

厚生労働科学研究費補助金

医薬安全総合研究事業

血管炎治療のための人工ポリクローナル  
グロブリン製剤の開発と安全性向上  
に関する研究

(H15-医薬-015)

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

鈴木 和 男

平成16（2004）年3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
血管炎治療のための人工ポリクローナルグロブリン製剤の開発と安全性向上に関する研究	1
鈴木和男	
II. 分担研究報告	
1. MPO-ANCA 関連急速進行糸球体腎炎における静脈的ガンマグロブリン療法 (Intravenous immunoglobulin: IVIg) 臨床的効果の検討	31
武曾恵理	
2. 関節リウマチ患者に対する自血球除去療法の治療効果	41
橋本博史	
3. 心筋炎の治療法に関する研究	45
相澤義房	
4. DBA/2 マウスの真菌多糖に対する <i>in vitro</i> での応答性の検討	53
大野尚人	
5. MPO-ANCA 自己免疫疾患治療に有効な抗体作製に関する研究	65
新井孝夫	
6. CAWS 誘発マウス動脈炎モデルにおける経静脈的免疫グロブリン投与(IVIg)の 有効性に関する基礎的研究	71
高橋 啓	
7. 炎症疾患治療評価を行うための諸条件の検討：好中球機能異常が関わる炎症性疾患の解析	75
荒谷康昭	
8. 量子ドットによる人工ガンマグロブリンの生体内動態解析	81
山本健二	
9. MPO-ANCA および好中球機能異常を示す血管炎動物モデルの検討	85
大川原明子	
III. 公開シンポジウム資料	93
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	163
V. 研究成果の刊行物・別刷	169

厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

総括研究報告

血管炎治療のための人工ポリクローナルグロブリン製剤の開発と  
安全性向上に関する研究

主任研究者：所属施設：国立感染症研究所 室長

氏名：鈴木和男

分担研究者：所属施設：(財) 田附興風会医学研究所北野病院 部長

氏名：武曾恵理

所属施設：順天堂大学 教授

氏名：橋本博史

所属施設：新潟大学 教授

氏名：相澤義房

所属施設：東京薬科大学 教授

氏名：大野尚仁

所属施設：東京理科大学 教授

氏名：新井孝夫

所属施設：東邦大学 助教授

氏名：高橋 啓

所属施設：横浜市立大学 助教授

氏名：荒谷康昭

所属施設：国立国際医療センター研究所 部長

氏名：山本健二

所属施設：国立感染症研究所 主任研究官

氏名：大川原明子

## 研究要旨

血管炎である川崎病では、その治療をステロイドパルスからガンマグロブリン製剤に変えてから重篤な病態は激減し、その有効性が実証されている。一方、自己免疫性の血管炎である MPO-ANCA 関連血管炎は、欧米よりわが国の高齢者に発症し、近年その頻度が増してきている。本症は重篤な急速進行性糸球体腎炎をきたすことから、ステロイドパルスなど各種免疫抑制療法や対応抗原の感作療法の治療が施行されている。しかし、しばしば腎死に至り、感染症の頻発も医療経済を圧迫している。このステロイド療法のリスク軽減のため有効な免疫補助療法が切望されており、われわれのグループで行った予備的な大量ガンマグロブリン製剤治療 (IVIg) 療法により、早期の疾患活動性の抑制、腎死や感染症発症

頻度の低下などの有効な成績を得た。一方、血液製剤の感染リスク軽減など改善の余地もあり、本研究では、人工グロブリン化による血液製剤の安全性の向上推進を図った。そこで、人工グロブリン化用 Fv のライブラリーの作製と治療試験用モデルマウスを開発した。本年度は、血管炎治療用の人工グロブリンのプロトタイプを作製した。IVIg 治療法の EBM の観点からモデルマウスでの有効性を認めた。また、臨床応用の観点から、人工グロブリンの安全性について、感染性因子、内因性・外因性毒素、炎症惹起分子の特定など、感染研の安全研究ガイドラインを基に安全性の確保について検討した。

## A. 研究目的

大量ガンマグロブリン製剤治療 (IVIg) は、高齢高齢社会に入ったわが国において、加齢によって増加する自己免疫疾患、血管炎、リウマチなどの難治性疾患への初期治療として必要性が増している。また、高齢者には、ステロイドパルス治療は、危険性が高く、IVIg 治療への関心が高まっているが、感染症リスクなどの安全性確保や高額治療のため、人工化が臨まれている。安全性が高くかつ安価な人工化 IVIg 療法が必須の状況になってきている。そこで、主任研究者らは、まず、MPO(myeloperoxidase)-ANCA 関連血管炎の治療を目的として、MPO-KO マウスの脾臓細胞の mRNA から MPO 抗体遺伝子のライブラリーから人工 Fv 抗体を作製する系を構築し、人工グロブリンの開発の基礎を築いてきた。本研究では、その研究成果を人工 IVIg 治療用のプロトタイプとして完成させ、また、Native-IVIg の安全性をカバーする治療法として人工ガンマグロブリンを作製し、その安全性を確保することを目的にした。そこで、開発した二つの血管炎モデルマウスを用いて、治療実験を行う。その治療実験に必要な大量のヒト型およびマウス型人工ガンマグロブリンを得る。人工ガンマグロブリンは、すでに作製したライブラリーに別途作製した Fc を加えて人工グロブリン製剤として完成させる。また、川崎病と同じプロトコルにより、血管炎・腎炎における IVIg 治療による臨床好成績を得ており、人工

グロブリンの安全性の向上についても臨床サイドからの動物実験のバックアップをすることを目的とする。

## B. 研究方法

### 1. 臨床分科会

#### 1) IVIg の治療評価

MPO-ANCA 関連腎炎・血管炎を呈する患者を肺を含む全身症状を呈する群 (全身群) と腎症状のみを示す群 (腎限定群) とに分け、それぞれに対して、ヒトガンマグロブリン (400mg/kg/日 x 5日間) を投与する群としない群においてその後ステロイドを含む免疫抑制療法の、全身群には大量を腎限定群には中等量を投与して、疾患活動性抑制の導入時期、腎機能の予後、生命予後、感染症発症の頻度等を 6 か月の時点で評価する。これらは患者のインフォームド・コンセントを文書で提出してもらい、群分けは無作為に行う。

### 2. 基礎分科会：安全性向上評価および力価判定班

1) 安定性：宿主株の遺伝子安定性、発現ベクターにおける有害遺伝子配列の否定、

組み換えグロブリン製剤の安定性

2) 毒性試験：組み換えグロブリン製剤の毒性：急性、亜急性、生殖発生の毒性試験、

抗原性、変異原性、局所刺激性、発熱性、不純物の毒性、加速試験

## C. 研究結果

本事業の決定通知を受けてより、急遽、班会議を7月26日に招集し、本年度の事業計画を綿密に討議し、以下の結果を得ている。尚、詳細は、分担研究者報告を参照。

### 1. 臨床班：

IVIg が有効な治療として評価されている血管炎に川崎病がある。本研究では、自己免疫性の血管炎である MPO-ANCA 関連血管炎を呈する腎炎の治療法に川崎病のプロトコルの適応を検討した。ガンマグロブリンの人工化にさきがけ、まず、急性進行性腎炎における IVIg を施行した。今までの少数例に加え、30 例近くの例数で早期の疾患活動性の抑制、腎死や感染症発症頻度の低下などの有効な成績得た。その結果を本年の第 11 回 ANCA ワークショップ（プラハ）で講演し、高い評価を受けた。しかし、コントロール試験の必要性を指摘され、現在コントロール試験を加えたプロトコルにより、有意な治療法として確立する準備をしている。尚、IVIg による QOL の改善を経験した患者からの本治療への要望も強く、主任研究者へ手紙が寄せられている。

### 2. 人工化グロブリン作製・安全評価分科会：

#### (1) 人工化グロブリンのポリクローナル抗体作製班

血管炎の IVIg 療法のための人工グロブリン化用のポリクローナル抗体の Fv のライブラリー作製が完了し、Fc、CH など、必要なフラグメントの作製も終了した（図 1，2）。完全長と IgG フラグメントの精製法も確立したことから、大量精製法を検討し、ほぼ mg 単位での取得が可能になった。また、モデルマウスでの治療の準備が完了した。

Single chain Fv (scFv)

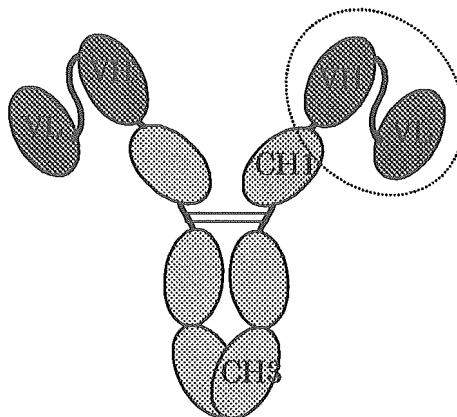


図 1. ポリクローナル免疫グロブリン  
scFv-CH1-CH2-CH3 の分子構造

Single chain Fv (scFv)

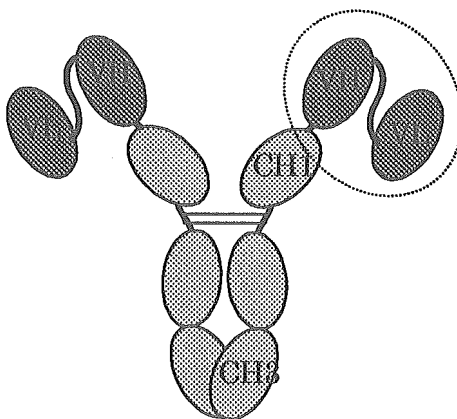


図 2. ポリクローナル免疫グロブリン  
scFv- CH2-CH3 の分子構造

(2) モデル動物班・評価班：

IVIg の臨床応用にむけ、モデルマウスの開発してきた。

1) 川崎病様血管炎モデルマウス：

*Candida albicans* water soluble substances (CAWS)誘導冠状動脈炎モデルマウス

2) MPO-ANCA 関連血管炎モデルマウス：

SCG/Kj マウスの病態の評価が終了し、IVIg 治療モデルとして有用であることを明らかにした (Nephrology, Dialysis and Transplantation, in press)。

3) CAWS 誘導冠状動脈炎モデルマウスを用いて、Native IVIg 治療を施行し、有効性が確認されたので、人工化グロブリンによる治療を準備中である。

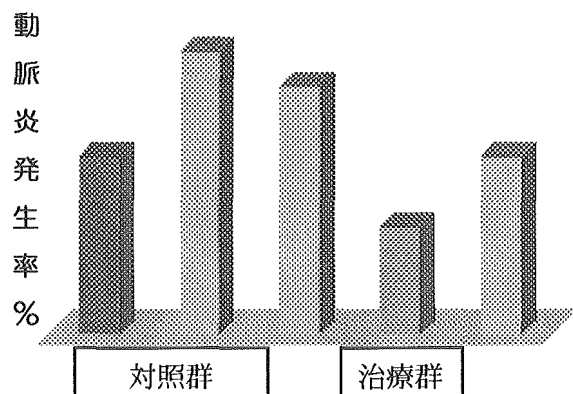


図 1. CAWS 誘導の冠状動脈炎の IVIg 治療

(3) 安全試験班：

1) 現在施工中の動物実験に使用している人工グロブリンの安全性は、感染性因子、内因性・外因性毒素、炎症惹起分子の特定など、感染研の安全研究ガイドラインを基に新たな安全性の確保を検討し、原案を協議した。

2) 欧米の安全基準：

スイスベルン大学・スイス赤十字 Spaeth 免疫研

究所所長を招聘し、公開シンポジウムを開催し、欧米との IVIg 治療の安全基準について協議した (別紙参照)。

D. 考察

われわれを中心として施行した IVIg による血管炎治療試験が好成績を得た。その背景は、MPO-ANCA 関連血管炎が、ヨーロッパより日本で発症数が多く、日本での血管炎に適した IVIg 治療が求められていた。これまでの川崎病の治療法を適用してきた日本での治療実績が、血管炎の有効な治療法として確立できる段階まできた。また、血管患者は高齢者であるので、IVIg 治療により、ステロイド投与量を少なくしてその危険性の軽減することができるようになった。しかし、ガンマグロブリンの需要は増え、感染症などのリスクを軽減し、医療経済の点からも人工化することが今日的急務となっていた。本研究において、人工ガンマグロブリンを開発し新しい治療法として確立するとともに、安全性を十分確保をすることをめざしてきており、本年度の研究において、血管炎治療用の人工グロブリンのプロトタイプを作製した。IVIg 治療法の EBM の観点からモデルマウスで治療を試み、その有効性を確認できた。また、臨床応用の観点から、人工グロブリンの安全性について、感染性因子、内因性・外因性毒素、炎症惹起分子の特定など、感染研の安全研究ガイドラインを基に安全性の確保についても検討できた。

以上から、当初の目標はクリアし、モデルマウスの論文 2 報、臨床研究 3 報、人工化グロブリンの作製方について 1-2 報を掲載、投稿予定までに至った。また、臨床および基礎班での来年度のに向けた分担者・班員、協力研究者を拡充することが必要になった。本研究事業を通じて、国民の保健・医療ならびに効率的な医療経済に貢献できるようにしたい。

## 参考資料（別紙）

1. わが国とヨーロッパでの IVIG 治療の安全性の確保：主任者、分担研究者と Dr. Spaeth, ZLB との討論内容および公開シンポジウムでの Dr. Spaeth, ZLB の発表概要
2. 川崎病急性期の治療ガイドライン

## E. 結論

血管炎である川崎病では、IVIg 治療に変えてから重篤な病態は激減した。本研究事業において、自己免疫性の血管炎である MPO-ANCA 関連血管炎である重篤な急速進行性糸球体腎炎においてステロイド療法のリスク軽減のため IVIg 療法により、早期の疾患活動性の抑制、腎死や感染症発症頻度の低下などの有効な成績を得た。血液製剤の感染リスク軽減など改善のため、本研究では、人エグロブリン化による血液製剤の安全性の向上推進を図った。人エグロブリン化用 Fv のライブラリの作製と治療試験用モデルマウスを開発した。本年度は、血管炎治療用的人エグロブリンのプロトタイプを作製した。また、モデルマウスでの IVIg 治療法の有効性を認めた。また、人エグロブリンの安全性の確保について検討した。

尚、本プロジェクトは、分担者研究に加え、以下の協力研究者の協力を得た。

## 協力研究者（アドバイザーを含む）

### 1) 臨床班

佐地 勉（東邦大・医・第一小児科、教授）  
赤松 明（愛媛県立中央病院・内科、部長）  
小野孝彦（京都大・院・循環病態学、助手）  
深津敦司（京都大・附属病院・腎臓内科、講師）  
今井圓裕（大阪大・院・病態情報内科学、講師）  
湯村和子（東京女子医科大・4内、助教授）

山崎 力（東京大・院医、教授）

### 2) IVIg の治療評価・安全性評価

佐々木次雄（国立感染研・血液—安全性、室長）  
古谷昌弘（積水化学・水無瀬研究所、主任研究員）  
宇野賀津子（財ルイ・パストゥール医学研セ・室長）

### 3) アドバイザー

仁保喜之（九州大学医学部名誉教授、千早病院長）  
直江史郎（東邦大学医学部名誉教授）  
岡崎富男（広島市民病院長）  
中山俊憲（千葉大学大学院医学研究院教授）  
David Jayne（英国ケンブリッジ大学臨床顧問）

## F. 健康危険情報

文献情報 Transfusion 41: 264-268, 2001（別紙—3 参照）

- 1) 本症例は、IVIg 後に急性の肺障害を起こした。しかし、心不全の存在を否定はできない。胸部レントゲンや心エコーは、すでに呼吸困難が改善傾向にあった時に施行されている。このため、呼吸困難が強い時期には、心不全を呈していた可能性がある。
- 2) 著者は、患者が自己免疫疾患で元来顆粒球抗体を持っていて、そこに IVIG 中の顆粒球抗体が加わったため好中球が活性化され肺障害が生じたのではないかと考察している。しかし、IVIg 投与前の患者血清中の顆粒球抗体の検討はされていない。また、IVIg 中の顆粒球抗体が、in vitro で好中球を活性化するのかの検討はされていない。このため、IVIg 中の顆粒球抗体が病態に関与したかは明らかでないと思われる。
- 3) 上記の問題点はあるが、論文発表があるので、IVIg 治療の際の注意点として、挙げておく。

## G. 研究発表（主任研究者分のみ）

### (1)誌上発表

1. Akiko Ishida-Okawara, T. Ito-Ihara, Eri Muso,

- Takahiko Ono, Kan Saiga, Kyuichi Nemoto, Kazuo Suzuki. Neutrophil contribution to the crescentic glomerulonephritis in SCG/Kj mice. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, 2004 in press
2. Hoshino, A., Hanaki, K., Suzuki, K. and Yamamoto, K., Applications of T-lymphoma labeled with fluorescent quantum dots to cell tracing markers in mouse body, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 314: 46-53, 2004.
  3. Ohashi, Y.Y., Kameoka, Y., Persad, A.S., Kohi, F., Yamagoe, S., Hashimoto, K., and Suzuki, K.. Novel missense mutation found in Japanese patient with myeloperoxidase deficiency. *Gene* in press.
  4. Ichimori, K., Fukuyama, N., Nakazawa, H., Aratani, Y., Koyama, H., Takizawa, S., Kameoka, Y., Ishida-Okawara, A., Kohi, F., and Suzuki, K.. Myeloperoxidase has directly-opposed effects on nitration reaction - Study on myeloperoxidase-deficient patient and myeloperoxidase-knockout mice. *Free Radical Research* 37: 481-489, 2003.
  5. Murata, K., Inami, M., Kubo, S., Kimura, M., Yamashita, M., Hosokawa, H., Nagao, T., Suzuki, K., Hashimoto, K., Shinkai, H., Koseki, H., Taniguchi, M., Ziegler, S.F., H., Nakayama, T. CD69-null mice protected from arthritis induced with anti-type-II collagen antibodies. *Int. Immunol.* 15: 987-992, 2003.
  6. Nunoi, H., Kohi, F., Kajiwara, H., Suzuki, K. Prevalence of Inherited Myeloperoxidase Deficiency in Japan. *Microbiol Immunol.* 47: 527-531, 2003.
  7. Sakamoto, M., Hasegawa, A., Sugaya K., Hashimoto, K., Kimura, M., Yamashita, M., Suzuki, K., Nakayama, T. Distinct calcium response induced by T-cell antigen receptor stimulation in thymocytes and mature T cells. *Bioimages* 11: 1-8, 2003.
  8. Suzuki, K. Neutrophil functions of patients with MPO-ANCA-related vasculitis *Internal Med.* 42: 552-553, 2003.
  9. Kamei, K., Sano, A, Kikuchi, K., Makimura, K., Niimi, K., Suzuki, K., Uehara, Y., Okabe N., Nishimura, K., Miyaji, M. The trend of imported mycoses in Japan. *J. Infect. Chemother.* 9: 16-20, 2003.
  10. Mie Ito, Oda, 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: 272-278, 2003.
  11. 鈴木和男 血管炎をめぐる世界の動き「医学のあゆみ」206:123-126, 2003
  12. 鈴木和男 血管炎発症機構の解析研究—活性化好中球の関与「医学のあゆみ」206:133-139, 2003
  13. 鈴木和男 ANCA 関連血管炎の発症機序—活性化好中球の関与—リウマチ科 29:228-236, 2003.
  14. 大川原明子、鈴木和男、猪原登志子、小野孝彦、武曾恵理、雑賀 寛、根本久一：半月体形成性腎炎モデルとしての SCG/Kj マウスの好中球機能 *Pharma Medica* 21: 157-161, 2003.
- (2)学会発表
1. Kazuo Suzuki Seminar in the Department of Biochemistry, Cornell University, Medical School (New York City, USA)."Role of activated neutrophils in vasculitis development: in-vivo imaging", June 6, 2003, New York City, USA.
  2. Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H. "Critical role of myeloperoxidase and nicotineamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase in high-burden systemic infection of mice with *Candida albicans*." Gordon Research Conferences, June 8-13, 2003, New London, USA.
  3. Kazuo Suzuki "Role of activated neutrophils in vasculitis development". Gordon Research Conferences, June 8-13, 2003, New London, USA.
  4. Nagao, T., Koshio, O., Mabuchi, A., Ohno, N., Takahashi, K., Minamitani, H., Suzuki, K. "Imaging of renal microvascular injury induced by immune abnormality" Gordon Research Conferences, June 8-13, 2003, New London, USA.
  5. Koshio, O, Nagao, T., Ishida-Okawara, A., Mabuchi, A., Suzuki, K. "The contribution of



- PMN and the degranulated substances to the activation of p38 MAPK and Caspase 8 in the introduction of Apoptosis of human Endothelial cell" Gordon Research Conferences, June 8-13, 2003, New London, USA.
6. Kazuo Suzuki Seminar in Marine Biological Laboratories. "Role of activated neutrophils in vasculitis development: in-vivo imaging" USA, June 13, 2003, Woods Hole.
  7. 猪原登志子、小野孝彦、野垣文昭、北徹、鈴木和男、武曾恵理「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」第 46 回日本腎臓病学会学術総会、2003 年 5 月 23 日、東京
  8. Kazuo Suzuki International Symposium Sponsored by Center of Excellence for Advanced Life Science on the Base of Bioscience and Nanotechnology, Sapporo (北海道大学 21 世紀 COE プログラム —バイオとナノを融合する新生命科学拠点—ナノ・イメージングによって切り開く新たなバイオ医療 “In-vivo Imaging of Vasculitis”、2003 年 7 月 19 日、札幌
  9. Manger, B., Suzuki, K. 5th International Symposium on IVIG-Intravenous Immunoglobulins in the Third Millenium, “Chair Talk: The Use of IVIG in Collagen Vascular Diseases, Vasculitis and Atherosclerosis”, September 25—27, 2003, Interlaken, Switzerland
  10. Ito-Ihara, T., Suzuki, K., Ono, T., Nogaki, F., Suyama, K., Kita, T., Muso, E. 5th International Symposium on IVIG-Intravenous Immunoglobulins in the Third Millenium. “Beneficial effect of intravenous immunoglobulin for patients with myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody (MPO-ANCA)-associated rapidly progressive glomerulonephritis” , September 25—27, 2003, Interlaken, Switzerland
  11. 鈴木和男「血管炎の研究がめざす新たな展開：特に ANCA 関連血管炎」第 5 回オステオポンチン研究会、生体防御機能異常ワークショップ 2003、第 6 回肝臓生物学研究会合同年会、2003 年 7 月 17 日～18 日、札幌
  12. 高橋啓、大原関利章、鈴木和男、直江史郎「マウス系統的血管炎誘発モデルにおける動脈病変の免疫組織学的検討」第 5 回オステオポンチン研究会、生体防御機能異常ワークショップ 2003、第 6 回肝臓生物学研究会合同年会、2003 年 7 月 17 日～18 日、札幌
  13. 武曾恵理、猪原登志子、小野孝彦、野垣文昭、北徹、鈴木和男「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」第 5 回オステオポンチン研究会、生体防御機能異常ワークショップ 2003、第 6 回肝臓生物学研究会合同年会、2003 年 7 月 17 日～18 日、札幌
  14. 原田敏江、三浦典子、安達禎之、鈴木和男、大野尚仁「真菌多糖の in vitro における IFN- $\gamma$  産生増強作用の検討」第 5 回オステオポンチン研究会、生体防御機能異常ワークショップ 2003、第 6 回肝臓生物学研究会合同年会、2003 年 7 月 17 日～18 日、札幌
  15. 長谷川明洋、長尾朋和、村田薫、稲見真倫、鈴木和男、中山俊憲「関節炎および血管炎の発症における CD69 分子の役割」第 5 回オステオポンチン研究会、生体防御機能異常ワークショップ 2003、第 6 回肝臓生物学研究会合同年会、2003 年 7 月 17 日～18 日、札幌
  16. 越尾修、長尾朋和、石田-大川原明子、馬淵綾子、鈴木和男「血管炎への好中球の関与と炎症性サイトカインによるヒト血管内皮細胞のアポトーシス誘導シグナルの検討」第 5 回オステオポンチン研究会、生体防御機能異常ワークショップ 2003、第 6 回肝臓生物学研究会合同年会、2003 年 7 月 17 日～18 日、札幌
  17. 鈴木和男「レビュートーク：血管炎に關与するインターフェロン  $\gamma$ 」第 68 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2003 年 7 月 23 日～24 日、東京
  18. 三浦典子、新郷裕子、大原関利章、高橋啓、直江史郎、大川原明子、鈴木和男、大野尚仁「*Candida albicans* 由来可溶性菌体外多糖 CAWS の血管炎誘発活性」第 68 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2003 年 7 月 23 日～24 日、東京
  19. 原田敏江、三浦典子、安達禎之、栗原和記、Keiko Ozato、鈴木和男、大野尚仁第「真菌多糖の樹状細胞分化の調節におよぼす影響—IRF-8 欠損マウスの解析から—」第 68 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2003 年 7 月 23 日～24 日、東京
  20. 越尾修、長尾朋和、石田-大川原明子、馬淵綾子、鈴木和男「血管炎に關与する TNF $\alpha$  および IL-1 $\beta$  によるヒト血管内皮細胞のアポトー

- シス誘導シグナルの検討」第 68 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2003 年 7 月 23 日～24 日、東京
21. 鈴木和男、大川原明子、長尾朋和、村山研、亀岡洋祐、大原関利章、高橋啓、直江史郎、大野尚仁、三浦典子、武曾恵理、猪原登志子、小野孝彦「血管炎発症における活性化好中球の関与」第 14 回日本生体防御学会、2003 年 7 月 31 日～8 月 2 日、京都
  22. 鈴木和男、松岡俊行、栗原和記、佐々木健夫、Keiko Ozato「血管炎に関与する異常好中球：IRF-8 ノックアウトマウスによる解析」第 14 回日本生体防御学会、2003 年 7 月 31 日～8 月 2 日、京都
  23. 鈴木和男、大川原明子、長尾朋和、村山研、亀岡洋祐、大原関利章、高橋啓、直江史郎、大野尚仁、三浦典子、武曾恵理、猪原登志子、小野孝彦「血管炎発症における活性化好中球の関与」第 14 回日本生体防御学会、2003 年 7 月 31 日～8 月 2 日、京都
  24. 鈴木和男、南谷晴之、山本健二、眞島利和「日本バイオイメージング学会と化学工学会の連携による『ナノとバイオの融合学理構築、産業基盤形成』シンポジウム—公開シンポジウム「ナノとバイオの融合 学理構築、産業基盤形成」開催から学ぶ—」、2003 年 9 月 10 日～11 日、松島
  25. 鈴木和男、長尾朋和、長谷川明洋、中山俊憲、大野尚仁、三浦典子、越尾 修、馬淵綾子、南谷晴之「新しいイメージング技術へ向けて—IVI 技術 (in-vivo imaging) —」2003 年 9 月 10 日～11 日、松島
  26. 大川原明子、猪原登志子、武曾恵理、小野孝彦、雑賀寛、根本久一、鈴木和男「糸球体腎炎の発症、進行における好中球活性化の役割-SCG/Kj マウスを用いた解析 -」第 15 回腎とフリーラジカル研究会、2003 年 9 月 20 日、東京
  27. Mabuchi, A., Nagao, T., Koshio, O., Suzuki, K., and Wheatley, A.M. "Induction of F4/80<sup>high+</sup> Mac-1<sup>high+</sup> nonparenchymal adherent liver cell suppressor function in T cell-mediated murine hepatic injury: involvement of nitric oxide?" American Association of Liver Diseases in 2003, October 24-28, 2003, Boston, USA..
  28. 鈴木和男、長尾朋和、越尾 修、馬淵綾子、大野尚仁、高橋 啓、南谷晴之、直江史郎「In-vivo イメージングによる腎微小血管傷害の解析」第 8 回血管炎研究会、2003 年 10 月 18 日、秋田
  29. 三浦典子、三川浩輝、安達禎之、大川原明子、大原関利章、高橋 啓、直江史郎、鈴木和男、大野尚仁「*Candida albicans* 菌体外多糖画分 CAWS の DBA/2 マウスに対する血管炎誘発活性と反応性の解析」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  30. 長谷川明洋、長尾朋和、村田薫、稲見真倫、鈴木和男、中山俊憲「関節炎の発症における CD69 分子の役割」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  31. 川上真紀子、鈴木和男、F. Vilhardt, K-H Krause, 澤田誠「脳内細胞ミクログリアの MPO 産生」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  32. 荒谷康昭、倉 文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、鈴木和男、Nobuyo Maeda、小山秀機「ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのクリプトコッカス感染防御能の解析」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  33. 長尾朋和、長谷川明洋、中山俊憲、大野尚仁、三浦典子、越尾 修、馬淵綾子、南谷晴之、鈴木和男「In-vivo イメージングによる腎微小血管傷害の解析」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  34. 大原関利章、横内 幸、若山 恵、山田仁美、三浦典子、鈴木和男、大野尚仁、直江史郎、高橋 啓「カンジダ菌体抽出物誘導動脈炎モデルにおける動脈炎形成過程の経時的検討」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  35. 三浦典子、三川浩輝、安達禎之、大川原明子、大原関利章、高橋 啓、直江史郎、鈴木和男、大野尚仁「*Candida albicans* 菌体外多糖画分 CAWS の DBA/2 マウスに対する血管炎誘発活性と反応性の解析」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  36. 大川原 明子、武曾 恵理、猪原 登志子、高野 薫、野口 洋子、松田 潤一郎、鈴木 和男「遺伝的ネフローゼ腎炎モデルマウス ICGN の好中球活性化の解析」第 9 回 MPO 研究会、2003 年 10 月 24 日—25 日、八王子
  37. 亀岡洋祐、Amanda Persad、池田文恵、仁保善之、鈴木和男「新規ミエロペルオキシダーゼ

- 欠損症患者に同定された遺伝子変異」第9回MPO研究会、2003年10月24日—25日、八王子
38. 鈴木和男「MPO-ANCA 関連血管炎」第9回MPO研究会、2003年10月24日—25日、八王子
  39. 越尾修、長尾朋和、大川原明子、馬淵綾子、鈴木和男「The contribution of PMN and the degranulated substances to the activation of p38 MAPK and Caspase 8 in the introduction of Apoptosis of human Endothelial cell」第76回日本生化学会大会、2003年10月16日～18日、横浜
  40. 星野昭芳、花木賢一、鈴木和男、山本健二「生体内移入細胞標識マーカーとしての量子ドットの応用」第12回日本バイオイメージング学会学術集会、2003年10月29日—31日、横浜
  41. 鈴木和男「細胞・組織障害のメカニズム解析—血管炎を分子とバイオイメージングで解析する—」第12回日本バイオイメージング学会学術集会、2003年10月29日—31日、横浜
  42. 長尾朋和・長谷川明洋・超尾 修・馬淵綾子・南谷晴之・中山俊憲・鈴木和男「活性酸素誘導の血小板血栓形成における CD69 の役割」第12回日本バイオイメージング学会学術集会、2003年10月29日—31日、横浜
  43. 星野昭芳、花木賢一、鈴木和男、山本健二「生体内移入細胞標識マーカーとしての量子ドットの応用」第12回日本バイオイメージング学会学術集会、2003年10月29日—31日、横浜
  44. 三川浩輝、三浦典子、安達禎之、大川原明子、大原関利章、高橋 啓、直江史郎、鈴木和男、大野尚仁「*Candida albicans* 由来菌体外多糖画分 CAWS による致死的血管炎誘発メカニズムの解析」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  45. 大川原明子、三浦典子、大野尚仁、鈴木和男「*C. albicans* 由来物質 CAWS によって誘起されるマウス冠状動脈炎発症における活性化好中球の役割について」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  46. 村田薫、稲見真倫、長谷川明洋、久保秀一、宮本健志、木村元子、山下政克、長尾朋和、鈴木和男、谷口克、中山俊憲「CD69 ノックアウトマウスにおける抗 typeII コラーゲン抗体誘導性関節炎発症の抑制」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  47. 長尾朋和、長谷川明洋、越尾 修、馬淵綾子、南谷晴之、中山俊憲、鈴木和男「活性酸素誘導性の血小板血栓形成における CD69 の役割」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  48. 村山 研、長尾朋和、越尾 修、長谷川明洋、中山俊憲、新井孝夫、鈴木和男「活性化好中球における CD69 分子の表面局在」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  49. 濱野慶朋、広瀬幸子、鈴木和男「MPO-ANCA 関連半月体形成性腎炎自然発症モデル SCG/Kj マウスの遺伝的解析」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  50. 武曾恵理、大川原明子、鈴木和男「遺伝的ネフローゼ腎炎モデルマウス ICGN の好中球活性化の解析」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  51. 鈴木和男“Neutrophil functions of patients with MPO-ANCA-related vasculitis” 第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  52. Aratani, Y., Kura, F., Suzuki, K., and Koyama, H. “In vivo role of myeloperoxidase for the host defense against fungal and bacterial infections.” 第33回日本免疫学会総会・学術集会、福岡、2003年12月8日～10日、福岡
  53. 荒谷康昭、倉 文明、鈴木和男、小山秀機「*Cryptococcus neoformans* 感染に対する生体防御におけるミエロペルオキシダーゼの役割」第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月8日～10日、福岡
  54. 亀岡 洋祐、Persad Amanda、橋本 雄之、鈴木和男「ミエロペルオキシダーゼの第8ヘリックスにおける日本人集団の変異頻度」第26回日本分子生物学会年会 2003年12月10—13日、神戸
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
たんぱく質構造解析シュミレーション  
(米国：平成15年)

## 別紙—1

### わが国とヨーロッパでの IVIG 治療の安全性の確保：主任者、分担研究者と Dr. Spaeth, ZLB との討論内容および公開シンポジウムでの Dr. Spaeth の発表概要

Dr. Spaeth の招へいし、難病疾患としてあらわれる血管炎、神経系疾患、橋本病、糖尿病、自己免疫性肝炎、肺胞症、シェーグレンなどの自己免疫疾患の治療へガンマグロブリン製剤治療(IVIg)について、安全性の確保および人工化の意義について討論した。これらの治療は、本邦では、これまで、ステロイドパルスをはじめ、対応抗原の感作療法や透析法によっており、新たな治療法の開発が強く望まれていた。血管炎のなかでも川崎病では、ステロイドパルスからガンマグロブリン製剤治療に変えて以来重篤な病態は激減し、その有効性が実証されている。そのため、川崎病以外の血管炎は、高齢者に多いことからステロイドのリスク軽減が要望されており、Spaeth 博士らが血管炎への IVIg 治療によって好成績を得ていた。世界的には、スイスを中心に、ヨーロッパ（スイス、イギリス、ドイツ、デンマーク等）において IVIg 治療が進められている。そこで、日本人に多い MPO(myeloperoxidase)-ANCA 関連血管炎と欧州に多い PR3-ANCA 関連血管炎の治療成績の比較とその治癒機構の比較について討論した。また、われわれがこれまでに開発してきた血管炎モデル動物を用いた IVIg の有効性にも検討を加え、治癒機構の解明や治療に有用な「人工ガンマグロブリン製剤」の開発に関する討論も行った。

Spaeth 博士は、血管炎への IVIg 治療における、基礎および臨床研究での好成績を得るとともに、その治癒機能の解明をしてきた。これまで、血管炎の基礎および臨床研究は、ヨーロッパ（特に、スイス、イギリス、ドイツ、デンマーク等）の研究者が中心となって、世界的な標準化をめざした血管炎病態のスコア化や好中球抗体検出用の ELISA kit の開発などが推進されてきた。なかでも、Spaeth 博士は、その中心的な研究者であり、基礎と臨床の両面からの研究を推進し、血管炎の発症機構や治療法の実用化に先駆的な役割をしてきた。また、補体欠損患者への血液製剤の研究でも中心的な役割を果たしており、血液製剤の安全性への取り組みは世界のリード役になっている。今回の討論においても、日本での血液製剤事業での安全性の確保についても討論した。

#### 具体的は討論内容

##### 安全性と遺伝子欠損

1. 病原体からの安全：献血者からグロブリン製剤への安全性確保
2. グロブリン製剤の作用機作：種々の報告があり、いろいろな仮説が検討されている。
3. グロブリン製剤中の抗体価：仮説と証明
4. 種々の製品の比較
5. 補体の役割  
補体症からの考察
6. C1-Esterase 欠損による血管浮腫
7. 補体異常の診断

Dr. Spaeth の発表内容の原文は、以下のとおりである。

### **Report in my invitation to Dr. Suzuki's laboratory**

Peter J. Späth

Institute of Pharmacology, University of Bern and Immunology, ZLB Bioplasma AG, Bern, Switzerland

It was a very convenient journey. I will now have to digest all the impressions I got from this fantastic trip to your country. I got a lot of scientific impacts and I have got the possibility to admire the long standing, highest-ranking culture of Japan. The last of the cultural impressions was the theater - just out of any thing I have expected.

Again many many thanks for this great opportunity I could enjoy with you in Japan.

I have also some of them and I will send them as soon as I have worked up all the things I missed the two weeks while being in Japan. I reaffirm my invitation to stay in my country and I am happy you mentioned you will let me know when you are close by to Switzerland.

I have a question. I know you are very busy. Probably you have a list in our writing of the people which were presenting Saturday morning, January 10. You gave me the copies of that day but everything is written in Japanese. I would be happy to have the chance to see what these people have published. Take your time, thank you.

You can find summary of my talk in Japan as below:

# **Pathogen Safety: From Blood Donation to IVIG Ready for Infusion and Mechanism of Action of IVIG**

Peter J. Späth

Institute of Pharmacology, University of Bern and Immunology, ZLB Bioplasma AG, Bern, Switzerland

**Pathogen safety:** Intravenous immunoglobulin preparations (IVIGs) of today have a high safety profile. The current mainstays of pathogen safety of plasma products are: (A) donor selection in order to prevent donations by individuals at risk; (B) screening of donations in order to exclude potentially infectious donations; (C) in-process control in order to withhold a positive pool from fractionation; (D) validated steps for elimination and/or inactivation of potentially present infectious agents; (E) equipment cleaning and batch to batch segregation; (F) traceability of lots and (G) strict compliance with Good Manufacturing Practice and Quality Assurance.

*Donor selection:* The main safety measures in donor selection are donor education, continuous adaptation of donor questionnaires, physical examination of the donor and the confidential self-exclusion of donated blood/plasma from further processing.

*Mass screening of donations:* The mandatory testing for anti-treponema and liver enzymes in blood/plasma is complemented by antibody testing for virus markers such as HIV 1&2, HAV and HCV and screening for hepatitis B surface antigen (HBsAg). More recently nucleic acid testing (NAT) was introduced in order to minimize the so called window period. Presently “five-NAT” is applied to plasma fractionated for the Japanese market: HIV-RNA and HCV-RNA, HBV-DNA, HAV-RNA and parvovirus B19 DNA.

*Validation of virus elimination/inactivation:* In validation studies, the safety of a product has to be demonstrated on a laboratory scale by spiking starting materials and showing the elimination of the virus over the various steps of the process. It is assumed by authorities that the application of different principles of virus removal and inactivation during fractionation and polishing makes a product pathogen safe. There are only three basic principles of virus elimination: (A) partitioning; (B) inactivation and (C) elimination based on size. There exist various methods within the frame of these principles that can be used to achieve virus safety of IVIG. All manufacturers use partitioning to eliminate viruses, applying the methods of protein precipitation, filtration in presence of filter aids and column chromatography. The methods of virus inactivation used are: (A) solvent/detergent treatment resulting disruption of the viral envelope, a process which might however fail with viruses having several layers of envelope (poxviridae); (B) caprylate induced incorporation of non-ionized molecule into the viral envelope and eventual disruption of the envelope; (C) disruption of the envelope by heat, i.e. pasteurization and (D) ionic disruption of the envelope and conformational changes of viral proteins needed for docking of virus to the target cell e.g. by low pH treatment. The primary target of all these inactivation methods is the viral protein involved in the infection of the host cell. Disintegration of the virus envelope destroys such structures efficiently and only methods C and D have a potential for inactivation of non-enveloped viruses. One of the key points of such virus

inactivation studies is to show kinetics of inactivation. All manufacturers of IVIG use one or more of the above virus inactivation methods. Nanofiltration was recently introduced into large scale manufacturing of IVIG, to add further on safety gained by partitioning and inactivation. The principle relies on virus size and is also able to remove small non-enveloped viruses under certain conditions.

*Safety of IVIG in regards of transmissible spongiform encephalitis (TSE) agent:* Today the inactivation of the TSE agent is not possible without destruction of the biological activity of the product. Thus, only the principles of partitioning and size exclusion can be applied to eliminate TSE agents during manufacturing of IVIG. Studies by various groups have shown the various cold-ethanol fractionation methods (Cohn and Kistler-Nitschmann) produce similar reductions of a model TSE agent. The overall reduction during fractionation and filtration processes can be as high as >9 log. Nanofiltration might further reduce the risk of transmission of the TSE agent by IVIG as was demonstrated by model experiments utilizing brain-derived infectivity.

**Mechanism of action:** IVIGs help in host defence against invading pathogens and are at the same time immunomodulating and antiinflammatory.

*Host defence:* The titre and the affinity of transfused antibodies are relevant in host defence. Considerable lot to lot fluctuation in titres of specific immunoglobulins is inherent to all IVIGs, except the titre of a selected specificity is adjusted to a given level. Adjustment in titre of one specificity does not prevent lot to lot fluctuation of all other specificities. Furthermore, with plasma pool donor size increasing from 8,000 to 60,000 such lot to lot fluctuation in titres does not diminish. There is little known about lot to lot variation in affinity of specific antibodies.

*Immunomodulatory and antiinflammatory potential:* It was in 1981 when it became evident that an autoantibody mediated disease (ITP) can be ameliorated by polyclonal immunoglobulins prepared from a plasma pool of healthy donors. The following was deduced from this observation: (A) transfused polyclonal IgG is able to inhibit the effects of a pathogenic autoantibody, and (B) for the sake of benefit of the recipient, transfused IgG must be able to recognise the recipient's "immunological structures" in an allo-reactive manner. The IgG molecules in IVIG able to interact with the recipient's immune system mainly belong to the natural antibodies and are either part of the network of the proteins with variable regions (T cell receptor, B cell receptor, immunoglobulins) or interact with cell surface molecules and plasma proteins of the native immune system. The knowledge about interactions of IVIG with the recipient's immune system is ever growing. These multiple reactions represent IVIG's therapeutic potential, i.e. to interact at multiple sites with a derailed immune network and being even able to cover redundancies of the system. Indeed, at occasion of any infusion it is inevitable that all of the interactions occur, although to various extents. The extent in intensities of individual interactions depends on the actual condition of the recipient's immune system. The individual interaction might be weak and might have a minor effect. However, the multiplicity of the interactions apparently is that what sums up to a therapeutic potential of IVIG.

## 別紙—2

川崎病急性治療のガイドライン (日本小児循環器学会雑誌 第20巻 第1号)

●川崎病急性期治療のガイドライン●	
作成組織	日本小児循環器学会 学術委員会
作成担当委員	佐地 勉(東邦大学第一小児科) 齋部 友良(白赤医療センター小児科) 上村 茂(和歌山県立医科大学小児科) 赤木 雅治(久留米大学小児科) 鮎澤 漸(日本大学小児科)
外部評価委員	加藤 裕久(久留米大学名誉教授) 原田 研介(日本大学小児科) 長嶋 正実(あいち小児保健医療総合センター) 浅井 利夫(東京女子医科大学第二病院スポーツ健康医学センター)
制定 2003年2月21日	

### ●治療目標

急性期川崎病治療のゴールは、“急性期の強い炎症反応を可能な限り早期に終息させ、結果として合併症である冠動脈瘤の発症頻度を最小限にすること”である。治療は第7病日以前に免疫グロブリンの投与が開始されることが望ましい。特に冠動脈拡張病変が始まるとされる第9病日以前に治療が奏効することが重要であり、有熱期間の短縮、炎症反応の早期低下を目指す。

### ●治療薬の選択

現時点で最も信頼できる抗炎症療法は、早期に大量(高用量)の完全分子型免疫グロブリンの静注(intravenous immunoglobulin: IVIG)療法を、単回ないしは分割で開始することである。なかでも2g/kg/日の超大量単回投与や、重症度に応

じて1g/kg/日を1日または2日連続して投与する方法が、より効果的であるとされている。IVIG療法は用量依存性に効果が高いとされており、川崎病の臨床症状および検査所見をすみやかに沈静化させ、冠動脈病変の発症頻度を低下させることができる最善の治療法である。この治療法はすでに欧米でも認められており、多くの教科書にも記載されている。特に2g/kg/日の単回投与、ないし1g/kg/日の1日または2日連続の単回投与は、200~400mg/kg/日、3~5日間の分割投与に比し冠動脈瘤形成の頻度も低く、炎症性マーカーを早期に沈静化させる点で有効性が高いとされている。従来から使用されていた経口アスピリンは、通常IVIGと併用するが、欧米で推奨されている80~100mg/kgの高用量では肝機能障害の発症頻度が高く、抗炎症作用を期待する場合は30~50mg/kgの中等量で解熱するまで併用投与する。IVIGを必要としない軽症例ではアスピリン療法単独でも効果を示すことが多い。



## ● IVIG療法

### 適応

川崎病と診断され、冠動脈障害発生の可能性の高い症例。 使用に関しての適応の基準は意見の一致を見ていないが、わが国ではいわゆる“原田のスコア”や各施設での重症度基準を用いて適応が決定されている。2001年に集計された第16回全国調査成績では、一部の軽症例や自然軽快例を除き、約86%の急性期症例でIVIGが使用されていた。

### 用量

① 2g/kg/日を1日、または、② 1g/kg/日を1日または2日連続、または、③ 200～400mg/kg/日を3～5日間（分割投与） 従来から200～400mg/kg/日を3～5日間投与する分割投与が行われてきたが、近年国際的にも2g/kg/日までの単回投与は分割投与に比し、冠動脈病変の発症頻度が明らかに少ないと認識されてきた。1g/kg/日に関しては1日で明らかな効果が認め

られた場合には2日間の連続投与を必要としないこともある。いずれにしても血液製剤であるIVIGはその適応、使用量、使用方法には十分な配慮が必要である。

### 投与方法

単回投与は製剤間に注入速度の若干の違いはあるが、12～24時間かけて点滴静注し、心不全の発症および心機能低下の増悪に十分留意し、投与速度が速過ぎないように注意する。また重症度に応じて適宜増減する。投与によるショック、アナフィラキシー様反応や、無菌性髄膜炎等の副反応に対しては十分な観察が必要である。

## ● IVIG不応例の治療選択

IVIG療法開始後24～48時間においても反応不良であったり効果が不十分で不応例と判断された場合、いくつかの選択肢がある。効果の判定は通常24～48時間後までの解熱傾

表 1 IVIG療法以外の治療手段

治療法	投与方法	副作用と注意点
経口ステロイド (プレドニゾロン)	2mg/kg/日 内服 2週間 以後 6週間かけて漸減中止	漸減時再燃あり 巨大動脈瘤とその破裂の頻度が高くなる危険性あり
ステロイドパルス (メチルプレドニゾロン)	30mg/kg/日 点滴静注 1~3日間	高血圧, 血栓症, 電解質異常
好中球エラスターゼ阻害剤 (ウリナスタチン)	ミラクリッドとして 5,000単位/kg × 3~6回/日 点滴静注 数日間	白血球減少 発疹
血漿交換 (5%アルブミン液)	循環血漿量と同 1~3日間	ショック, 血管損傷

向や白血球数, 好中球数, CRP値の低下で判断されている。IVIG療法を開始した急性期患者には15~25%程度に不応例が存在することが判明している。これらの不応例に対する治療法については, 現在さまざまな検討が行われているが, これまでに報告されているものには下記の治療手段が挙げられる。現時点ではIVIGの追加投与が最も多く行われているが, おのおのが併用されることもある。

#### IVIG不応例に対する治療手段(表 1)

- ① IVIGの 1g/kg/日ないし 2g/kg/日(単回投与の追加)
- ② ステロイド\*療法(パルス療法ないしプレドニゾロン静注または経口療法)
- ③ ウリナスタチン\*\*静注療法
- ④ アスピリン経口投与
- ⑤ その他\*\*\*

#### 抗血栓療法

川崎病の死亡原因の多くは冠動脈瘤内で形成された血栓による冠動脈の血栓性閉塞と内膜肥厚による急性虚血性心疾患である。この血栓形成は, 急性期に存在する内皮細胞障害や, 血小板凝集能の亢進と著明な血小板数増加, 血液凝固能亢進, 冠動脈瘤内の血流停滞等が要因と考えられて

いる。

#### 投与方法

原則として川崎病の診断がつき次第, IVIG療法に抗血小板療法を併用する。急性期は腸管からの吸収が悪く血中濃度の上昇が悪い。通常急性期には中等量(30~50mg/kg/日)のアスピリンを使用する。アスピリンは抗血栓療法を期待する場合, 解熱後は3~5mg/kgで併用されることが多い。冠動脈に障害を残さない場合でも, 血小板凝集能は数カ月間亢進しており, アスピリンは炎症の程度が陰性化した後 2~3カ月間は継続されるのが望ましい。

巨大冠動脈瘤を合併した場合にはアスピリン単独では血栓形成を防止できないことも知られており, チクロピジン, ジピリダモールなど他の抗血小板薬や抗凝固薬(ワルファリン)の併用が望ましいとされている(表 2)。

#### 投与期間

冠動脈瘤形成のない例では発症後 2~3カ月頃まで使用する。冠動脈瘤形成例では冠動脈瘤の退縮が確認される時期まで投与が必要である。抗凝固薬(ワルファリン)を使用する際は, INRを測定するかトロンボテストを実施し, 最適値になるように投与量を調節する。可能であれば凝固線溶分子マーカーであるD-dimer, TAT等を測定することが望まし

#### 注

##### \*ステロイド

解熱効果は顕著だが, 使用例に巨大冠動脈瘤を合併する例が増加し, また動脈瘤が破裂しやすくなるという本邦での初期の報告によって, これまで禁忌と考えられてきた。しかし, IVIG不応例に対してはプレドニゾロンの静注または経口, ないしはメチルプレドニゾロンのパルス療法の有用性を再認識させる研究が見られる。IVIG不応例に対しての追加療法として急性期の病勢を沈静化させ, 重症例に対する治療手段の一つとしての意義をもつ。

##### \*\*ウリナスタチン(UTI: ミラクリッド)

国内で多施設から有効性が報告されているが川崎病に対する使用は適応外であり, また最適投与量, 投与期間は検討中である。時に発疹, 好中球減少などの副作用が認められることがある。IVIGと同じ静脈経路での同時投与は避ける。

##### \*\*\*その他

##### 血漿交換療法

他の治療法に反応しない一部の重症例では有効性が報告されているものの, やはり不応例が存在する。また乳幼児等の体格の小さい児などでは施行上の技術的な問題点が残されている。第一選択とはならない。

表2 抗血小板薬, 抗凝固薬

薬剤名	投与量	副作用と注意点
アセチルサリチル酸 (アスピリン)	急性期は30~50mg/kg, 分3 解熱後は3~5mg/kg, 分1	肝機能障害, 消化管潰瘍, 水痘やインフルエンザに伴う Reye症候群の発症に注意
フルルピプロフェン (フロベン)	3~5mg/kg, 分3	アスピリン肝障害の強い時の代替. 肝機能障害, 消化管潰瘍
ジピリダモール (ベルサンチン, アンギナール)	2~5mg/kg, 分3	高度冠動脈狭窄例での狭心症悪化, 出血傾向
チクロピジン (パナルジン)	2~5mg/kg, 分2	汎血球減少, 出血傾向, 薬剤性の血栓性血小板減少性 紫斑病(TTP)の発症に注意. 投与初期には2週間ごと に血液検査が必要
ワルファリン (ワーファリン)	0.05~0.12mg/kg, 分1	INR(1.2~2.0), トロンボテスト(10~45%)に調節. 作用に個人差が大きく, 出血性副作用に注意

い. また抗凝固薬に関しては効果に個人差があり, 出血性副作用に十分注意した適正な管理が望まれる.

#### 心血管系合併症に対する治療の要約

冠動脈に拡張病変や瘤を形成した場合には, 心筋虚血症状の発症には特に慎重な観察が必要であり, 血栓形成の抑制を目的として抗血小板療法, 抗凝固療法を積極的に行う. 心筋炎, 心膜炎, 不整脈などにより心機能が低下したり, 浮腫, 体液貯留が著しい場合にはカテコラミン, 利尿薬, 血管拡張薬等の抗心不全療法を併用する.

[冠動脈後遺症の管理については, 『川崎病冠動脈後遺症に対する治療に関するガイドライン』(厚生科学研究, 班長: 加藤裕久), 『川崎病心臓血管後遺症の診断と治療に関するガイドライ

ン』(日本循環器学会, 循環器病の診断と治療に関するガイドライン研究班, 班長: 原田研介)を参照]

#### 全身管理および支持療法

急性期には冠動脈障害のほかに, 心筋炎, 心膜炎, 弁膜症, 不整脈等の循環器系合併症があり, 治療を必要とする心機能低下や心不全を来す場合もある.

浮腫, 低アルブミン血症, 電解質異常(低ナトリウム血症), 麻痺性イレウス, 肝機能障害, 胆炎, 意識障害, 痙攣, 貧血, 下痢, 嘔吐, 脱水徴候等の全身諸臓器の合併症に対する一般療法も重要である. 特にIVIGをはじめとする静注薬の大量投与に際しては, 体液量が過剰にならないように心掛け, 心不全の発症ないし増悪には十分注意する.

## 川崎病急性期治療のガイドライン 参考資料 1

川崎病における冠動脈瘤の抑制：  
アスピリンと免疫グロブリンの治療効果に関するメタアナリシス

[出典：Durongpistitkul K, et al: Pediatr 1995; 96: 1057-1061]

川崎病患児における冠動脈瘤(coronary artery aneurysm：CAA)に対するアスピリン(acetylsalicylic acid：ASA)と静注用免疫グロブリン(intravenous immunoglobulin：IVIG)の治療効果に関して、公表文献のメタアナリシスを行った。

## 方法

1967～1993年の全公表臨床試験について、MEDLINEとEMBASEから、mucocutaneous lymph node syndrome〔急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群(川崎病の別称)〕とcoronary aneurysm / coronary artery aneurysm(冠動脈瘤)をキーワードとして検索し、得られた文献およびその引用文献を解析した。以下の採用・除外基準を決めてさらに文献を選択し最終的な分析に供した。

## 1)採用基準

- ① 試験において、患児は川崎病に関する米国CDC(Centers for Disease Control and Prevention)の診断基準を満たしていること。
- ② CAA発現率について2週ないし30日時点(急性期、以後30日と記す)および60日までの時点(亜急性期、以後60日と記す)の追跡データを記載している前方視的・後方視的試験。
- ③ 文献で示されているCAAの定義が、心エコーまたは血管造影で、A)冠動脈の内径が5歳未満児で3mm以上に、5歳以上児で4mm以上にはなっていること、またはB)冠動脈内腔が明らかに異常であること、とされている。

## 2)除外基準

- ① 治療前にCAAがあった患者を含む試験。
- ② 川崎病の非典型例について報告している試験。
- ③ ステロイドの治療を受けている患者を記載している試験。
- ④ すでに採択されている他の試験報告に含まれている患者を報告している試験。

## 3)患者のグルーピング

- ① ASA群：高用量ASAのみで治療された患者。
- ② 低IVIG群：低用量( $\leq 1\text{g/kg}$ )IVIGと種々の用量のASAで治療された患者。
- ③ 高IVIG群：高用量( $> 1\text{g/kg}$ )IVIGを3～4日で分割投与

され、種々の用量のASAを投与された患者。

- ④ 単IVIG群：高用量( $> 1\text{g/kg}$ )IVIGの単回投与と種々の用量のASAの投与を受けた患者。
- ⑤ 高IVIG-低ASA群：高用量( $> 1\text{g/kg}$ )IVIGを3～5日で分割投与され、急性期に低用量( $\leq 80\text{mg/kg}$ )のASAを投与された患者。
- ⑥ 高IVIG-高ASA群：高用量( $> 1\text{g/kg}$ )IVIGを3～5日で分割投与され、急性期に高用量( $> 80\text{mg/kg}$ )のASAを投与された患者。

## 4)統計解析

次の3つの観点から解析した。

- ① まず、個々の試験が均質なものであるかどうかを検証した。報告されている全患者のCAA発現率の平均値を求め、その値から2SD以上解離した発現率を報告している試験は以後の解析から除外した。残った試験が患者の母集団と方法において均質であると仮定した。
- ② 各試験のデータを合わせ統計学的に解析した。各群についてp%すなわち全患者数に対するCAAを発現した患者の割合を計算した。95%信頼区間(CI)をp% $\pm 1.96\text{SD}$ として求めた。
- ③ 種々の治療法の間CAA発現率(p)の違いがあるかを検証した。

## 結果

2つのデータベースから2,811件の文献が同定され、このうち382文献が川崎病とCAAについて言及していた。採用・除外基準により358文献が除かれた。残る24文献(28試験、4,151症例)をメタアナリシスに供した。全症例について30日の追跡データが記載されていたが、60日データについては2,547症例で使用可能であった。均質性の解析により4試験(ASAのみに関するもの1試験を含む)が除外された。

表3に各試験ごとのデザイン、患者数、用量、CAA発現率を示す。24試験中7試験以外は前方視的に実施したものであった。

表4に、各処理群の30、60日目のCAA発現率に関する統計値を示す。低IVIG群のCAA発現率は30日17.3%、60日11.1%であり、同じく高IVIG群では10.3%、4.4%、単IVIG群では2.3%、2.4%であった。