

Saturday, November 9

13:30-17:30 International Forum at Rakuyu Kaikan of Kyoto University

13:30-13:45 Opening Kazuo Suzuki

Akira Hashizume, Section Chief of Blood Administration: Standards for synthetic immuno-globulins as therapeutic blood-related drugs in the official regulation.

13:45-15:45 IF-1/Session-7 Chair: Takao Arai & Naohito Ohno Vasculitis-1: Development of vasculitis

IF-1/7-1 Kazuo Suzuki, NIID. ANCA-Related Vasculitis

IF-1/7-2 Kei Takahashi, Toho University, Medical School: *Candida albicans*-Extract (CADS) causes systemic vasculitis in a mouse.

IF-1/7-3 Akiko Okawara, NIID: Contribution of activated neutrophils to the development of crescentic glomerulonephritis of SCG/Kj mice

IF-1/7-4 Hisashi Ohno, Tokyo Univ. of Pharmacy: Immuno/inflammatory responses induced by *Candida* polysaccharides in murine model of coronary arteritis

IF-1/7-5 Takao Arai, Tokyo Univ. Science; Tsuguo Sasaki, NIID; Masaru Tanokura (Univ. of Tokyo): Strategy and tactics for production of anti-MPO monoclonal antibodies efficient for vasculitis treatment

IF-1/7-6 Tomokazu Nagao (NIID): Imaging of renal vascular injury

15:45-16:25 IF-2/Session-8 Chair: Shiro Naoe IVIG treatment in vasculitis

IF-2/8-1 Hiroshi Hashimoto, Shigeto Kobayashi, Juntendo Univ., School of Medicine: Clinico-epidemiological manifestations of primary "intractable" vasculitides in Japan

IF-2/8-2 Tomio Okazaki, Hiroshima City Hospital: IVIG Treatment for Patients with Kawasaki Disease: An Update

IF-2/8-3 Toshiko Ihara-Ito, Kyoto Univ.; Eri Muso, Kitano Hospital; Akira Akamatsu, Ehime Pref. Hospital: Evaluation of intravenous immunoglobulin (IVIg) treatment on patients with myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody (MPO-ANCA)-related rapidly progressive glomerulonephritis and vasculitis.

16:25-16:30 BREAK

16:30-17:30 IF-3/Session-9 Chair: Kazuo Suzuki

IF-3/9-1. 16:30-17:30 **Special Lecture David Jayne** Cambridge, UK

Evaluation of IVIG Treatment for Patients with Vasculitis: Requirements of Recombinant Immunoglobulins for the Treatment

17:30-17:35 Closing Remarks for DHD-Workshop Toshimitsu Ueda, Hokkaido Univ, The next organizer

Abstract

平成14年11月9日

公開シンポジウム

「血管炎の発症機構解析とその治療 IVIG 治療をめぐって」を 開催するにあたって

厚生科学研究費補助金
「人工ポリクローナル Fv グロブリン製剤の開発に関する研究」
主任研究者 鈴木和男
(国立感染症研究所・生物活性物質部)

近年各種血管炎、特に ANCA 関連血管炎の発症が目立ち、その重篤性や予後の不良性が社会的問題になっています。多発性動脈炎は以前より特定疾患として認定されており、当局もその対策には力を入れていますが、新たな治療法による予後の改善が求められています。

これに対し、従来から川崎病など一部の血管炎に対し、γグロブリン大量静注療法 (IVIG) の有効性が認められ、保健医療として広く行われていますが、その他の血管炎に対しては、その効果について十分な検討がなされていませんでした。しかし、IVIG の免疫修飾作用は、従来のステロイド、免疫抑制剤大量療法などの免疫能を低下させる治療とは異なった、むしろ正常免疫能の回復作用としての面からの臨床的有効性が期待でき、欧米をはじめとして症例の積み重ねがなされてきていました。我が国でも、当該班を初め、一部の施設で試行され、成果をあげつつあり、厚生労働省も関心をよせております。現行の IVIG が、人から抽出したものであることで、今後の需要の増大や感染症の危惧などが想定され、人工のグロブリン製剤の開発が要請されて研究班が結成されました。今回、公開シンポジウムにおいて、厚生労働省・橋爪章 血液対策課長に、「医薬血液行政における人工グロブリン製剤への期待」として、口火をきっていただき、各班員ならびに協力者の先生方に班研究進展の報告していただきます。さらに、ヨーロッパで血管炎の IVIG 治療を推進しているケンブリッジ大学 D. Jayne 先生に講演していただき、血管炎に対する IVIG の臨床的効果と人工化について討論することになりました。これを機会に、血管炎、臨床免疫や、腎臓病にかかわる多くの先生方にこれらの動きについてのご意見をお伺いいたしたく、ここに公開シンポジウムを計画いたしました。

本シンポジウムの開催にあたりましては、京都大学医療短期大学部笹田昌孝部長をはじめ、京都大学の先生方の多大なるご配慮により、京大会館および京都大学・楽友会館にて公開シンポジウムを開催することができたことを感謝いたします。

尚、本シンポジウムは、財団法人日本公定書協会との共催によるものであります。

ANCA 関連血管炎

鈴木和男

国立感染症研究所・生物活性物質部

活性化好中球が、血管炎の発症と病態の進行に関与していると推定されている。血管炎の臨床像から、好中球自己抗体(ANCA)が病態に関与しており、なかでも、MPO-ANCA の関与について解析が進んでいる。MPO は、殺菌、殺真菌、殺ウイルス作用に作用する好中球固有のライソゾーム酵素である。高 MPO 活性値、活性化好中球および高レベルの MPO-ANCA 抗体が、血管炎の患者血中に循環している。血管炎の病態への MPO-ANCA の関与を判定するために MPO 分子を 7 部分に分けたリコンビナント MPO 断片を作成し(Tomizawa et al. *J. Clin. Immunol*, 1998)、特定の反応部位(エピトープ)が、病態と関連することを認めた。すなわち、MPO の L 鎖とは全く反応せず、主として H 鎖の N および C 末端に単独で反応するエピトープをもつ MPO-ANCA 抗体が、重症化と関連していた(Fujii et al. *Clin. Nephrol*, 1999)。この解析結果は、特定のモノクローナル抗体が重症化に関連していると予想させた。また、好中球の活性化に関与する抗体および免疫複合体は、特異性が高いモノクローナル抗体であることが想定される(*Int. J. Hematol*, 2000)。一方、川崎病の治療に用いられているグロブリン製剤や健常者血中には、ポリクローナル MPO-ANCA が含まれている。グロブリン製剤治療の有効性は、製剤中に含まれるポリクローナル MPO-ANCA が、患者血清中の病因性の高いモノクローナル抗体を弱めていることが一因である可能性もあると考えられる。

ANCA related vasculitis

Kazuo Suzuki

Laboratory of Biodefense, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo

Neutrophils are hypothesized to cause tissue damage resulting in the development of vasculitis and glomerulonephritis, although they are known to primarily take part in host defense functions. The infiltration of inflammatory cells, notably neutrophils and macrophages, is observed in the progression of vasculitis. Neutrophils with activated status and anti-neutrophil antibody (ANCA), especially myeloperoxidase (MPO)-ANCA, have been implicated in the development of vasculitis. The target molecule of MPO-ANCA is a lysosomal enzyme MPO, that usually acts to killing bacteria, viruses and fungi, and which causes damage to the tissue due to the toxicity of its product, OCl⁻. To elucidate the role of MPO-ANCA in the progression of vasculitis, a set of MPO peptide fragments has been developed and the corresponding epitope site by the specific monoclonal and/or oligoclonal antibody resulting in vasculitis has been determined. Immuno-globulins, which is effective for the treatment for patients with Kawasaki, contains polyclonal MPO-ANCA, so the polyclonal antibodies in them block the mono/oligo clonal antibody in serum of patients with vasculitis, that related with severity of vasculitis.

***Candida albicans* 菌体抽出物(CADS)由来血管炎モデル動物の作製**

高橋 啓

東邦大・医・大橋病院・病理

我々は、川崎病罹患児糞便から分離培養した *Candida albicans* 菌体抽出物をマウス腹腔内に接種することで、系統的血管炎を惹起させることに成功した。本実験系では冠状動脈が最も高頻度に侵される他、腎動脈や大動脈などが侵襲される。一方、血管炎の組織像は他の多くの血管炎動物モデルとは異なる増殖性肉芽腫性炎症である。これら病変分布、組織像は川崎病と類似する。

今回は、この血管炎誘発モデルを用い免疫グロブリン投与における血管炎発生に及ぼす影響を検討した。本実験系にヒトあるいはマウス免疫グロブリンを投与すると血管炎の抑制傾向が得られ、本実験系の血管炎発生と血清 MPO-ANCA 値とは密接に関連した。次に、免疫グロブリンの投与方法を変更、あるいは MPO-ANCA を高力価に含む免疫グロブリンを用いて菌体抽出物接種時に投与した時の血管炎発生に及ぼす影響を検討した。その結果、免疫グロブリンを投与する事で血管炎の発生頻度および炎症の程度は軽減化される傾向にあったが、血管炎の発生を完全に抑制することは出来なかった。また、MPO-ANCA を高力価に含む免疫グロブリンを用いても血管炎発生を抑制する事はできなかった。

本実験系は免疫グロブリン投与の効果を評価する系として応用可能であると考えるが、今後、免疫グロブリンの至適投与時期、投与量、投与期間などを検討する必要がある。ついで、菌体抽出物中の如何なる成分が血管炎発生に関与しているのか解析を進めると共にマウス MPO 特異的抗体を本実験系に適用した時の血管炎発生に及ぼす影響をも検討する必要がある。

***Candida albicans*-Extract (CADS) causes systemic vasculitis in a mouse.**

Kei Takahashi

Department of Pathology, Ohashi Hospital, Toho University School of Medicine

We established an experimental model in which coronary arteritis is induced in a mouse by the intraperitoneal injection of *Candida albicans* Extract. This model is evaluated as an animal model of Kawasaki disease because it shares many of the histological features of the disease.

In this study, we examined the influence on the generation of the vasculitis after administering the immunoglobulin(IG), using this experimental model. When the human or the mouse IG was administered to the mouse, the incidence of the vasculitis showed the decreasing tendency. In addition, the vasculitis generation was closely related to serum MPO-ANCA titer. Next, we made IG containing high titer MPO-ANCA and examined its effect on the vasculitis generation. As a result, both the frequency and the degree of the vascular inflammation showed a decreasing tendency after the IG was administered; however, generation of the vasculitis was not inhibited completely.

It is suggested this vasculitis model is suitable for evaluating the therapeutic effect of the IG administering, although further examinations, such as the optimum administering time, dosage and administration periods of the IG are necessary.

腎炎発症における好中球の役割

- 半月体形成性腎炎を自然発症する SCG/Kj マウスを用いた解析 -

大川原 明子

感染症研究所 生物活性物質部

急速進行性糸球体腎炎疾患群は、急激あるいは潜行性に腎炎症状が発症し、急速かつ進行性に腎機能低下を示す臨床症候群であり、治療しないと数週から数カ月後に末期腎不全にいたる。近年、半月体形成性糸球体腎炎および血管炎症候群の発症への抗好中球細胞質抗体 (ANCA) の関与が注目されている。ANCA による血管炎発症機序は、まず好中球が TNF α などのサイトカインにより活性化されて血管炎内皮細胞と好中球に接着因子が発現する。同時に、ANCA は好中球に作用して抗原を細胞表面に出させて好中球を活性化し、脱顆粒、活性酸素産生、接着因子の発現を促進し、内皮細胞を傷害するものと考えられているが不明な点も多い。

その発症機序を解明するには、ヒト疾病の病理、病態に類似性を持つ自然発症動物を用いて解析する必要がある。中でも、免疫異常を背景とする難治性血管炎解析のための自然発症モデルとしてループスマウスを用いた多くの研究が進められている。半月体形成性糸球体腎炎を高率に、また急速に自然発症する SCG/Kj マウスを用いて、腎炎の各時期における好中球の MPO 放出と活性酸素産生能、および血清中の MPO-ANCA 値を測定するとともに腎炎の組織学的検討を行い、腎炎発症への好中球の役割について解析した。腎炎発症時には末梢好中球数が有意に増加し、活性酸素産生能の増大に引き続き、無刺激で MPO の易放出性を認め、いずれも糸球体への好中球浸潤数、腎傷害指数 (Activity index, chronicity index) と相関を認めた。SCG/Kj マウスは、半月体形成性腎炎の病態の解析あるいは治療薬を開発・評価するための有用なモデルであるといえよう。

Contribution of activated neutrophils to the development of crescentic glomerulonephritis of SCG/Kj mice

Akiko Ishida-Okawara

Dept. of Bioactive Molecules, National Institute of Infectious Diseases

Rapidly progressive glomerulonephritis represents an intractable clinical feature to any therapy. It has been found that myeloperoxidase (MPO) and the MPO-specific anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibody (MPO-ANCA) are risk factors for nephritis development. Patients with microscopic polyangiitis, or crescentic glomerulonephritis (CrGN) show high titer of MPO-ANCA in their sera. Hence, MPO-ANCA has been used as a useful marker for diagnostics and estimation of clinical features of these diseases, suggesting its direct participation in the development of vasculitis. However, the mechanisms for MPO-ANCA production related to vasculitis have not been fully elucidated, and the primary event responsible for neutrophil activation has not yet been defined. As the bases for clinical studies, animal models have been used to understand the mechanisms of vasculitis development, and the development therapeutic intervention strategies. However, the reactive roles of MPO-ANCA and neutrophils in the development of GN and vasculitis in these model mice are still not clear.

In the present study, the role of activated neutrophils to the development of nephritis was investigated by evaluating the relationship between neutrophil functions (MPO release and superoxide generation) and renal lesion (Activity Index and Chronicity Index) of SCG/Kj mice. There were correlations between infiltrated neutrophil number into glomeruli, neutrophil activation and renal injury, suggesting that neutrophil activation could contribute to the development of CrGN in SCG/Kj mouse.

IF-1/7-4

病原性真菌 *Candida albicans* 培養上清由来の mannoprotein- β -glucan complex, CAWS, による冠状

動脈炎の発症と免疫・炎症パラメータの解析

大野尚仁¹, 三浦典子¹, 新郷裕子¹, 安達禎之¹, 大原関利章², 高橋 啓², 直江史郎², 大川原明子³, 鈴木和男³

¹東京薬科大学薬学部, ²東邦大学大橋病院, ³国立感染症研究所

深在性真菌症においては β 1,3-glucan (BG) が血中に放出され, この測定は早期診断法として有用である. しかし BG 濃度は ng/mL 以下であり, 直接的に単離・構造解析することは困難である. 我々は *C. albicans* を完全合成培地で培養し, その培養上清から BG 活性を有する mannoprotein- β -glucan complex, CAWS を得た. CAWS は BG 活性を示すのみならず, マウスに致死毒性を示すことを既に報告している. 本発表では, CAWS がマウスに川崎病類いの冠状動脈炎を起こすことを見出したので報告する. さらに, 発症過程における免疫学的パラメータについても検討したので合わせて考察したい.

C3H/HeN, DBA/2, CBA/J δ マウスに CAWS(4mg/mouse)を第1週並びに第5週に5日間連日腹腔内投与した. 第9週に心臓の組織切片を作成し HE 染色像を観察した. その結果, C3H/HeN, DBA/2 では高率に顕著な血管炎が観察されたが, CBA/J では低率かつ軽度であった. また, DBA/2 マウスでは第9週前後に死亡する個体も出現した. これらのマウスの血中には抗 CAWS 抗体が産生され, 自己抗体としての MPO-ANCA も検出された. MPO-ANCA 力価は C3H/HeN, DBA/2 で高値を示した. また, 同様の傾向は, 脾臓への細胞浸潤, CAWS 特異的な IL-6 並びに IFN- γ 産生においても認められた. これらのことから, 血管炎の発症は系統差を示し, CAWS に対する免疫学的応答性の強弱が血管炎発症に関連することが示唆された.

Immuno/inflammatory responses induced by *Candida polysaccharides* in murine model of coronary arteritis

N. Ohno¹, N.N. Miura¹, Y. Shingo¹, Y. Adachi¹, A. Oharaseki², K. Takahashi², S. Naoe², A. Okawara³, and K. Suzuki³

¹Tokyo University of Pharmacy and Life Science, ²Ohashi Hospital, Toho University of Medicine, ³National Institute of Infectious Diseases (NIID-NIH)

Candida albicans is a medically important fungus, which induces disseminated candidiasis and candidemia in immunocompromised hosts, and releases a polysaccharide fraction into the blood. We recently found that *C. albicans* released a water-soluble polysaccharide fraction (CAWS) into synthetic medium and demonstrated that CAWS was mainly composed of a complex of mannoprotein and β -glucan. In the murine system, CAWS showed a lethality resembling anaphylactic shock when administered i.v. In the present study, CAWS was repeatedly given i.p. to male C3H/HeN, DBA/2, CBA/J mice on the 1st and 5th weeks and histochemically examined on the 9th week. Coronary arteritis, similar to Kawasaki Disease, was induced severely in C3H/HeN and DBA/2 mice. Majority of the DBA/2 mice died around week 9th. Anti-CAWS Ig and MPO-ANCA were also induced in C3H/HeN and DBA/2 mice. These strains of mice showed severe splenomegaly and antigen specific response assessed by IL-6 and IFN- γ production. These facts strongly suggest that immunologic response of mice to CAWS correlated with the coronary arteritis induction.

血管炎の治療に有効な抗MPOモノクローナル抗体作製の戦略と戦術

新井孝夫¹、大内敬¹、田之倉優²、佐々木次雄³

¹東京理科大、²東京大学大学院、³国立感染症研究所

医・生物科学の研究にとって、モノクローナル抗体は大変有用な実験道具である。ただし、その利点が十分に発揮されるためには、目的にかなった抗体を用いること、広範囲の抗原に対して適用可能となる方法を開発することが求められる。本シンポジウムでは、

- (1) 細胞分化を促進する活性をもつモノクローナル抗体の効率的作製法
- (2) 生細胞への抗細胞骨格モノクローナル抗体導入による細胞増殖の阻害
- (3) 血管炎の治療に有効な抗MPOモノクローナル抗体作製の戦略

について話す予定である。

Strategy and tactics for production of anti-MPO monoclonal antibodies efficient for vasculitis treatment

Takao Arai¹、Takashi Ohuchi¹、Masaru Tanokura²、Tsuguo Sasaki³

¹Tokyo Science University、²Graduate School, University of Tokyo、³National Institute of Infectious Diseases

The monoclonal antibody technology is a useful tool for biomedical studies. However, it is required to use monoclonal antibodies suitable for their purposes, and to develop procedures applicable to antibodies recognizing various types of antigens.

In this symposium, we will talk about the following subjects.

- (1) Development of effective production procedure for monoclonal antibodies inducing cell differentiation.
- (2) Inhibition of the cell proliferation by introduction of anti-cytoskeletal protein antibodies into living cells.
- (3) Strategy for production of anti-MPO monoclonal antibody efficient for vasculitis treatment

腎臓血管傷害のイメージング

長尾 朋和

国立感染症・生物活性

腎炎、SLE、リウマチをはじめとする難治性血管炎は、自己免疫疾患などの免疫異常による好中球活性化や好中球自己抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies: ANCA) と連動して進行するものと予想されている。この仮説の大部分は *in vitro* の検討によるものであることから、*in vivo* での検証が必要とされている。*in vivo* では病理組織切片の観察からも重要な知見が得られるが、血圧・血流速度などの血行力学的因子が常に変化している血管においては、これらの因子からも新たな知見が得られるものと考えられる。顕微鏡を用いた観察は、生存状態で臓器微小循環血流を観察できることから、上記の因子を定量的に評価することが可能な上、腎炎において重要な働きを担っているものと思われる好中球の動態も観察可能である。そこで我々は、腎炎の発症・進展における好中球の役割を明らかにするために、腎炎モデルマウスの構築および観察を行ってきた。その結果、*Candida albicans* 由来糖ペプチド CAWS、rabbit anti-mouse myeloperoxidase (anti-mMPO) および fMet-Leu-Phe によって腎血管傷害を誘導した C57BL/6 マウスでは、血流速度の低下、血流停止、血液の逆流等が観察され、最も顕著な場合、広範囲にわたる腎表面血流の停止も観察された。さらに、これらの現象には血管内皮への白血球の接着を伴ったものも見られた。この腎炎誘導モデルにおいては MPO が関連していることから、観察された白血球の中でも特に好中球が炎症における重要な役割を担っているものと考えられる。

Imaging of renal vascular injury

Tomokazu Nagao

Biodefence Laboratory, National Institute of Infection Disease

It was generally thought that vasculitis such as nephritis, SLE and rheumatism were induced by a combination of neutrophil activation and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). The hypothesis was supported largely by *in vitro* studies. Therefore, further investigations *in vivo* are necessary. For the *in vivo* studies, histological observations have been performed and produced many findings. On the other hand, intravital microscopic observation is capable of acquisition of blood flow dynamics such as blood flow velocity, which is thought to also affect developing nephritis. Furthermore, leukocyte dynamics in vascular vessels also can be observed. To help determine the role of neutrophils in developing nephritis, we attempted to develop murine nephritis models and observe hemodynamics in these models. As a result, injection of three compounds, *Candida albicans*-water soluble polysaccharide fraction, rabbit anti-mouse myeloperoxidase (anti-mMPO), and fMet-Leu-Phe, resulted in decreased blood flow velocity, blood stasis, and regurgitation in the superficial capillaries. In addition, leukocyte adhesion to endothelial cells was observed in some capillaries. Therefore, neutrophils may play an important role in the induction of vascular injury because MPO stored in neutrophils, which is thought to be involved in this model.

小林茂人、橋本博史 順天堂大・医・膠原病内

血管炎症候群には、大型血管炎として、高安動脈炎(TA)、側頭動脈炎・巨細胞性血管炎(GCA)、中・小型の血管炎として、川崎病(KD)、結節性多発動脈炎(cPN)、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症(GCA/GCA)などが存在する。好中球細胞質抗体(ANCA)の発見などから、Chapel Hill Consensus Conference(1994年)にて、血管炎の分類が再検討され、MPAの概念が導入された。本邦の推計患者数は、TA 4,800名、PN 1,400名、WG 670名、AGA 450名(1994年)であった。ANCA関連血管炎は中年・高齢者に多い特徴を有する(平均56±18歳)。临床上、血管炎は様々な臓器を障害し、ステロイド剤・免疫抑制剤など非特異的免疫抑制療法を行う必要がある。このため、1)生命や臓器の予後、2)治療に伴う感染症・骨粗鬆症などの併発症の問題のみならず、3)患者のADL/QOLの悪化、4)再燃や後遺症を含めた医療経済など多くの問題点が存在する。中小型血管炎の長期生命予後は、cPN、MPA、WG、AGAの順に不良であり、死因は、感染症(36.5%)が多かった(1998年)。

Clinico-epidemiological manifestations of primary “intractable” vasculitides in Japan

Shigeto Kobayashi, Hiroshi Hashimoto

Department of Rheumatology and Internal Medicine, Juntendo University School of Medicine

Among primary vasculitides, Takayasu's arteritis (TA), giant cell vasculitis (GCA) involve in the large vessels, Kawasaki disease (KD), polyarteritis nodosa (cPN), microscopic polyangiitis (MPA), Wegener's . granulomatosis (WG), allergic granulomatosis (AGA/CSS) involve small- or medium-sized vessels. From the discovery of anti-neutrophil cytoplasm antibody (ANCA), the classification of the vasculitis was reexamined in Chapel Hill Consensus Conference (1994), and the concept of MPA was introduced. Epidemiologically, patients with TA and KD are prevalent but GCA is very rare in Japan. The estimated number of Japanese was 4800 for TA, 1400 for PN, 670 for WG, 450 for AGA (1994). The average age among ANCA related vasculitis was 56 ± 18 years old. Clinically vasculitides of the small- or medium-sized vessels affect and leave irreversible damage in many organs. Furthermore, treatments with immunosuppressive agents such as corticosteroid and cytotoxic drugs may induce serious adverse effects such as infection, osteoporosis, etc. in the elderly patients. In addition, problems in the deterioration of patients' ADL and QOL, the economical burden in both elderly patients and the nation must be considered. Prognosis revealed worse for cPN, MPA, WG, and AGA in this order. The most frequent cause of death revealed infection (36.5%) among vasculitides of the small- or medium-sized vessels (1998).

岡崎 富男
広島市民病院 小児科

川崎病は系統的血管炎であり、とくに冠動脈障害が最大の問題である。1984年に古庄らにより提唱された、免疫グロブリン大量静注(IVIG)療法は現在では、世界の治療の主流になっており、2g/Kg単回大量療法の血管炎抑制効果は、他の治療法に比し著明である。

しかし、IVIG療法に不応である症例も10~20%存在し、IVIGの投与日、投与量や投与方法において更に、検討を要する。不応例に対してIVIGの追加投与、ウリナスタチンやステロイド剤などの併用、さらに血漿交換療法などが行われているが、その効果については結論は出ていない。

また、IVIGの作用機序についても解明されておらず、今後川崎病の病因の究明とともにガンマグロブリンの人工化を視野に入れた更なる研究が必要である。

IVIG Treatment for Patients with Kawasaki Disease: An Update

Tomio Okazaki
Department of Pediatrics, Hiroshima City Hospital

Kawasaki disease is a systemic vasculitis with most risk in coronary arteritis. In 1984 Furusho et al. recommended IVIG treatment for patients with Kawasaki disease. This treatment has been thus used for as therapy for Kawasaki disease in Japan and worldwide. Further, one shot of 2g/Kg treatment markedly suppresses vasculitis development rather than other therapies for Kawasaki disease.

However, 10 to 20% of patient with Kawasaki disease had no response to the IVIG treatment, suggesting that the date of IVIG treatment, dose, and/or protocol of it need to be investigated further. In the none-responders to IVIG, we have tried to give additional IVIG treatment; a protease inhibitor, Urinastatin; steroids; or plasmapheresis, but none has been proven effective. On the other hand, to date we have no evidence about mechanism of the IVIG treatment, nor any information on about the etiology of Kawasaki disease. Further, research on the etiology and elucidating the mechanisms of IGIV treatment is needed, in addition to the production of synthetic immunoglobulins.

ANCA 関連腎炎・血管炎に対するヒト免疫グロブリン (IVIg) 治療効果の検討

○猪原登志子¹、小野孝彦¹、北徹¹、鈴木和男²、武曾恵理³¹京都大学大学院医学研究科 循環病態学,²国立感染症研究所 生物活性物質部,³田附興風会北野病院 腎臓内科

ANCA 関連血管炎症候群の治療には強力な免疫抑制療法が必要であるが、高齢者に多く、致命的な治療副作用もしばしば経験される。免疫グロブリン治療(intravenous immunoglobulin treatment: IVIg)は免疫能の調整を行い治療効果を発揮することから従来の治療法を補う有力な導入療法として期待される。【対象】MPO-ANCA 陽性患者 13 名 (男性 7、女性 6 名、72±10 歳)。全例に治療前腎生検を施行、組織学的に ANCA 関連腎炎・血管炎と診断。組織所見を Activity Index, Chronicity Index を用いて評価した。【方法】導入期治療として IVIg (乾燥スルホ化ヒト免疫グロブリン) 400mg/kg/day, 5 日間施行、後療法として経口ステロイド療法あるいは経口 cyclophosphamide 投与を行った。IVIg 治療前後の臨床的治療効果判定を Birmingham vasculitis activity score (BVAS)、血清 CRP, Creatinine (Cre) を用いて評価した。腎機能の低下率を評価するために、Reciprocal creatinine (1/Cre) の変化率を検討した。【結果】治療前と比較し、IVIg 治療後の BVAS は有意に低下した(前 19.538 ± 4.567 vs 後 16.538±4.684; p=0.0001)。また IVIg 治療により CRP は有意に低下した (前 9.90 ± 6.37 vs 後 6.32 ± 5.05 mg/dl; p=0.0007)。1/Cre の変化率は治療後有意に増加し、腎機能の改善が認められた(前 -0.0406 ± 0.0615 vs 後 0.0071 ± 0.0178 dl/mg/day; p<0.05)。IVIg による重篤な副作用の発現は認められず、その後に行ったステロイドを含む免疫抑制療法後も感染症による予後不良症例は皆無であった。【結論】IVIg 治療は MPO-ANCA 関連腎炎・血管炎において導入期治療として有効で、患者の予後を改善しうると考えられた。

Evaluation of intravenous immunoglobulin (IVIg) treatment on patients with myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody (MPO-ANCA)-related rapidly progressive glomerulonephritis and vasculitis.

Toshiko Ito-Ihara¹, Takahiko Ono¹, Toru Kita¹, Kazuo Suzuki², Eri Muso³¹Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine²Department of Bioactive Molecules, National Institute of Infectious Diseases³Division of Nephrology, Kitano Hospital, The Tazuke Kofukai Foundation, Medical Research Institute

Myeloperoxidase (MPO) -antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) -related glomerulonephritis (GN) and vasculitis necessitate aggressive immunosuppressive treatment including steroid and cyclophosphamide; however, such treatment is not always available to elderly or immunocompromised patients. Intravenous immunoglobulin (IVIg) before the use of immunosuppressive agent is an alternative therapy which can modulate the immune system without severe side effects. PATIENTS AND METHOD: Thirteen patients with serologically and histologically confirmed ANCA-related GN / vasculitis (Seven men and Six women; age 72±10 y.o.) have been treated with IVIg (Freeze-dried sulfonated human normal immunoglobulin, Kenketsu Venilon I, Teijin Ltd., Japan; 400mg/kg/day for 5 consecutive days) before the beginning of immunosuppressive therapy. Effects of IVIg were evaluated by Birmingham vasculitis score (BVAS) , serum C reactive protein (CRP) and creatinine (Cre) levels, change of reciprocal creatinine (1/Cre) rate before and after IVIg treatment. All of these evaluations were performed before starting the immunosuppressive therapy. RESULTS: IVIg treatment significantly reduced BVAS (pre-IVIg 19.538 ± 4.576 vs post-IVIg 16.538 ± 4.684; p=0.0001) and CRP values (pre-IVIg 9.90 ± 6.37 vs post-IVIg 6.32 ± 5.05 mg/dl ; p=0.0007). The change of 1/Cre rate significantly increased after IVIg treatment (pre-IVIg -0.0406 ± 0.0615 vs post-IVIg 0.0071 ± 0.0178 dl/mg /day; p<0.05). Following immunosuppressive therapy (moderate dose of steroid and partial cyclophosphamide) have succeeded to provide the remission of the disease without any severe infectious complications. Only one patient has undergone hemodialysis. CONCLUSION: IVIg is the potent induction therapy for patients with ANCA-related GN and vasculitis followed by favorable prognosis without any detrimental side effect.

ANCA 関連腎炎、血管炎に対する大量静注用免疫具ロブリン療法

○ 赤松明 1、胡麻田学 1、武曾理恵 2、鈴木和男 3

1 愛媛県立中央病院・腎臓内科、2 北野病院・腎臓内科、3 国立感染研・生物活性物質部

ANCA 関連腎炎、血管炎はその病態自体の重篤性もさることながら、その治療に困難を伴うことで注目される。その治療、すなわち強力な免疫抑制療法には致命的副作用を伴うことがあり、患者側の要因により本治療自体の選択が当初から困難な症例も多く存在することも事実である。【対象】：2002 年 6 月から 9 月にかけて IVIg を適用した 7 例（男 5 名、女 2 名、平均年齢 66.9 歳）1 例を除き全例腎生検を施行（ただし 1 例はネクロプシー）組織学的に ANCA 関連腎炎、血管炎と診断。【方法】：IVIg400mg/kg/day を 5 日間投与し、後療法として経口ステロイド剤投与を原則とした。上記治療前後で ANCA 力価、血清 CRP、Cre、24h rCCr を用い手評価した。【結果】：7 例中 2 例に血液透析を必要とした。うち 1 例は感染により死亡したが、腎ネクロプシーにて血管炎自体は改善していた。残り 1 例は透析回数の減少に成功した。他の 5 例は十分な腎機能の改善もたらされた。IVIg によると思われる副作用はなかった。病勢の指標として ANCA 値、血清 CRP はよい指標となったが実際の腎機能の改善(Cre)は遅れてみられた。【結論】：IVIg 療法は従来の免疫抑制療法では、治療困難と予測される ANCA 関連腎炎、血管炎症例にも十分な治療効果を与えると考えられた。

High dose intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy for Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibody (ANCA)-associated glomerulonephritis and vasculitis.

Akira Akamatsu¹, Manabu Gomada¹, Eri Muso², Kazuo Suzuki³

¹Division of Nephrology, Ehime Prefectural Central Hospital, ²Division of Nephrology, Kitano Hospital, ³ NIID

The ANCA associated glomerulonephritis and vasculitis are not only known for the severity but also it is worth the attention for the difficulty of the treatment. Due to the very serious side effects, the aggressive immunosuppressive therapy is often refused by the patients, which adds more complexity to the treatment of the disease. [Patients] Seven patients were treated with IVIg treatment between June 2002 and September 2002, (Five males, two females, average age 66.9 years old) We have performed the renal biopsy to all the patients except one (one case was necropsy). Histological analysis confirmed diagnosis of the ANCA associated glomerulonephritis and vasculitis. [Methodology] IVIg 400 mg/kg/day were administered to seven patients for five days. As the following therapy, oral steroid drugs were administered. Effects of the treatment were evaluated by measuring the followings before and after the treatment: ANCA titer value, serum CRP, creatinine (Cre) level, 24 hours Creatinine Clearance (CCr). [Results] Out of seven patients, two required hemodialysis. The one, who required homodialysis, died due to the infection but renal necropsy showed the histological improvement in vasculitis. Other patients who required hemodialysis succeeded in reducing the frequency of hemodialysis. The rest five patients showed the improvement in kidney function. There is no side effect due to the IVIg. ANCA value and serum CRP have proven to be good indicators for the progress of disease but the kidney function represented by Cre improve with delay. [Conclusion] IVIg therapy seemed to be effective for the ANCA associated glomerulonephritis and vasculitis cases that were difficult to treat with immunosuppressive therapy.

Intravenous immunoglobulin in vasculitis

David Jayne

Vasculitis and Lupus Clinic, Addenbrooke's Hospital, Cambridge UK

The most common vasculitic disorders in adults are those associated with circulating autoantibodies to neutrophil cytoplasmic antigens (ANCA) in which tissue deposits of immune reactants are scanty or absent. ANCA contribute to pathogenesis by accelerating the neutrophil respiratory burst and by interactions with their autoantigens, proteinase 3 and myeloperoxidase. Other important pathogenetic mechanisms are mediated by cytokine dysregulation, autoreactive T-cells and monocyte/macrophages.

Human, pooled, intravenous immunoglobulin (IVIg) contains antibodies that inhibit the binding of ANCA to its autoantigen and prevent ANCA induced neutrophil activation. Similar ANCA inhibitory activity is present in the sera of patients after recovery from vasculitis and has been attributed to anti-idiotypic antibody variable region (Fab) interactions with ANCA. IVIg infusions often lead to a fall in circulating ANCA activity which is sustained for at least three months. This is associated with a rise in total plasma IgM and in non-disease associated IgG autoantibodies, phenomena compatible with stimulation of polyspecific 'natural' antibodies rich in anti-idiotypic activity.

Other mechanisms of action of IVIg of importance in vasculitis are constant region (Fc) interactions with Fc receptors on monocytes leading to a reduction in pro-inflammatory cytokines, neutralisation of superantigens and other microbial products and less well characterised effects on antigen presentation, T-cell activation and endothelial function.

Preliminary clinical trials have indicated a therapeutic response rate of IVIg (2g/kg) of 40-75% in refractory vasculitis. A subsequent, double blind, placebo-controlled trial (n=34) in a similar patient group found a higher response rate with IVIg than placebo, as judged by clinical assessment and C-reactive protein, but the effects of a single infusion had worn off by three months. Only one small study (n=6) has investigated IVIg as sole therapy for newly diagnosed patients which observed a sustained remission in four out of six patients. Other vasculitic disorders for which IVIg has been effective include Kawasaki disease, Henoch-Schonlein purpura, cutaneous polyarteritis nodosa and urticarial vasculitis.

Current immunosuppressive therapies of vasculitis cause severe infections and other major toxicities in over 25%. There is sufficient evidence to support the use of IVIg in the treatment of refractory vasculitis and further studies of its role as a component of initial therapy are required. IVIg has the potential to improve disease control and allow reduction of immunosuppressive medication and consequent morbidity.

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mie Ito, Oda Y, Yamagoe S, Suzuki K, Tanokura, M	Expression, oxidative refolding and characterization of six-histidine-tagged recombinant human LECT2, a 16 kDa chemotactic protein with three disulfide bonds	Protein Expression Purif	27 (2)	272-278	2003
Frederik Vilhardt, Olivier Plastre, Makoto Sawada, Kazuo Suzuki, Maciej Wiznerowicz, Etsuko Kiyokawa, Didier Trono, Karl-Heinz Krause	The HIV-1 Nef Protein and Phagocyte NADPH Oxidase Activation	J Biol. Chem	277	42136-43	2002
Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., Koyama, H	Relative contributions of myeloperoxidase and NADPH-oxidase to the early host defense against pulmonary infections with <i>Candida albicans</i> and <i>Aspergillus fumigatus</i>	Med. Mycol	40	557-563	2002
Kohji Ichimori, Naoto Fukuyama, Hiroe Nakazawa, Yasuaki Aratani, Hideki Koyama, Shunya Takizawa, Yosuke Kmeoka, Akiko Ishida-Okawara, Fumikazu Kohi Kazuo Suzuki	Myeloperoxidase has directly-opposed effects on nitration reaction - study on myeloperoxidase-deficient patient and myeloperoxidase-knockout mice	Free Radical Research	in press		
Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., Koyama, H	Critical role of myeloperoxidase and NADPH-oxidase in high-burden systemic infection of mice with <i>Candida albicans</i>	J. Infect. Dis	185	1833-1837	2002
A Ishida-Okawara, T. Oharaseki, K. Takahashi, Y. Hashimoto, Y. Aratani, H. Koyama, N. Maeda, S. Naoe, K. Suzuki	Contribution of myeloperoxidase to coronary artery vasculitis associated with MPO-ANCA production	Inflammation	25	381-387	2001
Yagi, R., Suzuki, W. Seki, N. Kohyama, M. Inoue, T. Arai, T., Kubo, M	The IL-4 production capability of different strains of native CD4+ T cells controls the differentiation of the helper T cell response.	Int. Immunol.	14	1-11	2002
Yagi, R., Nagai, H.,	Development of atopic	J. Immunol.	168	2020-2927	2002

Iigo, Y. Akimoto, T. Arai, T. Kubo, M.	dermatitis-like skin lesions in STAT6-deficient NC/Nga mice.				
Hashimoto, T. Wakabayashi, T. Watanabe, A., Kowa, H. Hosoda, R., Nakamura, A. Kanazawa, I. Arai, T., Takio, K. Mann, D.M.A. Iwatsubo, T.	CLAC: a novel Alzheimer amyloid plaque component derived from a transmembrane precursor, CLAC-P/collagen type XXV.	EMBO J.	21	1524-1534	2002
Ohuchi, T. Maruoka, S. Sakudo, A., Arai, T.	Assay-based quantitative analysis of PC12 cell differentiation.	J. Neurosci. Methods	118	1-8	2002
Namekawa, S. Hamada, F., Sawado, T. Ishii, S., Nara, T. Ishizaki, T. Ohuchi, T., Arai, T. Sakaguchi, K.	Dissociation of DNA polymerase α -primase complex during meiosis in <i>Coprinus cinereus</i> ,	E. J. Biochem.	in press		
Y Kato, M Ito, K Kawai, K Nagata M Tanokura	Determinants of Ligand Specificity in Groups I and IV WW Domains as Studied by Surface Plasmon Resonance and Model Building	The Journal of Biological Chemistry	277(12)	10173-10177	2002
Y Sawano, T Muramatsu, K Hatano, K Nagata M Tanokura	Characterization of Genomics Sequence Coding for Bromelain Inhibitors in Pineapple and Expression of Its Recombinant Isoform	The Journal of Biological Chemistry	277(31)	28222-28227	2002
W Iwasaki, H Sasaki, A Nakamura, K Kohama, M Tanokura	Metal-Free and Ca ²⁺ -Bound Structures of a Multidomain EF-Hand Protein, CBP40, from the Lower Eukaryote <i>Physarum polycephalum</i>	Structure	11	75-85	2003
M. Uchiyama, N. Ohno, N. N. Miura, Y. Adachi, T. Yadomae	Anti-Grifolan Antibody Reacts with the Cell Wall β -Glucan and the Extracellular Mannoprotein- β -Glucan Complex of <i>C. albicans</i>	Carbohydrate Polymers	48	333-340	2002
K. Moriya, N. N. Miura, Y. Adachi, N. Ohno	Systemic Inflammatory Response Associated with Augmentation and Activation of Leukocytes in <i>Candida</i> /Indomethacin Administered Mice	Biol. Pharm. Bull.	25	816-822	2002
K. Ishibashi, N. N. Miura, Y. Adachi, N. Ogura, H. Tamura, S. Tanaka, N. Ohno	Relationship between the Physical Properties of <i>Candida albicans</i> Cell Wall β -Glucan and Activation of Leukocytes in Vitro	Int. Immunopharmacol.	2	1109-1122	2002
猪原登志子、渡邊壽規、三宅あかり、小林いけい、野村啓子、草野仁、野垣文昭、陶山勝郎、渡部仁美、小野孝彦、鈴木和男、武曾恵理	経静脈的 γ グロブリン療法 (IVIg) が効果的であった ANCA 関連急速進行性腎炎の 1 症例	Pharma Medica	20 (6)	118-120	2002

Ito-Ihara T, Nogaki F, Ono T, Suzuki K, Muso E.	Intravenous immunoglobulin (IVIG) treatment of MPO-ANCA-related microscopic polyangiitis.	Cleveland Clinic Journal of Medicine	188; 69 (5) suppl. 2, May		2002
高橋 啓	瘤を確認できなかった冠状動脈の狭窄性病変への進展の可能性について	Prog Med	22	1676-1678	2002

20021048

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.77－P.79の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。