

図1 病態によるサイトカインの比較
(腎症の有無による比較)

図2 病態によるサイトカインの比較
(肺・腎症の有無による比較)

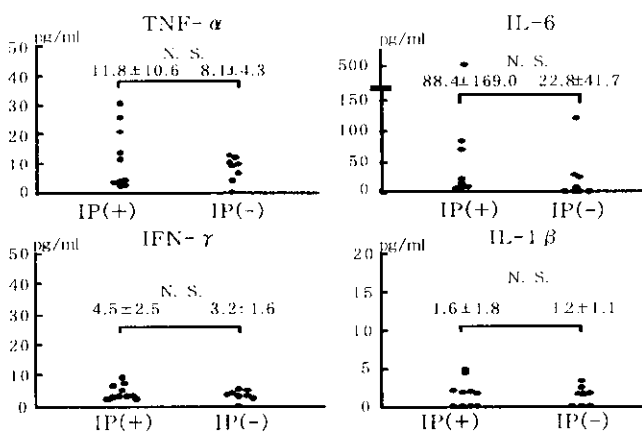


図2 病態によるサイトカインの比較
(間質性肺炎の有無による比較)

図1～3：MPO-ANCA陽性MPAの各病態により各サイトカインを比較したが、IL-6が非肺腎型で肺腎型に比較し高値であった他は、病態による有意差は認めなかった。

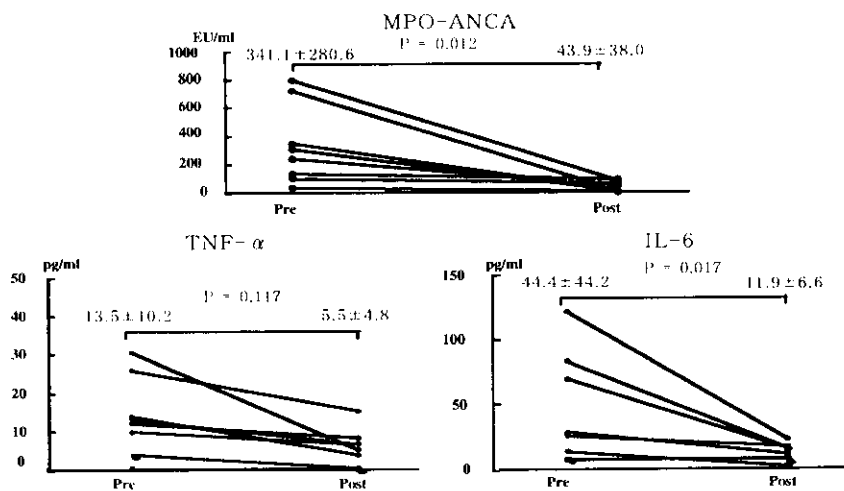


図4 MPA患者の治療前後でのMPO-ANCA, TNF- α , IL6の値
8症例のMPA患者における治療前後での比較では、MPO-ANCA、IL-6ともに有意な低下を認めた。TNF- α は有意差は認めなかったがすべての症例で低下を認めた。

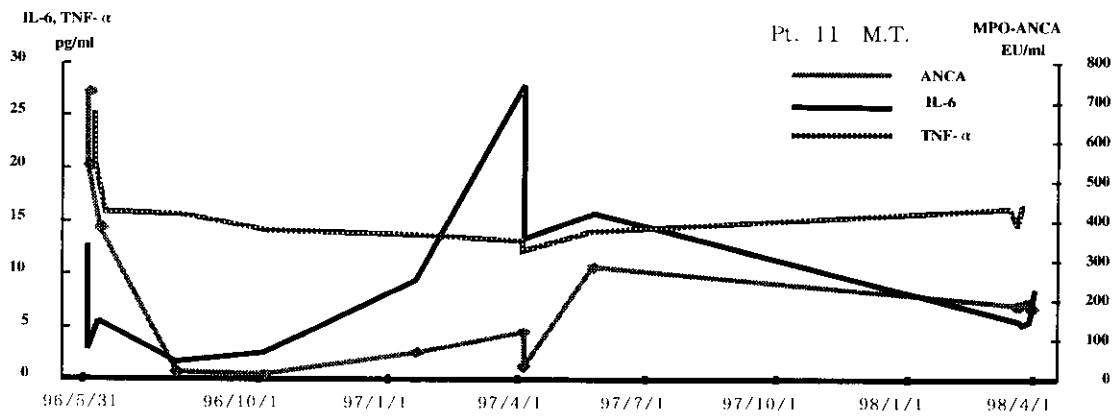


図5 MPA患者におけるMPO-ANCAとTNF- α 、IL-6の推移

MPO-ANCAとともにサイトカインの経過を追った症例のIL-6、TNF- α の値の推移だが、TNF- α は経過中高い値を示し、IL-6はMPO-ANCAの動きとともに上昇が認められている。

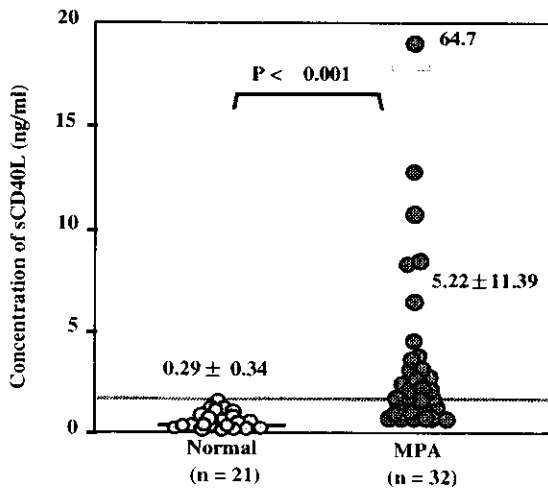


図6 MPA患者における血漿中sCD40L値

MPA患者のsCD40Lの値は正常対照群と比較し、有意に高値である。

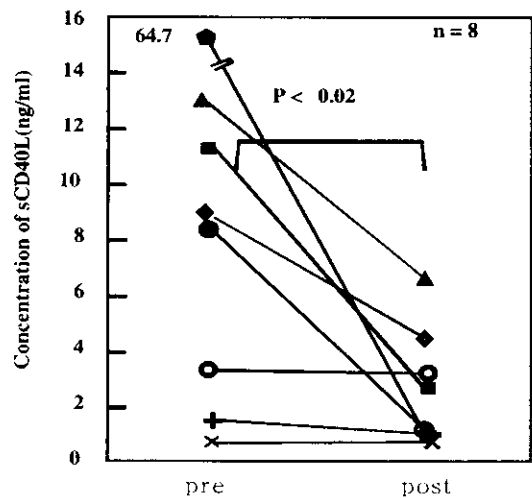


図7 MPA患者における治療前後でのsCD40L値

治療前後でのsCD40Lの値を比較すると、治療後に有意に低下を認め、特に高値の例で顕著に低下している。

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

分担研究者 小林茂人

研究協力者 池田 真¹⁾、吉田雅治²⁾、田嶋美智子³⁾、木田一成¹⁾、田村直人¹⁾、
長岡 功³⁾、橋本博史¹⁾

順天堂大学医学部膠原病内科¹⁾、東京医科大学八王子医療センター腎臓科²⁾、

順天堂大学医学部第二生化学³⁾

研究要旨

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 4 0 0 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。

A. 研究目的

抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎の発症機序として、ANCA-cytokine sequence 説が知られている¹⁾。血管炎発症の際、実際に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は、MPA の病態を考える上で非常に重要である²⁾。今回、MPA 患者 4 例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。

B. 研究方法

初発の MPA 患者 4 症例について治療前および治療後にリンパ球、好中球を分離、それぞれの RNA を抽出し、治療前後のプールした mRNA を cDNA microarray (クロンテック社 Human Atlas Array) を用いて、約 400 の遺伝子の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。

MPA 患者の profile は、症例数 4 名、男女比 1:1 平均年齢 67.5 歳 (52-81 歳)、Microscopic polyangiitis の病型は、全身型 1 例、肺型 1 例、腎型 2 例)であった。治

療内は steroid pulse 3 case、エンドキサン (EDX) は 2 症例 (パルスも含む)、血漿交換および血液透析が 1 例であった。治療前後の検査所見は CRP 10.0→0.5 mg/dl、ESR 116→34/mm³、WBC 13075→9305/mm³、MPO-ANCA 253→34.5 EU/ml、creatinine 3.2→2.2 mg/dl と治療効果を示した (表 1)。

C. 研究結果

cDNA microarray の結果の一部を図 1 に示した。治療前後にて、ここに示す遺伝子の反応が低下したことを表している (duplicate にて実験を行っている)。すべての遺伝子を解析した結果、好中球では Jak3³ の発現が治療後に減弱した。リンパ球では、CD9⁴、Dek protein⁵、L-selectin precussor、CD11c の発現が治療後に有意に減弱した (表 2)。

D. 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。Jak3 は janus family tyrosine kinase であり、cytokine の signal transduction などに関与している。CD9 は tetraspan molecule であり、beta-1 integrin や MHC 抗原に認められ、細胞接着・遊走、signal transduction など関与している。Dek protein は核抗原であり、SLE などで、この抗原に対する自己抗体の存在が報告されている。

治療後において L-selectin precussor、CD11c 遺伝子の発現が低下し、これは当初から予想された結果であり、実験系の信頼性の傍証と考えられた。今後、定量的 RT-PCR などにより、これらの遺伝子の発現レベルを再確認し、検体数を増やして検討する予定である。また、個々の症例で、病型・治療・予後などの条件と遺伝子発現の状態を検討することによって、病状、予後の把握、治療内容の予測など臨床の現場に研究結果を生かすことができれば良いと考えている。

E. 結論

好中球では JAK3、リンパ球では、CD9、Dek protein、L-selectin precussor、CD11c が治療前後で変化し、以上の遺伝子が MPA 急性発症期に関与していることが推定された。

E. 参考文献

1. Gross WL, Schmitt WH, Csemok E. ANCA and associated diseases: immunodiagnostic and pathogenetic aspects. Clin Exp Immunol 1993;91:1-12.
2. W.-J. Mayet, A. Schwarting, A. P. Barreiros, J. Schlaak and M. Neurath. Anti-PR-3 antibodies induce endothelial IL-8 release. Eur J Clin Invest 29 (11) 973-979
3. Malaviya R, Navara C, Uckun FM. Role of Janus kinase 3 in mast cell-mediated innate immunity against gram-negative bacteria. Role of Janus kinase 3 in mast cell-mediated innate immunity against

gram-negative bacteria. *Immunity* 2001 Aug;15(2):313-21

4. Zola H. Markers of cell lineage, differentiation and activation. Markers of cell lineage, differentiation and activation. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2000 Jul-Sep;14(3):218-9.

5. Dong X, Michelis MA, Wang J, Bose R, DeLange T, Reeves WH. Autoantibodies to DEK oncoprotein in a patient with systemic lupus erythematosus and sarcoidosis. *Arthritis Rheum* 1998 Aug;41(8):1505-10

F. 健康危害情報

なし

G. 論文発表

1) Tamura N, Kobayashi S, Hashimoto H. Anricardiolipin antibody in post streptococcal reactive arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2002 (in press).

2) Tamura N, Kobayashi S, Kato K, Bando H, Haruta K, Oyanagi M, Kuriyama M, Kipps TJ, Hashimoto H. Soluble CD154 in rheumatoid arthritis: elevated plasma levels in cases with vasculitis. *J Rheumatol*. 2001 Dec;28(12):2583-90.

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

on the expression of cell adhesion molecules on polymorphonuclear cells. *Clin Exp Rheumatol*. 2001 Jan-Feb;19(1):59-68.

4) 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* 2001 11:65-71.

5) Kobayashi S, Yano T, Ebisuka T, Yoshioda M, Nakabayashi K, Matsumoto Y, Hashimoto H. Recent clinico-epidemiological manifestations of primary vasculitides. *Intern Med* 2002;41(1):49-51.

6) 藤井猛士・田村直人・池田真・栗山磨紀代・海老塚岳彦・田嶋美智子・鍾 彬彬・秋元智博・小林茂人・橋本博史. 慢性関節リウマチにおける血清中マトリックスメタロプロテアーゼ-3(MMP-3)測定の診断的有用性に関する検討. *リウマチ科* 2001; 26(1):97-104.

7) 藤井猛士、小林茂人. 血管炎症候群の治療、内科、2001、89(2)283-287.

8) 浅川順一、小林茂人、橋本博史. 診断の実際 膠原病を疑い、診断しえたケース 慢性関節リウマチ、臨床と薬物治療 2001. 20(6):601-603.

9) 栗山磨紀代、小林茂人. 多臓器疾患としてのRA RAと血管炎. 多臓器疾患としてのRA RAと血管炎. *Medicina*, 2001, 38(3),410-413.

10) 吉田雅治,小林茂人,橋本博史. 自己免疫疾患 血管炎症候群. 最新医学, 2001, 55,1466-1472.

11) 小林茂人. 血管炎症候群 分子レベルの解析から臨床まで 血管炎症候群の基本的疫学像と治療・予後, 日本内科学会雑誌,2001, 90:84-85.

12) 小林茂人. 他の膠原病の伴う血管炎の病態と治療, 最新医学 2000.55:2706-2711.

13) 栗山磨紀代・小林茂人. RA と血管炎. Medicina, 2001, 38 (3):410-414.

報告

1) Akimoto K, Kobayashi S, Kawano T, Bando H, Tamura N, Tanaka M, Osawa T, Hashimoto H. Antiphospholipid antibodies and risk factors in patients with systemic lupus erythematosus —multivariate analysis. The 4th Korea-Japan Combined Meeting of Rheumatology. March 25th,2001 Hongo, Tokyo.

2) Shigeto Kobayashi, Naoto Tamura, Makoto Ikeda, Tetsuro Yano, Yoshifuji Matsumoto, Hiroshi Hashimoto. Clinical and epidemiological analysis of giant cell (temporal) arteritis from a nationwide survey in Japan in1997.: the first government supported nationwide survey. ACR 65th Annual Scientific meeting, San Francisco,2001

3) Kobayashi S, Yano T, Matsumoto Y, Yosida M, Nakabayashi K, Hashimoto H.

Clinical and epidemiological analysis of the patients with ANCA-associated vasculitis from a nationwide survey. 第45回日本リウマチ学会総会・学術集会、4月、東京、2001

4) 井上恵美、岡崎宇宏、戸叶嘉明、小林茂人、橋本博史. 赤芽球瘍を合併したSLEの一例、第11回膠原病リウマチ懇談会 平成13年6月2日

5) 藤井猛士、岡崎宇宏、深沢徹、田中光彦、戸叶嘉明、小林茂人、高崎芳成、橋本博史. 血小板減少、ネフローゼ症候群を呈した Castleman 病を合併したシェーグレン症候群の剖検例、第494回日本内科学会関東地方会 平成13年10月13日

6) 河本敏雄、藤井猛士、深沢徹、戸叶嘉明、小林茂人、橋本博史. 赤芽球瘍(PRCA)を認めたSLEの一症例、第12回日本リウマチ学会関東地方会 H13年12月8日

7) 駿河幸男,金田和彦,田村直人,戸叶嘉明,小林茂人,高崎芳成,橋本博史,坂本直人,小林修,佐藤信紘. 関節炎症状が先行し,経過中に Crohn 病が発症した Sjogren 症候群の一例, 日本内科学会関東地方会 490 回,2001,17 .

8) 金井美紀,小林茂人,竹内健,戸叶嘉明,津田裕士,高崎芳成,橋本博史.慢性関節リウマチの治療:DMARDs の追加療法・併用療法 抗リウマチ剤(DMARDs)の併用療法の副作用頻度の検討. :リウマチ 2001. 41(2):274 .

9)金井美紀、小林茂人、竹内 健、戸叶嘉明、津田裕士、高崎芳成、橋本博史. 抗リウマチ剤(DMARDs)の併用療法の副作用頻度の報

告. 第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集
会、4月、東京、2001

10) 木村 桂、近藤伊都子、梁 広石、田村
直人、加藤和則、小林茂人、津田裕士、橋本
博史. SLE の sCD154 の検討, 第 29 回日本
臨床免疫学会総会,大阪、平成 13 年.

11) 小林茂人. 全国膠原病友の会の求めるよ
りよい医療;医師かわのコメント.

都民公開講座: リウマチ・膠原病のよりよい
医療を目指して、平成 13 年 5 月 16 日 京
王プラザホテル エミネンス ホール

12) 栗山磨紀代、田村直人、池田 真、小林
茂人、梁 広石、津田裕士、橋本博史. 全身
性エリテマトーデス患者末梢血 T 細胞におけ
る CD154 発現異常についての解析、リウマ
チ 41(2):461,2001

13) 田村直人、加藤和則、小林茂人、木村 桂、
梁 広石、津田裕士、橋本博史、血漿交換療
法と細胞療法 全身性エリテマトーデス患者
における血漿中 sCD154 値の検討 病因的
意義および血漿交換療法の試み リウマチ
41(2):308,2001.

14) 細川理恵、清水公也、本間啓蔵、上野博
史、小林茂人. 再発性多発軟骨炎 神奈川会
誌 28(1), 65,2001

15) 田村直人、小林茂人、栗山磨紀代、橋本
博史、加藤和則、Kipps Thomas J.
内科会誌 90:174,2001

著書

1) 小林茂人、海老塚岳彦. 顕微鏡的多発血管
炎、血管炎、長澤俊彦監修、橋本博史編集、
朝倉書店、東京、228-234,2001.

2) 小林茂人. 乾癬性関節炎. 今日の治療指針
2001 年度. 多賀須幸男、尾形悦郎、山口徹、
北原光夫総編集、医学書院、東京、633-634、
2001.

3) 田村直人、小林茂人. 抗リン脂質抗体症候
群、わかりやすい内科学、井村裕夫、文光堂、
東京、353-356,2002.

4) 小林茂人、側頭動脈炎 (巨細胞性血管炎)、
難病の診断と治療指針、疾病対策研究会 編
集、疾病対策研究会、東京、47-54, 2001

5) 小林茂人、抗リン脂質抗体症候群、難病の
診断と治療指針、疾病対策研究会 編集、六
法出版社、東京、55-65,2001

6) 田嶋美智子、小林茂人、リウマトイド因子、
臨床検査診断マニュアル、古澤新平、金山正
明、橋本博史 編集、永井書店、東京 324-
326, 2001

7) 池田 真、小林茂人、抗リウマチ薬副作用
モニター、抗リウマチ薬 使用マニュアル、西
岡久寿樹、中村洋編、医薬ジャーナル社 東
京、176-180,2001

8) 栗山磨紀代、小林茂人、強直性脊椎骨増殖
症、リウマチナビゲーター、中村耕三、山本
一彦、原まさ子 編集、メディカルレビ
ュー社、東京、168-169, 2001

9) 小林茂人、田村直人、HLA-B27 関連脊
椎関節炎、Expert 膠原病・リウマチ、住田
孝之編集、診断と治療社 東京、346-357,2001

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Patient's Profile

No	Case	Age	Gender	MPA Type [*]	Date (2001)		CRP		MPO-ANCA		Creatinine		Treatment ^{**}
					前	後	前	後	前	後	前	後	
1	YM	59	F	L	2.7	3.9	11.0	0.1	105	10	0.67	0.6	SP,P50,E50
2	HT	69	M	S	5.11	6.7	10.4	0.5	350	12	1.06	0.99	SP,P60
3	OA	52	M	K	7.18	10.17	9.72	1.07	314	<10	8.7	5.6	SP,EP,P40,DFPP,HD
4	TK	81	F	K	8.7	10.6	8.7	0.5	244	49	2.4	1.5	P30

*: L=lung,S=systemic,K=kidney

** : SP=steroid pulse, P=prednine, E=endoxan, EP=endoxan pulse

DFPP=double filtration plasmapheresis, HD=hemodialysis

表 1 : MPA 患者のプロフィール

年齢、性、病型、検体採取日、治療前後の CPR、MPO-ANCA 値およびクレアチニン値、治療内容を示す。

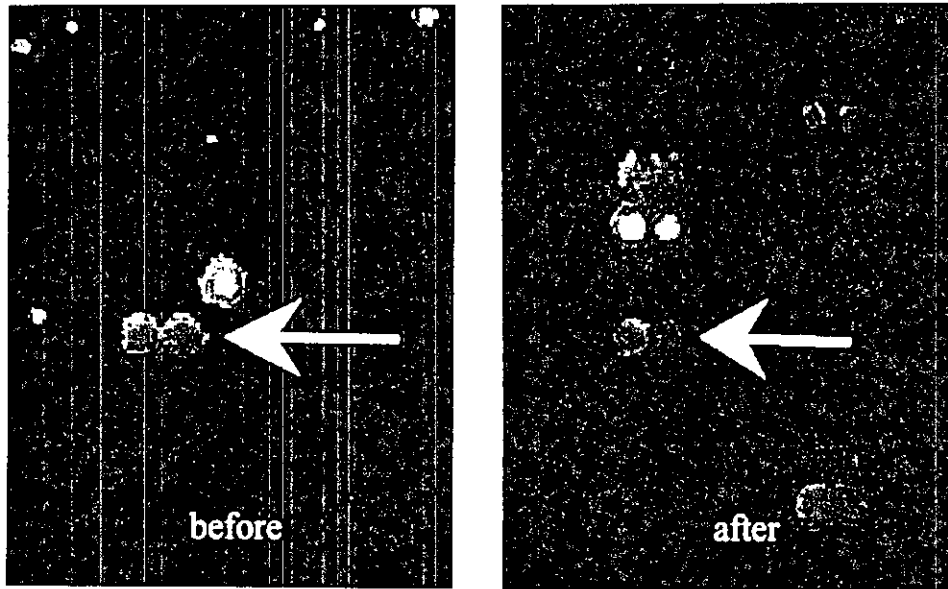


表 2 : cDNA macroarray の結果

cDNA macroarray の結果を示す。治療前後にて、遺伝子の反応の減弱が認められる。

results

<好中球>

治療後に発現が減弱した mRNA

Index	Gene	GenBank	before	after	b/a
D-4-K	JAK-3	U09607	37.04	3.55	10.43
control	MHC	M11886	25.46	25.46	1.0

<リンパ球>

治療後に発現が減弱した mRNA

Index	gene	GenBank	before	after	b/a
C-3-H	CD9	M38690	435.83	28.94	15.06
A-7-J	dek	X64229	421.28	35.98	11.7
C-1-N	L-selectin precursor	M25280	656.24	89.9	7.3
C-3-D	CD11A	Y00796	174.44	30.61	5.7
control	G3PDH	X01677	107.8	107.8	1.0

表 3 : cDNA macroarray の結果のまとめ

好中球では Jak3, リンパ球では CD9, Dek, L-selectine precursor, CD11A の発現が減弱した。

6.MPO-ANCA 関連血管炎の臨床像の変遷

分担研究者 有村義宏 杏林大学医学部第一内科

研究要旨

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、短期死亡率、透析導入率の改善を認めた。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、特に免疫抑制療法の適応、使用法の工夫が必要と思われた。

A. 研究目的

抗好中球細胞質抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibody: ANCA) の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 1)、さらに 1998 年 10 月には、myeloperoxidase (MPO) に対する ANCA (MPO-ANCA) 測定が急速進行性腎炎症候群 (rapidly progressive glomerulonephritic syndrome: RPGN) の保険適用検査となった。これにより、MPO-ANCA 関連血管炎による RPGN の早期診断が可能になった。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 つの時期に分け、その臨床像・予後について検討した。

B. 研究方法

対象：杏林大学第一内科および関連施設で経験した MPO-ANCA 関連血管炎 67 例 (男性 29 例、女性 38 例、年齢 64.6 ± 14.7 才)。尚、薬剤性 ANCA 関連血管炎および免疫複合体型や抗糸球体基底膜型腎炎に合併した ANCA 関連血管炎症例は除いた。

方法：MPO-ANCA 関連血管炎症例を、当科または関連施設の初診日より、保険適用検査導入前 (I 期) および導入後 (II 期) の 2 つの時期に分け検討した。I 期の症例は 1988 年 1 月から 1998 年 9 月までの期間に初診した 49 例、II 期の症例は 1998 年 10 月～2001 年 9 月までの期間に初診した 18 例。尚、II 期の症例の中で、当院または関連施設で半年以上経過観察し得た症例は 16 例、1 年以上経過観察し得た症例は 15 例であった。

MPO-ANCA の測定は、ニプロ社製

MPO-ANCA測定試薬(正常値<10EU, 判定保留:10~20EU;、陽性:20EU 以上)を用いた。

有意差検定は Fisher's exact probability test、Welch's test を用いた。

C. 研究結果

1. 年齢、性：当院または関連施設に初診時の年齢はⅠ期が 64.3 ± 15.0 才、Ⅱ期が 65.5 ± 13.8 才と有意差はなかった。男女比は、Ⅰ期、Ⅱ期ともに 1:1.3 であった。

2. 原疾患：Ⅰ期には、顕微鏡的多発血管炎 (microscopic polyangiitis:MPA) 37 例 (37/49 例:76%)、腎限局型 MPA 8 例 (8/49 例:16%)、Churg-Strauss 症候群 4 例 (4/49:8%)を認めた。Ⅱ期には MPA14 例 (14/18:78%)、腎限局型 MPA2 例 (2/18:11%)、Churg-Strauss 症候群 2 例(2/18:11%)を認めた。

Ⅰ期とⅡ期の間で各疾患の頻度に有意差は認められなかった。

3. 予後

1)透析導入率

a)全経過の透析導入率：図 1 に示すように、Ⅰ期は透析導入率 51.0%(25/49 例)であったのに対し、Ⅱ期は 16.7%(3/18 例)と改善していた(透析導入率 $P < 0.05$)。また、透析離脱率はⅠ期では 4%(1/25 例)であったのに対しⅡ期では 67%(2/3 例)であった。

b) 短期透析導入率予後：入院半年後の比較(Ⅰ期：49 例、Ⅱ期：16 例)

では、Ⅰ期は透析導入率 30.6%(15/49 例)であったのに対し、Ⅱ期は透析導入率 6.2%(1/16 例)であった(透析導入率 $P < 0.05$)。

また、入院1年後(Ⅰ期：49 例、Ⅱ期：15 例)にはⅠ期の透析導入率 43%(21/49 例)であったのに対し、Ⅱ期は 13.3%(2/15 例)であった(透析導入率:NS)。

2) 死亡率

a) 全経過の死亡率：図 2 に示すように、Ⅰ期は死亡率 38.8%(19/49 例)であったのに対し、Ⅱ期は 11.1%(2/18 例)と改善していた(死亡率 $P < 0.05$)。

b) 短期死亡率：入院半年後の死亡率の比較(Ⅰ期：49 例、Ⅱ期：16 例)では、Ⅰ期は死亡率 26.5%(13/49 例)であったのに対し、Ⅱ期は死亡率 6.2%(1/16 例)であった(死亡率 $P = 0.07$)。

また、入院1年後(Ⅰ期：49 例、Ⅱ期：15 例)はⅠ期の死亡率 28.6%(14/49 例)、Ⅱ期は 13.3%(2/15 例)であった(死亡率 NS)。

4. 主な臨床所見

Ⅰ期とⅡ期の臨床所見を比較したところ、図 3 に示すようにⅡ期はⅠ期に比べ、急速進行性腎炎、肺出血が有意に少なかった。間質性肺炎や神経障害、皮膚障害、眼障害などは有意な差は認められなかった。また、治療中に生じた重症感染症の頻度は、Ⅰ期が 35%(17/49 例)であったのに対し、Ⅱ期では 11%(2/18 例)と少なかった ($P = 0.05$)

5. 主な検査所見：表 1 に示すように、I 期と II 期の双方の症例で、MPO-ANCA 高値、CRP 上昇、末梢血白血球数増加、貧血を認めた。しかし、時期による有意差はなかった。

6. 治療開始時の血清クレアチニン値
治療開始時の血清クレアチニン値は II 期では I 期に比べ有意に低かった (I 期 4.3 ± 3.0 mg/dl, II 期 2.6 ± 2.3 mg/dl, $P < 0.05$)。

7. 死因：図 4 に示すように、I 期の死因は肺出血などの血管炎と感染症によるものが大部分であった。一方、II 期に死亡した 2 例はいずれも敗血症によるものであった。この 2 例は、69 才男性と 67 才女性で、いずれもメチルプレドニソロン静注大量衝撃療法およびサイクロフォスファミドが用いられ、血管炎は抑制され、MPO-ANCA 値の著明な改善 (治療前後：578EU から 12EU, 541EU から 8EU) を認めた。しかし、その後に敗血症を生じ死亡した。またいずれも間質性肺炎を認めていた。

8. 当院紹介時の ANCA 検査の有無
当院受診前に既に MPO-ANCA が測定され、MPO-ANCA 関連血管炎と診断されていた症例は I 期 8%(4/49 例)、II 期 27%(5/18 例) と II 期に多かった ($P = 0.05$)。

9. 治療法：各種治療法の検討では、図 5 にしめすように II 期でサイクロフォスファミドの使用例が I 期に比べ多かった。しかし、その他の治療法は、

時期により差は認められなかった。

D. 考察

1998 年 10 月、MPO-ANCA 検査が保険適用検査となり、ANCA 測定が一般化し、ANCA 関連血管炎の診断が容易になった。今回、MPO-ANCA が保険適用検査になり、MPO-ANCA 血管炎の臨床像、予後がどのように変化したかを、保険適用検査の前 (I 期)、後 (II 期) の症例に分け検討した。その結果、I 期と II 期の間に、年齢や性、原疾患に有意な差は認められなかった。しかし、II 期は I 期に比べ、死亡率、透析導入率の著明な改善を認めた。特に、II 期では初診後半年間の透析導入率は有意に改善していた。また、II 期は I 期に比べ、治療開始時の血清クレアチニン値が低く、RPGN や肺胞出血の頻度が少なかった。これまで、MPO-ANCA 関連血管炎の予後不良因子として、60 才以上の発症年齢、RPGN、肺胞出血、治療開始時の血清クレアチニン 4.0 以上などが報告されている 2)3)4)。II 期での予後改善の理由として、I 期に比べ RPGN や肺胞出血の頻度が少なく、治療開始時の血清クレアチニンが低かったことが大きな要因と思われた。

また、II 期では I 期に比べ、初診施設で MPO-ANCA が測定され、当院受診時に既に MPO-ANCA 関連血管炎と診断されていた症例が多かった。このことも、ANCA 関連血管炎の早期発見・治療、予後改善につながったものと思われた。

死因は、I 期は血管炎によるものと、敗血症によるものに大別された。II 期

では死亡例は2例と少なく、血管炎死はなかった。しかし、いずれも敗血症死であった。この2例は、65才以上の高齢発症で、サイクロフォスファミドを用い血管炎は抑制されたが、治療中に敗血症を併発した症例であった。また、2例ともに間質性肺炎を認めていた。65才以上の症例で間質性肺炎を生じている例に対する免疫抑制薬使用は、感染症の合併に十分な注意が必要と思われた。

E. 結論

MPO-ANCA 関連血管炎は、疾患概念の普及や ANCA 測定的一般化などにより、早期発見例が増え、その予後は改善傾向にあると思われた。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、特に免疫抑制療法の適応、使用法の工夫が必要と思われた。

文献

- 1) Jennette, J. C. Wilkman, A. S. Falk, R. J.: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *Am J Pathol* 1989;135: 921-931.
- 2) 有村義宏, 簗島 忍, 丸茂朋史, 藤井亜砂美, 吉原 堅, 神谷康司, 中林公正, 長澤俊彦: ANCA 関連腎炎の臨床像—内科. *腎と透析* 47: 37-43, 1999.
- 3) 橋本博史, 矢野哲朗, 吉田雅治他:

全国疫学調査による抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎の臨床的検討. 難治性血管炎に関する調査研究班: 平成10年度研究報告書, 213-229.

4) 小山哲夫, 槇野博史, 二瓶 宏, 有村義宏, 木田 寛他: 急速進行性腎炎症候群 (全国アンケート調査) の研究, 厚生省特定疾患「進行性腎障害」調査研究班 平成9年度研究業績 47-62, 1998.

F. 健康危険状況

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 有村義宏, 長澤俊彦, ANCA 測定の標準化, *Annual Review* 2001, 47-46, 2001
 - 2) 有村義宏, 山田 明, 長澤俊彦, Churg-Strauss 症候群 (アレルギー性肉芽腫性血管炎) の腎障害, *腎と透析*, 51, 82-87, 2001
 - 3) 神谷康司, 有村義宏, 中林公正, 血管炎における好中球の役割, *medicina*, 38, 975-977, 2001
 - 4) 有村義宏, 藤井亜砂美, 長澤俊彦, 薬剤誘発 ANCA 関連血管炎, *リウマチ科*, 26, 468-474, 2001
 - 5) 有村義宏, 長澤俊彦, ANCA 関連腎炎, *本邦臨床統計集* (3), *日本臨床*, 60, 増刊号, 461-470, 2002
- ##### 2. 学会発表
- 1) 有村義宏, 丸茂朋史ほか, 腎症発見時に急速進行性腎炎を認めなかった MPO-ANCA 関連腎炎の検討, 第44回日本腎臓学会総会, 東京, 2001
 - 1) 中林公正, 神谷康司, 有村義宏, 長澤俊彦, 血管炎症候群の疾患頻度と

病態の特徴、（シンポジウム）リウマチ・膠原病における加齢と病態、第45回日本リウマチ学会総会、東京、2001

H)知的財産権の出願・登録状況
なし

表. 治療開始時の血液検査所見

	I 期 (n=49)	II 期 (n=18)
MPO-ANCA (EU)	434 ± 470	398 ± 331
CRP (mg/dl)	9.3 ± 6.9	7.9 ± 4.9
WBC (/μl)	11038 ± 4538	12093 ± 6913
Hb (g/dl)	9.5 ± 2.2	10.5 ± 2.5
PLT (10 ⁴ /μl)	34.1 ± 14.8	33.7 ± 14.0

I 期と II 期間の検査値に有意差なし

図1. 時期による透析導入率の比較

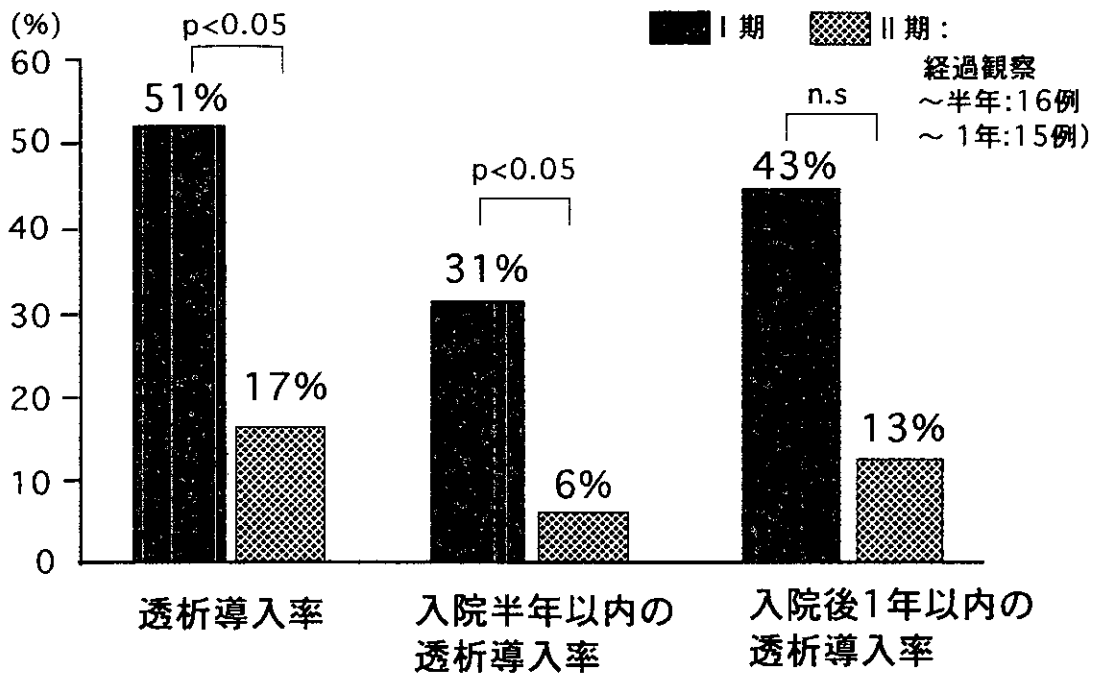


図2. 時期による死亡率の比較

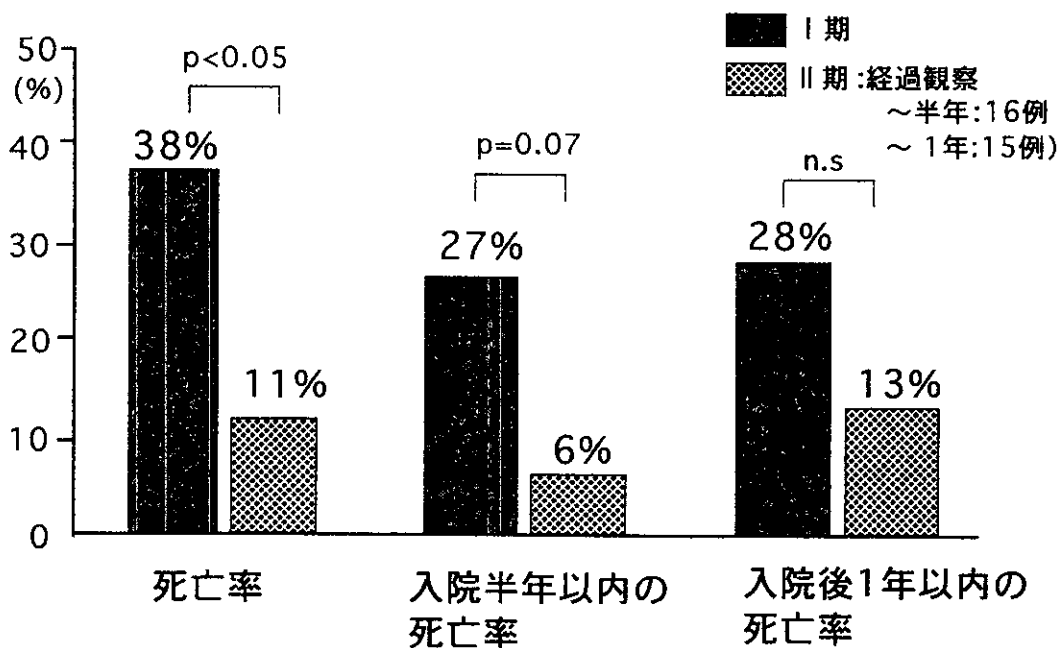


図3. 時期によるANCA関連血管炎の臨床所見の比較

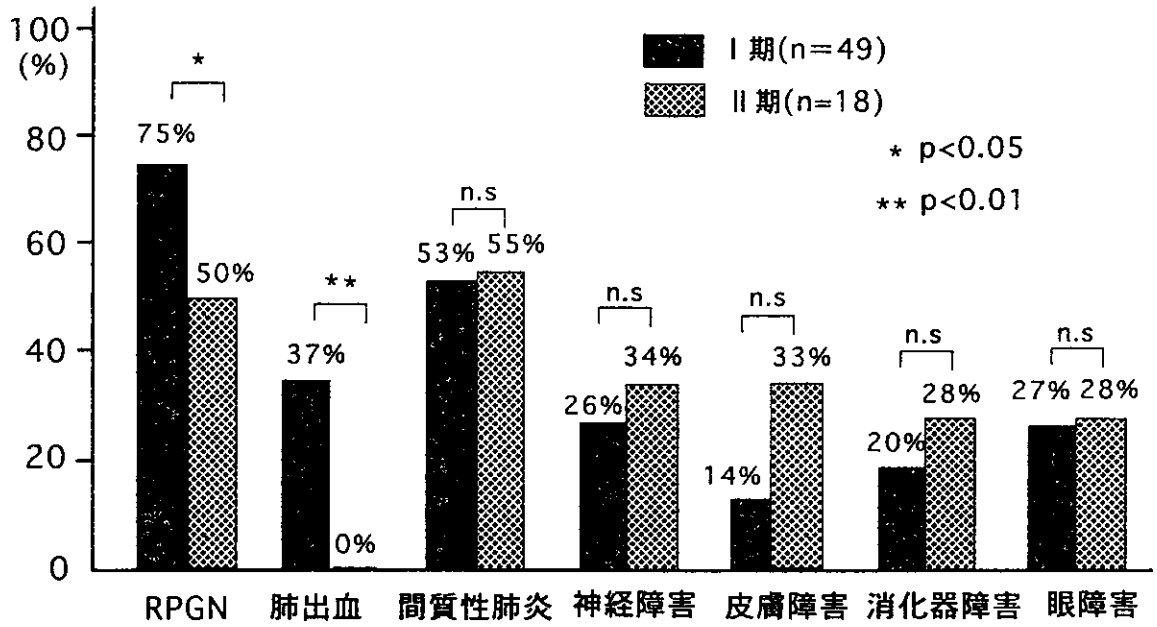


図4. MPO-ANCA関連血管炎の死因

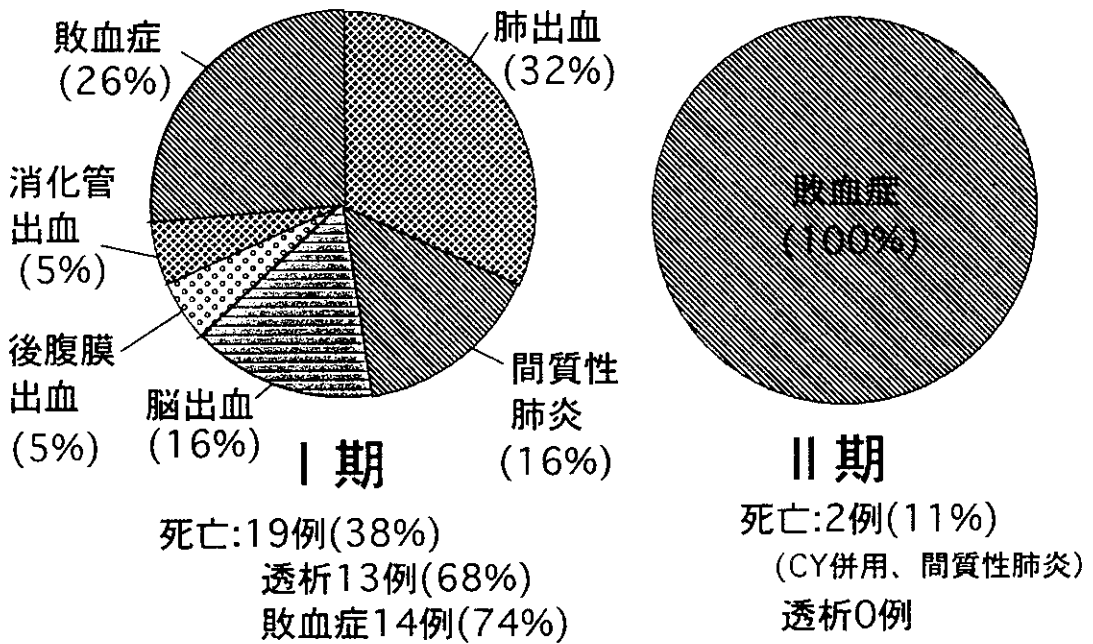
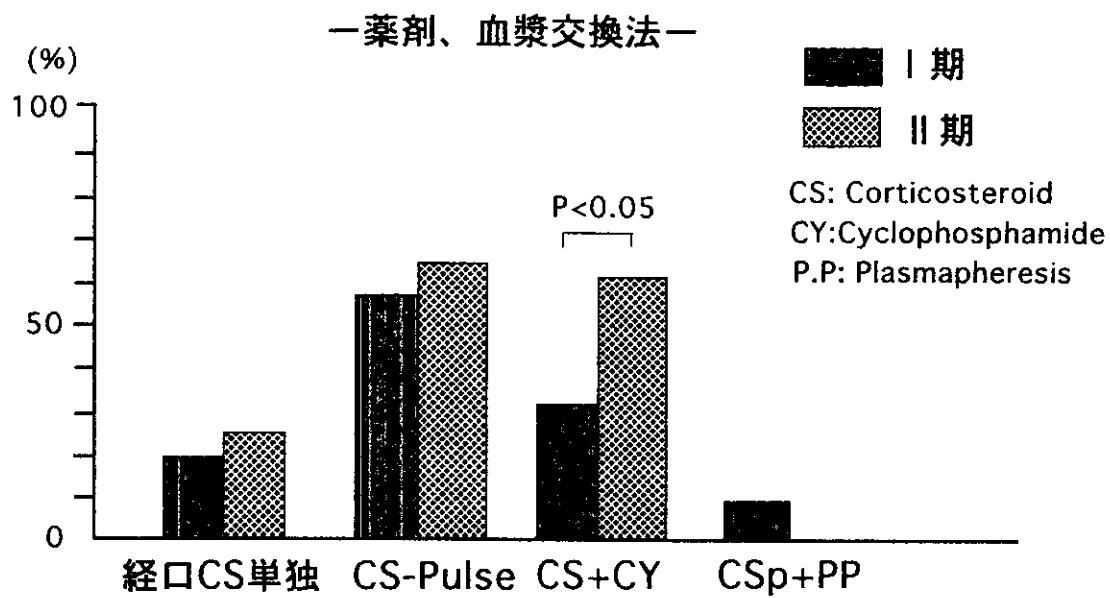


図5. MPO-ANCA関連血管炎・腎炎の治療



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

分担者 吉田 雅治 東京医科大学八王子医療センター腎臓科
研究協力者 大野 尚仁 東京薬科大学薬学部免疫学
増澤 信哉 東京薬科大学薬学部免疫学

研究要旨：ANCA 関連血管炎(AAV)は、副腎皮質ステロイド剤、免疫抑制剤を主体とする免疫抑制療法により寛解へ導入される症例がある一方、感染症死が最も多く対策の確立が急務である。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。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、慢性関節リウマチ(RA)77 例、AAV35 例を対象とした。抗 CSBG 抗体は、 β グルカンの直鎖 β -1、6 構造を認識し、 β グルカンに対する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 22 名が $5526 \pm 1685U$ に比較し、RA77 名は $838 \pm 546U$ 、未治療活動期 AAV13 名は $687 \pm 432U$ であった。抗 CSBG 抗体を AAV で経時的に測定すると、免疫抑制療法後寛解例は抗 CSBG 力価が上昇するのにも比較し、深在性真菌症併発時には抗 CSBG 力価が低下した。AAV の抗 β グルカン抗体(抗 CSBG 抗体)測定は、自然および獲得免疫による β グルカンに対する宿主の免疫能および深在性真菌の併発時の予知に有用で、AAV のして至適免疫抑制療法、感染症対策上の臨床的指標の一つになり得ると考えられた。

A. 研究目的

ANCA 関連血管炎(AAV)は、副腎皮質ステロイド剤、免疫抑制剤を主体とする免疫抑制療法により寛解へ導入される症例がある一方、感染症死が最も多く対策の確立が急務である¹⁾。自験 AAV 感染症死 4 例のリスク因子の検討の結果、全例に真菌症(アスペルギルス、クリプトコッカス)が同定され、深在性真菌症の早期診断の必要性が明らかになった。²⁾ 最近植物、食物、真菌など自然界に広く存在し、特異的免疫応答が注目されている細胞壁 β グルカン³⁾ に対する抗体産生について検討した。一般に、 β グルカンは免疫原性が低いと考えられており、これに対する抗体

産生については十分に検討されていない。そこで、今回可溶化したカンジダ細胞壁 β グルカンを抗原⁴⁾とした抗体(抗 CSBG 抗体)の測定系を酵素抗体法(ELISA)により樹立し、AAV の真菌感染症の予知および宿主の免疫能の指標の一つとしての臨床的意義について検討した。

B. 研究方法

1. CSBG の調整

Candida albicans IFO1385 のアセトン乾燥菌体を次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)で処理し、引き続き DMSO 抽出して CSBG を調整し、これを NaHCO_3 (PH8.2)で適宜希釈して使用した。

2. 抗 CSBG 抗体価の測定

CSBG(25ug/ml)を可溶性抗原として用い、一次抗体には検体を、二次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG,IgMを、発色試薬にはTMBを用い、450nmの吸光度により抗CSBG抗体価を比色定量した(ELISA)。

3. 抗CSBG標準抗体精製

健常人血清(ポリグロビンN)から粒子状βグルカン、OX-CA担体を用い調整した。

4. 抗CSBG抗体測定対象患者

健常人22名、慢性関節リウマチ(RA)77名、AAV35名を対象とした。

C. 研究結果

1. 抗CSBG抗体測定系の樹立(ELISA)

図1に示すように精製CSBG25mg/mLを固相化し、BSAでblocking処理したELISAにて抗CSBG抗体を測定した。健常人7名の血清を用いて各希釈率は2000倍以上と非常に高感度で抗CSBG抗体が検出され、定量的に測定できることが明らかとなった。抗CSBG抗体は、βグルカンの高次構造依存的反応性を示し、直鎖β-1,6構造に対して高い反応性を示した。

2. 抗CSBG抗体に種々のβグルカンを添加した競合的ELISA測定(交差反応性の検証)

図2に示すように、精製CSBG250ug/mLを固相化したELISAに、各種可溶性グルカンを競合剤として添加し、結合阻害を測定した。CSBGの添加により用量依存的に、結合がほぼ100%と特異的に抑制され、他のグルカン(グリホラン、ラミラン、アスペルギルス菌体成分)の阻害効果はいずれも0~40%と低かった。

3. 各種疾患血清における抗CSBG抗体価

図3に抗CSBG抗体を健常人22名を含む種々の患者134名についてELISAにより測定した結果を示す。抗CSBG抗体力価は健常人22名が5526±1685Uに比

較し、RA77名は838±546Uと低値を示した。未治療活動期AAV13例は687±543U、免疫抑制治療後AAV22名は533±432Uと健常人に比較して有意に低値を示した(P<0.01)。

4. AAVにおける抗CSBG抗体の経時的測定

1) 症例N.K. 82歳女性 AAV(肺腎症候群):

他院にてRAとしてプレドニン(PSL)5mg/日の投与を受けていた82歳の女性で、浮腫、乏尿、急激に血清クレアチニン(S.Cr.)が5.9mg/dlと上昇し、急速進行性糸球体腎炎(RPGN)を呈した。白血球9010/mm³, CRP3.29mg/dlと上昇し、MPO-ANCAが140Uと陽性を示し、同時に急性間質性肺炎による呼吸困難を呈し、肺腎症候群を伴うAAVと診断した。図4に臨床経過を示すが、未治療活動期に抗CSBG抗体力価は400Uと低値を示した。副腎皮質ステロイドパルス療法を含むPSL35mg/日投与により、肺腎症候とも改善を示し、抗CSBG抗体力価は徐々に上昇し、MPO-ANCAは10Uと低下し、併発感染症もきたさず、AAVは寛解した。

2) 症例T.F. 67歳、女性、AAV(RPGN+急性間質性肺炎):

図5に臨床経過を示すが、MPO-ANCAが68Uと陽性で肺腎症候群(RPGN+急性間質性肺炎)を呈した病初期より、β-Dグルカンは300U以上と陽性を示し、アスペルギルス抗原も1.4(+)と陽性で、この時期の抗CSBG抗体価は100Uと極めて低値であった。AAVに対して副腎皮質ステロイドパルス療法2クール終了後、MPO-ANCAの低下、肺腎血管炎症候が軽快するに伴い、抗CSBG抗体力価は800Uまで徐々に上昇していった。発症2ヶ月目に、副腎ステロイドパルス療法を含む治療中に、白血球(好中球)低下[900~1200/mm³]、血小板低下(0.2万/mm³)を伴い、肺アスペルギルス症による呼吸不全

のため死亡した(剖検により確認)。この終末期、肺アスペルギルス症罹患時に抗 CSBG 抗体価は 1400U より 700U まで有意に低下した。

D、考察

自験 AAV 感染症死亡 4 例のリスク因子を解析した結果、免疫抑制療法中の深在性真菌症の早期診断の必要性が明らかになった^{1),2)}。最近、植物、食物、真菌など自然界に広く存在し、特異的免疫応答が注目されている β グルカン³⁾ に対する抗体産生に関して検討した。 β グルカンは一般に免疫原性が低いと考えられており、細胞壁 β グルカンに対する抗体産生についてはこれまで十分に検討されていない。我々はカンジダ細胞壁 β グルカン(CSBG)の可溶化方法を開発し、種々の活性を見出し報告した^{3),4)}。また、カンジダをマウスに免疫すると抗 CSBG 抗体価が上昇することも見出した⁵⁾。そこで、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)抗体の測定系を ELISA により樹立し、AAV の真菌感染症の予知および宿主の免疫能の指標としての臨床的意義について検討した。図 1、図 2 に示すように抗 CSBG 抗体の測定系を ELISA により樹立し、 β グルカン直鎖 β -1, 6 構造を認識し、各種 β グルカンの競合的抑制試験により特異的免疫反応を確認し得た。抗 CSBG 抗体力価は図 3 に示すように、生体内の自然免疫および獲得免疫として機能していると考えられ、健常人では平均 5526U と高かった。一方、AAV の抗 CSBG 抗体は健常人に比較して発症未治療活動期に平均 687U と低く、さらに免疫抑制療法後は平均 533U とさらに有意に低下した($P < 0.01$)。抗 CSBG 抗体を AAV において経時的に測定すると、免疫抑制療法により血管炎の寛解例は抗 CSBG 抗体価は徐々に上昇する傾向を示した。一方、AAV で免疫抑制療法中に、深在性真菌症を併発した例は抗 CSBG 抗体が急激に

低下する傾向を示した。恐らく、 β グルカンの抗原、抗体反応に伴う抗 CSBG 抗体の低下が考えられた。AAV の抗 CSBG 抗体測定は、非特異的免疫抑制療法時の免疫能および深在性真菌症の予知に有用と考えられた。

E、結論

AAV の抗 β グルカン抗体(抗 CSBG 抗体)測定は、自然および獲得免疫による β グルカンに対する宿主の免疫能、および深在性真菌症の併発予知に有用で、AAV の至適免疫抑制療法、感染症対策上の臨床的指標として重要と考えられた。

参考文献

- 1) 橋本博史、矢野哲郎、吉田雅治 他：全国疫学調査による抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎の臨床的検討。厚生省特定疾患免疫疾患調査研究班 難治性血管炎分科会平成 10 年度研究報告書、分科会長 橋本博史、1999、213—229。
- 2) 吉田雅治、吉川憲子、矢野哲郎他：ANCA 関連血管炎の感染症リスク因子の検討。厚生省特定疾患免疫疾患調査研究班 難治性血管炎分科会平成 12 年度研究報告書、橋本博史班長、2001、229—237。
- 3) 宿前利郎：真菌 β -1, 3 グルカンの構造と生物活性。YAKUGAKU ZASSHI 120:413—431, 2000。
- 4) Ohno N, Uchiyama M, Tsuzuki A et al: Solubilization of yeast cell-wall β -(1-3)-D-glucan by sodium hypochlorite oxidation and dimethyl sulfoxide extraction. Carbohydrate Research 316:161—172, 1999。
- 5) Tokunaka K, Ohno N, Adachi Y et al: Immunopharmacological and immunotoxicological activities of a water-soluble (1-3)- β -D-glucan, CSBG from *Candida* spp. Int. J of Immunopharmacology 22: 383-394, 2000。

F、健康危険情報

特になし

G、研究発表

2、学会発表

1) 増澤信哉、吉田雅治、石橋健一 他：
カンジダ細胞壁 β グルカン CSBG に対する抗体価、第 45 回 日本医真菌学会総会、2001 年 9 月 26、27 日、

2) 増澤信哉、吉田雅治、大野尚仁 他：
カンジダ細胞壁 β グルカン、CSBG に対する血中抗体価測定およびエピトープ解析、第 66 回東京医科大学 免疫・アレルギー研究会、2001 年 11 月 6 日、

H、知的財産権の出願、登録状況

1、特許取得：なし

2、実用新案登録：なし