

### C. 研究結果

#### 1) ヒト型人工化免疫グロブリンの作製と発現ベクターライブラリーの検定

Sy-huPFv の合成効率は 60mg/L 培養液であった。可溶化が困難であり、種々の可溶化剤を検討した。抗体遺伝子ライブラリーを検定した。

2) 免疫細胞への作用：本剤開発のためには様々な課題があり、その開発のためのツールとしての *in vivo*, *in vitro* 評価系の開発について検討した。*In vitro* での評価系では、ヒト末梢血リンパ球の増殖能、単球の安定化、好中球脱顆粒、活性酸素産生をはじめとする評価系を構築できた。

3) MPO-ANCA の直接的作用による糸球体血管内皮細胞の活性化：急速に進行し腎不全に至る極めて予後不良な MPO-ANCA 関連急速進行性糸球体腎炎は、好中球自己抗体である MPO-ANCA の上昇を臨床的特徴とする自己免疫性血管炎の 1 つである。mGEC に対して anti-rmMPO で処理し、接着分子、サイトカイン、ケモカインの発現をリアルタイム RT-PCR、ELISA、Bioplex を用いて解析した。その結果、Anti-rmMPO によって接着分子の発現は濃度依存的に増加し、このとき KC などの幾つかのケモカインや TNF- $\alpha$  の発現量も同時に増加する傾向が見られた。

4) 免疫グロブリンの血管内皮細胞への作用解析：免疫グロブリンの *in vitro* での評価系を確立するため、マウス血管内皮細胞樹立株 MS-1 細胞を用いて TNF- $\alpha$  による VCAM, E-selectin, ICAM-1 の発現が確認できた。

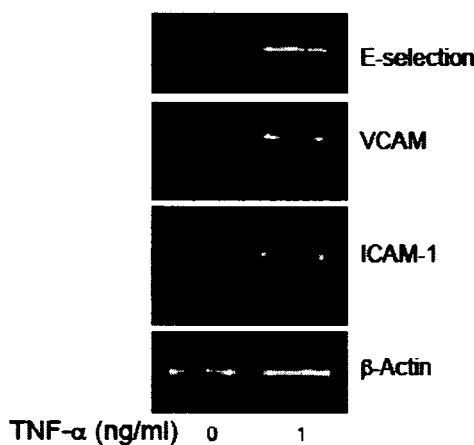


図 1. MS-1 細胞での TNF- $\alpha$  投与による E-selectin, VCAM, ICAM-1 の発現

### D. 考察

これまで作製してきたマウス型人工グロブリンは、血管炎モデルマウスに有効であり、治療法として予備的に完成した IVIg 治療の血管炎への有効性の予備成績を基に、ヒト型の作製しプロトタイプは出来上がったことによる、今後の臨床応用に向け、*in vitro* での体外診断法の臨床評価に利用できる方法を検討した。特に、anti-MPO 抗体が糸球体血管内皮細胞への作用、Bio-Plex 法による多項目のサイトカイン・ケモカインの評価系およびヒト末梢血リンパ球の増殖能、単球の安定化、好中球脱顆粒、活性酸素産生をはじめとする評価系を検討した。

1) 免疫細胞への作用：本剤開発のためのツールとしての *in vitro* 評価系の開発を検討し、ヒト末梢血リンパ球の増殖能、単球の安定化、好中球脱顆粒、活性酸素産生をはじめとする評価系が構築できた。

2) MPO-ANCA の直接的作用による糸球体血管内皮細胞の活性化：mGEC に対して MPO 抗体で処理し、そのときの接着分子、サイトカイン、ケモカインの発現をリアルタイム RT-PCR、ELISA、Bioplex を用いて解析した。その結果、Anti-rmMPO によって接着分子の発現は濃度依存的に増加し、このとき KC などの幾つかのケモカインや TNF- $\alpha$  の発現量も同時に増加する傾向が見られた。これらの結果は、anti-rmMPO は mGEC に直接作用して接着分子の発現を誘導し、好中球等の白血球が接着・遊走しやすい環境を作っていることが示された。加えてまたこの接着分子の発現は、anti-rmMPO が mGEC 上の何らかの分子に結合してシグナルを伝達していることが原因と考えられるが、mGEC において MPO は発現していなかったことから、MPO を介したシグナル伝達ではなく、mGEC に発現する MPO 以外の分子を介したシグナル伝達機構が存在することが予想される。

3) 免疫グロブリンの血管内皮細胞への作用解析：免疫グロブリンの *in vitro* での評価系を確立するため、マウス血管内皮細胞樹立株 MS-1 細胞を用いて TNF- $\alpha$  による ICAM-1, VCAM, E-selectin の発現を検討し、TNF- $\alpha$  による反応系を確立できたことにより、免疫グロブリンの評価を *in vitro* にて解析することが可能となった。

## E. 結論

本プロジェクトでは、ヒト型に特化した人工型免疫グロブリンのプロトタイプ作製にも成功しており、臨床応用に向けた体外診断法として *in vitro* での評価法の確立と作用機序の解析を目的とし、免疫細胞への作用、血管内皮細胞への作用について検討した。今後の臨床応用に向け、*in vitro* での体外診断法の臨床評価に利用できる方法として、1) 免疫細胞への作用、2) MPO-ANCA の直接的作用による糸球体血管内皮細胞の活性化、3) 免疫グロブリンの血管内皮細胞への作用解析を検討した。特に、anti-MPO 抗体が糸球体血管内皮細胞への作用、Bio-Plex 法による多項目のサイトカイン・ケモカインの評価系およびヒト末梢血リンパ球の増殖能、単球の安定化、好中球脱顆粒、活性酸素産生をはじめとする評価系を検討できた。

以上から、ヒト型人工免疫グロブリンの *in vitro* での評価法ができたので、今後は具体的に臨床応用できる方法として発展させる。

## 協力研究者

新井孝夫 (東京理科大学・教授)  
佐々木次雄 (国立感染研・血液安全性・室長)  
古谷昌弘 (積水化学・水無瀬研・主任研究員)  
三浦典子 (東京薬科大学・講師)  
鈴木章一 (オタゴ大学・post-doctor)  
常賀 (千葉大学大学院医学研究院・流動研究員)

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kiwamu Nakamura, K. Suzuki et al. Deoxynucleic acids from *Cryptococcus neoformans* activate myeloid dendritic cells via a TLR9-dependent pathway. *J. Immunol.*, in press, 2008.
2. K. Suzuki, Shigeto Kobayashi, Kazushige Yamazaki, Masaaki Gondo, Kazuo Tomizawa, Yoshihiro Arimura, Kimimasa Nakabayashi, Shoichi Ozaki, Masaharu Yoshida, Toshiharu Yoshida, Norimasa Tsusaka, Eri Muso, Tomio Okazaki, and Hiroshi Hashimoto. Analysis of risk epitopes of anti-neutrophil antibody MPO-ANCA in vasculitis in Japan population. *Microbiol.Immunol.*51: 1215-1220, 2007.
3. Shigehiro Uezono, Yuji Sato, Seiichiro Hara, Shuichi Hisanaga, Keiichi Fukudome, Shouichi Fujimoto, Hiroyuki Nakao, Kazuo Kitamura, Shigeto Kobayashi, Kazuo Suzuki, Hiroshi Hashimoto, Hiroyuki Nunoi. Outcome of ANCA-associated primary renal vasculitis in Miyazaki Prefecture. *Internal Medicine*, 46:

815-822, 2007.

4. Melissa Goedken, Sally McComick, Kevin G. Leidal, Kazuo Suzuki, Yosuke Kameoka, Joshua M. Astern, Meilan Huang, Artem Cherkasov, William M. Nauseef. Impact of two novel mutations on the structure and function of human myeloperoxidase. *J. Biol. Chem.* 282:27994-8003, 2007.
  5. Akiyoshi Hoshino, Tomokazu Nagao, Toshiko Ito-Ihara, Akiko Ishida-Okawara, Kazuko Uno, Eri Muso, Noriko Nagi-Miura, Naohito Ohno, Kazuhiro Tokunaka, Shiro Naoe, Hiroshi Hashimoto, Masato Yasuhara, Kenji Yamamoto, Kazuo Suzuki. Trafficking of QD-conjugated MPO-ANCA in Murine Systemic Vasculitis and Glomerulonephritis model mice. *Microbiol.Immunol.*51: 551-566, 2007.
  6. Akiko Ishida-Okawara, Noriko Nagi-Miura, Toshiaki Oharaseki, Kei Takahashi, Akinori Okumura, Hitoshi Tachikawa, Shin-ichiro Kashiwamura, Haruki Okamura, Naohito Ohno, Hidechika Okada, Peter. A. Ward, Kazuo Suzuki. Neutrophil activation and induced by *C. albicans* water-soluble mannoprotein- $\beta$ -glucan complex (CAWS). *Exp. Mol. Pathol.* 82: 220-226, 2007.
  7. Tomokazu Nagao, Mimiko Matsumura, Ayako Mabuchi, Akiko Ishida-Okawara, Osamu Koshio, Haruyuki Minamitani, and Kazuo Suzuki. Up-regulation of adhesion molecule expression in glomerular endothelial cells by anti-myeloperoxidase antibody. *Nephrol. Dialysis Transplant.* 22: 77-87, 2007.
  8. 鈴木和男 血管炎の病態と好中球 臨床検査 51巻 1071-1080, 2007
  9. 鈴木和男 「好中球の機能調節」生体防御医学辞典(鈴木和男 監修、朝倉書店)164-169, 2007
  10. 大川原明子、長尾朋和、鈴木和男 血管炎の発症にかかわる分子と好中球 生体防御医学辞典(鈴木和男 監修、朝倉書店) 309-312, 2007
- ### 2. 学会発表
- #### 国際会議
1. Tomokazu Nagao, Mimiko Matsumura, Ayako Mabuchi, Akiko Ishida-Okawara, Haruyuki Minamitani, Toshinori Nakayama, and Kazuo Suzuki. Direct Activation of Glomerular Endothelial Cells by Anti-MPO Antibody, 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico
  2. Toshiko Ito-Ihara, Kazuo Suzuki, Kazuko Uno, Toshiyuki Komiya, Tomomi Tsujii, Tatsuo Tsukamoto, Takahiko Ono, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, Eri Muso. Circulating levels of IL-12, 23 and IL-18 in patients with MPO-ANCA-associated

- vasculitis. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
3. S Kobayashi, T Ito-Ihara, K Suzuki, S Fujimoto, RA Watts, DG Scott, DJ Jayne, H Hashimoto and the Japan-UK AAV Study Group. INCIDENCE OF ANCA-ASSOCIATED VASCULITIS IN JAPAN: A PRELIMINARY REPORT FROM JAPAN-UK COLLABORATION STUDY.13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  4. E. Muso, K. Uno, T. Ito-Ihara, T. Komiya, K. Suzuki. Immumodulatory effect of intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangiitis with RPGN by amelioration of impaired IFN $\alpha$  production (IFN-P) . 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  5. R A Watts, D G Scott, D J Jayne, S Kobayashi, K Suzuki, H Hashimoto and S Fujimoto EPIDEMIOLOGY OF RENAL ANCA-ASSOCIATED VASCULITIS IN THE UK AND JAPAN. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  6. W. Yumura, J. Yamashita, M. Itabashi, T. Nagao, A. Ishida-Okawara, T. Matsuo, A Hasegawa, Y. Aratani, K. Nitta, T. Nakayama and K. Suzuki. Contribution of CD69 in MPO-ANCA-associated glomerulonephritis in mice. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  7. Kazuko Uno, Eri Muso, Toshiko Ihara, Toshiyuki Komiya, Yoshiki Omatsu, Yoko Mitsuishi, Kayo Inaba, Kazuo Suzuki. Comparison of IFN- $\alpha$  production in response to Sendai virus stimulation and the number of peripheral plasmacytoid dendritic cells in healthy subjects and patients with various diseases: Characteristics of MPO-ANCA-associated glomerulonephritis and vasculitis. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  8. K. Suzuki. Molecular Events on Damage of Glomerular Endothelial Cells bound with MPO-ANCA, International Symposium on Primary Systemic Vasculitis, September 29, 2007, Tokyo
  9. Kazuo Suzuki. Trace of Myeloperoxidase (MPO) in Vasculitis Development. The 2nd Asian Meeting on Synchrotron Radiation Biomedical Imaging. November 23-25, 2007, Jeju, Korea
  10. Kazuo Suzuki. Current Situation of Synthetic Immunoglobulins and Their Therapeutic Approach. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma - 2008 in Chiba - Therapeutic Strategy for Vasculitis Based on International Collaboration Researches. January 18-19, 2008, Chiba, Japan.
  11. Kensuke Joh, Takashi Nakazato, Takao Sugiyama, Eri Muso, Wako Yumura, Shigeto Kobayashi, Kazuo Suzuki. Morphological variety of MPO-ANCA related renal small vessel vasculitis in Japan : Correlation between histological and clinical parameters. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma - 2008 in Chiba - Therapeutic Strategy for Vasculitis Based on International Collaboration Researches. January 18-19, 2008, Chiba, Japan
  12. Yosuke Kameoka, Masahiro Furutani, Kazuo Suzuki. Prevalence of variety of artificial poly-clonal gamma globulin. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma - 2008 in Chiba - Therapeutic Strategy for Vasculitis Based on International Collaboration Researches. January 18-19, 2008, Chiba, Japan.
  13. Shigeto Kobayashi, Shoichi Fujimoto, Kazuo Suzuki. Update Japan/EUVAS projects. March 3-4th 2008, Zurich.

#### 国内会議

1. 亀岡洋祐、笠間 毅、鈴木哲朗、猪原登志子、武曾恵理、橋本雄之、鈴木和男「MPO リーダーペプチドは好中球顆粒に局在する」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
2. 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、鈴木和男「MPO-ANCA 陽性顕微鏡的血管炎に伴う急速進行性糸球体腎炎に対するIVIg 治療の有効性のエビデンス確立と機序解明に向けて」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
3. 湯村和子、鈴木和男、中山俊憲「Bovine serum albumin(BSA)誘導腎炎における CD69 の関与」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
4. 山西 裕司、小林 茂人、長尾 朋和、鈴木和男、岡崎富男「ウエグナー肉芽腫症の4例」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
5. 長尾朋和、松村実美子、荒谷康昭、星野昭芳、山本健二、南谷晴之、鈴木和男「好中球自己抗体による糸球体内皮細胞の直接的活性化」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
6. 宇野賀津子、猪原登志子、藤田哲也、鈴木和男、武曾恵理「Bioplex による血漿中サイトカイン・ケモカインの解析: その有用性と問題点」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉

7. 小野孝彦、日浅俊介、上村和秀、雑賀寛、猪原登志子、武曾恵理、大川原明子、鈴木和男「ANCA 関連腎炎モデル SCG/Kj マウスにおける肺の組織像および血管病変の腎との比較検討」炎症制御フォーラム千葉、2007 年 7 月 13-14 日、千葉
8. 宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木克己、猪原登志子、三石瑤子、村上善基、小宮俊幸、鈴木和男「IFN- $\alpha$  産生能とプラズマサイトイド樹状細胞数：健常人と癌、HCV 肝炎、MPO-ANCA 腎炎の比較」第7回高加齢学会、2007 年 7 月 20-21 日、京都
9. 宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木克己、猪原登志子、三石瑤子、村上善基、小宮俊幸、谷川真理、鈴木和男、藤田哲也「健常人と各種疾患患者の末梢血のセンダイウイルス刺激 IFN- $\alpha$  産生能とプラズマサイトイド樹状細胞数との相関」第72回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2007 年 10 月 24 日、京都
10. 富澤一夫、雑賀 寛、大島正道、長尾朋和、楠玲奈、新井孝夫、小林和夫、中山俊憲、田之倉 優、鈴木 和男 急速進行性糸球体腎炎の 15-Deoxyspergualin 治療による自己抗体 MPO-ANCA 値とそのリスクエピトープの減少 第18回日本生体防御学会総会：7月26-28 日、九大医学部百年講堂、福岡市
11. 鈴木和男「難治性血管炎 MPO -ANCA の発症機序の解析と免疫グロブリン治療法」千葉がんセンター講演会、2007 年 10 月 24 日、千葉
12. 西尾壽乗、鬼丸満穂、三浦典子、大野尚仁、高橋啓、鈴木和男、原寿郎、居石克夫「抗 VEGF-A 抗体、抗 TNF $\alpha$  抗体投与によるマウス CAWS 惹起冠動脈炎の発症抑制効果に関する病理学的検討」、第48回日本脈管学会、2007 年 10 月 25-27 日、松本
13. 宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、八木克己、藤田哲也、鈴木和男「MPO-ANCA 腎炎のサイトカイン・ケモカイン動態：Bio-Plex 法による網羅的解析」第13回 MPO 研究会、10 月 26-27 日、広島
14. 富澤一夫、長尾朋和、雑賀寛、大島正道、小林和夫、中山俊憲、鈴木和男「急速進行性糸球体腎炎自然発症 SCG/Kj mouse への 15-Deoxyspergualin の投与は MPO-ANCA とその risk epitope の減少を引き起こす」第13回 MPO 研究会、10 月 26-27 日、広島
15. 河内正治、鈴木和男「ARDS 患者における急性期 BALF 中 Cytokines 値測定」第13回 MPO 研究会、10 月 26-27 日、広島
16. 常賀、鈴木和男、塙晴雄、小玉誠、相澤義房「劇症型心筋炎に対する IL-22-Ig 融合蛋白治療の検討」第13回 MPO 研究会、10 月 26-27 日、広島
17. HOSHINO Akiyoshi, NAGAO Tomokazu, MIURA Noriko, OHNO Naohito, NAKAYAMA Toshinori, SUZUKI Kazuo 「MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils of murine systemic vasculitis」第37回免疫学会、2007 年 11 月 20-22 日、東京・品川
18. Kazuo Tomizawa, Tomokazu Nagao, Kan Saiga, Masamichi Oshima, Kazuo Kobayashi, Toshinori Nakayama, and Kazuo Suzuki 「Decrease of MPO-ANCA involving risk epitopes by treatment with 15-Deoxyspergualin in spontaneous MPO-ANCA-related vasculitis model SCG/Kj mouse」第37回免疫学会、2007 年 11 月 20-22 日、東京・品川
19. 仲村 究、宮里明子、肖 剛、八田益充、青柳哲史、位田 剣、西城 忍、岩倉洋一郎、竹田 潔、審良静男、鈴木和男、賀来満夫、川上和義「Cryptococcus neoformans 由来 DNA によるマウス骨髄由来樹状細胞の活性化機序の解析」第37回免疫学会、2007 年 11 月 20-22 日、東京・品川
20. 宮里明子、仲村 究、Xiao Gang、鈴木和男、賀来満夫、川上和義「真菌由来 DNA による樹状細胞活性化における細胞内動態の解析：CpG-ODN との比較検討」第 37 回免疫学会、2007 年 11 月 20-22 日、東京・品川

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

**MPO-ANCA 腎炎のサイトカイン・ケモカイン動態：  
Bio-Plex 法による網羅的解析**

分担研究者 宇野賀津子 ルイ・パストゥール医学研究センター基礎研究部室長  
(研究協力者 武曾恵理、猪原登志子 (財)田附興風会医学研究所北野病院)

**研究要旨：** Bio-Plex 法は少量の血液で多項目のサイトカイン・ケモカインが短時間で測定可能であり、特に MPO-ANCA 腎炎のような高サイトカイン・ケモカイン血症が病状と関連していると考えられる疾患の病因解明には有用であると考えられる。そこで 27plex Array (IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, TNF- $\alpha$ , Eotaxin, FGFbasic, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1b, PDGF-bb, RANTES, VEGF) を用いて血漿中のサイトカイン・ケモカインを測定した。その結果、治療前の MPO-ANCA 腎炎患者では、IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1b, PDGF-bb, VEGF が健常人の値に比較して有意に上昇しており、多様なサイトカインがこの疾患で亢進していることが明らかとなった。更に、MPO-ANCA 値とは、IL-5 との間に正の相関が、IL-8, MIP-1b との間に負の相関が認められ、CRP と IL-5 には正の相関が認められた。これらの結果は、MPO-ANCA 腎炎の病態にサイトカイン動態が大きく関与している可能性を示唆している。

**A. 研究目的**

MPO-ANCA 腎炎では高サイトカイン・ケモカイン血症が病状と関連していると考えられている。そこで、サイトカイン・ケモカイン動態と病態との関連性の検討のために、治療前の MPO-ANCA 腎炎患者の血漿中サイトカイン・ケモカイン量を、Bio-Plex、27plex Array を用いて測定した。

**B. 研究方法**

人間ドックの結果を基に、選択した健常人（糖尿病、感染症、肝炎、腎症、自己免疫疾患は除く、n=48）と、北野病院で MPO-ANCA 腎炎と診断された患者(n=28)の治療前の血

漿中サイトカイン・ケモカインレベルを Bioplex 27plex array (IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, TNF- $\alpha$ , Eotaxin, FGFbasic, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1b, PDGF-bb, RANTES, VEGF) でもって測定した。測定値は対数変換後、分散分析、群間の比較は Dunnet 法により検定した。また、血液生化学検査の結果と、血漿中サイトカイン・ケモカインレベルとの間の相関についても検討した。

### C. 研究結果

27plex array のうち、RANTES を除き、26 項目のサイトカイン・ケモカインを測定することが出来た。Table 1 に示すように健康人に比較して MPO-ANCA 腎炎患者で、IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , PDGF-bb, VEGF が有意に上昇していた。

	Patients with MPO-ANCA nephritis		Healthy subjects		P
	SE		SE		
IL-1 $\beta$	0.383	0.107	0.077	0.074	0.19
IL-1ra	2.522	0.089	2.24	0.006	0.072
IL-2	0.602	0.14	0.279	0.338	0.044
IL-4	0.070	0.12	-0.064	0.083	0.83
IL-5	1.654	0.127	0.618	0.301	<0.0001
IL-6	0.31	0.089	-0.08	0.061	0.0029
IL-7	0.1685	0.107	-0.273	0.075	0.0069
IL-8	1.536	0.073	1.259	0.051	0.0163
IL-9	2.398	0.119	1.68	0.083	<0.0001
IL-10	1.071	0.102	0.525	0.07	0.0002
IL-12p70	1.241	0.14	0.399	0.097	<0.0001
IL-13	0.508	0.087	0.173	0.06	0.013
IL-15	0.845	0.081	0.884	0.058	0.9
IL-17	0.988	0.086	0.348	0.059	<0.0001
Eotaxin	1.71	0.059	1.701	0.04	1
FGFbasic	1.511	0.062	1.32	0.04	0.09
G-CSF	0.839	0.12	0.676	0.084	0.88
GM-CSF	1.435	0.12	0.888	0.08	0.0021
IFN- $\gamma$	1.657	0.087	1.156	0.06	<0.0001
IP-10	2.97	0.054	2.453	0.035	<0.0001
MCP-1	1.95	0.045	1.819	0.03	0.108
MIP-1 $\alpha$	0.472	0.077	0.165	0.056	0.0097
MIP-1 $\beta$	2.147	0.039	2.01	0.27	0.0334
PDGF	2.919	0.094	2.247	0.065	<0.001
TNF- $\alpha$	0.794	0.128	0.481	0.089	0.279
VEGF	2.04	0.074	1.27	0.051	<0.0001

Table 1 MPO-ANCA 腎炎患者と健康人の血漿中サイトカイン・ケモカインの比較 値は log(pg/ml)

即ち、ケモカインでは IL-8, IP-10, MIP-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$  が上昇していた。また、図 1A, B に示すように、MPO-ANCA 値は IL-8, MIP-1 $\beta$  と有意に逆相関していた。

また、Th1 サイトカインとしては、

IL-2, IL-12p70, IFN- $\gamma$  が上昇、さらに、IL-7, GM-CSF, IL-9 も上昇していた。一方、Th2 サイトカインとしては、IL-5, IL-13, IL-6, IL-10 が上昇していた。この中で、IL-5 は MPO-ANCA 値と CRP とで、正の相関が認められた(図 1 C, D)。さらに、Th17 サイトカインである IL-17 も上昇していた。IL-17 はクレアチニン値との間に、逆相関が認められた(図 1 E)。また、成長因子である、PDGF, VEGF の上昇も認められた。PDGF はまたクレアチニン値との間に逆相関が認められた(図 1 F)。

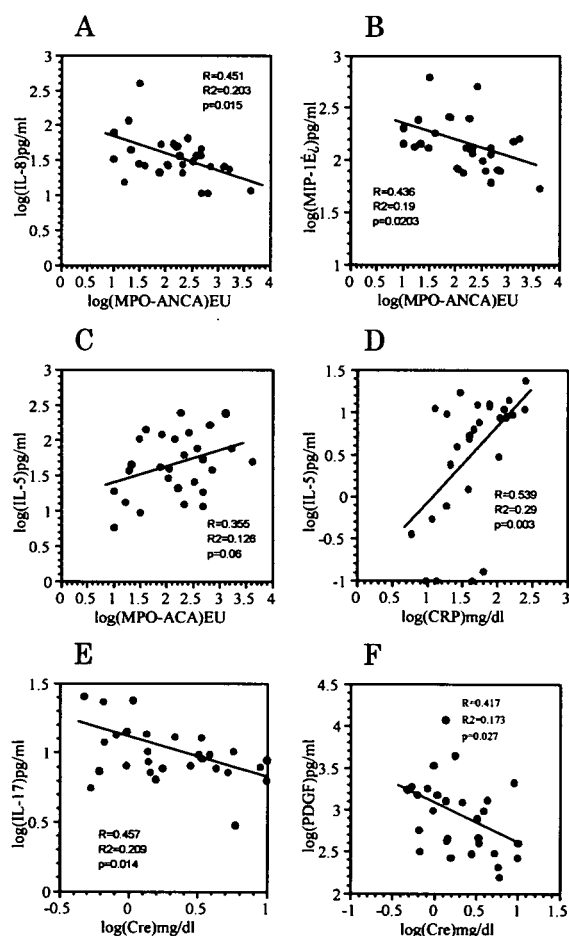


図 1 ケモカイン・サイトカインと MPO-ANCA 腎炎マーカーとの相関

### D. 考案

MPO-ANCA 腎炎患者の血漿中サイトカイン・ケモカインレベルを調べたところ、測定出来た 26 項目中 17 項目が、健康人と比較し

て有意に上昇していた。特に IFN- $\gamma$ , IL-9, GM-CSF, IL-5, IL-10, IL-17, IP-10, PDGF, VEGF は MPO-ANCA 腎炎患者の 90%以上で、健常人の平均値より上回っていて、この疾患の大半の患者で上昇していることが明らかにされた。即ち、MPO-ANCA 腎炎患者では、Th2 サイトカインのみならず、Th1, Th17、ケモカイン、成長因子が上昇していることが明らかとなった。このように、MPO-ANCA 腎炎患者においては多様なサイトカイン・ケモカインの上昇が認められ、高サイトカイン血症の状態にあると考えられる。

また、IL-5 と MPO-ANCA 値、CRP の間には正の相関が認められたことから、IL-5 の上昇は MPO-ANCA 抗体産生に関与していると推察された。さらに、この抗体産生は炎症にも関係していると推察された。

一方 IL-8 や MIP-1 $\beta$  と MPO-ANCA 値には、逆の相関が認められた。MIP-1 $\beta$  や IL-8 は内皮細胞に結合した好中球の接着を促進することが報告されている。IL-8 や MIP-1 $\beta$  と MPO-ANCA 値の逆相関は、これらのサイトカイン上昇期と MPO-ANCA 抗体の上昇の時期的なずれを表している可能性がある。即ち、MPO-ANCA 腎炎の初期においては、MIP-1 $\beta$  や IL-8 の上昇により、好中球の内皮細胞への結合、内皮細胞の障害が認められ、その後抗 MPO 抗体の上昇が起こるとも推察される。今後さらなる多面的検討が必要である。

一方、IL-17 はクレアチニン値と逆相関が認められた。細菌感染は IL-17 の産生を誘導し、その結果、GM-CSF や IL-8 の産生が誘導され、その結果、好中球が誘導される。しかしながら、これらのサイトカインと腎機能とのあいだの関連については、さらに詳細な検討が必要と思われる。

また PDGF についても IL-17 と同様のクレ

アチニン値と逆相関が認められた。

いずれにしても、MPO-ANCA 腎炎の病態に及ぼすこれらのサイトカイン・ケモカインの関連についてはさらに腎機能、腎病理像との詳細な検討が必要と思われる。

## E. 結論

MPO-ANCA 腎炎患者では、Th2 サイトカインのみならず、Th1, Th17、ケモカイン、成長因子が血漿中に上昇していて、高サイトカイン血症の状態にあることが明らかにされた。これらサイトカイン・ケモカインの動態は、MPO-ANCA 腎炎の病態とも関連している可能性が示唆された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Uno K, Hirosaki M, Kakimi K, Tominaga M, Suginoshi Y, Hasegawa G, Fukui M, Nakamura N, Shirakawa T, Kishida T. Impaired IFN- $\alpha$  production and the risk of cancer development. J Interferon Cytokine Res. 2007; Dec;27(12):1013-7.
- 2) Hoshino A, Nagao T, Ito-Ihara T, Ishida-Okawara A, Uno K, Muso E, Nagi-Miura N, Ohno N, Tokunaka K, Naoe S, Hashimoto H, Yasuhara M, Yamamoto K, Suzuki K. Trafficking of QD-conjugated MPO-ANCA in murine systemic vasculitis and glomerulonephritis model mice. Microbiol Immunol. 2007; 51(5):551-66.
- 3) 宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木克巳、猪原登志子、栂田美由紀、三石瑠子、村上善基、古宮俊幸、谷川真理、稲葉カヨ、鈴木和男、藤田哲也 健常人と各種疾患患者の末梢血のセンダイウイルス刺激 IFN- $\alpha$  産生能とプラズマサイトイド樹状細胞数との相関 2006 PASKEN JOURNAL Vol.19 1-6
- 4) 武曾恵理、鈴木進子、中川権史、辻井知美、古宮俊幸、米本智美、塚本達雄、魚瀬優、中村武志、猪原登志子、宇野賀津子、鈴木和男、岸田綱太郎 MPO-ANCA 関連炎頭微鏡的多発血管炎に合併する悪性疾患症例の解析と IFN- $\alpha$  産生能からの考察 2006 PASKEN JOURNAL Vol.19

7-11

- 5) Uno, K., Muso, E., Ihara, T., Komiya, T., Omatsu, Y., Mitsuishi, Y., Inaba, K., Suzuki, K. Comparison of IFN- $\alpha$  production in response to Sendai virus upon stimulation and the number of peripheral plasmacytoid dendritic cells in healthy subjects and patients with various diseases: Characteristics of MPO-ANCA-associated glomerulonephritis and vasculitis. 2007 Clinical Exp Rheumatology, vol. 25, No. I, (Suppl. 44) S-90
  - 6) Muso, E., Uno, K., Ito-Ihara, T., Komiya, T., Suzuki, K. Immunomodulatory effect of intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangitis with RPGN by amelioration of impaired IFN $\alpha$  production (IFN-P). 2007 Clinical Exp Rheumatology, vol. 25, No. I, (Suppl. 44) S-89
  - 7) Ito-Ihara, T., Suzuki, K., Uno, K., Komiya, T., Tsujii, T., Tsukamoto, T., Ono, T., Fukatsu, A., Kita, T., Muso, E. Circulating levels of IL-12, 23 and IL-18 in patients with MPO-ANCA-associated vasculitis. 2007 Clinical Exp Rheumatology, vol. 25, No. I, (Suppl. 44) S-89
  - 8) Uno K, Yagi K, Muso E, Omatsu Y, Ito-Ihara T, Mitsuishi Y, Murakami Y, Tanigawa M, Suzuki K, Fujita S Comparison of HVJ stimulated IFN- $\alpha$  production & peripheral plasamacytoid dendritic cell counts in healthy subjects & patients with various diseases. 2007 J IFN Cytokine Res. Vol.27, No.8, 734
2. 学会発表
- 1) Uno, K., Muso, E., Ihara, T., Komiya, T., Omatsu, Y., Mitsuishi, Y., Inaba, K., Suzuki, K. Comparison of IFN- $\alpha$  production in response to Sendai virus upon stimulation and the number of peripheral plasmacytoid dendritic cells in healthy subjects and patients with various diseases: Characteristics of MPO-ANCA-associated glomerulonephritis and vasculitis. 13<sup>th</sup> International Vasculitis & ANCA Workshop Cancun, Mexico
  - 2) Muso, E., Uno, K., Ito-Ihara, T., Komiya, T., Suzuki, K. Intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangitis with RPGN by amelioration of impaired IFN $\alpha$  production (IFN-P). 13<sup>th</sup> International Vasculitis & ANCA Workshop Cancun, Mexico
  - 3) Ito-Ihara, T., Suzuki, K., Uno, K., Komiya, T., Tsujii, T., Tsukamoto, T., Ono, T., Fukatsu, A., Kita, T., Muso, E. Circulating levels of IL-12, 23 and IL-18 in patients with MPO-ANCA-associated vasculitis. 13<sup>th</sup> International Vasculitis & ANCA Workshop Cancun, Mexico
  - 4) 宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木宮俊幸、谷川真理、鈴木和男、藤田哲也 IFN- $\alpha$  産生能とプラズマサイトイド樹状細胞数：健常人と癌、HCV 肝炎、MPO-ANCA 腎炎の比較 2007 第7回抗加齢医学会総会 京都
  - 5) Uno K, Yagi K, Muso E, Omatsu Y, Ito-Ihara T, Mitsuishi Y, Murakami Y, Tanigawa M, Suzuki K, Fujita S Comparison of HVJ stimulated IFN- $\alpha$  production & peripheral plasamacytoid dendritic cell counts in healthy subjects & patients with various diseases. International Society for Interferon and Cytokine Research, Interferon Anniversary Meeting 50<sup>th</sup> Anniversary of the Discovery of Interferon, 2007, Oxford
- 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



## 系統的血管炎誘発モデルにおける遠隔期病変の病理組織学的検討

分担研究者 高橋 啓 東邦大学医療センター大橋病院病理 教授  
(研究協力者 大原関利章 東邦大学医療センター大橋病院病理 助教)

**研究要旨：** *Candida albicans* Water Soluble fractions (CAWS)によるマウス血管炎誘発モデルに対して、血管炎惹起後、長期生存させたときの動脈変化を観察した。冠状動脈には血管構築破壊を伴った高度の血管炎癒痕像が認められた。これらは川崎病動脈炎後遺病変と類似するものであり、川崎病血管炎後遺病変モデルとしても適用可能と考えられた。

### A. 研究目的

*Candida albicans*菌体由来物質を用いたマウス系統的血管炎誘発モデルは冠状動脈、大動脈起始部や腎動脈などに増殖性肉芽腫性炎症が生じ、川崎病との組織学的類似点が多い。CAWS接種後、長期間飼育したときの遠隔期動脈変化について組織学的検索を加えた。

### B. 研究方法

CAWSをマウス (C57BL/6N、4週齢、雄)の腹腔内に連続5日間接種した。接種終了後30週まで通常飼料、室温の環境下で長期飼育を行った。剖検後、冠状動脈分岐部を含む心基部大動脈のステップ標本作製して組織学的検索を行った。

### C. 研究結果

血管炎発生率は79%であった。

組織学的には大動脈起始部から冠状動脈にわたって線維化傾向を示す治癒傾向にあ

る血管炎が観察された。血管壁の既存構築は広範に破壊され、冠状動脈瘤も散見された。瘤内には血栓性閉塞像や血栓再疎通が認められた。また、冠状動脈周囲には側副血行路と思われる血管増生が観察された。

血管炎を伴っていたマウスの82%に新旧の虚血性心筋病変をみた。血管炎を発生していなかったマウスは全例実験終了時点(30週)まで生存したが、血管炎を伴ったマウスは13週目から死亡し始め、64%のマウスは実験終了前に死亡した。



冠状動脈炎癒痕像

#### D. 考案

本血管炎惹起モデルにおいて長期飼育によって観察された血管炎癒痕像は、川崎病動脈炎後遺病変と類似するものであった。さらに、これまでの実験期間では観察されることが稀であった冠状動脈内血栓や心筋虚血性変化が高頻度に観察された。今後、血管炎後遺病変と動脈硬化症との関連など、川崎病の長期予後について推測する上でも応用可能なモデルであることが示された。

#### E. 結論

本実験系は川崎病動脈炎の急性期だけでなく遠隔期モデルとしても有用である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, Naoe S, Jenette JC : Kawasaki Disease Arteries and Polyarteritis Nodosa. Pathology Case Reviews. 12:193-199, 2007.
2. 高橋 啓:急性期動脈炎の病理組織像からみた川崎病の成因. 医学のあゆみ 222 : 855-858,2007
3. 大原関利章、高橋 啓、横内 幸、直江史郎 : 川崎病の成因. 日本臨床 66 : 246-250, 2007
4. 高橋 啓 (共著) : 川崎病の病理. 生体防御医学事典、p299-303、鈴木和男監修、山本健二他編、朝倉書店、2007.

##### 2. 学会発表

1. 高橋 啓、大原関利章、横内 幸、直江史郎、小泉ひろみ、提嶋真人 : 冠動脈瘤破裂の一剖検例. 第20回関東川崎病研究会、東京、2007.06
2. 大原関利章 : 「川崎病」川崎病血管炎の病理. 第130回東邦医学会例会、東京、2007.06
3. 大原関利章、横内 幸、伊原文恵、若山恵、山田仁美、直江史郎、高橋 啓 : 川崎病類似動脈炎モデルにおける血管炎後遺症と粥状硬化症の病理組織学的検討. 第27回日本川崎病研究会、東京、

2007.10

4. 大原関利章、横内 幸、伊原文恵、若山恵、山田仁美、直江史郎、高橋 啓 : 川崎病類似動脈炎モデルにおける遠隔期血管病変の病理組織学的検討. 第27回日本川崎病研究会、東京、2007.10
5. 大原関利章、横内 幸、山田仁美、高橋啓、直江史郎 : 系統的血管炎誘発モデルにおける遠隔期血管病変の病理組織学的検討. 第13回MPO研究会、広島、2007.10
6. 横内 幸、大原関利章、若山 恵、伊原文恵、直江史郎、菅原重忠、高橋 啓 : 川崎病後遺病変が疑われた冠状動脈瘤の遠位側に留置されたステントに対する過敏性反応により遅発性ステント血栓症をきたした1剖検例. 第27回日本川崎病研究会、東京、2007.10
7. 高橋 啓 : 川崎病の病理 心以外の血管病変. 第27回日本川崎病研究会、東京、2007.10
8. Oharaseki T, Yamada H, Yokouchi Y, Ihara F, Wakayama M, Naoe S, Takahashi K. Histopathology of late-stage arteritis in animal model of Kawasaki disease. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma-2008, Chiba, 2008.1

#### 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

自己免疫性心筋炎における免疫グロブリンおよび融合蛋白治療の  
有効性に関する研究

分担研究者 相澤義房 新潟大学大学院医歯学総合研究科 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 准教授)  
(研究協力者；塙 晴雄 新潟大学大学院医歯学総合研究科 講師)

研究要旨：致死性の劇症型心筋炎の疾患モデルであるラット実験的自己免疫性心筋炎モデル(EAM)は、T細胞依存性心筋炎である。以前はTh1細胞が発症に深く関与し、Th2細胞が心筋炎を制御する細胞と考えられてきたが、近年Th17の発見により、自己免疫性疾患のこの考え方が大きく変わりつつある。一方、IVIg療法、目的蛋白と免疫グロブリンのFc部分(Ig)融合蛋白療法が、心筋炎に有効であることを我々はいくつか報告してきた。今回、我々はIL-10-Igの治療およびIL-17のEAMでの動態、その治療とTh17の関わりについて検討した。方法はEAMを作成し、治療群の第1日目にpCAGGS-IL-10-Igをハイドロダイナミクス法を用いて遺伝子導入し、その治療効果を検討した。また、IL-17関連遺伝子発現の時間経過、標的細胞を定量的RT-PCRにて検索した。さらにIL-10-IgをEAMの脾臓からえられた培養細胞に加え、IL-17を含むいくつかの免疫関連蛋白に対する影響を検討した。IL-10-Ig治療群は、有意に心体重比、心筋炎面積率の減少およびANPの発現量の減少がみられ、IL-10-IgはEAMに対して効果があると考えられた。一方、IL-17は以前報告したTh1サイトカンと同様に、発症初期のT細胞のみに発現がみられ、IL-10の発現よりも早い時期であった。IL-10-IgはEAMのIL-1にて刺激した脾細胞に対して、TNF- $\alpha$ やIL-1だけでなく明にIL-17の発現を抑制し、これも治療効果の機序の一つではないかと考えられた。

A. 研究目的

劇症型心筋炎は、集中治療をしても約半数が死亡する難治性の疾患であり、積極的に炎症を沈静化する治療法の確立が望まれる。その疾患モデルであるラット実験的自己免疫性心筋炎モデル(EAM)は、T細胞のトランスファー実験でも発症することが明らかになっており、T細胞依存性心筋炎である。以前はIL-2やIFN- $\gamma$ を産生するTh1細胞が発症に深く関与し、IL-10やIL-4、IL-13などを産生するTh2細胞が心筋炎を制御する細胞と考えられてきたが、近年新

しいT細胞サブセットの発見により、自己免疫性疾患のこの考え方が大きく変わりつつあり、IVIg療法、あるいは目的蛋白と免疫グロブリンのFc部分(Ig)融合蛋白療法が、心筋炎に有効であることを我々はいくつか報告してきた。今回、我々はIL-10-Igの治療が有効であるか否か、またその治療がIL-17を産生するTh17にどのような影響を与えるかを検討した。

## B. 研究方法

より高い血中濃度の維持などを目的に IL-10 に Ig を融合させた pCAGGS-IL-10-Ig を作成した。第 0 日にブタ心筋ミオシンで免疫し、EAM を作成し、治療群に第 1 日目に pCAGGS-IL-10-Ig をハイドロダイナミクス法を用いて遺伝子導入し、pCAGGS-Ig を遺伝子導入したコントロール群と比較検討した。また、標的細胞を同定するために、EAM の心臓から分離精製した細胞群で、IL-17 関連蛋白の遺伝子発現を定量的 RT-PCR にて検索し、さらに IL-17 関連遺伝子発現の時間経過も同様に検討した。IL-10-Ig 治療がどのように IL-17 などに作用するかを検討するために、治療群の血清を EAM の脾臓からえられた培養細胞に加え、IL-17 を含むいくつかの免疫関連蛋白の変化を検討した。

## C. 研究結果

IL-10 は Ig と融合蛋白にすることによって、第 1 日目にハイドロダイナミクス法にて遺伝子導入した群は、以前、IL-10 を筋肉内に電ポレーションを加え何回か遺伝子導入した群よりも 10 倍ほど高い血中濃度を示した。IL-10-Ig 治療群は、有意に心体重比、心筋炎面積率の減少および ANP の発現量の減少がみられ、IL-10-Ig は EAM に対して効果があると考えられた。

一方最近明らかにされた Th17 が産生する IL-17 は、以前報告した Th1 サイトカンと同様に、T 細胞のみに発現がみられ、発現する時期も Th1 サイトカンと同様に発症初期であり、IL-10 の発現よりも早い時期であった。しかも、IL-17 は Th1 サイトカンよりも発現量は明らかに多く、EAM において、重要な作用を持つのではないかと思

われた。また、IL-10-Ig の作用を検討するために、EAM の IL-1 にて刺激した脾細胞を用いて、IL-10-Ig を加え、いくつかのサイトカインの発現量を測定したところ、TNF- $\alpha$  や IL-1 だけでなく、著明な IL-17 の発現抑制がみられた。IL-10-Ig の治療効果の機序は、TNF- $\alpha$  や IL-1 の抑制だけでなく、IL-17 の抑制も重要なのではないかと考えられた。

## D. 考案

pCAGGS-IL-10-Ig のハイドロダイナミクス法による治療は、pCAGGS-IL-10 の電ポレーションによる筋肉内遺伝子導入よりも高い血中濃度が得られ、Ig と融合させるメリットがこの点からも示唆される。またこの治療は、EAM に対して有効であり、その時、IL-1 で誘導された T 細胞の IL-17 を著明に抑制し、それが大きな作用機序である可能性が考えられる。IL-17 は EAM でも重要なサイトカンではないかと考えられ、これを制御する治療は有望なのではないかと思われ、今後の検討が望まれる。

## E. 結論

pCAGGS-IL-10-Ig のハイドロダイナミクス法による治療は、EAM に対して有効であり、これは IL-17 の抑制も関与する可能性が考えられた。

## G. 研究発表

1. 論文発表  
Circ. J (in press)
2. 学会発表  
第 11 回 日本心不全学会学術集会

## 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。

## MPO-ANCA 陽性顕微鏡的多発血管炎（MPA）に伴う急速進行性糸球体腎炎（RPGN）へのIVIg治療の有効性の検討に用いる腎病理組織パラメーターの標準化の試み

分担研究者；武曾恵理 財団法人田附興風会医学研究所北野病院・腎臓内科

研究協力者；宇野賀津子 ルイ・パストゥール医学研究センター・基礎研究部室長

古宮俊幸、猪原登志子 財団法人田附興風会北野病院医学研究所・腎臓内科

城 謙輔 国立千葉東病院臨床研究センター・免疫病理研究部

鈴木和男 国立感染症研究所・免疫部

**研究要旨：**我が国の急速進行性糸球体腎炎（RPGN）の多くを占める、MPO-ANCA 陽性症例は全身性疾患としての顕微鏡的多発血管炎（MPA）に発症することが知られている。この疾患の病理学的パラメーターを特定し、それらの所見が、生検時の臨床的パラメーターのどの所見と相関しているかを統計学的に解析し、治療指針の一助となる可能性や、IVIg治療の効果判定への有効性を推測した。これらのパラメーターの選択においては、欧州血管炎協会（EUVAS）で採択され、また臨床パラメーターとの相関を認められているものとの相同性を念頭におき選択した。さらに本疾患で有意に上昇している各種炎症制裁とカインをBioPlex法で、多数を同時に検索し、これらと病理パラメーターとの相関性を検索して、その病変傷害性への関与を特定した。

### A. 研究目的

MPO-ANCA 陽性の MPA に発症する急速進行性糸球体腎炎は特異的な半月体形成をとともなう、病理所見を呈するが、これらの所見のパラメーターの有用性に関しては、共通のものが我が国から発信されておらず、圧倒的に MPA の頻度が高いわが国独自の取り組みが求められていた。また、これらは独自性と同時に、WGの多い欧州の取り組みや、国内での難治性血管炎班会議での提案との整合性も必要で、関係する3施設から集められた RPGN 症例のスライドを病理医と臨床腎臓内科医とで検討し、糸球体、間質尿細管、血管のレベルで、特異的パラ

メーターを EUVAS のパラメーターや我が国で以前重松らが提案したものとも比較しつつ選択した。またこれらのパラメーターを生検時の臨床所見パラメーターとの相関性をしらべることで、その有用性を検討し、さらに同時に多数の測定が可能な BioPlex によるサイトカインレベルとも比較して、病理マーカーと特異的に関連のあるサイトカインを同定することで、これらの所見の IVIg 治療の効果判定のツールを視野に入れた検討を行った。

## B. 研究方法

### 1) 病理パラメーターの選択

糸球体、尿細管・間質、血管のそれぞれの病変を活動性、および慢性進行性病変に分けて検討し、本疾患に特異的と考えられる病理パラメーターを選択した。これらの所見は Shigematsu<sup>1)</sup>らの提唱した、パラメーター群、さらに欧州血管炎協会 (EUVAS) で提唱されている所見群<sup>2)</sup>と比較して、整合性のある所見を選択した。すなわち、腎病理所見パラメーターの活動性病変として、メサンギウム増殖、管内増殖性病変、毛細管壊死、細胞性 (細胞線維性) 半月体形成、ボウマン氏嚢破壊、尿細管炎、尿細管基底膜の破壊、間質では細胞浸潤と毛細管炎所見について、さらに、慢性硬化進行性病変として、全または部分糸球体硬化、線維性半月体形成、虚脱糸球体、尿細管萎縮、間質線維化について検討した。さらに、血管では、弓状動脈、小葉間動脈、細小動脈それぞれに細胞浸潤、壊死性病変、血栓形成、肉芽形成、動脈内膜炎が活動性病変として、また硬化、内腔狭小が慢性病変としてあげた、これらを糸球体一個毎に検討して、尿細管病変、血管病変もスコア化して表示した (図1)。更に、72症例 (男性40名、女性32名、平均65.4歳) を対象として、これらの所見を検討し、生検時の臨床パラメーターとしての、蛋白尿、血尿、腎機能、ANCA値、貧血度、血圧、尿NAG、尿β2MGと相関性を検討した。また、21症例の治療前の血清でサイトカイン・ケモカインレベルを腎生検と同時に Bioplex で測定した。測定項目は 27plex array (IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, TNF-α, Eotaxin, FGFbasic, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, IP-10, MCP-1, MIP-1α, MIP-1b, PDGF-bb, RANTES, VEGF) 23 plex. cytokines (IFN-α2, IL-1α, IL-2Ra, IL-3, IL-12p40, IL-16, IL-18, TNF-β, M-CSF, MCP-3, MIF, MIG, b-NGF, TRAIL, HGF, CTACK, GRO-α, LIF, SCF,

SCGF-β, SDF-1α, ICAM-1, VCAM-1) を測定した。

Score sheet of our proposal

図 - 1

## C. 研究結果

1、腎機能低下や蛋白尿量は有意に慢性硬化性病変と関連を示した。一方、血尿は細胞性半月体形成と有意に関連性があり、蛋白尿もそれに続いた。CRP 高値は緩いながら独立した血管炎、尿細管破壊を予測する因子とされた (図2)。2. サイトカイン・ケモカインとの相関では Stem Cell Factor (SCF) の硬化病変との有意な相関性 (図3)、IL12p40 の活動性、半月体系生成病変との相関性を確認した。 (図4)

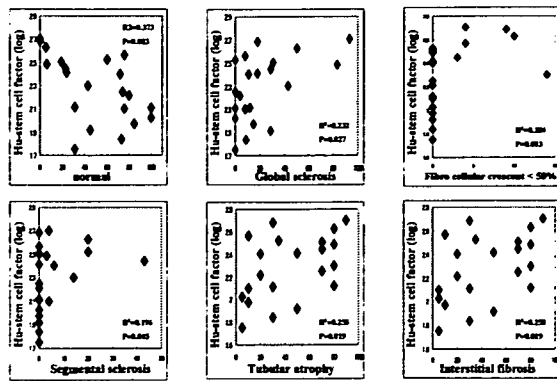
(図-2)

**Result 1: Single linear regression analysis:** \*\*\*\* 0.5>R<sup>2</sup>>0.4 \*\*\* 0.4>R<sup>2</sup>>0.3  
 (dependent variable: histological parameters) \*\* 0.3>R<sup>2</sup>>0.2 \* 0.2>R<sup>2</sup>>0.1

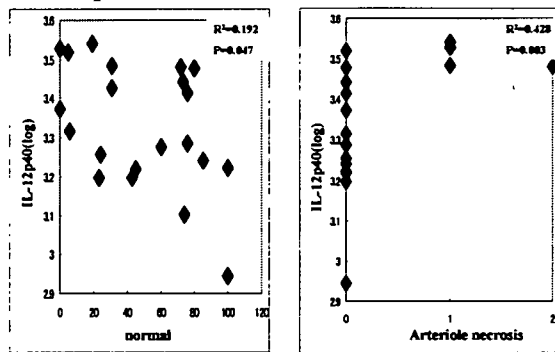
	Hematuria	proteinuria	e-GFR	CCr	Creatinine	MPO-ANCA	Blood pressure	NAG	beta 2 MG	hemoglobin	CRP
Cor-Cres	0.000 (0.204)	0.028 (0.107)	0.000 (0.281)	0.001 (0.162)	0.000 (0.494)	0.000 (0.264)	0.012 (0.111)	0.000 (0.482)	0.001 (0.142)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)
Tuft necrosis	0.020 (0.075)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
Fib-Cres	0.000 (0.003)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
Clear Force	0.017 (0.078)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
ScSc Hyalin	0.011 (0.081)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
Bo dest	0.012 (0.087)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
Paragran	0.002 (0.134)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
tubul	0.014 (0.084)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
TBM dest	0.014 (0.084)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
Int. inflan	0.000 (0.494)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
Int. fibrosis	0.000 (0.494)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
arteris	0.000 (0.494)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)
arterid	0.000 (0.494)	0.000 (0.208)	0.000 (0.103)	0.000 (0.186)	0.000 (0.198)	0.000 (0.198)	0.015 (0.105)	0.000 (0.238)	0.001 (0.130)	0.000 (0.144)	0.000 (0.144)

P(R<sup>2</sup>), P<0.05

Stem cell factor(SCF) correlated with sclerotic lesions



IL12p40 and pathological parameters of active lesions



D. 考案

我が国に多い、MPO-ANCA 関連腎炎血管炎の病態解析にこれらの病理パラメーターが有用な指標と考えられた。また、EUVAS のスコアリングとの比較において、選択されているため、共通のパラメーターで今後議論が成立することが期待される。一方、いくつかのパラメーターは臨床所見の特定のものから予測可能で、生検を行う前に、これらの所見が予見される場合、治療の指標に使うことを考えられる。また、本疾患で腎機能低下以前からの血尿の発現は既に活動性半月体形成を予測できる独立した要因であることが示された。一方、特定の病理所見に連動する サイトカインの確認は、その病変惹起の機序を推測する上で、示唆に富んでおり、今後病理病変の予測、IVIg 治療の効果予測のパラメーターに使用できる可能性が示唆された。特に SCF は硬化病変と強く相関し

ており、治療抵抗性の指標となりうると考えられた。

参考文献

- 1) Shigematsu H, Yamaguchi N, Koyama A. Glomerulointerstitial events in rapidly progressive nephritic syndrome, with special reference to histologic grade and stage on the renal lesions. Clin Exp Nephrol 1998;2:330-338
- 2) Bajema IM, Hagen EC, Hansen BE, Hermans J, Noel LH, Waldherr R, et al. The renal histopathology in systemic vasculitis: an international survey study of inter- and intra-observer agreement. Nephrol Dial Transplant. 1996 ;11:1989-95

E. 結論

我が国で多い MPO-ANCA 陽性 RPGN を来す、MPA の腎病理所見の特異的パラメーターの選択は国際間の議論を行う為にも必要であり、一部のサイトカインはこれらのパラメーターと連動し、病変予測や、IVIg などの治療の効果予測に有用と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文論文)

1. Ito-Ihara T, Muso E, Kobayashi S, Uno K, Tamura N, Yamanishi Y, Fukatsu A, Watts R.A, Scott D, Jayne D, Suzuki K, Hashimoto H: Comparison of diagnostic accuracy of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits for antineutrophil cytoplasmic autoantibodies available in Japan and Europe. Clinical Exp Rheumatology (In press)
2. Joh K, Muso E, Shigematsu H, Nose M, Nagata M, Arimura Y, Yumura W, Wada T, Nitta K, Makino H, Taguma Y, Kaneoka H, Suzuki Y, Kobayashi M, Koyama A, Usui J, Ozaki S, Tomino Y, Hashimoto H, Yamagata: Pathology of ANCA-related vasculitis: Proposal for standardization of pathological diagnosis in Japan. Clin Exp Nephrol (In press)
3. Suzuki K, Kobayashi S, Yamazaki K, Gondo M, Tomizawa K, Arimura Y, Nakabayashi K, Ozaki S, Yoshida M, Yoshida T, Tsusaka N, Muso E, Okazaki T, Hashimoto H; Analysis

- of Risk Epitopes of Anti-Neutrophil Antibody MPO-ANCA in Vasculitis in Japanese Population. *Microbiol Immunol.* 51(12), 1215-1220, 2007
4. Ogawa N, Yano S, Yamane Y, Nishiki M, Yamaguchi T, Tanaka M, Tsukamoto T, Muso E, Sugimoto T: A case of MPO-ANCA positive IgA nephropathy successfully treated with tonsillectomy. *Clin Exp Nephrol.* 11(4), 326-331, 2007
  5. Hoshino A, Nagao T, Ito-Ihara T, Ishida-Okawara A, Uno K, Muso E, Nagi-Miura N, Ohno N, Tokunaka K, Naoe S, Hashimoto H, Yasuhara M, Yamamoto K, Suzuki K: Trafficking of QD-conjugated MPO-ANCA in Murine Systemic Vasculitis and Glomerulonephritis model mice. *Microbiol.Immunol* 51(5):551-66, 2007
  6. Hashimoto M, Nogaki F, Oida E, Tanaka M, Ito-Ihara T, Nomura K, Liu N, Muso E, Fukatsu A, Kita T, Ono T.:Glomerulonephritis induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection that progressed during puerperal period. *Clin Exp Nephrol.* 2007 Mar;11(1):92-6. Epub 2007 Mar 28.
  7. Ito-Ihara T, Ono T, Nogaki F, Suyama K, Tanaka M, Yonemoto S, Fukatsu A, Kita T, Suzuki K, Muso E: Clinical Efficacy of Intravenous Immunoglobulin for Patients with MPO-ANCA-Associated Rapidly Progressive Glomerulonephritis. *Nephron Clin Pract.* 102(1):c35-c42, 2006.
  8. Shi mosawa M, Liu N, Uemura K, Muso E, Yoshida H, Ono T: Exacerbating mechanisms mediated by LPS-induced activation of coagulation system in IgA nephropathy model mouse HIGA. *Nephrology* 11 A58, 2006.
- (和文論文)
1. 糟野健司、武曾恵理：腎疾患の病態生理：急性腎不全編 1. 腎虚血再灌流障害とレドックス発現 腎と透析 63(3):299-303, 2007
  2. 武曾恵理、猪原登志子、古宮俊幸：ANCA関連腎炎に伴う血管病変 腎と透析、63(1)：31-34、2007
  3. 武曾恵理：研修医必修 よくある症状 35の鑑別診断チャート 3 2. 血尿 臨床研修プラクティス4(2)、72-73、2007
  4. 武曾恵理、鈴木進子、中川権史、辻井知美、古宮俊幸、米本智美、塚本達雄、魚瀬優、中村武志、猪原登志子、鈴木和男、宇野賀津子 MPO-ANCA 関連腎炎顕微鏡的多発血管炎に合併する悪性疾患症例の解析と INF- $\alpha$  産生能からの考察 PASKEN JOURNAL 7-11, 2007
  5. 猪原登志子、宇野賀津子、古宮俊幸、辻井知美、田中真理、田原佐知子、塚本達雄、小野孝彦、柳田素子、深津敦司、北徹、鈴木和男、武曾恵理 ANCA 関連血管炎における IL-12,IL-23,IL-18 の動態 *Pharma Medica* 25(5):181-184, 2007 (著書)
  1. 武曾恵理：X II 生体防御異常が誘発する難知性疾患 53 血管炎の病態と治療 生体防御医学事典 鈴木和男監修 朝倉書店 277-282、2007
  2. 猪原登志子、武曾恵理：X II. 治療法 1 . ANCA 関連血管炎に対する大量 $\gamma$ グロブリン療法 *Annual Review 腎臓* 2006 御手洗哲也他編, 中外医学社、pp. 231-240, 2006.
2. 学会発表 (国際発表)
  1. Muso E: Cytokine network in active phase of IgA nephropathy and ANCA-related glomerulonephritis *Asian Intergrated Nephrology Forum* Aug 3-5, 2007(Thailand) (国内発表)
  1. 山西裕司、猪原登志子、長尾朋和、小熊麻子、宇野賀津子、武曾恵理、鈴木和男、岡崎富男:nMPO-ANCA の臨床的有用性の検討 第 13 回 MPO 研究会 2007.10.26-27 (広島)
  2. 武曾恵理、城謙輔、岩崎由加子、古宮俊幸、猪原登志子、宇野賀津子、湯村和子、小林茂人、橋本博史、鈴木和男：MPO-ANCA 関連血管炎の病態パラメーターとしての腎病理所見の有用性の検討 第 13 回 MPO 研究会 2007.10.26-27 (広島)
  3. 亀岡洋祐、笠間 毅、鈴木哲朗、猪原登志子、武曾恵理、橋本雄之、鈴木和男：MPO リーダーペプチドは MPO 活性制御に関与するか？ 第 13 回 MPO 研究会 2007.10.26-27 (広島)
  4. 宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、八木克己、藤田哲也、鈴木和男：MPO-ANCA 腎炎のサイトカイン・ケモカイン動態：Bio-plex 法による網羅的解析 第 13 回 MPO 研究会 2007.10.26-27 (広島)
  5. 武曾恵理、鈴木進子、中川権史、辻井知美、古宮俊幸、米本智美、塚本達雄、魚瀬優、中村武志、猪原登志子、宇野賀津子、鈴木和男：MPO-ANCA 関連腎炎顕微鏡的多発血管炎に合併する悪性疾患の症例の解析と IFN $\alpha$  産生能からの考察 第 37 回日本腎臓学会西部学術大会 2007.10.19-20 (福井)
  6. 武曾恵理：ANCA 関連血管炎の病理と臨床のトピックス 第 2 回女性腎臓医の会学術講演会 2007.10.13 (東京)



7. 武曾恵理：MPO-ANCA 陽性顕微鏡的血管炎に伴う急速進行性糸球体腎炎に対するIVIg治療の有効性のエビデンス確立と機序解明に向けて 炎症制御治療フォーラム 2007.7.13-14 (千葉)
  8. 宇野賀津子、猪原登志子、藤田哲也、鈴木和男、武曾恵理：Bioplexによる血漿中サイトカイン・ケモカインの解析：その有用性と問題点 炎症制御治療フォーラム 2007.7.13-14 (千葉)
  9. 小野孝彦、日浅俊介、劉寧、上村和秀、雑賀寛、猪原登志子、武曾恵理、大川原明子、鈴木和男：ANCA関連腎炎モデルSCG/Kjマウスにおける肺の組織像および血管病変の腎との比較検討 炎症制御治療フォーラム 2007.7.13-14 (千葉)
  10. 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、鈴木和男：MPO-ANCA 陽性MPAに伴うRPGNにおけるIFN $\alpha$ 産生能と樹上細胞の関わりとIVIgの影響 第50回日本腎臓学会学術総会 2007.5.25~27 (浜松)
  11. 下沢真木子、日浅俊介、劉寧、上村和秀、野垣文昭、森典子、武曾恵理、吉田治義、小野孝彦：IgA腎症モデルマウス(HIGA)へのLPS投与における酸化ストレスと凝固系活性化を介した腎炎増悪機序 第50回日本腎臓学会学術総会 2007.5.25~27 (浜松)
  12. 上村和秀、大塚秀隆、下沢真木子、日浅俊介、野垣文昭、武曾恵理、吉田治義、川寄敏祐、小野孝彦：IgA腎症モデルマウス(HIGA)へのLPS投与炎症増悪時における酸化ストレスと補体レクチン経路の関与 第50回日本腎臓学会学術総会 2007.5.25~27 (浜松)
- G. 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

急性期川崎病に対する静注用ガンマグロブリン製剤の大規模使用成績調査  
（Post Marketing Surveillance：PMS）の最終報告からみた安全性と有効性

分担研究者 佐地 勉 所属 東邦大学医療センター大森病院小児科 教授  
研究協力者 中川雅生 滋賀医科大学小児科  
中澤 誠 総合南東北病院小児/生涯心臓疾患研究所小児科  
原田研介 日本大学総合科学研究所

研究要旨：小児期の代表的な血管炎症候群である急性期川崎病(KD)の治療の第一選択は静注用免疫グロブリン製剤(IVIG)の超大量単回療法である。2003年よりIVIG超大量単回投与が承認され、現在では83%の症例に使用され、90%以上は1ないし2g/kg(24～48時間)の超大量単回投与である。しかし、一部には副作用が報告され、また15%程度にはIVIG不応があるため、今回市販後使用調査を各製薬企業のご協力を得て検討した。その結果、副作用は484例(6.7%)697件、重篤な副作用は76例(1.05%)、85件(死亡：0例)に認められた。これらの結果は、HIV、感染、ギランバレー症候群、CIDP、血小板減少性紫斑病(ITP)などにおける使用に比べて副作用発現率は少なく、KDには比較的安全に使用できていると思われた。

結論：同一疾患の多数例の市販後使用成績報告で、KDへのIVGGは他の対象疾患に比し、有用かつ比較的安全に使用されているが、一部のIVIG不応例にはIVIG以外の代替療法が必要である。

A. 研究目的

2003年7月、急性期川崎病(KD)に対する静注用免疫グロブリン製剤(IVIG)の超大量単回療法が承認された。第25ならびに26回の本研究会で使用成績調査PMSの一部を報告したが、今回厚労省へ提出された最終結果をまとめて報告する。

B. 研究方法

4社(帝人-化血研、日薬、三菱ウエ

ルファーマーベネシス、バイエル)から、既に解析が終了し厚労省へ提出されたPMSの結果(H15.8.1からH18.7.31までの集計症例)を基にした。

使用された製剤は、乾燥スルフォ化人免疫グロブリン(献血ベニコロン：化血研-帝人)、乾燥PEG処理人免疫グロブリン(献血グロベニン-I-ニチャク：日薬)(献血ベノグロブリン-IH：ベネシス)、pH4処理酸性人免疫グロブリン(ポリグロビンN：バイエル)の各処理を加えた

Intact 型免疫グロブリンである。

収集症例数：7631、安全性評価対象：7259、有効性解析対象：7196、初回治療例：6954、追加治療例 1199、投与目的；初回治療：5998、追加：129、初回+追加：1040、男：女：4200(57.9%)、3059、年齢分布：1 歳未満：1754、1-3 歳未満：3153(43.4%)、3 歳以上：2352、初発：6976、再発：280 例

### C. 研究結果

[安全性] 合併症：あり：1708(23.5%)、なし：5546、不明：3、安全性調査対象：副作用：484 例 (6.7%)、697 件、重篤な副作用：76 例(1.05%)、85 件。副作用 (件数)：搔痒感・発疹 78、肝機能障害 69、肝機能関連検査値異常：40、低体温 50、無菌性髄膜炎 19、低血圧 19、蒼白 15、チアノーゼ 14、末梢冷感 13、ショック 13、心不全 13、溶血性貧血 4、その他 350。

[有効性] 初回治療時無効率：平均 13.7% (12.5~15.2%)、追加治療時無効率：平均 17.6% (15.0~20.1%) (4 製品間で有意差なし)

心断層エコー所見：初回のみ異常：平均 2.17% (1.76~2.58) (但し 3 社の報告)、Total 異常率：3.68 (2.72~4.81%) (但し 3 社のみ、3 製品間で有意差なし)。

### D. 考案

文献検索上、これらの結果は、HIV、感染、ギランバレー症候群、CIDP、血小板減少性紫斑病 (ITP)などに比べて副作用発現率は少なく、KD には比較的 safely に使用できていると思われた。

結論： 同一疾患の多数例の市販後使用成績報告で、KD への IVGG は有用かつ比較的 safely に使用されているが、一部の不良例には IVIG 以外の代替療法が必要である。

### E. 結論

5 社 4 製品 (3 処理法) の IVIG 各製品間で有効性ならびに安全性の定義や評価の方法が微妙に異なるため、比較可能な範囲が限られるが、同一疾患の多数例の PMS 報告と考えれば、急性期川崎病においては有用かつ比較的 safely に使用されていた。副作用の頻度は、HIV 感染、ITP (特発性血小板減少性紫斑病)、ギランバレー症候群等と比較すると、明らかに副作用が少ないと考えられた。しかし、副作用は多彩であり、予測因子に乏しく充分注意する必要がある。

尚、研究に協力して頂いた製薬企業の各担当者、花田孝弘 (化学及血清療法研究所)、今城幸子 (帝人ファーマ株式会社)、伊堂寺徹 (日本製薬株式会社)、池川千穂 (バイエル薬品株式会社)、野口 豊 (ベネシス株式会社) に深謝する。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Takeuchi D, Saji T, Takatsuki S, Fujiwara M: Abnormal Tissue Doppler Images are Associated With Elevated Plasma Brain Natriuretic Peptide and Increased Oxidative Stress in Acute Kawasaki Disease. *Circ J*. 71: 357-362, 2007
2. Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger W, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H, Wakui K, Fukushima Y, Kishi F, Hamamoto K, Terai M, Sato Y, Ouchi K, Saji T, Nariai A, Kaburagi Y, Yoshikawa T, Suzuki K, Tanaka T, Nagai T, Cho H, Fujino A, Sekine A, Nakamichi R, Tsunoda T, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A: ITPKC functional polymorphism

associated with Kawasaki disease susceptibility and formation of coronary artery aneurysms. *Nature Genetics*. 40(1):35-42, 2008

3. 佐地 勉: 蛋白合成酵素阻害薬ウリナスタチン療法、日本臨床: 343-348, 2008

## 2. 学会発表

1. Tsutomu Saji: Indications, Efficacy and Safety of Anti-RS Virus Monoclonal Antibody Palivizumab (Synagis) for Pediatric Patients With Congenital Heart Diseases. 2007 Conference of the Korean Pediatric Heart Association, 2007.10, Seoul
2. 佐地 勉: 急性期川崎病の不应例・重症例への新規治療法の展望 (教育セミナー). 第110回日本小児科学会総会・学術集会. 2007.4 京都
3. 佐地 勉: レミケードの使用実態調査結果. 第27回日本川崎病研究会. 2007.10、東京
4. 佐地 勉: IVIG の市販後調査からみた有用性と安全性. 第27回日本川崎病研究会. 2007.10、東京
5. 佐地 勉: 急性期川崎病の IVIG 抵抗例に対する治療 Option -抗サイトカイン療法の有用性・安全性を含めて- (モーニングセミナー). 第17回日本小児リウマチ学会. 2007.9、横浜
6. 佐地 勉: 川崎病に罹った子どもをどう管理するか (ランチョンセミナー). 第54回日本小児保健学会総会. 2007.9、前橋
7. 直井和之、佐地 勉: メチルプレドニゾン 1.5mg/kg パルス療法は初回 IVIG 不応急性期川崎病に対し有効である. 第110回日本小児科学会総会・学術集会. 2007.4 京都
8. 監物靖、嶋田博光、高月晋一、中山智孝、松裏裕行、佐地 勉、楠夏子、川合眞一、石黒精、幸田恭子: 急性期川崎病における血中アディポサイトカインの変化. 第27回日本川崎病研究会. 2007.10、東京
9. 高月晋一、岡松千都子、寺田江里、池原聡、嶋田博光、中山智孝、松裏裕行、盛田俊介、佐地 勉、石黒精、幸田恭子: 急性期川崎病における酸化ストレスによる血管内皮障害～Reactive Oxygen Species の変動から～. 第27回日本川崎病研究会. 2007.10、東京
10. 佐地 勉: 急性期川崎病に対する静注用ガンマグロブリン製剤の使用成績調査 (PMS) の最終報告. 第27回日本川崎病研究会. 2007.10、東京
11. 佐地 勉: 免疫グロブリン (IVIG) 不応例

への治療 options - 一次の一手は何か- (特別講演). 第3回新潟川崎病研究会. 2007.4、新潟

12. 佐地 勉: 急性期川崎病の難治例に対する抗サイトカイン療法～その有用性と安全性について～. 第11回川崎病治療懇話会 (特別講演). 2007.9、大阪
13. 佐地 勉: 川崎病不応例への新規治療法. (特別講演) 第5回栃木県川崎病研究会. 2007.10、宇都宮
14. 佐地 勉: 川崎病は今! - 急性期・遠隔期治療そして原因は-. 第26回川崎病の子どもを持つ親の会総会記念講演会. 2007.9、東京
15. 佐地 勉: 急性期川崎病への IVIG の有用性再考 - 市販後使用成績調査 (PMS) の結果の解析も含めて (特別講演) -. 愛知川崎病フォーラム. 2007.11、名古屋

## F. 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