

は死亡されたが、LECT2 が肝炎の劇症化予測のよいメルクマールとなり得る可能性も考慮された。さまざまな症例の随時 LECT2 値を測定し種々のメルクマールと相関係数をとったところで $\gamma$ -GTP に有意差をもった若干の相関が見出された。その結果を糸口として、アルコールとの関連を検討するために我々自らが健常人としてアルコールを摂取しその前後で LECT2 値を測定したところ有意さをもって摂取後に上昇していた。アルコールは腸管のエンドトキシンへの permeability を亢進させるといわれているため、クッパー細胞の食食能に対する LECT2 の影響に着目し野生型と LECT2 KO マウスにおけるクッパー細胞の食食能の差異を LPS の刺激下で検討した。結果としては LPS の存在に左右されるか否かは別として LECT2 が肝類洞においてクッパー細胞の食食を制御している可能性は示唆された。FITC でラベルされた  $1\ \mu\text{m}$  の microsphere  $0.1\text{ml}(2.0 \times 10^8\text{particle})$  を使って Indian Ink と同じ条件での検討を行なった (蛍光顕微鏡下に録画) ところ、同様の傾向を確認した。今後の課題及び計画としては、肝灌流モデルを作成し他臓器での microsphere の食食の影響をなくした ex vivo の状態で in vivo の結果と比較検討する、また野生型及び LECT2 KO マウスのそれぞれの Kupffer cell を分離し、LECT2 による直接的反応を観察するということである。尚、cDNA オリゴマイクロアレイを用い 20,371 遺伝子についての wild 及び LECT2 KO mouse における遺伝子解析を行い、その差異より LECT2 機能の新たな

側面へのアプローチを試みている。

## E. 結論

新規好中球遊走サイトカイン LECT2 は肝炎反応を抑え、さらには回復に関与しており、また劇症化予測のよいメルクマールとなり得る可能性が示唆された。そのメカニズムの一つとして LECT2 が肝類洞においてクッパー細胞の食食を制御している可能性も示唆された。

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- FUNDAMENTAL STUDY OF A PARTICLE COUNTING METHOD USING LASER-LIGHT SCATTERING IN DETECTION OF PLATELET AGGREGATES UNDER DIABETES MELLITUS. Hiromichi NAKADATE<sup>1)</sup>, Eiichi SEKIZUKA<sup>2)</sup>, Chikara OSHIO<sup>3)</sup>, Kosuke TSUKADA<sup>1)</sup>, Tomohiro UCHIDA<sup>1)</sup>, Tadashi OZAWA<sup>1)</sup>, and Haruyuki MINAMIYANI<sup>1)</sup>. School of Fundamental Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Keio University, Yokohama, Japan<sup>1)</sup>, Department of Clinical Research, National Saitama Hospital, Wako-shi, Saitama, Japan<sup>2)</sup>, Oshio Clinic, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan<sup>3)</sup>. Microcirculation annual, Vol. 18, 2002

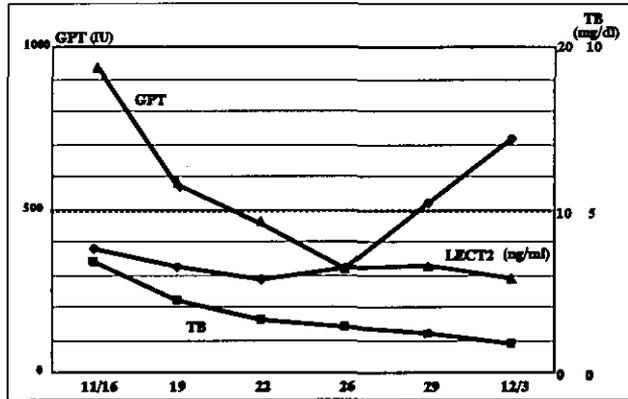
- ・ 散乱光を用いた血小板凝集能測定装置の基礎特性と糖尿病血小板凝集能亢進の検討 中楯浩康（慶應義塾大学），関塚永一（国立埼玉病院），大塩力（大塩医院）小澤正，広瀬耕徳，南谷晴之（慶應義塾大学）電気学会研究会資料 医用・生体工学研究会 MBE-02-59~71, 53-56

## 2. 学会発表

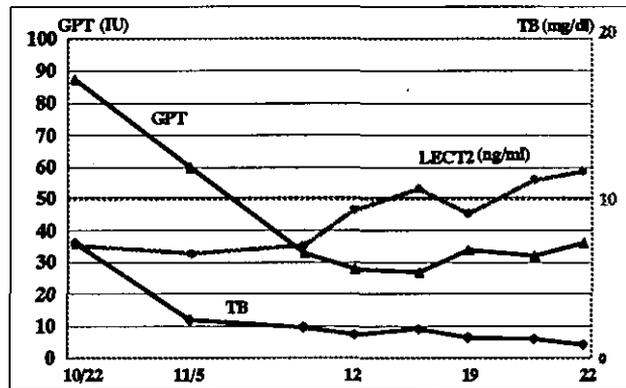
- ・ 肝類洞壁細胞研究会 平成 14 年 12 月 14,15 日 東京丸の内 「LECT2 Effect on Kupffer Cell Phagocytic Activity」

## E. 知的財産権の出願・登録状況

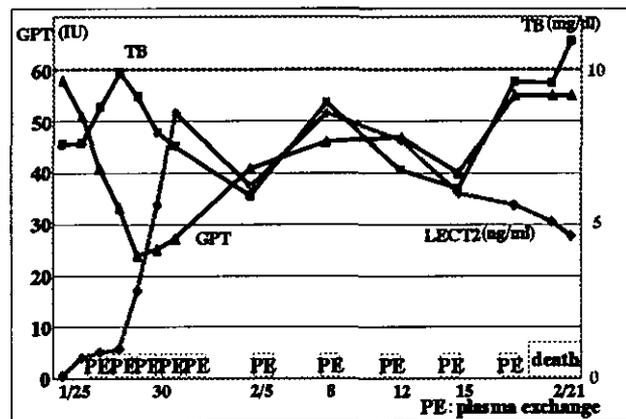
なし



(図1) B型急性肝炎 31歳女性



(図2) アルコール性肝硬変急性増悪 35歳男性



(図3) 劇症肝炎 48歳女性

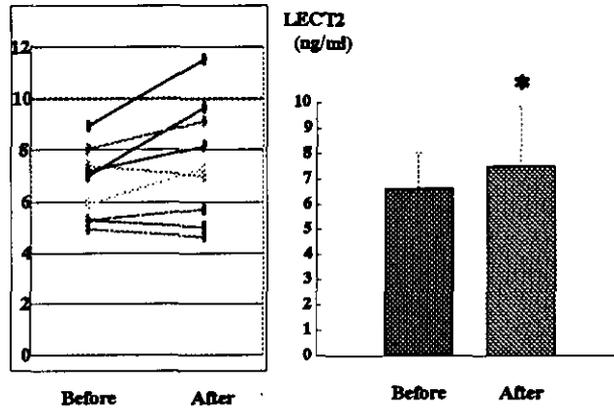
	n	PLT	GOT	GPT	$\gamma$ -GTP	AFP	PIVKA2	IVcollagen	HA
H.C.C.	7	-0.21	-0.06	0.83	0.41	0.01	0.45	0.19	0.44
LC	30	-0.18	0.20	0.13	-0.27	0.10	0.04	-0.09	-0.26
CH	85	0.11	-0.06	-0.02	-0.07	-0.12	-0.17	-0.13	-0.13
AUTO IMMUNE	21	-0.07	0.21	0.21	0.03	0.28	-0.15	-0.27	0.29
ALCOHOL	5	0.22	0.10	0.27	0.35	0.28	-0.16	-0.29	0.19
LIVER DISEASE	148	0.06	0.01	0.01	0.23	0.11	-0.12	-0.08	-0.16
OTHER DISEASE	80	-0.09	-0.01	0.16	-0.09	-0.13	0.49	0.08	-0.53
ALL	218	0.08	-0.05	-0.01	0.21	0.01	-0.15	-0.09	-0.18

H.C.C. : Hepatic Cell Carcinoma LC : Liver Cirrhosis  
 CH : Chronic Hepatitis HA : hyaluronic acid

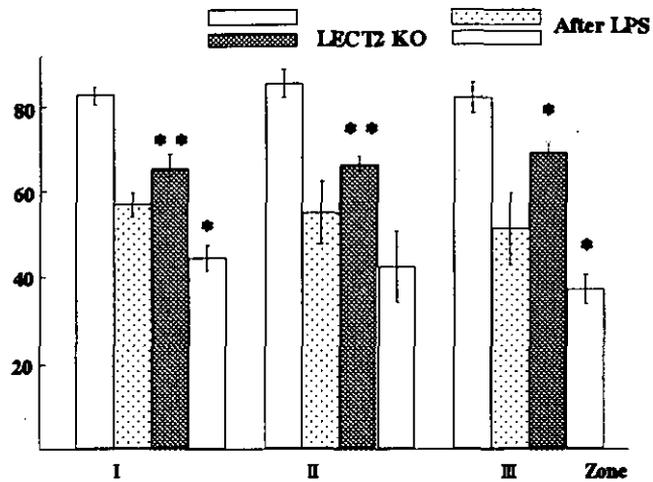
$|r| > 0.2$   
 $P < 0.05$

$|r| > 0.2$

(表 1) 各種メルクマールと LECT2 の相関係数



(図 4) アルコール摂取前後での LECT2 値



(図 5) 貪食された Ink 数

## 多臓器不全に関与するサイトカインモデルマウス

岩倉洋一郎 東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター教授

### 研究要旨

IL-1 の内在性阻害分子である IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1Ra) の遺伝子を欠損させたマウスは自己免疫を発症する。また、このマウスは関節炎の他、血管炎や乾癬 (psoriasis)、痩せ、など多様な症状を呈する。今年度はこのうち血管炎について、発症への免疫担当細胞の関与を検討した。その結果、IL-1Ra 欠損マウスの T 細胞をヌードマウスに移植すると血管炎を発症することから、T 細胞依存性の免疫応答が発症に関与していることがわかった。また、正常骨髄細胞を IL-1Ra 欠損マウスに移植することにより、発症を抑制できることがわかった。

### A. 研究目的

我々は先に IL-1Ra 欠損マウスを作製し、このマウスが自己免疫性の関節炎を発症することを報告した (Horai et al., JEM, 2000)。このマウスでは IL-1Ra の欠損により、過剰の IL-1 シグナルが入ることが予想される。IL-1 には T 細胞上に CD40L や OX40 などの副シグナル分子の発現を誘導する活性があり、このため、このマウスでは免疫系が異常に活性化され、自己免疫を発症するものと考えられる。このマウスでは関節炎の発症が認められるが、この関節炎は T 細胞移植によってヌードマウスに引き起こすことができることや、抗 CD40L や抗 OX40L 抗体によって抑制できることから、自己の滑膜組織に対する免疫応答が惹起され、関節炎を発症するものと考えられる。ところで、このマウスは関節炎の他に血管炎や、乾癬を発症することが分かっている。また、このマウスは野生型に比べ体重が軽く、これは IL-1 の過剰シグナルによりインスリ

ン分泌が抑えられ、脂肪蓄積が抑制されるためであることがわかっている (Matsuki et al., JEM, 2003)。このように IL-1 の過剰シグナルにより、多様な症状が引き起こされることが分かったが、これらの症状が同じ自己免疫を背景として引き起こされているものか、それとも全く独立のメカニズムによって発症しているものなのかは興味深いところである。

本研究では血管炎の発症機構に焦点を絞り、自己免疫との関連を検討した。これまでの研究から 1) Balb/c 背景 IL-1Ra 欠損マウスで血管炎の発症率は、3 ヶ月齢で 50~60% であること、2) 血管炎は大動脈弁尖部にもっとも典型的に見られ、血管壁の弾性板の破壊、血管壁および弁組織への炎症性細胞の浸潤が認められること、3) IL-1Ra 欠損マウスでは心中核壁厚、後壁厚とも肥厚しており、また、流出路速度、圧較差ともに亢進しており、血管内空が狭小化していること、4) IL-1Ra 欠損マウスの TNF $\alpha$  を

欠損させると血管炎の発症が完全に阻止されること、などがわかっている。本年度は細胞移植により、免疫担当細胞が発症に関与しているかどうかを検討した。

## B. 方法

IL-1Ra KO マウス：IL-1Ra KO マウスは、エクソン1-4 をネオマイシン耐性遺伝子で置換することにより作製した。その後、BALB/cA マウスに8世代戻し交配し、実験に供した。

## C. 研究結果、D. 考察

1. IL-1Ra 欠損マウスの骨髄細胞を放射線照射した野生型マウスに移植したところ、24週後に7匹中5匹に血管炎が発症した。一方、野生型マウスの骨髄細胞をIL-1Ra 欠損マウスに移植した場合は、発症が6匹中2匹に抑えられ、発症の程度も軽かった。この結果、骨髄由来細胞が発症に関与していることが示された。又、正常骨髄移植によって、発症が抑制されることがわかった。

2. IL-1Ra 欠損マウスのT細胞をヌードマウスに移植したところ、13匹中12匹が血管炎を発症した。この結果、T細胞が発症で主要な役割を果たしていることがわかった。

3. 関節炎と血管炎の発症を比較したところ、同じ個体で関節炎と血管炎を共に発症したものが、40%あったのに対し、関節炎のみを発症したものが42%、血管炎のみが9%に認められた。この結果、両者は同じメカニズムにより発症しており、関節炎の方が先に発症することが示唆された。

## E. 結論

IL-1Ra 欠損マウスのT細胞を移植すると血管炎を発症することから、T依存性の免疫反応が発症に関与していることが示された。また、正常骨髄細胞の移植により、発症が強く抑制されたことから、骨髄移植が血管炎の治療に有効であることが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Nakae, S., Komiyama, Y., Narumi, S., Sudo, K., Horai, R., Tagawa, Y., Sekikawa, K., Matsushima, K., Asano, M., and Iwakura, Y. IL-1-induced TNF $\alpha$  elicits inflammatory cell infiltration in the skin by inducing interferon- $\gamma$ -inducible protein-10 in the elicitation phase of contact hypersensitivity response. *Int. Immunol.*, 15, 251-260 (2003).

Iwakura, Y. Autoimmune chronic inflammatory arthropathy in mice transgenic for the HTLV-I tax gene. In "Two decades of adult T-cell leukemia and HTLV-I research", (eds. K. Sugamura, R. Uchiyama, M. Matsuoka, and M. Kannagi), Gann Monograph on Cancer Research, 50, Japan Scientific Societies Press and Karger, Tokyo, pp. 197-218 (2003).

Nakae, S., Horai, R., Komiyama, Y., Nambu, A., Asano, M., Nakane, A., and Iwakura, Y. The role of IL-1 in the immune system. In "Cytokine Knockouts", (ed. G. Fantuzzi), Humana Press, Totowa, NJ, pp. 95-109 (2003).

Tanaka, J., Ishida, T., Choi, B.-I., Watanabe, T., Yasuda, J., and Iwakura, Y. Latent HIV-1 reactivation in

- transgenic mice requires cell cycle-dependent demethylation of CREB/ATF sites in the LTR. *AIDS*, 17, 165-175 (2003).
- Sashinami, H., Nakane, A., Iwakura, Y., and Sasaki, M. Effective induction of acquired resistance to *Listeria monocytogenes* by immunizing mice with in vivo-infected dendritic cells. *Infect. Immun.*, 71, 117-125 (2003).
- Nakae, S., Komiyama, K., Yokoyama, H., Nambu, A., Umeda, M., Iwase, M., Homma, I., Sudo, K., Horai, R., Asano, M. and Iwakura, Y. Interleukin-1 is required for allergen-specific Th2 cell activation and the development of airway hypersensitivity response. *Int. Immunol.*, 15, 483-490 (2003).
- Voronov, E., Shouval, D. S., Krelin, Y., Cagnano, E., Benharroch, D., Iwakura, Y., Dinarello, C. A., and Apte, R. N. Interleukin 1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 2645-2650 (2003).
- Kirii, H., Niwa, T., Yamada, Y., Wada, H., Saito, K., Iwakura, Y., Asano, M., Moriwaki, H., and Seshima, M. Lack of interleukin-1 $\beta$  decreases the severity of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23, 656-660 (2003).
- Nakae, S., Saijo, S., Horai, R., Sudo, K., Mori, S., and Iwakura, Y. IL-17 production from activated T cells is required for the spontaneous development of destructive arthritis in mice deficient in IL-1 receptor antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 5986-5990 (2003).
- Asano, M., Nakae, S., Kotani, N., Shirafuji, N., Nambu, A., Hashimoto, N., Kawashima, H., Hirose, M., Miyasaka, M., Takasaki, S., and Iwakura, Y. Impaired selectin ligand biosynthesis and reduced inflammatory responses in  $\alpha$ -1,4-galactosyltransferase-I-deficient mice. *Blood*, 102, 1678-1685 (2003).
- Wheeler, R. D., Brough, D., Le Feuvre, R. A., Takeda, K., Iwakura, Y., Luheshi, G. N., Rothwell, N. J. Interleukin-18 induces expression and release of cytokines from murine glial cells: interactions with interleukin-1 $\beta$ . *J. Neurochem.*, 85, 1412-1420 (2003).
- Isoda, K., Shiigai, M., Ishigami, N., Matsuki, T., Horai, R., Nishikawa, K., Kusuhara, M., Nishida, Y., Iwakura, Y., Ohsuzu, F. Deficiency of interleukin-1 receptor antagonist promotes neointimal formation after injury. *Circulation*, 108, 516-518 (2003).
- Matsuki, T., Horai, R., Sudo, K., and Iwakura, Y. IL-1 plays an important role in lipid metabolism by regulating insulin levels under physiological conditions. *J. Exp. Med.*, 198, 877-888 (2003).
- Miyake-Nishijima, R., Iwata, S., Saijo, S., Kobayashi, H., Kobayashi, S., Souta-Kuribara, A., Hosono, O., Kawasaki, H., Tanaka, H., Ikeda, E., Okada, Y., Iwakura, Y., and Morimoto, C. Role of Crk-associated substrate lymphocyte type in the pathophysiology of rheumatoid arthritis in transgenic mice and in humans. *Arthritis Rheum.*, 48, 1890-1900 (2003).
- Kariyone, A., Tamura, T., Kano, H., Iwakura, Y., Takeda, K., Akira, S., and Takatsu, K. Immunogenicity of peptide-25 of Ag85B in Th1 development: role of

- IFN- $\gamma$ . *Int. Immunol.*, 15, 1183-1194 (2003).
- Nakae, S., Nambu, A., Sudo, K., and Iwakura, Y. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J. Immunol.*, 171, 6173-6177 (2003).
- Ohtaki H, Takaki A, Yin L, Dohi K, Nakamachi T, Matsunaga M, Horai R, Asano M, Iwakura Y, Shioda S. Suppression of oxidative stress after transient focal ischemia in interleukin-1 knock out mice. *Acta Neurochir., Suppl.*, 86, 191-194 (2003).
- Kirii, H., Niwa, T., Yamada, Y., Wada, H., Saito, K., Iwakura, Y., Asano, M., Moriwaki, H., and Seishima, M. Lack of interleukin-1 $\beta$  decreases the severity of atherosclerosis in apoE-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23, 656-660 (2003).
- Ono, Y., Ogihara, Y., Saijo, S., Iwakura, Y., and Inoue, M. Evaluation of Kampo medicines used to treat rheumatoid arthritis in collagen-induced arthritis and pX transgenic mice. *Mod. Rheumatol.*, 13, 50-56 (2003).
- Kobari, Y., Misaki, Y., Setoguchi, K., Zhao, W., Komagata, Y., Kawahata, K., Iwakura, Y., and Yamamoto, K. T cells accumulating in the inflamed joints of a spontaneous murine model of rheumatoid arthritis become restricted to common clonotypes during disease progression. *Int. Immunol.*, 16, 131-138 (2004).
- Ishida, Y., Kondo, T., Takayasu, T., Iwakura, Y., and Mukaida, N. The essential involvement of cross-talk between IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in the skin wound-healing process. *J. Immunol.*, 172, 1848-1855 (2004).
- Ishida, Y., Maegawa, T., Kondo, T., Kimura, A., Iwakura, Y., Nakamura, S., and Mukaida, N. Essential involvement of IFN- $\gamma$  in Clostridium difficile toxin A-induced enteritis. *J. Immunol.*, 172, 3018-3025 (2004).
- Ishihara, K.; Sawa, S. I, Ikushima, H., Hirota, S., Atsumi, T., Kamimura, D., Park, S. J., Murakami, M., Kitamura, Y., Iwakura, Y., and Hirano, T. The point mutation of tyrosine 759 of the IL-6 family cytokine receptor gp130 synergizes with HTLV-1 pX in promoting rheumatoid arthritis-like arthritis. *Int. Immunol.*, 16, 455-465 (2004).
- Wu, X., Yoshida, A., Sasano, T., Iwakura, Y., and Endo, Y. Histamine production via mast cell-independent induction of histidine decarboxylase in response to lipopolysaccharide and interleukin-1. *Int. Immunopharmacology*, in press.
- Timoshanko, J. R., Kitching, R. A., Iwakura, Y., Holdsworth, S., R., and Tipping, P. G. Contributions of IL-1 $\beta$  and IL-1 $\alpha$  to crescentic glomerulonephritis in mice. *Am. J. Physiol.*, in press.
- Timoshanko, J. R., Kitching, A. R., Iwakura, Y., Holdsworth, S. R., and Tipping, P. G. Leukocyte derived IL-1 $\beta$  interact with renal IL-1 receptor I to promote renal TNF and glomerular injury in murine crescentic glomerulonephritis. *Am. J. Physiol.*, in press.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## CAWS 誘発マウス動脈炎モデルにおける動脈炎形成過程の病理組織学的検討

分担研究者 高橋 啓 東邦大学医学部付属大橋病院病理学講座助教授  
研究協力者 大原関利章 東邦大学医学部  
三浦典子 大野尚仁東京薬科大学薬学部  
鈴木和男 国立感染症研究所

### 研究要旨

*Candida albicans* Water Soluble fractions(CAWS)誘発マウス動脈炎モデルを用いた薬剤投与による血管炎抑制実験を開始するにあたり、本モデルにおける血管炎形成に至る経時的組織学的変化を検討した。C57BL/6N マウス、4 週齢、雄の腹腔に CAWS 4mg を連続 5 日間接種し、接種後 1, 3, 5, 7, 14, 28 日の大動脈起始部の病理組織像を観察した。その結果、CAWS 接種後 1 日には既に内膜炎が生じていた。その後、外膜側の炎症細胞浸潤が加わり、7 日目には汎血管炎に至った。汎血管炎は当初、限局性の微小な病変であるが、やがて病変は拡大し 28 日目には個体差の少ない肉芽腫性病変が形成される。このことから、本モデルにおける血管炎抑制効果を得るための薬剤投与至適時期は、病変が内膜に限局する時期、すなわち CAWS 接種終了直後と推測された。

### A. 研究目的

CAWS 誘発マウス系統的動脈炎モデルにおける動脈炎形成に至る経時的組織学的推移を検討する。

### B. 研究方法

C57BL/6N マウス、4 週齢、雄を購入し、試験飼育後、PBS に懸濁した CAWS 4mg をマウス腹腔内に連続 5 日間接種した。

連続接種終了後 1, 3, 5, 7, 14, 28 日目に炭酸ガス下に安楽死させ、直ちに剖検。冠状動脈分岐部を含む心基部大動脈水平断のステップ標本を作製し、大動脈炎起始部における血管炎形成までの経時的病理組織学的推移を観察した(図 1)。

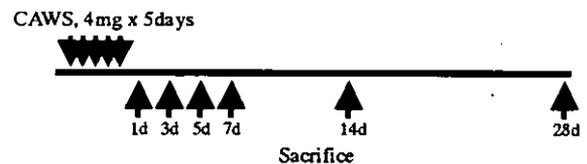


図 1 実験スケジュール

### C. 研究結果

#### 血管炎の経時的推移

Stage I: 大動脈における炎症性変化の内、最も初期の変化は、内膜における炎症細胞浸潤(内膜炎)であった。これらは CAWS 接種後 1 日目のマウスで既に観察された。

Stage II: 上記変化に加えて外膜の炎症細胞浸潤(外膜炎)が加わった。外膜炎は 3 日目から観察され、5 日目ではより明瞭となっていた。

Stage III：血管壁全層におよぶ炎症(汎血管炎)は7日目から観察された。初期の汎血管炎病巣は、微小で好中球が主体であったが、経時的に病変は拡大し増殖性炎の像を呈するようになった(表1)。

接種後	内膜のみ	内膜+外膜	血管壁全層
1日	4/7匹		
3日	5/7	1/7	
5日	4/7	3/7	
7日	3/13	7/13	3/13
14日	2/6	1/6	2/6
28日	2/13	0/13	10/13

表1

#### D. 考察

我々は *Candida albicans* 菌体抽出物誘導マウス系統的動脈炎作製実験を続けている。これまでの検索で、免疫グロブリン投与で動脈炎発生は抑制される傾向を示すことが判明しており、本モデルは治療評価の際にも適用可能な実験系と考える。しかし、各種薬剤の投与時期を決定するにあたり、本実験系における動脈炎形成に至る経時的組織変化を明確にする必要があった。そこで、今回、大動脈起始部における起炎物質(CAWS)接種後の経時変化を観察した。

その結果、CAWSの5日間連続接種終了翌日には既に内膜炎が生じていることが確認された。その後、外膜に炎症細胞浸潤が加わり、7日目には汎血管炎に至る。汎血管炎は当初、限局性の微小な病変であるが、やがて病変範囲は拡大し、病変部に出現する炎症細胞は好中球から大単核細胞を主体とする肉芽腫性病変へと変化していった。そして、接種後28日には最も個体差の少ない均質な病変を観察することが可能となった。

これらのことから、本実験系を用いて薬剤による血管炎抑制効果を評価するためには、初期病変である炎症細胞が内膜に限局する時期、すなわち

CAWS 接種終了直後に薬剤が投与される必要がある。さらに、組織学的評価を客観的に行うためには接種後28日目の病変を観察するのが最も

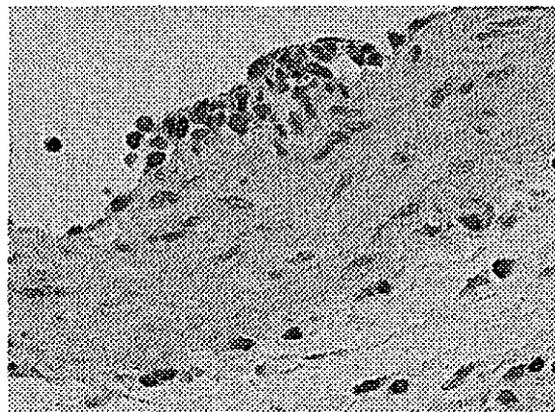


図1：内膜に限局した炎症細胞浸潤(接種後3日)

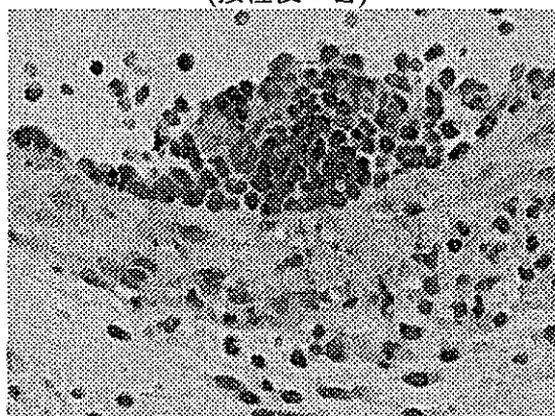


図2：汎血管炎(接種後7日)

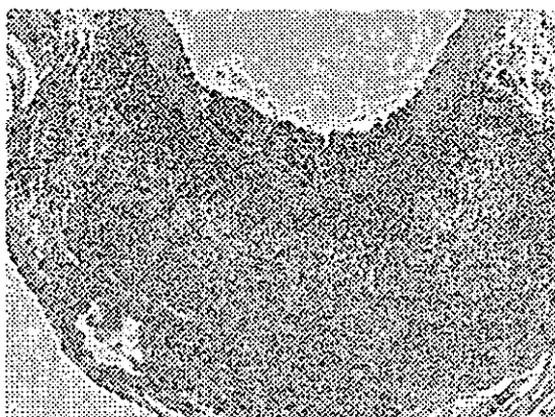


図3 汎血管炎(接種後28日)

適当と考えられた。

しかしながら、その一方で、接種後 14 日あるいは 28 日を経てもなお、血管壁に炎症細胞浸潤をみない個体や内膜に限局した炎症に留まる個体が存在した。このことは、起炎物質に感受性を示さない、あるいは内膜病変は惹起されるがその後汎血管炎へ進展せずに治癒に至る個体が存在することを示唆している可能性がある。

## E. 結論

CAWS 誘発マウス動脈炎モデルにおける血管炎形成過程を組織学的に検討した。血管病変は内膜炎として始まり、その後外膜炎が加わる。そして血管の内外両側から炎症細胞が浸潤し汎血管炎に至ることが明らかとなった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

高橋 啓、直江 史郎：分子誘導型モデル動物—*Candida Albicans* 菌体成分による動脈炎誘発モデル. 医学のあゆみ 206:147-149, 2003

高橋 啓、大原関 利章、直江 史郎：特集川崎病 Q&A カンジダ菌体抽出物によるマウス系統的動脈炎誘発モデルの特徴はなにか。小児内科 35:1500-1502, 2003

高橋 啓、大原関利章、村田久雄、直江史郎：カンジダ菌体抽出物によるマウス系統的血管炎誘発モデルと川崎病. 脈管学 43:673-678, 2003

Takahashi K, Oharaseki T, Wakayama M, Yokouchi Y, Naoe S, Murata H: Histopathological features of murine systemic vasculitis caused by *Candida albicans* extract - an animal model of Kawasaki Disease. *Inflamm res.* 53: 72-77, 2004

### 2. 学会発表

大原関利章、横内 幸、若山 恵、三浦典子、鈴木和男、大野尚仁、直江史郎、高橋 啓：川崎病類似動脈炎モデルにおける動脈炎形成過程の組織学的検討、第 39 回日本小児循環器学会総会、2003.7、神戸

大原関利章、横内 幸、若山 恵、三浦典子、鈴木和男、大野尚仁、村田久雄、直江史郎、高橋 啓：カンジダ誘導系統的動脈炎モデルにおける動脈炎形成過程の組織学的検討、第 44 回日本脈管学会総会、2003.11、福岡

高橋 啓、三浦典子、大川原明子、金城義明、大原関利章、村山 研、土田和則、大野尚仁、鈴木和男：川崎病類似マウス動脈炎モデルにおけるヒト免疫グロブリンの治療効果、第 33 回日本免疫学会総会、2003.12、福岡

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## MOF 関連血管炎における血管内皮細胞の役割

分担研究者 増田弘毅 秋田大学医学部病理病態医学講座器官病態学分野教授

### 研究要旨

粥状硬化症、動脈瘤、および血管炎は最も一般的な動脈の病態である。したがって極めて膨大な研究が行われてきたが、いずれの病態も解明されていない。一方骨髄の血管幹細胞と末梢血の血管祖先細胞が血管そのものを保持し改築することが明らかになり、粥状硬化症、動脈瘤、および血管炎の病態解明においてもこの血管祖先細胞を含むダイナミックな展開が必然となってきた。しかしながらこの問題の基礎となる内皮細胞の細胞回転のメカニズムは今だ十分に解明されていない。我々は血流増大により内皮細胞の著しい増殖が生じることを明らかにしてきた。この増殖は血流増大による壁刷り応力（Wall shear stress）の増大により生じ、内皮細胞剥離や障害以外ではもっとも著しい増殖を示すことがわかっている。

本研究は家兎総頸動脈動静脈吻合実験モデルを用いこの血流増大による動脈の内皮細胞の細胞回転の著しい増大が骨髄からの幹細胞を介したものであることを明らかにした。骨髄から遊走した細胞は動脈に到着すると、すぐに4-5回の細胞分裂をほぼ12時間のサイクルで行いその子孫は爆発的に増加した。その後突然分裂を止め本来の成熟した内皮細胞となった。この骨髄を介した動脈リモデリングは正常の血流においても、数は少なく細胞分裂のサイクルも遅いものであるが、観察された。

動脈内皮細胞の回転が骨髄からの祖先細胞により維持されており、動脈の維持と改築は骨髄からの細胞が支配しており、これが動脈内皮細胞の基本的な改築と維持のメカニズムであると考えた。このメカニズムは粥状硬化症や動脈瘤などの動脈病変においても重要な意義をもっていると考えられるが、骨髄由来の増殖回転する内皮細胞はあたかも骨髄で作られた炎症細胞と類似するところが多く、動脈炎においても重要な意義をもっている可能性がでてきた。いままで血管炎を血管を場とした炎症反応としてとらえてきたが、これからは骨髄を介した動脈の本質的な改築と維持のバランスの崩壊としての一面を考える必要があるであろう。したがって難治性血管炎（MOF 関連血管炎）の理解には動脈内皮細胞の基本的な改築と維持のメカニズムを理解することが重要であると考えられた。

### A. 研究目的

粥状硬化症は最近炎症であるといわれている、しかしコレステロールの濃度差を主たる原因と

する話しかからの発展はない。動脈瘤は動脈壁と内圧の力の矛盾として研究されてきたが、病態は明らかではない。一方血管炎は血管壁の炎症として

理解されてきた。しかし現在では炎症そのものの概念がゆらいでいる。粥状硬化症、動脈瘤、動脈炎は動脈におけるもっともポピュラーで典型的な病態である。これらの臨床像と病理形態はしばしば類似しそれぞれの病態に明確な特徴はなく終末像は類似している。この解決にむかって詳細な病理形態学による解析が行われ、病型の分類がなされてきた。しかし難治性血管炎で病態あるいは病気の成り立ちが証明されたものはまだない。これは我々の研究の方法がまちがっていたのであろうか、それともいろいろな血管の病態そのものが本質的に共通な基盤をもっているのであろうか。一方循環器病学の基礎では血管新生と動脈の改築の研究がさかんになり、循環器病学の臨床では骨髄の血管幹細胞と末梢血の血管祖先細胞の応用による梗塞の治療が始まっている。病理形態学においてもこの血管祖先細胞を含むダイナミックな展開が必然となってきた。我々の研究の目的は動脈内皮細胞の細胞回転を骨髄を含めたダイナミックなシステムとしてとらえなおし、その概念を動脈病変特に難治性血管炎 (MOF 関連血管炎) の病理組織学的解析に応用しようとするものである。

## B. 研究方法 (倫理面への配慮)

ほ乳類や鳥類では動脈の中を流れる血流はその血流が動脈内腔面におよぼす壁刷り応力 (Wall shear stress) がほぼ一定になっている (1-2 Pascal)。つまり著しく速く流れる場所や遅く流れる場所はない。この時血流増大あるいは減少を惹起すると、内腔が広がりあるいは狭くなり、ふたたび壁刷り応力がもとにもどる。我々はこの血流増大を動静脈吻合モデルを用いてつくり出し、

その時の内皮細胞の回転を研究した。

[動物] 成雄日本白色家兎 (3-4 kg)

[手術] 家兎総頸動脈と外頸静脈の内吻合を用いた。

[ラベルとラベルされた細胞の追跡] プロモデオキシユリジン (BrdU) を用いて合成期内皮細胞と骨髄細胞をラベルし、総頸動脈の内皮細胞における当該細胞の動態を Laser scanning confocal microscopy (LSCM) で検討した。

[DiI ラベル骨髄細胞の追跡] DiI ラベル内皮細胞の出現を検討した。

(倫理面への配慮) 本実験は秋田大学医学部動物実験指針にもとずいて、秋田大学動物実験施設でおこなった。

## C. 研究結果

1) DiI 陽性の内皮細胞の出現が血流増大家兎総頸動脈に認められ、骨髄の細胞が動脈に遊走する可能性を明らかに出来た。

2) BrdU でラベルされた内皮細胞を追跡することにより、本来家兎総頸動脈に存在していた細胞ではなく、体の他の場所でラベルされたと推測される内皮細胞が血流増大後約 1.25 日から 1.5 日に家兎総頸動脈にあらわれることがわかった。通常 BrdU で特別にラベルされる場所は骨髄であるため、骨髄からの遊走が血流増大家兎総頸動脈で生じている可能性を示した。

3) BrdU でラベルされ追跡された遊走細胞の数は 150 cells/mm<sup>2</sup>/day (血流増大 1.25-1.5 日) と推定された。

4) この細胞が短い時間の間に 4-5 回の細胞分裂をくりかえし増殖する (一回の分裂サイクルは約 12 時間) ことを明らかにした (増大後 1.25 日

から3日の間)。

5) その分裂のあと(増大後4日) 分裂はおさまり、細胞の増加がとまることを明らかにできた。

#### D. 考察

骨髄細胞が肉芽組織等の毛細血管新生部位に遊走することは判っている。しかし動脈内皮細胞に遊走することは明らかではなかった。その理由は通常の生理的な動脈では骨髄からの遊走が極めて少ないため証明できなかつたのであった。我々は血流増大モデルによりその数がほぼ 150 cells/mm<sup>2</sup>/day (血流増大 1.25-1.5 日) で、一方生理的動脈ではほぼ 1 cell/mm<sup>2</sup>/day と推定することが出来た。この著しい遊走細胞の増加により骨髄細胞が動脈に遊走することを証明できた。しかもこの遊走細胞が 4-5 回の細胞分裂をとおして爆発的に増殖することがあきらかとなり、この増殖パターンが Transit Amplifying 細胞と極めて類似していることがわかった。したがって動脈内皮細胞の回転はいわゆる幹細胞システムの一環であることが推測された。つまり粥状硬化症、動脈瘤、動脈炎のすべての病態の基礎は我々が示したダイナミックな細胞回転の上になりたっていることになり、現在の動脈リモデリングの研究にあたらしい光りを与えることになるであろう。動脈内皮細胞のダイナミックな細胞回転が動脈のリモデリングを制御していると考えているが、動脈のもう一つの細胞成分である平滑筋細胞に関しても同様なダイナミックな細胞回転を示すと考えている。これにより動脈のリモデリングの解明ができると考えている。このことは粥状動脈硬化症や動脈瘤のメカニズムの解明になるであろう。また骨髄細胞のダイナミックな遊走は炎症

細胞の概念を変える可能性がある。つまり今まで動脈炎と考えられた病態が実は急速で著しい動脈リモデリングである可能性も示唆するものである。

#### E. 結論

動脈の内皮細胞の細胞回転の一部があきらかになった。それは骨髄末梢血動脈をつなげるダイナミックな細胞増殖であった。このことは動脈の種々の病態である粥状動脈硬化症、動脈瘤および動脈炎の理解の基礎となるものであり、動脈病変に多くの示唆をあたえてくれるであろう。

F. 健康危険情報 なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Masuda H, Kawamura K, Nanjo H, Sho E, Komatsu M, Sugiyama T, Sugita A, Asari Y, Kobayashi M, Ebina T, Hoshi N, Singh TM, Xu C, Zarins CK. Ultrastructure of endothelial cells under flow alteration. *Microscopy Research and Techniq.* 60, 2-12, 2003.

Sho E, Komatsu M, Sho M, Nanjo H, Singh TM, Xu C, Masuda H, Zarins CK. High flow drives vascular endothelial cell proliferation during flow-induced arterial remodeling associated with the expression of vascular endothelial growth factors. *Experimental and Molecular Pathology.* 75, 1-11, 2003.

##### 2. 学会発表

1) Asari Y, Masuda H, et al. Whirlpool-like smooth muscle distortion tore internal elastic lamina to form gaps in high-flow induced arterial remodeling. 4th Annual Conference on ATVB, 2003.

2) Masuda H, et al. High-flow augments myo-endothelial couplings in the early step of flow-induced arterial remodeling. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, 2003.

3) Nanjo H, Masuda H, et al. In situ transient one-hour flow decrease can induce intimal thickening of flow-remodeled artery. 4th Annual Conference on ATVB, 2003.

4) Sugita A, Masuda H, et al. Low flow induces medial smooth muscle cell migration through internal elastic lamina fenestrae in physiological high-flow induced dilated artery. 4th Annual Conference on ATVB, 2003.

#### 国内

1) 浅利泰、村上正代、南條博、庄永傑、小林実貴夫、川村公一、増田弘毅、杉田暁大、杉山達朗。血流負荷拡張性動脈リモデリングにおける動脈内弾性板ギャップの組織発生。第92回日本病理学会総会、2003年4月23-25(福岡)。

2) 南條博、庄永傑、小松正代、庄夢苑、小林実貴夫、吉成由樹、杉山達朗、杉田暁大、浅利泰、佐々木俊樹、山内美佐、川村公一、シューチャ

ンペイ、ザーリン クリストファー、増田弘毅。生理的短時間の血流減少で内膜肥厚が生じる。第92回日本病理学会総会、2003年4月23-25(福岡)。

3) 小松正代、南條博、庄永傑、小林実貴夫、川村公一、増田弘毅、杉田暁大、杉山達朗、浅利泰、シューチャンペイ、ザーリン クリストファー。in situ 動脈内皮祖先細胞は存在するのか。血流増大による動脈内皮細胞増殖との関連。第92回日本病理学会総会、2003年4月23-25(福岡)。

4) 増田弘毅他。in situ 内皮幹細胞は存在するのか。血流増大による動脈内皮細胞増殖との関連について。日本機械学会第15回バイオエンジニアリング講演会、2003。

5) 増田弘毅他。血流増大による家兎総頸動脈リモデリングにおける内弾性板ギャップの発生機序、第42回日本エム・イー学会大会、2003。

6) Sho E, Nanjo H, Sho M, Takahashi M, Masuda H. High flow regulates carotid endothelial and smooth muscle cell bioactivity and vascular remodeling. 第8回血管病理研究会、秋田、2003。

7) 増田弘毅他。全身性血管炎と血管内皮細胞の動的、網羅的解析。第9回MPO公開シンポジウム、八王子、2003。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)なし。

## 川崎病における血管炎の病態解明に関する研究と治療法の検討

分担研究者 竹下誠一郎 静岡県立大学短期大学部教授

### 研究要旨

川崎病(Kawasaki disease, KD)の血管炎の病態に、活性化好中球による血管内皮細胞傷害が関与していると考えられている。この活性化好中球を介する血管内皮細胞傷害に対してプロテアーゼ阻害剤が抑制効果を示すかどうかを検討するために、我々は、in vitro において、ヒト臍帯静脈内皮細胞を用いて cytotoxic assay を施行した。好中球エラスターゼの不活化作用を有する Ulinastatin (UTI) 及び Sivelestat sodium hydrate (SSH)によって内皮細胞傷害は抑制されたが、エラスターゼの不活化作用を有しない他のプロテアーゼ阻害剤(gabexate mesilate, nafamostat mesilate, aprotinin, argatroban)によっては抑制されなかった。さらに、UTI と SSH は、好中球自体の細胞内エラスターゼ活性を有意に抑制した。従って、UTI と SSH は、好中球が細胞外に分泌したエラスターゼを不活化し、さらに好中球からの活性型エラスターゼ分泌を抑制することによって、内皮細胞傷害を抑制すると考えられた。また、KD 急性期の血中エラスターゼ値を測定した結果、冠動脈病変(coronary artery lesion, CAL)陰性群に比較して、CAL 陽性群の $\gamma$ -グロブリン治療終了後の血中エラスターゼ値は高値の傾向を示した。以上より、KD の CAL 発生に好中球が産生するエラスターゼが関与していることが示唆され、エラスターゼ阻害作用を有するプロテアーゼ阻害剤(UTI や SSH)は KD 血管炎の治療薬として期待が持てる。

### A. 背景および研究目的

好中球はプロテアーゼを産生し、生体防御反応に重要な役割を果たす。しかし、好中球が異常に活性化される場合、自己の組織障害を引き起こす可能性がある(J. Leukoc. Biol. 1999;65:137-150)。好中球エラスターゼは最も強力なプロテアーゼであり、活性化好中球を介する血管内皮細胞(endothelial cells, EC)傷害に中心的な役割を果たしている(J. Clin. Invest. 1981;68:1394-1403、J. Clin. Invest. 1986;77:1233-1243)。

現在までに、種々のプロテアーゼ阻害剤が開発されている。Ulinastatin (UTI)はヒトの尿由来で、主に好中球エラスターゼ活性を抑制する。Sivelestat sodium hydrate (SSH)は最近開発され

たエラスターゼに対する特異的な拮抗剤である。その他のエラスターゼ阻害剤(gabexate mesilate, nafamostat mesilate, aprotinin, argatroban)は、トリプシン、トロンビン、プラスミン等の酵素活性を抑制する作用を有するが、エラスターゼに対する不活化作用はないか、あっても非常に弱い。

川崎病(Kawasaki disease, KD)は小児特有の全身の血管炎であり、ECの活性化と傷害を伴うことが知られている。また最近、KD血管炎の病態に、活性化好中球による血管内皮細胞傷害が関与していると考えられている。KD急性期の治療にはアスピリン経口+ $\gamma$ -グロブリン大量静注療法が有効であるが、依然として約5~10%の患児に冠動脈病変(coronary artery lesion, CAL)が残存する可能性がある。

今回の研究目的は、1)活性化好中球を介する血管内皮細胞病害に対してプロテアーゼ阻害剤が抑制効果を示すかどうかを in vitro で検討することと、2)KD 急性期の血中エラスターゼ値を測定し、CAL 陽性群と陰性群において比較検討することである。

## B. 研究方法

1)ヒト臍帯静脈内皮細胞(human umbilical vein EC, HUVEC)を抽出して、10%FBS 添加の M199 培地に suspend した後に、collagen-type 1-coated plastic dish にて 37°C で培養した。HUVEC が 90% confluent になった時点で、<sup>51</sup>C が添加されて、放射線ラベルされた。さらに、HUVEC は種々のサイトカインや LPS 存在下において 12 時間培養された。一方、健常成人の informed consent が得られた後に、末梢血から好中球を分離した。好中球は、RPMI1640 中において種々のサイトカインなどの刺激下で 37°C 5 分間培養された。刺激された好中球と種々のプロテアーゼ阻害剤(UTI, SSH, gabexate mesilate, nafamostat mesilate, aprotinin, argatroban)は同時に、<sup>51</sup>C ラベルされた HUVEC 培養液中に添加された。37°C で培養 12 時間後に、上清中に放出された <sup>51</sup>Cr と HUVEC 溶解後の <sup>51</sup>Cr を測定した。好中球を介する内皮細胞傷害は、以下の計算式で算出された: % lysis = (A - B/C - B) × 100 (A はサンプルの上清中に放出された試験遊離 <sup>51</sup>Cr 量(cpm)、B は medium 単独で培養された well の上清中に放出された自然遊離 <sup>51</sup>Cr 量、C は HUVEC が 1N HCL によって完全に溶解された後の最大遊離 <sup>51</sup>Cr 量)。さらに、HUVEC の viability を、trypan blue dye expansion 法にて測定して、死細胞/全細胞を % cell death として表記した。

また、好中球を TNF- $\alpha$  で刺激した後に、種々のプロテアーゼ阻害剤の存在下において 37°C 12 時

間培養された。Elastase CellProbe™ Reagent によって、好中球の細胞内の活性型エラスターゼが蛍光ラベルされた。Flow cytometer や Confocal laser microscopy によって、蛍光強度が観察された。

2)KD20 例(年齢 8 か月~6 歳、平均 26 か月、男/女=15/5)の血中エラスターゼ値を測定した(ラテックス凝集法:成人の正常値は 21.6 ~71 mg/ml)。サンプル採取に関して、親又は養育者の informed consent が得られた。すべての KD 患児は 7 病日以内に入院し、KD 診断基準を満たしていた。また、すべての KD 患児に対して、アスピリン (30mg/kg/day) 及び静注用  $\gamma$ -グロブリン (IVIG, 2g/kg/dose) の投与を行った。KD20 例中の 5 例に CAL を認め、いずれも一過性拡張(最大径 3~4 mm)で発症後 3 カ月以内にいずれも正常化した。KD 患児からの採血は、急性期の IVIG 治療前(第 3~7 病日)、亜急性期の IVIG 治療後(第 7~11 病日)において施行した。

## C. 研究結果

### 1) 基礎実験

TNF- $\alpha$  で刺激された好中球は、EC を傷害すると既に報告されている (J. Immunol. 1991;34:197-206)。従って、まず TNF- $\alpha$  で刺激された好中球を、種々のサイトカインで刺激された HUVEC に添加した(図1)。その結果、TNF- $\alpha$  + IFN- $\gamma$  で刺激された HUVEC において、最大の EC 障害(% lysis 及び % cell death) が得られた。

次に、TNF- $\alpha$  + IFN- $\gamma$  で刺激された HUVEC において、種々のサイトカイン等で刺激された好中球を添加した後に EC 障害(% lysis 及び % cell death) を測定した(図2)。TNF- $\alpha$  で刺激された好中球を添加した場合に、最大の EC 障害(% lysis 及び % cell death) が得られた。

従って、以下の実験においては、TNF- $\alpha$  + IFN- $\gamma$  で刺激された HUVEC に対して、TNF- $\alpha$  で刺激

された好中球を添加する実験系に統一して実施した。

2) 活性化好中球を介する内皮細胞傷害に対するプロテアーゼ阻害剤の抑制効果

種々のプロテアーゼ阻害剤と nimesulide(エラスターゼの特異的拮抗剤)が、TNF- $\alpha$  で刺激された好中球と同時に添加された(図3)。その結果、UTI、SSH、nimesulide は EC 障害(% lysis)を抑制したが、一方、gabexate mesilate、nafamostat mesilate、aprotinin、argatroban は抑制することはできなかった。さらに、UTI と SSH は、量依存性に EC 障害(% lysis)を抑制した(Data not shown)。

3) 好中球細胞内のエラスターゼ活性に対するプロテアーゼ阻害剤の抑制効果

種々のプロテアーゼ阻害剤が、あらかじめ TNF- $\alpha$  で刺激しておいた好中球に添加された。細胞内の活性型エラスターゼが蛍光標識された後に、共焦点レーザー顕微鏡で観察された(図4)。TNF- $\alpha$  で刺激された好中球(B:上右)は、無刺激の好中球(A:上左)に比較して、蛍光強度が増強した。UTI(C:下左)や SSH(D:下中)が添加された場合では、蛍光強度が減少した。エラスターゼの蛍光活性は、核以外の細胞質に染色された(E:下右)。

次に、好中球細胞内のエラスターゼ活性が、Flow cytometer で測定された(図5)。平均蛍光強度は、UTI や SSH の添加によって有意に減少した。一方、好中球細胞内エラスターゼ活性は、nimesulide、gabexate mesilate、nafamostat mesilate、aprotinin、argatroban によって抑制されなかった(Data not shown)。以上の所見より、UTI や SSH は、好中球細胞内に産生されたエラスターゼの活性を抑制することが判明した。

4) KD 患児の血中エラスターゼ値

KD 患児の CAL 陰性群(15 例)と CAL 陽性群(5 例)において、急性期の血中エラスターゼ値が測

定された(図6)。IVIG 治療前のエラスターゼ値は両群間に差を認めなかったが、CAL 陽性群の IVIG 治療後のエラスターゼ値は陰性群に比較して高値の傾向を示した。

#### D. 考察

ヒト好中球は、種々の炎症性疾患において組織障害を引き起こす(New Engl. J. Med. 1989;320:365-376)。炎症の進行過程において、EC は好中球の初期の重要なターゲットになりうる。例えば、Systemic inflammatory response syndrome (SIRS)、adult respiratory distress syndrome (ARDS)、multiple organ failure (MOF)において、活性化された好中球は EC 傷害を引き起こす(Arch Surg. 1996;131:1148-1154、Am. J. Respir. Dis. 1986;134:149-166)。活性化好中球を介する EC 傷害は、好中球が産生する活性酸素やプロテアーゼによって引き起こされる(Am. J. Pathol. 1989;135:435-438、J. Leukoc. Biol. 1990;48:97-102)。本邦では、種々のプロテアーゼ阻害剤が開発されており、現在では主として DIC、肺炎、心血管疾患の治療薬として広く用いられている。

今回の in vitro の実験の結果、プロテアーゼ阻害剤の UTI 及び SSH と特異的なエラスターゼ拮抗剤である nimesulide は、活性化好中球を介する内皮細胞傷害を抑制したが、他のプロテアーゼ阻害剤(gabexate mesilate、nafamostat mesilate、aprotinin、argatroban)は抑制することはできなかった。好中球エラスターゼは、活性化好中球を介する EC 傷害に対して最も重要な働きを果たすと考えられている。以上の所見から、UTI と SSH は、好中球が産生するエラスターゼを不活化することによって、EC 傷害を抑制すると考えられる。その他、UTI は、サイトカインによる EC 細胞上の接着分子の発現を抑制し(J. Surg. Res. 1998;80:182-187)、好中球の transendothelial migration を抑制する作用を有する

(*J. Gastroenterol.* 1995;30:379-386)と報告されている。

ヒトの体内には、内因性のプロテアーゼ阻害剤として、 $\alpha_1$ -protease inhibitor ( $A_1PI$ )が存在する。このエラスターゼと $A_1PI$ 間の活性バランスの上に、人体の生理学な恒常性は維持されている。しかし、ある種の病的な状態において好中球が過剰にエラスターゼを産生する場合、このバランスが崩れて組織障害を引き起こす。また、一旦好中球がEC上に接着した後は、 $A_1PI$ は内因性抑制剤としての効果は発揮できないと考えられている(*New Engl. J. Med.* 1989;320:365-376、*J. Leukoc. Biol.* 1999;65:137-150)。従って、好中球がEC上に接着した後にUTIやSSHを体外から投与しても、組織障害を十分に抑制できない可能性はある。しかしながら、今回の研究結果において、UTIとSSHは、サイトカインで活性化された好中球に直接的に作用して、細胞内エラスターゼの活性を抑制することが判明した。以上より、UTIとSSHは、好中球からの活性型エラスターゼの分泌を抑制すると考えられる。従って、UTIとSSHは、好中球とECが接着した後においても、EC傷害を抑制しようと思われる。

心肺蘇生処置を受けた患者に対してUTIを投与すると、流血中の好中球からのエラスターゼ分泌は減少すると報告されている(*Intensive Care Med.* 1995;21:636-640)。今回の研究結果から、KD急性期の血中エラスターゼ値は増加し、IVIG治療後においてもCAL陽性群エラスターゼ値は陰性群に比較して高値を持続する傾向を認めた。KD急性期の末梢血好中球におけるprostaglandin H2 synthetase-tupe 2 mRNAの発現を、UTIは低下させると報告されている(*J. Infect. Dis.* 2000;181:1101-1109)。一方、SSHは、サイトカインで刺激された好中球からのchemoattractant産生を減少させる(*Gastroenterology*

1997;112:551-560)。従って、UTIやSSHは、活性化された好中球の機能を沈静化させる作用を有すると考えられ、KD血管炎の治療として期待が持てる。今後は、その作用機序に関して、さらに詳細な検討をする必要がある。

## E. 結論

- 1) UTIやSSHは、in vitroにおいて、活性化好中球が介する内皮細胞傷害を抑制した。
- 2) UTIやSSHは、好中球の分泌する細胞外エラスターゼを不活化するだけでなく、好中球に直接作用して細胞内のエラスターゼ活性を抑制した。
- 3) KD患児の急性期のエラスターゼ値は高値を示した。さらに、CAL陽性群IVIG治療後のエラスターゼ値は、CAL陰性群に比較して高値の傾向を示した。
- 4) 以上の所見より、KD急性期の新しい治療薬として、UTIとSSHは有効である可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

特に無し

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Nakatani K, Takeshita S, Tsujimoto H, Kawamura Y, Tokutomi T, Sekine I: Circulating endothelial cells in Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol* 131, 536-540, 2003.

2) 徳富智之、竹下誠一郎、中谷圭吾、辻本拓、川村陽一、関根勇夫:川崎病の末梢血好中球に出現する中毒顆粒の臨床的意義. *小児科臨床*第56巻, 1751-1755, 2003

### 2. 学会発表

1) 中谷圭吾、竹下誠一郎、辻本拓、川村陽一、  
徳富智明:川崎病における流血中血管内皮細胞  
および血管内皮前駆細胞の臨床的意義. 第106  
回日本小児科学会学術集会、博多、2003.

H.知的財産権の出願・登録状況

特に無し