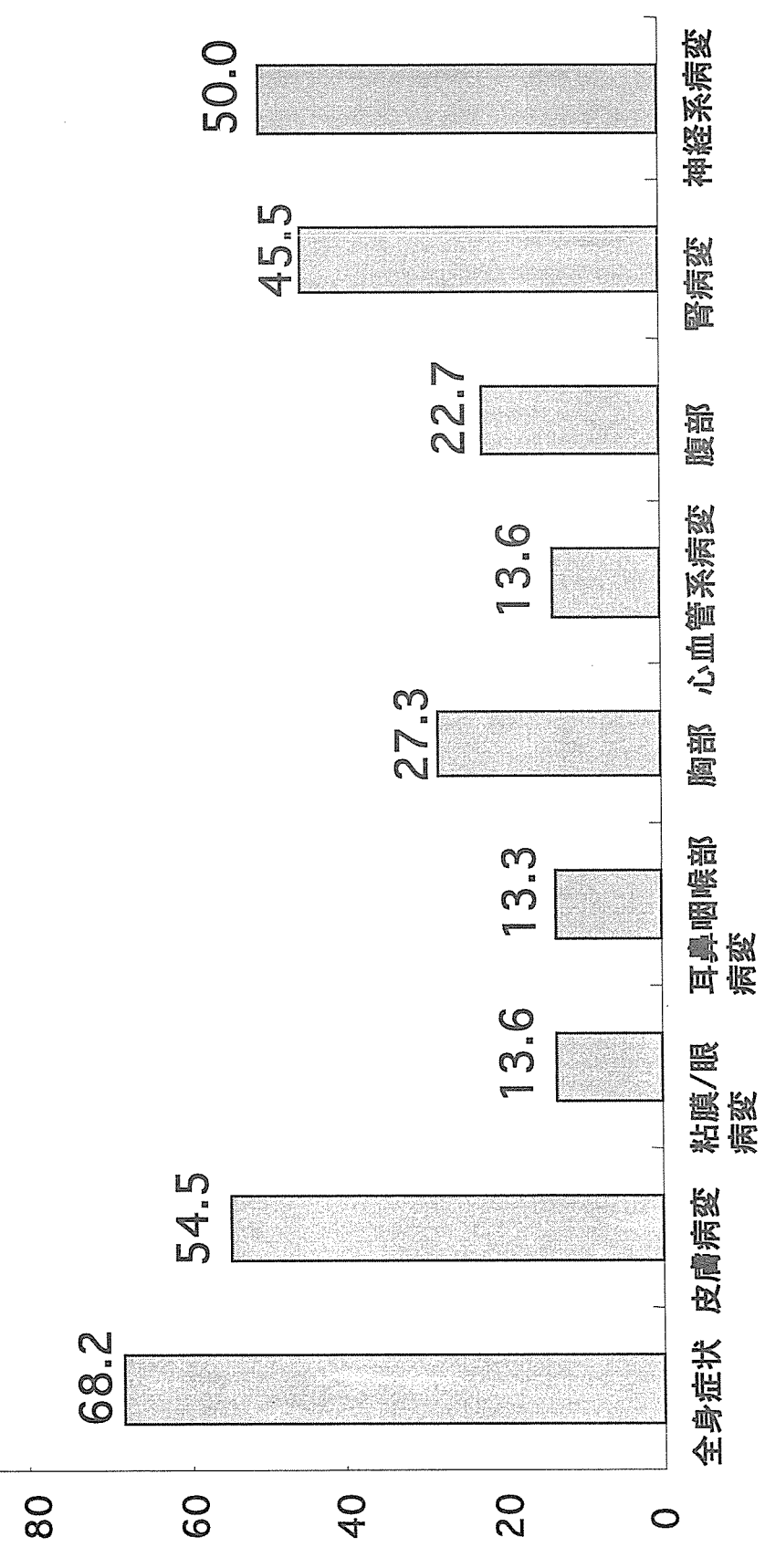


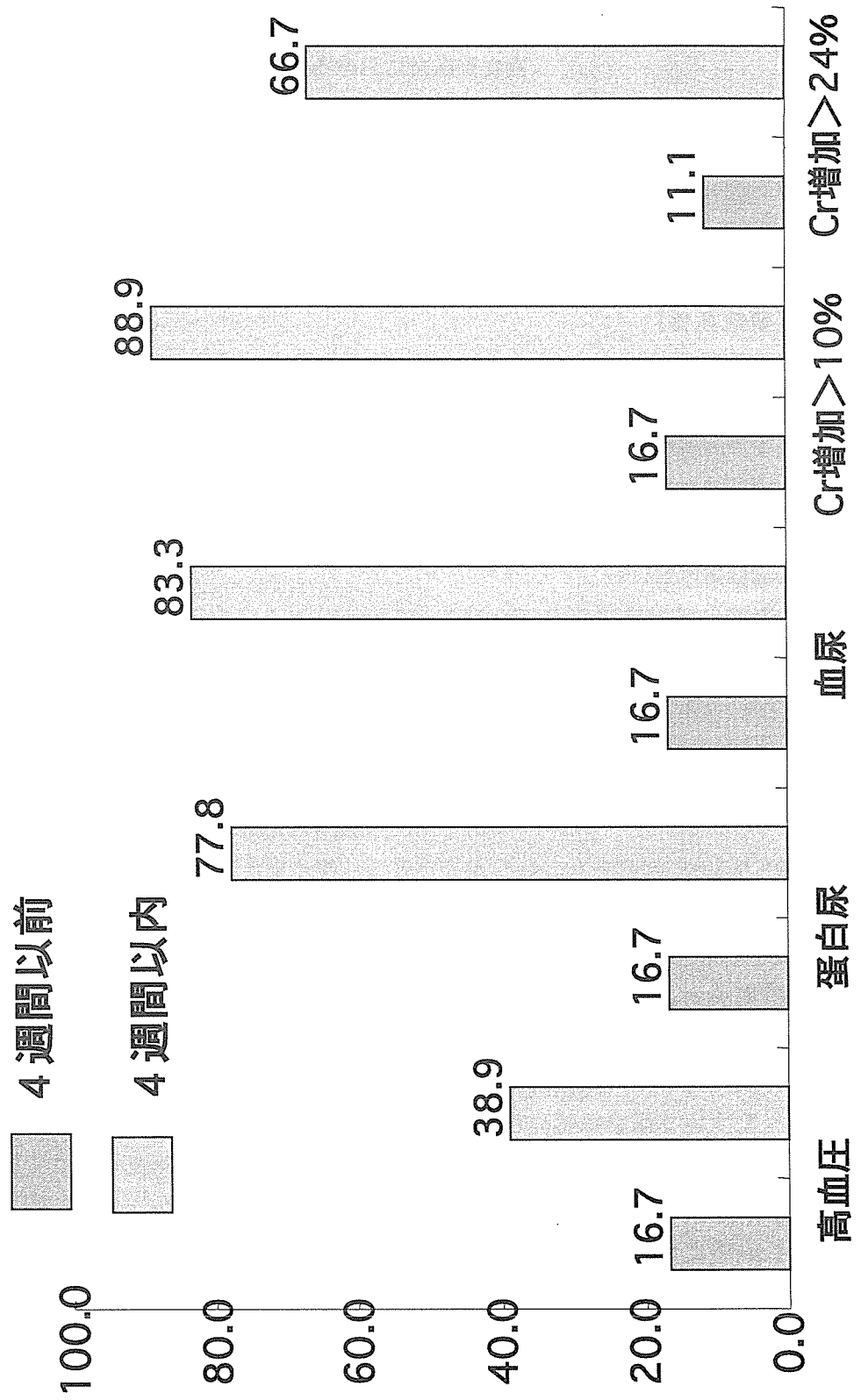
図3 MPO-ANCA陰性血管炎と思われる症例  
 のBVAS2003の9項目発症頻度  
 (n=22)



# 4週間以前と以内の比較 (腎)

n=18

图 4



高安動脈炎における抗内皮細胞抗体の検討

分担研究者	吉田俊治	藤田保健衛生大学リウマチ感染症内科
研究協力者	吉田秀雄	藤田保健衛生大学リウマチ感染症内科
	玉熊桂子	藤田保健衛生大学リウマチ感染症内科

【研究要旨】

高安動脈炎（Takayasu arthritis: TA）など血管炎症候群で抗内皮細胞抗体（AECA）の存在の報告は多い。しかし、その特異抗原の同定や、病態への関与は明らかではない。我々は高安動脈炎患者で高率に検出される AECA の抗 74kDa 抗体を報告し、Western blotting 法や二次元電気泳動法を用いて抗原同定を試みてきた。昨年度は、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）、ヒト血球系腫瘍細胞（U937, Jurkat, HL60 等）を用い、間接蛍光抗体法を行い細胞膜表面に結合する AECA の存在を報告した。今年度は、大動脈内皮細胞（AECA）、大動脈外膜線維芽細胞（AoAF）、HUVEC、ヒト肺動脈血管内皮細胞（HPAEC）などのヒト血管内皮細胞を用い AECA の検討を行った。[対象]TA 患者血清 10 例と健常人血清 5 例。[方法]間接蛍光抗体法による細胞染色を行った。対応抗原同定のため Immunoprecipitation（IP）から質量分析（LC-MS/MS 解析）を行った。[結果]間接蛍光抗体法より AoAF と HAEC が TA 患者血清で強い染色像を示した。LC-MS/MS より同定された抗原は、主に免疫グロブリンの断片と Vimentin であった。[結論]TA 血清で大動脈血管内皮細胞（HAEC）と大動脈外膜線維芽細胞（AoAF）が高率且つ、強く染色される AECA を確認した。Vimentin が候補タンパクとして同定された。

A. 研究目的

抗内皮細胞抗体(AECA)は、血管炎症候群で抗好中球細胞質抗体（ANCA）に次いで高率に認められる自己抗体である。これまでの検討<sup>1)~6)</sup>で、AECA の中で、抗 74kDa 抗体が高安動脈炎に高率に検出され、2 次元電気泳動より対応抗原を分析<sup>3)</sup>し、heat shock protein の一種である可能性を報告してきた。

さらに、AECA の中でも膜表面に対する自己抗体の存在について注目し、細胞を膜画分と細胞質画分との分離し

膜表面上のみを抗原とした Western blotting 法や二次元電気泳動法を行ってきた。昨年度は、ヒト血球系腫瘍細胞（U937, Jurkat, HL60 等）を用いた間接蛍光抗体法で細胞膜表面に結合する AECA を報告した。今回は、前年度の結果より、更に高安動脈炎患者の障害部位と思われる種々の血管内皮細胞を用いて AECA の検討を行った。

B. 対象

高安動脈炎 10 例、健常人 5 例の血清を用いた。使用した細胞は、ヒト血管

細胞の臍帯静脈内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cell: HUVEC)、肺動脈血管内皮細胞 (human pulmonary artery endothelial cell: HPAEC)、大動脈内皮細胞 (human aortic endothelial cell: HAEC)、大動脈外膜線維芽細胞 (human aortic adventitial fibroblasts: AoAF) を用いた。

### C. 研究方法

免疫組織化学的方法に基づく間接蛍光抗体法を用いて細胞染色を行った。細胞は培養後、コラゲナーゼで剥離し生細胞条件下で 100 倍希釈血清を反応させた。Alexa488 抗ヒト IgG 抗体 (SIGMA) で蛍光標識後、細胞を固定し DAPI により核染色を行った。暗視野下で鏡検し目視判定する。

Immunoprecipitation (IP) は、Protein G Sepharose Beads を用いて血清中の IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) を結合させる。Incubate 後、細胞を超遠心法により抽出した膜画分を IgG 結合させた Protein G Sepharose Beads と反応させる。その後、IgG 結合 Beads と反応した膜画分タンパクを Boiling により結合を切断し、且つ還元化させ、Gel 濃度 12.5% SDS-PAGE にて電気泳動し、MS 解析用の Silver Stain にてバンドを検出する。TA 患者と健常人の比較により TA に特異的と思われるバンドで LC-MS/MS 解析を行った。

### D. 研究結果

#### 1. 間接蛍光抗体法

TA 患者は、HUVEC, HPAEC よりも AoAF, HAEC で膜表面が強く染色された。(図 1)

TA 患者で HAEC, HPAEC, AoAF の表面に結合する AECA が認められた。

(図 2)

#### 2. Immunoprecipitation

TA 患者血清と健常人血清を比較し、TA に特異的と思われるバンドを検出した。

#### 3. LC-MS/MS

免疫グロブリンの断片と細胞骨格タンパク<sup>7)</sup>の 1 つである Vimentin が同定された。

### E. 結論

血管内皮細胞を用いると健常人では染色されず、TA 血清で染色された。特に TA 患者では、大動脈血管内皮細胞 (HAEC) と大動脈線維芽細胞 (AoAF) では、高率で強く染色される AECA が確認された。

大動脈血管内皮細胞 (HAEC) の細胞膜を抗原とした免疫沈降法と LC-MS/MS 法による抗原分析で Vimentin が候補タンパクとして同定された。TA における自己抗体の可能性及び臨床所見との関連を検索する予定である。

### F. 健康危険物情報

該当なし。

### G. 文献

1. 吉田俊治、片山雅夫、水谷昭衛、大島久二、鳥飼勝隆：高安動脈炎における抗内皮細胞抗体の検討。厚生省特定疾患免疫疾患調査研究班難治性血管炎に関する調査研究班平成 10 年度研究報告書、1999；118-121.
2. 吉田俊治、片山雅夫、深谷修作、大島久二、鳥飼勝隆：血管炎症候群における抗内皮細胞抗体 (抗 74kDa 蛋白抗体) に関する検討。厚生省厚生科学特定疾患対策研究事業難治性血管炎に関する調査研究班平成 11 年度研究報告書、2000；107-109.
3. 吉田俊治、田口博章、鳥飼勝隆：高安

- 動脈炎における抗内皮細胞抗(抗 74kDa 抗体)の対応抗原の分析。厚生科学研究研究費補助金特定疾患対策研究事業難治性血管炎に関する調査研究平成 12 年度総括研究報告書、2001 ; 134-136.
4. 吉田俊治、田口博章、吉田秀雄、玉熊桂子、片山雅夫、深谷修作：高安動脈炎における抗内皮細胞抗体(抗 74kDa 抗体)の対応抗原の同定。厚生科学研究研究費補助金特定疾患対策研究事業難治性血管炎に関する調査研究平成 13 年度研究報告書、2002 ; 232-234.
  5. 吉田俊治、田口博章、玉熊桂子：高安動脈炎における抗 heat shock protein 抗体の検討。厚生労働科学研究費補助金特定疾患対策研究事業難治性血管炎に関する調査研究平成 14 年度総括・分担研究報告書、2003 ; 42-44.
  6. 吉田俊治、田口博章、玉熊桂子：高安動脈炎における抗 heat shock protein70B'抗体の検討。厚生科学研究研究費補助金特定疾患対策研究事業難治性血管炎に関する調査研究平成 15 年度総括・分担研究報告書、2004 ; 77-81.
  7. 近藤啓文、坂井美保：抗ビメンチン抗体 (Anti-vimentin antibodies)。Nippon Rinsho Vol 63, Suppl 7, 2005 ; 646-649.

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Shigetake Sasayama, Toru Satoh, Tohru Izumi, Shunji Yoshida, Shingo Kyotani, Nobuhiro Tahara. Long-term trial of bosentan monotherapy for pulmonary arterial hypertension in Japanese patients. *Curr Med Res Opin* 23: 395-400,2007.
2. Mihara T., Ueda A., Hirayama M., Takeuchi T., Yoshida S., Naito K., Yamamoto H., Mutoh T. Detection of new anti-neutral glycosphingolipids antibodies and

their effects on Trk neurotrophin receptors. *FEBS Lett* 580: 4991-5,2006.

3. 吉田俊治. ステロイドの新しい使い方 *Mebio* 23: 102-9,2006.
4. 小野田覚、西野譲、吉田秀雄、長澤英治、大竹智子、小松八千代、加藤浩二、加藤賢一、深谷修作、吉田俊治. ANCA 関連血管炎に血球貪食症候群を合併し剖検で肺胞蛋白症が明らかとなった 1 例 *日内会誌* 95: 2087-9,2006.
5. 深谷修作、小松八千代、吉田俊治 膠原病に合併する肺高血圧症 *Heart View* 10: 866-9,2006.
6. 小松八千代、深谷修作、吉田俊治 混合性結合組織病 特に肺高血圧症の診断と治療を中心に *Medical Practice* 23: 691-6,2006.

### 2. 学会発表

1. 小松八千代、深谷修作、片山雅夫、吉田秀雄、吉田俊治：膠原病性肺高血圧症の合併率と自然経過。日本リウマチ学会総会、2006.
2. 片山雅夫、玉熊桂子、吉田秀雄、吉田俊治：混合性結合組織病(MCTD)の肺高血圧症(PH)における抗 phosphatidylserine-prothrombin 複合体(PS/PT)抗体の臨床的意義についての検討。日本リウマチ学会総会、2006.
3. 吉田秀雄、玉熊桂子、吉田俊治：MCTD における抗血管内皮細胞抗体の検討。日本臨床免疫学会総会、2006.

### 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当なし。
2. 実用新案登録  
該当なし。
3. その他  
なし

図1 ; TA 患者に見られた染色像

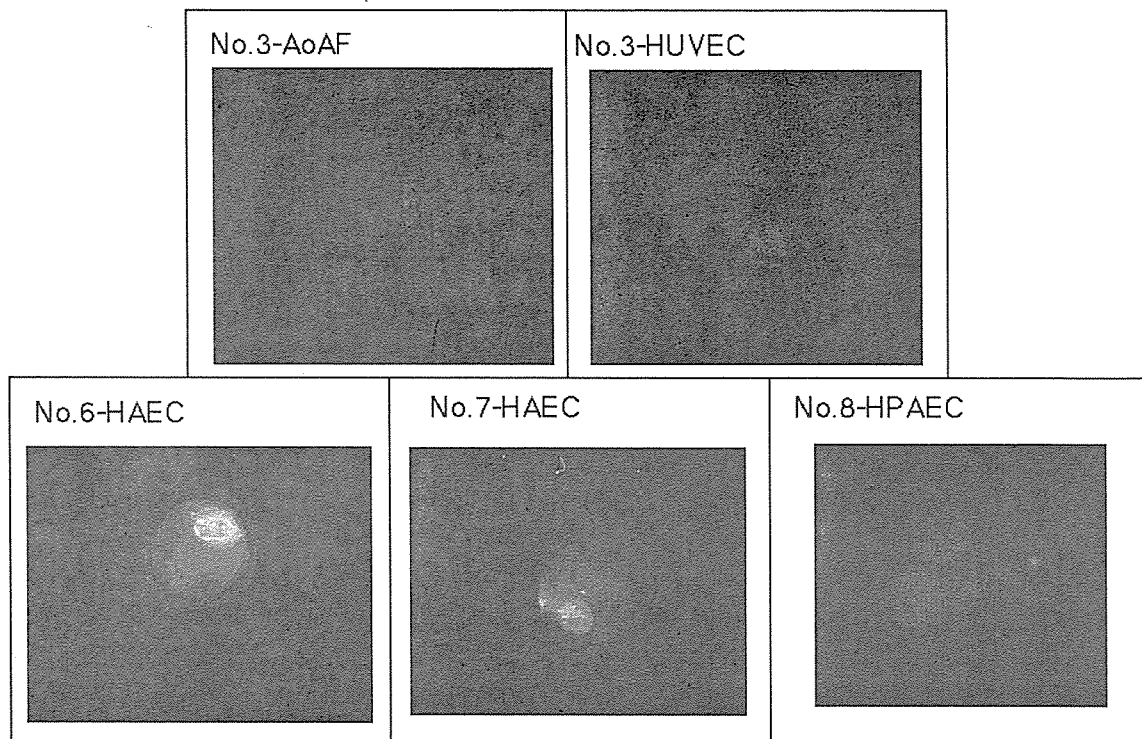
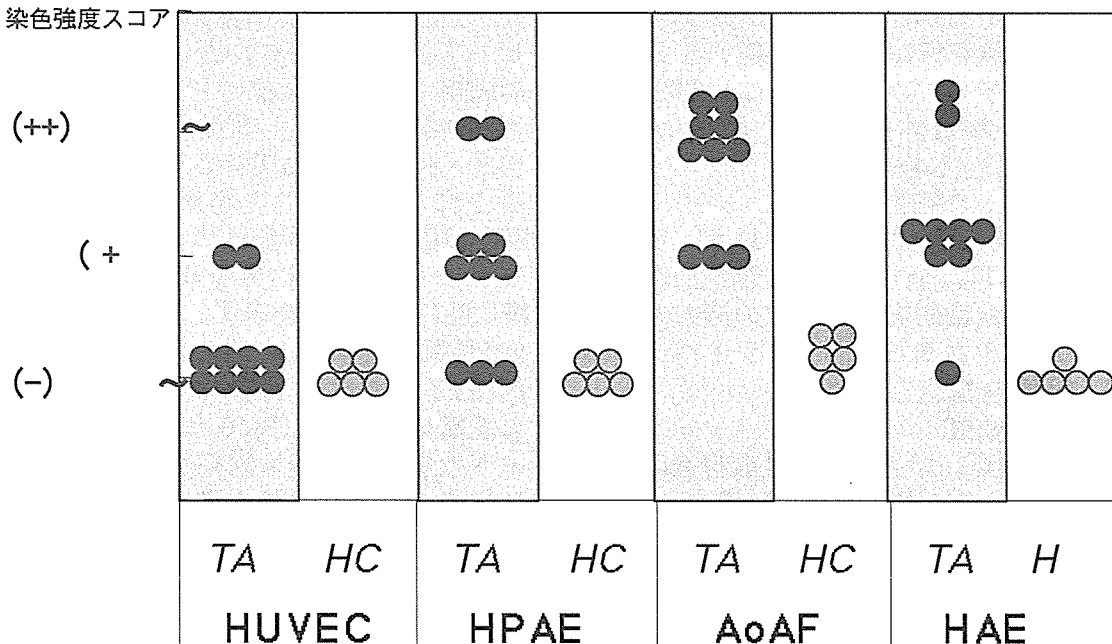


図2 ; 間接蛍光抗体法

染色強度スコア



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

MPO-ANCA 関連血管炎の疾患活動性を反映する MPO-ANCA 抗体測定に関する研究  
分担研究者 吉田雅治 東京医科大学八王子医療センター腎臓内科教授  
研究協力者 東京医科大学八王子医療センター腎臓内科 佐々木まり子、  
中林 巖、明石真和、渡辺妙子、富安朋宏、吉川憲子、  
横浜市立大学 山田 道之

研究要旨

MPO-ANCA 関連血管炎 (MAAV) の腎、肺を中心とする血管炎の疾患活動性を反映する新しい MPO-ANCA 抗体検査法について検討した。MPO-ANCA の親和性を MPO 抗原 1ug/ml/well を用いた ELSA により吸収抑制試験を行い、50%抑制する IC<sub>50</sub> 値として表示した。2種類のヒト MPO モノクローナル抗体を用い capture MPO ELISA についても検討した。MAAV の MPO-ANCA 抗体の親和性及び capture MPO ELISA の反応の相違は腎、肺を中心とする血管炎の活動性を反映する新しい血管炎のバイオマーカーとなる可能性が明らかになった。

A. 研究目的

MPO-ANCA 関連血管炎 (MAAV) の腎、肺を中心とする血管炎の疾患活動性を反映する新しい MPO-ANCA 抗体検査法を、MPO-ANCA 抗体の親和性の差及びヒト MPO モノクローナル抗体を用いた capture MPO ELISA を樹立し検討した。

B. 研究方法

自験 MAAV20 例 (男性9例、女性11例、平均年齢75歳) を対象とした。MPO-ANCA の親和性を従来の固相 MPO 抗原に MPO 抗原 1ug/ml/well を加えた ELSA による吸収抑制試験を行い、50%抑制する IC<sub>50</sub> 値として表示した。2種類のヒト MPO モノクローナル抗体を用いた capture MPO ELISA を樹立し検討した。

(倫理面への配慮)

MAAV20 例 (男性9例、女性11例、平均年齢75歳) は、全て厚労省難治性血管炎斑の前向き治療研究についての協力の説明及び同意を文章で頂き、プライバシーの守秘義務を徹底した。

C. 研究結果

MAAV20 例は、厚労省難治性血管炎斑重症度分類により I 群 (最重症、重症: 6例) と II 群 (軽症: 14例) に分類し得た。発症後 1 ヶ月以内に急速進行性糸球体腎炎 (RPGN) の発症あるいは呼吸器症状 (肺出血、間質性肺炎)、神経筋関節症状 (筋力低下を伴う多発単神経炎)、腹部アンギーナを認め、BVAS スコアは 9-26 (平

均16点) を示した。MPO 抗原 1ug/ml/well を加えた ELSA による吸収抑制テストは、図1に示すように II 群 (軽症: 2例) 非活動期及び I 群 (最重症 RPGN 期1例、重症 RPGN 寛解期1例) は不変、I 群 (最重症肺出血期1例、重症 RPGN 活動期1例) は MPO 抗原 1ug により有意に抑制された。2種類のヒト MPO モノクローナル抗体を用いた capture MPO ELISA による I 群 (最重症肺出血期、RPGN 期1例、重症 RPGN 活動期、寛解期1例) と II 群 (軽症: 非活動期1例) の結果を図2に示す。ヒト 1 2 MPO モノクローナル抗体は従来の固相 MPO 抗原及びヒト 9 MPO モノクローナル抗体に比較し非活動期で低く、肺出血、RPGN の活動期で高く検出された。表1に今回検討した自験 MAAV20 例の MPO-ANCA 抗体の親和性の差及びヒト MPO モノクローナル抗体を用いた capture MPO ELISA の結果を示す。MPO-ANCA 抗体抑制試験 IC<sub>50</sub>50%以下は I 群が6例中5例(83%)、II群が14例中1例(7%)と有意な差異を認めた。(P<0.05)。副腎ステロイド大量及び免疫抑制剤併用による免疫抑制療法、及び血漿交換療法による寛解導入療法により血管炎が鎮静化すると IC<sub>50</sub> も速やかに上昇し、再燃時は再び低下した。capture MPO ELISA ではヒト 1 2 MPO モノクローナル抗体は血管炎の非活動期で低く、肺出血、RPGN の活動期で高く検出された。

#### D. 考察

今回 MPO-ANCA 関連血管炎 (MAAV) の腎、肺を中心とする血管炎の疾患活動性を反映する新しい MPO-ANCA 抗体検査法を、MPO-ANCA 抗体の親和性の差及びヒト MPO モノクロナール抗体を用いた capture MPO ELISA を樹立し検討した。先ず MPO 抗原 50 ug/ml の高濃度では全ての症例で完全に吸収抑制され、特異性が確認できた。MPO 抗原 1ug/ml/well を加えた ELSA による吸収抑制テストでは、非活動期及び寛解期では不変、最重症肺出血期、RPGN 活動期では MPO 抗原 1ug により有意に抑制された。また、MPO-ANCA 抗体抑制試験による  $IC_{50}$  50% 以下は I 群 (最重症、重症) が 6 例中 5 例 (83%)、II 群 (軽症) が 14 例中 1 例 (7%) と有意な差異を認め ( $P < 0.05$ )、副腎ステロイド大量及び免疫抑制剤併用による免疫抑制療法、及び血漿交換療法による寛解導入療法により血管炎が鎮静化すると  $IC_{50}$  も速やかに上昇し、再燃時は再び低下した。すなわち MPO-ANCA 抗体の親和性の差が腎、肺を中心とする血管炎の疾患活動性を反映する傾向を示した。2 種類のヒト MPO モノクロナール抗体を用いた capture MPO ELISA による解析の結果、ヒト 1 2 MPO モノクロナール抗体は血管炎の非活動期で低く、肺出血、RPGN の活動期で高く検出され、腎、肺を中心とする血管炎の疾患活動性を反映する傾向が覗えた。

#### E. [結論]

MAAV の MPO-ANCA 抗体の親和性及び capture MPO ELISA の反応性の相違は腎、肺を中心とする血管炎の活動性を反映する新しい血管炎のバイオマーカーとなりうると考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

投稿検討中

##### 2. 学会発表

1. 第 51 回日本リウマチ学会総会、学術集会 (平成 19 年 4 月 26 日～29 日: 横浜) ワークショップ発表予定

2. 第 50 回日本腎臓学会学術総会 (平成 19 年 5 月 25～27 日: 浜松) 口演発表予定

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

出願・登録検討中

##### 1. 特許取得

取得検討中

##### 2. 実用新案登録

特に無し

##### 3. その他

特に無し



図1

MPO-ANCA抗体親和性の相違は血管炎の病勢を反映する

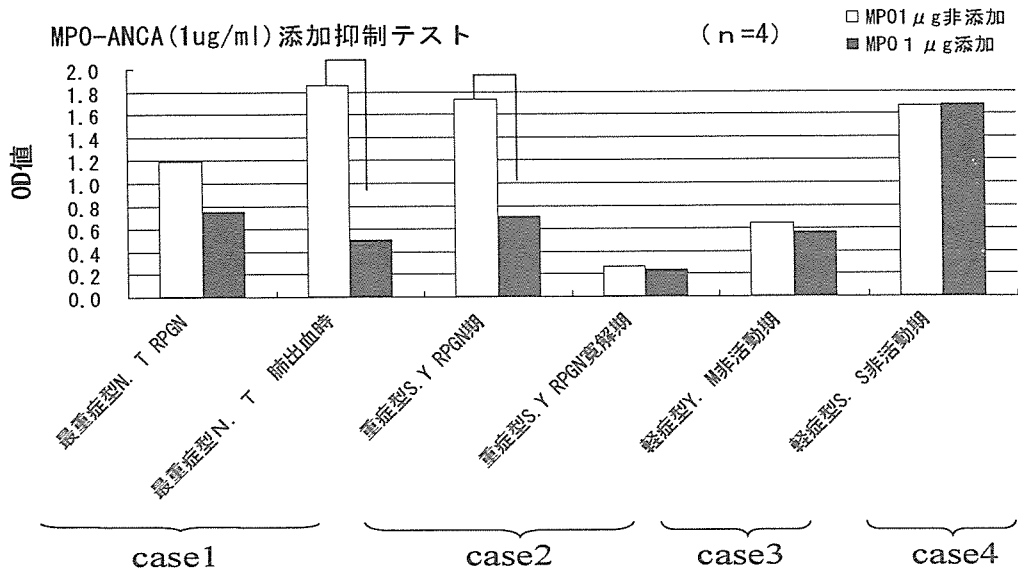


図2

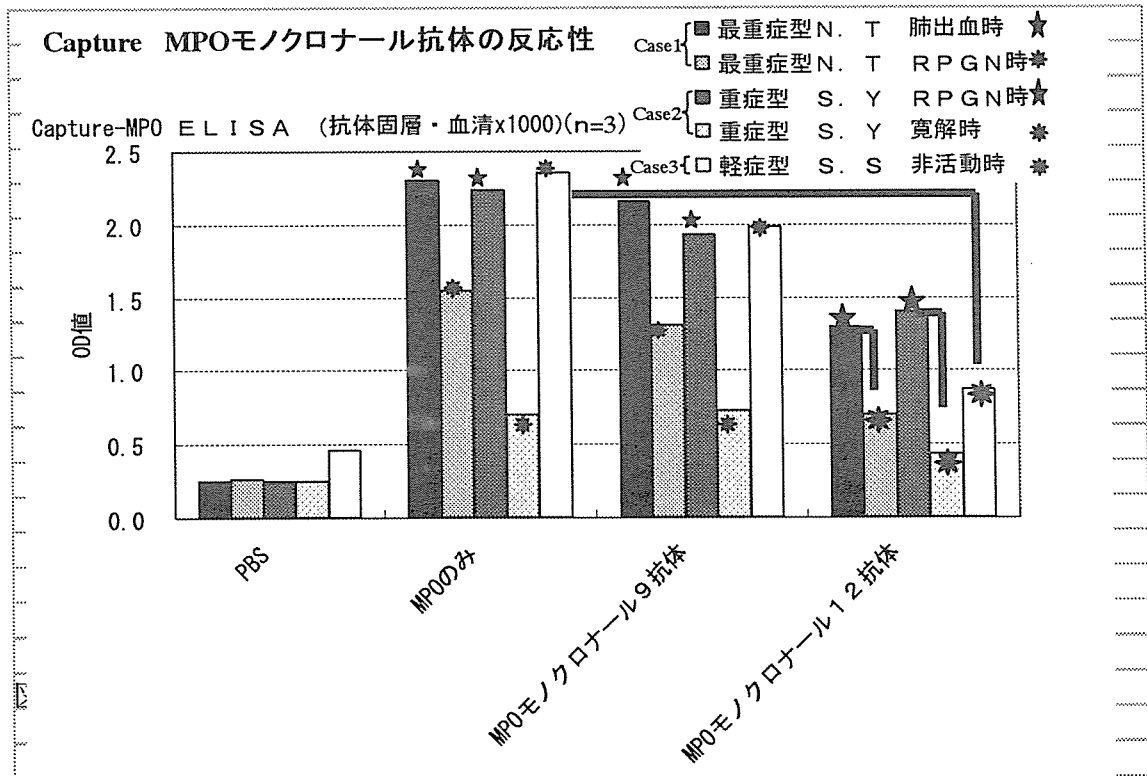


表 1

## MPO-ANCA関連血管炎の重症度とMPO-ANCA抗体抑制テスト、captureMPO-ELISAと治療、転帰(n=20)

				(EU)	(mg/dl)		MPO-ANCA 抑制率 (IC50:%)	captureMPO ELISA(O. D. ) (M-9, M-12)	MPO	
1)N.T.	79	女	肺出血 +RPGN	CSパルス +IVCY+PE	1280	12	寛解 (H.D.)	27→62	93→80	51→33
2)S.Y.	78	男	RPGN	CSパルス +IVCY+PE	560	2.0	寛解	28→84	84→100	58→29
3)K.H.	72	男	RPGN	CSパルス +IVCY+PE	580	6.0	寛解	32→87		
4)T.M.	87	女	RPGN	CSパルス +IVCY + PE	420	3.0	寛解	40→89		活動期→非活動期
5)T.E.	67	女	RPGN	CSパルス +IVCY + PE	360	3.6	寛解	40→74		
6)K.T.	71	男	RPGN+IP	CS+ IVCY	320	1.6	寛解	56→74		
7)I.K.	76	女	K+O	CS	560	1.0	* 寛解 (83%) 50%以下	39→90	90→90	98→34
平均	男:女									
8)~20)	75	6:6	K,G,O	CS	(平均80)	(平均1.1)	寛解 (7%) 50%以下	85(平均)	80	30

(K:慢性腎炎 O:筋, 関節, 皮膚など G:消化器)

\* P&lt;0.05

(CS:副腎皮質ステロイド、IS:免疫抑制剤、CSパルス:ステロイドパルス、IVCY:エンドキサンパルス、PE:血漿交換)

Wegener 肉芽腫症による難治性眼窩内肉芽腫に対するリツキシマブの有用性に関する研究

分担研究者	山田秀裕	聖マリアンナ医科大学内科学 助教授
研究協力者	大岡正道	聖マリアンナ医科大学内科学 助手
研究協力者	伊藤 宏	聖マリアンナ医科大学内科学 大学院
研究協力者	前田聡彦	聖マリアンナ医科大学内科学 大学院
研究協力者	永渕裕子	聖マリアンナ医科大学内科学 講師
研究協力者	尾崎承一	聖マリアンナ医科大学内科学 教授

研究要旨

Wegener 肉芽腫症による眼窩内肉芽腫は、失明などの転帰を来す重大な合併症の一つであるが、有効な治療法が確立されていない。最近、Wegener 肉芽腫症に対するリツキシマブの有用性を示す症例報告が見られる。そこで、教室で経験した難治性眼窩内肉芽腫に対する有用性を検討した。症例は、男 1 例女 2 例で年齢は 21～才、全例、副鼻腔と眼窩内肉芽腫を認め、2 例は肺内肉芽腫病変を合併した限局型であり、初診時に C-ANCA または PR3-ANCA 陽性であった。全例シクロホスファミド間歇静注療法による治療経過中に視力障害が出現した。1 例はさらにインフリキシマブが投与されたが、治療中に視力障害が増悪した。3 例に対し、施設内倫理委員会の承認の後、プレドニン 0.5~1mg/kg への増量とともにリツキシマブ 375mg/m<sup>2</sup> 体表面積の点滴静注を 1 週ごとに計 4 回投与した。リツキシマブ投与直前の PR3-ANCA は 3 例とも陰性であった。リツキシマブ投与 4 週以内に 3 例とも眼窩内肉芽腫による視力障害、眼痛、眼窩 CT 所見の改善がみられた。肺内肉芽腫性病変を合併した 2 症例では、咳嗽や画像所見の消失をみとめた。治療開始後 7～9 ヶ月が経過するが、3 症例とも末梢血 CD19 陽性細胞数は 0.1% 以下に維持され、眼病変を含めての Wegener 肉芽腫症の再燃は見られていない。infusion reaction や感染症などの副作用はみられなかった。

Cyclophosphamide 抵抗性眼窩内肉芽腫を伴う Wegener 肉芽腫症 3 症例に対して、rituximab(375mg/m<sup>2</sup>、1 週間間隔、計 4 回投与)が有効であった。Rituximab 投与約 1 週後より、臨床症状、画像所見の改善を認めた。3 例はいずれも Rituximab 導入前に、PR3-ANCA が陰性化していた。Wegener 肉芽腫症の病態に対する B 細胞の PR3-ANCA 非依存性関与が示唆された。Rituximab の有効性、長期予後については今後の検討が必要である。

#### A. 研究目的

Wegener 肉芽腫症による眼窩内肉芽腫は、失明などの重大な転帰を来す合併症の一つであるが、有効な治療法が確立されていない。最近、Wegener 肉芽腫症に対するリツキシマブの有用性を示す症例報告が見られる。そこで、教室で経験した難治性眼窩内肉芽腫に対するリツキシマブの有用性を前向きパイロット試験として検討した。

#### B. 研究方法

対象症例の登録基準として、眼窩内肉芽腫を合併した厚労省診断基準を満たす Wegener 肉芽腫症で、シクロホスファミド効果不十分または投与禁忌であること、重篤な活動性感染症のないこと、倫理委員会の承認と文書同意を取得した症例を対象とした。リツキサンは、375mg/mm<sup>2</sup>を生食 250ml に溶解して点滴静注し、1週間ごとに計4回（1クール）投与した。併用ステロイドは PSL 0.5~1mg/kg/日とし、8週間後までに 20mg/日以下になるよう減量することとした。

（倫理面への配慮）

本試験は、当学倫理委員会の承認のもとに行われた。また、それぞれの患者から文書同意を得ている。

#### C. 研究結果

倫理委員会の承認後、H18年4月から12月までに当科において登録された症例は、男1例、女2例の計3例であった。年齢は21~63才、全例限局型 Wegener 肉芽腫症で、副鼻腔と眼窩内肉芽腫を認めた。3症例の背景を表1に示す。2例は肺内肉芽腫病変を合併していた。いずれの症例も初診時に C-ANCA または PR3-ANCA 陽性であった。全例シクロホスファミド間歇静注療法による治療経過中に視力障害が出現した。1例はさらにインフリキシマブが投与されたが、治療中に視力障害や眼痛が増悪した。3例に対し、施設内倫理委員会の承認の後、プレドニン 0.5~1mg/kg への増量とともにリツキシマブを1クール投与した。

リツキシマブ投与直前の PR3-ANCA は3例ともすでに陰性化していた。リツキシマブ投与4週以内に3例とも眼窩内肉芽腫による視力障害、眼痛、眼窩 CT 所見の改善がみられた（図1~5）。肺内肉芽腫性病変を合併した2症例では、咳嗽や画像所見の消失をみとめた（図2, 5）。治療開始後8~10ヶ月が経過するが、3症例とも末梢血 CD19 陽性細胞数は 0.1%以下に維持され（図1, 3, 4）、

眼病変を含めての Wegener 肉芽腫症の再燃は見られていない。infusion reaction や感染症などの副作用はみられなかった。

#### D. 考察

Wegener 肉芽腫症による眼窩内肉芽腫に対して種々の免疫抑制薬が試みられてきたが、難治例が多く、特に罹病期間の長い症例では、治療抵抗性そのまま、失明や顔面変形など重大な転帰を取ることが少なくない。今回3例の症例のうち2例は10年以上の病歴を持ち、従来の治療や新規抗 TNF 療法にも反応しない難治例であった。斯かる症例に対し、リツキシマブは顕著な効果を発揮した。

海外での報告例を見ると、Wegener 肉芽腫症に対するリツキシマブ効果は一定していない。Mayo Clinic の Keogh らは、前向きパイロット試験で10例の治療抵抗性 PR3-ANCA 関連血管炎患者にプレドニン 1mg/kg とともにリツキシマブ 375mg/mm<sup>2</sup> を1週間ごとに4回投与した結果、全例で寛解導入に成功し、5ヶ月でステロイドを中止できた(1)。一方、ドイツの Aries らは、シクロホスファミドやインフリキシマブ無効例の難治性肉芽腫病変をもつ Wegener 肉芽腫症患者8例に免疫抑制薬に上乘せしてリツキシマブ 375mg/mm<sup>2</sup> を4週間ごとに投与したところ、全例で末梢血 B 細胞は消失したにもかかわらず ANCA は1例も陰性化せず、6例は臨床的効果がまったく見られなかった(2)。後者の症例がインフリキシマブ無効例であったことが前者との相違の一つである。インフリキシマブ投与後にキメラ抗体ができてリツキシマブの効果が得られなかった可能性も否定できない。しかし、我々の症例のうち1例はインフリキシマブ無効例であり、リツキシマブに対しては効果がみられたので、この点だけが明暗を分けたと断定は出来ない。むしろ、投与方法の違いによる可能性が考えられる。我々の投与法は Keogh らのプロトコールと同様に1週間ごとに4回投与したが、Aries らは、4週間ごとと間隔が空いている。リツキシマブの半減期は、患者により大きく異なることが知られており(3)、投与間隔が開くと抑制効果が劣る可能性が考えられる。さらに投与間隔が開くとキメラ抗体が出来やすいことも知られている。したがって、1週間ごとに連続して投与した方が効果の得られる可能性が高い。このような投与方法による効果の違いが他でも報告されている(4)。最近のイタリアからの報告でも1週

ごとに4回投与する方法で、10例の Wegener肉芽腫症患者のうち9例で26～45ヶ月の長期間、寛解導入・維持できた」と報告された(5)。

我々の3症例においても、再燃の有無に関し長期経過観察が必要であるが、短期的有用性が示されたと考えられる。

3症例とも、リツキシマブ開始時にはいずれもPR3-ANCA陰性であった。ELISAの検出感度以下のANCAが病態形成に関与していた可能性も考えられるが、これまでの多くの報告が、ANCA抗体価と治療反応性とが必ずしも一致しないことから、ANCA産生以外のB細胞による病態への関与が示唆される。Wegener肉芽腫病変には、CD4+CD28- T細胞やB細胞が浸潤しており、前者がIFN-gammaやTNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカイン産生の主役と報告されている(6)。浸潤B細胞による抗原提示がこのようなT細胞の活性化に関与しているのかもしれない。

眼窩内肉芽腫のみならず肺内肉芽腫性病変にも効果が見られたことから、今後、腎病変などの臓器障害に対する効果も含めて、多施設共同前向き臨床試験にて検証する必要がある。

#### 文献

1. Keogh KA, Ytterberg SR, Fervenza FC, Carlson KA, Schroeder DR, Specks U. Rituximab for refractory Wegener's granulomatosis: report of a prospective, open-label pilot trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Jan 15;173(2):180-7.
2. Aries PM, Hellmich B, Voswinkel J, Both M, Nolle B, Holl-Ulrich K, Lamprecht P, Gross WL. Lack of efficacy of rituximab in Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *Ann Rheum Dis.* 2006 Jul;65(7):853-8.
3. Keogh KA, Ytterberg SR, Fervenza FC, Carlson KA, Schroeder DR, Specks U. Rituximab in refractory Wegener's granulomatosis: Favorable or not? Author reply. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Apr 1;173(7):816
4. Flossmann O, R B Jones, D R W Jayne and

R A Luqmani. Should rituximab be used to treat antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis? *Ann Rheum Dis* 2006;65:841-844.

5. Stasi R, Stipa E, Del Poeta G, Amadori S, Newland AC, Provan D. Long-term observation of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with rituximab. *Rheumatology (Oxford).* 2006 Nov;45(11):1432-6.

6. Komocsi A, Lamprecht P, Csernok E, Mueller A, Holl-Ulrich K, Seitzer U, et al. Peripheral blood and granuloma CD4+CD28- T cells are the major source of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in Wegeners granulomatosis. *Am J Pathol* 2002;160:1717-24

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yamasaki Y., Yamada H., Yamasaki M., Ohkubo M., Azuma K., Matsuoka S., Kurihara Y., Osada H., Satoh M., Ozaki S.: Intravenous cyclophosphamide therapy for progressive interstitial pneumonia in patients with polymyositis/ dermatomyositis : *Rheumatology.impress*, 2006.

2. Akaogi J., Nozaki T., Satoh M., Yamada H.: Role of PGE2 and EP Receptors in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis and as a Novel Therapeutic Strategy. *Endocrine*: 383-394, 2006.

3. Yamasaki Y., Yamada H., Nozaki T., Akaogi J., Coby N., Robert L., Anthony CL., Edward KL., Westley HR., Satoh M.: Unusually High Frequency of Autoantibodies to PL-7 Associated With Milder Muscle Disease in Japanese Patients With Polymyositis/Dermatomyositis. *Arthritis & Rheumatism* 54: 2004-2009, 2006.

4. 山田秀裕：高齢者のリウマチ性疾患. 介護福祉: 1-5, 2006.

##### 2. 学会発表

山田秀裕：血管障害. 第34回日本臨床免疫学会総会. 2006.10.3 東京

#### G. 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

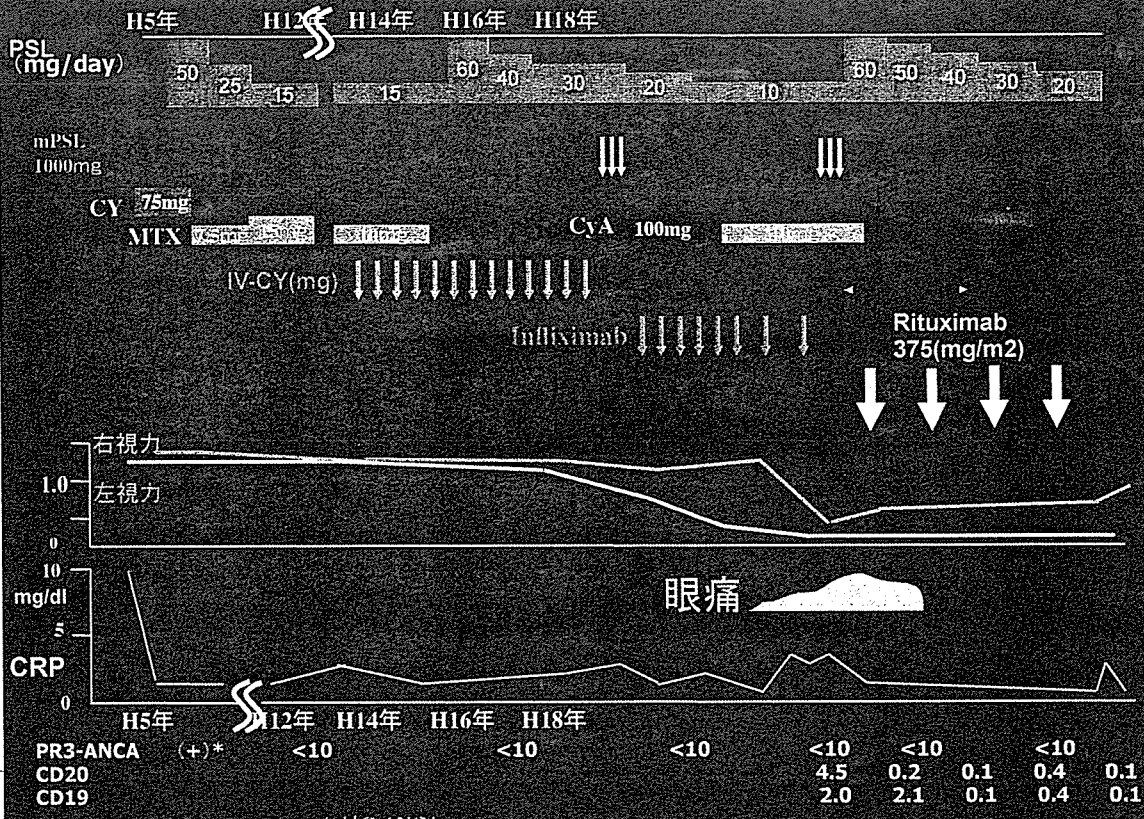
表1. 3症例のリツキシマブ開始時の背景

age, sex	22, F	63, M	50, F
duration	13 months	13 years	16 years
active lesions	eye, sinus, lung	eye, sinus, VII-nerves, ear	eye, sinus, lung
ANCA	PR3-ANCA (+)	C-ANCA (+)	C-ANCA (+)
previous therapy	IVCY 7x	OCY 15mo, IVCY 11x, CyA+Infliximab3~5mg/kg	OCY 4 yrs AZ MTX
ANCA at entry	negative	negative	negative
BVAS at entry	15	9	10



症例2 63才、男性 病歴13年 CY総投与量>10g

今回入院





症例3 50才女性 病歴16年 CY総投与量>10g

今回入院

7/26 8/27 10/30 12/1 1/2 2/3 3/7 4/18 5/10

PSL (mg/day) 30 27.5 25 22.5 20 17.5 15 20 30 20

azathioprine(mg) 50

MTX(mg/Week)

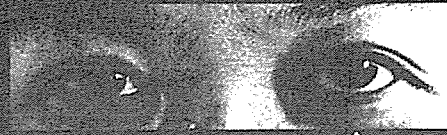
IV-CY(mg) 500 750

Rituximab 375(mg/m<sup>2</sup>)

mg/dl

眼痛  
咳嗽

CRP



PR3-ANCA

CD20  
CD19

35 50 31 <10 <10 <10 <10 <10 <10

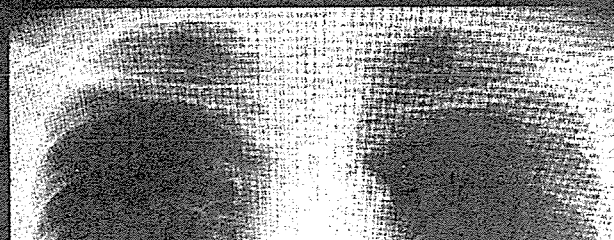
26.0 0.1 0.2 0.4 0.0  
6.5 0.5 0.2 2.0 0.0

症例3 画像所見

rituximab導入前



rituximab導入後1ヵ月後



導入8ヶ月後の現在、寛解状態

難治性血管炎（ビュルガー病）の  
H15年度臨床調査個人票電子化データの分析

研究協力者 黒沢美智子 順天堂大学医学部衛生学講師  
稲葉 裕 順天堂大学医学部衛生学教授  
共同研究者 小林茂人 順天堂大学医学部膠原病内科  
尾崎承一 聖マリアンナ医科大学内科学  
永井正規 埼玉医科大学公衆衛生学

研究要旨

現在厚労省の主導で進められている臨床調査個人票データベースの利用申請を行い、難治性血管炎の受給者の疫学的特性、臨床医学的特性（病型・重症度・症状・所見等）を分析すること、患者の予後を把握するための累積データの利用について検討することを目的とする。昨年、難治性血管炎の臨床調査個人票電子化データ平成13～17年度全国分を申請、入手した。入力率はH15年度のデータが最も高く62.6%であった。H15年度新規(121例)・更新(5548例)のデータを用いてビュルガー病の臨床症状、重症度、治療方法などの特徴を示す。年齢分布は男女共、50-60歳代が最も多く、発症年齢は男女共40歳代がピークで30歳代、50歳代で発症している人も多かった。男女比は新規8.3:1、更新7.5:1であった。ビュルガー病は喫煙の影響が大きいと言われているが、本データの喫煙率は新規87.6%で、H16年の日本人男性喫煙習慣者割合43.3%と比べてかなり高い。また更新者の喫煙率も63.3%と高く、患者に対する禁煙指導をより強く行う必要性が示された。「四肢の冷感、しびれ感、レイノー現象」「間歇性跛行」、「指趾の安静時疼痛」、「指趾の潰瘍」、「壊死」、「皮膚の潰瘍」、「遊走性静脈炎」は更新者で改善されていることが示され、重症度も新規受給者よりも更新者の方が重症の割合が少なかった。今後も詳細な分析を継続し、本データを用いて予後の検討も行う予定である。

A. 研究目的

現在厚労省の主導で進められている臨床調査個人票データベースを利用申請して、難治性血管炎の受給者の疫学的特性、臨床医学的特性（病型・重症度・症状・所見等）を分析すること、患者の予後を把握するための累積データの利用について検討することを目的とする。

B. 研究方法

疫学班との共同研究計画として、臨床調査個人票を分析することとし、難治性血管炎(結節性動脈周囲炎、ウェゲナー肉芽腫症、高安病、悪性関節リウマチ、ビュルガー病)のH13～17年度全国分臨床調査個人票データの利用申請をH18年10月に行い電子化データを入手した。

(倫理面への配慮)

電子化データは全て匿名で、個人を特定することはできない。また使用者は研究班の分担研究者、研究協力者に限定されている。

## C. 研究結果とD. 考察

### 1. 電子化データの入力状況

表1にビュルガー病の臨床調査個人票 H13～17年度分の電子化データ数と入力率を示す。平成13年度の受給者数<sup>1)</sup>は10051であったが、入力数は334件、入力率は3.3%であった。平成14年度の受給者数<sup>2)</sup>は9758で入力数1364件、入力率14.4%であった。平成15年度は受給者数<sup>3)</sup>9085、入力数5685、入力率62.6%で前年に比べて入力率は飛躍的に上昇していた。H15年度の電子化データは新規121件、更新5548件でこの年に臨床調査個人票の改訂が行われたため旧式の臨床調査個人票が16件含まれていた。平成16年度は受給者数<sup>4)</sup>8642、入力数4879件、入力率56.5%と、前年よりやや少なく、H17年度は4527件で入力作業中のものがあると思われる。

データ数はH15年度のもの最も多かったが、昨年度入手時は4456件(49%)であったので、今年度5685件(62.2%)と1年間で入力率は上昇していた。

### 2. H15年度新規・更新別ビュルガー病臨床調査個人票集計結果

ここではデータ数、入力率が最も高かったH15年度のビュルガー病の特徴を示す。まず新規の診断確実例は97(80.2%)、疑い例13(11.6%)、不明10(8.3%)、更新では確実例5162(93%)、疑い例250(4.5%)、不明136(2.5%)で、新規受給者では疑い例の割合が多かった。

性・年齢別分布(新規・更新)を図1に示す。男女共、50-60歳代が最も多く、次いで70歳

代が多かった。発症年齢は男女共40歳代がピークで30歳代、50歳代で発症している人も多い(図2)。男女比についてはこれまでの研究<sup>5)</sup>で9.7:1とされ男性がかなり多い疾患であることが知られているが、H15年度の受給者データでは新規8.3:1、更新7.5:1と男性が多い傾向は変わらないがこれまでの調査結果よりもやや男性が少なかった。

表2に新規更新別にビュルガー病の臨床症状、重症度、治療法などの特徴を示す。

ビュルガー病は喫煙の影響が大きいと言われている<sup>5)</sup>。本受給者データの喫煙者は新規106例(87.6%)、喫煙なし8例(6.6%)、喫煙不明7例(5.8%)で、H16年の日本人男性喫煙習慣者割合43.3%<sup>6)</sup>と比べてかなり高い。更新については喫煙有りが3511例(63.3%)と新規受給者よりもやや少なく、喫煙なし845例(15.2%)の割合もやや増えているが、喫煙不明1192(21.5%)の中に喫煙者が含まれている可能性も否定できない。禁煙指導をより強く行う必要がある。

臨床症状については、「四肢の冷感、しびれ感、レイノー現象」が初診時有りは新規110例(90.9%)、更新5140例(92.6%)、申請時に有りは新規85例(70.2%)、更新4633例(83.5%)で初診時から申請までの間に治療などによって症状が緩和されていると思われる。「間歇性跛行」は初診時有りは新規62例(51.2%)、更新3880例(69.9%)、申請時有りは新規49例(40.5%)、更新2954例(53.2%)、「指趾の安静時疼痛」は初診時有りは新規86例(71.1%)、更新3661(66.0%)、申請時有りは新規63(52.1%)、更新1560(28.1%)、更新者では指趾の安静時疼痛はかなり緩和されていることがわかる。「指趾の潰瘍」は初診時有りは新規2206例(39.8%)、更新53(43.8%)、申請時有りは新規40例(33.1%)、更新426(7.7%)で、指趾の潰瘍も更

新者ではかなり改善している。「壊死」は初診時有りが新規 33(27.3%)、更新 1263(22.8%)、申請時有りは新規 25 例(20.7%)、200 例(2.6%)で更新者の壊死は申請時に改善されていることがわかる。「遊走性静脈炎」は初診時有りが新規 13(10.7%)、更新 1071(19.3%)、申請時有りは 10(8.3%)、更新 424(7.6%)であった。

なんらかの合併症のある人は新規 39 (32.2%)、更新 2282(41.1%)であった。治療に関しては抗血小板薬使用が新規 96 例(79.3%)、更新 3965 例(71.5%)、抗凝固薬使用は新規 26(21.5%)、更新 1073(19.3%)、血管拡張剤 79 例(65.3%)、更新 3140 例(56.6%)で薬物治療の割合は新規受給者の方が多かった。手術歴については、新規 37 例(30.6%)、更新 2257(40.7%)で、血行再健術新規 7 例(5.8%)、更新 651 (11.7%)、肢(指趾)切断術新規 19 例(15.7%)、更新 1020 例(18.4%)、交感神経節切除/ブロック有り新規 28(23.1%)、更新 1524 例(27.5%)で、手術は更新者に多かった。

重症度は 1 度～5 度に分類されている(資料)。薬物療法などで社会生活に支障のない軽症は 1 度、入院治療が必要な重症は 5 度となっている。新規では 1 度 20 例(16.5%)、2 度 33 例(27.3%)、3 度 24 例(19.8%)、4 度 20 例(16.5%)、5 度 20 例(16.5%)、不明 44 例(3.3%)、更新では 1 度 2157 例(38.9%)、2 度 2488 例(44.8%)、3 度 501 例(9.0%)、4 度 195 例(3.5%)、5 度 79 例(1.4%)、不明 128 例(2.3%)で、更新者は 1 度と 2 度が 8 割以上を占め、4 度以上が 5%であるのに対し、新規では 4 度以上が 1/3 を占め、新規受給者に重症例の割合が高かった。

更新者の 1 年間の経過は「軽快」が 485 例(8/7%)、「不変」4341 例(78.2%)、「徐々に悪化」488 例(8.8%)、「急速に悪化」55(1.0%)、不明・その他 179 例(3.2%)で不変が最も多かった。

### 3. 今後の予定

電子化データの問題点としては現在の入力率がまだ 60%程度である点であるが、今後引き続き臨床医学特性について、必要かつ詳細な分析を継続する。

臨床調査個人票データは各年のデータを個人単位でリンクさせ累積することによって、これまで明らかにされなかった患者の予後(症状変化、治癒、軽快、悪化、死亡等)の変化を把握することが可能となる。今後データが累積されることによって可能となる予後の分析も現在の回収率に依存するところが大きい、今後連結データを用いて、予後の変化を把握することが可能かどうか試行したい。また、将来的にどのようなデータ集積が望まれるのかも検討したい。

### E. 結論

難治性血管炎の臨床調査個人票電子化データ平成 13～17 年度全国分のデータを入手した。H15 年度の入力率が最も高く 62.6%であった。H15 年度ビュルガー病の新規・更新のデータの臨床症状、重症度、治療方法などの特徴を示した。

### 文献

- 1) 厚生統計協会: 国民衛生の動向. 厚生指標, 2003; 50(9): 148.
- 2) 厚生統計協会: 国民衛生の動向. 厚生指標, 2004; 51(9): 153.
- 3) 厚生統計協会: 国民衛生の動向. 厚生指標, 2005; 52(9): 150.
- 4) 厚生統計協会: 国民衛生の動向. 厚生指標, 2005; 53(9): 149.
- 5) 難病情報センターHP (<http://www.nanbyou.or.jp/sikkan/099.htm>)
- 6) 厚生統計協会: 国民衛生の動向. 厚生指標.