

た。遺伝子投与に起因する重篤な副作用の発現は認めず、その安全性が示唆された。また、22 症例中 19 症例に改善を認めており、その有効性が示唆された。Open-labeled study である TREAT-HGF 臨床研究の結果を踏まえ、20 数症例を対象とした double-blinded study を複数施設で実施し、安全性・有効性を確認が必要と考えられた。double-blinded study では対象患者は Fontaine III, IV の内科的・外科的治療に抵抗性の重症虚血肢とし、Fontaine III 患者には VAS (Visual analog scale) を、Fontaine IV 患者には潰瘍の縮小を primary endpoint とすることが妥当であるとした。さらに詳細なプロトコールについて検討中である。

D. 考察

本遺伝子治療では安全性に問題がなく、また HGF 血中濃度の上昇がないこと・血中プラスミドが速やかに分解されることから遠隔臓器・遠隔期での安全性も示唆されている。本臨床研究は2年間の追跡調査を予定しており、遠隔期における副作用の発生についても今後検討すべきである。安全性・有効性ともに症例数を増やしたさらなる検討が必要である。また血管新生およびそれに伴う血流量増加を直接検出できる検査手段の確立も今後の課題である。

E. 結論

TREAT-HGF において、遺伝子治療の安全性・有効性が示唆された。Open-labeled study である

TREAT-HGF 臨床研究の結果を踏まえ、20 数症例を対象とした double-blinded study を複数施設で実施し、安全性・有効性を確認が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

TREAT-HGF において 11 件の重篤有害事象が発生しているが、大阪大学遺伝子治療審査委員会において遺伝子プラスミドとの因果関係は否定されており、また厚生労働省・文部科学省に報告され、その妥当性も確認されている。従って現在のところ遺伝子プラスミドの危険情報はない。研究参加患者にも重篤有害事象について随時報告している。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nagaya N, Yokoyama C, Kyotani S, Shimonishi M, Morishita R, Uematsu M, Nishikimi T, Nakanishi N, Ogihara T, Yamagishi M, Miyatake K, Kaneda Y, Tanabe T. Gene transfer of human prostacyclin synthase ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Circulation* 2000;102:2005-2010.
2. Hayashi I, Majima M, Fujita T, Okumura T, Kumagai Y, Tomita N, Morishita R, Higaki J, Ogihara T. In vivo transfer of antisense oligonucleotide against urinary kininase blunts deoxycorticosterone acetate-salt

- hypertension in rats. *Br J Pharmacol.* 2000;131:820-826.
3. Sakaue G, Shimaoka M, Fukuoka T, Hiroi T, Inoue T, Hashimoto N, Sakaguchi T, Sawa Y, Morishita R, Kiyono H, Noguchi K, Mashimo T. NFκB decoy suppresses cytokine expression and thermal hyperalgesia in a rat neuropathic model. *Somatosensory Systems, Pain.* 2001;12:2079-2084
 4. Yokoseki O, Suzuki Ji J, Kitabayashi H, Watanabe N, Wada Y, Aoki M, Morishita R, Kaneda Y, Ogihara T, Futamatsu H, Kobayashi Y, Isobe M. cis Element Decoy Against Nuclear Factor-κB Attenuates Development of Experimental Autoimmune Myocarditis in Rats. *Circ Res.* 2001;89:899-906.
2. 学会発表
 1. 森下 竜一 “HGF 遺伝子による閉塞性動脈硬化症に対する治療” 第31回日本心臓血管作動物学会総会 2002年2月2日 東京
 2. 森下 竜一 “血管新生療法と遺伝子治療の新展開” 第66回日本循環器学会総会・学術集会 2002年4月26日 札幌
 3. 森下 竜一 “難治性循環器疾患の遺伝子治療の開発” 第66回日本循環器学会総会・学術集会 日本心臓財団佐藤賞受賞記念講演 2002年4月26日札幌
 4. 森下 竜一 “21世紀の医療：遺伝子は命を救う” 第26回日本医学会総会プレシンポジウム 日本内科学会100周年記念事業九州支部市民公開講座 2002年7月27日福岡
 5. 森下 竜一 “血管新生療法” 第50回日本心臓病学会学術集会 2002年9月10日名古屋
 6. 森下竜一 “末梢性血管疾患のポストゲノム時代の治療（教育講演）” 第43回日本脈管学会総会 2002年11月7日東京
 7. Ryuichi Morishita “Current Knowledge on Cardiovascular Angiogenesis” The Third Congress of the Asian Pacific Society of Atherosclerosis and Vascular Diseases. 2002年2月20日 Philippines
 8. Ryuichi Morishita “Gene Therapy using therapeutic angiogenesis to treat cardiovascular disease” 2002 Human Gene Therapy Symposium 2002年4月2日ソウル
 9. Ryuichi Morishita “Hepatocyte Growth Factor-A New Therapeutic Agent” Therapeutic Angiogenesis & Myocardial Regeneration 2002年11月16日 シカゴ
- 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.

3. その他

なし.

（分担）研究報告書

FDG-PET を用いた大動脈炎直接評価と臨床応用に関する研究

（分担）研究者 小林 靖 東京医科歯科大学附属病院助手

研究要旨

現在、大動脈炎症候群（高安動脈炎）の診断は、1) 全身の炎症所見、2) 画像診断により間接的な診断が行われているが、現在でも診断が遅れたり、困難である例が多い。そこで、FDG-PET 法を用いて大動脈炎を直接評価する方法を検討した。本方法は迅速な本症の診断や治療方針の決定に重要な情報を得られることが期待される。

A. 目的

大動脈炎症候群（高安動脈炎）の診断は、全身の炎症所見と画像診断による大血管の病変の存在に基づき行われている。血液学的な炎症マーカーや臨床症状を目安として治療を行っている。しかしながら、炎症マーカーが正常化したにもかかわらず臓器の虚血症状が進行することを少なからず経験する。そこで、機能的な画像解析を行う Positron Emission Tomography (PET) を用い、大動脈炎の直接評価と臨床応用を検討した。

B. 研究方法

大動脈炎急性期患者5名、大動脈炎慢性期患者2名、正常人2名を用いて検討した。いずれも女性である。大動脈炎の診断は厚生労働省診断基準による。300-360MBqのフッ素(18F)標識 フロロデオキシグルコース (18F-FDG) を投与後、PETカメラで撮像した。尚、いずれの検査も本人の同意など所定の方法を経て行った。

C. 研究結果

18F-FDGは急性期動脈炎患者の大動脈とその分枝血管の炎症部位に特異的に取り込まれることが明らかになった。正常者と慢性期大動脈炎患者では18-FDGの大血管への取り込みは認められなかった。炎症は血管病変が存在しない部位にも認められた。また、急性期患者治療における炎症の活動性を検討したところ、炎症マーカーと大動脈炎の炎症の消失が一致しないことが明らかになった。

D. 考察

FDGは炎症細胞や腫瘍細胞など、糖代謝が亢進した細胞に強く取り込まれる。こうした性質を利用して炎症を起こしている大血管を同定することが可能であることが示唆された。

E. 結論

18F-FDGは大動脈炎炎症部位を直接、特異的に可視化することがわかった。炎症は血液学的な炎症マーカーと必ずしも一致しないことが明らかになった。FDG-PET法により血管病変出現前に本症の診断をすることが可能であり、また、的確な治療方針を決定できるようになると考えられる。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 研究発表

Kobayashi Y, Numano F: Takayasu Arteritis. Internal Medicine 41(1) 44-46, 2002

2. 学会発表

Kobayashi Y, Ishii K, Ishiwata K, Isobe M. Aortitis inflammation imaged with [Fluorine-18] labeled fluoro-deoxyglucose Positron Emission Tomography (18FDG-PET). Circulation supplement 106(19) II-387, 2002

H. 知的財産権の出願・登録状況 特になし。

HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットを用いた壊死性血管炎発症機序の解析

分担研究者 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

研究要旨

ヒト T 細胞白血病ウイルス HTLV-I の env-pX 遺伝子を導入したトランスジェニックラット (env-pX ラット) は壊死性血管炎を含む種々の collagen vascular disease を発症する。これまでの研究により、本ラットの壊死性血管炎の発症には胸腺非リンパ球組織における env-pX 導入遺伝子の発現が重要な役割を果たしていることが示唆された。今年度は、胸腺で分化し、末梢で免疫反応抑制能を発揮することが知られている CD25⁺CD4⁺ T 細胞について、env-pX ラットにおける量的ならびに質的異常を検討した。疾患発症前の env-pX ラットと同系正常ラットでは末梢における本細胞の数に有意な差は認めなかったが、env-pX ラットの CD25⁺CD4⁺ T 細胞には免疫反応抑制機能の障害やアナジー状態の破綻が認められた。env-pX ラット CD25⁺CD4⁺ T 細胞では CTLA-4 や Foxp3 の発現低下があり、これらの分子異常と細胞機能の異常が関連している可能性が示唆された。

A. 研究目的

ヒト T 細胞白血病ウイルス HTLV-I の env-pX 遺伝子を導入したトランスジェニックラット (env-pX ラット) は、壊死性血管炎を含む種々の collagen vascular disease を発症する。これまでの研究により、本ラットの壊死性血管炎の発症には、胸腺非リンパ球組織における env-pX 導入遺伝子の発現が重要な役割を果たしていることが示唆された。今年度は、胸腺で分化し、末梢で免疫反応抑制能を発揮することが知られている CD25⁺CD4⁺ T 細胞について、env-pX ラットにおける量的ならびに質的異常を検討した。

B. 研究方法

6-8 週齢の疾患未発症の env-pX ラットおよび同系正常ラット (WKAH ラット) の脾細胞中の CD25⁺細胞、CD4⁺細胞をフローサイトメトリーで解析した。また、これらのラットの脾臓から magnetic cell sorting により

CD25⁺CD4⁺ T 細胞を抽出し、抗 CD3 抗体による正常リンパ球刺激反応系に添加して、増殖反応抑制機能を比較検討した。CD25⁺CD4⁺ T 細胞単独での増殖性や抗 CD3 抗体による反応性についても比較した。さらに、CD25⁺CD4⁺ T 細胞の機能発現に係わると考えられる各種分子群について、フローサイトメトリーや定量的リアルタイム RT-PCR の手法を用いて env-pX ラットと同系正常ラット間で比較検討を行った。

C. 研究結果

env-pX ラットと WKAH ラットでは、全脾細胞数ならびに CD4⁺ T 細胞数は同等で、CD4⁺ T 細胞に占める CD25⁺細胞の比率にも有意差は認めなかった。

一方、WKAH ラットの CD25⁺CD4⁺ T 細胞は、抗 CD3 抗体による CD25⁺CD4⁺ T 細胞の増殖反応を細胞数依存的に抑制したのに対し、env-pX ラットの CD25⁺CD4⁺ T 細胞ではその抑制機能が観察されなかった。また、WKAH ラットの CD25

$^{+}CD4^{+}$ T 細胞はアナジーの状態にあったのに対し、env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞は自律性の増殖を示し、抗 CD3 抗体による刺激に対しても有意な増殖反応を示した。

env-pX ラットと WKAH ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞では、T 細胞レセプターの発現量や CD45RC、CD122 (IL-2 レセプター β 鎖)、CD28、CD80/86 の発現量に違いは認められなかった。膜結合型 TGF- β の発現は、env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞で高い傾向にあった。正常では $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞に特徴的とされる CTLA-4 および Foxp3 の発現は env-pX ラットでは低く、 $CD25^{-}CD4^{+}$ T 細胞と同程度の発現しか認められなかった。

D. 考察

疾患発症前の env-pX ラットでは、 $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞に量的異常はないものの、同細胞のアナジー状態が破綻しており、免疫反応抑制機能に障害があることが明らかとなった。ラットナイーブ T 細胞の指標とされる CD45RC は、env-pX ラット $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞においても正常ラットと同様に発現しており、また、脾細胞に占める本細胞の比率に正常ラットとの違いは認められないことから、env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞が、未発見の疾患状態における活性化を受けた T 細胞群である可能性は低いと考えられる。

$CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞が免疫反応抑制機能を発揮する分子機構については未だ明らかとはなっていない。今回の検討から、T 細胞レセプターや CD122、CD28、CD80/86 が env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞の機能異常に関わっているとは考えにくい。また、免疫反応抑制作用を発揮することが知られる膜結合型 TGF- β の発現も env-pX ラットでは予想に反し高かったので、この系では TGF- β の関与も否定的である。

一方、env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞では、正常では高発現である CTLA-4 の発現が $CD25^{-}CD4^{+}$ T 細胞と同等のレベルまで低下していた。さらに、CTLA-4 を転写段階で制御す

ると考えられている Foxp3 についてもその発現が低下していた。マウスでは CTLA-4 をブロックすることにより $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞の抑制機能が失われることや、Foxp3 を遺伝子導入することで $CD25^{-}CD4^{+}$ T 細胞に抑制機能を付与することができることが知られている。CTLA-4 および Foxp3 の発現低下が env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞の機能異常に関連している可能性が考えられる。

今後は、env-pX ラットの $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞の分子異常が導入遺伝子の直接的影響によるものか、あるいは env-pX 遺伝子を発現する胸腺非リンパ球組織を通過することにより獲得した分化異常かの観点からさらに検討を加えたい。

E. 結論

env-pX ラットにおいて、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認められた。env-pX ラット $CD25^{+}CD4^{+}$ T 細胞では CTLA-4 や Foxp3 の発現低下があり、これらの分子異常と細胞機能の異常が関連している可能性が示唆された。env-pX ラットは、胸腺におけるリンパ球の分化異常を解析するうえで有用な動物モデルと考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fugo K, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Sugaya T, Higuchi M, Tsuji M, Abe A, Suzuki A, Shibata M, Takahashi T, Yoshiki T. The role of the thymus in development of necrotizing arteritis in transgenic rats carrying the env-pX gene of human T cell leukemia virus type I. *Am J Pathol* 161: 755-761, 2002.
2. Yoshiki T. Etiopathogenesis of necrotizing vasculitis. *Intern Med* 41:

- 39-40, 2002.
3. Sugaya T, Ishizu A, Ikeda H, Nakamaru Y, Fugo K, Higuchi M, Yamazaki H, Imai K, Yoshiki T. Clonotypic analysis of T cells accumulating at arthritic lesions in HTLV-I env-pX transgenic rats. *Exp Mol Pathol* 72: 56-61, 2002.
 4. Ogawa Y, Ishizu A, Ishikura H, Yoshiki T. Elution of IgA from the kidney tissue exhibiting a glomerular IgA deposition and analysis of the antibody specificity. *Pathobiology* 70: 98-102, 2002.
 5. Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, Koike T, Yoshiki T. Functional alteration of peripheral CD25+CD4+ immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases. *J Autoimmun* 20: 43-49, 2003.
 6. 石津明洋, 吉木 敬: ウイルス遺伝子導入ラットとリウマチ性病態. *リウマチ科* 27: 213-217, 2002.
 7. 辻 宗啓, 石津明洋, 池田 仁, 吉木 敬: モデル動物からみたリウマチ性疾患. *リウマチ科* 27 (Suppl.), 101-106, 2002.
2. 学会発表
1. 阿部麻美、石津明洋、辻 宗啓、早瀬 広子、菅谷壽晃、鈴木 昭、高橋利幸、池田 仁、吉木 敬: HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットにおける関節炎発症機序に関する検討. 第27回北海道リウマチ研究会、2002. 2. 16、札幌、第27回北海道リウマチ研究会プログラム・抄録 p16
 2. 阿部麻美、石津明洋、辻 宗啓、早瀬 広子、菅谷壽晃、池田 仁、吉木 敬: HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットの関節炎発症機序に関する検討. 第91回日本病理学会総会、2002. 3. 26-28、横浜、日本病理学会会誌 91 (1): 201.
 3. 大塚紀幸、田中 敏、山本友希代、石津明洋、池田 仁、吉木 敬: ERV3 トランスジェニックラットにおけるヒトレトロウイルス外被蛋白発現と免疫機能の解析. 第91回日本病理学会総会、2002. 3. 26-28、横浜、日本病理学会会誌 91 (1): 201.
 4. 辻 隆裕、菊地和徳、土川貴裕、宮武由甲子、石津明洋、高橋利幸、池田 仁、吉木 敬: HTLV-I pX トランスジェニックラットに発生した腫瘍における遺伝子発現の検討. 第91回日本病理学会総会、2002. 3. 26-28、横浜、日本病理学会会誌 91 (1): 224.
 5. 阿部麻美、石津明洋、辻 宗啓、早瀬 広子、菅谷壽晃、池田 仁、吉木 敬: HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットにおける関節炎発症機序に関する検討. 第46回日本リウマチ学会総会・学術集会、2002. 4. 22-24、神戸、リウマチ 42 (2): 386.
 6. 阿部麻美、石津明洋、辻 宗啓、早瀬 広子、菅谷壽晃、鈴木 昭、高橋利幸、池田 仁、吉木 敬: HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットに認める関節炎の発症ならびに持続機序に関する検討. 第35回北海道病理談話会、2002. 8. 31、旭川、第82回北海道医学大会プログラム(病理系分科会)、p24
 7. 辻 隆裕、池田 仁、石津明洋、高橋利幸、吉木 敬: HTLV-I pX トランスジェニックラット胸腺腫の悪性化とそれに関わる遺伝子発現の解析. 第77回北海道癌談話会、2002. 9. 7、札幌、第82回北海道医学大会プログラム(腫瘍系分科会)、p17
 8. 辻 隆裕、池田 仁、菊地和徳、土川貴裕、富居一範、石津明洋、高橋利幸、吉木 敬: 異所性移植による HTLV-I pX トランスジェニックラット胸腺腫の悪性化とその解析. 第61回日本癌学会総会、東京、2002. 10. 1-3、*Jpn J Cancer*

Res 93 (Suppl.): 58, 2002.

9. 阿部麻美、石津明洋、辻 宗啓、早瀬
広子、菅谷壽晃、鈴木 昭、高橋利幸、
池田 仁、吉木 敬：HTLV-I env-pX
遺伝子導入ラットに認める関節炎の発
症ならびに持続機序に関する検討
第 32 回日本免疫学会総会・学術集会、
東京、2002. 12. 4-6、日本免疫学会総
会・学術集会記録、32: 296.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

厚生労働省科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

ウサギ慢性虚血下肢に移植された自家静脈グラフト内膜肥厚と
再生内皮細胞機能に対するFGF-2血管新生遺伝子治療の影響に関する研究

分担研究者 居石 克夫 九州大学大学院医学研究院・教授

〔研究要旨〕

本研究では、国産の全く新しい組換えウイルスベクター（センダイウイルスベクター：SeV）による FGF-2 遺伝子治療の血流改善効果を我々が開発したウサギ慢性虚血モデルで確認し、さらに自家静脈グラフトに対する影響を検討した。SeV-FGF2 は慢性虚血下肢の表層血流、大腿深動脈経由側副血行路共に改善し、同部位に移植された自家静脈グラフトの内膜肥厚も抑制した。グラフトの内皮依存性弛緩反応は FGF-2 治療にて有意に改善した。以上から、SeV-FGF2 による遺伝子治療は重症虚血肢への救肢のみならず、グラフト移植術に対する補助療法へ適応を拡大し得ると考えられた。

A. 研究目的

我々はこれまで、欧米で施行されている VEGF より FGF-2 が広い安全域と急性虚血肢に対し高い効果を示すことを示した。本研究では、センダイウイルスベクター（SeV）による FGF-2 遺伝子治療の血流改善効果を我々が開発したウサギ慢性虚血モデルで確認し、さらに自家静脈グラフト内膜肥厚、内皮機能に対する影響を検討した。

B. 研究方法

日本白色種家兎後肢に慢性虚血モデルを作成、SeV-FGF2 あるいは SeV-luciferase を筋注した。血流回復効果はレーザー Doppler 法、電磁血流計により判定した。同側大腿静脈を浅大腿動脈に端々吻合し、4 週後に標本を採取、内膜肥厚あるいは等尺収縮法による内皮依存性弛緩反応を測定した。

（倫理面への配慮）

本研究は九州大学組み換え DNA 実験委員会の承認のもと、P2 動物実験室で施行した。動物実験は、九州大学動物実験委員会の審議・許可を得た。

C. 研究結果

1. FGF-2 遺伝子導入によりレーザー Doppler による表層血流量、電磁血流計による大腿深動脈系の側副血行量の 30-50% 以上の増加が確認された。
2. FGF-2 遺伝子導入により自家静脈グラフト内膜肥厚が有意に抑制された。
3. FGF-2 遺伝子導入により自家静脈グラフトの内皮依存性弛緩反応が有意に回復した。

D. 考察

FGF-2 遺伝子治療は急性虚血のみならず、慢性虚血状態の下肢にも有効であることが示された。自家

静脈グラフト内膜肥厚抑制効果は、遺伝子治療による再生内皮細胞機能の回復が理由の可能性の一つであることが示唆された。

E. 結論

SeV-FGF2 による遺伝子治療は重症虚血肢の救肢のみならずグラフト移植補助療法として有用である。

F. 健康危険情報

特に無し。

G. 研究発表

1. 論文発表（2000 年以降）

1. Am J Physiol 2 編（2002： 1 編、in press： 1 編）
2. Gene Therapy 5 編（2003： 2 編、in press： 3 編）
3. Circ Res 2 編（2002： 2 編）
4. J Immunol 1 編（2002： 1 編）、その他。

2. 学会発表

アメリカ遺伝子治療学会他、多数。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

リコンビナントインブリード系を用いた系統的血管炎の 病態形質の感受性遺伝子座の解析

研究分担者 能勢真人 愛媛大学医学部病理学第二講座

研究要旨:

当教室では、リコンビナントインブリード (RI) 系マウス MXH/lpr を、血管炎を始めとした膠原病好発系 MRL/Mp-lpr/lpr (MRL/lpr) マウスと嫌発系マウス C3H/HeJ-lpr/lpr (C3H/lpr) から樹立した。このうち、11 系統を対象とし、血清学のおよび血管炎の病理学的解析を行い、同時に系統間分布表 (strain distribution pattern table, SDP 表) を作成した。このうち、血管炎好発系ラインは 4 系統、嫌発系は 7 系統あったが、これらは全く異なる血清学的特徴を有していた。さらに、SDP 表から、これらの系統すべてが、全くランダムなゲノムモザイクを有することも明らかとなった。以上から、これらの RI マウスの病態形質と SDP 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し、いかなる免疫異常形質がどのように系統的血管炎の発症に関与するかについて、ゲノムとの関連において明らかにする可能性が示された。

A. 研究目的

MRL/lpr マウスは、ループスマウスとよばれる膠原病モデルマウスの代表であり、系統的血管炎、糸球体腎炎、関節炎、唾液腺炎といった膠原病病変を高率に発症する。lpr 遺伝子は、アポトーシスを誘導する Fas の欠損変異であることが明らかになっており¹⁾、MRL/lpr の膠原病病変は Fas の欠損によりアポトーシスを逃れた自己反応性リンパ球による、持続的な免疫応答・反応の活性化の結果と考えられてきた。一方、C3H/lpr マウスでは、lpr 遺伝子に誘導される double negative T 細胞の集積による全身性リンパ節腫脹や脾腫は MRL/lpr マウスと同程度で、高ガンマグロブリン血症の程度や自己抗体値は、MRL/lpr マウスに比較すると低値ながらも認めるが、膠原病病変は発症しない。このことより、膠原病病変の発症には、lpr 遺伝子のみならず MRL 系マウスの遺伝的背景にある何らかの原因遺伝子が必要であると考えられる。

MRL 系マウスの膠原病病変の原因遺伝子の解析のために、C3H/lpr マウスとの戻し交配 MRL/lpr × (MRL/lpr × C3H/lpr) F1 (N2) マウス、あるいは兄妹交配 (MRL/lpr × C3H/lpr) F2 マウス群を

作出することで、背景遺伝子群の再構成を行い、膠原病病像を解析するのが最もオーソドックスな方法である。実際、当教室で戻し交配系 N2 マウスを解析した結果、膠原病疾患群の病理像のみならず各種自己抗体などの免疫現象も遺伝的に解離しうることを証明した^{2,3)}。さらに、前述の N2 および F2 世代の個体を用いて、トータルゲノム対象に種々の膠原病病変に関わる遺伝子座のマッピングを行ったところ、それぞれの疾患感受性遺伝子座を複数同定することができた^{4,7)}。一方、前述の N2 マウスから兄妹交配世代ごとに組織病理学的な選択を行うことで、糸球体腎炎を発症せず血管炎のみを発症する系統マウス McH5/lpr を樹立し、このマウスでは、従来血管炎発症の責任蛋白であるとされてきた血中抗 dsDNA 抗体や抗 myeloperoxidase 抗体が、いずれも正常マウスレベルであることも明らかにした⁸⁾。

一般に RI 系マウスは、2 つの近交系マウスで F2 世代を作製し、このランダムな多数のペアを出発点としてそれぞれに兄妹交配を 20 世代以上繰り返すことにより作出される。各系の染色体は、各世代でおこる遺伝子組み換えが重積する結果、

両親系統の染色体がモザイク状となり、さらに全ての座位がホモとなっている。両親系統の間で多型のある座位について、各系統の遺伝型を決定し、その SDP 表を作成することが可能であり、さらにこの表から各染色体の特定セグメントがどちらの親由来であるのかを推定することができる。

当教室では、前述の膠原病好発系 MRL/lpr マウスと嫌発系 C3H/lpr マウスより RI 系マウス MXH/lpr を樹立しており、10 世代目でゲノムワイドに遺伝型を検討した結果、これらのすべてが全く異なるランダムなゲノムモザイクをもつことを明らかにしている。この RI 系マウス MXH/lpr には、(1) 膠原病の原因遺伝子を個体レベルで機能的に明らかにし得る、(2) 膠原病の責任蛋白を個体レベルでしかも経時的に明らかにし得る、(3) 膠原病の発症にいかなる免疫異常が原因であるかわかる、(4) 各系統に外的刺激を加えることにより、いかなる環境要因が膠原病を促進、あるいは抑制するかが形質別にわかる、(5) 各系統に薬剤を投与することにより、膠原病の形質別にその治療効果を判定できる、ということが、ゲノムレベルで明らかに出来、そのヒト相同染色体領域、相同遺伝子の解析からヒト膠原病の診断、治療、予後判定、ゲノム創薬に応用できることが期待できる。

今回、この RI 系マウス MXH/lpr の中の 11 系統について、膠原病病変発症月齢マウスにおける血管炎の病理学的解析および血清学的解析をおこなった。さらに、これらの系統の SDP 表を作成し、これらの解析結果と当教室で現在までに得ている血管炎感受性遺伝子座との関連につき考察を加えた。

B. 研究方法

F19-22 世代の MXH/lpr マウスの 11 系統を対象とし、各系統の 10 匹以上について、5-6 ヶ月齢で解析を行った。血管炎の病理学的解析は、ホルマリン固定した腎臓の組織から Elastica Masson 染色を用いて組織標本を作り、腎血管の血管炎

の程度を血管ごとにスコア化し(Grade 0: 正常または血管周囲の細胞浸潤、Grade 1: 微小肉芽組織の形成を伴う外弾性板の破壊、Grade 2: 内弾性板の破壊、内膜肥厚)、血管炎を発症した血管の数とその血管炎の grade に応じた point を掛け合わせて求めた index を用いて行った。血清学的解析として、免疫グロブリン(IgG、IgM)量、自己抗体価(抗 dsDNA IgG 抗体、IgG-RF)の測定を行った。

さらに、これらの各 RI 系統のゲノムモザイクの構成については、多型マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子型を決定し、SDP 表を作成し、系統間および現在までに当教室で同定した血管炎感受性遺伝子座との比較を行った。

C. 研究結果

1. MXH/lpr 各系統の病理学的解析(図 1)

腎血管炎 index の平均値が 1 以上となる系統は、MXH/lpr-06、10、36、41 の 4 系統あり、これらを血管炎好発系ラインとした(図1)。これらの系統のうち、MXH/lpr-10 では、半月体形成性腎炎を主体とする重篤な糸球体腎炎を合併しており、実際、比較的早期に腎不全で死亡する個体が多くみられた。残りの 7 系統はほとんど血管炎を発症しない、血管炎嫌発系ラインであった。

2. MXH/lpr 各系統の血清学的解析(図 2-5)

血清学的解析を施行した各項目について、便宜上、値が高い順から上位 6 系統を高値群、下位 5 系統を低値群とした。

血管炎好発系ラインに関しては、各項目をみると、高値群、低値群に各 2 系統ずつ入っており、特にこれらの値が高い傾向はなかった。その中でも、MXH/lpr-06、10 では免疫グロブリンや自己抗体値は、大部分が低値群であった。特に MXH/lpr-06 では、免疫グロブリン値は C3H/lpr マウスと比較しても低値であった。MXH/lpr-36 の IgG 値は MXH/lpr 系統の中では中等度であったが、抗 dsDNA IgG 値は全体のなかでは 2 番目に

高値であった。MXH/lpr-41 では、血清 IgG 値は群を抜いて高く、同月齢の MRL/lpr に比較しても高かった。自己抗体も高値群であった。

一方、血管炎嫌発系に関しては、MXH/lpr-28 は項目全てが高値群であった。MXH/lpr-54 は、免疫グロブリン値は高値群に入るものの中程度の値であったが、抗 dsDNA IgG 抗体は系統間で最も高値であった。

3. SDP 表の結果(図 6、表 1、2)

SDP 表より、各ラインが全く異なるゲノムモザイクを持つことが明らかとなった(表 1、2)。

また、当教室で既に明らかにした腎血管炎感受性遺伝子座との関係⁹⁾について検討したところ(図 6)、血管炎好発系ラインでは、劣性感受性遺伝子座 *Arvm1*、2、劣性抵抗性遺伝子座 *Arvm3* の 3 座のうち、必ず 1 座以上に感受性アリル(*Arvm3*:C 型、*Arvm1*、2:M 型)を持つことが明らかとなり、特に MXH/lpr-36 は 3 座とも感受性アリルであった。劣性感受性遺伝子 *Arvm1* および 2 に関しては、好発系ラインに関しては、全て、感受性アリルを 1 座以上持つのにに対し、嫌発系ライン 7 系統のうち 5 系統は 1 座も持たなかった。一方で、感受性遺伝子座 *Arvm1*、2 がともに M 型である MXH/lpr-21 には血管炎の発症をほとんど見なかった。

D. 考察

今回、RI 系マウス MXH/lpr 11 系統について、膠原病発症月齢において解析した。SDP 表よりこれらの系統すべてが、全く異なる遺伝型を持つことが明らかとなった。さらに、病理学的検索の結果、血管炎好発系 4 系統と嫌発系 7 系統が存在することを明らかにした。今回検討した結果では、これらの各系統は血清学的に全く異なる形質を有しており、血管炎発症と免疫グロブリンや自己抗体値との相関は認めなかった。しかし、今回は 5-6 ヶ月齢のマウスを対象としており、また測定した自己抗

体も限定していた。今後、経時的に解析を行うことで、血管炎好発系マウスにおいても、血管炎早期発症群と晩期発症群に分けられる可能性もあり、一方、さらに詳細に病理学的解析と血清学的解析を行うことで、疾患発症と何らかの血清学的異常との相関がみられる可能性がある。

一方、SDP 表を用いて、RI 系マウス 11 系統の腎血管炎発症と現在までに得られた腎血管炎の感受性遺伝子座 3 座とを比較したところ、血管炎好発系では、これらの遺伝子座の感受性アリルを 1 座以上持ち、平均して 3 座中 2 座を有していた。一方、嫌発系では、1 座も感受性アリルを有しないラインが 3 系統あり、さらに平均 0.7 座しか持っていなかった。しかし、好発系のうち MXH/lpr-36 は 3 座いずれも感受性アリルを持つが、他の好発系ラインと比べ必ずしも血管炎の程度が重篤ではなかった。また、MXH/lpr-21 は 2 座に感受性アリルをもつにもかかわらず、血管炎嫌発系であり、これら感受性遺伝子座のごく近傍で組換えが起こっているのか、あるいはその他の遺伝的背景の関与が示唆された。雌のみに劣性抵抗性を示す *Arvm3* の関与に関しては、今後さらに各ラインの検体数を増やし性差を検討することによって明らかにしたい。

さらに、現在までにこれらの感受性遺伝子座における位置的候補遺伝子として、*Arvm1* 上にある *CD72* において、MRL と C3H の間での多型を同定し⁹⁾、さらに、血管炎好発コンジェニックマウス McH5/lpr においては *CD72* が MRL 由来であることを見出し出しているが、今後、RI 系マウスにおいても同様の検討を行っていく予定である。

以上の所見から、これらの RI 系マウスの病態形質と SDP 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可能となる。また、ANCA やリンパ球亜集団などの種々の免疫形質をも経時的に解析することが可能であるところから、いかなる免疫異常形質が系統的血管炎に、またこれらがどのようにその発症に関与

するかについてもゲノムとの関連において明らかにすることができる。

E. 結論

1. 膠原病を好発系 MRL/lpr マウスと嫌発系 C3H/lpr マウスから、両系統のランダムなゲノムモザイクを構成する RI 系マウス MXH/lpr を樹立し、5-6 ヶ月齢で解析した。
2. これら RI 系マウス 11 系統において、血管炎好発系マウスと嫌発系マウスがみられ、これら各々には共通の血清学的所見はみられなかった。
3. 今後、これら RI 系マウスを詳細にかつ経時的に解析していくことで、血管炎の責任遺伝子や発症に関与する免疫異常などを明らかにしていくことが可能となった。

[共同研究者]

小森浩章、岩崎美津子、寺田美穂、小野栄夫(愛媛大学医学部病理学第二講座)、森士朗(東北大学大学院歯学研究科顎顔面口腔外科学講座顎外科咬合形成学分野)

[参考文献]

1. Watanabe-Fukunaga R et al. Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature* 356: 314-317, 1992.
2. Nose M et al. Analysis of granulomatous arteritis in MRL/Mp autoimmune disease mice bearing lymphoproliferative genes. The use of mouse genetic to dissociated the development of arteritis and glomerulonephritis. *Am J Pathol* 135: 271-280, 1989.
3. Nose M. Genetic basis of vasculitis in lupus mice. In "intractable vsculitis syndrome" (ed. Tanabe T). Hokkaido University Press, Sapporo, 1993: 145-153

4. Nakatsuru S et al. Genetic dissection of the complex pathological manifestations of collagen disease in MRL/lpr mice. *Pathol Int* 49: 974-982, 1999.
5. Nishihara M et al. Genetic basis of autoimmune sialoadenitis in MRL/lpr lupus-prone mice: additive and hierarchical properties on polygenic inheritance. *Arthritis Rheum* 42: 2616-2623, 1999.
6. Qu W-M et al. Genetic dissection of vasculitis in MRL/lpr lupus mice: a novel susceptibility locus involving the *CD72^e* allele. *Eur J Immunol* 30: 2027-2037, 2000.
7. Kamogawa J et al. Arthritis in MRL/lpr mice is under the control of multiple gene loci with an allelic combination derived from the original inbred strains. *Arthritis Rheum* 46: 1067-1074, 2002.
8. Nose M et al. Arteritis in a novel congenic strain of mice derived from MRL/lpr lupus mice. Genetic dissociation from glomerulonephritis and limited autoantibody production. *Am J Pathol* 149: 1763-1769, 1996.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada A, Miyazaki T, Lu LM, Ono M, Ito MR, Terada M, Mori S, Hata K, Nozaki Y, Nakatsuru S, Nakamura Y, Onji M, Nose M. Genetic basis of tissue-specificity of vasculitis in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum*, in press.
- 2) Magoori K, Kang MJ, Ito MR, Kakuuchi H, Ioka RX, Kamataki A, Kim DH, Asaba H, Iwasaki S, Takei YA, Sasaki M, Usui S, Okazaki M, Takahashi S, Ono M, Nose M, Sakai J, Fujino T, Yamamoto TT. Sever hypercholesterolemia,

- impaired fat tolerance and advanced atherosclerosis in mice lacking both LDL receptor-related protein 5 (LRP5) and apolipoprotein E. *J Biol Chem*, in press.
- 3) Fujino T, Asaba H, Kang MJ, Ikeda Y, Sone H, Takada S, Kim DH, Ioka RX, Ono M, Tomoyori H, Okubo M, Murase T, Kamataki A, Yamamoto J, Magoori K, Takahashi S, Miyamoto Y, Oishi H, Nose M, Okazaki M, Usui S, Imaizumi K, Yanagisawa M, Sakai J, Yamamoto TT. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5(LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 229-234, 2003.
 - 4) Sasaki M, Hasegawa H, Kohno M, Inoue A, Ito MR, Fujita S. Antagonist of Secondary Lymphoid-Tissue Chemokine (CCR Ligand 21) Prevent the Development of Chronic Graft Versus-Host Disease in Mice. *J Immunol* 2003: 588-596, 2003.
 - 5) Ito MR, Nose M. Critical commentary to a case of segmental mediolytic arteriopathy involving both intracranial and intraabdominal arteries. *Pathol Res Pract* 198: 499-500, 2002
 - 6) Kamogawa J, Terada M, Mizuki S, Nishihara M, Yamamoto H, Mori S, Abe Y, Morimoto K, Nakatsuru S, Nakamura Y, Nose M. Arthritis in MRL/lpr mice is under the control of multiple gene loci with an allelic combination derived from the original inbred strains. *Arthritis Rheum* 46: 1067-1074, 2002.
 - 7) Mori H, Kitazawa R, Mizuki S, Nose M, Maeda S, Kitazawa S. RANK ligand, RANK, and OPG expression in type II collagen-induced arthritis mouse. *Histochem Cell Biol* 117: 283-292, 2002.
 - 8) Qu WM, Miyazaki T, Terada M, Okada K, Mori S, Kanno H, Nose M. A novel autoimmune pancreatitis model in MRL mice treated with polyinosinic:polycytidylic acid. *Clin Exp Immunol*, 129: 27-34, 2002.
 - 9) Sarui H, Maruyama T, Ito I, Yamakita N, Takeda N, Nose M, Yasuda K. Necrotising myositis in Behçet's disease: characteristic features on magnetic resonance imaging and a review of the literature. *Ann Rheum Dis* 61: 751-752, 2002.
 - 10) Ohmori T, Wakamoto R, Lu LM, Okada K, Kamogawa J, Nose M. Immunohistochemical study of a case of uterine leiomyoma showing massive lymphoid infiltration and localized vasculitis after LH-RH derivant treatment. *Histopathology* 41: 273-279, 2002.
 - 11) Masui N, Takagi Y, Nishikawa T, Yanabe M, Nose M, Sato K. New PCR-RFLP analysis for the mouse *Tnfsf6* gene caused by a point mutation in the *Tnfsf6* (tumor necrosis factor(Ligand) superfamily, member 6) locus. *Exp Anim* 51: 501-503, 2002.
 - 12) Murata K, Nose M, Ndhlovu LC, Sato T, Sugamura K, Ishii N. Constitutive OX40/OX40 ligand interaction induces autoimmune-like diseases. *J Immunol* 169: 4628-4636, 2002.
 - 13) Takahashi S, Araki K, Araki M, Ito MR, Nakatani K, Fujii H, Izui S, Vassalli P, Nose M. Suppression of experimental lupus nephritis by aberrant expression of the soluble E-selectin gene. *Pathol Int* 52: 175-180, 2002.
 - 14) 工藤恵、伊藤美津子、有田典正、大石久史、宮崎龍彦、鈴木純、松中豪、能勢真人：肉芽腫性肺動脈炎を併発し咯血死した全身性サルコイドーシスの1症例。リウマチ 42: 807-814, 2002.
 - 15) 有田典正、伊藤美津子、中谷公彦、藤井博司、大石久史、泉山朋政、平林泰彦、齋藤輝信、能勢真人：皮膚筋炎に合併した急速進行性間質性肺炎の剖検症例におけるサイトメガロウイルス

- ルスの解析—発症要因としてのウイルスゲノムと発現蛋白との関連について. リウマチ 42: 597-604, 2002.
- 16) 伊藤美津子、能勢真人: マウスループス腎炎病像の多様性とリモデリング機構. 別冊・医学のあゆみ 腎疾患-state of arts 2003-2005: 242-245, 2003.
- 17) 伊藤美津子、能勢真人: 半月体形成性腎炎における糸球体内皮障害. 腎と透析 52: 625-630, 2002.
- 18) 能勢真人: リンケージ解析によるループス腎炎感受性遺伝子の解析. 腎と透析 52: 209-214, 2002.
- 19) 能勢真人: 膠原病の感受性遺伝子—モデルマウスゲノミクス. 別冊医学のあゆみ 免疫疾患-state of arts ver.2: 224-229, 2002.
- 20) 能勢真人: 膠原病モデルマウス—ゲノム病理学の視点から—. 病理と臨床 20: 399-406, 2002.
2. 学会発表
- 1) 吉田美奈子、有田典正、寺田美穂、小野栄夫、能勢真人: ループス腎炎の感受性遺伝子の解析. EOD ループスマウスに発症した毛色変質からのアプローチ. 第 91 回日本病理学会総会, 横浜, 2002.3.26
- 2) 宮崎龍彦、小野栄夫、澤崎達也、遠藤八重太、能勢真人: オステオポンチン多型蛋白によるマクロファージに対するプライミング効果の機能的差異の解析. 第 91 回日本病理学会総会, 横浜, 2002.3.28
- 3) 大石久史、水木伸一、鶴川淳二、寺田美穂、椿崇仁、宮崎龍彦、小野栄夫、山本晴康、能勢真人: 関節炎モデルマウスのゲノム解析. enthesopathy の感受性遺伝子座と促進遺伝子座の同定. 第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 神戸, 2002.4.24
- 4) 中谷公彦、藤井博司、長谷川均、吉本宗平、寺田美穂、岩野正之、椎木英夫、能勢真人: 可溶性 E-selectin による MRL/LPR マウスの管内増殖型糸球体病変に対する抑制効果. 第 45 回日本腎臓学会学術総会, 大阪, 2002.5.24
- 5) 小野栄夫、中谷公彦、能勢真人: 加齢に伴う脾臓 B 細胞数の減少を規定する遺伝的要因. 第 32 回日本免疫学会総会, 東京, 2002.12.4
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
- 1.特許取得 なし
- 2.実用新案登録 なし

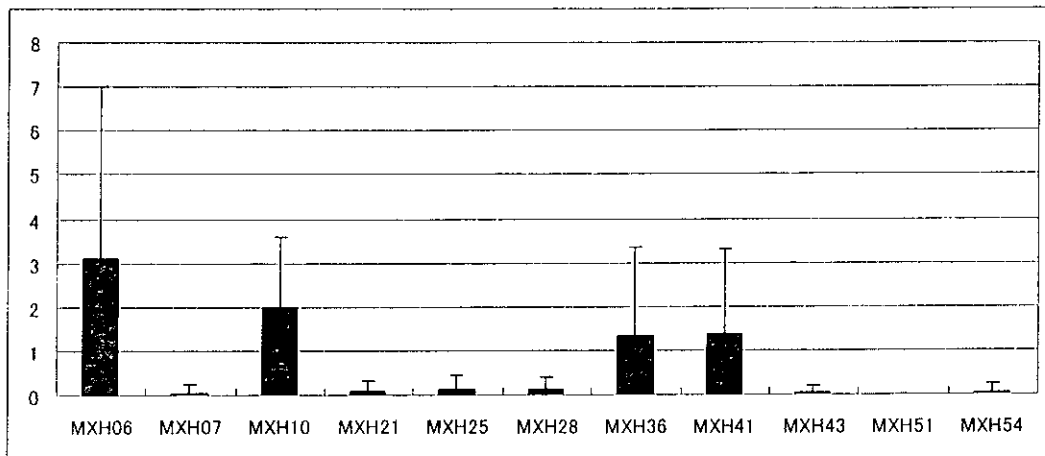


図1 各系統の腎血管炎index

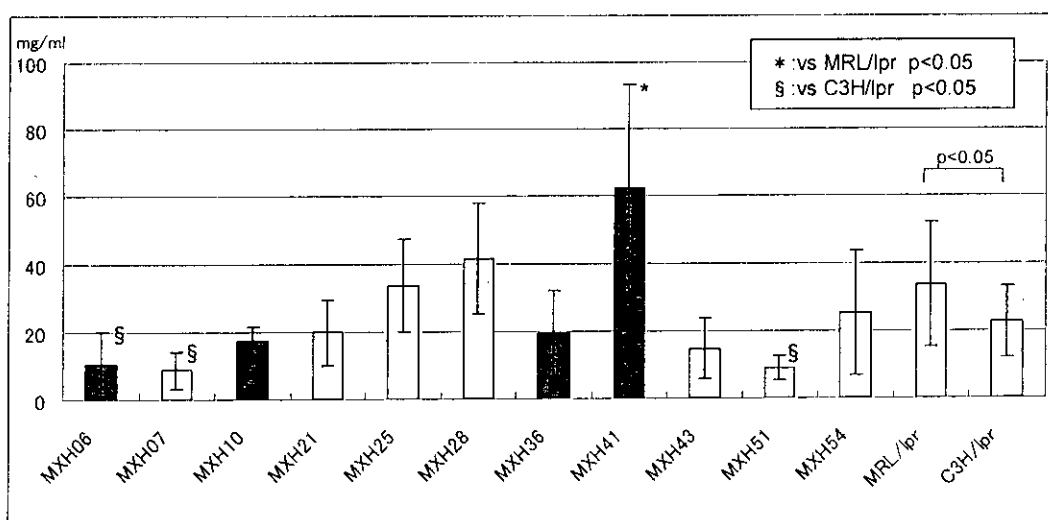


図2 各系統の血清IgG値

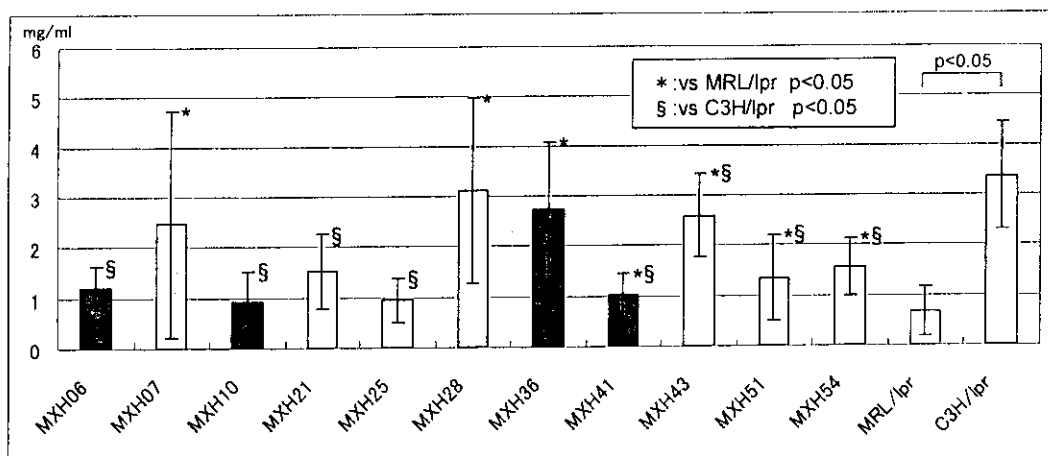


図3 各系統の血清IgM値

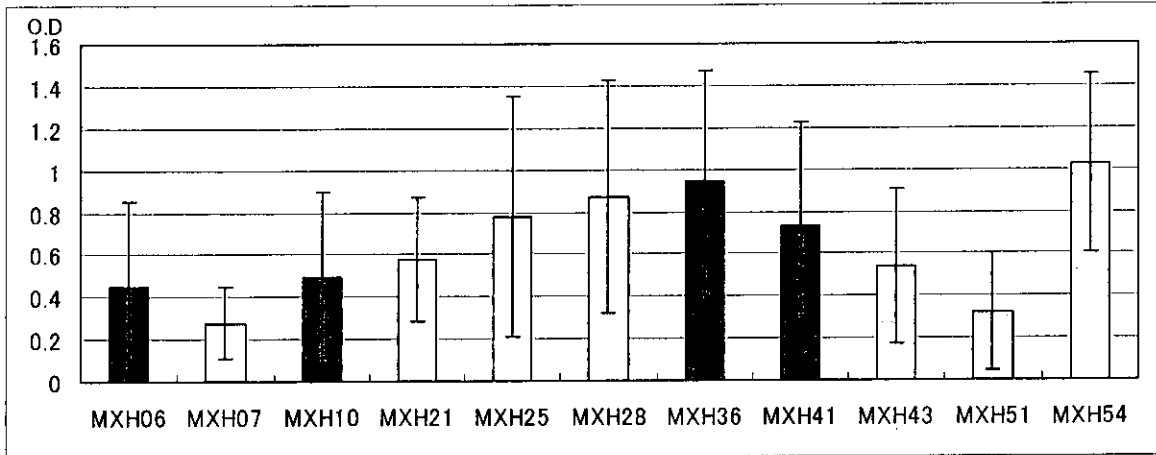


図4 各系統の抗ds-DNA IgG抗体値

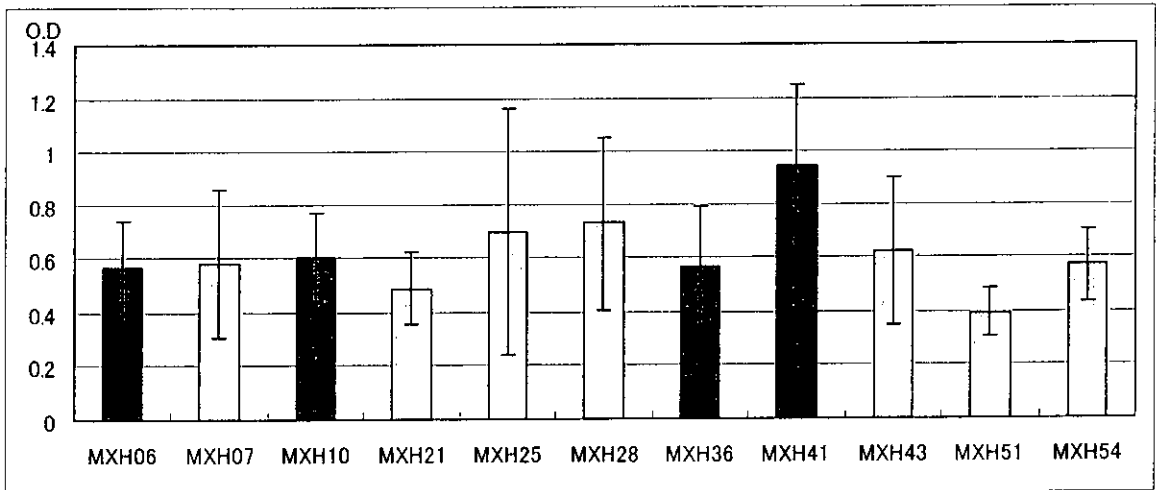


図5 各系統のIgG-RF値

susceptibility loci	primer	position (cM)	6	7	10	21	25	28	36	41	43	51	54
<i>Arvm 3</i>	D3 Mit 14	64.1	C	M	M	M	M	M	C	C	M	C	M
<i>Arvm 1</i>	D4 Mit 271	20.8	M	C	M	M	C	C	M	C	C	C	C
<i>Arvm 2</i>	D4 Mit 338	59.5	C	C	C	M	C	C	M	M	C	C	M

図6 腎血管炎感受性遺伝子座近傍のSDP表

primer	position (cM)	6	7	10	21	25	28	36	41	43	51	54
D1Mit 276	12.5	C	C	M	C	C	M	C	C	M	M	C
174	24.7	C	C	M	M	C	C	C	C	M	M	M
46	43.1	C	C	M	M	M	C	C	C	M	M	C
49	54.5	M	C	M	M	M	C	C	C	M	M	C
187	62	C	C	M	M	M	C	M	C	M	M	C
423	73	M	C	M	C	M	C	M	C	C	M	C
D2 Mit 522	25.1	C	M	M	C	M	M	M	M	C	M	M
101	52.5	C	C	C	M	M	M	M	M	C	C	C
493	52.5	C	M	C	C	M	M	M	M	C	C	C
22	52.5	C	M	C	C	M	M	M	M	C	C	M
D3 Mit 24	22	C	M	M	M	M	C	C	C	M	C	C
22	33.7	C	M	M	M	M	C	C	C	M	C	C
101	47	C	M	M	M	C	C	M	C	M	C	M
14	64.1	C	M	M	M	M	M	C	C	M	C	M
D4Mit 266	6.3	M	C	C	M	C	M	M	C	C	C	M
271	20.8	M	C	M	M	C	C	M	C	C	C	C
17	31.4	M	C	M	M	C	C	M	C	C	C	C
15	42.6	C	C	C	M	C	C	C	M	C	C	C
306	50.8	C	C	C	M	C	C	M	M	C	C	C
338	59.5	C	C	C	M	C	C	M	M	C	C	M
259	76	C	C	M	C	C	C	M	M	C	M	C
D5Mit 145	0	C	M	M	C	C	M	C	M	C	M	C
74	11	C	C	M	C	C	C	C	M	C	M	C
149	19	C	M	M	C	C	C	C	C	C	M	C
58	41	M	M	M	C	M	C	M	M	C	C	C
33	78	C	C	M	M	C	C	M	C	M	C	C
D6Mit 188	32.5	M	M	M	M	M	C	M	C	C	C	C
261	37	M	M	C	M	M	C	M	C	C	C	C
15	74	M	C	M	M	M	C	C	C	C	M	C
D7Mit 340	1.2	M	M	M	C	M	M	M	M	C	M	C
117	11	M	M	C	M	M	C	M	M	C	M	C
229	23	C	M	M	M	C	C	M	M	C	M	C
68	60	C	M	M	C	C	C	M	C	M	C	M
D8Mit 4	14	C	C	C	M	C	C	M	M	C	M	M
65	22.5	M	C	M	M	C	C	C	M	M	M	M
145	33	M	M	M	M	C	C	C	M	M	M	M
107	43	C	M	M	M	C	M	C	M	M	M	M
112	55.7	M	M	M	C	C	C	C	C	C	C	M
D9Mit 217	4	M	M	M	C	C	C	M	C	C	C	M
90	9	M	M	M	C	M	C	C	C	C	C	M
128	19	M	M	M	C	C	C	C	C	C	C	M
254	25	M	C	C	C	C	C	C	C	C	C	M
196	48	M	C	C	C	M	M	C	C	C	C	C

表1 系統間分布表(SPD表) (I)

primer	position (cM)	6	7	10	21	25	28	36	41	43	51	54
D10Mit 96 164	56	M	C	M	C	M	C	C	C	M	C	M
	67.5	M	M	M	C	M	M	C	C	M	C	C
D11Mit 214	70	C	M	C	C	C	C	M	C	M	M	M
D12Mit 182 136 190 4 259 141	2	C	C	M	M	M	C	C	M	C	M	C
	13	C	C	M	M	M	C	C	C	C	M	M
	28	M	C	M	M	C	M	M	M	M	C	M
	34	M	C	M	M	M	C	C	M	C	C	C
	45	M	C	M	M	M	C	M	C	M	C	M
55	M	C	M	M	M	M	C	M	M	M	M	C
D13Mit 186 202 130 171	36	M	M	M	C	C	C	C	C	C	C	C
	47	C	C	M	M	C	M	C	C	C	M	C
	61	C	C	M	M	C	M	C	C	C	M	C
	71	C	C	M	M	C	M	C	C	C	M	M
D14Mit 39 195 75	30	C	M	C	M	M	M	M	M	M	M	C
	44.3	M	M	M	C	M	M	C	M	M	M	M
	54	M	C	M	C	M	M	C	M	M	C	M
D15Mit 102 152 133 161	6.7	M	M	M	C	C	C	M	M	C	C	M
	20.2	M	M	M	C	C	C	M	M	C	C	M
	39.1	M	M	M	C	C	C	M	M	C	C	M
	69.2	C	C	M	C	C	C	M	C	M	M	C
D16Mit 165 168 185 152	10.3	C	C	C	C	M	C	C	C	C	M	C
	30	M	M	M	C	C	C	C	M	M	M	M
	40	M	M	M	C	C	C	C	M	M	M	C
	57	C	M	M	C	M	C	C	M	C	C	C
D17Mit 155 264 127	5.7	M	M	M	C	M	C	M	M	C	C	C
	22.5	M	C	M	C	C	M	M	C	C	C	C
	45.3	M	M	M	C	M	M	M	C	C	M	M
D18Mit 19 12 51 142	2	M	C	C	C	M	C	C	C	M	M	M
	17	M	M	C	C	C	C	C	C	M	C	M
	37	M	C	C	M	C	C	M	M	M	C	M
	47	C	C	C	M	M	C	C	M	M	M	M
D19Mit 60	15	M	C	M	C	M	M	C	M	M	C	C
DX Mit 159 24 114 79	17.15	M	C	M	M	C	M	M	M	M	C	C
	30.02	M	C	M	M	M	M	M	M	C	M	C
	40.2	M	C	M	M	M	M	M	C	C	M	M
	50.5	M	M	C	M	M	M	M	C	M	M	M

表2 系統間分布表(SPD表) (2)

Buerger 病に対する自己骨髄細胞移植治療に関する研究

分担研究者 由谷親夫 国立循環器病センター 病理部長

難知性の重症 Buerger 病 3 例に対し、自己骨髄細胞移植による血管再生療法を施行した。臨床症状の著明な改善が認められ、血管腫や悪性腫瘍の発生などの副作用は見られなかった。自己骨髄細胞移植治療は、難知性の重症 Buerger 病に対する有効な治療手段になりうる可能性がある。

A. 研究目的

血液中の単核球分画に血管内皮前駆細胞の存在が報告され、自己骨髄細胞(単核球)の虚血部への移植により、血管再生と血流の改善が基礎的実験及び臨床試験で示されている。一方、Buerger 病の動脈病変は、末梢の動脈が主体であり、血行再建術が困難な場合が多い。そこで本研究では、難知性の重症 Buerger 病に対する自己骨髄細胞移植治療の有用性と安全について検討することを目的とした。

B. 研究方法

Fontaine III 度または IV 度の重症 Buerger 病で、血行再建術が困難な例を対象とし、CT、超音波、内視鏡などの諸検査により腫瘍や網膜症が認められた例また合併症により全身麻酔手術耐え難い例は除外した。全身麻酔下に腸骨より約 800ml の骨髄液採取を行い、比重遠心分離法にて骨髄単核球(約 50ml)を分離した。これを 0.5ml ずつ虚血肢の約 80ヶ所に筋肉内投与した。手術前および約 1ヶ月後に ABPI(Ankle-brachial pressure index)、DSA による血管造影等の末梢血流検査を施行した。また、CT 等にて骨髄細胞投与部位の化骨、線維腫、脂肪腫、血管腫などの有無および網膜症のチェックを行った。

(倫理面への配慮)

文書にて細胞移植医療で発生する合併症・効能・不利益・利益を説明し、本人及び家族の同意の元に施行した。

C. 研究結果

1 例目は安静時疼痛を認める 63 歳男性であり、単核球 3.11×10^9 個を移植し、2 週間程で安静時疼痛は消失した。1 ヶ月後、200m 以上の歩行が可能となった。DSA では僅かに描出血管の増加が見られたが、ABPI では有意な変化は認めなかった。2 例目は 31 歳男性で、安静時疼痛と内科的治療に抵抗する皮膚潰瘍を呈していた。単核球数は 4.7×10^9 個を移植し、安静時疼痛と皮膚潰瘍が 1 ヶ月程で治癒した。しかし、ABPI、DSA では顕著な改善はみられなかった。3 例目は 52 歳の男性で、足先の広

範な皮膚潰瘍を有していた。骨髄単核球 4.1×10^9 個を移植し、皮膚潰瘍は縮小軽快した。しかし、ABPI、DSA では有意な変化はみられなかった。3 例とも、骨髄細胞移植部位に化骨や血管腫などの発生はみられず、網膜症やその他の合併症も認められなかった。

D. 考察

難知性の重症 Buerger 病に対する自己骨髄細胞移植治療は、ABPI や DSA での著明な変化は観察できないものの、臨床症状の改善は明らかであった。これは、自己骨髄細胞移植治療により形成される再生血管が微小血管であるためと推測される。Buerger 病は閉塞性動脈硬化症に比し若年であるため骨髄から十分な単核球の採取が可能であり、血管再生効果が高いと思われる。また中枢側の動脈は比較的保たれているため再生血管の発達も良好と期待される。今後、長期的な効果と安全性の評価が必要であるが、自己骨髄細胞移植による血管再生療法は、血行再建困難な重症 Buerger 病に対する有用な治療法になりうる可能性が考えられる。

E. 結論

難知性の重症 Buerger 病に対して自己骨髄細胞移植治療を施行し、臨床症状の著明な改善が認められた。安全性に問題はみられず、有効な治療法になりうる可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

循環器病研究委託費 13 公-1

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

共同研究者

西上和宏 国立循環器病センター 心臓血管内科