

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

Fig.1 ANCA関連腎炎患者のIVIg治療前後の血漿中IL-12p70の変動

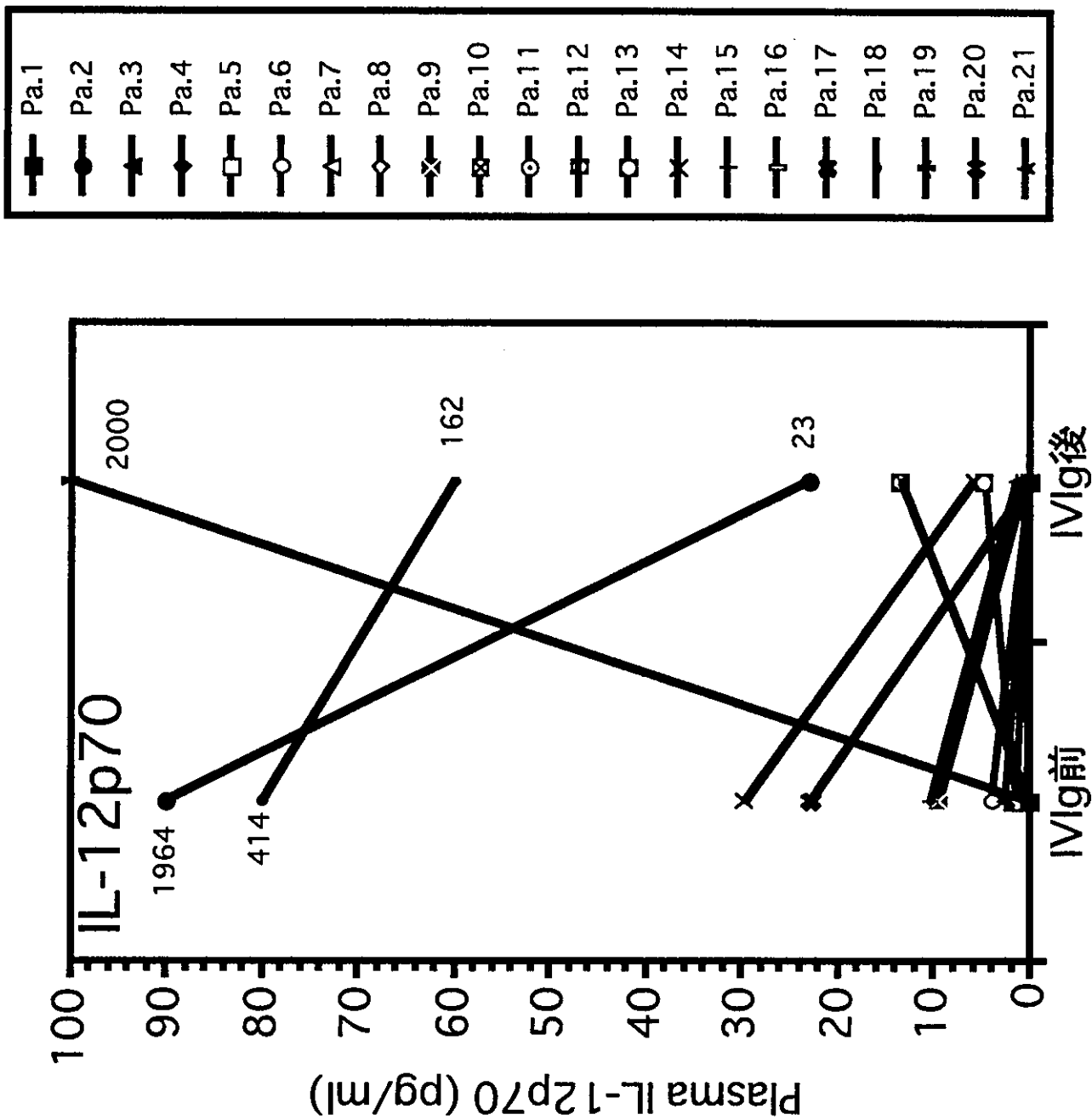


Fig.2 BiosourceIL-12とOptEIAIL-12p40による

血漿中IL-12測定結果の相関

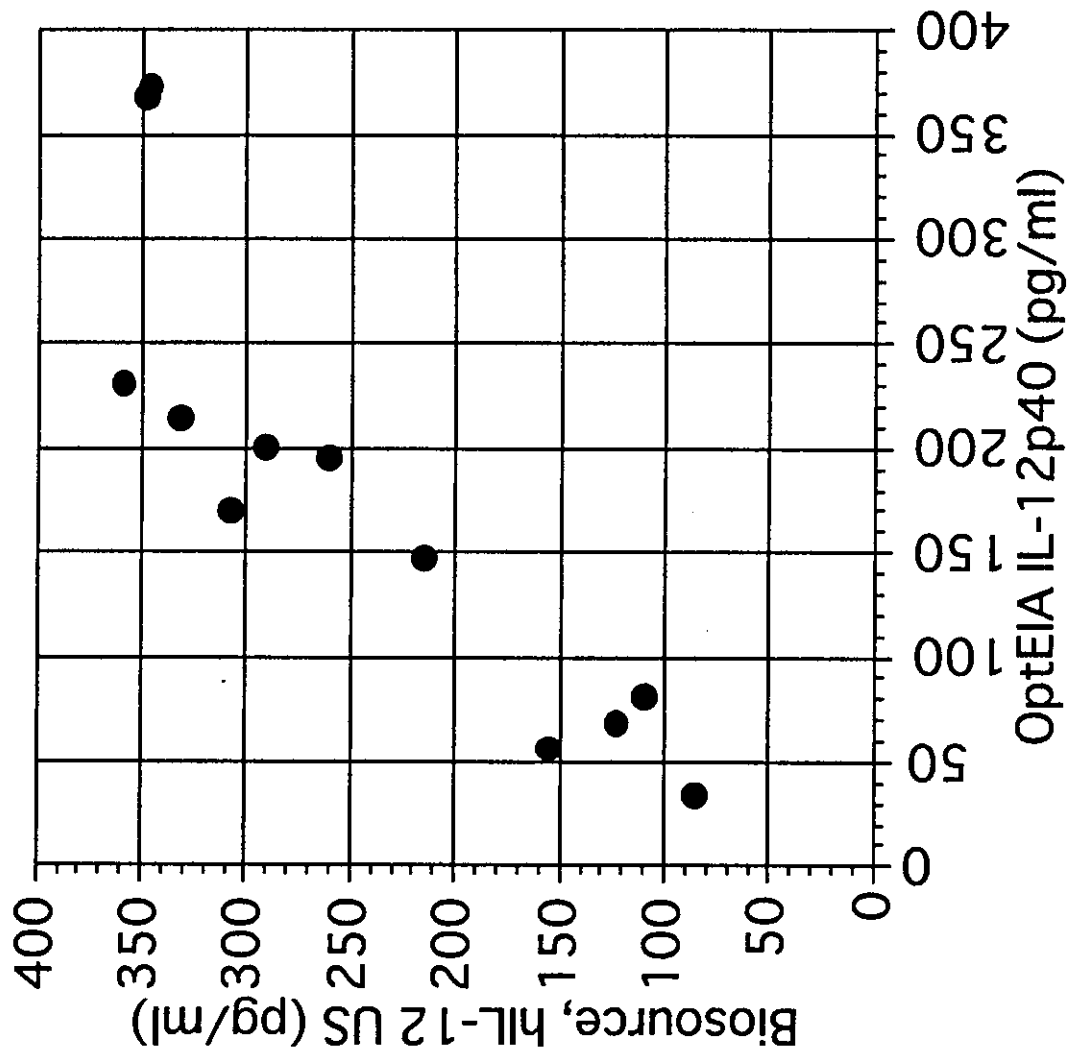


Table 1

	Age	Sex	Chief Complaint	Cr	Renal Histology	PSL	MPO-ANCA	Outcome	Combining other Diseases	
									Before IVIg	After IVIg
1	67	M	F	4.34	Necrotizing crescentic glomerulonephritis	0-30	860	Remission ↓ Relapst ↓ Remission	Old Tb	変化なし
2	67	M	F	2.39	Peritubular capillaritis	0-30	1650	Remission ↓ Relapst	DM 浸潤影	浸潤影改善
3	88	F	F	3.87	Crescentic glomerulonephritis	0-30	374	Remission	間質性肺炎	変化なし
4	81	F	F	1.33	Interstitial nephritis	0-30 with CPH Pulse	1270	Remission	Old Tb 間質性肺炎	変化なし

関節リウマチの治療・生物学的製剤インフリキシマブ使用に関する研究

分担研究者 橋本博史 順天堂大学医学部 教授

研究要旨

関節リウマチの新たな治療薬として抗体製剤であるインフリキシマブがわが国でも使用可能となっている。メトトレキサートとの併用療法の効果は既存の治療の中で最も有効性が高いが、結核をはじめとする感染症や infusion reaction に注意が必要とされている。今回、関節リウマチ患者 11 名に投与し有効率は高かったが、効果が減弱する症例も認められた。感染症が副作用として 2 例に認められた。

A. 研究目的

関節リウマチは滑膜を病変の主座とする全身性の慢性炎症疾患である。最近の治療薬の進歩から、関節の疼痛緩和だけではなく、その破壊を抑制し関節機能予後を改善することが関節リウマチの治療目標となってきた。インフリキシマブはわが国では初めて関節リウマチに対して使用可能となった生物学的製剤で、TNF α に対するヒト・マウスのキメラ型モノクローナル抗体であり、メトトレキサートとの併用により優れた抗リウマチ作用を有する薬剤である。今回、抗体製剤との観点から、関節リウマチ患者へのインフリキシマブ投与についてその効果および副作用を検討した。

B. 研究方法

インフリキシマブを投与した関節リウマチ患者 11 名について検討をおこなった。全例がメトトレキサート 6mg/週以上を 3 ヶ月以上投与したにもかかわらず、関節リウマチのコントロールが不良な症例で、男性 3

名、女性 8 名、年齢は 22-66 歳（平均 48.6 歳）であった。罹患年数は 5 年から 25 年で平均 12.4 年、Stainblocker 分類では stage I : 0 名、II : 2 名、III : 2 名、IV : 7 名、Class 1, 4 : 0 名、2 : 7 名、3 : 4 名であった。結核予防のため、4 名でイソニアジド 300 mg/日の投与がされていた。治療法に関するインフォームドコンセント、同意取得後にインフリキシマブ 3 mg/kg を生理的食塩水 250 ml に溶解し、2 時間以上かけて投与した。0, 2, 6, 14 週、以後は 2 ヶ月毎に投与を行った。投与後の疼痛・腫脹関節数、赤沈および CRP について評価した。また、その間の副作用の発現の有無について検討した。

C. 研究結果

疼痛・腫脹関節数および炎症反応はインフリキシマブ投与後 6 週で減少し、22 週では再度上昇する傾向が認められた（図 1,2）。医師による効果判定では、インフリキシマブ投与 6 週後で有効 54.5%、著効

27.3%、無効 18.2%で、22 週後ではそれぞれ 50.0%、16.7%、33.3%であった (図 3)。副作用は感染症が 2 名に認められ、帯状疱疹が 1 名、肺真菌症が 1 名であった。注意すべき副作用である infusion reaction や肺結核は認められなかった。

D. 考案

インフリキシマブによる治療は、中和抗体抑制のためメトトレキサートとの併用が必須であるが、現在最も有効性の高い関節リウマチの治療法で、骨びらの修復作用が認められるとされている。今回の検討では、関節症状や炎症反応の推移に比べ、医師の評価で高い有効性となっているが、この原因として、自覚的に関節症状のみならず全身倦怠感や易疲労感などの改善が認められたこと、22 週直前で効果が減弱した症例があること、著効したためステロイドなどを中止したことにより増悪した症例があること、などのためと考えられる。また実際に多剤抗リウマチ薬抵抗例や進行例、開始前の CRP が高値であった症例では効果が乏しかった。効果が減弱する症例での中和抗体との関連は今のところ明らかになっていない。さらに無効例でも骨破壊抑制作用は認められるとされており、効果に関しては長期的な観察が必要である。

今後はより早期でのインフリキシマブ投与の開始や投与量・投与間隔に関してさらなる検討が必要であると考えられた。また、感染症が 2 名に認められており、2 名とも外来加療にて軽快したが、十分な注意が必要であると考えられた。

E. 結論

インフリキシマブは有効性が高い薬剤であるが、今後は開始時期や、効果減弱例での投与量や投与間隔の検討が必要であると考えられた。また、感染症に対しては十分な注意が必要であると考えられた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hirashima M, Fukazawa T, Abe K, Morita Y, Kusaoi M, Hashimoto H. Expression and activity analysis of CTLA4 in peripheral blood lymphocytes in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 13:24-31, 2004.

Matsuda Y, Tsuda H, Takasaki Y, Hashimoto H. Double filtration plasmapheresis for the treatment of a rheumatoid arthritis patient with extremely high level of C-reactive protein. *Ther Apher Dial* 8:404-408, 2004.

Kempe K, Tsuda H, Yang K, Yamaji K, Kanai Y, Hashimoto H. Filtration leukocytapheresis therapy in the treatment of rheumatoid arthritis patients resistant to or failed with methotrexate. *Ther Apher Dial* 8:197-205, 2004.

Chiba A, Oki S, Miyamoto K, Hashimoto H, Yamamura T, Miyake S. Suppression of collagen-induced arthritis by natural killer T cell activation with OCH, a sphingosine-truncated analog of alpha-galactosylceramide. *Arthritis*

Rheum 50:305-313, 2004.

2. 学会発表

Kusaoi M, Fukazawa T, Hirashima M, Morita Y, Morita T, Tsuchiya N, Tokunaga K, Inoue H, Hahimoto H. Genetic screening with high density microsatellite markers for systemic lupus erythematosus on chromosome 1. American College of Rheumatology, San Antonio, USA, 2004.

守田優子, 深沢徹, 平島美賀, 加賀薫, 頭山尚子, 草生真規雄, 守田貴浩, 橋本博史. MTX のサイトカイン産生に与える影響:SLAM との関連解析. 日本免疫学会総会・学術集会 2004.11月、札幌.

千葉麻子, 大木伸司, 橋本博史, 山村隆, 三宅幸子. NKT 細胞を標的とした自己免疫疾患制御法の開発. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2004.11月、岡山.

秋元智博, 小林茂人, 田嶋美智子, 春田和彦, 田村直人, 池田真, 多田久里守, 鐘彬彬, 橋本博史. 悪性関節リウマチ由来免疫複合体による好中球 L-セレクチン shedding の機序解析. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2004.11月、岡山.

満尾晶子, 鈴木淳, 名切裕, 片桐彰, 森本真司, 戸叶嘉明, 橋本博史. 膠原病患者における末梢血 CD8+CD161+細胞の減少. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2004.11月、岡山.

建部一夫, 梁広石, 山路健, 金井美紀, 津田裕士, 橋本博史. メトトレキサート無効の関節リウマチ患者に対する白血球除去療法の治療効果. 日本リウマチ学会総会・学術集会. 2004.11月、岡山.

黒木喜美子, 土屋尚之, 松多邦雄, 深沢

徹, 十字猛, 橋本博史, 徳永勝士. 白血球免疫グロブリン様受容体 LILRA1(LIR6) 遺伝子多型と日本人 SLE との関連 日本リウマチ学会総会・学術集会 2004.11月、岡山.

小笠原倫大, 津田裕士, 五條堀孝, 橋本博史. TNF receptor superfamily の進化的起源とリウマチ性疾患の発症機序との関連. 日本リウマチ学会総会・学術集会. 2004.11月、岡山.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

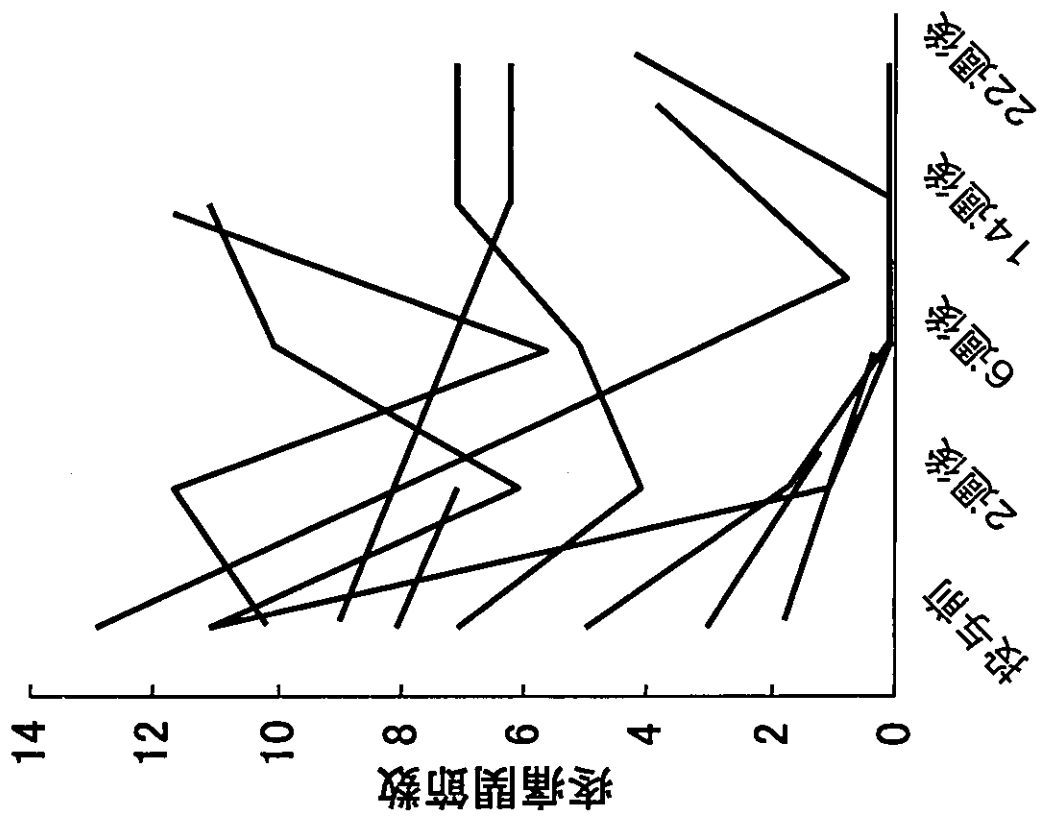
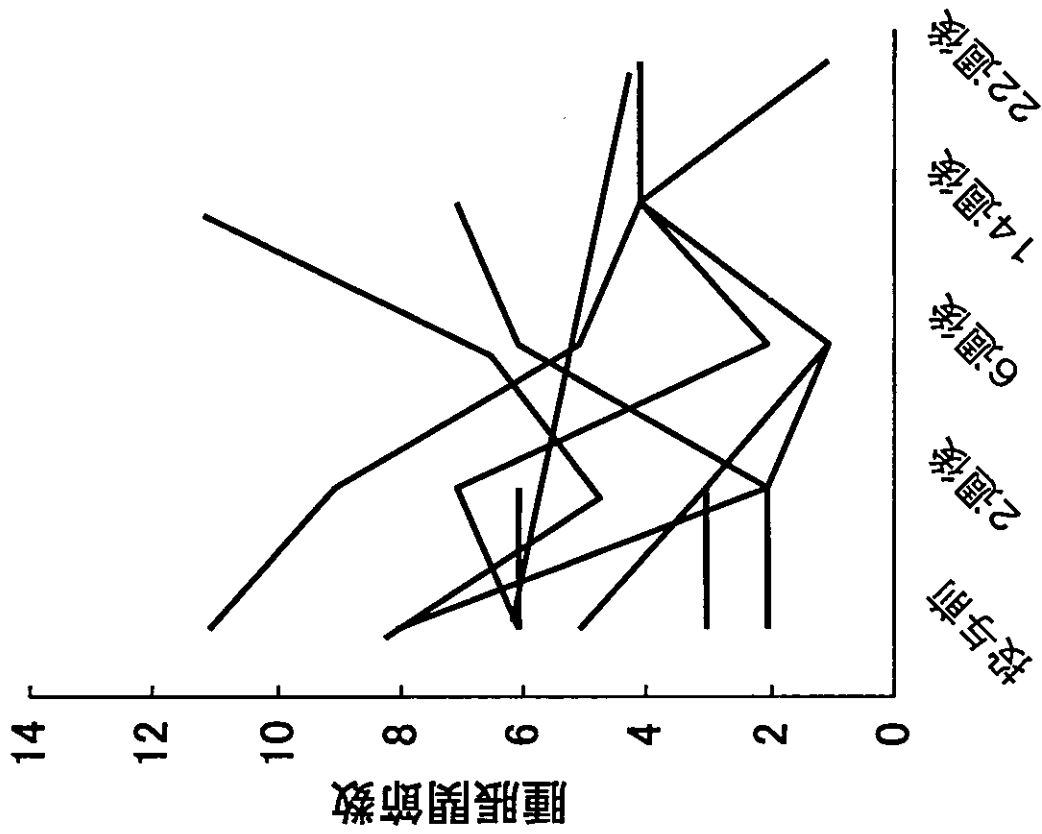


図1. 疼痛、腫脹関節数の推移

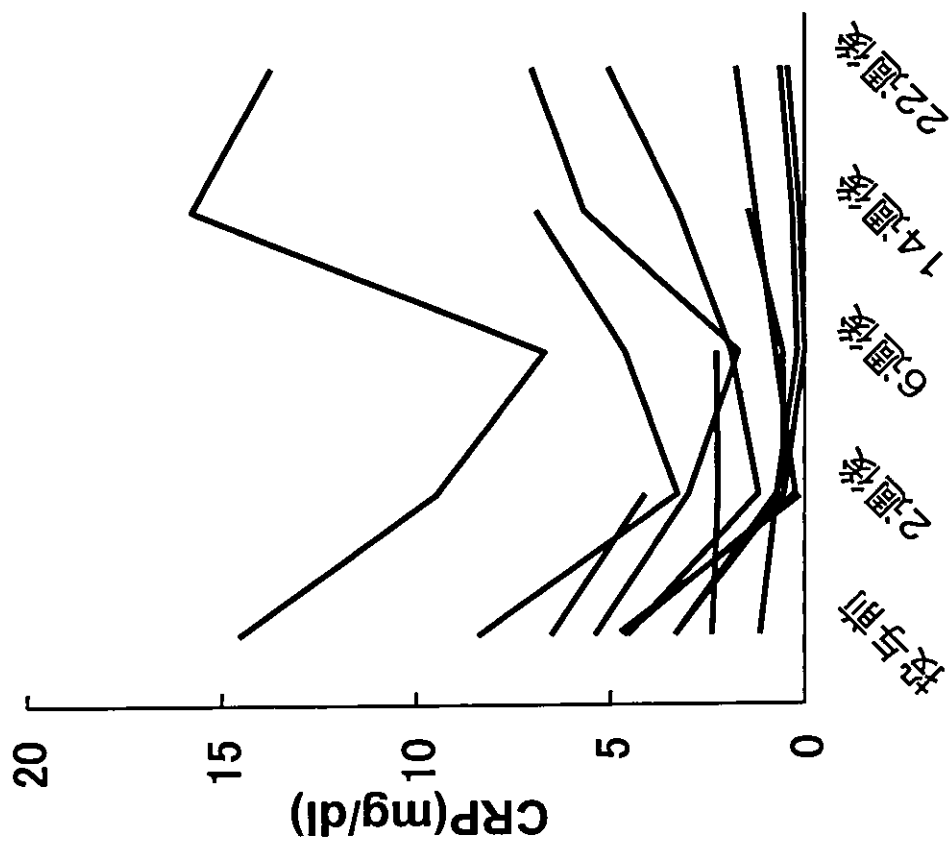
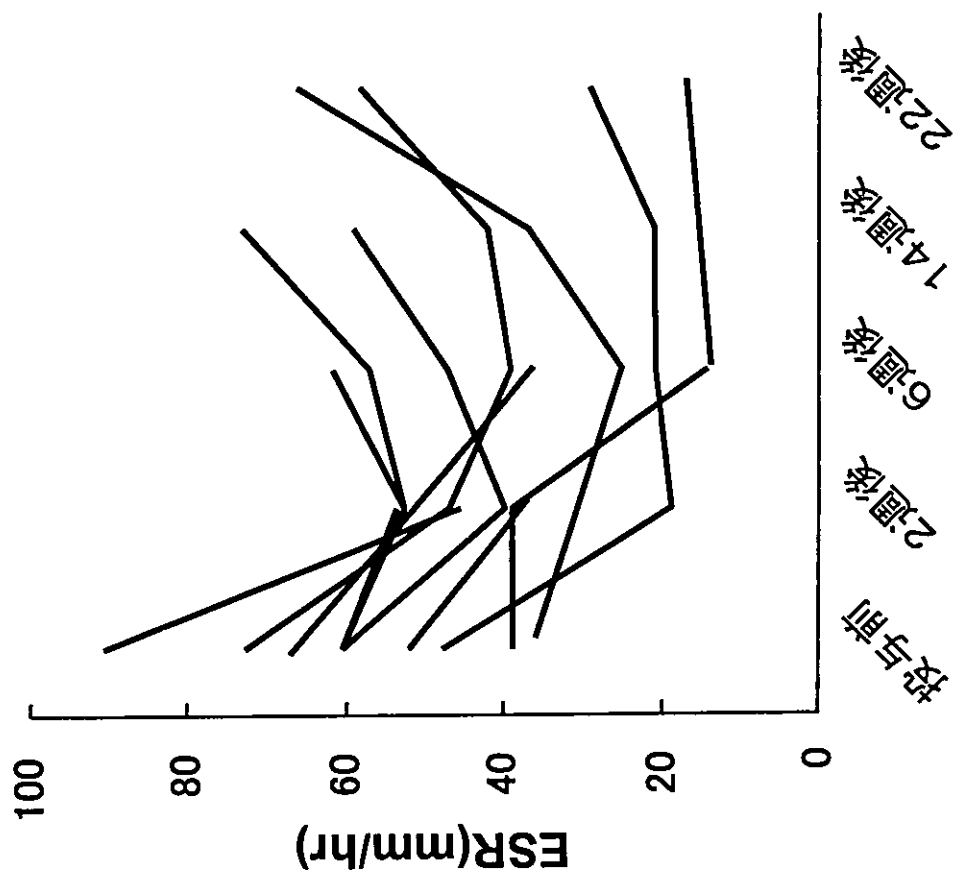


図2. CRPおよび赤沈値の推移

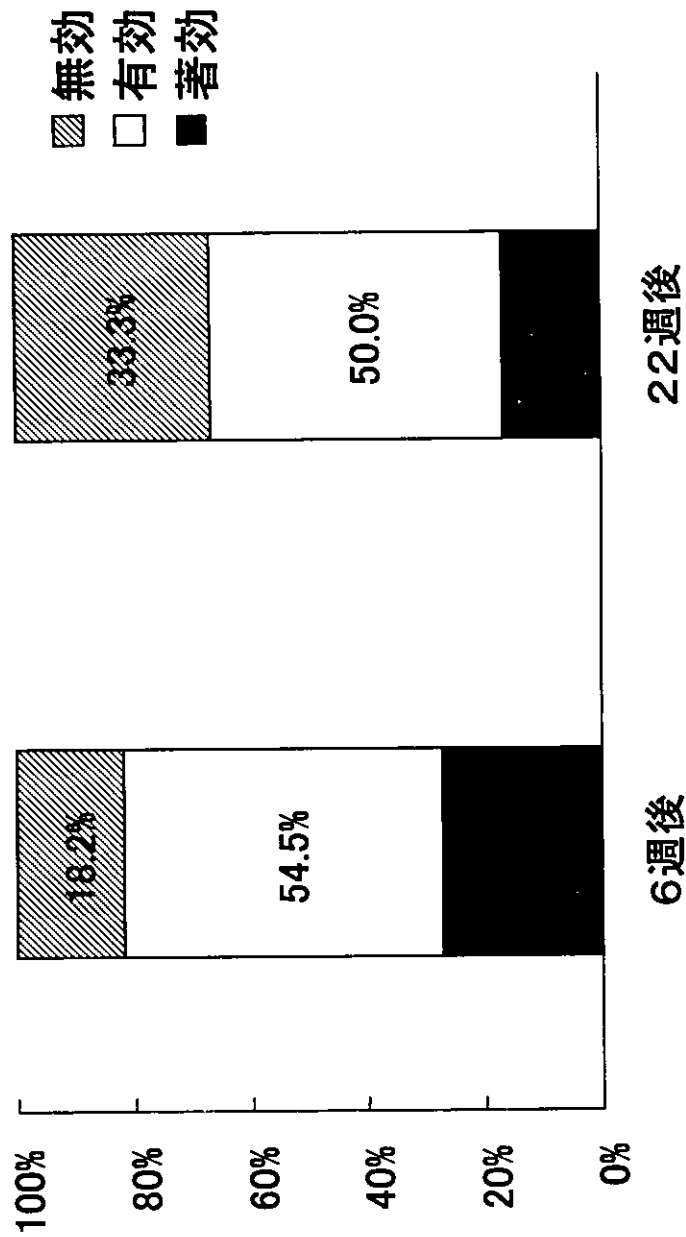


図3. インフリキシマブの効果

ラット自己免疫性心筋炎における免疫グロブリン融合タンパク治療の検討 に関する研究

分担研究者 相澤義房 新潟大学教育研究院医歯学系循環器分野 教授
研究協力者 小玉 誠 新潟大学大学院医歯学総合研究科 助教授
堀 晴男 新潟大学大学院医歯学総合研究科 講師

研究要旨

我々が開発したラット自己免疫性心筋炎（EAM）は急性期には劇症型心筋炎モデルと考えられ、炎症を生き抜いた例では拡張型心筋症／心不全モデルとして、難治性に心筋炎や心不全の治療モデルとなる。我々は抗炎症作用およびTh1/Th2バランスを修飾した治療を目的に、いくつかの目的タンパクのIg融合タンパクを遺伝子導入によって産生させ高濃度に維持することで、それらによる著明な有効性を確認した。

A. 研究目的

ポリクローナル免疫グロブリンの静注は、劇症型心筋炎にも有効であるとの報告がなされている。また、免疫グロブリンのFc部分をコードする遺伝子断片のN端側に、ある目的タンパク質のフレームを合わせて作成した人工免疫グロブリン（Ig）融合タンパクは、近年、自己免疫疾患の治療に試みられるようになってきている。しかし、目的タンパクのIg融合タンパクを作成し、それを静脈投与するには、大きな労力とコストがかかり、多くの蛋白について検討することは困難である。一方、最近、小動物へのPlasmid DNAを用いたハイドロダイナミクス法は、肝細胞へ高率に遺伝子導入され、タンパクの静脈投与と同じように、ある程度高濃度な血中濃度を保つことができると報告された。そこで、今回我々は、この新たに開発した方法を用いて、ラットの自己免疫性心筋炎（EAM）におけるIg融合タンパク治療の有効性について検討した。

B. 研究方法

目的タンパクのIg融合タンパクは、Igと融合させることによって、いくつかの利点があるとされ、その一つに、高い血中濃度を維持できるとの報告がなされている。そこで、まず我々は、目的タンパクをIg融合することによって、どの程度より高い血中濃度が得られるのかを、Plasmid DNAを用いたハイドロダイナミクス法にて検討した。方法は、Igと融合しないpCAGGS-vMIP-Glucagon-Tag、pCAGGS-IL22-Glucagon-TagおよびIgと融合するpCAGGS-vMIP-Ig-Glucagon-Tag、pCAGGS-IL22-Ig-Glucagon-Tagをそれぞれ作成し、正常ラットにハイドロダイナミクス法によりこれらを遺伝子導入し、最も高い濃度を示すと考えられる1日後の血中濃度をGlucagon-Tagを用いて測定し比較した。次に、いくつかの目的タンパク質・Ig融合タンパクと目的タンパク質を含まないIgのみとの治療を比較検討するため、同様にこれらのplasmidを作成し、EAMにおける治療効果を検討した。

C. 研究結果

Ig 融合タンパクの血中濃度は、融合しないものに比べて $17 \cdot 334$ 倍と著明に高値を示した (vMIP, 0.28 ± 0.08 pmol/l = 3.40 ± 1.01 ng/ml; vMIP-Ig, 4.71 ± 0.52 pmol/l = 160 ± 25.4 ng/ml) (IL22, 0.38 ± 0.13 pmol/l = 7.89 ± 2.76 ng/ml; IL22-Ig, 126 ± 46.9 pmol/l = 5900 ± 2200 ng/ml)。EAM の治療実験では、CTLA4-Ig 融合タンパク、IL-1 受容体アンタゴニスト-Ig 融合タンパク、IL-13-Ig 融合タンパクが、心筋炎を有意に改善させた。即ち、心筋炎の抑制、心機能の悪化の阻止および炎症後の肥大や拡大の抑制(リモデリングの抑制)に対する有用性があきらかであった。また治療に用いた融合

タンパクは、EAM から分離培養された細胞に対して、いくつかの免疫関連タンパク遺伝子の発現を大きく変化させ、これらが効果の現れた機序であると考えられた。

D. 考察

Ig 融合タンパクは、タンパクの血中濃度を著明に高く維持できるという利点があった。ポリクローナルグロブリンが心筋炎に効果を示す一つの機序である可能性が考えられる。また、いくつかのタンパクの Ig 融合タンパクは、明らかに EAM に対して効果がみられた。ポリクローナルグロブリンの開発において、一つの指針になると思われる。一方、ハイドロダイナミクス法による小動物への遺伝子発現は、簡便性、経済性に優れ、今後の蛋白製剤の開発に、おおきな利点を持つ方法論である可能性が考えられた。

E. 結論

目的タンパクを Ig 融合タンパクにすることによって、タンパクは安定化し、高い血中濃度

を維持できることが示唆され、EAM に対して、いくつかの Ig 融合タンパクは、著明な有効性を示した。様々なタンパクを Ig と融合させることによって、有効な治療薬となりうると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Liu H, Hanawa H, Yoshida T, Elnaggar R, Hayashi M, MD RW, Toba K, Yoshida K, Chang H, Okura Y, Kato K, Kodama M, Maruyama H, Miyazaki J, Nakazawa M, Aizawa Y. : Effect of Hydrodynamics-Based Gene Delivery of Plasmid DNA Encoding IL-1 Receptor Antagonist-Ig for Treatment of Rat Autoimmune Myocarditis: Possible Mechanism for Lymphocytes and Non-Cardiac Cells. Circulation. In press

2) Abe Y, Watanabe K, Sato S, Nagai Y, Kamal FA, Wahed MI, Wen J, Narasimman G, Ma M, Suresh P, Takahashi T, Tachikawa H, Kashimura T, Tanabe N, Kodama M, Aizawa Y, Yamaguchi K, Miyazaki M, Kakemi M. Hemodynamic effects of carvedilol infusion and the contribution of the sympathetic nervous system in rats with heart failure. Pharmacology. 2004 Dec;72(4):213-9.

3) Abe S, Okura Y, Hoyano M, Kazama R, Watanabe S, Ozawa T, Saigawa T, Hayashi M, Yoshida T, Tachikawa H, Kashimura T, Suzuki K, Nagahashi M, Watanabe J, Shimada K, Hasegawa G, Kato K, Hanawa H, Kodama M, Aizawa Y. Plasma concentrations of cytokines and neurohumoral factors in a case of fulminant myocarditis successfully treated with

intravenous immunoglobulin and percutaneous cardiopulmonary support. *Circ J*. 2004;68:1223-6.

4) Kodama M, Kato K, Hirono S, Okura Y, Hanawa H, Yoshida T, Hayashi M, Tachikawa H, Kashimura T, Watanabe K, Aizawa Y. Linkage Between Mechanical and Electrical Alternans in Patients with Chronic Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 15;295-299:2004.

5) Hanawa H, Watanabe R, Hayashi M, Yoshida T, Abe S, Komura S, Lui H, Elnaggar R, Chang H, Okura Y, Kato K, Kodama M, Maruyama H, Miyazaki J, Aizawa Y. A Novel Method to Assay Proteins in Blood Plasma after Intravenous Injection of Plasmid DNA. *Tohoku J. Exp. Med* 202,155-161,2004.

6) Kashimura T, Kodama M, Hotta Y, Hosoya J, Yoshida K, Ozawa T, Watanabe R, Okura Y, Kato K, Hanawa H, Kuwano R, Aizawa Y. Spatiotemporal changes of coxsackievirus and adenovirus receptor in rats hearts during postnatal development and in cultured cardiomyocytes of neonatal rat. *Vichows Arch* 444:283-292,2004.

7) Nasuno A, Toba K, Ozawa T, Hanawa H, Osman Y, Hotta Y, Yoshida K, Saigawa T, Kato K, Kuwano R, Watanabe K, Aizawa Y. Expression of coxsackievirus and adenovirus receptor in neointima of the rat carotid artery. *Cardiovascular Pathology* 13;79-84:2004.

8) Wahed MI, Watanabe K, Ma M, Yamaguchi K, Takahashi T, Tachikawa H, Kodama M, Aizawa Y. Effects of Eplerenone, a Selective Aldosterone Blocker, on the Progression of Left Ventricular Dysfunction and Remodeling in Rats with Dilated Cardiomyopathy. *Pharmacology*. 2004 Oct 1;73(2):81-88

9) Wahed MI, Watanabe K, Ma M, Nakazawa M, Takahashi T, Hasegawa G, Naito M, Yamamoto T, Kodama M, Aizawa Y. Effects of pranidipine, a novel calcium channel antagonist, on the progression of left ventricular dysfunction and remodeling in rats with heart failure. *Pharmacology*. 2004 Sep;72(1):26-32.

2. 学会発表

The effect of hydrodynamic-based delivery of an interleukin-13-Ig fusion gene for experimental autoimmune myocarditis in rats and its possible mechanism

第68回日本循環器学会総会学術集会 2005年3月19日から21日(横浜)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

ガンマグロブリンによる急性期川崎病における酸化ストレス（OS）マーカーの抑制効果に関する研究

分担研究者 佐地 勉 東邦大学医学部 教授

研究要旨

リン脂質の過酸化が酸化ストレス（OS）によるものであることが明らかになり、多くの心血管障害と密接に関与していることが報告されている。また、8-isoprostane はリン脂質の過酸化に特異的なかつ有用な指標であり、この測定が各疾患における OS の評価になることが注目されている。しかし小児領域での OS の正常域や疾患との関与は明らかでない。今回は特に全身性血管炎の急性期川崎病におけるガンマグロブリン(IVIG)投与による OS に及ぼす影響を明らかにし、また小児期における OS の正常値と比較し検討したので報告する。

A. 研究目的

IVIG の有効性を検証する一手段として、OS に及ぼす影響に着目し、急性期の川崎病患者における OS マーカーの 8-isoprostane を測定し、IVIG による改善度と、病態との関与について検討した。

B. 研究方法

対象は 2001 年 4 月から 2004 年 12 月までの間に IVIG の治療を受けた、急性期川崎病典型例 62 例を対象とした。対照は健常児 20 例とした。急性期 IVIG 治療前、7 日後、14 日後、30 日後に採取した尿検体を用いて、EIA 法により 8-isoprostane を測定した。検討項目として、川崎病患者と健常児群との比較、IVIG 治療前後の変動の検討を行った。本研究は当院の倫理委員会により承認され、患者家族へ尿の採取について IC を取得し検査を行った。

C. 研究結果

急性期川崎病では正常児に対し有意に OS が高値を示した（図 1）。8-isoprostane は IVIG 投与により 7 日目に有意に低下した（図 2）。IVIG 投与方法別では、1g/kg 単回投与や 400mg/kg 分割投与に比べ 2g/kg 単回投与（24 時間）投与による低下が最大であった（図 3）。IVIG の追加投与を要する不完全治療症例では初回投与後も 8-isoprostane の低下を認めず、追加投与により低下が得られた。

D. 考察

急性期川崎病では OS が高値をとっており、IVIG は増加した OS を dose-dependent に、速やかに低下させることが判明した。

E. 結語

IVIG は血管炎症候群である急性期川崎病において、血管内皮障害によって活性化

された酸化ストレスを有意に抑制する作用を持つ。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 佐地 勉, 菌部友良, 上村 茂, 赤木 禎治, 鮎澤 衛: 川崎病急性期治療のガイドライン. 日小循誌 2004, 20, 1, 54-62
2. Onouchi Y, Onoue S, Tamari M, et al (19th place): CD40 ligand gene and Kawasaki disease. *Eur J of Human Gene*, 12, 1062-1068, 2004
3. 佐地 勉, (ゲスト)川崎富作: 川崎病と闘う日々ー川崎富作先生に聞く Part1.心臓 2005,37,161-168

2. 学会発表

1. 高月晋一, 曾根尚子, 監物靖, 嶋田博光, 星田宏, 中山智孝, 松裏裕行, 佐地 勉: 一過性の心収縮機能低下を呈した急性期川崎病の1例. 第14回東京川崎病研究会, 東京, 2004.6
2. 佐地 勉: IVIG 不応例への対処と川崎病治療ガイドライン. 群馬大学小児科川崎病学術講演会, 群馬, 2004.6
3. 星田宏, 嶋田博光, 高月晋一, 中山智孝, 石北隆, 松裏裕行, 佐地 勉, 古谷美知子, 松裏瑠美子: 川崎病患者における IVIG 治療前の *Helicobacter Pylori* 抗体価. 第40回日本小児循環器学会総会・学術集会, 東京, 2004.7
4. 佐地 勉: 一急性期川崎病-IVIG 不応例への治療 option を考える. 第2回信州川崎病フォーラム, 松本, 2004.9
5. 竹内大二, 佐地 勉, 高月晋一, 藤原摩耶: 急性期川崎病における組織ドップラー異常と尿中酸化ストレスの検討. 第52回日本心臓病学会学術集会, 京都, 2004.9
6. 佐地 勉: なぜ冠動脈流ができたのか. 急性期薬物療法の限界は?. 第24回日本川崎病研究会, 京都, 2004.11
7. 監物靖, 中島香織, 池原聡, 高月晋一, 中山智孝, 松裏裕行, 佐地 勉, 澤井清: ガンマグロブリン療法後に無菌性髄膜炎を発症した川崎病4例. 第24回日本川崎病研究会, 京都, 2004.11
8. 高月晋一, 中島香織, 嶋田博光, 星田宏, 中山智孝, 松裏裕行, 佐地勉: 川崎病における Oxidative Stress Marker の急性期以後の推移. 第24回日本川崎病研究会, 京都, 2004.11
9. 直井和之, 監物靖, 高月晋一, 星田宏, 中山智孝, 松裏裕行, 佐地 勉, 関口恭子, 石黒精: 川崎病に対するメチルプレドニゾロンパルス療法の治療効果. 第24回日本川崎病研究会, 京都, 2004.11
10. 藤原摩耶, 竹内大二, 佐地 勉: 発熱以外の主要症状を認めない時点で冠動脈病変を認めた生後51日の川崎病の1例. 第24回日本川崎病研究会, 京都, 2004.11
11. Yasushi Kemmotsu, Shinichi Takatsuki, Tomotaka Nakayama, Hiroyuki Matsuura, Ichiro Tsukimoto, Tsutomu Saji: Clinical Characteristics of Aseptic Meningitis After Intravenous Immunoglobulin Infusion in Patients With Kawasaki Disease. Eighth International Kawasaki Disease Symposium, San Diego, U.S.A, 2004.11
12. Shinichi Takatsuki, Yuka Ito, Daiji Takeuchi, Hiroshi Hoshida, Tomotaka Nakayama, Hiroyuki Matsuura, Ichiro Tsukimoto, Tsutomu Saji: Intravenous

Immunoglobulin Significantly Reduced Vascular Oxidative Stress in Patients in the Acute Stage of Kawasaki Disease. Eighth International Kawasaki Disease Symposium, San Diego, U.S.A, 2004.11

13. Daiji Takeuchi, Tsutomu Saji, Maya Fujiwara, Shinichi Takatsuki: Abnormal Tissue Doppler Image Is Significantly Correlated With Increased Systemic Oxidative Stress in Acute Kawasaki Disease. Eighth International Kawasaki Disease Symposium, San Diego, U.S.A, 2004.11

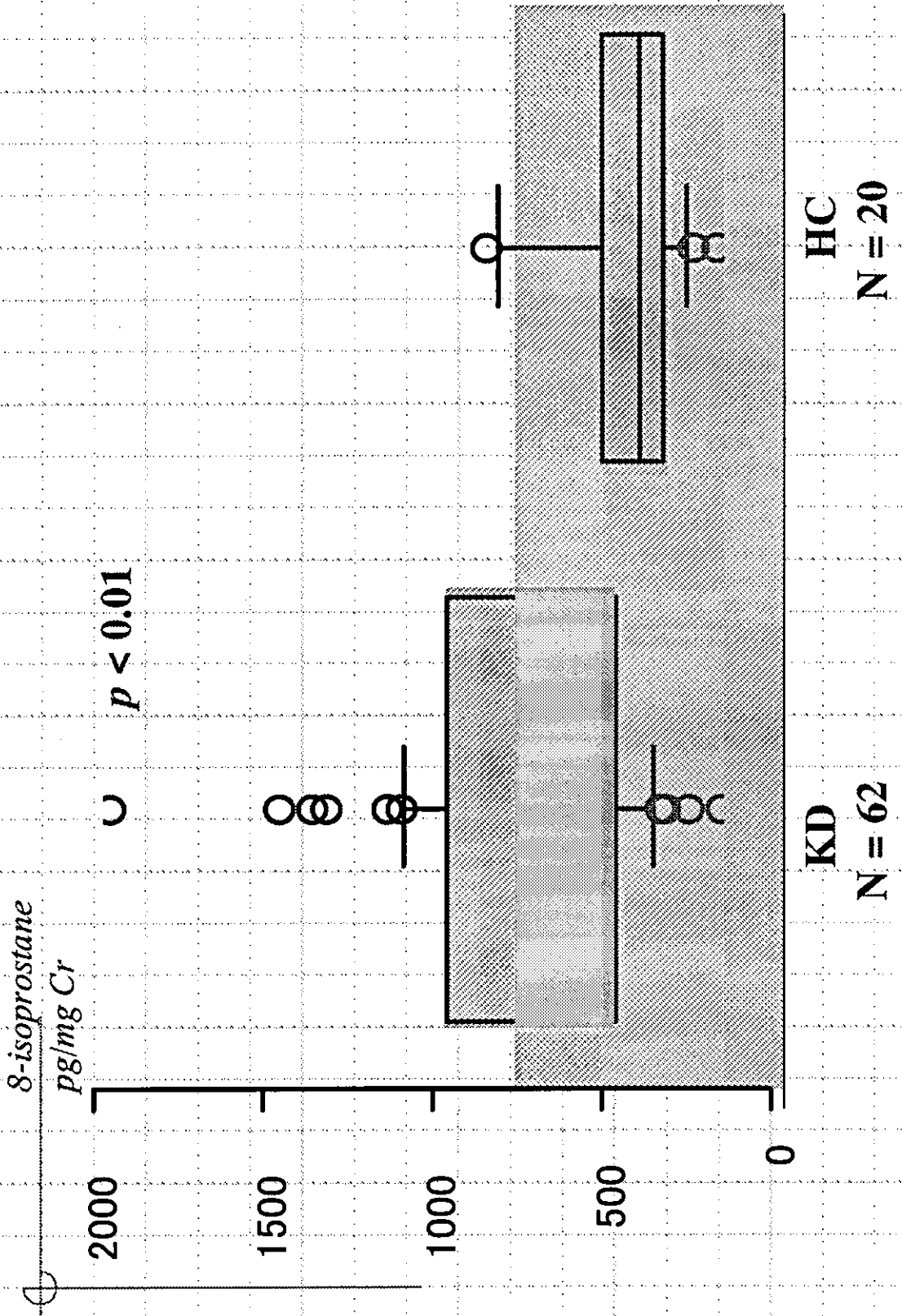
14. Daiji Takeuchi, Tsutomu Saji, Maya Fujiwara: Abnormal Tissue Doppler Image Is Significantly Correlated With Increased Plasma Brain Natriuretic Peptide Level in Acute Kawasaki Disease. Eighth International Kawasaki Disease Symposium, San Diego, U.S.A, 2004.11

15. 高月晋一,竹内大二,佐地 勉 : 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究「血管炎治療のための人工ポリクロナルグロブリン製剤の開発と安全性向上に関する研究」人工グロブリン班(鈴木班) : 急性期川崎病における IVIG による Oxidant Stress 抑制効果. 日本小児循環器学会平成 16 年度第 2 回学術委員会 working group 委員会, 東京, 2005.1

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

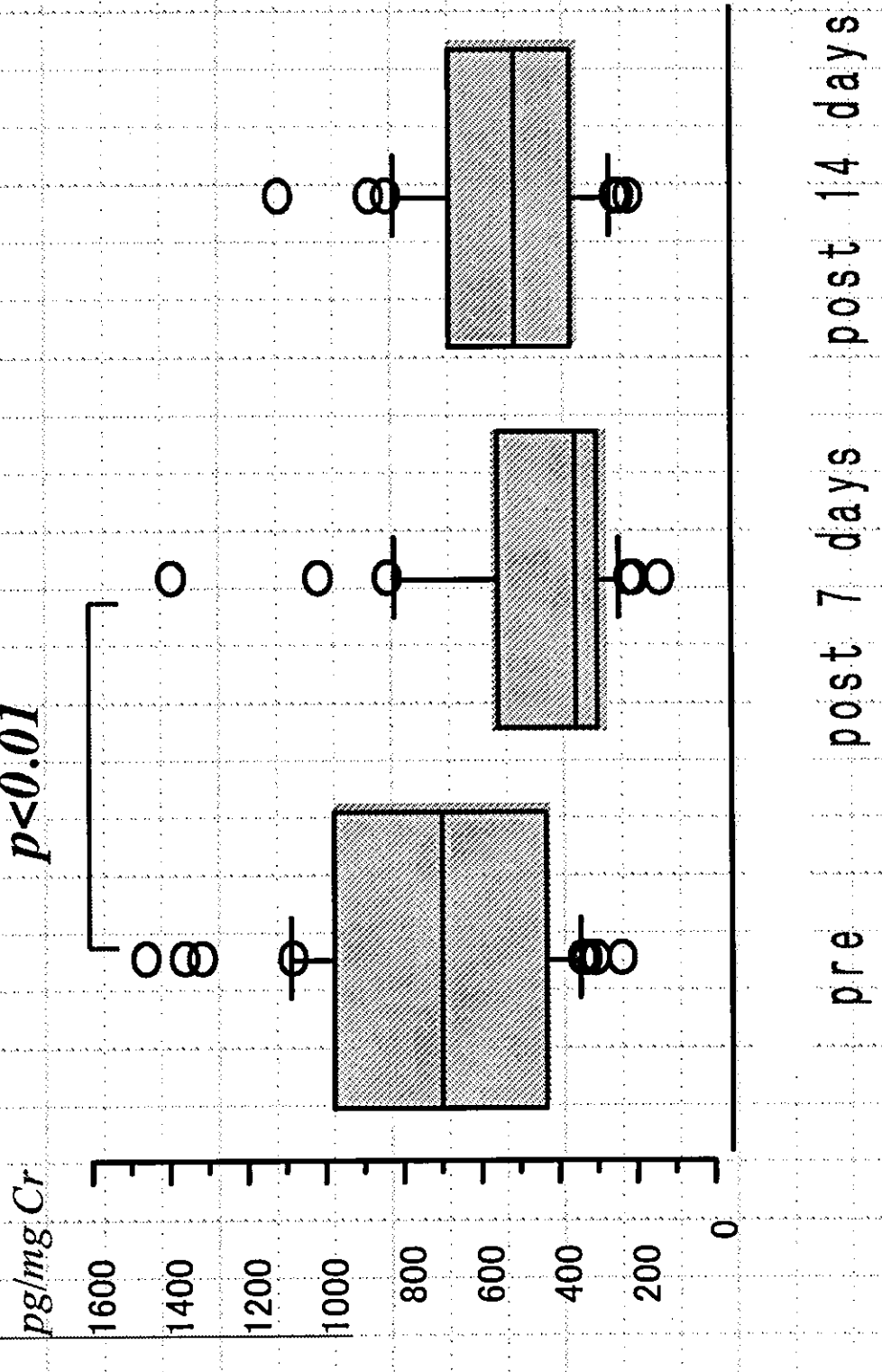
8 - iso prostane in KD and HC



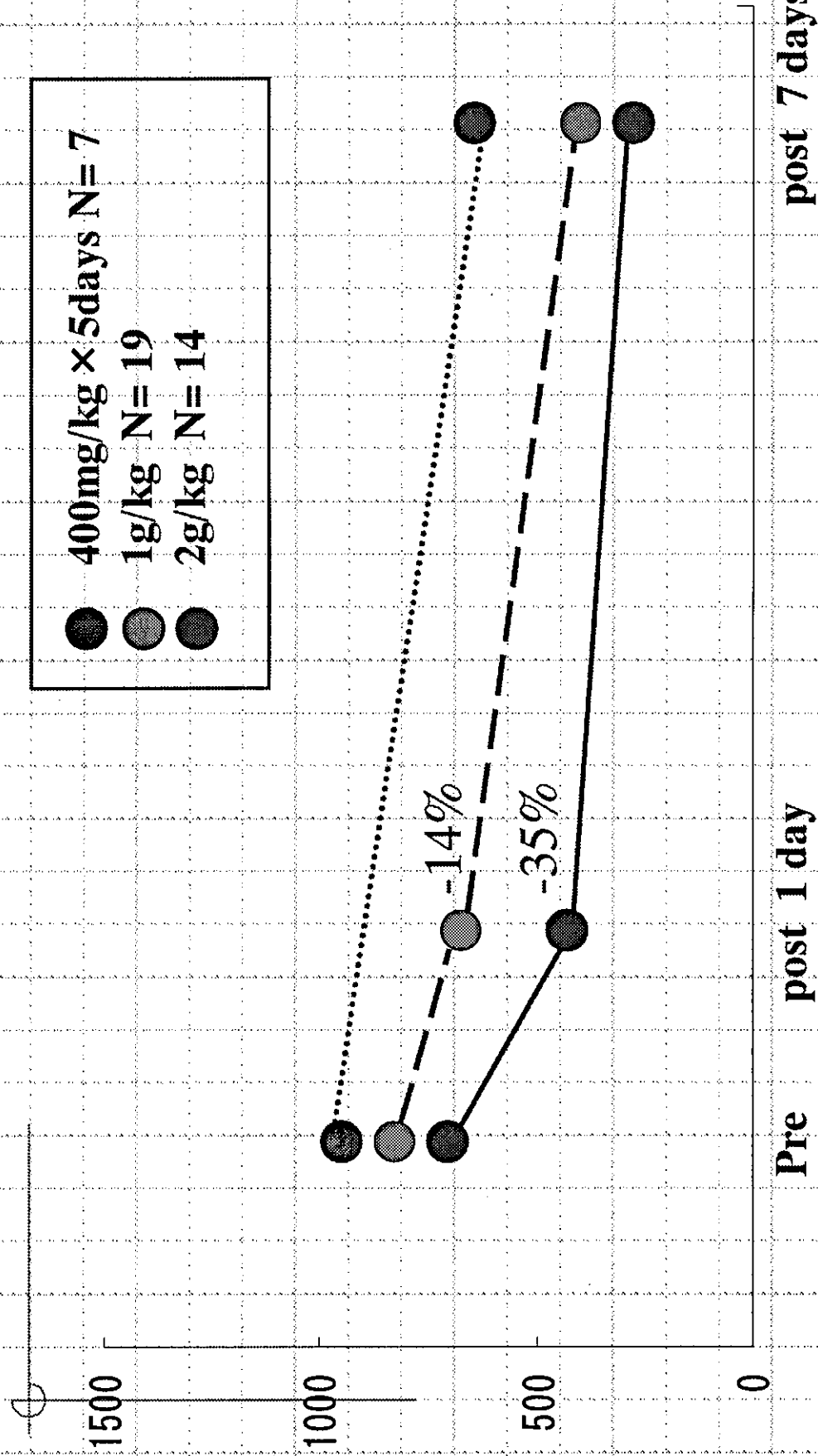
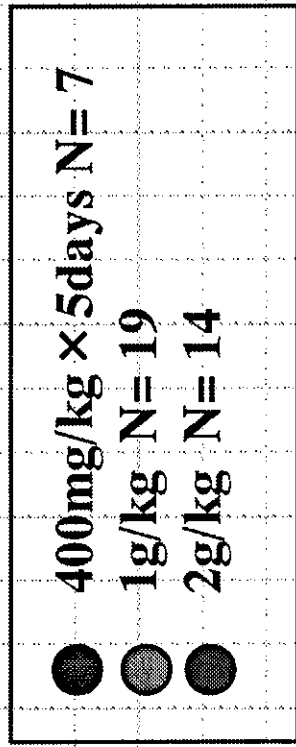
8 - iso prostane in acute phase with single IVIG

(1g/kg, 2g/kg, 400mg/kg / E x 5 days) N=40

$p < 0.01$



8 - iso prostane in acute phase of KD
 treated by 3 regimen of IVIG therapy



Candida albicans 由来可溶性菌体外多糖 CAWS の生理活性に及ぼす培養条件の影響に関する研究

分担研究者 大野尚仁 東京薬科大学薬学部 教授

研究要旨

我々は、*Candida albicans* IFO 1385 を完全合成培地で培養し、その培養上清中から得られる可溶性多糖画分（CAWS）をマウスに腹腔内投与すると川崎病類似の血管炎を発症させることを報告してきた。一方、*C. albicans* は異なる条件下で培養すると、細胞構造の変化が起こることが知られている。そこで、異なる培養条件を用いて CAWS を作成し、CAWS の物性と生理活性への培養条件の影響を解析した。その結果、培養時の pH は、CAWS の収量や糖組成、構造に影響を与えること、さらに培養条件の異なる CAWS は血管炎誘発活性も異なることが明らかとなった。培養条件は様々な合成酵素や分解酵素の発現、及び活性に影響する可能性がある。その結果として異なる構造を持った CAWS が細胞壁から放出されたと考えられた。

A. 研究目的

病原性真菌 *Candida albicans* 菌体外多糖画分（CAWS）は、マウスに川崎病類似血管炎を誘発することができる。CAWS 調製過程において、*C. albicans* を通気攪拌培養すると、菌の増殖に伴い培養液の pH が酸性化した。そこで、pH をコントロールして *C. albicans* を培養した上清より CAWS を調製し、培養時の pH が CAWS の構造と活性にどのような影響を与えるか解析した。

B. 研究方法

1. *C. albicans* IFO 1385 株を 27 °C で 4 L の C-limiting medium を用いて、通気攪拌培養すると、菌の増殖に伴って培養液の pH が酸性化した（Fig. 1）。そこで培養中の pH を開始時の pH 5.2、あるいは培養後の pH 2.3 に制御して培養し（それぞれ CAWS27-5.2、CAWS27-2.3 と表記する）、CAWS を調製した。また、同様の制御を 37 °C についても行い、培養条件の

異なる CAWS を作成した。

2. 作成した CAWS の物性をガスクロマトグラフィー、因子血清を用いて検討した。さらに CAWS を ICR マウスに静脈内投与することによって急性致死活性を、DBA/2 マウスに 4mg/mouse 連日 5 日間腹腔内投与することによって血管炎誘発活性を検討した。

C. 研究結果

1. 培養条件によらず、CAWS を得ることが出来たが、その収量は培養時の pH が高いほど多い傾向にあった（Table. 1）。いずれの CAWS も、主要構成糖は Mannose であったが、CAWS 37-5.2 は Mannose/glucose 比が高値を示した（Fig. 2）。

2. 特定の Mannan 構造を認識する 10 種類の因子血清を用いて、ELISA にて反応性を検討したところ、Table 2 に示すように違いがみられた。以上のことから培養条件は CAWS の構造に著しい影響を与えることが明らかとなっ