

血管炎症候群と抗ペルオキシレドキシシン抗体

加藤智啓

聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター

血管炎症候群において、高頻度に検出される抗内皮細胞抗体が、血管内皮細胞に直接結合による障害を通して血管炎を発症する機序が考えられている。従って抗内皮細胞抗体の種類とそれによる内皮細胞障害の機序を解明すれば、血管炎の病態進行を防げると考えられる。しかしながら、現状では、抗内皮細胞抗体の対応抗原が詳しく特定されていないために、障害機序を分子レベルで解明できない。我々はプロテオミクスを用いて抗内皮細胞抗体の標的抗原の網羅的同定を行った。その結果、抗内皮細胞抗体の標的抗原候補を約50個検出した。Mass finger-printingにより、そのうち一部の蛋白名を同定した。同定された内皮細胞特異的自己抗原のうち、内皮細胞の酸化ストレスに対する防御を行う抗酸化酵素ペルオキシレドキシシン Prx II について、組換え蛋白を作成し PrxII に対する自己抗体の血管炎特異性と感受性について、ELISAによる検討を行った。その結果、血管炎患者の68%が本自己抗体を有し、かつ、血管炎を有しない膠原病患者では10%以下であり、抗 PrxII 自己抗体が血管炎に特異的な自己抗体であることが判明した。

これとはまったく別のアプローチから既に我々は抗酸化酵素の1つである Prx I およびIVについて、自己抗体の存在と臨床的意義を検討していたが、種々の自己免疫疾患患者で検出され、抗 Prx I 自己抗体は患者群の33%、健常者群の4%で陽性であり、陽性患者では、血清補体価は低値、血清 IgG 値は高値であった。抗 PrxIV 自己抗体の陽性率は患者群17%、健常者群0%で、臨床所見との相関は認められなかった。そなわち、抗 Prx I および IV 抗体は特に血管炎との関連がないことが判明した。これらのことから、調べた3種の Prx の中で PrxII のみが血管炎と関連していることが判明した。今後、診断的意義と病院論的意義についてさらに検索していきたい。

顕微鏡的多発血管炎における HLA および KIR 遺伝子群の関連の解析

土屋尚之¹、宮下リサ¹、屋部登志雄²、川崎綾¹、小林茂人³、橋本博史³、
尾崎承一⁴、徳永勝士¹

¹東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学、²東京都赤十字血液センター、
³順天堂大学膠原病内科、⁴聖マリアンナ医大リウマチ・膠原病・アレルギー
内科

われわれは昨年までに、日本人顕微鏡的多発血管炎(MPA)における HLA-DRB1*0901-DQB1*0303 ハプロタイプの関連を報告してきた。本年度は、HLA 領域における疾患感受性領域を特定するために、HLA-B, C および DPB1 の検討を行うとともに、あわせて、HLA-class I をリガンドとし、NK 細胞や T 細胞に活性化あるいは抑制性シグナルを伝達する killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) 遺伝子群の関連を検討した。

HLA 領域では、DRB1*0901-DQB1*0303 とハプロタイプを形成する対立遺伝子のうちで、DPB1*0201, C*0303, B*15111 の増加傾向が観察され、うち、遺伝子頻度は低いものの、B*15111 の MPA における有意な上昇が観察された。また、DRB1*0901-DQB1*0303-DPB1*0201 ハプロタイプのオッズ比は、DRB1*0901, DQB1*0303 単独より高い傾向が認められた。以上の結果から、MPA 疾患感受性における HLA 領域遺伝子の寄与は主として DR-DQ 領域によって説明しうるものの、ほかの HLA 領域遺伝子座の寄与も存在する可能性が示唆された。

KIR 遺伝子群の検討では、活性化型である KIR2DS1 遺伝子を有する頻度が MPA において低い傾向が認められた。次に、HLA リガンドと KIR 遺伝子の組み合わせについて検討したところ、HLA-Bw4 とそれに対応する抑制型の KIR3DL1 が陽性かつ活性化型の KIR3DS1 が陰性の群が MPA に多い傾向が認められた。以上の結果は、HLA 分子からの抑制シグナルが KIR を介して伝達される一方で活性化シグナルが減弱することが MPA の疾患感受性に関連する可能性を示唆し、今後、症例数を増やした検討が必要と考えられた。

平成 16 年度 大型血管炎臨床分科会研究報告書

臨床分科会会長 安田慶秀 北海道大学大学院循環病態学講座循環器外科教授

以下の 4 項目について、調査研究を行い、おおむね目標を達成し。

1. バージャー病の長期予後調査

血管外科学会との共同研究で、547 名（50 施設）に対しアンケートちょうさをおこなった。

対象：男性 503 例、女性 44 例、発症時年齢 42.6 歳（18～77 歳）、観察期間 15.7 年（最長 51 年）、喫煙歴 有り 519 例、無し 25 例、不明 3 例

結論：Buerger 病症例の肢保護には、初診後の禁煙を徹底し、保存的治療が有効でない症例に対しては、交感神経切除・血行再建術などの外科治療が有用である。

2. 炎症性動脈瘤の遠隔成績調査

全国調査を行い 213 手術症例について解析し以下の結論を得た

1. 周術期死亡率が高い：16/213（7.5%）
2. 周術期合併症率が高い
3. 晩期合併症（術後瘤化、グラフト閉塞など）発生頻度が高い
4. 本症の診断、外科治療の特異性について啓発活動を行う必要がある

3. FDG-PET を用いた高安動脈炎活動性直接評価法の確立

- 目的：炎症巣に[Fluorine-18] labeled fluoro-deoxyglucose (FDG) が集積することを利用した TA の直接評価
- 方法：TA、急性期、慢性期、再燃例を用いて FDG-PET を施行、CT との合成像により解剖学的評価を行う
- 結果：急性期例、再燃例で大動脈への FDG の取り込みを認めた
- 結論：本症の早期診断、治療効果判定、再燃例での診断に有用であることが示唆された
- 課題：臨床の現場にフィードバックし、多数例で検証する必要があり、財政処置を考慮し推進するのが課題である

4. バージャー病を対象とした AMG0001(HGF 遺伝子プラスミド)の一般臨床試験

目的：バージャー病重症虚血肢における HGF 遺伝子プラスミドを用いた遺伝子治療の確立

成果：

- ①. 病態および虚血評価法の客観的評価基準確立：従来に虚血肢評価法に加え、RI による組織血流測定法、TcPO₂ による評価法
- ②. 治験の実施：リストアップ19例、治験開始7，脱落4，進行中3
- ③. 治験進捗状況：リストアップ19例、治験開始7，脱落4，進行中3

潰瘍を有する Buerger 病症例の検討—全国アンケート調査結果から—

重松邦広、重松宏、宮田哲郎、安田慶秀
東京大学血管外科、手術部、北海道大学循環器外科

Buerger 病の新規発生患者数は減少してきているが、依然として重症虚血肢として外来を新規に受診する症例は絶えることはない。潰瘍を有する Buerger 病症例の初期治療にあたり大切断を避け、できる限り肢機能を残すことが重要である。

方法：日本血管外科学会評議員が勤務する施設で加療されている Buerger 病症例についてアンケート調査を行い、その中で発症時症状に潰瘍を呈した症例を対象に検討を行った。

結果：50 施設より 547 名のアンケート結果を得た。このうち発症時に上肢潰瘍を認めた症例は 40 例、下肢に潰瘍を認めた症例は 190 例であった。上肢潰瘍症例では大切断は認めず指切断に代表される minor amputation 4 例であった。アンケート回収時潰瘍残存症例は 4 例であり、36 例には潰瘍を認めなかった。外科的治療としては胸部交感神経切除が 19 例に行われており、バイパス術は行われていなかった。その他の症例は主として禁煙と抗血小板剤による保存的治療が行われていた。一方、下肢潰瘍症例は大切断が 22 例に施行され、minor amputation は 62 例に施行されていた。外科治療として交感神経切除術が 117 例に、バイパス術が 57 例に施行されておりうち 44 例には両者が施行されていた。外科手術被施行症例では喫煙歴に関しては上肢潰瘍症例で発症時 39 例に喫煙歴を認めたが、アンケート調査時には 12 例のみに喫煙者を認めた。下肢潰瘍症例では発症時 182 例に喫煙歴を認めたが、アンケート調査時には 26 例のみに喫煙者を認めた。

まとめ：潰瘍を呈する Buerger 病症例においても、禁煙を中心とした保存的治療法のみにおいて多くの症例で症状は軽減し潰瘍が治癒した。特に上肢潰瘍症例は保存的療法が有効であった。下肢潰瘍症例では重症例も多く、切断症例も上肢に比べて多く認められた。重症症例に対しては、外科的治療としての交感神経切除ならびにバイパス術を考慮し、単独では十分な治療効果のない場合には組み合わせることも考慮するべきである。

重症難治性虚血肢・心に対する血管再生治療
—自己骨髓幹細胞移植及び DDS 徐放化蛋白質による総合的治療戦略—

日本医科大学第 1 内科

○ 宮本正章, 安武正弘, 高野仁司, 高木 元, 加藤浩司, 太良修平,
大坪春美, 高野照夫

① 自己骨髓幹細胞移植による血管再生治療 : 他治療無効な難治性慢性動脈閉塞症である Buerger 病, 全身性強皮症(PSS), 閉塞性動脈硬化症(ASO), 糖尿病性潰瘍 壊疽に対して現在まで 25 例実施した(全国 4 施設目として高度先進医療承認). ^{99m}Tc -TF perfusion scintigraphy により平均 19%の血流増加を認め(Cell Transplant 13,429-437,2004), 自覚症状・他覚所見の著明な改善を示したが, 重症糖尿病壊疽症例 2 例では患肢切断を余儀なくされた. ② 自己骨髓幹細胞浸透人工真皮を用いた新しい創傷治療法の開発 : 重症虚血肢に対する治療を専門科にとらわれず創傷治療まで含めトータルに考え, 自己骨髓幹細胞浸透人工真皮を用いた新しい創傷治療法を開発し, 1 年以上他大学病院にて治療不能であった糖尿病性壊疽・潰瘍患者 4 例に応用し(1 例は血液透析中), 3 例において難治性壊疽・潰瘍がきれいに治癒した(Complication 8,31-37 2003), ③ 重症難治性慢性冠動脈疾患に対する自己骨髓幹細胞移植による血管再生治療 : これら良好な結果を基盤として他療法無効な重症虚血性心疾患(重症狭心症, 虚血性心筋症)に対しても CABG との併用下或いは非併用単独治療として心筋内直接注入法により 8 例実施し, 自覚的(SF-36 を使用)にも他覚的にも心不全, 狭心症状が著明に改善し, ^{99m}Tc -MAA SPECT により明らかな血流増加を認めた. ④ DDS 徐放化 b-FGF (塩基性繊維芽細胞増殖因子) microsphere 浸透人工真皮を用いた創傷治療法 : 細胞による血管再生治療のみならず, 低コストで侵襲の極めて少ない, 虚血部位への注射のみで治療可能な新しい血管再生治療として, biodegradable な担体により増殖因子を徐放化し, これをさらに人工真皮テルダーミス® に浸透させた新しい創傷治療法を開発した. 獣医学臨床分野において 15 歳猫の難治性肩甲部潰瘍が治癒し, 11 ヶ月ボルゾイ犬の胸部難治性潰瘍も治癒し, 極めて良好な結果を得ている. ⑤ 「医療用無菌ウジによる難治性潰瘍・壊疽治療」 : 付属病院倫理委員会承認のもと, わが国 2 施設目となる「医療用無菌ウジによる難治性潰瘍・壊疽治療」を平成 16 年 12 月 8 日より開始した. これは, 2004 年 1 月 FDA で生体材料として承認され, 糖尿病患者等の虚血肢に生じた抗生剤耐性菌を有する重症難治性壊疽を医療用ウジにより biological debridement を行う画期的 limb salvage 法である.

難治性血管炎に関する調査研究

大型血管炎の臨床研究

分担研究者：大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学
教授 森下竜一

【目的】 遺伝子導入による血管新生療法の開発を目的とする。すでに肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor: HGF) 遺伝子を用いた閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対する遺伝子治療臨床研究を実施しており、今回その長期における安全性・有効性の評価を継続するとともに、新しい血管新生遺伝子治療として PGIS 遺伝子・ets 遺伝子に注目し、その基礎的検討を行う。

【方法】 閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対する遺伝子治療臨床研究では Fontaine IIb, III, IV の重症虚血肢 22 症例 (ASO14 例、TAO8 例) を対象とした。naked plasmic DNA の筋肉注射により遺伝子 (4mg : 14 例、8mg : 8 例) を導入し、安全性・有効性について 2 年間の追跡調査を行った。新しい治療戦略開発のため、マウス、ラット下肢虚血モデルを作成し、PGIS 遺伝子・ets 遺伝子を下肢筋肉に導入し、血流改善効果とそのメカニズムについて検討した。

【結果および考察】 遺伝子治療臨床研究において遺伝子投与に起因する重篤な有害事象は確認できず、臨床上許容範囲と考えられた。バージャー病 8 症例に関しては 3 例ドロップアウト (1 例死亡・1 例 minor amputation・1 例患者希望によりドロップ) したものの、残り 6 症例に関して症状の増悪はなく、遺伝子投与後 2 ヶ月における初期効果を維持あるいはさらなる改善が認められた。プラセボを設定していないため、厳密な有効性評価は困難であり、今後 PHASE III において検討される。

さらにマウス下肢虚血モデルに対する PGIS/HGF 遺伝子の共導入は HGF 単独群に比し有意な血流改善効果を示し、血管拡張作用を有する PGIS 遺伝子を用いた治療の可能性が示唆された。さらにラット下肢虚血モデルに対する ets 遺伝子の導入は転写因子 ets により制御される HGF, VEGF の過剰発現を惹起し、さらに ets そのものの内皮細胞遊走作用・管腔形成作用を伴って強力な血流改善効果を示した。HGF, VEGF の中和抗体によりこの作用は阻害され、ets に誘導される growth factor の作用が主たるメカニズムと考えられた。

【結論】 HGF 遺伝子治療の安全性・有用性は臨床研究において示唆された。さらに PGIS 遺伝子・ets 遺伝子は虚血性疾患に対する新しいターゲット遺伝子としての可能性が示唆された。

高安動脈炎に対する外科治療成績

北海道大学大学院循環病態学講座循環器外科

安田慶秀、国原 孝

20年間に23例の高安動脈炎に対し30回の外科治療を経験した。閉塞病変は弓部分枝が6例8手術、冠動脈、異型大動脈縮窄症、腎動脈が各2例。拡張病変は全弓部、遠位弓部、胸腹部が各2例、下行、腹部が各3例。大動脈弁閉鎖不全の6例に弁置換施行(基部2例)。末梢動脈瘤は2例(4例重複)。在院死は早期の1例、遠隔死2例で10年累積生存率は64.1%、5年心血管事故回避率は72.7%と満足すべき成績が得られた。

本邦に於ける MPO-ANCA 関連血管炎の標準的治療法の確立をめざして

中林公正、吉田雅治、小林茂人、山田秀裕、吉田俊治、湯村和子、津坂憲政、
古川福実、吉田勝美

目的：中・小型血管炎の臨床分科会では MPO-ANCA 関連血管炎の本邦に於ける標準的治療法を確立することを目的とした。

対象と方法：対象症例は分科会員及び協力施設の症例とした。治療方針に関しては、難治性血管炎の橋本班時の 2001 年の ANCA 関連血管炎の治療方針を基本として、最近の臨床成績を参考にして、新しい治療案を作成した。さらに、進行性腎障害班、免疫疾患の合併症班と討議し最終案を作成した。

成績：治療方針案を 3 重症型（重症型、最重症型、軽症型）に分類し、夫々の重症度に対する治療方針を決定した。重症例は全身性血管炎型（3 臓器以上の障害）、肺腎型、RPGN 型とした。最重症例はび慢性肺出血型、腸管穿孔型、睪炎型、脳出血型、抗 GBM Ab 併存型、重症例の治療抵抗型とした。軽症例は腎限局型、肺線維症型、その他型とした。重症例は MPSL パルスを施行し後療法として PSL 0.6~1.0 mg/kg/日を投与する。治療開始 4 週間以内に経口 CY 0.25~2.0 mg/kg/日を投与するか IVCY 0.5~0.75 g/m²を投与する。尚、Cr 1.8 mg/dl や 60 歳以上の症例では CY の投与量を 75~50%に減量する。初期治療を 1 ヶ月間以上施行し、以降漸減する。経口 CY 投与は 6 ヶ月間以内、IVCY は 6 回以内とする。最重症例では重症症例の治療と共に PE (2.0~3.0 l × 3 日間) を早期に施行する。RPGN 型は進行性腎障害班の臨床学的重症度分類、年齢、透析の有無により重症度を分類し、PSL と CY 投与量を調節して投与する。軽症例は PSL 0.3~0.6 mg/kg/日で治療する。尚、治療時は感染症の risk が高まるので、Bakter を 2T/日 × 2 回/wk か連日 1T/日を投与する。以上の治療方針で治療し、後日解析を行う。

結語：3 年間で症例を集積し解析を行う。

MPO-ANCA 関連血管炎症例の臨床病型と生命予後、死因の臨床的解析

杏林大学第一内科 中林公正、有村義宏、関内真紀穂、山田 明

目的：杏林大学第一内科で 1987～2004 年に治療した MPO-ANCA 関連血管炎 67 例の臨床病型と死亡時期、死因との関連性について検討した。

対象症例と方法：MPO-ANCA 陽性で入院治療を施行した症例で、臨床病型を腎限局型、肺腎型、全身型、その他型に分類した。各病型の死亡症例数、死因、死亡時期について検討した。

成績：腎限局型 26 例、肺腎型 14 例、全身型 11 例、その他型 16 例。死亡症例数及び死亡率 (%) は、各々腎限局型 1 例・4%、肺腎型 7 例・50%、全身型 6 例・55%、その他型 1 例・6%であった。全症例では 19 例の死亡、22%の死亡率であった。死因及び疾患罹病期間は、各々腎限局型は脳出血 1 例・18 ヶ月、肺腎型は肺出血 3 例、感染症 3 例・3 ヶ月 (0.5～6 ヶ月)、全身型は GI 出血 3 例、動脈瘤 1 例、肺出血 1 例、感染症 1 例・3 ヶ月 (2～5 ヶ月) その他型は感染症 1 例・24 ヶ月であった。死亡時期と死因との関連性では、発症直後の死亡は 2 例で、2 例とも血管炎そのものによる死亡であった。発症後 6 ヶ月以内の死亡は 9 例で、血管炎死 6 例、感染症死 3 例であった。発症後 2～3 年の死亡は 3 例で、いずれも再発時の死亡で、血管炎死は皆無でいずれも感染症死であった。発症後 2 年以降で再発時以外の死亡症例は 5 例で、死亡原因は血管炎 0 例、感染症 2 例、悪性腫瘍 3 例であった。

考案・結語：肺腎型、全身型は死亡率が 50%でありかつ発症診断後 3 ヶ月前後に死亡していた。その死因は血管炎が 6 割、感染症が 4 割であった。腎限局型、その他型の死亡率は 5%であり死亡時期も 2 年前後であった。2 年以上経過の症例では、血管炎はなく感染症死 2 例と悪性腫瘍死が 3 例認められた。

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4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、新田孝作、鈴木和男*、二瓶宏
研究分担者：湯村和子

MPO-ANCA 関連血管炎の患者においては、様々な程度の MPO-ANCA 上昇は勿論であるが CRP の上昇、白血球や血小板の増多を認めることが多い。また、血管炎の発症進展には、抗好中球細胞質抗体や活性化した好中球の影響が考えられる。しかし、どの好中球が活性化指標となっているか不明である。最近、関節リウマチなどの自己免疫疾患において活性化した T、B 細胞に発現するタイプ II 膜貫通型 C 型レクチン糖蛋白 CD69 分子が好中球の膜表面に発現し、病態との関連が指摘され始めている。

今回、MPO-ANCA 陽性の急速進行性腎炎患者の疾患背景とかかわる末梢血の白血球や血小板の変化を検討すると共に、CD69 分子を発現する好中球に注目して動態を検討した。検討した対象患者では、治療直後 CD69⁺好中球は増加していたが、治療後 CRP 陰性化に伴って下降し、MPO-ANCA 下降傾向を認める約 1～3 ヶ月後には正常と思われる状態に改善していた。CD69⁺好中球の動態は治療の反応性を反映し、CRP および MPO-ANCA の動態と関連している可能性が考えられた。以上から、CD69⁺好中球は MPO-ANCA 関連血管炎の好中球の活性化指標になる可能性を示唆している。今後も症例を増やし検討する予定である。

高安動脈炎における抗内皮細胞抗体の免疫細胞化学的検討

玉熊桂子、吉田俊治 藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科

我々は、抗内皮細胞質抗体 (AECA) のうち抗 74KDa 抗体が高安動脈炎患者血清に高率に検出されることを報告してきた。今回、間接蛍光抗体法による免疫細胞化学的検討を試みた。

対象は高安動脈炎、膠原病関連疾患、対照として健常人 pool の血清を用いた。正常ヒト細胞の human umbilical vein cell (HUVEC)、単核球とヒト血球系腫瘍細胞 U937、Jurkat、HL60、K562 を培養し、披検血清を反応させた。2 次抗体 (Alexa Fluor 546 goat anti-human IgG) で反応後、3% paraformaldehyde で固定し DAPI 核染色を行なった。

高安動脈炎患者血清では細胞膜表面に強い顆粒上の染色像が見られた。膠原病関連疾患でも同様に膜表面に染色像が見られた。ただ疾患や用いた細胞により染色に差異が認められた。以上より、高安動脈炎患者血清に細胞膜表面に対する抗体の存在が確認された。

ANCA 関連血管炎及びアスペルギルス感染症の標的治療として ST 合剤は
有用である

吉田雅治¹、中林巖¹、渡邊妙子¹、吉川憲子¹、高良洋平¹、明石真和¹、
飛田俊介²、畔蒜 祐一郎²、江原 美里²、石橋健一²、大野尚仁²
東京医科大学八王子医療センター 腎臓内科、¹
東京薬科大学薬学部免疫学教室²

ANCA関連血管炎(AAV)の重篤な合併症であるアスペルギルス感染症(ASP)の予知、ST合剤の標的治療について明らかにする事を目的とした。アスペルギルスの細胞壁に存在するβグルカン(BG)を抗原とした特異的抗体(抗ASBG抗体)を、ELISAにより樹立し、健常人、AAV(ASPを含む)を測定した。ST合剤の抗Aspergillus(A)活性を測定するために、天然培地にSMX-TMP 5:1混和物を添加し、*A. fumigatus*を植菌し、コロニーサイズを測定し、ST合剤の作用を観察した。剖検にて肺、脳の深在性アスペルギルス(Asp)感染症を認めたMPO-ANCA関連血管炎症例に標的治療としてST合剤を投与した臨床経過について解析した。抗ASBG抗体は健常人に比較し、未治療期AAVは有意に低値を示し($P < 0.01$)、ASP併発時にはBGの上昇に加え抗ASBG抗体はさらに有意に低下したが($P < 0.01$)、ST合剤を含めた抗真菌療法によりがASP感染が回復すると抗ASBG抗体は速やかに上昇した。*A. fumigatus*はST合剤の濃度依存的にコロニーサイズが減少した。80歳男性、MPO-ANCA関連血管炎:MPO-ANCA 253 EU、S-Cr 6.7mg/dlとなり、HD導入となる。β-D glucanは38.1pg/ml、MPO-ANCAは285EUと上昇し、ST合剤の投与を開始したところMPO-ANCA 130EU、β-D glucan 7.7pg/mlと両者ともに改善し、透析を一時離脱しえた。しかし頭部に広範囲な脳梗塞を認め、多量の肺胞出血を認め、血漿交換療法を施行したが第49病日に死亡した。【剖検所見】脳の一部に血管炎を疑わせる細胞浸潤、皮質下壊死像を認め、ほぼすべての肺組織にASP肺炎像を認め、一部には血管壁への浸潤像を示した。腎ではほぼdiffuseに繊維性半月体を有する糸球体と硬化糸球体を認め。胆嚢に血管炎所見を認めた。今回の検討から、ST合剤のサルファ剤に抗真菌活性があることが示された。MPO-ANCA関連血管炎例の臨床経過の解析より、ST合剤の単独治療のみでMPO-ANCAが低下し、透析離脱を認めた時期があり、投与されていたST合剤が血管炎の活動性及び潜在的なASP感染の活動も抑制していた可能性がある。ST合剤が細菌だけでなく、真菌の予防投与としても利用できる可能性が示唆され、AAVに対するST合剤は血管炎に対する免疫抑制療法及びASPの標的治療一つとして有効と考えられた。

Myeloperoxidase (MPO) 反応性 T 細胞クローンの樹立およびフェノタイプ解析

- 瀬田範行 1) 2) 、桑名正隆 2)、田嶋美智子 1)、小林茂人 1)、橋本博史 1)
1) 順天堂大学膠原病内科、2) 慶応義塾大学先端医科学研究所

[目的] 私たちはこれまで MPO-ANCA 関連血管炎患者で MPO 反応性 T 細胞の存在を報告してきた。そこで、細胞をさらに詳細に検討するため、T 細胞クローンを樹立し、そのフェノタイプを調べた。

[方法] MPO-ANCA 陽性血管炎患者 3 例と健常人 1 例の末梢血 T 細胞を IL-2 の存在下で MPO の全長をカバーする 3 種のリコンビナント蛋白 (L: 軽鎖の全長 112 アミノ酸残基、HI: 重鎖 N 末端側の 227 アミノ酸残基、HII: 重鎖 C 末端側の 260 アミノ酸残基) で繰り返し刺激し、限界希釈により MPO 反応性 T 細胞クローンを樹立した。抗原刺激により誘導される増殖反応は ³H-Thymidine を用いて検出した。得られた T 細胞クローンの CD4/CD8 フェノタイプ、HLA 拘束性、サイトカイン分泌能を調べた。また、TCR β の塩基配列を解析し CDR3 上の共通するアミノ酸モチーフを調べた。

[結果] 1) MPO-L と反応する CD4+T 細胞クローンを 2 株、MPO-HII と反応する CD4+T 細胞クローンを 3 株樹立した。2) T 細胞クローンの抗原依存性増殖反応は抗 HLA-クラス II 抗体で抑制された。3) サイトカイン分泌は IFN γ を分泌する Th0 または Th1 パターンであった。4) MPO-L 反応性 T 細胞クローンの TCR β CDR3 上には AGxxN モチーフが、MPO-HII 反応性 T 細胞クローンでは TGxS モチーフが見いだされた。

[結論] TCR β CDR3 モチーフを含めた MPO 反応性 T 細胞に共通した特性が見いだされ、治療の標的となる可能性が示された。

全身性血管炎症候群治療前後におけるサイトメガロウイルス産生タンパク US27,
US28 の発現検討

○津坂憲政^{1,2}、関口直哉¹、野崎杏子²、熊澤千佳²、安倍達¹、竹内勤¹

¹埼玉医科大学総合医療センター第二内科

²埼玉医科大学ゲノム医学研究センター

【目的】 サイトメガロウイルス (HCMV) 感染が動脈硬化性病変を含む血管病変と関連することが指摘され、ことに血管平滑筋細胞に取り込まれた HCMV が発現する US27, US28 などのタンパクが様々なケモカインレセプターと相同性をもつために、ケモカインと結合して血管平滑筋細胞を遊走させることが病因の一つとして考えられている。今回われわれは Subtractive hybridization 法、RT-PCR 法を用いて顕微鏡的多発血管炎 (MPA) 患者の治療前後の US27, US28 発現を検討した。

【方法】 MPA 患者の治療前ならびに治療後 (寛解導入後) の末梢血リンパ球 (PBL) から得られた全 mRNA より reverse transcriptase で変換した全 cDNA を RsaI で処理したものを治療前後の driver DNA とした。Driver DNA の両側に adaptor を ligate したものを治療前後の tester DNA とし、治療前 tester DNA と治療後 driver DNA 間および治療後 tester DNA と治療前 driver DNA 間で Subtractive hybridization を行い、subtractive tester DNA を作製した。次に、この subtractive tester DNA を鋳型 DNA として US27, US28 cDNA を PCR 法で増幅した。

【結果・考察】 US27 と US28 は治療後と比較すると治療前に発現が亢進しており、全身性血管炎発症機序を考える上で重要と考えられた。

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

大谷稔男 古川福実 (和歌山県立医科大学皮膚科)
戸田憲一 (田附興風会医学研究所北野病院)

われわれの施設では、薬剤が、マウス皮膚由来血管内皮細胞株 F-2 に及ぼす効果を調査している。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、今回、われわれは、TNF- α で前処置した F-2 に対する副腎皮質ステロイドとシクロホスファミドの効果を検討した。副腎皮質ステロイドは、TNF- α で誘導されるアポトーシスを阻害したが、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) は、TNF- α で誘導されるアポトーシスを促進した。4-HC 単独でも、F-2 のアポトーシスが誘導され、線維芽細胞株や角化細胞株と比べて、4-HC に対する感受性が高かった。また、4-HC で処理した F-2 は、対照群と比較して、カスパーゼ 3 活性の亢進を認めた他、BAX の亢進を認め、ミトコンドリアを介したアポトーシスが誘導されている可能性も示唆された。血管炎の発症に、血管内皮細胞のアポトーシスがかわっているか否かは明らかでないが、アポトーシスの亢進は、血管障害の助長に関与している可能性もある。しかし、血管の炎症を抑制する点では、皮膚の血管内皮細胞は、TNF- α 共存下で、シクロホスファミドによるアポトーシスを受けやすく、好都合であるとも考えられた。

MPO-ANCA 関連血管炎に合併する肺病変の臨床病理学的検討

聖マリアンナ医科大学 リウマチ・膠原病・アレルギー内科
山田秀裕、鈴木 健、吉田智彦、永渕裕子、尾崎承一

背景 MPO-ANCA 関連血管炎患者には、高率にびまん性肺疾患が合併することが知られ、特に肺胞出血は重篤な合併症である。一方、特発性肺線維症として経過観察中に、壊死性腎炎その他の血管炎症状が発現し、MPO-ANCA が陽性であることが判明する症例が増加している。このような慢性型間質性肺炎の臨床経過や予後は不明であり、治療も確立されていない。

目的 MPO-ANCA 関連血管炎症候群患者に合併するびまん性肺疾患の臨床像、経過、予後を明らかにし、肺病変に対する早期診断法の開発と治療法に向けた基礎資料を得る。

方法 過去15年間に教室で経験した MPO-ANCA 関連血管炎患者の病歴を追跡調査した。症例の選択基準は、MPO-ANCA または p-ANCA 陽性で、厚労省の顕微鏡的多発血管炎、結節性多発動脈炎の診断基準に準じた。間質性肺炎の診断は、厚労省特発性間質性肺炎の診断基準に準じた。間質性肺炎の臨床病型分類は、呼吸器症状発症から診断までの期間が6ヶ月以上の場合を慢性型、3ヶ月以内の場合を亜急性型、1ヶ月以内の場合を急性型とした。肺胞出血の診断は、気管支肺胞洗浄液が血性または多数のヘモジデリン貪食マクロファージを認めた場合とした。

結果 男性12例、女性11例の計23例について解析した。間質性肺炎は、慢性型4例、亜急性型3例、急性5例、計12例(52%)に合併した。かかる間質性肺炎の経過中に肺胞出血を併発した例が4例、血管炎の治療後日和見感染症と共に肺胞出血を併発した例が2例あった。その他は、2例に肺内の結節性病変、7例には肺病変が見られなかった。間質性肺炎・肺胞出血を来した14例とびまん性肺病変の合併していない9例とを比較した。両群間に年齢、性差、発症から治療までの期間、重要臓器病変の有無、BVAS スコア、MPO-ANCA 値、治療法に有意差は見られなかった。ところが、Kaplan-Mayer の生命表分析では、びまん性肺病変を有する患者の治療開始後の生命予後は有意に不良であった($p < 0.05$, Log-rank test)。また、急性型間質性肺炎のうち1例に肺胞出血が併発した。亜急性型は急性増悪例と肺胞出血併発例を1例ずつみとめた。慢性型間質性肺炎は4例とも経過中に急性増悪し、2例は肺胞出血を併発した。血管炎の治療後に肺感染症を併発し肺胞出血をも併発した2例を含め、急性型と亜急性型の予後は不良であった。潜在性の肺胞出血の検出に非侵襲的な MRI が有用であった1例を経験した。慢性型の急性増悪には、シクロホスファミド間歇静注療法が有用であった。

考察 以上より、MPO-ANCA 関連血管炎の間質性肺炎と肺胞出血は共通の病因、すなわち肺胞毛細管炎によるものであると推察され、慢性型では、臨床症状の発現なしにミクロのレベルで肺胞出血が繰り返されて、徐々に肺機能障害を来すものと推定される。また、MRI を用いることにより、血痰のない肺胞出血を同定できた症例を経験した。肺胞出血の早期診断法として有用と考えられた。さらに、慢性型間質性肺炎に対してもシクロホスファミド間歇静注療法が有用であることが示唆された。

血管病理分科会報告

○吉木 敬¹、居石克夫²、能勢真人³、由谷親夫⁴

¹株式会社ジェネティックラボ

²九州大学 大学院医学研究院 病理病態学

³愛媛大学 大学院医学系研究科 病因・病態学 ゲノム病理学

⁴岡山理科大学 理学部 臨床生命科学科

本分科会では、3年間にわたり

1. 血管炎症例の網羅的遺伝子発現解析
2. 血管炎アトラスの作製
3. 血管炎モデル動物の確立と解析をはじめとする各個別研究を行ってきた。

1. については、血管炎発症、および治療応答性に関与する遺伝子を探索するため DNA アレイを用いた遺伝子発現解析を実施した。血管炎症例の治療前、治療後における末梢血サンプルを用いて、メンブレンタイプアレイと Genechip アレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析を行った。死亡群と軽快群を対比して解析可能であった ANCA 関連血管炎では 6 遺伝子がピックアップされ、これらの遺伝子は血管炎の治療応答性に関与している可能性が示唆された。

2. については、実地臨床医、病理医の血管炎診療に役立つ、血管炎臨床病理カラーアトラスを編纂した。病理項目は、班員のみならず、血管病理研究会に所属する専門家にも執筆を依頼した。現在、すべての原稿が集まり、編集作業が進行中である。

3. については各分担研究者、研究協力者より報告される。

**env-pX ラットへの血管細胞の免疫による血管炎発症の促進と血管炎惹起性
T 細胞クローン樹立の検討**

○石津明洋、佐々木直美、吉木 敬

北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野

env-pX ラットはヒト結節性多発動脈炎類似の壊死性血管炎を発症する。本ラットの血管炎は、骨髄由来の T 前駆細胞が env-pX 遺伝子を発現する胸腺で分化成熟する際に起こるセレクション異常により発症する自己免疫性血管炎と考えられる。その際、標的となる血管組織における env-pX 遺伝子は必ずしも必要ではない。env-pX ラットを培養血管平滑筋細胞または内皮細胞で免疫することにより、対照群より高頻度に血管炎を誘導することが可能であった。env-pX ラットの血管炎の発症に血管平滑筋や内皮細胞に対する自己反応性 T 細胞が関与している可能性が示唆される。env-pX ラットから血管平滑筋細胞反応性 T 細胞を培養し、クローニングを試みた。得られた細胞のフェノタイプは CD4 陽性と考えられた。クローン化 T 細胞の維持が困難であったため、現在、方法を改良し、再クローニングを行っている。

ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスにおける下肢虚血耐性低下と
血小板由来増殖因子 (PDGF-BB) 発現低下との関連性

○谷井 貢、米満吉和、藤井孝明、鬼丸満穂、居石克夫
九州大学大学院医学研究院病理病態学

〔目的〕糖尿病性血管障害は糖尿病合併症を引き起こす主な原因と考えられるが、その分子機序は明らかではない。今回、ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウス (DM マウス) 下肢重症虚血における虚血耐性の低下に、血小板由来増殖因子 (PDGF-B) 発現低下が重要な役割を果たしていることを明らかにしたので報告する。

〔方法〕コントロール (非 DM) マウスと DM マウスに下肢重症虚血を作成。各種血管新生因子および受容体の発現状況を定量化した。また PDGF-B 補充遺伝子治療、プロテインキナーゼ C 阻害剤による下肢虚血への影響を検討した。

〔結果〕下肢重症虚血により非 DM マウスの下肢は脱落しないが、DM マウス下肢は高頻度に脱落した。検索した因子の内、PDGF-B のみが STZ-DM にて有意に低下しており、虚血状態においても有意に低値を示した。PDGF-B 遺伝子導入、プロテインキナーゼ C 阻害剤投与により DM マウスの虚血下肢の脱落は全例で回避できた。

〔結語〕PDGF-B は毛細血管周皮細胞の recruit に重要であることから、DM における下肢虚血耐性の低下は、血管新生反応の障害というより、むしろ血管の成熟過程の障害であると考えられた。