

[V]

平成18年度第1回班会議
プログラム

厚生労働省「難治性血管炎に関する調査研究班」

平成18年度第1回班会議 プログラム

平成18年7月21日（金）於：都市センターホテル 6階 601会議室

1. 厚生労働省より基調講演 10:00～10:10
厚生労働省健康局疾病対策課 牧野 友彦

2. 昨年度の成果と今年度の方針 10:10～10:30
主任研究者 尾崎 承一

3. 各分科会における昨年度の成果と今年度の方針 10:30～11:45
 - 1)大型血管炎の臨床研究分科会 10:30～10:50
分科会長 重松 宏
東京医科大学外科学第二講座

 - 2)中・小型血管炎の臨床研究分科会 10:50～11:25
分科会長 中林 公正
杏林大学医学部第一内科学

順天堂大学附属順天堂越谷病院内科 小林 茂人
藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科 吉田 俊治

 - 3)病理・基礎研究分科会 11:25～11:45
分科会長 能勢 真人
愛媛大学大学院医学系研究科医学専攻病態解析学講座ゲノム病理学分野

4. 事務連絡

昼食 11:45～12:45

5. 各分科会 12:45～
(詳細は裏面をご覧ください)

(ご参考) 各分科会 議事

- 病理・基礎研究分科会 12:45~13:45

平成18年度分科会活動計画について

- 大型血管炎の臨床研究分科会 12:45~13:15

Buerger 病における歯周病菌の検索について
Buerger 病に対する HGF 治験の推進について
大動脈の追跡調査と外科治療の現状について

- 中小型血管炎の臨床研究分科会 12:45~13:45

疾患名の改名、PN の亜分類などの件
MPO-ANCA 血管炎のコーホート研究の件
活動性評価委員会の件
今後の分科会の活動性方針の件

[VI]

平成18年度第2回班会議
プログラム・抄録

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

難治性血管炎に関する調査研究

平成18年度 第2回班会議

プログラム

日時：平成19年1月26日（金）10：00～16：30

場所：都市センターホテル 6階606会議室

東京都千代田区平河町2丁目4番1号

TEL:03(3265)8211 / FAX:03(3262)1705

主任研究者 尾崎 承一

プログラム

1. 厚生労働省よりの基調講演..... 10 : 00~10 : 10
厚生労働省健康局疾病対策課
林 修一郎
2. 研究班の活動概要 10 : 10~10 : 30
主任研究者 尾崎 承一
3. 研究報告
- I. 病理・基礎研究分科会 10 : 30~11 : 50
座長：能勢真人・鈴木和男
- 1)分科会報告「血管炎の発症、進展に係わるゲノム・遺伝子・タンパク質」
..... 10 : 30~10 : 40
愛媛大学大学院医学系研究科医学専攻病態解析学講座ゲノム病理学分野
能勢 真人
- 2)「膠原病関連組換え近交系 MXH/lpr マウスと AlphaScreen 法を組合わせた
high-throughput な病態特異的新規自己抗体の検索」 10 : 40~10 : 50
愛媛大学大学院医学系研究科医学専攻病態解析学講座ゲノム病理学分野
能勢 真人
- 3)-1「血管炎惹起性ラット T 細胞の解析および env-pX ラット胸腺フレームワークの
トランスクリプトーム解析」
-2「トランスクリプトーム解析委員会報告」 10 : 50~11 : 10
北海道大学医学部保健学科検査技術科学専攻病理形態機能学分野
石津 明洋
- 4)「抗内皮自己抗体対応抗原と血管炎関連ペプチドの網羅的解析」 11 : 10~11 : 20
聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター
加藤 智啓
- 5)「FGF-2 による機能的血管新生における非内皮間葉系細胞由来 MCP-1 の役割」
..... 11 : 20~11 : 30
九州大学大学院医学研究院病理病態学
居石 克夫
- 6)「MPO-ANCA による血管内皮細胞への直接作用」 11 : 30~11 : 40
国立感染症研究所生物活性物質部第三室
鈴木 和男
- 7)「日本人顕微鏡的多発血管炎における LILRA2, IRF5 遺伝子多型の関連解析」
..... 11 : 40~11 : 50
筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻
土屋 尚之

昼食 11 : 50 ~ 12 : 50

- II. 大型血管炎の臨床研究分科会..... 12 : 50~13 : 50
座長 : 重松 宏
- 8) 分科会報告「虚血肢に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法の治療成績」
..... 12 : 50~13 : 00
東京医科大学外科学第二講座
重松 宏
- 9) 「血管新生における細胞内シグナル伝達機構の解析」
..... 13 : 00~13 : 10
東京医科大学外科学第二講座
重松 宏
- 10) 「G-CSF による末梢血動員 CD34 陽性細胞移植血管再生療法の臨床現況報告」
..... 13 : 10~13 : 20
東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学
浅原 孝之
- 11) 「バージャー病患者にみられた歯周病菌に対する IgG 抗体価の上昇」
..... 13 : 20~13 : 30
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科外科・血管外科
岩井 武尚
- 12) 「徐放性 b-FGF ハイドロゲル筋注療法と自己骨髄幹細胞筋注療法による血管新生
治療の有効性比較解析及び自己骨髄幹細胞筋注療法の下肢切断予測因子解析」
..... 13 : 30~13 : 40
日本医科大学第 1 内科
高野 照夫
- 13) 「末梢性血管疾患に伴う難治性潰瘍に対する局所分子治療法の開発」
..... 13 : 40~13 : 50
大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学
森下 竜一

休憩 15分

- III. 中・小型血管炎の臨床研究分科会..... 14 : 05~15 : 55
座長 : 中林公正、吉田雅治
- 14) 分科会報告..... 14 : 05~14 : 35
- 14-1 「中・小型血管炎臨床研究分科会報告—今迄の活動と今後の方針—」
杏林大学医学部第 1 内科学
中林 公正
- 14-2 「顕微鏡的多発血管炎(microscopic polyangiitis : MPA) の Vascular damage
index について : Retrospective study」
順天堂大学医学部附属順天堂越谷病院内科
小林 茂人
- 14-3 「ANCA 関連血管炎における BVAS2003 を用いた病態の評価」
東京女子医科大学第 4 内科
湯村 和子

- 15) 「MPO-ANCA 関連血管炎の腎間質に於ける毛細血管障害に関する研究」
 14 : 35~14 : 45
 杏林大学医学部第1内科学
 中林 公正
- 16) 「わが国のウェゲナー肉芽腫症の臨床症状について
 -A preliminary study-」 14 : 45~14 : 55
 順天堂大学医学部附属順天堂越谷病院内科
 小林 茂人
- 17) 「皮膚型結節性多発動脈炎の疾患概念の確立と診断基準の作成」 14 : 55~15 : 05
 和歌山県立医科大学皮膚科学
 古川 福実
- 18) 「MPO-ANCA 関連血管炎患者における動脈硬化の検討 -PWV を用いたパイロット
 研究続報-」 15 : 05~15 : 15
 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学
 榎野 博史
- 19) 「高安動脈炎における抗内皮細胞抗体の検討」 15 : 15~15 : 25
 藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科
 吉田 俊治
- 20) 「MPO-ANCA 関連血管炎の疾患活動性を反映する新しい MPO-ANCA 抗体測定系の
 検討-MPO-ANCA 抗体親和性、capture MPO-ANCA ELISA の検討を中心に-」
 15 : 25~15 : 35
 東京医科大学八王子医療センター腎臓内科
 吉田 雅治
- 21) 「血管炎症候群に対する infliximab の効果~Infliximab が奏功した側頭動脈炎の
 1 症例」 15 : 35~15 : 45
 埼玉医科大学総合医療センターリウマチ・膠原病内科
 天野 宏一
- 22) 「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」
 15 : 45~15 : 55
 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
- リツキサンの臨床試験 症例報告 15 : 55~16 : 25
 北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第2内科 堀田哲也・小池隆夫
 天理よろづ相談所病院総合内科 八田和大
 財団法人田附興風会北野病院腎臓内科 古宮俊幸・武曾恵理
 横浜市立大学医学部リウマチ・血液・感染症内科 岳野光洋

4. 事務連絡

5. 懇親会

抄 録 集

病理・基礎研究分科会報告

「血管炎の発症、進展に係わるゲノム・遺伝子・タンパク質」2006

能勢眞人（愛大）、石津明洋（北大）、加藤智啓（聖マ大）、居石克夫（九大）、鈴木和男（国立感染研）、土屋尚之（筑波大）、高橋 啓（東邦大）、吉木 敬（株ジェネティックラボ）

昨年度スタートした3年間の活動計画である、①モデル動物による血管炎の病理発生の解析、②血管炎の発現遺伝子の網羅的解析、③血管炎感受性遺伝子のゲノム解析、④新たな自己抗体、自己抗原の探索、⑤候補遺伝子のタンパク質合成、⑥臨床研究への展開、の6項目について、今年度の目標である「推進と連携、そして形あるものを」を重視し計画を遂行した。特に、①においては、1) 血管炎惹起性 T 細胞のレパトアと血管内皮細胞に対する免疫応答機序、2) 血管炎発症における活性化好中球の MPO、CD69 機能分子とサイトカインネットワーク、②では、ANCA 関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトミクスによる新規血管炎関連遺伝子、③では、1) MPA 感受性遺伝子としての *KIR*、*LILRA2*、*IRF5* 多型、2) 血管炎感受性遺伝子である多型 *Cd72* の BAC 導入による血管炎発症抑制、3) 糸球体腎炎の位置的候補遺伝子としての *Cd59* 多型、④では、1) ヒト抗血管内皮細胞自己抗体のプロテオミクスによる新規血管炎関連抗原、2) 自己免疫病 RI 系マウスの自己抗体の網羅的探索とその対応抗原クラスタリングによる新規血管炎関連抗原、⑤では、無細胞タンパク質合成系による血管炎関連自己抗原タンパク質の合成、⑥では、FGF-2 による機能的血管新生における MCP-1 の役割、を明らかにした。

膠原病関連組換え近交系 MXH/lpr マウスと AlphaScreen 法を組合わせた high-throughput な病態特異的新規自己抗体の検索

小森浩章¹、澤崎達也²、曾我美子¹、森士朗³、遠藤弥重太²、能勢真人¹

- 1) 愛媛大学大学院医学系研究科 ゲノム病理学分野
- 2) 愛媛大学無細胞科学生命工学研究センター
- 3) 東北大学大学院歯学研究科 顎顔面口腔外科学講座

これまでの組換え近交系 MXH/lpr マウスを用いた血管炎病態の解析では、MPO-ANCA と血管炎との間に明らかな相関は認められず、QTL 解析よって significant level で疾患感受性遺伝子座をマップしたが、未だ疾患感受性遺伝子の同定には至っていない。これらの結果をふまえ、本年は以下の研究を遂行した。

1) 膠原病病態に関連する新規自己抗体の high throughput な検出法の確立を試みた。本方法は、愛媛大学無細胞生命工学研究センターによって確立されたコムギ胚芽を用いた無細胞タンパク質合成システムと AlphaScreen 法とを組合わせ新規自己抗体の検索・測定を行うもので、従来の ELISA 法と比べ高感度な測定系で、しかも数多くの蛋白質を対象に、短期間・容易に自己抗体の検索・測定を行いうるという利点がある。これまでに我々が同定した膠原病関連感受性遺伝子座近傍の蛋白質から 120 個のビオチン標識蛋白質を合成し、MXH/lpr 10 系統の血清を対象として用いた。結果、30 個以上の合成蛋白質に対する新規の自己抗体産生が観察された。これらの約半数が核内に分布する蛋白質に対する抗体であった。現在これらの新規自己抗体と血管炎病態との関連を解析している。

2) 膠原病病態の疾患感受性遺伝子座領域をより詳細に解析するため、GeneChip を用いた SNP 解析を進めている。

血管炎惹起性ラット T 細胞の解析および env-pX ラット胸腺フレームワークのトランスクリプトーム解析

石津明洋¹、外丸詩野²、馬場智久³、岩崎沙理²、佐々木直美²、富居一範²、笠原正典²、西平 順⁴、吉木 敬⁴

¹北海道大学医学部保健学科検査技術科学専攻

²北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野

³ヒューマンサイエンス振興財団

⁴株式会社ジェネティックラボ

壊死性血管炎を発症する env-pX ラットから wild-type 血管内皮細胞に反応する T 細胞株 PC4 を樹立した。PC4 は限られた TCR V β を使用するオリゴクローナルな CD4 T 細胞であり、Th1 タイプのサイトカイン発現プロファイルを示した。PC4 を wild-type ラットに静注したところ、肺に血管病変を認めた。他系統ラットへの静注では血管病変は誘導されなかった。血管内皮細胞と共培養することによる PC4 の増殖は MHC クラス II に対する抗体により完全に阻害された。しかしながら、この共培養系において血管内皮細胞は MHC クラス II を発現しておらず、抗原提示細胞として機能しているのは PC4 自身であると考えられた。実際、PC4 には MHC クラス II と CD80 の発現が確認され、貪食能も観察された。以上より、PC4 と血管内皮細胞の共培養系においては、PC4 が血管内皮細胞由来の自己抗原を提示し、autologous な T 細胞の増殖反応が生じていると考えられた。この系を用いて、PC4 の認識分子を同定可能と考えられる。

また、env-pX ラットにおいて、このような自己血管内皮細胞反応性 T 細胞が除去されないメカニズムを明らかにするために、wild-type ラットを比較対照として胸腺フレームワークのトランスクリプトーム解析を行った。その結果、細胞認識やシグナル伝達などに関わる多数の遺伝子に有意な発現差が認められた。それらの中から自己血管反応性 T 細胞のセレクションに関わる分子を抽出することが可能であると考えられる。

トランスクリプトーム解析委員会報告

石津明洋¹、外丸詩野²、村井太一³、西平 順³、吉木 敬³

¹北海道大学医学部保健学科検査技術科学専攻

²北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野

³株式会社ジェネティックラボ

治療前および治療開始後 1 週間で末梢血の遺伝子発現を網羅的に解析した MPO-ANCA 関連血管炎 20 症例について、その後の臨床経過を調査し、治療に対する反応性等を反映する遺伝子の抽出を行った。20 症例のうち、寛解した症例が 10 例、軽快または改善した症例が 3 例、感染症を併発した症例が 1 例、末期腎不全に移行した症例が 1 例、死亡が 3 例、不明が 1 例であった。また、1 例は精査の結果、本疾患の診断基準を満たさず除外された。寛解または軽快もしくは改善した 13 例について末梢血における遺伝子発現を検討したところ、59 遺伝子が治療後に発現が有意に減少し、また 15 遺伝子については発現が増加した。発現が減少した遺伝子群には cell-cell signaling や host-pathogen interaction に関わる遺伝子が、また増加した遺伝子群には defense immunity protein activity や host-pathogen interaction に関わる遺伝子が多く含まれていた。一方、死亡または増悪した 5 例については、治療後に統計学的に有意な発現レベルの変化を示す遺伝子は認められなかった。

今後、これまでに抽出された遺伝子を搭載した、安価で、定量的解析が可能な Low Density Array(LDA)やリアルタイム RT-PCR などの測定系を構築し、これら遺伝子の MPO-ANCA 関連血管炎の病態への関与、および治療の効果判定における有意性と実用性を検証する。

抗内皮自己抗体対応抗原と血管炎関連ペプチドの網羅的解析

分担研究者氏名 加藤 智啓

聖マリアンナ医科大学 大学院 医学研究科 臨床プロテオーム制御学
同大学 難病治療研究センター 生体機能・プロテオーム制御部門

A. 研究目的

本研究では 1) 血管炎に関連する自己抗体、特に抗内皮細胞抗体の対応抗原を網羅的に同定し、その病態的意義を明らかにすること、2) 血管炎に特異的な血清ペプチドを網羅的に検出同定し、その病態的あるいは治療的意義と診断的有用性を明らかにすることを目標とする。

B. 研究方法

1) では、Hela 細胞抽出蛋白と HUVEC 抽出蛋白とを抗原ソースとして用い、各種血管炎患者血清を被検検体として、2次元ディフアレンシャルウエスタンブロッティングにより、対応抗原候補を検出し、質量分析により同定を行った。一部個別に組換え蛋白を作成し、その抗原性を確認した。

2) では、血管炎 (mPA) 患者より血清各 5 μ l から、疎水性担体の結合したビーズで小ペプチドを分離した。結合した小ペプチドを、アセトニトリルを用いて抽出し、マトリックスと混合してイオン化し、TOF 型質量分析器を用いて、ペプチドの検出と質量の測定を同時に行った。質量測定の結果の ClinProt プログラムにより、各疾患群に特異的なペプチドピークを抽出した。別途、MALDI-TOF/TOF 型質量分析器をもちいて、de novo アミノ酸配列決定を行った。

C. 研究結果

1) 前年度までの班会議で報告した Prx2 抗体に加えて、50 以上の対応抗原候補の同定に成功した。現在、組換え蛋白質を作成し、抗原性の確認と病態的意義について検討している。

2) mPA 患者血清中のペプチドプロファイルと健常人のそれとの比較から mPA で優位に検出される複数のペプチドを検出した。一部は質量分析による同定に成功した。

D. 考察

血管炎に関連する抗内皮細胞抗体対応抗原および血中ペプチドが検出同定された。次の段階として、それらの臨床的意義を明らかにする。

FGF-2 による機能的血管新生における非内皮間葉系細胞由来 MCP-1 の役割

藤井孝明¹⁾、米満吉和²⁾、鬼丸満穂¹⁾、居石克夫¹⁾

九州大学大学院医学研究院病理病態学¹⁾、千葉大学大学院医学研究院遺伝子治療学²⁾

炎症を伴う反応には血管新生が必須であり、一方で血管新生の過程には炎症反応の寄与が想定されているが、各血管新生因子と炎症反応がどのようにリンクしているかについては明らかではない。monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) は、単球/マクロファージの遊走、浸潤を制御するケモカインであると同時に、強力な arteriogenic factor である。我々は FGF-2 が虚血下肢救済に最も効果的であることを報告しており、この機能的血管新生を誘導する FGF-2 と MCP-1 の関係について検討した。マウス虚血肢モデルでは虚血誘導後早期に MCP-1 が誘導され、FGF-2 遺伝子導入により MCP-1 の発現がさらに亢進した。FGF-2 依存性の下肢血流回復は MCP-1 の dominant negative mutant 遺伝子導入により阻害され、MCP-1 受容体 CCR2 欠損マウスでは、下肢虚血耐性と FGF-2 依存性血行回復反応の低下を認めた。*In vitro* において TNF- α 依存性の MCP-1 発現亢進はいずれの細胞腫でも認められたが、FGF-2 依存性 MCP-1 発現亢進は、非内皮間葉系細胞にのみ認められた。また *in vivo*、*in vitro* 双方において VEGF、MCP-1 発現に相互作用を認めず、各種シグナル阻害剤を用いた検討では、FGF-2 依存性 MCP-1 発現は主に PKC、MEK 経路が関与しており、p70S6K を介する VEGF 発現システムと独立していることを明らかにした。以上より内因性 MCP-1/CCR2 システムは FGF-2 による機能的血管新生に必須であると考えられ、FGF-2 は非内皮間葉系細胞を利用して angiogenesis に関与する VEGF、および inflammatory/arteriogenesis 経路に関与する MCP-1 を独立して制御し、機能的血管新生に寄与していると考えられた。

MPO-ANCA は直接糸球体内皮細胞へ作用する

鈴木和男 国立感染症研究所・生物活性物質部

研究協力者：高橋 啓 東邦大学大橋病院病理

共同研究者：長尾朋和¹、荒谷康昭²、星野昭芳³、大川原明子¹、山本健二³、南谷晴之⁴

(¹国立感染症・生物活性物質部、²横浜市大・木原生物学研、³国立国際医療センター研、

⁴慶應義塾大学大学院・理工学研究科)

好中球自己抗体 (ANCA) 陽性の急速進行性糸球体腎炎の炎症初期に起こる血管傷害に機構における MPO-ANCA の役割を明らかにするため、マウス糸球体から血管内皮細胞を採取しその初代培養を用いて、活性化好中球の糸球体内皮細胞(mGEC)への作用を解析した。MPO-ANCA が直接 GEC へ作用については、MPO-KO マウスの血清と mGEC を用いて解析した。mGEC の初代培養は、C57BL/6N マウスの腎臓皮質をコラゲナーゼ処理により単一細胞を得、抗マウス CD31 抗体により内皮細胞を特定した。MPO-ANCA による内皮障害は、血管内皮接着分子(ICAM-1)の発現を解析した。ICAM-1 の mRNA レベルでの発現を RT-PCR 法、細胞表面へのタンパクの発現を細胞 ELISA 法により定量し、間接抗体法により細胞を可視化した。MPO-ANCA による内皮細胞障害に關与するサイトカインを 18 種類サイトカインの定量により特定した。また、MPO-ANCA と活性化好中球による内皮障害についても検討し、その活性酸素の關与は、N-acetylcysteine (NAC) の抑制により特定した。MPO の關与は、MPO-KO から血管内皮細胞および血清を用い、MPO 完全 free の条件で、mGEC を培養し、MPO-ANCA の作用を検討した。

その結果、anti-mMPO は、糸球体内皮細胞の ICAM-1 発現と KC ケモカインの産生増加を誘発した。ICAM-1 発現は、MPO-KO を使用した MPO 完全不含の系でも同様に認められ、抗原である MPO と無關係に内皮細胞に反応することが明らかになった。anti-mMPO と活性化好中球の刺激により ICAM-1 および KC の産生量は最も高かった。また、活性酸素を抑制することで ICAM-1 および KC 産生量は減少した。さらに、MPO-ANCA によって遊離する KC は、好中球の MPO 放出を惹起し活性化した。以上から、血管炎の発症は、MPO-ANCA は、好中球への作用に加え、直接血管内皮細胞にも結合して ICAM-1 の発現を上昇させ、KC ケモカインを放出し、活性化した好中球が MPO および活性酸素を産生することで、組織にとどまって二次的な血管内皮細胞障害を起こすことが考えられる。

日本人顕微鏡的多発血管炎における *LILRA2*, *IRF5* 遺伝子多型の関連解析

土屋尚之¹、川崎綾¹、豆ヶ野剛一²、宮下リサ²、徳永勝士²、小林茂人³、橋本博史³、尾崎承一⁴、黒木喜美子⁵、前仲勝実⁵、Marco Colonna⁶

¹ 筑波大学大学院人間総合科学研究科社会健康医学分野、² 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野、³ 順天堂大学附属順天堂越谷病院内科、⁴ 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科、⁶ Washington University

われわれは、日本人顕微鏡的多発血管炎(MPA)の疾患感受性探索をおこない、これまでに、*HLA-DRB1*0901-DQB1*0303* ハプロタイプ、*KIR* との関連を見出した。本年度は、leukocyte Ig-like receptor A2 (*LILRA2*, *ILT1*, *LIR7*)および interferon regulatory factor 5 (*IRF5*)を候補遺伝子として、関連を検討した。

LILRA2 は単球・マクロファージ、好酸球、好塩基球、樹状細胞などに発現する活性化型受容体であり、Th2 タイプの免疫応答との関連が示唆されている。多型解析により、第6イントロンのスプライス受容部位の置換により、リンカー部位の3アミノ酸を欠失するアイソフォームの産生をもたらす SNP が検出され、そのマイナーアレルのホモ接合体が MPA において有意に増加していた。同様の関連は、全身性エリテマトーデス(SLE)においても観察された。本遺伝子型においても、末梢血単球における *LILRA2* 分子の表面発現が検出されたことから、この3アミノ酸の欠失は、*LILRA2* 分子の表面発現に大きな影響を及ぼすものではなく、リガンドとの親和性あるいはシグナル伝達に影響する可能性が示唆された。

IRF5 は、IFN- α , - β や炎症性サイトカインの誘導において重要な分子であり、最近、SLE との関連が注目されている。日本あるいは欧米集団において SLE との関連が観察された SNP 4 個所について MPA との関連を検討したところ、検体数が少ないために、統計学的有意差には到達しなかったものの、SLE 同様の関連の傾向が存在することが観察され、MPA における type I IFN 系を今後検討する必要があると考えられた。

抄録 8

難治性血管炎に関する調査研究班
大型血管炎臨床分科会報告

虚血肢に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法の治療成績
東京医科大学血管外科
重松 宏

虚血肢に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法は、国内では Buerger 病に対して open trial で、閉塞性動脈硬化症については placebo を対象とした無作為化二重盲検比較試験で 2004 年から開始された。また米国においても投与方法や投与量、評価方法は異なるが重症虚血肢 93 肢を対象に、無作為化二重盲検比較試験が行われている。2006 年 6 月には中間研究会が開催され、2006 年 12 月までに閉塞性動脈硬化症に対する投与 40 例が達成され、本年その中間解析により有効性の判定が行われることとなった。現時点で得られた治療成績について報告する。

血管新生における細胞内シグナル伝達機構の解析

東京医科大学血管外科

佐々木 司、小櫃由樹生、重松 宏

細胞内情報伝達系の一因子である Protein kinase C (PKC)は血管内皮細胞を活性化するとされているが、多くのアイソフォームがあり詳細は明らかではない。PKC α , δ , ϵ を発現するアデノウイルス (Ad-PKC α , Ad-PKC δ , Ad-PKC ϵ)を血管内皮細胞に感染させた。Ad-PKC α 、Ad-PKC δ では生細胞数が減少した。tube formation の長さは Ad-PKC α では促進傾向にあった。Ad-PKC δ 、Ad-PKC ϵ では MMP-2 の発現増加がみられた。Ad-PKC ϵ では Flk-1, MMP-9, Tie-2, MMP-2 が増加した。以上より PKC δ が血管新生に対して抑制的に働くことが示唆された。

血管内皮前駆細胞を応用した血管再生治療の報告

増田治史、川本篤彦、浅原孝之

東海大学医学部・再生医療科学

先端医療センター研究所/理研発生再生総合研究所・幹細胞医療応用チーム

近年の神経幹細胞、造血幹細胞、間葉系幹細胞などの発見、研究が進む中、血管内皮前駆細胞 endothelial progenitor cell が成体の血液中に存在し、重症虚血部位の血管形成に関与することが判明した。この機序は、胎児期のみが存在するとされた血管発生 (Vasculogenesis)、つまり血管内皮前駆細胞が未分化のままその場所にたどり着き、増殖、分化することで血管を構築する過程、に一致し、これまで考えられてきた成体の血管形成、既存隣接血管の血管内皮細胞による増殖、遊走により成立する血管新生 Angiogenesis とは異なる概念が生まれた。この血管内皮前駆細胞の研究は医療応用に大きな可能性を秘めている。血管内皮前駆細胞の生物学的基礎研究の発展と共に、虚血部位の血管新生療法や動脈硬化部位の血管内皮再生療法や、増殖させた血管内皮前駆細胞を応用する前臨床研究が、トランスレーショナルリサーチとして展開されてきた。

この成果を得て、先端医療センターおよび東海大学では 2003 年 11 月より慢性重症虚血下肢に対する自家末梢血血管内皮前駆細胞移植による血管再生治療を開始している。試験デザインは、単盲検下での用量漸増試験である。対象は、Fontaine 分類Ⅲ度以上かつ Rutherford 分類Ⅱ度Ⅳ群以上を示し、血管形成術・バイパス手術の適応がない患者である。フィルグラスチム ($10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) の 5 日間投与後、アフエレーシスを実施し末梢血幹細胞 (単核球) を採取、CD34 陽性細胞を分離し、腰椎麻酔下に下腿 40 箇所 (腓腹筋 30 箇所、趾間部 4 箇所、足底部内側筋 6 箇所) に筋肉内移植する。現在 16 例の患者 (閉塞性動脈硬化症 5 例、バージャー病 11 例) に試験治療を実施した。試験治療期間中、重篤な有害事象の発生はなく安全に実施できている。試験治療により自覚症状や潰瘍の改善は全例において認められている。