

1) バージャー病を対象とした AMG0001 (HGF 遺伝子プラスミド) の一般臨床試験

A. 研究目的: バージャー病の血管病変は上肢では前腕動脈, 下肢では下腿3動脈以下の病変が多く血行再建手術を行うことが困難で QOL の著しい低下をもたらす。閉塞性動脈硬化症 (ASO) の重症虚血肢に対する HGF 遺伝子プラスミドを用いた遺伝子治療が注目され臨床試験が進められている。本研究は, ASO とは病態の異なるバージャー病重症虚血肢における遺伝子治療の確立を目指すものである。

B. 研究方法: HGF 遺伝子プラスミド: 閉塞性動脈硬化症症例に対する HGF 遺伝子プラスミド遺伝子治療試験がアンジェス MG 株式会社ですすめられている。HGF 遺伝子プラスミドは同社より提供を受ける。

投与方法および血行動態評価法: バージャー病の血行動態は ASO とは異なるため有効性判定のための正しい評価法を検討する。

(倫理面への配慮) 若年患者を対象とするため, 生殖, 遺伝への影響を考慮する必要がある, 十分なインフォームドコンセントのもとに進める。試験期間中は精子通過阻止による避妊法で避妊を行う。

C. 研究結果
試験進捗状況: 班員および研究協力者で構成する試験参加施設を決定し試験プロトコルを確立した。当初目標症例は約

20 例とする。遺伝子の投与方法は, ヒト HGF プラスミド DNA2mg を超音波下で直接筋肉内投与 (4 週および 8 週) する。試験実施は種々の事情により当初計画より遅れる見通しとなった。

評価法の確立: 以下の方法について検討しバージャー病の血行動態評価に有用となりうるか, 否かにつき検討した。

Skin perfusion pressure ; ankle pressure に比し, 重症度に合致した結果が得られ有用性が示唆された。

TcPO₂; 機器のメンテナンスに問題があり, 安定した値が得られ難い。

シンチグラフィー: 遺伝子治療効果判定に有効か否かについてはさらなる検討が必要である。

2) 炎症性動脈瘤の遠隔成績調査:

A. 研究目的: 炎症性血管疾患の外科治療では, 遠隔期における吻合部動脈瘤, グラフと閉塞, 新たな動脈瘤の発生は依然として大きな課題であるが, これまで系統的な調査は行われていない。手術例について遠隔成績調査を行い, これまで施行されてきた術式の問題点と妥当性を検証する。

B. 研究方法: 高安動脈炎, 血管 Behcet 病, 「炎症性」腹部大動脈瘤手術症例の遠隔成績について, 一次アンケート調査を行う。

C. 研究結果: 全国の主要血管外科施設に対するアンケート調査

(倫理面への配慮) データ管理者を指定し、プライバシー保持には十分注意する。
D. 調査進行中。

可能であり、本法により血管病変出現以前に本症診断ができる可能性が示唆された。

3) PET を用いた高安動脈炎活動性直接評価法の確立：

A. 研究目的：PET を用いて機能的な画像解析を行うことにより大動脈炎の炎症部位を直接、特異的可視化をはかり、血管病変出現以前に診断を確立することを目指すものである。

B. 研究方法：大動脈炎患者に 18F-FDG を投与し PET カメラで撮像した。

C. 研究結果：18-FDG は急性期動脈炎患者の大動脈とその分枝に直接取り込まれることが明らかになった。

考察および結論

1) バージャー病に対する遺伝子治療は、若年者を対象とするため、遺伝への影響についての配慮が必要と考えられる。また効果判定については閉塞性動脈硬化症とは異なる血行動態についての評価法確立する検討が必要と思われる。

2) 症性血管疾患の外科治療では、遠隔期における吻合部動脈瘤、グラフト閉塞、新たな動脈瘤の発生は依然として大きな課題である。手術例について遠隔成績調査を行い、術式の問題点と妥当性、補助療法についての指針を確立したい。

3) PET カメラで撮像することにより炎症部位を直接、特異的に可視化することが

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
血管病理分科会 研究報告書

会長	吉木 敬	北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野	教授
	居石 克夫	九州大学大学院医学研究科病理病態学	教授
	能勢 真人	愛媛大学医学部病理学第二講座	教授
	由谷 親夫	国立循環器センター臨床検査部	部長

研究要旨

本分科会では、①ゲノミクス／プロテオミクスを用いた血管炎の病因・病態解析、②血管炎の動物モデルの確立、③血管炎アトラスの作製、を目的として活動を行ってきた。①については、血管炎患者の血液サンプルを用いた DNA アレイ解析のシステム化を提案した。②については、MRL/lpr マウスをベースとした交配系における遺伝子リコンビネーションとフェノタイプの解析や、HTLV-I 遺伝子導入ラットを用いた解析、ウサギ慢性虚血下肢モデルを用いた遺伝子治療の検討が、分科会構成メンバーにより展開されている。③については、対象とすべき疾患のリストアップを行った。

A. 研究目的

血管病理分科会では、①ゲノミクス／プロテオミクスを用いた血管炎の病因・病態解析、②血管炎の動物モデルの確立、③血管炎アトラスの作製、を活動目標とする。

B. 研究方法

①ゲノミクス／プロテオミクスを用いた血管炎の病因・病態解析

血管炎患者の血液サンプルを用いた DNA アレイ解析のシステム化を提案した。

②血管炎の動物モデルの確立

MRL/lpr マウスをベースとした交配系における遺伝子リコンビネーションとフェノタイプの解析や、HTLV-I 遺伝子導入ラットを用いた解析、ウサギ慢性虚血下肢モデルを用いた遺伝子治療の検討を行った。

③血管炎アトラスの作製

対象とすべき疾患のリストアップを行った。

C. 研究結果

①ゲノミクス／プロテオミクスを用いた血管炎の病因・病態解析

血管炎患者から採取した血液 2.5ml の 2 サンプルのうち、1 サンプルで良好な DNA アレイ解析結果が得られた。（詳細は研究協力者西村の報告書に記載）

②血管炎の動物モデルの確立

膠原病好発系 MRL/lpr マウスと嫌発系 C3H/lpr の兄妹交配からリコンビナントインブリード (RI) 系マウス MXH/lpr を樹立した。（詳細は分担研究者 能勢の報告書に記載）

壊死性血管炎を発症する env-pX ラットにおいて、正常では免疫反応抑制能をもつとされる CD25⁺CD4⁺ T 細胞に疾患発症前から機能異常が存在することを明らかにした。（詳細は分担研究者 吉木の報告書に記載）

ウサギ慢性虚血下肢モデルを用いて、センダイウイルスベクターによる FGF-2 遺伝子治療の有効性を確認した。また、自家静脈グラフトに対する影響についても検討した。（詳細は分担研究者 居石の報告書に記載）

（詳細は分担研究者 居石の報告書に記載）

③血管炎アトラスの作製

分担研究者 由谷をはじめ、分科会構成メンバーを中心に、対象とすべき疾患として、

高安動脈炎（大動脈炎症候群）
側頭動脈炎（巨細胞性動脈炎）
結節性多発動脈炎（結節性動脈周囲炎）
Cogan 症候群
アレルギー性肉芽腫性血管炎
ウェゲナー肉芽腫症
顕微鏡的多発血管炎
シェーンライン・ヘノッホ紫斑病
本態性クリオグロブリン血症
皮膚白血球破砕性血管炎
ビュルガー病（バージャー病）
感染性大動脈炎
炎症性腹部大動脈瘤
川崎病
ベーチェット病の血管病変
全身性エリテマトーデスの血管病変
関節リウマチの血管病変
全身性硬化症（強皮症）の血管病変
混合性結合組織病の血管病変
シェーグレン症候群の血管病変
サルコイドーシスの血管病変
薬剤誘発 ANCA 関連血管炎
抗リン脂質抗体症候群
血栓性血小板減少性紫斑病
Goodpasture 症候群
ウイルス関連血管炎
Segmental arterial mediolysis (SAM)
Fibromuscular dysplasia
モヤモヤ病

をリストアップした。

D. 考察

①ゲノミクス／プロテオミクスを用いた血管炎の病因・病態解析

今後さらにトライアルを重ね、採血方法や輸送方法を統一しマニュアル化して、安定にデータを採取できるようにしてゆく必要がある。

②血管炎の動物モデルの確立

リコンビナントインブレットド (RI) 系マウス MXH/1pr の病態形質と系統間分布表との比較に基づいて、個々の病態形質の感受性遺伝子座を明らかにすることが期待される。

env-pX ラットに認める CD25⁺CD4⁺ T 細胞の機能異常が、導入遺伝子の直接的影響か、胸腺における同細胞の分化異常に起因する現象かを明らかにする必要がある。

センダイウイルスベクターによる FGF-2 遺伝子治療は手術不能虚血症例への救済目的だけでなく、バイパス手術などの手術成績向上にも適応を拡大できる可能性がある。

③血管炎アトラスの作製

今後、対象とする疾患の絞り込みと執筆担当の振分けを行う。

E. 結論

3 項目の活動目標はそれぞれ達成されつつある。次年度以降も引き続き、本分科会活動を継続する。

F. 健康危険情報

該当なし。

基礎研究分科会報告

分科会長： 鈴木 和男 国立感染症研究所 生物活性物質部 室長

研究要旨：難治性血管炎の基礎的研究の観点から、モデルマウス作製、原因解明、および遺伝子解析、視点から検討した。本年度は、本研究班があらたにスタートしたこともあり、基礎分科会に属する分科会員および協力研究者にここに検討してもらい、準備を開始した。主に、モデルマウスの作製と血管炎成立の点からの解析は、分科会長が主として検討した。真菌感染に由来する分子すはわち、カンジダ菌体膜成分が血管炎を誘導し、難治性血管炎の病態マーカー好中球自己抗体 ANCA も連動した。*C. albicans* 由来の分子は、Mannan-protein-glucan であることを特定した。また、これまでの病理学的解析あるいは細胞機能やサイトカインによっていた病態解析に加え、腎炎モデルマウスによる、in vivo イメージング解析系を検討した。他の分科会員は、それぞれの項を参照されたい。

1 4年度分科会研究報告報告

本年度は、本分科会としての方針は、分科会のメンバーが、個々に設定したテーマについて重点的に研究を行い、成果が得られた。本年度は、分科会として、統一したテーマでは試行しなかったもので、次年度は、統一テーマを設けて、基礎研究分科会としての成果を得たいと考えている。

分科会長

鈴木和男（国立感染症研究所）

分科会員

1. 鈴木和男（国立感染症研究所・生物活性物質部）
2. 徳永勝士（東京大学大学院医学研究科・国際生物医科学）
3. 加藤智啓（聖マリアンナ医科大学・難病治療研究センター）

分科会協力研究員

1. 高橋 啓（東邦大学・医学部・大橋病院・病理）
2. 葛城 肅典（大塚ライフサイエンス事業部 IVD 部〔体外診断薬部門〕研究室）

[IV]

分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性血管炎に関する調査研究事業）
分担研究報告書

リウマチ性多発筋痛症／多発性筋炎類似の症状を初発症状とする MPO・ANCA 関連
血管炎の臨床・病理組織学的特徴に関する研究

分担研究者 中林公正 杏林大学第一内科教授

研究要旨

MPO・ANCA 関連血管炎症例で、リウマチ性多発筋痛症／多発性筋炎 (PMR/PM) に類似する症状を初発症状とする症例が存在した。肺・腎症状は認めなかった。その臨床的特徴は、著明な近位筋の筋痛、筋逸脱酵素の上昇は存在せず、RA 因子は陽性、自己抗体は抗 MPO 抗体以外は陰性であった。筋肉・筋肉組織内の血管の病理組織学的所見は、筋肉の破壊は認めず、細動脈に僅かの IgM、C₃>IgG の沈着を伴う軽度の壊死性血管炎が認められた。毛細血管炎所見は軽度であった。此の様な臨床 subset 症状が全 MPO・ANCA 関連血管炎症例の 8% に存在した。

A. 研究目的

MPO・ANCA 関連血管炎症例は、臨床病型より腎限局型、肺腎型、全身型、その他型に分類されている。このその他型の中に筋痛症状 (PMR/PM) を主体とする一群が存在した。その臨床症状、筋病理組織所見を解析した。

B. 研究方法

1988~2002 年に診療を行った MPO・ANCA 関連血管炎の 62 例を対象とした。その内訳は、腎限局型 27 例、肺腎型 14 例、全身型 10 例、その他型 11 例であった。その他型の subset は、肺型 1 例、PMR/PM 型 5 例、末梢神経型 2 例、分類不能型 3 例であった。この PMR/PM 型、即ち筋肉痛を主体とし肺・腎障害を認めない症例の 5 例について臨床像、検査成績、筋病理組織について検討した。筋組織は、蛍光抗体法でも検討した。

C. 研究結果

1. 臨床像：46~80 歳 (平均 65 歳)、男女比 2:3、近位筋の筋痛と腓腹筋の腫脹感を伴う激痛が存在した。肺・腎の障害は存在せず、末梢神経炎も認めなかった。尚、筋痛著明時は、体動不能の状態であった。

2. 検査成績：血沈の亢進、CRP の上昇、RA 因子の陽性を 5 例全例に認めた。ANA は 3 例に弱陽性を認めたが、2 例は陰性であった。血清 CK、aldolase の上昇は存在せず、抗 Jo-1 抗は陰性、その他の自己抗体も陰性であった。

3. 筋肉生検組織の病理所見：5 例全例で腓腹筋又は大腿部筋肉の生検が施行されていた。光顕では、筋肉組織の筋細胞・筋束に障害を認めず、細胞浸潤も存在しなかった。筋肉内の毛細血管の障害も認められず、毛細血管周囲の細胞浸潤も存在しなかった。血管の所見に関しては、

細動脈が認められた症例が3例存在し、その3例の細動脈壁には壊死性血管炎の所見が存在した。蛍光抗体法では、この3例の細動脈壁にIgM、C₃>IgGの僅かの沈

着が認められた。残りの2例は毛細血管のみの存在で、1例はIgGの沈着が認められたが1例は完全に陰性所見であった。

D. 考察

MPO・ANCA関連血管炎の臨床的subsetとして、リウマチ性多発筋痛症/多発性筋炎(PMR/PM)類似の症例を初発症状とする症例が62例中5例(8%)に存在した。これ等の症例はPMR/PM類似の近位筋優位の筋痛を認めると共に、下肢腓腹筋に著明な筋痛を呈することに特徴があった。又、腎・肺・末梢神経炎症状を伴っていない。又、PMRと異なり全例RA因子が陽性を示し、PMと異なり血清CK, aldolaseの上昇をも認めなかった。従ってこれ等の症例はPMRやPMと異なる病態にあることが示された。筋肉病理所見も筋肉の破壊を認めないことから、PMと異なることを示している。又、壊死性血管炎の所見を認め、血管壁に免疫グロブリンの沈着が存在することから、PMRとも異なることが裏付けられた。従って、従来PMRやPMで非定型的な検査所見や病理所見を呈していた症例は、この疾患に該当することが考えられた。

E. 結論

MPO・ANCA関連血管炎症例で、病初期にPMR/PM類似の症状を呈し、筋肉破壊を伴わず筋肉内の細動脈に壊死性血管炎を認める症例の存在することが確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Nakabayashi K, Arimura Y, Yamada A, Nagasawa T : Five distinct clinical subsets and their prognostic implications in MPO-ANCA associated vasculitis. Cleveland Clinic J Med 69(S II) : 173, 2002.
2. Nakabayashi K : slowly progressive, not rapidly progressive, MPO-ANCA positive glomerulonephritis and its characteristics (editorial). Int Med 41:418~419, 2002.
3. 軽部美穂、金田史香、中林公正、山田 明、長澤俊彦 : 腸管囊腫様気腫を合併した皮膚筋炎と強皮症のoverlap 症候群の1例. 日内会誌 91:3278~3281, 2002.

学会発表

1. Nakabayashi K, Arimura Y, Yamada A, Nagasawa T : Five distinct clinical subsets and their prognostic implications in MPO-ANCA associated vasculitis. The 10th International Vasculitis and ANCA Workshop, Cleveland, 2002. 4. 27.
2. 丸茂朋史、中林公正、関内真紀穂、有村義宏、山田 明、長澤俊彦 : 側頭動脈炎症状を呈したアレルギー性肉芽腫性血管炎 (AGA) の1例。第7回血管病理研究会、福岡、2002. 10. 12.
3. 遠藤哲也、小林 治、有村義宏、副島昭典、中林公正、山田 明、長澤俊彦、: ANCA・抗GBM抗体陰性で、血痰を伴い増殖性腎炎所見を呈した肺腎症候群の1例。第32回日本腎臓学会東部部会、東京、2002. 10. 18.
4. 軽部美穂、早川 哲、森 朝子、木

- 内 忍、有村義宏、副島昭典、中林公正、山田 明、：顕微鏡的多発血管炎の経過中に膜性腎炎を併発した 1 例。第32回日本腎臓学会東部部会、東京、2002. 10. 18.
5. 小林茂人、吉田雅治、中林公正、矢野哲夫、橋本博史：ワークショップ 血管炎と ANCA. 免疫抑制薬をどのように用いるか。第46回日本リウマチ学会総会、神戸、2002. 4. 23.
6. 中林公正、有村義宏、藤井裕子、吉原 堅、山田 明、長澤俊彦：抗リン脂質抗体陽性を認め、解離性大動脈瘤を来した 2 膠原病症例。ibid, 2002. 4. 22.
7. 土岐岳士、大和恒恵、有村義宏、副島昭典、中林公正、山田 明：強直性脊椎炎に高安動脈炎を合併した 1 症例。第31回杏林医学会総会、三鷹、2002. 11, 16.
8. 早川 哲、軽部美穂、副島昭典、有村義宏、中林公正、山田 明：足の浮腫で発症した皮膚限局型PNの 1 症例。第43回関東リウマチ研究会、東京、2002. 6. 22.

ANCA 関連血管炎の免疫抑制療法下日和見感染症の早期診断、治療における抗 β -グルカン抗体の意義

分担研究者:吉田雅治 東京医科大学八王子医療センター 腎臓科 助教授
研究協力者:大野 尚仁 東京薬科大学薬学部免疫学教室 教授、石橋 健一
東京薬科大学薬学部免疫学教室 大学院

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、日和見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、AAV38 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 2677 ± 1686 U に比較し、未治療活動期 AAV14 名は 691 ± 522 U、免疫抑制後 AAV24 名は 547 ± 416 U といずれも健常人に比較して有意に低値を示した。(p<0.01) 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、カリニ肺炎併発時には抗 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症、カリニ肺炎の併発の予知に有用で、AAV に対する至適免疫抑制療法、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、深在性真菌症およびカリニ肺炎の早期診断の必要性が明らかになった。^{2), 3)} 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⁴⁾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 グルカン抗原⁵⁾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(Na ClO)で処理し、引き続き DMSO 抽出して CSBG を

調整し、これを NaHCO₃(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、AAV38 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。健常人の血清およびポリグロビンNを用いて各希釈率は12800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 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 CSBG 250ug/mL を固相化した ELISA に、CSBG 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 名と AAV の患者 38 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 $2677 \pm 1686U$ に比較し、未治療活動期 AAV14 例は $691 \pm 522U$ 、免疫抑制治療後 AAV24 名は $547 \pm 416U$

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 $9010/mm^3$ 、CRP3.29mg/dl と上昇し、MPO-ANCA が 58U 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 以下と低下し、併発感染症もきたさず、AAV は寛解した。

2) 症例 Y.D. 63 歳、男性、AAV(RPGN+カリニ肺炎):

図5に臨床経過を示すが、MPO-ANCA が 343U と陽性で腎血管炎を呈した病初期は、抗 CSBG 抗体価は 2600U と高値であった。腎血管炎に対して副腎皮質ステロイドパルス療法および、エンドキサンパルス(IVCY)療法 2クール終了後、MPO-ANCA の低下、腎血管炎症候が軽快するに伴い、抗 CSBG 抗体力価は 1500U まで徐々に低下していった。発症2ヶ月目に、発熱、呼吸困難を示し気管支洗浄液よりカリニ原虫を証明し、カリニ肺炎による呼吸不全を併発した。CRP の上昇、 β グルカンの上昇に先行して抗 CSBG 力価は 1000U まで低下した。ST合剤の治療によりカリニ肺炎の軽快に伴い抗 CSBG 力価は 3000U まで上昇した。

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、間質性肺炎(カリニ肺炎)の早期診断の必要性が明らかになった^{1),2),3)}。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⁴⁾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⁵⁾。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⁶⁾。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の真菌感染症およびカリニ肺炎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、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2677U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691Uと低く、さらに免疫抑制療法後は平均547U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、カリニ肺炎を併発した例は抗CSBG抗体が急激に低下する傾向を示した。恐らく、βグルカンとの抗原、抗体反応に伴う抗CSBG抗体の低下が考えられた。ST合剤の治療によりカリニ肺炎が軽快治癒すると、抗CSBG力価

は上昇した。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カリニ肺炎の予知および予後予測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およびカリニ肺炎の併発予知および予後予測に有用で、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) Jarrousse B, Guillevin L, Bindi Petal: Increased risk of pneumocystis carini pneumonia in patients with Wegener's granulomatosis. Clin Exp Rheumatol 11:615-621,1993
- 4) 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。
- 5) 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。
- 6) Tokunaka K, Ohno N, Adachi Y et al: Immunopharmacological and immuno-

toxocological 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

1. 論文発表

Masuzawa S. Yoshida M. Ishibashi K. et al: Solubilized *Candida* Cell Wall β -Glucan, CSBG, is Epitope of Natural Human Antibody. *Drug Development Research* 58:1-11, 2003

2. 学会発表

石橋健一、吉田雅治、大野尚仁、他: 抗 *Candida*、抗 *Aspergillus* 細胞壁グルカン抗体価の比較検討。真菌症フォーラム 第4回学術集会 2003年2月22日、

H、知的財産権の出願、登録状況

1、特許取得: 申請中

2、実用新案登録: なし

Figure 1 Reactivity of human sera or immunoglobulin (polyglobin N) to several cell wall glucans on ELISA plate

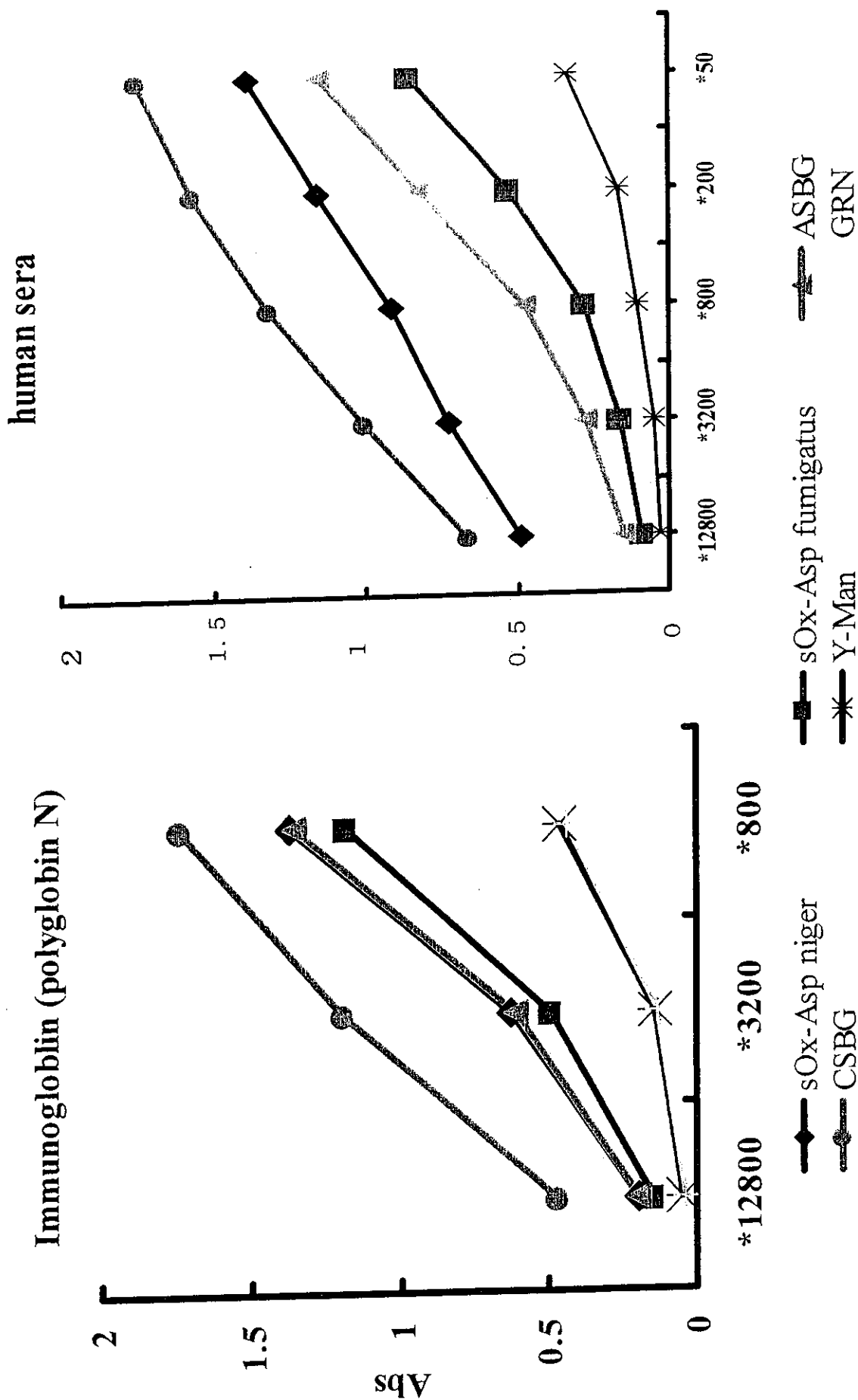


图 2 Specificity of OX-CA bound anti-CSBG Ab against plate bound CSBG

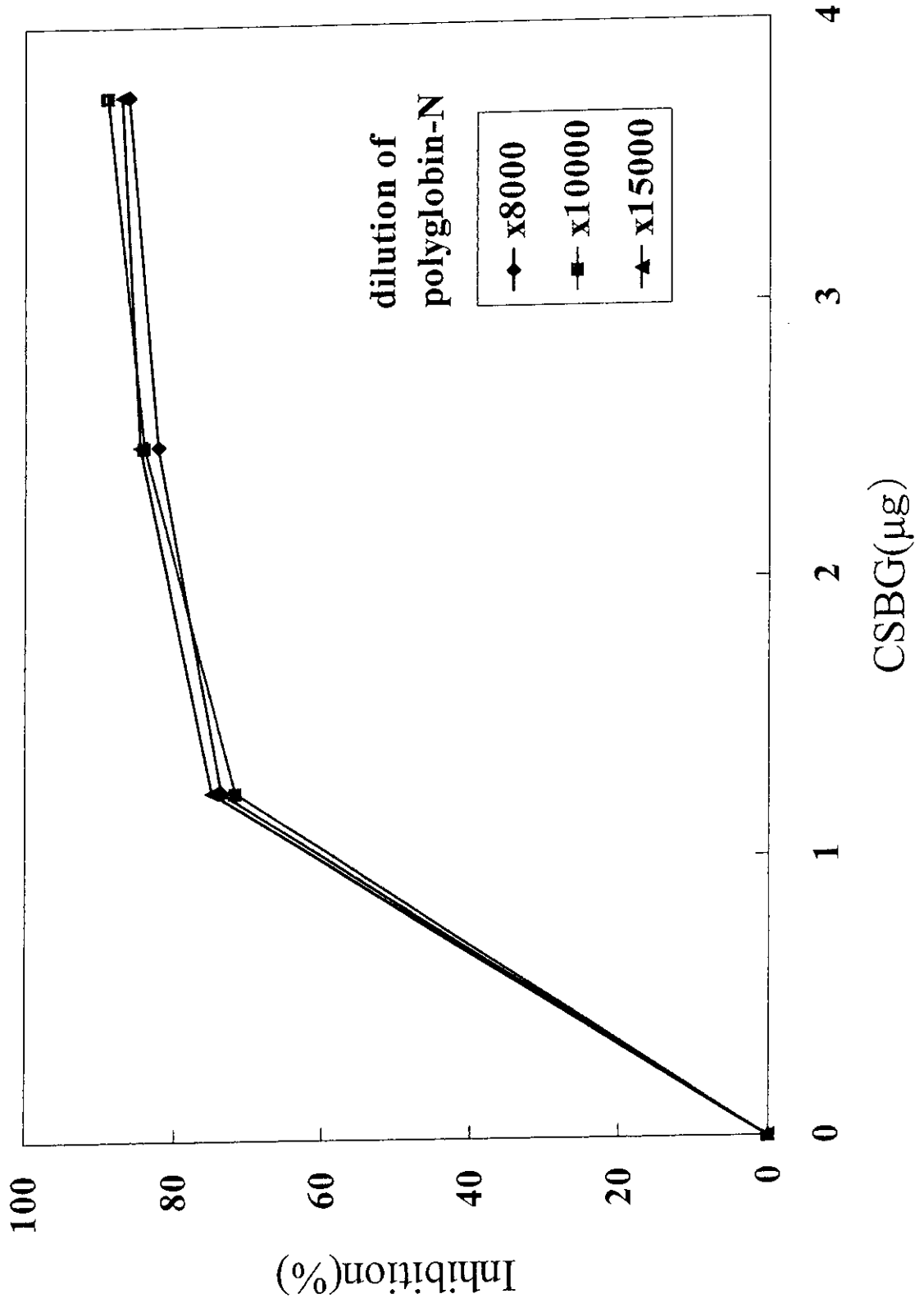
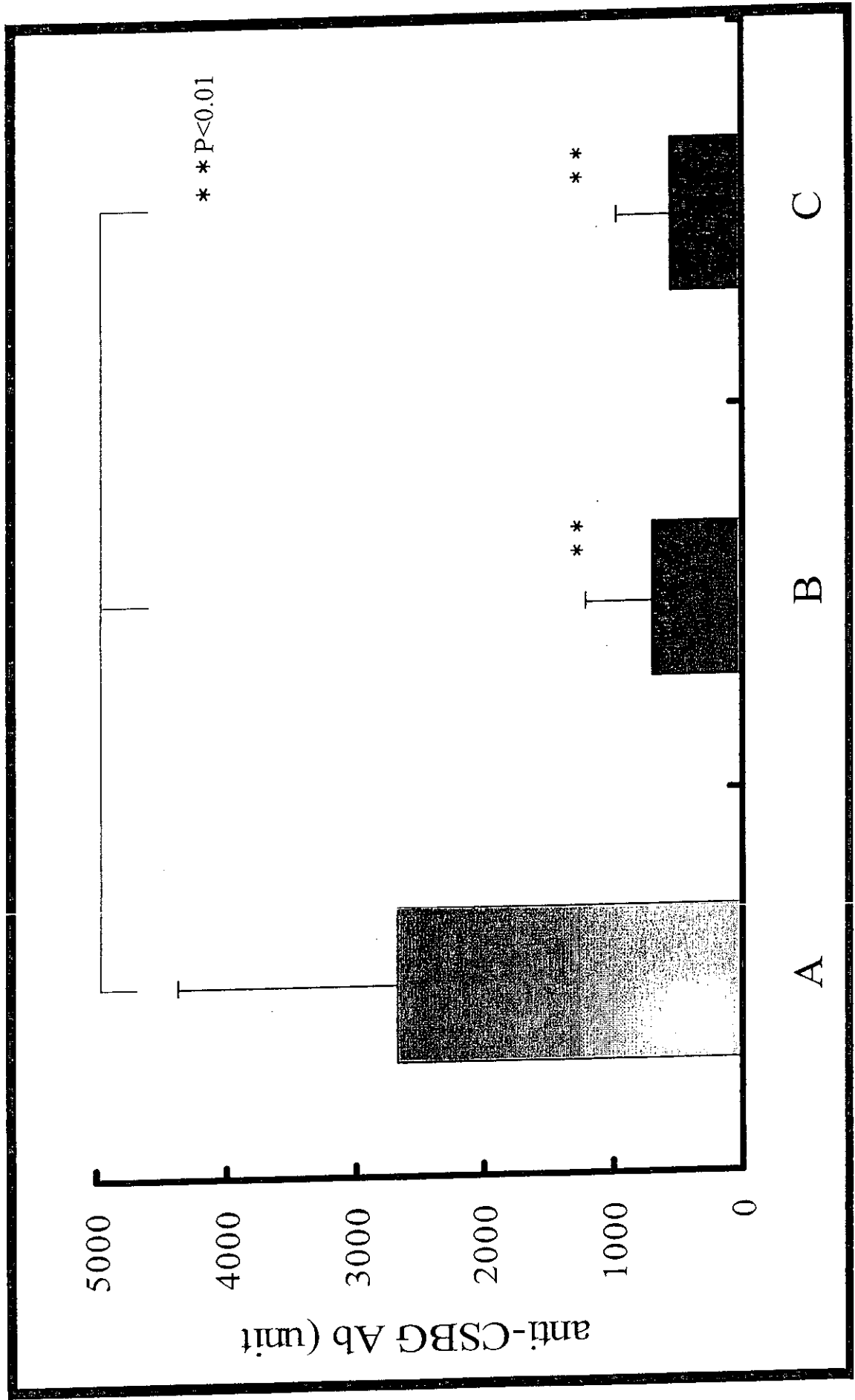


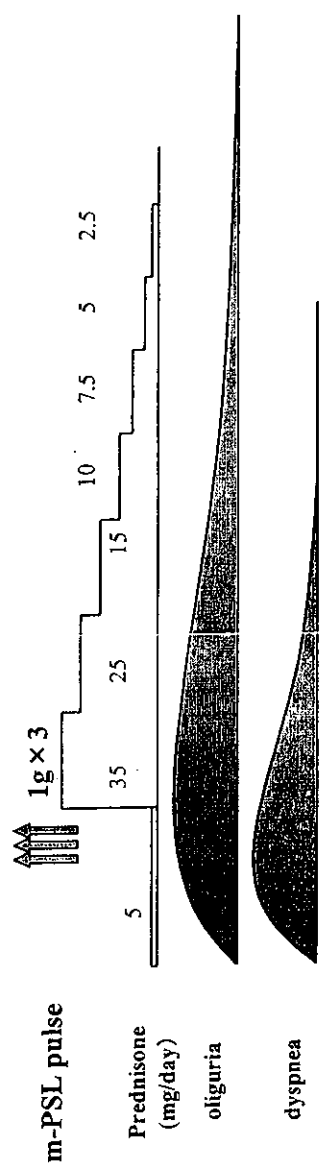
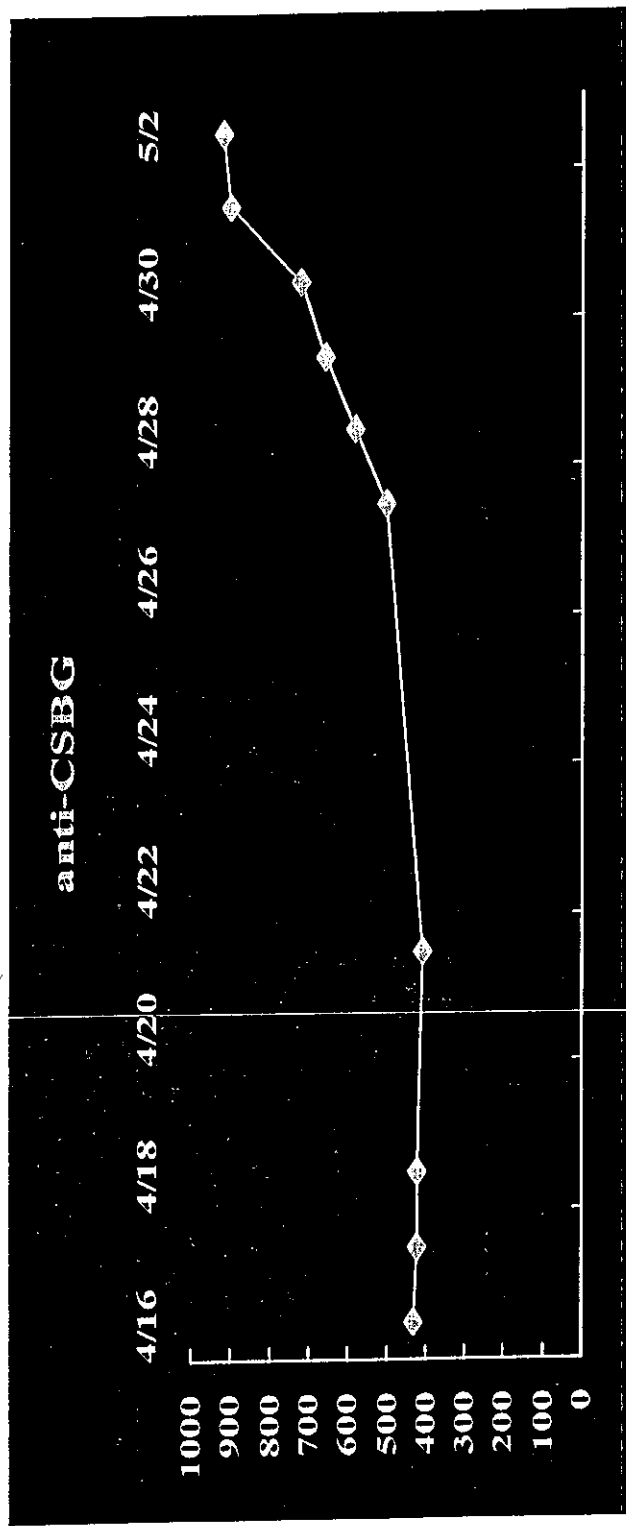
图 3

Comparison of Anti-CSBG titer in AAV patients



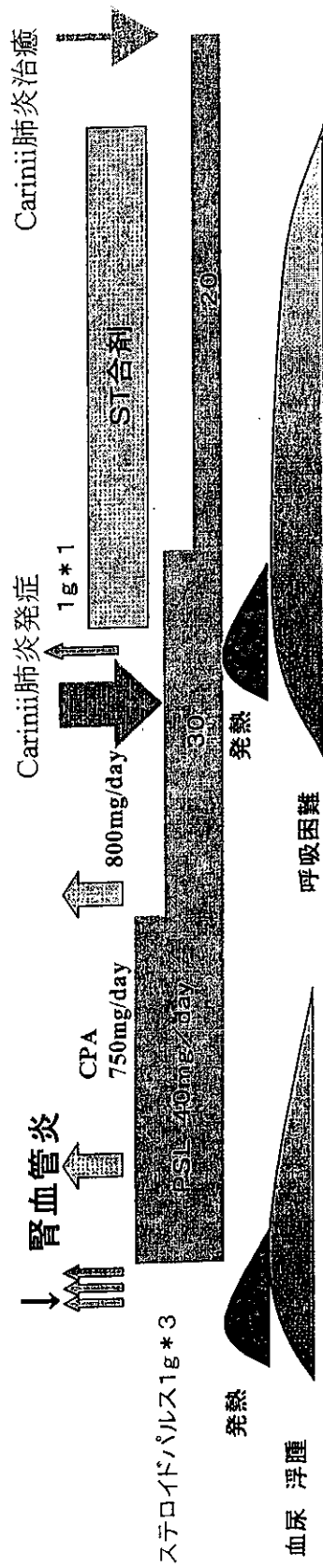
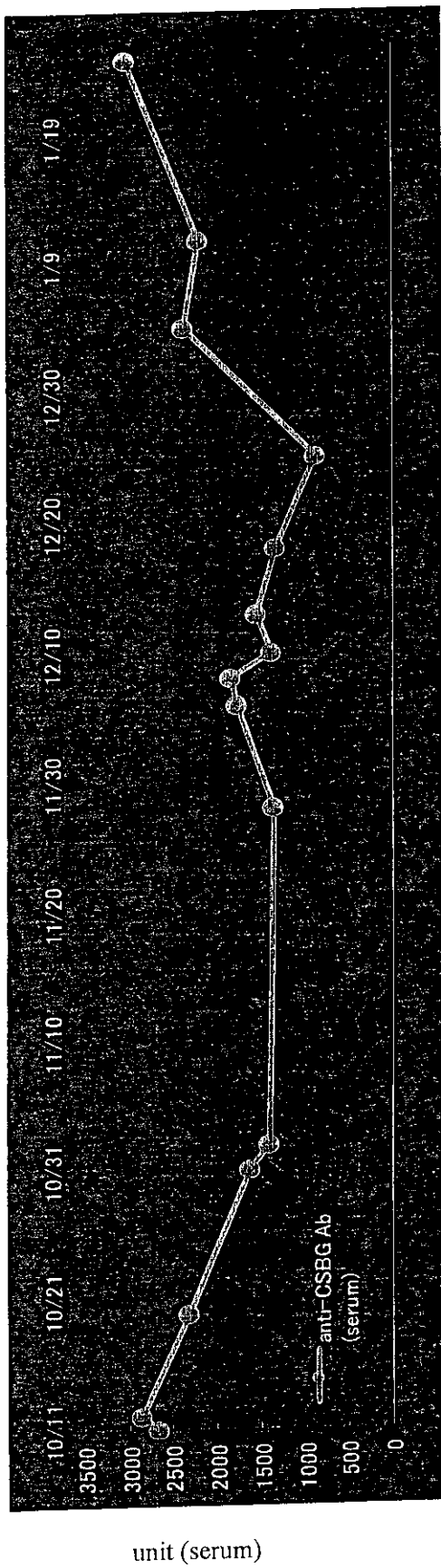
A) normal human (n=22) B) AAV patients before therapy (n=14) C) AAV patients after therapy (n=24)
** P < 0.01 vs normal human

臨床経過: N, K AAV 82歳 女性



β -D glucan Value	300 ↑	107 ↑
WBC/CRP (/mm ³)/(mg/dL)	9010/3.29	15240/0.61 8800/4.42
creatinine (mg/dL)	5.9	7.6
MPO-ANCA (Unit)	58	10
		<10

図5 臨床経過 Y.D AAV 男性 63歳 カリニ肺炎



B-Dグロブリン値	15>	15>	20	170	59	33.3	10>
MPO-ANCA	343	129	27	13	10>	6950	6050
WBC		8810	12310	12510	8570		
CRP	11.2	1.81	2.6	8.35	1.81	12.29	2.20
クレアチニン (mg/dL)	1.2	2.2	2.3	1.7	1.9	1.7	1.9

厚生労働科学研究費補助金（難治性血管炎に関する調査研究事業）
分担研究報告書

Cysteinyl leukotriene type I receptor antagonist (LTRAs)と
Churg-Strauss syndrome (CSS)に関する研究

分担研究者 小林茂人 順天堂大学医学部膠原病内科 講師
研究協力者 田村直人、石塚修悟、高谷磨紀代、池田 真
金田和彦、戸叶嘉明、橋本博史

研究要旨

気管支喘息の治療薬であるcysteinyl leukotriene type 1 receptor antagonist (LTRAs)治療中に起こるChurg-Strauss syndrome(CSS)が報告され、pranlukast治療中に発症したCSS群、他のLTRAs治療中に発症したCSS群及び順天堂医院のLTRAs治療に関係ないCSS群の臨床所見を検索した。年齢、性差、喘息罹病期間は3群で差はなかった。副鼻腔炎など他のアレルギー疾患の既往はLTRAs投与群に多かった。LTRAs使用からCSS発症までの期間について、pranlukast投与群(10.3±12.3M)は他のLTRAs投与群(3.7±2.8M)と比べ有意に長かった。臨床症状では、多発性単神経炎はpranlukast群(91%)で、他のLTRAs群(42%)に比して多かった。心筋炎および肺陰影所見は、pranlukast群に比べ、他のLTRAs群(46%, 91% vs 9%, 36%)に多かった。赤沈は、LTRAs投与群が非投与群に比べ有意に高かった。好酸球数(%)は3群に差は認めず、いずれも中央値は35%以上であった。P-(MPO)-ANCAは35%~64%陽性であった。治療において、prednisolone≥60mg/dayは、LTRAs非投与群と比べ、LTRAs投与群に多かった。Pranlukast投与群に2例の死亡症例(死因はともに腸穿孔)を認めた。LTRAs投与後発症したCSS群の37症例を検討したところ、約90%は投与後、12ヶ月以内に(3日~44ヶ月、中央値4ヶ月)発症した。LTRAs治療中はCSSの発症に注意する必要があると考えられた。

A. 研究目的

Churg-Strauss syndrome(CSS)は、基礎疾患として主に気管支喘息などのアレルギー疾患に伴う好酸球増多症に伴う中・小型の肉芽腫性血管炎であり、1951年にChurgおよびStraussによって、結節性多発動脈炎から分離して報告された¹⁾。

近年、気管支喘息の新しい治療薬とし

て、cysteinyl leukotriene (cysLT: LTC₄, LTD₄ or LTE₄) type 1 receptor antagonist (LTRAs)、zafirlukast (Zeneca:アレコート)、montelukast (Merck:シングリア・キプレス)、pranlukast (Ono:オノン)などが発売され、喘息治療の有効性が知られている。しかし、1998年Wechslerら²⁾によって、喘息治療のためzafirlukast内服中に発症したCSS 8症例を報告し、

LTRAsとCSSとの関係が問題となった^{3,4)}。今回、当科にてpranlukast投与中に発症したCSSの1症例およびCSSにて喘息が悪化したためpranlukastを投与中の症例を経験したので、1)本邦のpranlukast投与中にCSSを発症した症例報告、2)zafirlukast、montelukast投与中に発症した外国のCSSの症例、3)順天堂医院におけるLTRAs非内服症例について、臨床症状および検査・治療所見を比較検討した。

B. 研究方法

LTRAs治療中に発症したCSS症例をPubMedなどinternetにて可能な限り検索した。本邦では当科の1症例を含めpranlukast治療中のCSS11症例(A群)。Zafirlukast、montelukast治療中のCSS26症例(B群)、1985年から2002年まで順天堂医院に入院したLTRAs非内服症例27症例(C群)について検討した。

C. 研究結果

1. 当科の症例

Pranlukast治療中に発症したCSSの1症例(17歳、男性)およびCSS発症後喘息治療のためpranlukastを投与し18ヶ月以上経過した症例について、表1, 2に示す。

2. Prankulast, 他のLTRAs, LTRAs非投与群の比較

年齢、性差、喘息罹病期間は3群で差はなかった。副鼻腔炎など他のアレルギー疾患の既往はLTRAs投与群に多かった。LTRAs使用からCSS発症までの期間について、pranlukast投与群(10.3±12.3M)は他のLTRAs投与群(3.7±2.8M)と比べ有意に長かった。臨床症状では、多発性単神経炎はpranlukast群(91%)で、他の

LTRAs群(42%)に比して多かった。心筋炎および肺陰影所見は、pranlukast群に比べ、他のLTRAs群(46%, 91% vs 9%, 36%)に多かった。赤沈は、LTRAs投与群が非投与群に比べ有意に高かった。好酸球数(%)は3群に差は認めず、いずれも中央値は35%以上であった。P-(MPO)-ANCAは35%~64%陽性であった。治療において、prednisolone≥60mg/dayは、LTRAs非投与群と比べ、LTRAs投与群に多かった。Pranlukast投与群に2例の死亡症例(死因はともに腸穿孔)を認めた。LTRAs投与後発症したCSS群の37症例を検討したところ、約90%は投与後、12ヶ月以内に(3日~44ヶ月、中央値4ヶ月)発症し、投与後1年以内はCSS発症に注意する必要があると考えられた。ただし、prankulastは1年以上(~4年)に2例発症し、注意を必要とすると考えられた。

D. 考案

LTRAs治療中のCSS発症に関して、多くの原因が推定されている(表3)。最近では、WechslerらがLTRAsの治療効果のため、ステロイドの減量が可能になり、このために、潜在性であったCSSが顕性化することが推定された^{3,4)}。しかし、ステロイド剤の減量していないまたはステロイドを投与していない症例においてもCSSを発症した報告も認められ^{5,6)}、必ずしもステロイド減量のみがSCC誘発の原因とは考えられない。また、当初からleukotrieneのバランスの異常が指摘され、cysteinyl leukotriene type I receptorのブロックにより、LTB₄の産生が原因と推定されたが、LTA₄産生に関与する5-Lipoxygenaseを抑制するzileuton内服によって数症例のCSSが報告されてい