例

腫脹の軽快
病勢の進行
胸痛
大動脈瘤
切除
中膜
形質細胞
血管壁浸潤

好酸球数の正常化
ものが飲み込みにくい
胸部CT検査
人工血管
外膜
リンパ球浸潤
IgG4陽性細胞
リツキシマブ

□ こんなことを考えてみよう

食道通過障害の原因として考えられることは？
大動脈瘤とはどんな病気？
大動脈瘤の原因は？
大動脈瘤の手術はどのように行うの？
IgG4関連疾患と大動脈瘤の関係は？
大動脈の外膜には何があるの？
大動脈の中膜には何があるの？
リツキシマブとはどのような薬？

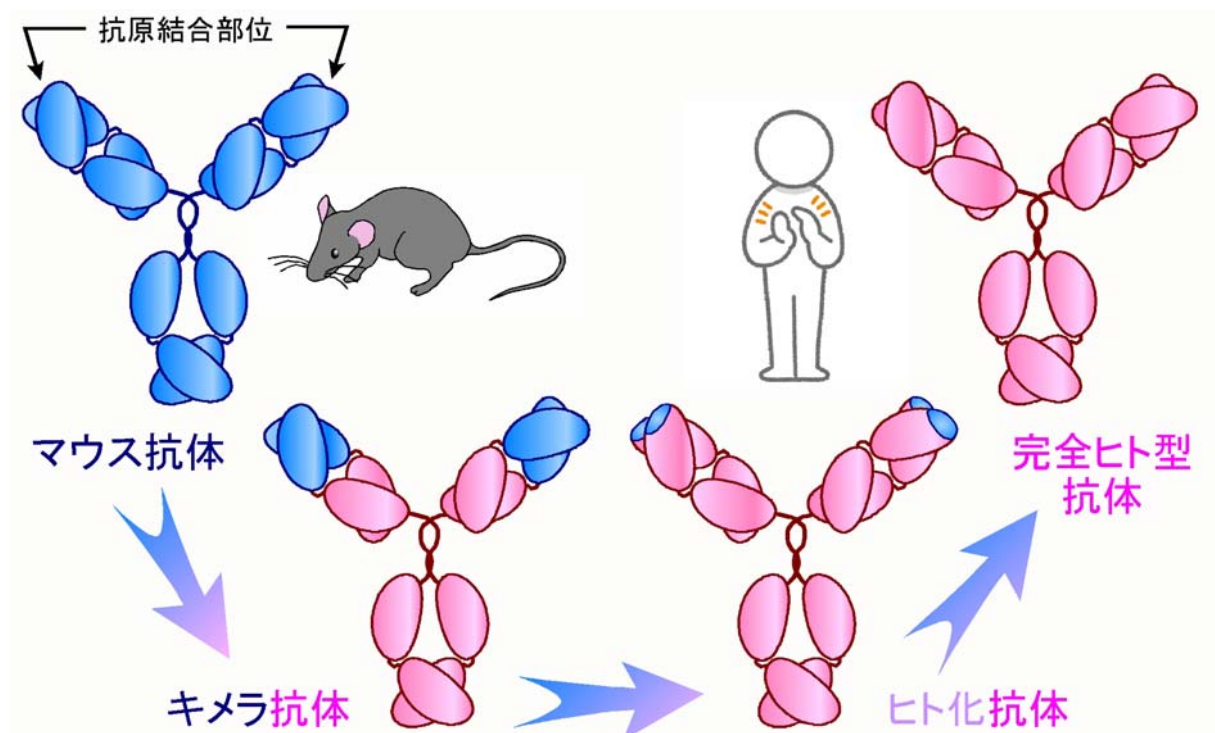
□ 解説

IgG4関連疾患は、例えば涙腺や唾液腺に局限する臓器特異的な炎症・免疫疾患ではなく、全身の各種器官や組織が、同時に、または時を異にして冒される、多臓器炎症・線維化疾患です。実際、この疾患は涙腺・唾液腺（ミクリッツ病、慢性硬化性唾液腺炎、眼窩偽腫瘍）に留まらず、膵臓（自己免疫性膵炎、硬化性膵炎）、胆管系（硬化性胆管炎）、下垂体（自己免疫性下垂体炎）、甲状腺（橋本甲状腺炎）、腎臓（尿細管間質性腎炎）、消化管、乳腺、前立腺（前立腺炎）などを冒し、後腹膜線維化症として現れることもあります。また、リンパ形質細胞性大動脈炎から炎症性大動脈瘤へと進行することもあり得ます。

今回の事例では、ステロイド治療により涙腺・唾液腺の腫脹は軽快し、好酸球増多症も改善したにも拘わらず、胸部の鈍痛と食道通過障害の原因を探る過程で、胸部大動脈瘤の存在がわかりました。病理組織学的に外膜と中膜にIgG4産生細胞を含むリンパ形質細胞浸潤

が著明で、IgG4関連疾患の一つの表れとしての炎症性大動脈瘤であると考えられます⁷⁾。

一般に、IgG4関連疾患に対してはグルココルチコイド治療が有効で、プレドニンとして0.6mg/kg/dayを2～4週間投与して、その後3から6ヶ月をかけて減量し、2.5mg/dayで維持するのが一般的です⁴⁾。ステロイド治療によって血清IgG4値の低下が起こり、腫脹した器官も縮小して、腫瘤性病変があった場合でも手術の必要は無くなることが多いのですが、線維化が進行した病変は反応しにくくなります。治療抵抗性の病変に対しては免疫抑制薬が使用され、難治例ではこの事例のようにリツキシマブが考慮されます。



抗体医薬については、一昨年と昨年の事例でも詳しく触れていますので、皆さんは過去の事例を参照して下さい。また、リツキシマブを含む抗体医薬については、ユニット第6週の講義でも触れますので、この事例はその導入にもなります。

11月18日(水曜日)のテュートリアルは、事例を提示しません。事例1から7までの内容を全体として見直し、事例の全体像をディスカッションするとともに、事例発表会の準備を進めて下さい。

引用文献

- 1) 難病情報センター. 免疫系疾患 IgG4関連疾患(平成23年度).
<http://www.nanbyou.or.jp/entry/2314>
- 2) 梅原 久範、岡崎 和一、千葉 勉. 温故知新「IgG4関連疾患」－その概念と診断基準－.
日本内科学会雑誌 101: 2973-2981, 2012.
- 3) Masaki, Y., Sugai, S., and Umehara, H. IgG4-related disease including Mikulicz' disease and sclerosing pancreatitis: Diagnostic insights. **J. Rheumatol.** 37: 1380-1385, 2010.
- 4) 大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫アレルギー内科学. IgG4関連疾患.
http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/imed3/lab_2/page4/igg4rd.html
- 5) 塩沢 俊一. 膠原病学 改訂第4版. 丸善(株), 2009.
- 6) 大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫アレルギー内科学. 好酸球が増加する疾患.
http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/imed3/lab_2/page4/eosino.html
- 7) Bear, A. N. *et al.* Rare diagnosis of IgG4-related systemic disease by lip biopsy in an international Sjögren syndrome registry. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.** 115:e34-39, 2013.
- 8) Hamilton, R. G. (ed. and rev. Mohan, C.). The human IgG subclasses. Calbiochem-Novabiochem Corp. 2001.
- 9) Aalberse, R. C. and Schuurman, J. IgG4 breaking the rules. **Immunology** 105:9-19, 2002.
- 10) Umehara, H. *et al.* IgG4-related disease and its pathogenesis – Cross-talk between innate and acquired immunity. **Int. Immunol.** 26:585-595, 2014.
- 11) Tsuboi, H. *et al.* Analysis of IgG4 class switch-related molecules in IgG4-related disease. **Arthritis Res. Therapy** 14:R171, 2012.