

主 論 文

Mast Cells Exhibiting Strong Cytoplasmic Staining for IgE and High Affinity IgE Receptor are Increased in IgG4-Related Disease

(IgG4 関連疾患では IgE および高親和性 IgE 受容体に対して細胞質内に強陽性を示すマスト細胞が増加する)

[緒言]

IgG4 関連疾患 (IgG4-RD)は血中 IgG4 値の上昇を伴った硬化性膵炎として 2001 年に初めて発表され、現在では胆管、唾液腺、眼窩周囲組織、腎、肺、髄膜、動脈、乳腺、前立腺、甲状腺、心膜、皮膚、リンパ節など、様々な臓器で報告されている。IgG4-RD はステロイド反応性であり標準治療となっているが、漸減あるいは治療の中止により再発を来しやすいことでも知られている。一説では、ステロイド治療歴のあるミクリッツ病患者のおよそ半数で再発を来したとする報告もある。そのような理由もあり、IgG4-RD は日本では難病指定疾患として認定されており、ここ数十年病態解明を目指した研究が行われている。

IgG4-RD の病因としては様々な仮説が示唆されているが、今現在完全な解明には至っていない。障害を受けた組織サンプルを用いた検討では、インターロイキン (IL)-4、IL-5、IL-13 といった T helper (Th)2 サイトカインや、IL-10、transforming growth factor beta 1 といった regulatory T (Treg)サイトカインが上昇していることが報告されており、これらサイトカインによる免疫応答が IgG4-RD の原因として示唆されている。このような現象は過去様々な臓器で立証されてきたが、これらサイトカインが上昇する機序を追求した検討は過去殆どなされていなかった。

過去我々は、唾液腺において組織中の Th2 および Treg サイトカインの上昇を確認してきたが、その過程で免疫組織化学上これらサイトカイン陽性を示す細胞がマスト細胞に類似しており、同時に細胞質内も含め IgE 強陽性を示すことを確認した。興味深いことに、マスト細胞数自体はコントロール群と同程度だったのに対して、IgE 強陽性を示すマスト細胞に関しては IgG4-RD で有意に増加していることが確認された。以上の結果から、我々は IgE 強陽性マスト細胞が IgG4-RD において重要な役割を担っているのではないかと考えている。しかしながら、このように IgE 強陽性を示すことの意義やメカニズムに関しては、疑問を残していた。

今回の検討では、IgG4 関連リンパ節において IgE 強陽性マスト細胞の出現を確認し、これら強陽性を示す意義について追求することを目的とした。

[対象と方法]

患者

IgG4 関連リンパ節症 23 例を対象とし、23 例の非特異的リンパ濾胞過形成の症例を比較対照群とした。なお、本研究は岡山大学の IRB の承認を受けており、全症例について生体材料を研究に利用するインフォームドコンセントは得られている。

組織学および免疫組織化学的検討

10%ホルマリン固定後パラフィン包埋された組織検体から4 μmに薄切された切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、免疫組織化学による染色を行った。免疫組織化学は自動免疫染色装置 (Bond Max) を用いた。一次抗体として IgG、IgG4、KIT/CD117、IgE、高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) を使用した。IgG、IgG4、IgE、FcεRI 陽性細胞数は最も密度の高い部分で計測し、強拡大で3視野に見られた陽性細胞数の平均を測定した。

二重蛍光染色法

パラフィン包埋された組織検体から4 μmに薄切された切片を作製し、間接二重蛍光染色法を行った。一次抗体として IgE、FcεRI、KIT を使用し、フルオレセイン標識二次抗体による蛍光を行った。

統計学的処理

統計ソフト SPSS 14.0 を使用し、Mann-Whitney *U*-test による統計学的解析を行った。

[結果]

臨床および組織学的検討結果

IgG4 関連リンパ節症:男女比は14:9で、年齢の中央値は61歳(45-82歳)であった。14例は頸部リンパ節に病変が限局していたが、7例で他リンパ節領域の腫脹、9例で他臓器病変を伴っていた。観察期間の中央値は42か月(2-154か月)だが、経過観察中再発を来したのは10例で、残存リンパ節の再腫脹や他リンパ節領域あるいは節外病変が出現した。高倍1視野あたりのIgGおよびIgG4陽性細胞数はそれぞれ平均224.1(85.7-378)と259.1(97.7-437.3)で、IgG4/IgG陽性細胞比はいずれの症例も60%を超えていた。

非特異的リンパ濾胞過形成:組織学的に、多数のリンパ濾胞形成を示した症例を抽出した。IgG4 関連リンパ節症でみられる不規則な胚中心形成は認められず、形質細胞や好酸球浸潤も目立たなかった。皮膚病性リンパ節症あるいは膠原病関連リンパ節症は除外した。

臨床学的検討

IgG4 関連リンパ節症および非特異的リンパ濾胞過形成症例の年齢は、それぞれ平均61歳と65歳と差はなく、性差も認めなかった。IgG4 関連リンパ節症はリンパ節の平均径21.1 mmと、対照群の12.3 mmと比べて有意に腫大していた。IgG4 関連リンパ節では23例中21例に頸部病変を有していたが、対照群は10例であり、IgG4 関連リンパ節症では頸部に病変を有する症例が多かった。

IgE および FcεRI を用いた免疫組織化学

IgG4 関連リンパ節および対照群において、ともに多数のIgEおよびFcεRI陽性細胞を認めた。対照群においては殆どが細胞膜に限局した陽性像を示していたのに対し、IgG4 関連リンパ節では細胞質内も含めて強陽性を示す細胞が多数出現していた(p=0.01)。

二重蛍光染色法

IgG4 関連疾患において、IgE および FcεRI は細胞質内で顆粒状に陽性を示す傾向にあった。一方で対象群では、IgE および FcεRI は殆どの細胞で細胞膜に局限した陽性像であった。これらの陽性細胞は、KIT との共染性が確認された。

[考察]

これまで IgG4 関連疾患における様々な検討がなされてきたが、未だ原因解明には至っていない。今回我々は、IgE 強陽性を示すマスト細胞に着目し検討を行った。

今回のリンパ節病変でも、IgG4-RD で IgE 強陽性を示すマスト細胞が多数出現することが確認された。この理由について、単なる過染色であること、エンドサイトーシスを起こしていること、以上の 2 点を仮説に考えた。

IgG4-RD の患者は、しばしばアレルギーを有している。今回の検討では、19 例中 15 例 (78.9%) の症例が何かしらのアレルギーを有していた。また、IgG4-RD 患者の約半数が血中 IgE 値の上昇を伴っているとの報告もあり、今回用いた症例群も血中 IgE 値が高値であった可能性が示唆される。以上のことから、IgE 強陽性を示す原因としては単なる過染色の可能性が考えられる。しかしながら、今回の検討で FcεRI も同様に細胞質内へ強く陽性を示すことが確認された。

マスト細胞が活性化されると IgE およびその受容体である FcεRI は細胞質内へ移行することが知られている。今回行った二重蛍光染色法では、IgG4 関連リンパ節は IgE および FcεRI が細胞質内へ顆粒状に描出される傾向にあったのに対し、対照群では同現象は殆ど確認されなかった。以上の結果から、IgG4 関連疾患ではマスト細胞が活性化され、IgE および FcεRI が細胞質内へ移行した結果、免疫組織化学においてこれらに対して細胞質内も含め強陽性を示したものと推察される。近年、IgG4 関連疾患の病態において何かしらの抗原の存在を示唆する論文が報告されている。マスト細胞は様々な要因で活性化されるが、その主要因は IgE と結合した FcεRI の抗原による架橋形成であり、今回の結果からマスト細胞を活性化し得る何かしらの抗原の存在が示唆された。しかしながら、マスト細胞における IgE および FcεRI のエンドサイトーシスに関しては機能面に関して不明な点も多く、今後さらなる解析が必要である。

一方で、他の Th サブセットや免疫細胞が IgG4 関連疾患の病態に関与している可能性についても数多くの報告がなされている。IgG4-RD は様々な Th サブセットや免疫細胞を介した、非常に複雑な病態を形成しているのかもしれない。

[結論]

IgG4 関連リンパ節症では非特異的リンパ濾胞過形成の症例と比較して、IgE および FcεRI が細胞質内も含め強陽性を示すマスト細胞が有意に増加しており、二重蛍光染色法ではこれらが細胞質内へ顆粒状に陽性を示すことが示された。この結果から、IgG4 関連疾患ではマスト細胞が有意に活性化されており、マスト細胞を活性化し得る抗原の存在が示唆された。