

200/0813

厚生科学研究研究費補助金
特定疾患対策研究事業

難治性血管炎に関する調査研究
平成13年度総括研究報告書

平成14年(2002年)3月

主任研究者 **橋本博史**

目 次

I. 総括研究報告

- 難治性血管炎に関する調査研究1
主任研究者 橋本 博史 (順天堂大学医学部膠原病内科)

II. 抄録13

III. 分担研究報告

1. 臨床調査個人票を用いた高安動脈炎(大動脈炎症候群)の臨床疫学像の検討21
稲葉 裕 他 (順天堂大学医学部衛生学)
2. 中・小型血管炎の免疫抑制剤使用と生命予後及び予後に関与する因子の全国調査
成績の解析報告26
中林 公正 (杏林大学医学部第一内科)
3. 血管炎病態に関与するMPO-ANCAおよび好中球機能動物モデルを用いた解析35
鈴木 和男 他 (国立感染症研究所生物活性物質部)
4. ANCA関連血管炎における病態とサイトカインとの関連についての検討47
橋本 博史 他 (順天堂大学医学部膠原病内科)
5. 顕微鏡的多発血管炎(MPA)患者の治療前後の好中球、リンパ球の遺伝子発現状態の検討56
小林 茂人 他 (順天堂大学医学部膠原病内科)
6. MPO-ANCA関連血管炎の臨床像の変遷62
有村 義宏 (杏林大学医学部第一内科)
7. ANCA関連血管炎の免疫能、真菌症併発を抗 β -グルカン抗体は予知しうる70
吉田 雅治 他 (東京医科大学八王子医療センター 腎臓科)
8. 抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎予後因子の検討79
橋本 博史 他 (順天堂大学医学部膠原病内科)
9. ANCA測定法に関する小委員会報告：蛍光抗体法ANCA測定試薬の検討90
有村 義宏 他 (杏林大学医学部第一内科)
10. ANCA関連血管炎の治療に関する小委員会報告-3年間の成果のまとめ-98
吉田 雅治 他 (東京医科大学八王子医療センター 腎臓科)
11. 血管炎性ニューロパチーの臨床病理学的研究110
尾崎 承一 (聖マリアンナ医科大学内科)
12. 最近経験した血管炎症候群5例の臨床、病理学的検討116
松岡 康夫 他 (川崎市立川崎病院内科)
13. 抗MPO抗体陽性顕微鏡的多発血管炎で、肺・腎以外のみの症状を呈した症例の臨床像
及び病理組織像の特徴について130
中林 公正 (杏林大学医学部第一内科)

14. ビュルガー病における (C677) MTHFR 遺伝子多型の意義と葉酸による 神経症状改善効果について	136
川崎 富夫 他 (大阪大学附属病院血管外科)	
15. ビュルガー病に対する HGF 遺伝子を用いた血管再生治療	140
森下 竜一 他 (大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学)	
16. Positron Emission CT (PET) を用いた高安動脈炎炎症評価の試み	142
小林 靖 (東京医科歯科大学大学院循環制御学)	
17. 虚血肢の skin perfusion pressure (SPP) 測定について	145
重松 宏 他 (東京大学大学院血管外科)	
18. 高安大動脈炎外科治療症例の検討	149
安田 慶秀 他 (北海道大学大学院医学研究科循環器外科)	
19. 大型血管炎 (バージャー病、高安動脈炎) の Health Related Quality of Life (HRQOL) の小委員会報告	155
大型血管炎小委員会 安田 慶秀 他 (北海道大学大学院医学研究科循環器外科)	
20. 日本人 ANCA 関連血管炎の遺伝素因の検討	170
徳永 勝士 他 (東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学)	
21. 高安動脈炎の新たな遺伝要因	185
小林 靖 (東京医科歯科大学大学院循環制御学)	
22. 自然発症モデルマウスにおける MPO-ANCA 産生感受性遺伝子の解析	188
濱野 慶朋 (順天堂大学医学部第二病理学)	
23. 血管炎合併 SLE 患者 T 細胞における TCR ζ 鎖 mRNA 3'UTR 異常の ζ 鎖タンパク発現 に対する影響	197
津坂 憲政 (埼玉医科大学総合医療センター第二内科)	
24. 新規 B7 分子、ICOS および PD-1 リガンドの機能解析	204
東 みゆき (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子免疫学分野)	
25. マウス ES 細胞からの樹状細胞分化誘導法の開発	208
西村 泰治 (熊本大学大学院医学研究科免疫識別学)	
26. HTLV-I 遺伝子導入ラットに認める壊死性血管炎の発症機序に関する研究	215
吉木 敬 他 (北海道大学大学院医学研究科分子病理学)	
27. 抗クロマチン自己抗体と血管炎病態の研究	222
金井 芳之 (東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター)	
28. 高安動脈炎における抗内皮細胞抗体 (抗 74 kDa 抗体) の対応抗原の同定	232
吉田 俊治 (藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科)	
29. 血管内皮細胞による抗体分子の貪食: 新たな血管障害機序としての位置づけ	235
能勢 真人 (愛媛大学医学部病理学第二講座)	
30. 低酸素・再酸素化関連分子と血管新生との関連性についての検討	243
由谷 親夫 (国立循環器病センター臨床検査部)	

31. マウス胚性幹細胞 (ES) 由来Flk1陽性細胞を用いたin vivo血管新生	247
鈴木 登他 (聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学)	
32. 機能的血管新生は複数の血管新生因子の協調的階層性により制御される	254
居石 克夫 (九州大学大学院医学研究院病理病態学)	
IV. 平成13年度研究成果に関する刊行物一覧	261
V. 平成13年度構成員名簿	283
VI. 平成13年度第一回班会議 プログラム	285
VII. 平成13年度第二回班会議(研究報告会)プログラム	287
VIII. 臨床個人調査票案(2001年改訂案)	295

〔 I 〕

総括研究報告

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

総括研究報告書

難治性血管炎に関する調査研究

主任研究者 橋本博史 順天堂大学医学部膠原病内科

研究要旨

1、病因・病態に関する研究成果

病因・病態発症機序を明らかにするために、確立されたモデル動物と難治性血管炎症例を用い遺伝的解析、分子生物学的解析等により以下の成果を得た。

1) MRL/lpr と(NZBxW)F1 マウスにそれぞれ血管炎感受性遺伝子とミエロペルオキシダーゼ(MPO)-ANCA 産生感受性領域の存在を明らかにした。

2) 血管炎の分子生物学的解析では、cDNA マイクロアレイを用いた包括的な遺伝子発現の解析に着手したこと、免疫反応に関わる新規 B7 ファミリー分子が血管炎類似疾患の病態に関与していること、血管炎を有する SLE 患者では mRNA の 3'UTR の異常が monomer 発現のみならず homodimer 発現も低下させている可能性のあること、ある種の抗体が血管内皮細胞に貪食され新たな血管炎発症機序の可能性のあること、血管炎に関連する新たな自己抗体として抗クロマトソーム抗体の存在、高安動脈炎にみられる抗内皮細胞抗体の対応抗原が熱ショック蛋白および ATPase に関連する分子と相同性のあること、腫瘍・創傷治癒・器質化血栓などの血管内皮に低酸素・再酸素化誘導分子の RA301/Tra2 β の発現、等を明らかにした。

3) 血管炎のモデル動物である env-pX ラットにみられる壊死性血管炎は、胸腺フレームワークにのみ env-pX 遺伝子を発現させたラットにも認められ、胸腺が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

4) Lewis ラットの胸部大動脈由来血管平滑筋細胞株を MRL/n マウスに免疫し樹立した CD4 陽性 T 細胞ラインは血管炎惹起性を有する細胞障害性 CD4 陽性 T 細胞であることを明らかにした。

5) 遺伝子治療および ES 細胞による血管新生の基礎的検討を行い、虚血肢に対する臨床応用の可能性を示唆した。

2、ANCA に関する研究成果

ANCA 関連血管炎の発症機序の解明と治療法の確立を目的として研究を進め、以下の成果を得た。

- 1) 半月体形成系球体腎炎を自然発症する SCG/Kj マウスは MPO-ANCA 関連血管炎の新しいモデルであることを示唆した。
- 2) ICSBP ノックアウトマウスを用い、MPO-ANCA 産生と好中球による血管炎の関与を検討した結果、前者では脾臓における好中球の不完全処理により MPO を放出し加齢と共に抗体の上昇をみるが、後者では血管炎発症に本遺伝子は関与せず別の機序に依存していることを示唆した。
- 3) MPA 患者の治療前後の好中球、リンパ球の遺伝子発現状態をマイクロアレイで検討した結果、好中球では JAK3 の発現が、リンパ球では CD9, Dek protein 等の発現が有意に減弱していることを認めた。
- 4) MPA 患者および MPO(p)-ANCA 陽性患者は HLA-DRB1*0901 と有意の相関を認めた。
- 5) 臨床的に用いられる ANCA 測定試薬は精度上良好であることを認めた。
- 6) EBM に基づき ANCA 関連血管炎の免疫抑制療法指針と感染症対策指針を作成した。
- 7) ANCA 関連血管炎の免疫能、真菌症の予知に抗 β グルカン抗体が有用であることを示唆した。
- 8) ANCA 関連血管炎の早期診断、早期治療の重要性を指摘した。
- 9) ANCA 関連血管炎では肺・腎以外の臓器症状をみる症例の存在を指摘した。

3、大型血管炎と中・小型血管炎の臨床に関する研究成果

- 1) 高安動脈炎の新たな遺伝要因として IKB 類似蛋白(IKBL1)として報告されている遺伝子プロモーター上の多型が相関していることを明らかにした。
- 2) 高安動脈炎の動脈炎部位診断に FDG-PET 法の有用性を示唆した。
- 3) 虚血肢の診断に皮膚灌流圧測定の有用性を示唆した。
- 4) 高安動脈炎の外科的成績は良好であるが、脳血流障害対策の重要性を指摘した。
- 5) 中・小型血管炎疾患の生命予後に関連する事項を多変量解析で明らかにすると共に、難治性病態を指摘した。
- 6) バージャー病患者の虚血肢に対して HGF の遺伝子治療を試み有効性を示唆した。
- 7) バージャー病の神経症状に葉酸と Vit B12 の有用性を指摘した。
- 8) 難治性血管炎患者の医療受給者調査を行った。
- 9) 難治性血管炎の診療マニュアルを作成した。

分担研究者：(所属・氏名) 北海道大学大学院医学研究科病態解析学・吉木敬、国立感染症研究所生体防御物質室・鈴木和男、東京大学大学院医学研究科人類遺伝学・徳永勝士、杏林大学第一内科・有村義宏、東京医科大学八王子医療センター腎臓科・吉田雅治、北海道大学大学院医学研究科循環器外科・安田慶秀、杏林大学第一内科・中林公正、順天堂大学膠原病内科・小林茂人、九州大学大学院医学研究科病理病態学・居石克夫、埼玉医科大学総合医療センター第二内科・津坂憲政、東京大学血管外科・重松宏、東京医科歯科大学第三内科・小林靖、国立循環奇病センター臨床検査部・由谷親夫、愛媛大学第二病理学・能勢真人、聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科・尾崎承一、東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター・金井芳之、順天堂大学第二病理学・濱野慶朋、聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学・鈴木登、川崎市立川崎病院内科・松岡康夫、藤田保健衛生大学感染症・リウマチ科・吉田俊治、大阪大学血管外科・川崎富夫、大阪大学大学院医学研究科加齢医学・森下竜一、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子免疫分野東みゆき、熊本大学大

学院医学研究科免疫識別学・西村泰治、順天堂大学衛生学・稲葉裕、京都大学大学院医学研究科理論疫学分野・福原俊一

A. 研究目的

難治性血管炎の成因と病態発症機序の解明を図り、その成果を臨床的診断と治療に還元し、さらなる患者の予後の改善とQOLの向上を目指すことを目的とする。

B. 研究方法

当研究班の対象とする疾患は多岐にわたるが、特に大型血管炎では高安動脈炎を、中・小型血管炎では抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎(顕微鏡的多発血管炎(MPA)、ウェゲナー肉芽腫症(WG)、アレルギー性肉芽腫性血管炎(AGA、チャージ・ストラウス症候群))の疾患に関する研究に重点をおいた。そして下記の研究テーマについて小委員会を設置し研究を進めた。1) 成因・病態発症機序の解明；確立された血管炎モデル動物と難治性血管炎症例を用いて成因と病態発症機序に関する遺伝学的解析、分子生物学的解析、遺伝子治療及びES細胞による血管新生の基礎的検討などを行った。2) 抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎に

関する研究；(1) MPO-ANCA 関連血管炎のモデルマウスを用いて病態発症機序の解析を行った。また、人の MPA 患者における好中球、リンパ球の遺伝子発現をマイクロアレイで検討した。(2) ANCA 関連血管炎の遺伝的解析を行った。(3) ANCA 測定法に関する検討を行った。(4) EBM に基づく ANCA 関連血管炎の治療に関する検討を行い治療指針を作成した。3) 大型血管炎と中・小型血管炎の臨床的研究；難治性血管炎の疫学、遺伝的解析、病態、診断、治療、QOL などに関する検討を行うと共に難治性血管炎の診療マニュアルを作成した。また、病因・病態に関する研究では横断的基盤研究班より、QOL 評価票作成では特定疾患に関する疫学研究班および特定疾患患者の QOL の判定手法の開発に関する研究班より研究協力者の参画を得て研究を進めた。さらに、ANCA 関連血管炎の遺伝的解析と ANCA の測定法の検討に際しては、別途 10 施設に共同研究を依頼し検体の供与を受けた。

(倫理面への配慮)

1) ヒトの遺伝子多型の解析では政府や科学技術会議で提唱されているヒトゲノム研究に関する基本原則に則り、各施設の倫理委員会の承認を得て行った。2) 倫理委員会の承認

のもと、疫学調査への協力ならびに検体の提供を受ける患者さんにはあらかじめその目的と方法を説明し同意を得た。3) 動物実験に際しては、あらかじめ実験計画書をしかるべき部署へ提出し審査を受け、その許可のもとで行った。

C. 研究結果及び考察

1) 病因・病態に関する知見

(1) 血管炎の発症・病態に関する遺伝子の解析

(NZBxW) F1xNZW 退交配マウスを用い、ヒト myeloperoxidase (MPO) とマウス MPO を標的とした MPO-ANCA 感受性遺伝子のマッピングを行った結果、マウス第 7 染色体のセントロメア側に MPO-ANCA 産生感受性領域の座位を同定した (ロッドスコア 2.2)。これはまた、同マウスの半月体形成性腎炎の感受性遺伝子とほぼ同位置であった。今後、このマウスに相同するヒトの遺伝子の解析が進められるものと思われる。

(2) 血管炎の発症・病態に関する新しい分子の解析

新しい B7 ファミリー分子 B7h, B7-H1 の血管内皮細胞 (HUVEC) における発現と機能について検討した。HUVEC により誘導される SEB 刺激 CD4 陽性 T 細胞の増殖反応は、B7h のリガンドである

ICOS(B7-RP1)に対する抗体で抑制されることから、ICOS-B7h が T 細胞と血管内皮細胞との相互反応に関与している可能性が示された。また、抗 B7 抗体投与によりサイトカイン産生の抑制、ICOS の投与で ongoing の免疫応答を抑制できる可能性がある。虚血および低酸素でのストレス応答を細胞レベルで解析した過程で、低酸素関連分子として ORP150 を、低酸素・再酸素化関連分子として RA301/Tra2 β を見いだした。これらの分子の発現形式は炎症と関連し血管病変の形成に関与していることが示唆されたが、後者は腫瘍・創傷治癒・器質化血栓などの血管内皮にも発現していることが示された。

(3) 血管炎の発症・病態に関与する自己抗体の解析

血管炎に関連する新たな自己抗体として抗クロマトゾーム抗体を見いだした。AECA について、臍帯静脈内皮細胞膜を抗原とした SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いた Western blot 法で測定したところ、抗 74kDa 抗体が高安動脈炎患者血清に高率に、かつ特異的に検出された。その対応抗原のアミノ酸分析では、熱ショック蛋白および ATPase に関連する分子と相同性の高い蛋白が同定された。

(4) 血管炎の発症・病態に関する

細胞性免疫異常の解析

HTLV-1 env-pX 遺伝子導入ラット(env-pX ラット)は血管炎発症モデル動物として確立したものであり、レトロウイルスの病因的関与が強く示唆されている。しかしながら、このラットにみられる血管炎はリンパ球などのエフェクター細胞のみの env-pX 遺伝子発現では発症しないことが明らかにされている。そこで、この env-pX ラットと同系正常ラットとの間で、胸腺置換と骨髄移植を組み合わせ、胸腺のフレームワークにのみ env-pX 遺伝子を発現するラットを作成したところ、このラットに壊死性血管炎の発症を認めた。従って、env-pX ラットの壊死性血管炎は、リンパ球が胸腺で分化する過程において、env-pX 遺伝子を発現する胸腺フレームワークを通過することにより、自己の血管構成成分に対する反応性を有した状態で末梢に出現するために発症する自己免疫疾患と考えられた。

Lewis ラットの胸部大動脈由来血管平滑筋細胞株を MRL/n マウスに免疫し、所属リンパ節細胞を in vitro で抗原提示細胞の存在下で血管平滑筋細胞抗原で刺激を繰り返し、CD4 陽性 T 細胞ライン(MV1)を樹立した。MV1 は血管炎惹起性を有する細胞障害性 CD4 陽性 T 細胞であることを明

らかにしたが、今後 MV1 の認識抗原の解析を行う予定である。

MRL/lpr マウスの脾細胞からクローニングした IgG3 抗体産生ハイブリドーマの抗体分子は HUVEC と共培養すると HUVEC の貪食機序により積極的に取り込まれ、少なくとも 2 つの貪食経路が存在することを明らかにした。この作用は血管炎の発症機序に関与する可能性を示唆した。

血管炎を有する SLE 患者 T 細胞では、短い 3'UTR をもつ鎖 mRNA が有意に多く発現しているために鎖 mRNA の安定性、輸送、あるいは局在に異常が生じ、鎖の発現低下が起こると考えられる。3'UTR の異常は鎖 monomer 発現だけでなく homodimer 発現も低下させることも示され、鎖 homodimer 形成が TCR-CD3 複合体に不可欠な過程であることから血管炎を合併する SLE 患者 T 細胞での鎖 mRNA 3'UTR 発現異常が病態と関連する可能性を示唆した。発現低下に伴うシグナル伝達異常によって活性化された VLA-4 などの接着分子により血管炎病態が惹起されている可能性がある。

(5) 遺伝子治療および ES 細胞による血管新生

バージャー病などにみられる重症虚血肢に対する遺伝子治療の開発を目的として、虚血動物モデルの虚血

肢を用いて組み換えセンダイウイルスベクター-FGF2 遺伝子を虚血肢の筋肉内に投与、ないし繊維芽細胞に導入した AxCAMAssbFGF 遺伝子を動脈内に投与することを試み有効性を示唆する所見を得た。マウス ES 細胞から Flk1(VEGF receptor)陽性細胞を分化誘導し、静脈内に投与することで in vivo で血管を新生させることが可能となった。

2) ANCA 関連血管炎に関する知見

(1) ANCA の基礎的検討

半月体形成系球体腎炎を自然発症する SCG/Kj マウスの病態を解析し、MPO 易放出性と NPO-ANCA 値、組織の活動性、半月体形成と正の相関を、O₂-産生能は半月体形成と負の相関を認め、好中球 MPO と O₂-は腎炎発症、進行に関与することを明らかにした。ICSBP ノックアウトマウスを用い MPO-ANCA 産生と好中球による血管炎の関与を検討した結果、前者では脾臓における好中球の不完全処理により MPO を放出し加齢と共に抗体の上昇をみるが、後者では血管炎発症に本遺伝子は関与せず別の機序に依存していることを示唆した。MPO 患者の治療前後の好中球、リンパ球の遺伝子発現状態をマイクロアレイで検討した結果、好中

球では JAK3 の発現が、リンパ球では CD9, Dec protein, L-selectin, precursator, CD11c の発現が有意に減弱しており病因病態に關与する遺伝子候補として考えられた。

(2) ANCA 関連血管炎の遺伝子解析

MPA は HLA-DRB1*0901 と有意の正の相関を認めた($p=0.001$, $P_c=0.022$, odds'ratio 2.96)。また、DRB1*0901 との関連は MPA 以外の疾患を含めた pANCA 陽性者の解析においても認められた。一方、TNFA5'flanking region, TNFR2, Fc γ RIIa,IIb,IIIa,IIIb については有意の相関を認めなかったものの、pANCA 陽性者における Fc γ RIIIb-NA2/2 遺伝子型の減少傾向が検出された($p=0.06$)。

(3) ANCA 測定法に関する検討

現在臨床的に用いられている市販 ANCA 測定試薬(MPO-ANCA 試薬 3 種類、PR3-ANCA 試薬 4 種類)の精度、臨床的有用性について検討し、同時再現性、希釈試験、日差再現性の変動係数(CV)が国際的ガイドラインの基準(20%以下)を満たし良好であることを認めた。

(4) ANCA 関連血管炎の治療に関する検討

evidence based medicine(EBM)に基づき ANCA 関連血管炎における

免疫抑制療法の有用性を検討した。その結果、免疫抑制薬使用例は有意に軽快例が多く、特にステロイド薬とシクロフォスファミド(CP)の経口投与ないし CP のパルス療法は寛解率が高く、生命予後も良好で、寛解維持にも有用であることを明らかにした。また、CP のパルス療法は CP の経口投与に比べ副作用が少ないと考えられた。合併症として呼吸器感染症、特に肺真菌症に対する対策が重要と考えられた。カンジタ細胞壁 β グルカンに対する抗体(抗 CSBG 抗体)価は深在性真菌症の予知に有用であることを示唆した。また、全国疫学調査を解析し感染症のリスク因子を明らかにした。これらをもとに ANCA 関連血管炎の免疫抑制療法指針と感染症対策指針を作成した。

(5) ANCA 関連血管炎の臨床的検討

ANCA 関連血管炎の早期診断早期治療の重要性を再確認すると共に、予後因子を明らかにした。MPO-ANCA 関連血管炎の治療前後におけるサイトカイン、可溶性分子の検討を行い、TNF α ,IL-6,sCDL などの治療による低下を認めたが、病態による特異性は認められなかった。ANCA 関連血管炎では肺・腎以外の臓器病変をみる症例が存在することを認めた。

3) 大・中・小型血管炎の臨床に関する知見

(1) 疫学

大・中・小型血管炎に含まれる疾患のの新規患者数を明らかにした。

(2) 遺伝的解析

高安動脈炎について HLA 遺伝子群周囲の 5 つのマイクロサテライトを用いてリンケージ解析を行った結果すでに相関が明らかにされている HLA-B 遺伝子に加えて、HLA 遺伝子近傍の IKB-like 蛋白のプロモーター上の多型と有意の相関を認めた。

(3) 診断に関する検討

高安動脈炎の動脈炎部位診断に FDG-PET 法の有用性を示唆した。虚血肢の診断に皮膚灌流圧測定が有用であった。

(4) 治療に関する検討

バージャー病などにみられる重症虚血肢に対する遺伝子治療の開発を目的として、虚血動物モデルの虚血肢を用いて組み換えセンダイウイルスベクター(SeV)FGF2 遺伝子を虚血肢の筋肉内に投与、ないし繊維芽細胞に導入した AxCAMAssbFGF 遺伝子を動脈内に投与することを試みた。その結果、いずれも有効性を示唆す

る所見が得られ遺伝子治療の可能性を示した。さらに、4名のバージャー病患者の虚血肢に対して血管新生因子の一つである肝細胞増殖因子(HGF)遺伝子導入による治療の試みを開始した。

バージャー病の神経症状に葉酸と Vit B12 が有用である症例が存在した。

(5) 予後に関する検討

中・小型血管炎疾患患者の生命予後に関する事項を疾患毎に多変量解析で明らかにした。

高安動脈炎の外科的手術成績は良好であるが、脳血流障害の対策が重要と考えられた。

(6) その他

難治性血管炎の診療マニュアルを作成した。

D. 結論

以上より、新しい多くの知見が得られ臨床に還元されると考えられるが、積み残された重要な研究途上の課題も多く、更なる研究の継続が必要と考えられる。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takasaki Y, Kogure T, Takeuchi K, Kaneda K, Yano T, Hirokawa K, Hirose S, Shirai T, Hashimoto H. Reactivity of anti-proliferating cell nuclear antigen (PCNA) murine monoclonal antibodies and human autoantibodies to the PCNA multiprotein complexes involved in cell. J Immunol, 166: 4780-4787, 2001

2. Ogasawara H, Naito T, Kaneko H, Hishikawa T, Sekigawa I, Hashimoto H, Kaneko Y, Kaneko Y, Yamamoto N, Maruyama N, Yamamoto N. Quantitative analyses of messenger RNA of human endogenous retrovirus in patients with systemic lupus erythematosus. J Rheum, 28: 533-538, 2001

3. Tajima M, Haruta K, Kobayashi S, Tamura N, Hashimoto H. Pentoxifylline induces the shedding of L-selectin on polymorphonuclear cells by stimulation via adenosine receptor as well as by the inhibition of phosphodiesterase. Mod Rheumatol, 11: 65-71, 2001

4. Haruta K, Kobayashi S, Tajima M, Sakai A, Tamura N, Bando H, Hara M, Kawashima, Takasaki Y, Hashitomo H. Effect of immune complexes in serum from patients with rheumatoid vasculitis

on the expression of cell adhesion molecules on polymorphonuclear cells. Clin Exp Rheum, 19: 59-68, 2001

5. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K. Presence of four major haplotypes in human BCMA gene: lack of association with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.

Genes and Immunity, 2: 276-279, 2001

6. Morimoto S, Tokano Y, Kaneko H, Nozawa K, Amano H, Hashimoto H

The increased interleukin-13 patients with systemic lupus erythematosus: relations to other th1-th2-related cytokines and clinical findings. Autoimmunity, 34: 19-25, 2001

7. Fujinaga H, Takeuchi K, Kaneda K, Takasaki Y, Hashimoto H. Analysis of autoantibodies to cell cycle-associated antigens. Mod Rheumatol, 11: 222-229, 2001

8. Kawaguchi R, Takasaki Y, Hirokawa K, Takeuchi K, Kaneda K, Hashimoto H. Characterization of autoantibodies to 60-kD SS-A, 52-kD SS-A and SS-B in Japanese lupus mothers with neonatal lupus syndrome.

日臨免会誌, 24(6): 291-302, 2001

9. Nozawa K, Ohata J, Sakurai J, Hashimoto H, Miyajima H, Yagita H, Okumura K, Azuma M. Preferential blockade of CD8+ T cell responses by

- administration of Anti-CD137 ligand monoclonal antibody results in differential effect on development of murine acute and chronic graft-versus-host diseases. *J Immunol*, 167: 4982-4986, 2001
10. Tamura N, Kobayashi S, Kato K, Bando H, Haruta K, Oyanagi M, Kuriyama M, Kipps T J, Hashimoto H. Soluble CD154 in rheumatoid arthritis: elevated plasma levels in cases with vasculitis. *J Rheum*, 28(12): 2583-3590, 2001
11. Suzuki J, Morimoto S, Amano H, Tokano Y, Takasaki Y, Hashimoto H. Serum levels of interleukin 15 in patients with rheumatic diseases. *J Rheum* 28(11): 2389-2391, 2001
12. 橋本博史, 吉木 敬, 鈴木和男, 徳永勝士, 有村義宏, 吉田雅治, 沼野藤夫, 安田慶秀, 中林公正, 小林茂人, 居石克夫, 津坂憲政, 中島伸之, 重松 宏, 小林 靖, 由谷親夫, 能勢真人, 尾崎承一, 金井芳之, 濱野慶明, 鈴木 登, 松岡康夫, 吉田俊治, 川崎富夫, 森下竜一, 東 みゆき, 西村泰治, 稲葉 裕, 福原俊一. 厚生労働省厚生科学特定疾患・難治性血管炎に関する調査研究報告. *日臨免会誌*, 24(6): 336-346, 2001
13. Sekigawa I, Matsushita M, Lee S, Maeda N, Ogasawara H, Kaneko H, Iida N, Hashimoto H. A possible role of CD8+ T cells and their derived cytokine, IL-16, in SLE. *Autoimmunity*, 33: 37-44, 2001
14. Sekigawa I, Ogasawara H, Kaneko H, Hishikawa T, Hashimoto H. Retroviruses and autoimmunity. *Internal Med*, 40(2): 80-86, 2001
15. 橋本博史, 慢性関節リウマチと血管炎. *カレントセラピー*, 19(4): 40-43, 2001
16. 戸叶嘉明, 橋本博史. ループス腎炎の病型と予後. *リウマチ科*, 25(3): 185-189, 2001
17. 橋本博史. ANCA と血管炎症候群. *内科*, 87(6): 1418-1423, 2001
18. 橋本博史. 血管炎症候群. *臨床医*, 27: 1830-1836, 2001
19. 橋本博史. 膠原病に用いられる免疫抑制剤. *Pharma Medica*, 19(7): 45-51, 2001
20. 狩野庄吾, 橋本博史. 血管炎症候群-分子レベルの解析から臨床まで (司会者のことば). *日内会誌*, 90(9): 1687, 2001
21. 小林茂人, 矢野哲郎, 海老塚岳彦, 吉田雅治, 中林公正, 松本美富士, 橋本博史. 血管炎症候群の基本的疫学像と治療・予後. *日内会誌*, 90(9): 1708-1712, 2001
22. 橋本博史. 慢性関節リウマチの最新治療. *あいみっく*, 22(4): 9-14, 2001
23. 橋本博史. 血管炎. *Mebio* 18: 101-109, 2001
24. 橋本博史. EBM に基づく臨床データブック-血管炎症候群. *臨床医* 27: 920-926, 2001

2. 学会発表

1. 小林茂人, 田嶋美智子, 春田一彦, 田村直人, 橋本博史. 好中球の L-selectin に対する Pentoxifylline の影響についての検討. 厚生

科学研究研究費補助金特定疾患対策研究事業
難治性血管炎に関する調査研究 平成 12 年度
総括研究報告書: 137-143, 2001

2. 橋本博史, 矢野哲郎, 吉田雅治, 小林茂人,
居石克夫, 津坂憲政, 中林公正, 尾崎承一,
松岡康夫, 鈴木 登, 稲葉 裕. 多発性動脈
炎の病像の比較-1984 年・95 年・98 年の全
国調査より. 厚生科学研究研究費補助金特
定疾患対策研究事業 難治性血管炎に関する
調査研究 平成 12 年度総括研究報告書 :
238-251, 2001

3. Kobayashi S, Tamura N, Ikeda M, Yano
T, Matsumoto Y, Hashimoto H.
Clinical and epidemiological analysis of
giant cell (temporal) arteritis from a
nationwide survey in 1997 in Japan. The
first goverment supported nationwide.
Arthritis Rheum, 44: S59,2001

4. Matsushita M, Takeuchi K, Yamada H,
Matsudaira R, Kaneda K, Nawata M,
Ikeda K, Takasaki Y, Hashimoto H.
Autoimmune response to proteasome
activator 28 alpha (PA28 α) in patients
with connective tissue diseases. Arthritis
Rheum, 44: S76,2001

5. Fukazawa T, Morita Y, Hirasahima M,
Hashimoto H. Immunological study of
children born to mother with systemic
lupus crythematosus (SLE). Arthritis
Rheum, 44: S100,2001

6. Kyogoku C, Dijkstra H D, Tsuchiya
N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi
A, Fukazawa T, Jansen M D, Hashimoto H,

GJ van de Winkel J, Kallenberg C G,
Tokunaga K. Association of Fcg receptor
gene polymorphisms in the japanese
patients with SLE: Independent
contributions from FCGR2B and FCGR3A.
Arthritis Rheum, 44: S179, 2001

7. Tasakaki Y, Murakami A, Kojima K,
Ohya K, Mamura K, Hashimoto H.
Detection of anti-U1 RNP antibodies
using the complex reconstituted by U1
RNA and recombinant proteins of U1 RNP.
Arthritis Rheum, 44: S305, 2001

8. Takasaki Y, Kaneda K, Takeuchi K,
Matsudaira R, Ikeda K, Yamada H,
Matsushita M, Hashimoto H. Analysis of
the structure of proteasome-PCNA
multiprotein complex and its autoimmune
response in lupus patients. Arthritis
Rheum, 44: 1517,2001

9. Seki M, Yokobori T, Abe K, Yasuda M,
Asakawa J, Hashimoto H.

The analysis of the arteriosclerosis by the
doppler echo in the collagen disease
patient. The 20th congress of the
international league of associations for
rheumatology, Aug 28th, Canada, 2001

10. 橋本博史, 免疫難病研究の現況、難治性
血管炎に関する調査研究、第 29 回日臨免学
会、大阪、2001,12.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実案新案登録

なし

〔Ⅱ〕

抄 録

臨床調査個人票を用いた高安動脈炎(大動脈炎症候群)の臨床疫学像

稲葉 裕

順天堂大学医学部衛生学

特定疾患対策研究事業によって 1999 年度に高安動脈炎(大動脈炎症候群)で医療費公費負担を受けた者の臨床調査個人票 3,787 人が都道府県より特定疾患対策研究事業難治性血管炎に関する調査研究班に届き、データベース化された。今回、臨床調査個人票に記載されている症例の基本属性と自覚症状及び検査結果などから、その臨床疫学像を示したが、いくつかの項目は不明の割合がかなり高かった。また、疫学班が実施した 97 年度の受給者調査結果や臨床班が実施した全国病態調査結果と可能な項目について比較した。

平成 13 年度より、臨床調査個人票は各都道府県で電子化されることになり、それに伴い大動脈炎症候群の診断基準と臨床調査個人票も改訂された。今後は信頼性の高いデータが集まり、有用なデータとして利用されることが期待される。

中・小型血管炎の免疫抑制剤使用と生命予後に関する統計学的調査成績

中・小型血管炎の疫学・予後に関する小委員会
中林 公正 杏林大学第一内科

目的：対象疾患は、古典的PN、顕微鏡的多発動脈炎(MPA)、Wegener肉芽腫症(WG)、アレルギー性肉芽腫性血管炎(AGA)、悪性関節リウマチ(MRA)である。各疾患の免疫抑制剤の使用の有無による生命予後を、統計学的に検討した。

方法：1998年の全国調査症例で、Kaplan-Meier法と χ^2 検定にて生命予後を解析した。

成績：上記5疾患で、免疫抑制剤の併用治療群が併用治療無群よりも、生命予後が優れていた。特に、古典的PNは全経過で、MPAは発症初期の3ヵ月以内と発症後4~5年目に、免疫抑制剤併用治療群で優位差が認められた。しかし、此等以外の疾患では、その優位性もそれ程著しいものではなかった。

結語：中・小型血管炎で、免疫抑制剤併用治療により生命予後は改善されたが、統計学的有意差は著しいものではなかった。

血管炎病態に關与するMPO-ANCAおよび好中球機能：動物モデルを用いた解析

鈴木 和男 国立感染症研究所 生物活性物質部

血管炎の発症に關連する血清中のMPO-ANCA値、その対応分子MPOの性状および好中球機能を解析した。血管炎にMPO-ANCAがどの様に關与しているかを解明するため、MPO遺伝子欠損マウスを作製した。その解析から、MPO-ANCAが血管炎進行に關わり、また、MPO-ANCA産生にMPOが主要な抗原の一つになっていることを示した。この結果から、MPOがMPO-ANCA抗原になり、また、血管炎進行に關与することを明らかにした。また、好中球異常を示す転写因子IRF-8/ICSBPの欠損マウスでもMPO-ANCAが加齢とともに上昇し、好中球異常がMPO-ANCA産生にも關与することを認めた。一方、血管炎、腎炎の発症への好中球の關与を明らかにする目的で、半月体形成性糸球体腎炎を高率かつ急速に自然発症するSCG/KJマウスを用い解析し、腎炎の発症、進行の初期段階(尿たんぱく300mg/dl以下)の末梢好中球が無刺激でMPOの易放出性を示し、活性化状態になっていることを示した。また、ヒト好中球ライソゾーム酵素MPO放出を阻害するアセアノスタチンをマウスの好中球に作用させたところ無刺激MPO放出を阻害したことから、腎炎の治療評価として応用できる可能性が示唆された。

ANCA 関連血管炎における病態とサイトカインとの関連についての検討

橋本博史 順天堂大学膠原病内科

【目的】ANCA 関連血管炎とサイトカイン等の生理活性物質との関連について検討する。【方法】MPO-ANCA 陽性血管炎患者で腎障害、間質性肺炎、多発性単神経炎の症状を認めた 18 名の患者血清において MPO-ANCA、TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、IL-1 β 、sCD40L を ELISA 法により測定、治療前後での値についても比較した。【結果】18 症例の平均は MPO-ANCA 290.1U/ml、IL-6 55.1pg/ml と上昇を認めた。治療前後では TNF- α が 12.7 から 6.3pg/ml、IL-6 が 43.1 から 13.1pg/ml、sCD40L は 14.0 から 2.5ng/ml へと低下を認めた。病態の違いによるサイトカインの有意な差は認めなかった。【考案】ANCA 関連血管炎の病態により特異なサイトカインの影響は認められなかったが、症状改善と共にサイトカインの低下が認められ、血管炎活動性の指標になる可能性、及び抗サイトカイン療法の可能性が示唆された。

顕微鏡的多発血管炎(MPA)患者の治療前後の好中球、リンパ球の遺伝子発現状態の検討

小林茂人 順天堂大学膠原病内科

目的：MPA 患者の治療前後の好中球およびリンパ球の遺伝子発現状態を microarray にて検討した。**方法：**初発 MPA 患者 4 症例の治療前、治療後にリンパ球、好中球を分離、それぞれの RNA を抽出し、プールした RNA を cDNA microarray にて、約 400 の遺伝子発現状態を検討した。同時に、血漿中のサイトカインなどを測定した。**結果：**好中球では JAK3 の発現が治療後に減弱した。リンパ球では、CD9, Dek protein, L-selectin precursor, CD11c の発現が有意に減弱した。**考案：**MPA 患者の治療前後の好中球およびリンパ球の遺伝子発現状態を検討することにより、活動期血管炎のリンパ球、好中球における病因・病態に関与すると考えられる遺伝子候補が得られた。

MPO-ANCA 関連血管炎の臨床像の変遷

有村義宏 杏林大学第一内科

ANCA 測定が本邦で導入され約 14 年が経過した。この間、ANCA 関連血管炎の疾患概念が確立され、さらに 1998 年 10 月には、MPO-ANCA 測定が ANCA 関連血管炎の重症型である急速進行性腎炎症候群の保険適用検査となった。今回、我々は自験 MPO-ANCA 関連血管炎 67 例を保険適用検査導入前後の 2 つの時期（Ⅰ期、Ⅱ期）に分け、その臨床像・予後について検討した。

その結果、MPO-ANCA 関連血管炎は、早期発見例が増え、透析導入率（Ⅰ期 30.6%、Ⅱ期 6.2%）短期死亡率（Ⅰ期 26.5%、Ⅱ期 6.2%）と改善を認めた。しかし、依然として MPO-ANCA 関連血管炎の死亡率は高く、その予後改善には、一層の疾患概念の普及、早期診断および治療法の検討、特に免疫抑制療法への適応、使用法の工夫が必要と思われた。

ANCA 関連血管炎の免疫能、真菌症併発を抗β-グルカン抗体は予知しうる

吉田雅治 東京医大八王子医療センター 腎臓科

【目的】ANCA 関連血管炎（AAV）は、感染症死が最も多く対策の確立が急務である。そこで、AAV の感染の予知および宿主の免疫能の指標の一つとして、抗βグルカン抗体の測定系を樹立し、臨床的意義を検討した。**【方法】**可溶化したカンジダ細胞壁βグルカンを抗原とした抗体（抗CSBG抗体）をELISAにより測定した。健常人 22 名、RA 77 例、AAV 35 例を対象とした。**【結果】**抗CSBG抗体は、βグルカンの直鎖β-1、6構造を認識し、特異的免疫反応を抑制試験により確認し得た。抗CSBG抗体力価は健常人が 5526 ± 1685 U に比較し、RA は 838 ± 546 U、未治療活動期 AAV は 687 ± 543 U、治療後 AAV は 533 ± 432 U であった。抗CSBG抗体を AAV で経時的に測定すると、寛解例は抗CSBG力価が上昇するのに比較し、深在性真菌症併発時には抗CSBG力価が低下した。**【結論】**AAV の抗βグルカン抗体測定は、宿主の免疫能および深在性真菌症の併発時の予知に臨床上有用である。

抗好中球細胞質抗体（ANCA）関連血管炎予後因子の検討

橋本博史 順天堂大学膠原病内科

特定疾患に関する疫学研究班が平成 10 年度に行なった ANCA 関連血管炎の全国調査において、「診断不詳」の予後についてロジスティック解析の手法により、その予後規定因子と他疾患群との比較を行なった。「診断不詳」の概要は、年齢 59.5 ± 17.6 （平均 ± 標準偏差）歳、男女比 1:1.5（男性 72 例、女性 105 例）であった。予後不良（死亡あるいは急速悪化）の有無との検査値異常との相関をみたところ、高尿素窒素血症、高クレアチニン血症、LDH 高値、低血色素、蛋白尿、細胞性円柱などが相関した。治療の効果についてはステロイドパルス療法の効果との相関が認められたが、その他の治療法の効果、あるいは有無と予後との有意の相関は認められなかった。