

## B. 研究方法

対象：杏林大学第一内科及び関連施設で経験した MPO-ANCA 関連腎炎 56 例（男性 23 例、女性 33 例 平均年齢 62.5 歳）を対象とした。なお、全身性エリトマトーデス (SLE) 40 例、IgA 腎症 40 例、ベーチェット病 5 例、関節リウマチ (RA) 7 例、健康成人 19 例を対照とした。

方法：抗 HSP 抗体価の測定：一次抗体として抗 HSP60 ポリクローナルウサギ抗体 (*H. pyroli* 由来、杏林大学感染症学教室)、抗 HSP70 ウサギ抗体 (*E. coli* 由来 DAKO 社) を用いた。抗原は HSP60 human (Recombinant シグマ社)、HSP70 human (Recombinant シグマ社)、HSP70 *mycobacterium smegmatis* (SDS-PAGE 精製 シグマ社) を用い、サンドイッチ ELISA で、各疾患患者血清中の抗ヒト HSP60 抗体、抗マイコバクテリア HSP70 抗体の測定を行った。

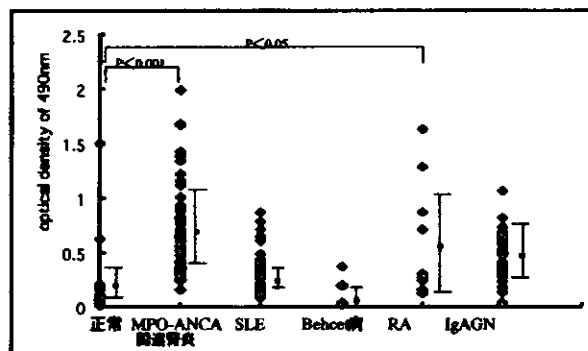
統計解析：統計解析は  $\chi^2$  検定、Fisher's exact probability test, paired t-test, pearson's correlation coefficient を用いた。また、HSP 抗体陽性率は、健康成人の平均値+2SD 以上を抗 HSP 抗体陽性として算出した。

## C. 結果

1. 各疾患における抗ヒト HSP70 抗体価  
図に示すように MPO-ANCA 関連腎炎患者血清中の抗ヒト HSP70 抗体価は健康成人と比較して有意に高値であった。  
( $p < 0.001$ : MPO-ANCA 関連炎: OD; 0.731

$\pm 0.401$ , 健康成人:  $0.208 \pm 0.321$ )。また、RA では MPO-ANCA 関連腎炎に比べると抗体価は低値であるが、健康成人と比較し有意に高値を認めた ( $p < 0.05$ : RA: OD;  $0.654 \pm 0.543$ )。一方、SLE, ベーチェット病、IgA 腎症では、健康成人と比較し、抗ヒト HSP70 抗体値に有意差は認められなかった (SLE: OD;  $0.338 \pm 0.19$ , ベーチェット病:  $0.147 \pm 0.127$ , IgA 腎症:  $0.536 \pm 0.536$ )。

各疾患における抗ヒト HSP70 抗体価



2. 各疾患における抗ヒト HSP60 抗体価  
MPO-ANCA 関連腎炎患者血清中の抗 HSP60 抗体価は健康成人と比較し有意に高値であった ( $p < 0.05$ : MPO-ANCA 関連腎炎: OD;  $0.249 \pm 0.169$ , 健康成人:  $0.115 \pm 0.099$ )。

また、SLE に於いても抗ヒト HSP60 抗体価は有意に高値であった ( $p < 0.05$ : SLE: OD;  $0.191 \pm 0.093$ )。その他の疾患では有意な抗体価の上昇は認められなかった (ベーチェット病: OD;  $0.192 \pm 0.057$ , RA:  $0.232 \pm 0.192$ , IgA 腎症:  $0.172 \pm 0.083$ )。

### 3. 各疾患における抗マイコバクテリア HSP70 抗体価

MPO-ANCA 関連腎炎の抗マイコバクテリア HSP70 抗体価は健康成人と比較して有意に高値であった ( $p < 0.05$ : MPO-ANCA 関連腎炎: OD;  $0.252 \pm 0.123$ , SLE:  $0.121 \pm 0.08$ , 健康成人:  $0.179 \pm 0.173$ )。また RA に於いても健康成人と比較し有意に抗体価高値であった ( $p < 0.05$ : RA: OD;  $0.416 \pm 0.623$ )。その他の疾患では有意な抗体価の上昇は認められなかった (ベーチェット病: OD;  $0.165 \pm 0.076$ , IgA 腎症:  $0.181 \pm 0.151$ )。

### 4. 各疾患における各抗 HSP 抗体陽性率

1) 抗ヒト HSP70 抗体陽性率: MPO-ANCA 関連腎炎では抗ヒト HSP70 抗体陽性率は健康成人と比較し有意に高く、各疾患の中で RA と並んで高頻度であった (健康成人 5.3%、MPO-ANCA 関連腎炎 28.6%、SLE 2.5%、ベーチェット病 0%、RA 28.6%、IgA 腎症 5%)

2) 抗ヒト HSP60 抗体陽性率: MPO-ANCA 関連腎炎では抗ヒト HSP60 抗体陽性率は他疾患と比較し有意に高値であった (健康成人 5.3%、MPO-ANCA 関連腎炎 26.8%、SLE 12.5%、ベーチェット 0%、RA 28.6%、IgA 腎症 7.5%)。なお、RA では陽性率 28.6%と陽性率高値であったが、健康成人の陽性率との間に有意差は認められなかった。

3) 抗マイコバクテリア HSP70 抗体陽性率: MPO-ANCA 関連腎炎での抗マイコバクテリア HSP70 抗体陽性率は、健

康成人および他疾患と比較し有意差はなかった (健康成人 5.3%、MPO-ANCA 関連腎炎 3.6%、SLE 0%、ベーチェット病 0%、RA 28.6%、IgA 腎症 2.5%)。尚、RA では陽性率 28.6%と陽性率高値であったが、健康成人の陽性率との間に有意差は認められなかった。

### 5. 各抗 HSP 抗体価と MPO-ANCA 値との関連

各 HSP 抗体価と MPO-ANCA 値の間には有意な相関は認められなかった。

(抗ヒト HSP 抗体価 V. S. MPO-ANCA:  $r = 0.036$ , 抗ヒト HSP60 抗体価 V. S. MPO-ANCA:  $r = -0.19$ , 抗マイコバクテリア抗体価 V. S. MPO-ANCA:  $r = 0.009$ )

### D. 考察

近年、ストレス蛋白である HSP に対する自己抗体が、種々の自己免疫疾患で同定され、これらの疾患の発症機序と細菌感染症の関連が注目されている<sup>2)3)</sup>。今回の検討で、RA や SLE だけでなく、MPO-ANCA 関連腎炎に於いても、抗ヒト HSP 抗体価および抗マイコバクテリア HS 抗体価の上昇を認めた。細菌由来の HSP は非常に強い免疫原を有しており、細菌 HSP に対し産生された抗体が細菌のみならず宿主細胞の HSP にも反応することが、自己免疫機序の契機になると推測されている。従って、MPO-ANCA 関連腎炎の発症においても、このような抗 HSP 抗体の関与する病態が生じている可能性が考えられる。また、今回の検討で MPO-ANCA 関連腎炎

では、抗ヒト HSP70 抗体価や陽性率に比べ、抗マイコバクテリア HSP70 抗体の抗体価や陽性率は低値であった。これは、MPO-ANCA 関連腎炎に出現する抗ヒト HSP 抗体が、ヒト HSP とマイコバクテリア HSP の相同性のある部分だけでなく、ヒトに特異的なアミノ酸配列の部位を認識している可能性などが考えられる。

これまで、ANCA 関連腎炎の発症に関する因子として、遺伝背景、プロピロチオウラシルなどの薬剤、珪酸、細菌感染などが報告されている<sup>4) 5) 7) 8) 9) 10)</sup>。我々は、MPO-ANCA 関連腎炎の中で 58% が HLA-DR9 陽性であること<sup>7)</sup>、5% が抗甲状腺薬であるプロピルチオウラシル陽性例であること<sup>8)</sup>、約 1% に珪酸暴露歴があること<sup>9)</sup> を報告した。これらは、ANCA 関連腎炎の発症要因は単一ではなく、多様な因子があることを示唆している。今回の検討で MPO-ANCA 関連腎炎の 27-29% に抗ヒト HSP 抗体を認め、抗 HSP 抗体価の上昇を認めたことは、MPO-ANCA 関連腎炎の中には、抗 HSP 抗体の関与する病態を持つ一群があることを示唆している。

#### E. 結論

MPO-ANCA 関連腎炎患者の血清中に、抗ヒト HSP 抗体、抗マイコバクテリア抗体を認めた。MPO-ANCA 関連腎炎の中には、抗ヒト HSP 抗体の関与する病態の存在が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### I. 参考文献

- 1) Yamaguchi H, Yamamoto T, Konoeda, Taguchi H, Ogata S. Epitope homology between bacterial heat shock protein and self-proteins in the host cell. *APMIS* 100(11):957-62, 1992
- 2) Yokota SI, Hirata D, Minota S, Higashiyama T, Kurimoto M, Yanagi H, Yura T, Kubota H. Autoantibodies against chaperonin CCT in human sera with rheumatic autoimmune diseases: comparison with antibodies against other Hsp60 family proteins. *Cell Stress Chaperones* 5:337-46, 2000.
- 3) 神谷茂、大崎敬子、山口博之：熱ショック蛋白と自己免疫。 *Helicobacter Research* 4: 401-406, 1997.
- 4) Brons RH, Bakker HI, Van Wijk RT, Van Dijk NW, Muller Kobold AC, Limburg PC, Manson WL, Kallenberg CG, Cohen Tervaert JW : Staphylococcal acid phosphatase binds to endothelial cells via charge interaction; a pathogenic role in Wegener's granulomatosis? *Clin Exp Immunol* 119:566-73, 2000.
- 5) 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.

6) Gruber R, Lederer S, Bechtel U, Lob S, Riethmuller G, Feucht HE. Increased antibody titers against mycobacterial heat-shock protein 65 in patients with vasculitis and arteriosclerosis.

Int Arch Allergy Immunol 110: 95-8, 1996.

7) Fujii A, Tomizawa K, Arimura Y, Nagasawa T, Ohashi YY, Hiyama T, Mizuno S, Suzuki K, Epitope analysis of myeloperoxidase (MPO) specific anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in MPO-ANCA-associated glomerulonephritis, Clin Nephrol, 2000, 53(4): 242-252.

8) 有村義宏、藤井亜砂美、長澤俊彦: 薬剤誘発性ANCA 関連血管炎. リウマチ科 26: 468-474, 2001.

9) 藤井亜砂美, 有村義宏, 丸茂朋史, 小路 仁, 白矢勝子, 中林公正, 長澤俊彦: 珪肺症症例における MPO-ANCA の検討. 日本臨床免疫学会誌 (抄録) 23: 406, 2000.

10) Tervaert JW, Stegeman CA, Kallenberg CG. :Silicon exposure and vasculitis. Curr Opin Rheumatol 10(1):12-7, 1998

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
各個研究報告書

MPO-ANCA 陽性急速進行性糸球体腎炎に対する  
ステロイド・シクロフォスファミド間欠静注療法  
(エンドキサンパルス)併用療法の有用性の検討

研究協力者 槇野博史

(岡山大学医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学教授)

共同研究者 山崎康司、杉山 齊、前島洋平、山本佳彦、氏家一尋、蒲生直幸

(岡山大学第三内科)

研究要旨

MPO-ANCA陽性急速進行性腎炎患者に対するシクロフォスファミド間欠静注療法（IVCY）の有用性を連日経口療法（OCY）との比較においてレトロスペクティブに検討した。IVCYはCRPの陰性化率、腎機能の改善効果、肺合併症の改善においてOCYとほぼ同等の治療効果が認められたが、一部に症例でANCA値の低下が不十分で経過中に再燃が認められた。OCYではIVCYに比較し白血球減少の頻度が高く重症感染症が認められた。

A. 研究目的

MPO-ANCA 陽性急速進行性腎炎患者治療におけるシクロフォスファミド（CY）の有用性を検討する

30mg/日を4週間投与し以後漸減する。CYは500mg/bodyをメチルプレドニゾロンパルスに引き続いて点滴静注し以降月1回計6回投与した。OCY群ではステロイド療法に加えてCY25～50mg/日を連日経口投与した。

B. 研究方法

岡山大学医学部附属病院第三内科でMPO-ANCA陽性の急速進行性腎炎と診断されCYが投与された症例22例、うちCY間欠静注療法（IVCY群）12例、経口CY療法（OCY群）10例につき、患者背景、治療効果、合併症、再発の有無をレトロスペクティブに検討した。IVCY群では、メチルプレドニゾン500mg/日3日間投与後プレドニン

C. 結果

IVCY群は男性5例女性7例で平均年齢 $69.9 \pm 6.7$ 歳、入院時血清Cr $2.8 \pm 1.8$ mg/dl、CRP $3.5 \pm 2.1$ mg/dl肺合併症7例（58%）、OCY群では男性7例女性3例で平均年齢 $61.6 \pm 8.7$ 歳、入院時血清Cr $3.9 \pm 3.2$ mg/dl、CRP $5.7 \pm 5.8$ mg/dl肺合併症4例（40%）であっ

た。IVCY 群、OCY 群ともに治療開始 2 週間ではほぼ全例で CRP の陰性化、1 ヶ月の時点で有意に腎機能の改善が観察された。治療開始後 3 ヶ月時点で IVCY 群では全例腎機能の改善が認められ、維持透析への以降例なく、平均血清クレアチニン改善率 35%であった。OCY 群では診断時すでに維持透析導入されていた 1 例を除き腎機能は改善しあらたに維持透析に導入された患者はいなかった。平均改善率は 31%で IVCY 群との間に優位な差は認められなかった。IVCY 群では経過中に  $4000/\mu\text{l}$  以下の白血球減少を認めた症例は 1 例のみで投与量の減量は必要でなかった。OCY 群では  $4000/\mu\text{l}$  以下の白血球減少 6 例、 $3000/\mu\text{l}$  以下 2 例で減量、休薬が必要であった。MPO-ANCA 値については IVCY 群で 2 症例で不変もしくは増悪、10 例では速やかに減少した。ANCA 値の低下が認められなかった 2 例で CRP の再上昇を伴う再燃があり、1 例で血漿交換、2 例とも OCY への変更した。6 ヶ月の治療後 1 例で肺病変の再燃を認めた。1 例で大腿骨頭壊死により骨頭置換術が必要であった。経過中の重症感染症は認めなかった。OCY 群では全例で MPO-ANCA 値の低下、陰性化を認めた。が、感染症の合併はカリニ肺炎 1 例、脳膿瘍 1 例であった。

#### D. 考察

血管炎症候群における CY、ステロイド剤の併用療法の有用性については多くの研究報告があるが、本邦にみられる MPO-ANCA 陽性急速進行性腎炎は

高齢者に多発することが多く薬剤の副作用とくに易感染性に注意が必要であるが、同時に肺合併症を高率に認めることから十分な治療を行わなければ生命予後を改善できないというジレンマがある。したがってその投与方法については効果と副作用を十分に評価して適応を決定する必要がある。本研究では、IVCY 群では概ね治療効果は良好で、易感染性も軽度であるが、一部の症例では ANCA 値の減少が不十分な症例で再燃が認められた。OCY ではほぼ同様な治療効果であるが白血球減少の程度が強く一部に重症感染症が認められた。投与方法による治療効果、合併症から見た有用性について前向き他施設研究が必要と考えられる。

#### E. 結論

IVCY, OCY ともにほぼ同等の治療効果を有すると考えられるが、白血球減少、感染症の合併の点では IVCY は軽度であり、高齢発症患者では有用性が高いと考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

投稿準備中である。

##### 2. 学会発表

第 32 回日本腎臓学会西部部会（和歌山）

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
各個研究報告書

急速進行性糸球体腎炎症候群の発症・進展機序解明と  
その治療法の確立に関する研究

研究協力者 木田 寛（国立金沢病院内科）  
共同研究者 和田 隆志（金沢大学医学部附属病院血液浄化療法部）  
横山 仁（金沢大学医学部附属病院血液浄化療法部助教授）  
吉村 光弘（国立金沢病院）  
伊勢 拓之（国立金沢病院）

研究要旨

1) 急速進行性糸球体腎炎の発症・進展に果たすケモカイン(MIP-1 $\alpha$ )、その受容体CCR5およびp38 マップキナーゼ(MAPK)の関与ならびに2) p38 MAPK選択的阻害剤による治療効果を検討した。その結果、ヒト急速進行性糸球体腎炎において糸球体を中心に産生されるMIP-1 $\alpha$ によりCCR5陽性細胞が遊走・活性化され、p38 MAPKや核内転写因子(NF- $\kappa$ B)活性化を介して半月体形成に関与することが推測された。さらにp38 MAPK選択的阻害は半月体形成抑制を介して長期の腎機能保持効果が示された。かかるMIP-1 $\alpha$ -CCR5-p38MAPKリン酸化-NF- $\kappa$ B活性化の増幅経路は急速進行性糸球体腎炎の発症・進展を考えるうえで重要であり、p38 MAPKが治療標的分子になりうることが示された。

A. 研究目的

1. 急速進行性糸球体腎炎の発症・進展機序にはたす MIP-1 $\alpha$ 、その受容体 CCR5 および関連機能分子(p38 MAPK, nuclear factor(NF)- $\kappa$ B)の意義を明らかにする。

2. p38 MAPK 選択的阻害剤 FR167653 投与による治療効果を検討した。

B. 研究方法

1. ヒト急速進行性糸球体腎炎例における検討

対象は腎生検にて半月体形成性腎炎と診断された34例(男18例, 女16例, 平均61歳)とした。尿 MIP-1 $\alpha$  値は enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)で測定した。さらに腎内の MIP-1 $\alpha$ , CCR5 ならびに関連機能分子(p38 MAPK, NF- $\kappa$ B)の局在を検討した。

2. ラット半月体形成性腎炎モデルにおける検討

Wistar-Kyoto ラット半月体形成性腎炎モデルにおける p38 MAPK 選択的



阻害剤 FR167653 の効果を検討した。

## C. 結果

### 1. ヒト急速進行性糸球体腎炎例における検討

尿中 MIP-1 $\alpha$ 値は高値を示し細胞性半月体形成率ならびに糸球体内 CD68 陽性マクロファージ数と正相関した。MIP-1 $\alpha$ , CCR5, リン酸化 p38MAPK は糸球体半月体形成部を中心に発現が確認された。病理学的にはリン酸化 p38MAPK 陽性細胞数は糸球体病変とくに細胞性半月体形成率と相関し、さらに糸球体内 CD68 陽性マクロファージ数, 活性化 NF- $\kappa$ B ならびに尿中 MIP-1 $\alpha$ 値と相関した。ステロイド療法前後の腎生検施行例において糸球体内リン酸化 p38MAPK, 活性化 NF- $\kappa$ B 陽性細胞数ならびに尿 MIP-1 $\alpha$ 値は疾患活動性の低下に一致して低下した。

### 2. ラット半月体形成性腎炎モデルにおける検討

腎炎惹起後 6 日目において FR167653 投与により糸球体病変ことに半月体形成は著明に抑制された。さらに蛋白尿は FR167653 投与によりほぼ正常化した。対照群では半月体部を中心にリン酸化 p38MAPK 発現を認め、かかる陽性細胞数は細胞性半月体形成率および糸球体内 ED1 陽性細胞数と正相関した。一方, FR 群ではリン酸化 p38MAPK は著明に減少し, 腎内 MIP-1 $\alpha$ 発現は低下した。腎炎惹起後 56 日目の腎組織において, FR167653 投与により硬化性病変を伴う半月体形成性腎炎の改善とともに間質線維

化の抑制が確認された。56 日までの蛋白尿ならびに Ccr は FR167653 投与により改善された。

## D. 考察

今回の結果からヒト急速進行性糸球体腎炎では, 腎局所における p38MAPK リン酸化による NF- $\kappa$ B 活性化を介した MIP-1 $\alpha$  発現が, マクロファージ, T 細胞を遊走・活性化させることで病態形成に関与することが示唆された。最近, MIP-1 $\alpha$  の受容体, CCR5 は, その情報伝達系に p38MAPK リン酸化が関与していた。CCR5 陽性細胞の大部分はリン酸化 p38MAPK 陽性細胞であることより, 浸潤した CCR5 陽性細胞が p38MAPK を介したシグナル伝達により活性化することが推測された。以上より腎局所での MIP-1 $\alpha$ -CCR5-p38MAPK リン酸化-NF- $\kappa$ B 活性化という増幅経路が存在する可能性を考えた。

この増幅経路の意義をさらに明確にするため, p38 MAPK 選択的阻害剤 FR167653 を用いてラット半月体形成性腎炎モデルの抑制実験を行った。FR167653 投与によりリン酸化 p38MAPK, 腎組織障害は著明に抑制され, MIP-1 $\alpha$  発現は低下した。このことより, FR167653 投与による p38MAPK リン酸化抑制を介した上記の増幅経路遮断が半月体形成性腎炎抑制に有用であった可能性を考えた。さらに腎炎早期の p38MAPK リン酸化抑制が長期にわたる腎機能保護作用を示すことが判明した。これは p38MAPK の腎炎治療上の

標的分子としての重要性を示唆する。

#### E. 結論

ヒト急速進行性糸球体腎炎では MIP-1 $\alpha$ -CCR5-p38MAPK -NF- $\kappa$ B 活性化の増幅経路が発症・進展機序に関与することが推測された。このうち p38MAPK リン酸化制御は半月体形成性腎炎に対する新たな治療戦略として有用である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Sakai N, Wada T, Furuichi K, Kitagawa K, Kokubo S, Kobayashi M, Takeda S, Kida H, Kobayashi K, Mukaida N, Matsushima K, Yokoyama H. p38 MAPK phosphorylation and NF- $\kappa$ B activation in human crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:998-1004.

##### 2. 学会発表

第42回日本臨床化学会 平成14年10月20-23日、シンポジウム II-1 ケモカインー腎疾患の病態診断と治療への応用ー 和田 隆志, 小林 健一, 横山 仁

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

**難治性ネフローゼ分科会  
分担・各個研究報告**

難治性ネフローゼ症候群に関する調査研究

分担研究者 齊藤 喬雄

福岡大学医学部内科学第4講座教授

研究要旨

難治性ネフローゼ症候群をきたしやすい成人の代表的腎疾患である膜性腎症と巣状糸球体硬化症について、前年度までの研究班で作成した診療指針を見直し、海外における研究の状況なども考察し、新たな治療のエビデンスを確立するための研究の準備を行った。副腎皮質ステロイドに加えシクロスポリンやミゾリビンなどの免疫抑制薬の併用に関する臨床研究について、血中濃度の測定などを含む計画を立案した。

A. 研究目的

前年度までの厚生労働省特定疾患進行性腎障害に関する調査研究班における難治性ネフローゼ症候群分科会では、ネフローゼ症候群を呈する膜性腎症および巣状糸球体硬化症の成人例について、予後、治療効果等を検討し、治療指針を作成した。その骨子は、副腎皮質ステロイドを主体とした治療に免疫抑制薬の併用を主体として考えるものである。免疫抑制薬としてはシクロホスファミド、シクロフォスファミド、ミゾリビンなどが考慮されるが、従来より併用が勧められてきたシクロホスファミドでは有意な効果が認められとはいえず、シクロスポリンやミゾリビンは比較的新しい薬剤であるため、使用例数が少なく、いずれも十分なエビデンスが得られていない。このため、新たに発足した本研究班においては、とくに副腎皮質ステロイドとシクロスポリンあるいはミゾリビンの併用による治療効果を検討するために、その臨床研究の

計画を立案した。

B. 研究方法

既に報告されている免疫抑制薬の臨床研究を検討し、その問題点を明らかにし、副腎皮質ステロイドとして標準的なプレドニゾンと、免疫抑制薬としてシクロスポリン、ミゾリビンのそれぞれを併用する臨床研究計画を立案した。

計画の立案に当たっては、患者の倫理上の問題に十分配慮した。

C. 研究結果

(1) 成人難治性ネフローゼ症候群に対するプレドニゾンとシクロスポリンの併用療法に関する臨床研究の立案

プレドニゾン (PSL) 40mg による治療 4~8 週間治療後、完全寛解または不完全寛解 I 型に至らなかった膜性腎症、巣状糸球体硬化症の症例に対して、PSL を隔週 10mg ずつ減量し 10~20mg を維持量とする。これに対して、シクロスポリン・マイク

ロエマルジョン製剤を 3mg/kg 体重を連日 6 ヶ月間経口投与する。投与方法は、朝 1 回の一括または朝夕 2 回の分割投与とし、比較検討する。

末梢血液像、生化学所見、尿蛋白・沈渣はシクロスポリン投与開始時、1, 3, 6, 12, 18, 24 ヶ月後に、クレアチニン・クリアランスは投与開始時、6, 12, 24 ヶ月後に測定する。

血中シクロスポリン濃度に関しては、投与中原則として月 1 回トラフ値 (C0) を測定するほか、投与開始 2 週間後および投与終了直前に C0 に加え、C1~C4 までの測定を行い、AUC(0~4) をもとめる。

目標症例数として膜性腎症 各群 100 例、巣状糸球体硬化症 各群 50 例とする。

(2) 成人難治性ネフローゼ症候群を呈する膜性腎症に対するプレドニゾンとミゾリビンの併用療法に関する臨床研究の立案

プレドニゾン (PSL) 40mg による治療 4~8 週間治療後、完全寛解または不完全寛解 I 型に至らなかった膜性腎症の症例に対して、PSL を隔週 10mg ずつ減量し 10~20mg を維持量とする。これに対して、ミゾリビン 150mg/日を併用投与し、非投与群の群間の比較を行う。

末梢血液像、生化学所見、尿蛋白・沈渣等はミゾリビン投与開始時、1, 3, 6, 12, 18, 24 ヶ月後に、クレアチニン・クリアランスは投与開始時、6, 12, 24 ヶ月後に測定する。

血中ミゾリビン濃度に関しては、投与中原則として月 1 回トラフ値 (C0) を測定するほか、投与開始 2 週間後および投与

終了直前に C0 に加え、C1~C4 までの測定を行い、AUC(0~4) をもとめる。

#### D. 考察

副腎皮質ステロイドとシクロスポリンの併用効果に関しては多くの研究があり、小規模な無作為対象試験も知られているが、大規模な研究は行われていない。科学的な面からエビデンスを確立するために無作為対象試験は重要と思われるが、倫理的な面や薬剤の適応を考えた場合、実施は不可能と思われる。一方、最近、シクロスポリンの投与量を決定する場合重要とされるいわゆるトラフ値に対して、効果との関係で疑問が投げかけられている。

そこで、本研究では、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群で認められている 3mg/kg 体重の投与にて、尿蛋白や腎機能の変化を観察するとともに、血中濃度 C0~C4、AUC(0~4) を測定し、適切な投与量によるシクロスポリンの効果を検討することとした。なお、現在行われているパイロット・スタディの結果を見て、C0~C4、AUC(0~4) が高値になった場合の投与量の変更範囲も決定する予定である。なお、投与回数を無作為に割付けることも検討したが、症例によるシクロスポリンの感受性なども考慮して、実施者の判断による割付とする。

ミゾリビンについては、現在まで行われてきた調査研究の結果として、ネフローゼ症候群を呈する膜性腎症へ 150mg/日を副腎皮質ステロイドと併用投与すると、有効例と無効例に二分されることが示された。なお、この結果については血中濃

度との関係が考えられるが、現在までその点に関する研究はない。本研究では、その点を明らかにするために計画を立案した。従来の結果から、副腎皮質ステロイド単独投与群との比較が必要と思われるが、無作為割付については倫理上の問題が生じる恐れがあるので、副腎皮質ステロイド単独投与を希望する症例の登録による対象試験を考える。

#### E. 結論

新たな治療指針の作成を目的に、ネフローゼ症候群を呈する膜性腎症および巣状糸球体硬化症に対するプレドニゾンとシクロスポリン、ミゾリビンの併用に関する臨床研究を立案した。まだ、詳細な点で検討を要する部分があるが、次年度からの実施を考えている。なお、前研究班より引き継がれた、膜性腎症、巣状糸球体硬化症のデータ・ベース構築に関する調査研究も引き続き実施予定である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 堺秀人、黒川清、斉藤喬雄、他：厚生労働省特定疾患進行性腎障害に関する調査研究班報告、難治性ネフローゼ症候群（成人例）の診療指針—平成13年度までの調査研究より—。日腎誌 2002;44:751-61.

##### 2. 学会発表

- 1) 斉藤喬雄：厚生労働省特定疾患「進行性腎障害に関する調査研究」公開シンポジウム（司会 富野康日己）、難治性ネフローゼ症候群の現況と課題、第

46 回日本腎臓学会学術総会、東京、2003 年

- 2) 椎木英夫、他：シンポジウム「進行性腎障害の病態と治療」（司会 小山哲夫、斉藤喬雄）、難治性ネフローゼ症候群に対する免疫抑制療法、第 26 回日本医学会総会、福岡、2003 年

#### G. 健康危険情報、知的所有権の出願登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
各個研究報告書

難治性ネフローゼ症候群における血中シクロスポリン濃度の測定に関する研究

分担研究者 齊藤 喬雄（福岡大学医学部内科学第四教授）

共同研究者 小河原悟<sup>1</sup>、山内淳史<sup>2</sup>、片岡泰文<sup>2</sup>

（<sup>1</sup>福岡大学医学部内科学第四、<sup>2</sup>薬学部薬学疾患管理学）

研究要旨

難治性ネフローゼ症候群に対しシクロスポリンの血中濃度のモニタリングをおこなった。0から4時間の血中濃度-時間曲線化面積(AUC0-4)は2時間濃度(C2)と最も相関が強く、0時間濃度(C0)とは相関はなかった。C2の測定が難治性ネフローゼ症候群のシクロスポリンの血中濃度のモニタリングに有用であった。

A. 研究目的

シクロスポリンは難治性ネフローゼ症候群に対して有用であるが、副作用として腎障害があり、移植時と同様に血中濃度のモニタリングが重要である。今回、難治性ネフローゼ症候群に対し、シクロスポリンの血中濃度モニタリングをおこなった。

B. 研究方法

対象はステロイド抵抗性の膜性腎症10名。ネオーラル3mg/kgを一日一回朝食前に投与し、0(C0)、1(C1)、2(C2)、3(C3)、4(C4)、12(C12)、24(C24)時間の血中濃度を測定した。0から4または0から24時間の血中濃度-時間曲線化面積(AUC0-4、AUC0-24)を算定した。血中濃度の測定に際しては患者にシクロスポリン血中濃度測定の有

用性を説明し、承諾を得た。

C. 結果

シクロスポリンの最高血中濃度(Cmax)は症例によりC1からC3で一定していなかった。平均血中濃度はそれぞれ C0:85.4±31.1ng/ml、C2:709.4±587.9ng/ml、C3:1082.3±389.9ng/ml、C4:712.6±230.7ng/ml、C12:159.5±54.1ng/ml、C24:77.3±24.1ng/mlであった。AUC(0-4)は3104.8±919.2nghr/ml、AUC(0-24)は7111.0±1359.02nghr/mlであった。AUC(0-4)とC0に相関はなかった(r=0.19)が、AUC(0-4)とC2は強い相関を示した(r=0.85)。

D. 考察

移植症例におけるシクロスポリン

血中濃度モニタリングの報告と同様に難治性ネフローゼ症候群においてもC2のモニタリングがAUC(0-4)との相関が最も良く、C2の測定がシクロスポリンの腎障害を抑止するうえで重要であることが示唆された。しかし、今回はシクロスポリンの投与は1日1回であり、1日2回投与との差違について検討が必要である。またネフローゼ症候群に合併する高脂血症が血中濃度に影響を与えることが報告されており、その点の検討や食前食後の違いについても考察すべきと思われるので、今後、さらに多数例の血中濃度の測定を予定している。

#### E. 結論

難治性ネフローゼ症候群におけるシクロスポリンの血中濃度を測定し、C2がAUC0-4と最も良く相関した。

#### F. 健康危険情報

シクロスポリン血中濃度測定が副作用発現の抑止に有用である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

特集 動脈硬化と腎病変(腎疾患治療と動脈硬化進行防止効果) 高脂血症治療薬

斉藤喬雄、小河原悟 腎と透析、54(3)、p347-351, 2003



厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
各個研究報告書

ネフローゼ症候群に対するリンパ球除去療法の検討

研究協力者 横山 仁

金沢大学医学部附属病院血液浄化療法部助教授

研究要旨

特発性ネフローゼ症候群に対してリンパ球除去療法を施行し、Tリンパ球数減少とともに尿蛋白は改善した。一方、無効例ではTリンパ球数の減少はみられず、免疫抑制療法にも抵抗性を示し腎死あるいは個体死に陥った。リンパ球除去療法に対する反応性がネフローゼ症候群の基礎にある病態の相異を反映し、免疫抑制療法に対する反応性ならびに疾患予後と関連する可能性が示唆された。

A. 研究目的

これまでアフェレシス治療が用いられる主な腎疾患は急速進行性ループス腎炎、抗糸球体基底膜抗体型腎炎および血栓性血小板減少性紫斑病/溶血性尿毒症症候群に対する血漿交換に加えて、難治性あるいは再発性巣状糸球体硬化症(以下 FGS)に対する LDL アフェレシスおよび Protein A 吸着などがある(1-4)。一方、リンパ球除去療法はこれまで難治性の慢性関節リウマチや潰瘍性大腸炎に対し有効性が報告されているが、急速進行性腎炎症候群への応用を除いて腎疾患での報告はほとんどない(5-6)。ネフローゼ症候群、特に微小変化型ネフローゼ症候群(以下 MCNS)および FGS においては、従来からリンパ球機能異常が指摘されており、その発症要因として主

にTリンパ球機能異常が考えられてきた。一方、FGS が移植腎に再発することや、MCNS、FGS 患者の血清をラットに投与すると蛋白尿がみられるとの報告から液性因子の関与も示唆されており、なかでも患者Tリンパ球から産生される糸球体透過性亢進因子が報告され、蛋白尿発現との関連が注目されてきた(7)。このような背景のもとに、リンパ球除去に伴う病態改善を目的として各種ネフローゼ症候群に対してリンパ球除去療法を試み、その効果を検討した。

B. 研究方法

6 例の臨床背景を別表に示す。本療法施行前に症例1はγグロブリン大量療法を、症例4はメチルプレドニゾロンパルス療法に加えて経口プレドニゾロン(PSL)

とシクロスポリン(CyA)の併用投与を受けていた。また、5例に本療法施行後の免疫抑制療法を追加した。LDL コレステロールが高値を示した症例4ではLDL アフェレシスも施行した。リンパ球除去療法の白血球除去フィルターには旭メディカル社 Cellsorba を用い、血流は 50ml/分とし、60 分間で総血液処理量 3000ml とし、週1回2週連続で計2回の治療を行った。なお、抗凝固剤として nafamostat mesilate (50mg/時間)を用いた。

(倫理面への配慮)

本試験の施行にあたり金沢大学医学部附属病院研究審査委員会において承認を受け、これに従いインフォームドコンセントを行った。

### C. 結果と考察

リンパ球除去療法が有効であった症例3(24歳、女性)は1987年にFGSを発症し、以後副腎皮質ステロイドおよびシクロスポリンの投与にて加療されていたが、寛解増悪を繰り返した。1991年12月以降は免疫抑制療法を行わずに不完全寛解II型の状態で安定だったが、1997年9月より再び全身性浮腫が出現した。入院時、1日尿蛋白 14.6g、血清総蛋白 4.4g/dl、血清アルブミン 2.2g/dl とネフローゼ状態を呈し、IgGは293mg/dlと低下していた。末梢血リンパ球サブセットではHLA-DR陽性の活性化リンパ球が15%に認められた。腎生検では硬化性病変を伴う係締とボーマン囊の癒着を巣状分節状に認め、電顕では広範な足突起の融合を認めた。活性化Tリンパ球の除去を目的に第9病日と第11病日に計2回

のリンパ球除去療法を施行したところ、1日尿蛋白は平均9.8gより3.5gへと減少し、その後PSLおよびCyA併用投与により速やかに尿蛋白の減少が得られた。さらに本療法によりMCNS2例、FGS1例およびFGSを伴う膜性腎症(MN)1例において1日尿蛋白が $8.9 \pm 2.0$ から $4.2 \pm 1.0$ g/日へと減少した(減少率:-30から-69%, 別表, 図)。その後、MCNSのそれぞれ1例は経口PSL40mg/日あるいはメチルプレドニゾンパルス療法に加えてPSL20mg/日およびCyA3mg/kg/日の投与により尿蛋白は1.0g/日以下へ改善した。一方、FGSならびにMN各1例では蛋白尿の改善はみられず、PSLおよびCyAにも抵抗性を示し、腎死あるいは感染症による個体死に陥った。リンパ球除去療法が有効であった4例と無効であった2例のリンパ球除去療法前後での検査所見の変化を比較すると有効例では、末梢血中リンパ球数、特にTリンパ球および活性化Tリンパ球数が有意に減少した。一方、無効例ではこれらの細胞数には変化を認めなかった。従って、今回の結果からリンパ球除去療法の有効性は、Tリンパ球、特に活性化Tリンパ球の減少を介する機序が推測され、更にこのリンパ球除去療法に対する反応性が、ネフローゼ症候群の病態におけるリンパ球の関与の程度、ひいては免疫抑制療法への反応性を反映している可能性が考えられた。

### D. 結論

MCNS2例、FGS2例、MN1例およびFGSを伴うMN1例の計6例に対してリン

パ球除去療法を施行し、MCNS2 例、FGS1 例および FGS を伴う MN1 例において T リンパ球数の減少とともに尿蛋白は減少し、その後に免疫抑制療法を追加することにより蛋白尿はさらに改善した。一方、無効例では T リンパ球数の減少はみられず、免疫抑制療法にも抵抗性を示し、腎死あるいは感染症による個体死に陥った。以上より、リンパ球除去療法に対する反応性がネフローゼ症候群の基礎にある病態の相異を反映し、免疫抑制療法に対する反応性ならびに疾患予後と関連する可能性が示唆され、今後リンパ球除去療法のネフローゼ症候群の治療への応用が考えられた。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

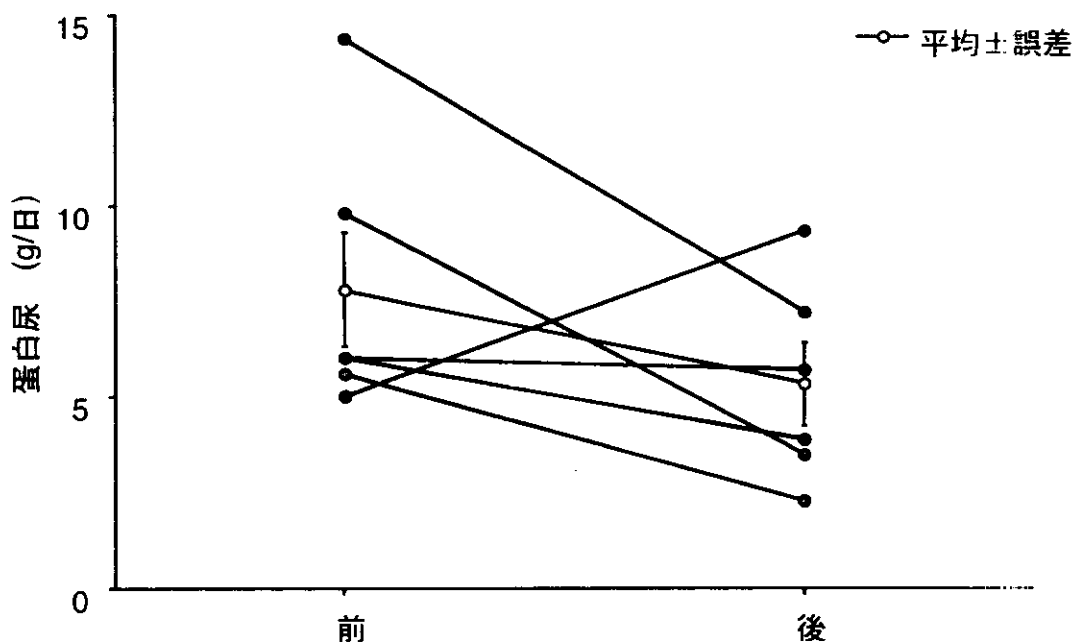
Yokoyama H, Shimizu M, Wada T et al.  
The beneficial effects of lymphocyte-apheresis for treatment of nephrotic syndrome.

Therapeutic Apheresis 2002;6: 167-17.

別表：ネフローゼ症候群に対するリンパ球除去療法の効果

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Case 6
Age	61	15	24	34	74	78
Sex	Male	Female	Female	Female	Male	Female
Diagnosis	MCNS	MCNS	FGS	FGS	MN	MN with FGS
WBC (/ $\mu$ l)	4000	6000	6100	10300	20300	3000
Lym (%)	15	28	33	10	2	31
Cr (mg/dl)	2.7	0.7	0.5	0.7	5.2	0.9
T. prot (g/dl)	4.1	4.1	3.9	4.2	4.1	4.1
Alb (g/dl)	1.6	1.4	2.0	2.6	1.8	2.1
T.chol (mg/dl)	298	381	351	273	440	320
Proteinuria (g/day)	14.8	10.6	7.0	5.1	3.9	6.0
Urine protein/creatinine* ratio	20.0	8.0	7.8	6.6	12.3	6.4
Change of proteinuria	-54%	-30%	-69%	-5%	88%	-34%
Change of u-prot/cr* ratio	-30%	-84%	-94%	+15%	+40%	-56%
Following Therapy	PSL	Pulse/PSL CyA	Pulse/PSL CyA	LDL/PSL CyA	PSL	ACEI
Final outcomes	CR	CR	CR	Renal failure	Death by pneumonia	PR

MCNS, minimal change nephrotic syndrome; FGS, focal glomerulosclerosis; MN, membranous nephropathy. WBC, white blood cell counts; Cr, creatinine; T.prot, total protein; Alb, albumin; T.chol, total cholesterol; PSL, prednisolone; Pulse, methylprednisolone pulse therapy, CyA, cyclosporin-A; LDL, LDL apheresis; ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitor; CR, complete remission; PR, partial remission (proteinuria<1.0g/day)



図：リンパ球除去療法による尿蛋白の変化