

- in anti-GBM glomerulonephritis in WKY rats. Clin Exp Nephrol 2004 ; 8 : 206~215.
3. 長田道夫、槇野博史、秋草文四郎、今井裕一、北村博史、重松秀一、杉崎徹三、城謙輔、田口尚、中野正明、中林公正、横山仁、山口裕：ループス腎炎病理診断の新しい分類—INS/RPS 2003年改訂分類の要点と診断マニュアル—。日腎誌 2004 ; 46 : 383~395.
 4. 福岡利仁、中林公正：特集 ネフローゼ症候群。原因病態別考察：膠原病、血管炎。日本臨床 2004 ; 62 : 1898~1906.
 5. 吉原 堅、宝亀恵美子、中林公正：血管炎をきたす疾患の鑑別診断と治療 肉芽腫性血管炎をみる疾患。リウマチ科 2004 ; 31 : 458~467.
 6. 福岡利仁、中林公正：Goodpasture 症候群。腎臓ナビゲーター（浦 信行、柏原直樹、能谷裕生、竹内和久編）、メディカルビュー社、東京・大阪、2004.P152~153.
 7. 中林公正、本田恒雄：結節性多発動脈炎。インフォームドコンセントのための図説シリーズ その他の膠原病（竹原和彦、近藤啓文編）、医薬ジャーナル社、大阪・東京、2004.P68~73.
 8. 福岡利仁、中林公正：抗リン脂質抗体症候群。臨床と研究 2004 ; 81 : 265~270.
- 俊彦：下肢に難治性潰瘍を繰り返し、PGE1 治療が有効であった Buerger 病と考えられる女性症例。第 24 回関東・甲信越 MMC 研究会、東京、2004.2.21.
2. 早川 哲、軽部美穂、児島千恵子、副島昭典、有村義宏、中林公正、山田 明：免疫複合体により毛細血管炎を生じ、間質性腎炎を呈したと思われるループス腎炎の 1 症例。第 8 回腎間質障害研究会、東京、2004.9.11.
 3. 中林公正：七隈セミナー 特別講演 血管炎症候群の多彩な臨床症状とその診断法について、第 11 回七隈膠原病セミナー、福岡、2004.6.25.
 4. 大和恒恵、中林公正、有村義宏、山田明、長澤俊彦：下肢に難治性潰瘍を繰り返し、Buerger 病と考えられた女性症例。第 9 回 血管病理研究会、東京、2004.10.23.
 5. 佐藤美玲、有村義宏、川嶋聡子、宝亀恵美子、大和恒恵、吉原 堅、中林公正、山田 明：MPO-ANCA 陽性 Wegener 肉芽腫症と思われた 2 症例。第 521 回 日内会関東地方会、東京、2004.10.9.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

学会発表

1. 大和恒恵、中林公正、山田 明、長澤

杏林大学第一内科のMPO-ANCA関連血管炎 の臨床病型subsetsと生命予後 (n=67)

病型subsets 症例数(n) 死亡数(n) 死亡率(%)

腎臓局型	26	1	4
肺腎型	14	7	50
全身型	11	6	55
その他型	16	1	6
計	67	15	22

杏林大学第一内科MPO-ANCA関連血管炎の死亡症例(n=15)の臨床病型 subsetsと疾患罹病期間

臨床病型 死亡症例数(n) 疾患罹病期間(月)

腎臓局型	7	7.8
肺腎型	7	3(0.5~6)
全身型	6	3.3(2~5)
その他の型	1	2.4

杏林大学第一内科MPO-ANCA関連血管炎の死亡症例の臨床病型subsetsと死因(n=15)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

薬剤によるマウス皮膚由来血管内皮細胞株 F-2 の細胞死誘導に関する研究

分担研究者：古川福実（和歌山県立医科大学皮膚科教授）

研究要旨：マウス皮膚由来血管内皮細胞株 F-2 にシクロホスファミドの代謝産物である 4-ヒドロキシシクロホスファミド (4-HC) 10 μ M を添加にすると、細胞生存率が有意に減少したが、同濃度の 4-HC は、角化細胞株 PAM212 や線維芽細胞株 NIH-3T3 には、効果を認めなかった。また、4-HC により、DNA の断片化が亢進することからアポトーシスの関与が示唆された。血管炎では、局所における炎症性サイトカインの産生が亢進していると考えられるが、TNF- α で前処置した F-2 は、4-HC による DNA 断片化を増強した。また、TNF- α と 4-HC は、相加的にカスパーゼ 3 の活性を亢進し、ウエタンプロット法で、切断された PARP 断片の発現亢進を認めた。あらかじめ、カスパーゼ 3 阻害薬を添加すると、TNF- α や 4-HC による DNA 断片化は抑制された。さらに、4-HC により、アポトーシス誘導蛋白である Bax の亢進を認めたことから、ミトコンドリアを介した情報伝達経路が関与している可能性が考えられた。皮膚の血管内皮細胞は、TNF- α 共存下、シクロホスファミドによるアポトーシスを受けやすく、血管の炎症を抑制するという点では、好都合であると考えられた。

A. 研究目的

シクロホスファミドは、難治性血管炎の治療に用いられる薬剤の 1 つであるが、血管内皮細胞に対するくわしい作用機序は、明らかでない。われわれは、シクロホスファミドが、皮膚の血管内皮細胞におよぼす効果を *in vitro* の系で検討した。

B. 研究方法

マウス皮膚由来血管内皮細胞株 F-2 を 5%FBS を含む DMEM で培養した。①については、角化細胞株 PAM212 および線維芽細胞株 NIH-3T3 にも検討を加えた。

①シクロホスファミドの活性代謝物である 4-ヒドロキシシクロホスファミド

(4-HC) を含まない群と 10 μ M の 4-HC を含む群について、マイクロタイタープレート上で 24 時間培養した後、細胞に WST-1 を 2 時間取り込ませ、ELISA 法により、定量した。

②コントロール群、10 μ M の 4-HC を添加した群、50ng/ml の TNF- α を添加した群、50ng/ml の TNF- α 添加 4 時間後に 10 μ M の 4-HC を添加した群に分け、24 時間培養した細胞のライセートをストレプトアビジンでコートしたマイクロタイタープレートのウェルに添加し、ピオチンで標識した抗ヒストン抗体およびペルオキシダーゼで標識した抗 DNA 抗体とともに、2 時間インキュベ-

トし、ヒストンと結合した DNA のモノおよびオリゴヌクレオゾームレベルでの断片化を定量した。

③コントロール群、50ng/ml の TNF- α を添加した群、50ng/ml の TNF- α 添加 4 時間後に 10 μ M の 4-HC を添加した群に分け、直径 10cm のプレート上で、24 時間培養した。細胞ライセート 50 μ g に、最終濃度 200 μ M となるように DEVD-pNA (pNA : p-nitroanilide) を加え、37 $^{\circ}$ C で 2 時間反応させた後、405nm の吸光度を測定した。

④③と同様に培養した後、細胞ライセート 50 μ g を 7.5% SDS-PAGE で分離し、1 次抗体 (抗 PARP 抗体)、次いで HRP 標識 2 次抗体と反応させ、化学発光により検出した。

⑤ 1 μ M のカスパーゼ 3 阻害薬で前処置した後に、②を行った。

⑥④と同様に、1 次抗体に抗 Bax 抗体を用いて、ウエタンブロット法を行った。

C. 研究結果

①4-HCにより、F-2の細胞生存率は減少したが、同濃度の4-HCは、PAM212 やNIH3T3では、効果が認められなかった。

②4-HCにより、DNA断片化が亢進し、TNF- α で前処置すると、DNA断片化がより増強するのが認められた。

③4-HCにより、TNF- α で亢進した caspase-3活性の増強が認められた。

④4-HCにより、TNF- α で切断された PARP断片は、さらに増大した。

⑤caspase-3阻害薬は、TNF- α や4-HC で誘導されたDNA断片化を抑制した。

⑥4-HCで処置した群では、未処置の

群と比較して、Baxの亢進が認められたが、TNF- α で処置した群では、亢進を認めなかった。

D. 考察

皮膚においては、シクロホスファミドは、TNF- α 存在下の血管内皮細胞に対して、よりアポトーシスを誘導しやすく、炎症の終焉に関与している可能性が考えられた。

E. 結論

シクロホスファミドは、ミトコンドリアを介して、カスパーゼ 3 を活性化し、F-2のアポトーシスを誘導していると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Uede K, Yamamoto Y, Furukawa F. Brooke-Spiegler syndrome associated with cylindroma, trichoepithelioma, spiradenoma and syringoma. *J Dermatol* 31: 32-8, 2004.

2. Ikeda T, Uede K, Hashizume H, Furukawa F: The vitamin A derivative etretinate improves skin sclerosis due to systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* 34: 62-66, 2004

3. Yoshimasu T, Seo N, Hiroi A, Nishide T, Ohtani T, Uede K, Furukawa F: Susceptibility of TCR α chain knockout mice to ultraviolet B light and fluorouracil: a novel model for drug-induced cutaneous lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol*

136:245-254, 2004

4. Furue M, Terao H, Moroi Y, Koga T, Kubota Y, Nakayama J, Furukawa F, Tanaka Y, Katayama I, Kinukawa N, Nose Y, Urabe K: Dosage and adverse effects of topical tacrolimus and steroids in daily management of atopic dermatitis. *J Dermatol* 31: 277-283, 2004

5. Minami Y, Uede K, Sagawa K, Kimura A, Tsuji T, Furukawa F: Immunohistochemical staining of cutaneous tumors with G-81, a monoclonal antibody to dermcidin. *Br J Dermatol* 151:165-169, 2004

6. Ohtani T, Okamoto K, Kaminaka K, Kishi T, Sakurane M, Yamamoto Y, Uede K, Kubo K, Kuroyanagi Y, Furukawa F: Digital gangrene associated with idiopathic hypereosinophilia: treatment with allogeneic cultured dermal substitute (CDS). *Eur J Dermatol* 14: 168-171, 2004

7. Yamamoto Y, Yonei N, Kaminaka C, Kishioka A, Uede K, Furukawa F: Effects of phenol peeling on dermal endothelial cells. *J Dermatol Sci* 35: 158-161, 2004

8. Ikeda T, Sakurane M, Uede K, Furukawa F: A case of symmetrical leukemia cutis on the eyelids complicated by B-cell chronic lymphocytic lymphoma. *J Dermatol* 31:560-563, 2004

9. Shiotani A, Sakurane M, Furukawa F: Helicobacter pylori-positive patients with pruritic skin

diseases are at increased risk for gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 20(Suppl. 1): 80-84, 2004

10. 古江増隆、古川福実、秀道広、竹原和彦：日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎治療ガイドライン2004改訂版、日本皮膚科学会雑誌 114:135-142, 2004

11. 米井 希、山本有紀、上出康二、古川福実：好酸球肉芽腫の所見を伴った巨大石灰化上皮腫の一例、皮膚臨床 46:332-333, 2004

12. 古川福実、大谷稔男、西出武司、金原彰子、島影達也、辻岡 馨、廣井彰久、秋岡嘉美：アトピー性皮膚炎患者に対するベシル酸ベポタスチンの有効性、安全性の検討. *新薬と臨床* 53: 416-426, 2004

13. 瀧川雅浩、川島 眞、古江増隆、飯塚 一、伊藤雅章、中川秀己、塩原哲夫、島田眞路、竹原和彦、宮地良樹、古川福実、岩月啓氏、橋本公二、片山 一朗：AD Forum：世界のオピニオンリーダーを対象としたアトピー性皮膚炎の調査結果. *臨床皮膚科* 58: 312-317, 2004

14. 古川福実、松永佳世子、伊藤正俊、上田説子、菊地克子、戸佐真弓、船坂陽子、宮崎孝夫、久野有紀、山本有紀、岸岡亜紀子、北島康雄、古江増隆（日本皮膚科学会ケミカルピーリングガイドライン2001改訂に関する検討委員会）：日本皮膚科学会ケミカルピーリングガイドライン2004、日本皮膚科学会雑誌 114: 953-957, 2004

15. 中川秀己、相場節也、朝比奈昭彦、飯塚 一、五十嵐敦之、梅沢慶紀、江藤隆史、大槻マミ太郎、小沢明、滝川雅浩、中山樹一郎、水谷仁、根本治、

- 古江増隆、古川福実、森田明理、矢口均、両角國男：シクロスポリン MEPC による乾癬治療のガイドライン2004年度版コンセンサス会議報告、日本皮膚科学会雑誌 114：1093-1105, 2004
16. 西出武司、金原彰子、古川福実：皮膚科治療における患者満足度—アトピー性皮膚炎教育入院を通して、Medico 35: 214-216, 2004
17. 中村智之、島影達也、久徳茂雄、黒岡定浩、南方竜也、神田栄光：MR マイクロコピーによる皮膚腫瘍の術前評価 特に tumor thickness に関して、臨床皮膚科 58: 404-409, 2004
18. 上中智香子、上出康二、廣井彰久、古川福実、川口雅功：クワシオルコール症候群の1例、臨床皮膚科 58：411-413, 2004
19. 岸岡亜紀子、山本有紀、古川福実：「日本皮膚科学会ケミカルピーリングガイドライン2001」に関するアンケート調査 第2報 岡山県および和歌山県皮膚科医会会員を対象として、日本美容皮膚科学会雑誌 14：59-63, 2004
20. 貴志知生、豊澤聖子、山本有紀：電撃傷、皮膚病診療 26: 739-742, 2004
21. 古川福実、吉益 隆：タクロリムス軟膏, SLE に奏効した1例、Visual Dermatology 3: 822-823, 2004
22. 古川福実、櫻根幹久、小出まさよ：タクロリムス軟膏, 乾癬に奏効した例、Visual Dermatology 3: 818-821, 2004
23. 大谷稔男 金内日出男 石井崇子 辻岡 馨 古川福実：顔面のアトピー性皮膚炎治療における抗アレルギー薬の有用性 - 顔面の皮疹に対するタクロリムス軟膏の減量維持効果 -、皮膚の科学 3：316-322, 2004
24. 古川福実、岸岡亜紀子、金内日出男：アトピー性皮膚炎の掻痒に対する第二世代抗ヒスタミン薬の効果発現について、新薬と臨床 53：872-877, 2004
25. 米井 希、櫻根幹久、浜 喜和、山本有紀、上出康二、古川福実、高木正：腹部有茎皮弁にて再建した右第1指の壊疽性膿皮症後瘢痕。日本皮膚外科学会雑誌 8: 102-103, 2004
26. 貴志知生、中瀬幸穂、古川福実：spiradenoma?の1例、第4回浜名湖皮膚病理研究会記録集、pp.1, 9, 2004
27. 岸岡亜紀子、西出武司、金原彰子、山本有紀、古川福実、中峯寛和、小野一雄：左前胸部腫瘍の一例、第4回浜名湖皮膚病理研究会記録集、pp.1,10, 2004
28. 古川福実、岸岡亜紀子、金内日出男：アトピー性皮膚炎の掻痒に対する第二世代抗ヒスタミン薬の効果発現について、新薬と臨床 53：1203-1209, 2004
29. 古川福実、上出康二、大谷稔男、山本有紀、貴志知、西出武司、岸岡亜紀子、酒井 亜、池田高治、中村智之、金内日出男、太田 智秋、辻岡 馨、石田勝英、米井 希、金原彰子、廣井彰久、瀬川 陽一、秋岡 嘉美：高齢者皮脂欠乏性湿疹に対する塩酸フェキソフェナジンの有効性及び安全性の検討、新薬と臨床 53:1203-1209, 2004
30. 大谷稔男、岡本勝行、山本有紀、古川福実：著明な好酸球増多症を伴い、急速に手足の壊疽を生じた1例、アレルギーの臨床 24:976-978, 2004
31. 広井彰久、上出康二、古川福実：メシル酸イマチニブ（グリベック）が

原因と考えられた TEN の一例, 日本皮膚アレルギー学会雑誌 12:87-90

32. 酒井 亜紀、山本 有紀、岸岡 亜紀子、米井 希、古川 福実: ざ瘡のケミカルピーリングによる治療効果と心理的影響について (S T A I) 日本美容皮膚科学会雑誌 14: 2004

33. 米井 希, 山本有紀, 上中智香子, 岸岡亜紀子, 酒井亜紀, 古川福実: 尋常性ざ瘡に対するグリコール酸ケミカルピーリングと抗生剤内服療法, 日本美容皮膚科学会雑誌 14: 2004

34. Shigeo Shinohara, Junko Kamimura, Fumiki Harano, Hideo Tanaka, Sachiyo Igarashi, Mitsuaki Kawamura, Sigekatsu Kawabata, Osamu Takasu, Kohsaburo Wakamatsu, Masahiko Tanaka, Misato Yago, Yasuo Furuta, Noboru Yoshino, Fukumi Furukawa, Makoto Kawasihama, Yoshiki Miyachi: Skin-lightening effects based on accelerated epidermal turnover. Abstract book of The 8th China-Japan Joint Meeting of Dermatology, 131-132, 2004

35. Kishi T, Toyozawa S, Sakurane M, Furukawa F: A case of metastatic lesion of melanoma reduced by ultrasound-guided ethanol injection therapy, Abstract book of The 8th China-Japan Joint Meeting of Dermatology, 111, 2004

2. 学会発表

a) 国際会議

Special lecture

Fukumi Furukawa: Animal models of lupus erythematosus, First International Conference on Cutaneous Lupus Erythematosus in cooperation with the American College of Rheumatology (ACR) Response Criteria Committee on SLE, Duesseldorf, Germany, September 1 - 5, 2004

Presentations

1. Yamamoto Y, Sakai A, Yoshimasu T, Furukawa F: P-cadherin Expression in Skin Peeled with Phenol or Trichloroacetic Acid (TCA). American Academy of Dermatology 62nd annual meeting, 2004. Feb 6-11, Washington DC

2. Nishide T, Yoshimasu T, Seo N, Ohtani T, Uede K, Furukawa F: The cytokine profiles in skin lesion of drug-induced DLE model mice treated with UVB light and fluorouracil. Drug Hypersensitivity Meeting, 2004. May 5-8, Bern

3. Ohtani T, Toda K, Furukawa F: Cardiovascular drug hydralazine inhibits proliferation and induces apoptosis in vascular endothelial cells in vitro. Drug Hypersensitivity Meeting, 2004. May 5-8, Bern

4. Toshio Ohtani, Fukumi Furukawa: Cardiovascular Drug Hydralazine Inhibits Viability and Induces Apoptosis in Murine Vascular Endothelial Cells. The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology. 2004. Oct. 4-7,

Tokyo

5. Yamamoto Y, Uede K, Furukawa F: Effects of alpha-hydroxy acids on human skin: rationale for chemical peeling. 2nd Australian Health and Medical Research Congress 2004. Nov. 22-26, Sydney

6. Shigeo Shinohara, Junko Kamimura, Fumiki Harano, Hideo Tanaka, Sachiyo Igarashi, Mitsuaki Kawamura, Sigekatsu Kawabata, Osamu Takasu, Kohsaburo Wakamatsu, Masahiko Tanaka, Misato Yago, Yasuo Furuta, Noboru Yoshino, Fukumi Furukawa, Makoto Kawasahama, Yoshiaki Miyachi: Skin-lightening effects based on accelerated epidermal turnover, The 8th China-Japan Joint Meeting of Dermatology Nov. 12-14, 2004, Kunming, China

7. Kishi T, Toyozawa S, Sakurane M, Furukawa F: A case of metastatic lesion of melanoma reduced by ultrasound-guided ethanol injection therapy, The 8th China-Japan Joint Meeting of Dermatology Nov. 12-14, 2004, Kunming, China

b) 国内学会
教育講演

1. 古川福実：皮膚と消化管. 第103回日本皮膚科学会, 2002.4.16. 京都
2. 山本有紀：ケミカルピーリングによる皮膚がんの治療. 第103回日本皮膚科学会, 2002.4.16. 京都
3. 古川福実：ミニレクチャー：ガイドラインに沿ったケミカルピーリング

治療. 第55回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2004.9.11-12. 金沢
シンポジウム

1. 古川福実：ケミカルピーリングへの皮膚科医のスタンス、第20回日本臨床皮膚科医会近畿支部学術学会, 2002.7.11. 大阪

2. 大谷稔男：シンポジウム 薬疹の遺伝子診断. 第55回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2004.9.11-12. 金沢

全国学会

1. 岸岡亜紀子、山本有紀、古川福実、久保健太郎、黒柳能充：培養真皮が有効であったSLEの難治性下腿潰瘍、第27回皮膚脈管膠原病研究会、2004.1.29-30. 奈良

2. 貴志知生、豊澤聖子、櫻根幹久、古川福実：エコーガイド下エタノール注入療法で転移病変の著明縮小が得られた悪性黒色腫の1例、第22回日本臨床皮膚外科学会学術大会、2004.2.28. 大阪

3. 山本有紀、上出康二、古川福実：グリコール酸の長期塗布による組織学的検討、第22回日本臨床皮膚外科学会学術大会、2004.2.28. 大阪

4. 池田高治、古川福実：皮膚硬化モデルマウスに対するエトレチナートの効果. 日本研究皮膚科学会第29回年次学術大会・総会, 2004.4.14-16. 京都

5. 酒井亜紀、山本有紀、上出康二、古川福実：ケミカルピーリングにおけるヒト表皮ランゲルハンス細胞の変化. 日本研究皮膚科学会第29回年次学術大会・総会, 2004.4.14-16. 京都

6. 西出武司、大谷稔男、古川福実：MRP/lprマウスの皮膚におけるサイトカインの解析. 日本研究皮膚科学会第

- 29回年次学術大会・総会, 2004.4.14-16. 京都
7. 大谷稔男、古川福実、戸田憲一：ヒドラジン¹はマウス皮膚由来血管内皮細胞株のアポトーシスを誘導する。日本研究皮膚科学会第29回年次学術大会・総会, 2004.4.14-16. 京都
8. 山本有紀、上出康二、古川福実：グリコール酸のヒト皮膚におよぼす組織障害性と創傷治癒機転。第29回日本研究皮膚科学会, 2004.4.14-16. 京都
9. 南 好美、上出康二、佐川和則、木村章彦、辻 力、古川福実：新しいエクリン汗腺の抗原dermcidin。第29回日本研究皮膚科学会, 2004.4.14-16. 京都
10. 酒井亜紀、浜野理佐、岸岡亜紀子、米井 希、山本有紀、古川福実：ケミカルピーリングによるざ瘡の治療効果とSTAI。第103回日本皮膚科学会, 2002.4.16-18. 京都
11. 岡本勝行、浜野理佐、岸岡亜紀子、櫻根幹久、山本有紀、上出康二、古川福実：和歌山医大における皮膚悪性腫瘍に対するセンチネルリンパ節生検。第103回日本皮膚科学会, 2002.4.16-18. 京都
12. 岸岡亜紀子、岡本勝行、上中智香子、西出武司、山本有紀、古川福実、久保健太郎、黒柳能光：同種培養真皮を用いて加療した難治性皮膚潰瘍の4例。第103回日本皮膚科学会, 2002.4.16-18. 京都
13. 米井 希、山本有紀、上中智香子、岸岡亜紀子、酒井亜紀、古川福実：尋常性ざ瘡に対するグリコール酸ケミカルピーリングと抗生剤療法の比較。第103回日本皮膚科学会, 2002.4.16-18. 京都
14. 池田高治、古川福実：エトレチナートの皮膚硬化モデルマウスへの効果。第16回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2004.3.12-14. 群馬
15. 酒井亜紀、岸岡亜紀子、山本有紀、上出康二、古川福実、上中智香子、金原彰子、大原國章：左胸部に発生した巨大腫瘍の1例。第20回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会, 2004.5.14-15. 熊本
16. 山本有紀、上出康二、古川福実：トリクロロ酢酸 (TCA) とフェノールのヒト皮膚に対する障害性の検討。第5回光老化研究会, 2004.7.9. 青森
17. 大谷稔男、古川福実、戸田憲一：薬剤によるマウス皮膚由来血管内皮細胞株 (F-2)の細胞死誘導についての検討。第34回日本皮膚アレルギー学会, 2004.7.18. 富山
18. 中村智之、古川福実、村垣泰光、大島 章：Tricho-rhino-phalangeal syndromeにおける毛髪発育異常の発症機序解明の試み -Trps1ノックアウトマウスを用いて-。第34回日本皮膚アレルギー学会, 2004.7.18. 富山
19. 池田高治、古川福実：皮膚硬化マウスに対するエトレチナートの軟化作用の検討。第55回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2004.9.11-12. 金沢
20. 木村文子、上出康二、豊澤聖子、向山弘展、貴志知生、山本有紀、古川福実、加川志津子、黒柳能光：熱傷患者に使用した培養真皮の有用性。第55回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2004.9.11-12. 金沢
21. 豊澤聖子、岡本勝行、上出康二、古川福実、島影達也：発症40年後に肺転移で死亡した類上皮肉腫の1例。第55回日本皮膚科学会中部支部学術

大会, 2004.9.11-12. 金沢

22. 中村智之、村垣泰光、大島 章、古川福実: Tricho-rhino-phalangeal syndromeにおける毛髪発育異常の発症機序解明の試み. 第54回日本アレルギー学会, 2004.11.4-6. 横浜

23. 大谷稔男、古川福実、戸田憲一: ヒピララジンによるマウス皮膚由来血管内皮細胞株(F-2) のアポトーシス誘導. 第54回日本アレルギー学会, 2004.11.4-6. 横浜

24. 池田高治、西出武司、大谷稔男、古川福実: MRLマウスの皮膚に対するビタミンA酸誘導体etretinateの効果. 第34回日本免疫学会総会・学術集会, 2004.12.1-4. 札幌

25. 西出武司、吉益 隆、池田高治、瀬尾尚宏、大谷稔男、古川福実: ループモデルマウスの皮膚病変におけるサイトカイン産生. 第34回日本免疫学会総会・学術集会, 2004.12.1-4. 札幌
地方学会

1. 西出武司、山本有紀、大谷稔男、古川福実、太田智秋: 頭部血管肉腫の1例. 第381回日本皮膚科学会大阪地方会, 2004.2.7. 大阪

2. 上出康二: 平成15年度皮膚がん無料相談のまとめ. 第12回和歌山県皮膚科医会, 2004.3.13. 和歌山

3. 山本有紀: ロボスキンアナライザーの導入について. 第12回和歌山県皮膚科医会, 2004.3.13. 和歌山

4. 山本有紀: Aesthetic dermatology, where are we now?. 第13回和歌山県皮膚科医会, 2004.10.02. 和歌山

5. 豊澤聖子、喜志知生、櫻根幹久、古

川福実: エタノール注入療法で転移病変の縮小が得られた悪性黒色腫の1例. 第382回日本皮膚科学会大阪地方会, 2004.3.28. 大阪

6. 酒井亜紀、上出康二、古川福実: Tailgut cystの1例. 第383回日本皮膚科学会大阪地方会, 2004.5.8. 大阪

7. 豊澤聖子、大谷稔男、古川福実、田村 彰、上村 茂: 心嚢液貯留を呈した小児強皮症の1例. 第384回日本皮膚科学会大阪地方会, 2004.7.3. 奈良

8. 中瀬幸穂、貴志知生、古川福実: Spiradenomaの1例. 第385回日本皮膚科学会大阪地方会和歌山地区会, 2004.9.25. 和歌山

9. 酒井亜紀、山本有紀、上出康二、古川福実、木村明彦: 皮膚腫瘍におけるABO式血液型基幹糖鎖アイソタイプの発現. 第385回日本皮膚科学会大阪地方会和歌山地区会, 2004.9.25. 和歌山

10. 向井舞子、池田高治、大谷稔男、古川福実、中尾大成: 抹消血好酸球増多を伴ったメシル酸ガベキサート(FOY)によると考えられた皮下硬結の1例. 第385回日本皮膚科学会大阪地方会和歌山地区会, 2004.9.25. 和歌山

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成16年度 分担研究報告書

MPO-ANCA 関連血管炎における CD69⁺好中球の動態に関する研究

分担研究者 湯村和子 東京女子医科大学 助教授

協力者

東京女子医科大学 第四内科、*国立感染症研究所 生物活性物質部

板橋美津世、内田啓子、新田孝作、鈴木和男*

研究要旨

顕微鏡的多発血管炎で好中球活性化マーカーを測定し、変動を認め、今後経過を追った検討が重要である事が明らかになった。

A. 研究目的

血管炎の患者の血液中には MPO 活性の上昇と共に活性化好中球が循環していることが川崎病や腎炎患者好中球の機能解析から明らかになっており、急速進行性半月体形成腎炎のモデルである SCG/Kj マウスにおいても、腎炎発症には活性化好中球の関与が指摘されている。

また、炎症などで T,B 細胞、単球、好中球に発現する CD69⁺分子が、近年慢性関節リウマチ患者の血中好中球表面に発現しているという報告がある。

今回、我々は MPO-ANCA 関連血管炎患者において好中球の活動性指標として CD69⁺好中球を測定し、臨床病態との関連を検討した。

B. 研究方法

MPOANCA 関連血管炎患者の末梢血をフローサイトメトリーにて解析し、CD69 陽性好中球を検出した。顆粒球、

マクロファージに陽性となる CD11b 陽性細胞と CD69 陽性細胞を two color analysis にて分析した。

（倫理面への配慮）

リンパ球サブセットの採血時他の表面マーカーの検索する事の了解を得て採血した。

C. 研究結果

【結果】症例1：79歳女性。2004年3月より乾性咳嗽、37度台の発熱、体重減少が出現、CRP11と上昇し、次第に紫斑、Creatinine1.6mg/dlと腎機能障害が出現した。MPO-ANCA197と高値であり、ANCA 関連血管炎と診断した。PSL30mg(0.6mg/kg/day)を開始したところ、CRP、MPO-ANCAは速やかに陰性化し、BVASは24点(全身症状、紫斑、血尿、蛋白尿、Creatinine上昇、単神経炎)から0点となり、Creatinineは徐々に低下した。CD69⁺好中球はPSL治療前、1ヵ月後、3ヵ月後に測定した。

CD69⁺好中球は治療前が 8.5%、治療 17 日後に 63%とさらに上昇し、治療 3 ヶ月後に 4.4%に低下した。

CD69⁺好中球と臨床経過を対比させてみると、CD69 陽性好中球は、PSL 治療開始後上昇し、その後正常化しており、MPO-ANCA、CRP の改善に遅れて低下する傾向がみられた。

症例 2 : 69 歳女性。生来健康であったが、2004 年 5 月より頸部痛と 38 度の発熱、乾性咳嗽を認め、抗生剤を内服するも改善せず、6 月 9 日当科初診。尿蛋白 (+)、尿潜血 (3+)、CRP 22mg/dl、白血球 22300/ μ l と上昇し、Creatinine も徐々に 1.8mg/dl まで上昇し当科入院となった。入院後、腎生検を施行し、半月体形成性腎炎、細動脈から小葉間動脈にかけて広範囲に壊死性血管炎を認め、MPO-ANCA 194 と上昇、間質性肺炎を伴っていることから、ANCA 関連血管炎と診断した。ステロイドパルス療法、PSL40 mg の投与を開始し、CRP は陰性化し BVAS は 16 点 (全身症状、間質性肺炎、蛋白尿、血尿、Cre 上昇) から陰性化し、MPO-ANCA92 まで低下したが、Creatinine3.2mg/dl と高値持続したためシクロフォスファミド 500 mg のパルス療法を施行した。その後、ミゾリビン 100mg も併用し、ANCA は陰性化し、Creatinine も徐々に低下してきた。CD69⁺好中球は治療

前と開始後 1 ヶ月、2 ヶ月に測定した。CD69⁺好中球は、治療前は 11%と軽度上昇していたが、治療と共に 1 ヶ月後 5.7%、2 ヶ月後 1.5%と低下した。これは CRP や MPO-ANCA の低下とほぼ同様の経過であった。

症例 3 : 60 歳男性。2004 年 6 月より尿潜血 (3+)、尿蛋白 (+) となり 9 月には Cre1.9mg/dl と上昇し当科入院となった。腎生検の結果、半月体形成性腎炎を認め、MPO-ANCA170 と上昇しており、ANCA 関連腎炎と診断した。10 月ステロイドパルス療法後 PSL50mg を投与し

Creatinine1.6mg/dl まで低下したが、更なる Creatinine の低下を期待し、12 月ステロイドセミパルスを施行した。CD69⁺好中球は、ステロイドパルス、セミパルス治療前後で合わせて 4 回測定した。CD69⁺好中球は治療前が 6.4%、ステロイドパルス 1 ヶ月後には 13.6%と軽度上昇し、2 ヶ月後には 14.7%、その後セミパルス療法を施行し 1 週間後には 10.2%と軽度低下した。

D. 考察

- 1、ANCA 関連血管炎において、CD69⁺好中球の出現を認めた。
- 2、CD69⁺好中球は治療前後で変動したが、その意義は不明であった。
- 3、CD69⁺好中球は全好中球数の推移とは無関係であり、CRP や MPO-ANCA の推移との関連が予想された。

4、CD69+好中球は好中球の活性化指標になりうる可能性がある。

E. 結論

顕微鏡的多発血管炎患者においては、CRP 上昇のみならず、白血球や好中球増加する事が知られている。ANCA 上昇と関連がある好中球の活性化の状態は好中球の増多のみでは判断する事はできない。今回、好中球の表面マーカーとして CD 6 9 の測定が可能である事を確認し、今後を検討するの意義を検討できる事が確認できた。

G. 研究発表

好中球の CD 6 9 表面マーカーの発表は今回が初めてである。

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

MPO-ANCA関連血管炎における CD69⁺好中球の動態

東京女子医科大学第四内科、国立感染症研究所生物活性物質部*
○板橋美津世、湯村和子、内田啓子、鈴木和男*、新田孝作、
二瓶宏

研究分担者：湯村和子

はじめに

炎症などでT,B細胞、単球、好中球に発現するCD69⁺分子（タイプII膜貫通型C型レクチン糖蛋白）が、最近、関節リウマチにおいて好中球表面に発現しているという報告がある。

Yu,et.al.J.Immunology.166:1360-1369,2001

F.Atzeni. Et.al,Clinical and experimental Rheumatology 22:231-334,2004

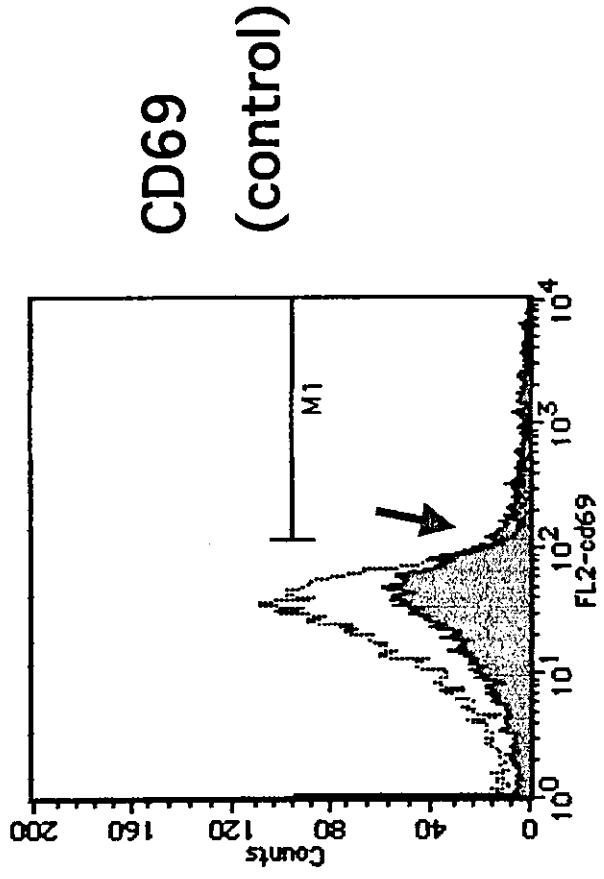
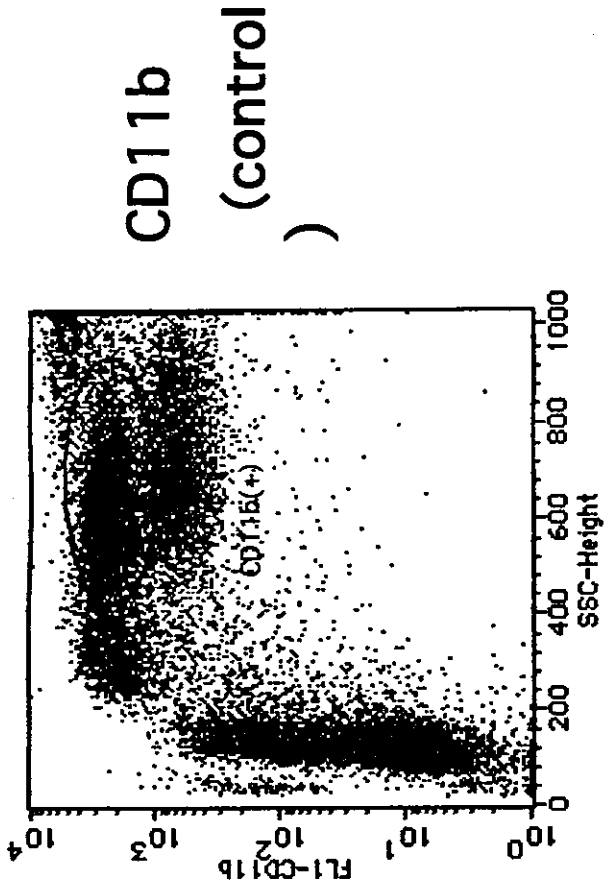
血管炎の発症においては抗好中球細胞質抗体（ANCA）と共に活性化好中球の関与が指摘されている。

今回、MPO-ANCA関連血管炎患者において好中球の活動性指標としてCD69⁺好中球を測定し、臨床病態との関連について検討した。

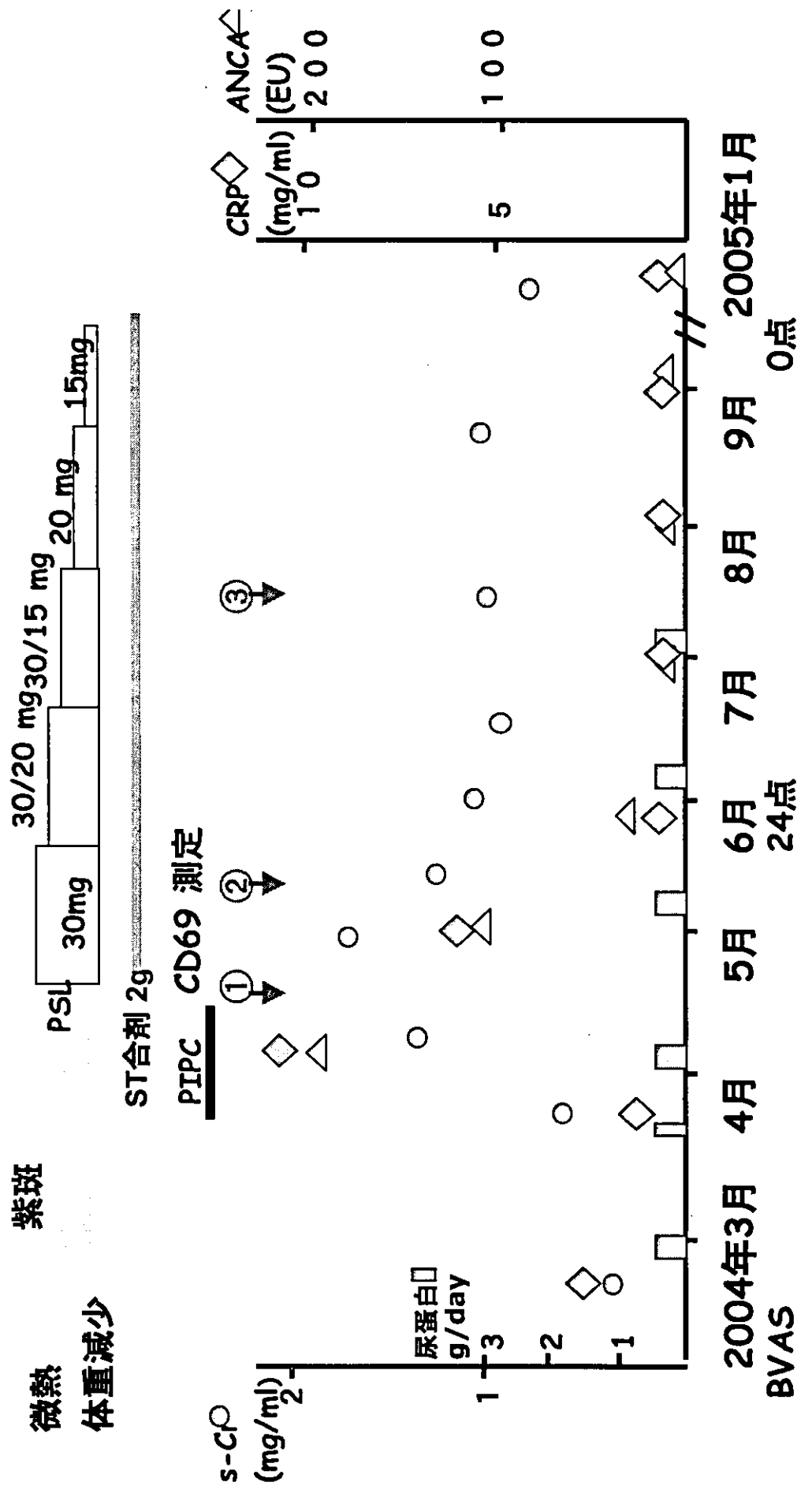
方法

MPO-ANCA関連血管炎患者の末梢血をFACS解析し、CD69⁺好中球を検出した。

CD11b陽性細胞（顆粒球、マクロファージ）とCD69陽性細胞をtwo color analysisにて分析した。



症例 1 79歳 女性



症例 1 臨床症候とBVASの経過

	初発時	治療開始1ヵ月後	治療開始3ヶ月後
1)全身症状	発熱(38度):1 体重減少(4kg/月):3	なし	なし
2)皮膚症状	紫斑:2	なし	なし
3)粘膜・眼症状	なし	なし	なし
4)耳鼻咽喉頭病変	なし	なし	なし
5)胸部	なし	なし	なし
6)心血管	なし	なし	なし
7)腹部	なし	なし	なし
8)腎	蛋白尿(0.19g/day) 血尿(RBC 5-9) Cre増加10%以上:12	蛋白尿(+) 血尿(RBC 5-9) Cre 1.15mg/dl:0	蛋白(-) 血尿(RBC 5-9) Cre 0.94mg/dl:0
9)神経系	単神経炎:6	単神経炎:0	なし
BVAS	24	0	0