

Fig. 2 Schematic representation of mannan structure of *Candida* Clin. Microbiol. Rev. (1991) Nelson et al.

Table 4 Assignments of the NMR spectra of *Candida* cell wall mannan prepared by various culture conditions

| 1H (ppm) | 13C (ppm) | Contains | | | | Residue |
|----------|-----------|----------|-----|-----|-----|---|
| | | C27 | C37 | Y27 | Y37 | |
| 1 5.56 | 94.5 | | | ● | | Manβ1 → 2Manα1 → phosphate |
| 2 5.54 | 94.5 | | | ● | | Manβ1 → (2Manβ1) → 2Manα1 → phosphate |
| 3 5.39 | 100.9 | ● | ● | ● | ● | α1 → 2Manα1 → 3Manα1 → 2 |
| 4 5.39 | 100.9 | ● | ● | ● | ● | α1 → 2Manα1 → 3Manα1 → 2 |
| 5 5.30 | 100.5 | ● | ● | ● | ● | Manα1 → 2Manα1 → 2 |
| 6 5.29 | 100.9 | ● | ● | ● | ● | α1 → 2Manα1 → 2Manα1 → 2 |
| 7 5.25 | 100.9 | ● | ● | ● | ● | α1 → 3Manα1 → 2Manα1 → 2Manα1 → 2 16 Manα1 |
| 8 5.17 | 100.3 | | | ● | | Manβ1 → 2Manα1 → 2 |
| 9 5.15 | 100.3 | | | ● | | Manβ1 → (2Manβ1) → 2Manα1 → 2 |
| 10 5.15 | 102.5 | | | ● | | Manα1 → 3 |
| 11 5.14 | 102.5 | | | ● | | Manα1 → 3 |
| 12 5.13 | 98.4 | ● | ● | ● | ● | Manα1 → 3 |
| 13 5.11 | 98.5 | ● | ● | ● | ● | α1 → 6Manα1 → 6Manα1 → 6Manα1 → 6 12 Manα1 (→ 2Manα1) _n (→ 6Manα1 →) _n |
| 14 5.09 | 98.5 | ● | ● | ● | ● | Manα1 (→ 2Manα1) _n (→ 6Manα1 →) _n 12 Manα1 (→ 2Manα1) _n Manα1 → 2 |
| 15 5.05 | 102.5 | ● | ● | ● | ● | Manα1 → 2 |
| 16 5.04 | 102.4 | ● | ● | ● | ● | α1 → 3Manα1 → 2 |
| 17 4.95 | 101.2 | | | ● | | Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manα1 → 2 |
| 18 4.93 | 101.2 | | | ● | | Manβ1 → (2Manβ1) _n → 2Manα1 → 2 |
| 19 4.93 | 101.5 | | | ● | | Manβ1 → (2Manβ1) _n → 2Manα1 → 2 |
| 20 4.92 | 101.7 | | | ● | | Manβ1 → (2Manβ1) _n → 2Manα1 → 2 |
| 21 4.93 | 99.6 | | | ● | | Manβ1 → (2Manβ1) _n → 2Manα1 → 2 |
| 22 4.93 | 99.7 | | | ● | | Manα1 → 6 |
| 23 4.92 | 99.9 | ● | ● | ● | ● | Manα1 → 6 |
| 24 4.90 | 99.8 | ● | ● | ● | ● | Manα1 → (6Manα1) _n → 6Manα1 → 6 |
| 25 4.92 | 99.2 | | | ● | | Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manα1 → 2 |
| 26 4.87 | 99.2 | | | ● | | Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manα1 → 2 |
| 27 4.86 | 99.4 | | | ● | | Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manα1 → phosphate |
| 28 4.86 | 101.2 | | | ● | | Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manα1 → 2 |
| 29 4.84 | 101.2 | | | ● | | Manβ1 → 2Manβ1 → 2Manα1 → 2(3) |
| 30 4.79 | 98.9 | | | ● | | Manβ1 → 2Manα1 → 2 |
| 31 4.78 | 102.8 | ● | ● | | | |
| 32 4.74 | 103.2 | ● | ● | | | |
| 33 4.56 | 103.1 | ● | ● | | | |
| 34 4.53 | 103.3 | ● | ● | ● | ● | |

4. マウスに対するアナフィラキシー様ショック誘発活性の比較

Candida mannan の特徴的な生理活性の 1 つである、アナフィラキシー様ショック誘発活性について比較した。HWE-C27, HWE-C37 および HWE-Y37 は ICR マウスに対して、アナフィラキシー様ショックを誘発し、その LD₅₀ はそれぞれ、8 mg/kg, 8 mg/kg および 16 mg/kg であった (Table 5)。それに対し、HWE-Y27 は活性をほとんど示さなかった。これらの結果は、アルカリ抽

出物である AE でも同様であった (Table 6)。

Table 5 Ability of crude HWE to induce rapid anaphylactoid shock in ICR mice

| | Dose (mg/kg) | Anaphylactoid shock | | |
|---------|--------------|---------------------|---------------------|-----------|
| | | Incidence | Score ^{a)} | Mortality |
| HWE-C27 | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 4 | 2/4 | 2 | 0/4 |
| | 8 | 3/4 | 4 | 2/4 |
| | 16 | 4/4 | 4 | 3/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| HWE-C37 | 4 | 3/4 | 3-4 | 0/4 |
| | 8 | 3/4 | 4 | 2/4 |
| | 16 | 4/4 | 4 | 3/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| HWE-Y27 | 4 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 8 | 1/4 | 1 | 0/4 |
| | 16 | 2/4 | 1-4 | 1/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| HWE-Y37 | 4 | 3/4 | 2-3 | 0/4 |
| | 8 | 3/4 | 3-4 | 1/4 |
| | 16 | 4/4 | 4 | 4/4 |

Indicated dose (mg/kg) was i.v. administered to mice (n=4). Mortality was monitored within 1 hour. */*, number of mice, dead/total. a) The scoring of the shock was as follows: 0, no symptoms of shock; 1, staggering; 2, crawling and prostration; 3, prostration and weak convulsions; 4, prostration and strong convulsions.

Table 6 Ability of crude AE to induce rapid anaphylactoid shock in ICR mice

| | Dose (mg/kg) | Anaphylactoid shock | | |
|--------|--------------|---------------------|---------------------|-----------|
| | | Incidence | Score ^{a)} | Mortality |
| AE-C27 | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 4 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 8 | 3/4 | 1-4 | 1/4 |
| | 16 | 3/4 | 4 | 3/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| AE-C37 | 4 | 3/4 | 3-4 | 2/4 |
| | 8 | 3/4 | 4 | 3/4 |
| | 16 | 3/4 | 4 | 3/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| AE-Y27 | 4 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 8 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 16 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| AE-Y37 | 4 | 2/4 | 1-4 | 0/4 |
| | 8 | 3/4 | 1-4 | 1/4 |
| | 16 | 3/4 | 4 | 3/4 |

Indicated dose (mg/kg) was i.v. administered to mice (n=4). Mortality was monitored within 1 hour. */*, number of mice, dead/total. a) The scoring of the shock was as follows: 0, no symptoms of shock; 1, staggering; 2, crawling and prostration; 3, prostration and weak convulsions; 4, prostration and strong convulsions.

5. マウスに対する血管炎誘発活性の比較

種々の培養環境にて培養した菌体から得られた各々の細胞壁抽出物のマウスに対する血管炎誘発活性を検討した。HWE を腹腔

内投与した DBA/2 マウスの大動脈起始部の HE 染色像を Fig. 3 に示した. HWE-C27, HWE-C37 および HWE-Y37 を投与した群では, 血管内膜の肥厚や炎症性細胞の有意な浸潤が観察された. 一方, 興味深いことに HWE-Y27 投与群では全く病態が観察されなかった. これは, AE 投与群においても同様の傾向であった(data not shown).

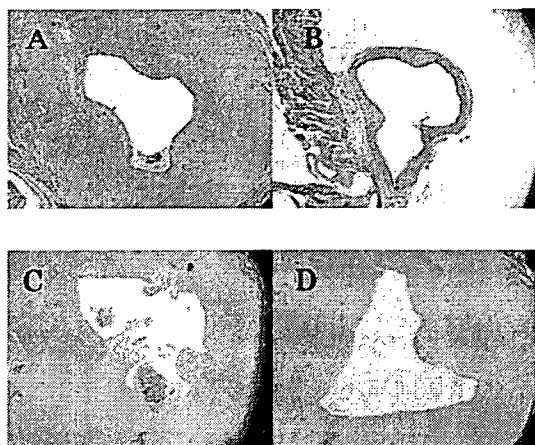


Fig. 3. Histological examination of hot water extracts-induced coronary arteritis in mice A; HWE-C27, B; HWE-Y27, C; HWE-C37 and D; HWE-Y37 (4 mg/mouse) were administered i.p. to DBA/2 mice for five consecutive days in the 1st week. Five weeks later, the hearts of DBA/2 mice were fixed in buffered formalin solution, embedded in paraffin, thin-sectioned, and stained with hematoxylin-eosin.

6. 活性を担う構造単位の検討

Candida mannan の中でも近年, その抗原性や病原性に深く関与していることが示唆されている acid-labile region の β -1,2-linked mannoooligosaccharide に着目し, マウス *in vivo* 生理活性への関与を検討した. まず, 希酸分解によりリン酸二結合を選択的に切断し, エタノール沈殿により acid-stable region である mannan と acid-labile region である β -1,2-linked mannoooligosaccharide に分離した. これを, ^1H NMR により確認したところ, 沈殿部分はリン酸二結合を介した

mannose 残基が完全に消失した acid-stable region, 上清部分は β -1,2-linked mannoooligosaccharide であった(Fig.4).

次に, この得られた HWE-Y27 の acid-stable region のマウスに対するアナフィラキシー様ショックを検討したところ, 活性はみられなかった(Table 7).

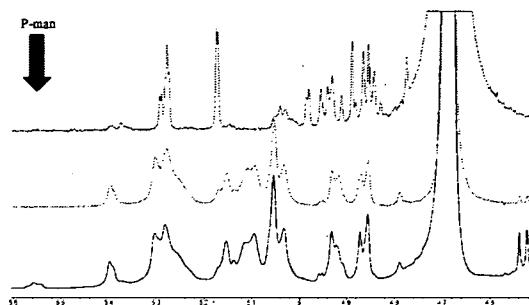


Fig. 4 Anomeric region of 1D- ^1H NMR spectra of mild acid hydrolyzed HWE-Y27

1D- ^1H NMR spectra of (upper; supernatant, middle; precipitate, lower; whole) mild acid hydrolyzed HWE-Y27. All spectra were recorded in D_2O at 310K using a Bruker Avance 500 spectrometer equipped with a TXI xyz-three gradient probe for 1H detection. Chemical shifts are reported in ppm relative to acetone- d_6 as an internal standard ($\delta_{\text{H}}=2.189$ ppm).

Table 7 Ability of mild acid hydrolyzed HWE to induce rapid anaphylactoid shock in ICR mice

| | Dose (mg/kg) | Incidence | Anaphylactoid shock | |
|-----|--------------|-----------|---------------------|-----------|
| | | | Score ^{a)} | Mortality |
| C27 | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 4 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 8 | 4/4 | 3-4 | 2/4 |
| | 16 | 4/4 | 4 | 3/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| C37 | 4 | 2/4 | 1 | 0/4 |
| | 8 | 4/4 | 2-4 | 1/4 |
| | 16 | 4/4 | 4 | 4/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 4 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| Y27 | 8 | 2/4 | 2-3 | 0/4 |
| | 16 | 3/4 | 3 | 0/4 |
| | 0 | 0/4 | 0 | 0/4 |
| | 4 | 2/4 | 2-4 | 1/4 |
| | 8 | 3/4 | 2-4 | 2/4 |
| Y37 | 16 | 3/4 | 3-4 | 1/4 |

Indicated dose (mg/kg) was i.v. administered to mice (n=4). Mortality was monitored within 1 hour. */*, number of mice, dead/total. a) The scoring of the shock was as follows: 0, no symptoms of shock; 1, staggering; 2, crawling and prostration; 3, prostration and weak convulsions; 4, prostration and strong convulsions.

D. 考案

C. albicans の細胞壁 mannan が培養環境、すなわち、温度だけでなく培地成分によっても劇的に構造の rearrangement を起こしていることを明らかにした。

熱水抽出により得られた *Candida* 細胞壁抽出物は、マウスに対して急性のアナフィラキシー様ショックおよび血管炎を惹起した。興味深いことに、YPD 培地、27 °C で培養した菌体 (Y27)由来細胞壁抽出物のみが、これらの生理活性を有していないことが明らかとなった。Y27 の細胞壁抽出物には他の細胞壁抽出物にはない、 β -mannan が特異的に発現されていたことから、 β -mannan が血管炎やアナフィラキシー様ショック誘発に対して負に作用していることが考えられた。そこで、希酸分解により、Acid-labile region の β -mannan を除去したが、活性はみられなかった。これらのことから、Acid-stable region 中に存在する β -mannan が活性に対して負に作用していることが考えられた。すなわち、これらの活性は mannan recognition molecule を介し、 α -mannan の認識により分子イベントが起こっていると考えられた。活性のある抽出物と、活性のない抽出物の間には、本研究において α -mannan 構造に相違は見られず、両者の違いが α -mannose 残基の非還元末端に結合した β -1,2-mannose 残基に顕著であったことから、この非還元末端に対して β -1,2-mannose 残基が付加することにより、mannan lectin による認識が出来なくなる、すなわち、 β -1,2-mannose 残基によりマスクされてしまっていることに起因することが推察された。しかしながら、各種抽出物と mannan lectin とのアフィニティー解析、並びに、

β -1,2-mannan による直接的な負の作用の可能性についてはさらなる研究が必要である。

E. 結論

近年、病原性の高い酵母にのみ発現しているといわれる β -1,2-linked mannan が、宿主細胞への接着、サイトカイン産生などのような、菌の持つ病原性を担うとする報告が多数なされている。この β -1,2-linked mannan は代表的な mannan 受容体では認識されない。しかしながら、近年、この β -1,2-mannan に対する受容体として galectin-が同定され、mannan の持ついくつかの生理活性に寄与するという報告がある。 β -1,2-linked mannan は、mannan の持つ病原性に深く関与するとされているが、本研究においては、この糖鎖の存在が血管炎や急性ショックに対して負の影響を与えていることが明らかになった。さらに、この影響は培養環境の違いに起因するものであった。一般的に、病原性の多くを担うとされる β -1,2-mannan の存在により、活性が負に調節されていることは非常に興味深い。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Tada R, Nagi-Miura N, Adachi Y, Ohno N, The influence of culture conditions on vasculitis and anaphylactoid shock induced by fungal pathogen *Candida albicans* cell wall extract in mice, *Microb Pathog*, (2007). Epub 2007 Nov 9.

(2) Tada R, Nagi-Miura N, Adachi Y, Ohno N, An unambiguous assignment and structural analysis using solution NMR experiments of O-antigen from *Escherichia coli* ATCC23505 (Serotype O9), *Chem Pharm Bull*, 55, 992-995, (2007).

(3) Ohno N, A murine model of vasculitis induced by fungal polysaccharide, *Cardiovascular & Hematological Agents in*

Medicinal Chemistry, 6, 44-52 (2008).

(4) Tada R, Harada T, Nagi-Miura N, Adachi Y, Nakajima M, Yadomae T, Ohno N, NMR characterization of the structure of a beta-(1->3)-D-glucan isolate from cultured fruit bodies of *Sparassis crispa*, *Carbohydr Res*, 342, 2611-2618 (2007).

(5) Nagi-Miura N, Shingo Y, Kurihara K, Adachi Y, Suzuki K, Ohno N, Involvement of platelet activating factor, histamine and serotonin in acute lethal shock induced by *Candida albicans* water-soluble extracellular polysaccharide fraction (CAWS) in mice, *Biol Pharm Bull*, 30, 1354-1357 (2007).

(6) 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, 551-566 (2007).

(7) Ishida-Okawara A, Nagi-Miura N, Oharaseki T, Takahashi K, Okumura A, Tachikawa H, Kashiwamura S, Okamura H, Ohno N, Okada H, Ward PA, Suzuki K, Neutrophil activation and arteritis induced by *C. albicans* water-soluble mannoprotein-beta-glucan complex (CAWS), *Exp Mol Pathol*, 82, 220-226 (2007).

(8) Okada N, Asai S, Hotta A, Miura N, Ohno N, Farkas I, Hau L, Okada H, Increased Inhibitory Capacity of an Anti-C5a Complementary Peptide Following Acetylation of N-terminal Alanine, *Microbiol Immunol*, 51, 439-443 (2007).

2. 学会発表

(1) 多田 壘, 三浦典子, 安達禎之, 大野尚仁, 培養環境変化による病原性真菌 *Candida albicans* 細胞壁多糖の血管炎形成および急性致死活性への影響, 第 27 回日本糖質学会年会, 福岡, 2007

(2) 高野雄介, 駒井元彦, 新井美紀, 三浦典子, 安達禎之, 大野尚仁, Bruton's tyrosine kinase 欠損マウスにおける CAWS 血管炎感受性の検討, 第 77 回東京医科大学・東京薬科大学・免疫アレルギー研究会, 東京, 2007

(3) 高野雄介, 新井美紀, 三浦典子, 安達禎之, 鈴木和男, 大野尚仁, *Candida* spp. 由来水溶性画分の調製と免疫毒性の検討, 第 13 回 MPO 研究会, 広島, 2007

(4) 三浦典子, 安達禎之, 大野尚仁, CAWS 血管炎惹起の分子メカニズム, 第 51 回日本

医真菌学会総会, 岐阜, 2007

(5) 三浦典子, 駒井元彦, 高野雄介, 安達禎之, 鈴木和男, 大野尚仁, CAWS 血管炎発症制御機構の検討, 第 37 回日本免疫学会総会, 東京, 2007 .

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特になし

自己免疫疾患患者の血液細胞における遺伝子発現解析

分担研究者 野島 博 大阪大学微生物病研究所 教授

研究要旨：高用量ヒト免疫グロブリン静注療法 (IVIG) は特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) などの自己免疫疾患に対する有効な治療のひとつであるが、その仕組みは不明である。本研究では、その理解の手段として、幾つかの自己免疫疾患患者由来の血液細胞で特異的に転写誘導（抑制）されている遺伝子群を包括的に同定して、その疾患との関連を調べてきた。対象とした自己免疫疾患は ITP などとの比較のために慢性関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)、顕微鏡的多発血管炎(MPA)、高安動脈炎(TA)、ウエゲナー肉芽腫症 (WG)、チャグ・シュトラウス症候群(CSS)などである。本年度は、各疾患特異的な遺伝子発現診断マーカーの探索を進めた。そのため、まず健常人血液細胞 (PBMC: peripheral blood mononuclear cells) 特異的に転写誘導される遺伝子群 (PREP) を包括的に単離し、DNA マイクロアレイ解析により、CSS 患者について詳細に調べ、いくつかの CSS 特異的に転写誘導（抑制）される PREP 遺伝子を同定する事ができた。

A. 研究目的

自己免疫疾患血液細胞で過剰に転写されている遺伝子群を包括的に単離することにより、自己免疫疾患の発症に深く関わっている遺伝子を見出して解析することで、IVIG 治療の有効性の原因を解明することを目的とする。さらに単離した遺伝子の転写レベルを個々の患者で調べることで病態との関連付けを行うことも目的とするとともに、確定診断の難しい自己免疫疾患においては、それらの発現パターンが診断のマーカーとなる可能性を探る。

B. 研究方法

独自に開発した段階的サブトラクション法（多段差引法）あるいは DNA チップ解析

(Agilent, Hu44K) を用いて、自己免疫疾患優位に転写誘導（抑制）されている遺伝子群を単離・同定した。こうして単離・同定した遺伝子の幾つかについては、個々の患者より抽出した RNA を用いたリアルタイム PCR (ABI: PRISM 7900HT-2) によって、患者ごとの転写量を測定した。

一方、将来の選抜アレイによる簡易型血液 RNA 診断法の構築のために、健常人の血液細胞特異的に発現されている遺伝子群 (PREP: **P**redominantly expressed in **P**BMC) を並行して単離した。またこれらの遺伝子の働きを細胞レベルで解析するために、分子細胞生物学的な技術を使った様々な実験系を立ち上げると共に (1)、分子遺伝学的解析が迅速に進められる酵母を用いた実験

系も併用することを目指して技術的な基盤を保持した (2)。

対象とした自己免疫疾患を以下に列挙する：慢性関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)、自己免疫性血小板減少性紫斑病 (ITP)、顕微鏡的多発血管炎(MPA)、高安動脈炎(TA)、ウエゲナー肉芽腫症(WG)、チャージ・シュトラウス症候群(CSS) 悪性関節リウマチ(MRA)、側頭動脈炎(GCA)、バージャー病(BD)、結節性多発動脈炎(PN)。

(倫理面への配慮)

部局で倫理委員会の承認を受けるとともに、健常人および患者の血液採取は全て書面によるインフォームド・コンセントをとることで倫理面に配慮した。本研究計画では遺伝子の発現量を検索するだけで塩基配列の違いを比較する訳ではないので、いわゆるゲノム倫理面の問題はないと考えられ、実際にゲノム倫理委員会でもそのような判断がなされたが、念のため規則に準じた扱いをした。

C. 研究結果

まず多段差引法および DNA チップ解析 (Agilent, Hu44K) を用いて、健常人の血液細胞 (PBMC) の発現しているが対照としたヒト初代培養細胞 (TIG-1) には発現が検出できない遺伝子を 290 種類単離し、PREP1~PREP290 と包括的に命名した (3)。最終的な判定は、患者血液から抽出した RNA を混合し、それを cDNA 化したサンプルをテンプレートとした RT-PCR 法によって行った。このうち、発現レベルの再現性チェックに合格したものだけを採用した。ノーザンブロット解析で検出できるほど発現量の多いものについてはその結果も参考

にした。

このうち、PREP1~PREP50 の 50 個の遺伝子は機能未知な新規遺伝子であった。ついで、これら 290 個の PREP 遺伝子群が CSS 患者の血液細胞において健常人と比べてどのような遺伝子発現の挙動を示すかについて DNA マイクロアレイを用いて解析した。その結果、調べた 7 例の患者全員で転写誘導 (抑制) している遺伝子が 33 個 (3 個) 見つかった。そのうち、とくに *PREP135* (coactosin-like protein), *PREP77* (prosaposin), *PREP191* (cathepsin D), *PREP234* (*c-fgr*), *PREP136* (lysozyme) はとくに顕著に発現が亢進していた。

PREP135 がコードする coactosin-like protein (CLP) は F-actin とともにプロスタグランディンの生成を制御する事で炎症の発症に関わる 5-lipoxygenase (5LO) にも結合する。*PREP77* がコードする prosaposin はスフィンゴ脂質 (長鎖アミノアルコールを基本骨格とするスフィンゴシンに 1 つの脂肪酸が結合したものであり) 活性化タンパク質サポシン (saposin A, B, C, and D) の前駆体であり、リゾゾームによるスフィンゴ脂質の分解に必要とされる。*PREP191*, がコードするリゾゾームに存在するタンパク質分解酵素である w cathepsin D (CTSD) はサポシン前駆体 (prosaposin) の分解に関わる。*PREP234* がコードする FGR (Gardner-Rasheed feline sarcoma viral oncogene homolog : *c-fgr*) はリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) により誘導されるマクロファージの活性化に重要な細胞内シグナル伝達因子である。リポ多糖とはグラム陰性菌の主に桿菌で細胞壁表層にある脂質と多糖の複合体である。

PREP136 がコードするリゾチーム（溶菌酵素）は細菌の細胞壁を構成する多糖類を加水分解する酵素である。

総括すると、これらの PRPE 遺伝子の発現亢進は感染体（細菌）のフィンゴ脂質分解酵素の活性化が起こったり、細菌の細胞壁を分解したりして感染した細菌を撃退した戦いの名残かもしれない。CSS における自己免疫反応はその後に起きた可能性を示唆する。

D. 考察

PRPE 遺伝子の検索を基盤とした遺伝子発現解析による血液 RNA 診断の試みは、CSS において細菌感染との患者免疫システムの戦いの跡を浮かび上がらせたという意味で、非常に大きな意義がある診断法であると考えられる。このほか、まだ説明の付いていない 26 個の（あるいは 3 個の）CSS 特異的に転写誘導（抑制）している遺伝子の機能を推測してゆく段階で、CSS の発症メカニズムが解明されてゆくと期待される。さらには、我々が開発この手法は他の自己免疫疾患発症メカニズムの解析にも役立つと考えられる。今後は IVIG 治療の前後における血液を採取して同様の解析を進めることも検討したい。

E. 結論

ここで進めた血液 RNA 診断の試みは今後の自己免疫疾患の確定診断用遺伝子マーカーの探索と自己免疫疾患発症機序の遺伝子レベルでの研究のみでなく、IVIG 治療の有効性に対する分子メカニズムの解明への足がかりとして役立つことが示唆される。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yabuta, N., Okada, N., Ito, A., Hosomi, T., Nishihara, S., Sasayama, Y., Fujimori, A., Okuzaki, D., Zhao, H., Ikawa, M., Okabe, M., Nojima, H. Lats2 is an essential mitotic regulator required for the coordination of cell division. *J. Biol. Chem.*, 282(26):19259-71, 2007.
- (2) Ohtaka, A., Okuzaki D, Nojima H. Mcp4, a meiotic coiled-coil protein, plays a role in F-actin positioning during *Schizosaccharomyces pombe*. *Eukaryot Cell*, 6(6): 971-983, 2007.
- (3) Tougan T, Onda H, Okuzaki D, Kobayashi S, Hashimoto H, Nojima H. Focused microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells from Churg-Strauss syndrome patients. *DNA Res.*, 1(1): 1-12, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願

- (ア) 血管炎（angiitis）患者の血液細胞特異的遺伝子群（特願 2005-161681）【発明者】野島 博、恩田弘明、橋本博史、小林茂人、鈴木和男【出願者】科学技術振興機構、大阪大学知財部【審査請求日】近日中に審査請求予定（請求期限：2008 年 6 月 1 日）。
- (イ) 自己免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）患者の血液細胞特異的遺伝子群（特願 2005-306409）【発明者】野島 博、恩田弘明、富山佳昭【出願者】科学技術振興機構、大阪大学知財部。【審査請求日】近日中に審査請求予定（請求期限：2008 年 10 月 20 日）。
- (ウ) 慢性関節リウマチに罹患したヒト由来の骨髓又は末梢血細胞で特異的に発現亢進している遺伝子群（特願 2006-274629）【発明者】野島博、越智隆弘【出願者】大阪大学知財部【審査請求日】近日中に審査請求予定。

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

炎症性疾患発症における好中球機能異常の影響に関する研究

分担研究者： 荒谷康昭 横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 教授

研究要旨：食細胞 NADPH-オキシダーゼのノックアウトマウス(CGD マウス)の肺にザイモザンを投与すると、CGD マウスは野生型マウスよりも重篤な肺炎を誘発した。肺に浸潤した細胞のほとんどは好中球であった。すなわち、好中球や単球からのスーパーオキシド産生が欠如すると、菌体成分で誘発される好中球性の肺炎を誘発しやすくなることが明らかになった。

A. 研究目的

食細胞 NADPH-オキシダーゼは、好中球や単球に存在し、病原体感染時に活性化し、酸素からスーパーオキシドを産生して殺菌に働く。血管炎等の炎症誘発における生体内活性酸素の影響を個体レベルで知るために、この酵素に焦点を絞り、このような好中球の機能異常をもったノックアウトマウス(CGD マウス)の炎症病態の解析を実施した。

B. 研究方法

実験には 8-10 週令の雌マウスを使用した。C57BL/6 マウス（野生型マウス）は日本 SLC から購入した。CGD マウスは、Dr. M. Dinuer（米国インディアナ大学）より供与を受け、C57BL/6 マウスに戻し交配したマウスを用いた。マウスは、横浜市立大学木原生物学研究所動物実験指針に準じて飼育管理した。

炎症誘発剤として使用したザイモザンは、

市販粉末をリン酸緩衝液にけん濁し、これを麻酔を施したマウスに経鼻投与した。投与後、1 日目から 6 日目の肺の解剖像を観察するとともに、その組織切片を HE 染色して炎症領域を計測した。また、気管支および肺胞中に集積した炎症細胞を肺胞洗浄によって回収し、細胞数を測定した。さらに、白血球表面抗原の抗体を用いたフローサイトメトリーにより、集積した細胞種を同定した。

（倫理面への配慮）

実験動物は、動物の保護及び管理に関する法律に準じて扱い、必要最小限の動物を使用した。やむをえず動物を殺さなければならない場合には、その動物に苦痛を与えない頸椎脱臼法またはエーテル麻酔法によって安楽死させた。

C. 研究結果

野生型マウスおよび CGD マウスにザイ

モザンを投与すると、野生型マウスは1日後にすでに全肺葉のおよそ一割程度に炎症が認められた。しかし、その後6日目までほぼ同程度の炎症が持続し、それ以上の進行は見られなかった、一方、CGDマウスの炎症は、投与後1日目から6日目まで経時的に重篤化し、6日目には胚全体のおよそ7割を占める領域に炎症像が観察された(図1)。

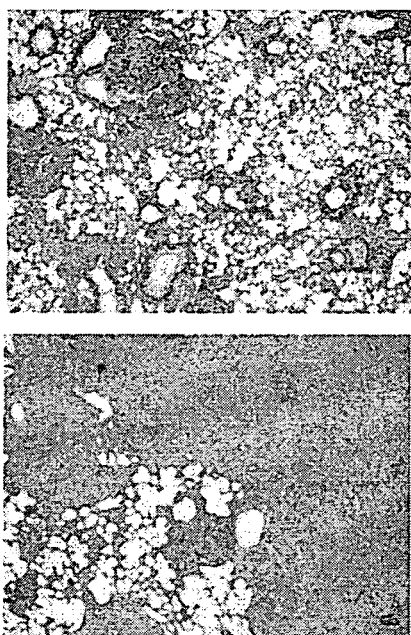


図1. ザイモザン投与6日目の野生型マウス(上段)とCGDマウス(下段)の肺のHE染色像

投与後6日目のマウス肺から肺胞洗浄によって回収された細胞数は、野生型マウスがおおよそ400万個であったのに対し、CGDマウスではその5倍以上の細胞が回収された。また、ザイモザンを投与していない対照群では、回収された細胞のおよそ9割がマクロファージであったのに対し、ザイモ

ザン投与6日目では、いずれのマウスにおいても8割以上が好中球であることが判明した。マクロファージはわずかに集積していることが確認されたが、Tリンパ球やBリンパ球の集積はほとんど認められなかった。以上の結果より、CGDマウスの方が野生型マウスより、ザイモザンで誘発される好中球性肺炎が早期に重篤になることが明らかとなった。

D. 考察

好中球あるいは単球からのスーパーオキシド産生を欠如する好中球機能異常マウスは、野生型マウスよりもザイモザン誘発性肺炎が重篤化することが示された。この好中球単球機能異常マウスの肺患部には、好中球がより早期にしかもより多量に浸潤することから、浸潤した好中球が炎症の進行に関与していることが示唆された。好中球はMMP-9などのプロテアーゼを産生するので、活性酸素産生を欠如する好中球機能異常マウスでは、プロテアーゼ類により炎症がさらに進行し、肺組織の傷害を高めている可能性が高いと考えられる。

今後、CGDマウスが早期に重篤な肺炎を発症するメカニズムを追求して真の発症機構を知ることは、炎症疾患の適切な評価系として確立するために不可欠な研究であると考えられる。

E. 結論

好中球からのスーパーオキシド産生を欠如する好中球機能異常マウスは、ザイモザンの肺投与によって重篤な肺炎を発症することが判明した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matthijsen, R.A., Huugen, D., Hoebbers, N.T., Vries, B., Peutz-Kootstra, C. J., Aratani, Y., Daha, M.R., Tervaert, J. W. C., Buurman, W. A., and Heeringa, P: Myeloperoxidase is critically involved in the induction of organ damage following renal ischemia reperfusion. *Am. J. Pathol.* 171, 1743-1752 (2007)

2. 学会発表

1. Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Takano, Y., Okawara, A., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H: Contribution

of myeloperoxidase to host defense against pulmonary and systemic infections with *Cryptococcus neoformans*. The 5th international Peroxidase Meeting, New Zealand (2007).

2. 荒谷康昭、瀬田玄樹、梅木 祐、西川 なつき、鈴木和男：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのザイモザンによる肺炎の誘発 第13回MPO研究会、2007年10月、広島
3. 長尾朋和、松村実美子、荒谷康昭、星野昭芳、山本健二、中山俊憲、南谷晴之、鈴木和男：MPO-ANCAによる糸球体内皮細胞の活性化、第13回MPO研究会、2007年10月、広島

好中球接着因子 Mac-1 の血管炎における機能の解析

分担研究者 平橋 淳一 東京大学医学部附属病院腎臓内分泌内科 助教

研究要旨：好中球依存性血栓性糸球体腎炎モデルを新規に構築し、好中球機能制御に重要な接着因子 Mac-1 とエラスターゼの機能を解析した。

A. 研究目的

好中球は phagocyte として自然免疫系の第一線として機能する一方、敗血症、重症肺炎、血管炎や腎炎においては臓器障害の担い手となる。これらの病理組織においては、炎症細胞浸潤に加え、血栓と出血という一見相反する現象が同居することがある。この現象を、好中球の cytotoxicity による血管整合性の破壊という観点から眺める。血栓と出血が臓器障害をもたらす系として thrombohemorrhagic glomerulonephritis マウスモデルを構築し、好中球機能制御に重要な役割を有する白血球接着因子 Mac-1 あるいは好中球エラスターゼ(NE)の遺伝子欠損マウスを用いて病態の表現型とそのメカニズムの検索を行う。

B. 研究方法

本研究では、ウサギ抗糸球体基底膜抗体および LPS を WT (C57B6/j) マウスあるいは Mac1 KO (C57B6/j background) マウスの尾静脈から静注することにより、96 時間後に著しい糸球体内微小血栓の形成と急性腎不全 (BUN>100mg/dl) を呈するモデルを構築した。このモデルの血球依存性を検討するため、血球表面抗原に対する抗体を用いた

immunodepletion 法を採用した。好中球を除去するため抗 Gr-1 抗体を、血小板を除去するため抗 GPIb α 抗体をそれぞれ抗糸球体基底膜抗体投与の前に静注した。糸球体内血栓は PAS 染色、フィブリン沈着は PTAH 染色、糸球体内浸潤好中球は esterase 反応を用いて評価した。末梢血の血算、生化学検査 (BUN, Cr, LDH) は三菱化学に委託した。血清中の 32 種類のサイトカイン測定は Bio-Rad の Bio-Plex システムを用いて行った。

C. 研究結果

この腎炎モデルは糸球体内血栓と血尿、急性腎不全および血小板減少を呈し溶血性尿毒症症候群(HUS)に酷似する。この病変は抗 Gr-1 抗体による好中球除去により抑制されることから好中球に依存することがわかった。Mac1 KO マウスでは生化学検査において、腎機能障害 (BUN, Cr) および非特異的組織傷害マーカーである LDH の上昇が顕著に抑制された。血液学的には WT で顕著に認められる血小板減少が Mac1 KO では有意に抑制されたが、末梢血好中球数に有意差を認めなかった。組織学的には糸球体内血栓形成がほぼ完全に抑制され、フィブリン

沈着、好中球の糸球体内への浸潤の抑制を認めた。また、好中球エラスターゼ(NE)欠損マウスでは Mac-1 KO マウスとほぼ同様の表現型を示した。さらに、血漿中のフィブリンのエラスターゼによる分解産物 (e-XDP) の産生はこの腎炎モデルにおいてWTと比して Mac-1 KO では少なかった。このことは、エラスターゼの活性が *in vivo* でも Mac-1 により制御されていることを示している。しかしながら、Mac-1 KO マウスでは血清中および腎臓組織中のサイトカインプロファイルはほぼWTマウスと同様であった。このことは、Mac-1 はサイトカイン/ケモカイン誘導より下流に位置する決定的因子であることを示唆する。また、抗 GPIIb/IIIa 抗体によりWTマウスの血小板を除去すると予想に反して腎炎の病態は著しく増悪し致死的となった。一方、Mac-1 KO マウスの血小板を除去してもなんら腎炎の抑制に影響を及ぼさなかった。

D. 考案

本実験における血栓性腎炎モデルは好中球依存性のモデルで、白血球接着因子 Mac-1 と NE が血栓性腎炎病態形成に決定的役割を持つことを示したはじめてのデータである。さらに、Mac-1 はサイトカイン/ケモカイン誘導の下流に位置し、NE 活性を制御することが判明した。本実験でのさらに興味ある結果は、血小板除去が病態を著しく悪化させたことである。このメカニズムについては、好中球活性化による初期の血管障害による出血病変に対して、血小板が集積して止血機序を発揮している可能性が示唆される。血小板が除去されると、この止血機序が働かず、血管整合性の破壊につながるのではないかと予測される。血小板の炎

症性疾患における臓器保護的機能の報告はほとんどないことから新しい知見であると考える。

E. 結論

好中球依存性の血栓性腎炎モデルにおいて Mac-1 は NE 活性を制御することにより病態形成に決定的な役割を果たしており、治療の標的として重要な位置を占める。

G. 研究発表

1. 論文発表
現在、投稿中。
2. 学会発表
特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

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

千葉大

人工血液製剤を試作

炎症治療向け 感染リスク回避

千葉大学の鈴木和男教授らの研究チームは、炎症の治療に使う血液製剤「免疫グロブリン」を人工的に作り出す技術を開発した。人の血液から作り出す必要がなく、C型肝炎ウイルス(HCV)や未知のウイルスなどの感染を防げる。全身の動

脈に炎症を起こす「川崎病」のモデルとなる動物で実験したところ、従来品と同程度に症状を抑えられた。来年度からの臨床試験を目指す。

人を血液から採り出した抗体の遺伝子を取り出して増幅し、一千万種以上の遺伝子を集めた。それを食いつめることができた。使用する製剤の濃度を十分の一にしても効果が出た。今後、動物での毒性試験などを進めて安全性を確かめる。

▼川崎病 急に高熱が出て発疹(ほっしん)や手足の腫れなどの症状が出る。主に四歳児以下の乳幼児がかかる。ひどい場合は心臓の冠動脈が炎

症を起こして急性心筋梗塞(こうそく)で突然死することもある。免疫グロブリンの投与で血管が詰まるのを防ぐ治療法が普及し、死亡例は急減した。

れを大腸菌に入れてさまざまな抗体を作らせる。不要なたんばく質を取り除いてから大腸菌由来の毒素を取り除く。

試作した人工免疫グロブリンを川崎病のモデルマウスに投与した。市販の免疫グロブリンと同程度の五割のマウスで炎症を食いつめることができた。使用する製剤の濃度を十分の一にしても効果が出た。今後、動物での毒性試験などを進めて安全性を確かめる。



来年度からの臨床試験を目指すし、血液製剤会社など三十三社と協議を進めている。

血液製剤は人の血液から作るため未知のウイルスなどの感染リスクがつ

きまとう。人工的に作り出すことができれば安全性を確保できると期待されている。

免疫グロブリンは抗炎症剤。川崎病の治療になくはならない薬で、血管炎の治療などにも使われる。鈴木教授は「炎症がひどくなった患者に有効。新型インフルエンザなどの治療にも役立つのではないか」と話している。

資料—2 第1回班会議

厚生労働科学研究費補助金 創薬基盤推進研究事業：政策創薬総合研究

血管炎のための人工ポリクローナル免疫グロブリン製剤の開発と安全性確保に関する研究

平成19年度第1回班会議

会場：千葉大学附属病院 第一講堂(7月13日)

千葉大学医学部 第二講義室(7月14日)

7月13日(金)

17:30—18:00

開催にあたって

鈴木和男(国立感染症研)

18:00—19:45

人工ガンマグロブリンと遺伝子解析

オーバービュー：免疫グロブリン人工化にむけて

鈴木和男（千葉大学院医学研究院 免疫発生学・炎症制御学、国立感染症研究所）

人工ポリクローナル免疫グロブリンの開発

古谷昌弘¹、大野尚仁²、高橋啓³、亀岡洋祐⁴、鈴木和男⁵

¹積水化学工業 メディカル開発センター、²東京薬科大・薬・免疫、³東邦大・医・大橋、

⁴医薬基盤研究所・遺伝子資源、⁵千葉大院医・免疫発生・炎症制御

MPO リーダーペプチドは好中球顆粒に局在する

¹亀岡洋祐、⁶笠間 毅、³鈴木哲朗、⁴猪原登志子、⁵武曾恵理、¹橋本雄之、²鈴木和男

医薬基盤研・遺伝子資源¹、千葉大院医・免疫発生・炎症制御²、

国立感染症研・ウイルス³、京大・院医⁴、北野病院⁵、昭和大・医⁶

血管炎患者の末梢血細胞で特異的に転写誘導されている遺伝子群の単離と機能解析

野島 博（大阪大学微生物病研究所）

19:45—20:15 休憩

20:15—21:00 特別講演 小川道雄（熊本労災病院）

21:00—21:30 まとめ 直江史郎（桐蔭横浜大学）

7月14日(土)

9:00-10:40

血管炎の臨床、モデル動物、発症機構

臨床

オーバビュー: 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

武曾恵理¹、宇野賀津子²、猪原登志子^{1,2,3}、古宮俊幸¹、鈴木和男⁴

¹財) 田附興風会医学研究所北野病院腎臓内科、²財) ルイ・パストゥール医学研究センター、
³京都大学大学院医学研究科循環病態学、⁴国立感染症研究所生物活性物質部

Bovine serum albumin(BSA)誘導腎炎における CD69 の関与

湯村和子 (自治医科大学・腎臓内科)

鈴木和男 (千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学・炎症制御学)

中山俊憲 (千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学)

抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎の本邦・欧州間での臨床疫学調査および診断薬と
治療法開発に関して

小林茂人 (順天堂大学附属順天堂越谷病院)

大量ガンマグロブリン療法を行った ANCA 関連腎炎4症例と血漿交換を行った1症例の比較検討

長澤康行、今井圓裕 (大阪大学大学院医学系研究科老年・腎臓内科)

大量 γ グロブリン療法が有効であった PR3-ANCA 陽性、全身性エリテマトーデスの1例

萩原 正大、田中 宏明、荒川 洋、清水 芳男、臼井 丈一、平山 暁、斎藤 知栄、
楊 景堯、山縣 邦弘 (筑波大学大学院人間総合科学研究科 臨床医学系腎臓内科)

10:40-11:10 休憩

11:10-11:50

MPO-ANCA 関連血管炎における腎組織病変の検討—MPO の局在と糸球体毛細血管障害

川嶋 聡子、有村 義宏、中林 公正、山田 明 (杏林大学第一内科)

ウェゲナー肉芽腫症の4例

山西 裕司¹、小林 茂人²、長尾 朋和³、鈴木 和男³、岡崎 富男⁴

¹広島市民病院 リウマチ・膠原病科、²順天堂大学附属順天堂越谷病院内科、

³千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学・炎症制御学、⁴広島市民病院 小児科

11:50-12:40

基礎

オーバビュー: 難治性血管炎制御を指向した人工グロブリン開発のための基礎的アプローチの到達点
大野尚仁 (東京薬科大学)

オーバビュー: 冠状動脈瘤破裂の一急性期川崎病剖検例

高橋 啓¹、大原関利章¹、横内 幸¹、直江史郎¹、小泉ひろみ²、提嶋真人³

¹東邦大学医療センター大橋病院病理部、²市立秋田総合病院小児科、³同臨床病理科

12:40-13:10 昼食

13:10-16:10

好中球機能異常マウスの zymosan による炎症の誘発

荒谷康昭 (横浜市立大学)

In vitro 評価系: ヒト免疫細胞への人工グロブリンの影響

三浦典子¹、宇野賀津子²、長尾朋和³、大野尚仁¹、鈴木和男³
¹東京薬科大学薬学部、²ルイ・パストゥール医学研究センター
³千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学・炎症制御学

実験的自己免疫性心筋炎における IL-17 関連蛋白遺伝子発現変化の検討

塙 晴雄、常 賀、吉田 剛、林 学、劉 慧、丁 立民、吉田香織、加藤公則、
鳥羽 健、小玉 誠、相澤義房(新潟大学大学院医歯学総合研究科 循環器分野)

好中球自己抗体による糸球体内皮細胞の直接的活性化

長尾朋和¹、松村実美子²、荒谷康昭³、星野昭芳⁴、山本健二⁴、
南谷晴之²、鈴木和男¹
¹千葉大院医・免疫発生学・炎症制御学、²慶大・院・理工学研究科、
³横浜市大・木原生研、⁴国立国際医療センター

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

宇野賀津子¹、猪原登志子^{1,2}、藤田哲也¹、鈴木和男³、武曾恵理²
¹ルイ・パストゥール医学研究センター ²財団法人田附興風会北野病院医学研究所・腎臓
内科 ³千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学・炎症制御学

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

小野孝彦¹、日浅俊介¹、上村和秀¹、雑賀寛²、猪原登志子³、武曾恵理³、
大川原明子⁴、鈴木和男⁵
¹静岡県立大・分子病態解析学、²日本化薬、³北野病院・腎内、
⁴国立感染研・生物活性、⁵千葉大学院医 免疫発生学・炎症制御学

16:10-16:20 休憩

16:20-16:50

トピックス

インフルエンザ流行伝播シミュレーションと対策: 東京郊外の流行と学級閉鎖, 交通遮断, ワクチン

安田英典 (城西大学)

16:50-17:50

新しいイメージングツールとしてのハイブリッド QD(ナノ粒子)の開発

オーバビュー: 超臨界法を用いたイメージング用ナノ粒子合成 - 診断・DDS・治療にむけて -

阿尻雅文 (東北大学多元研究所)

生理活性タンパク質の Qdot 標識法および in vivo 観察法の検討

川西 徹¹、鈴木琢雄¹、大幡久之²、宮崎拓郎²

¹国立医薬品食品衛生研究所、²昭和大学 薬学部

高精度の光学顕微鏡で微細な構造をみる - 光学顕微鏡による数十 nm 程度の現象の観察 -

加藤 薫, 三好洋美, 戸高玲子, 白川彩弓

(産業技術総合研究所 脳神経情報研究部門)

バイオナノカプセルを用いたピンポイント DDS のバイオイメージング解析

近藤昭彦 (神戸大学院工学研究科)

17:50-18:00 Closing

岡崎富男 (広島市民病院)

橋本博史 (順天堂大学)

平成19年度厚生労働科学研究費補助金政策創薬総合研究推進事業

研究成果発表会

安全なガンマグロブリン製剤開発
人工ガンマグロブリン
プログラム

2008年1月18日(金)

千葉大学医学部附属病院第一講堂

I. Symposium

13:00-13:10

1. 開催にあたって

鈴木和男(国立感染研、千葉大学院医学研究院免疫発生学・炎症制御学)

13:10-13:20

2. わが国の血液製剤の供給と法規制

厚生労働省血液対策課 担当官

13:20-14:10

3. 人工免疫グロブリン開発の現状

座長:荒谷康昭(横浜市立大学大学院 国際総合科学研究科)

3-1 人工ポリクローナル免疫グロブリンの開発

古谷昌弘¹、大野尚仁²、高橋啓³、亀岡洋祐⁴、鈴木和男^{5,6}

¹積水化学工業 メディカル開発センター、²東京薬科大・薬・免疫、³東邦大・医・大橋病院、

⁴医薬基盤研究所・遺伝子資源、⁵国立感染研、⁶千葉大院医・免疫発生学・炎症制御学

3-2 人工ガンマグロブリンの *in vivo* と *in vitro* での評価

大野尚仁、三浦典子(東京薬大)、長尾朋和(千葉大院医)、

宇野賀津子(ルイパスツール医学研)、鈴木和男(国立感染研、千葉大院医)

3-3 MPO-ANCAの直接的作用による糸球体血管内皮細胞の活性化

長尾朋和¹、松村実美子²、荒谷康昭³、星野昭芳⁴、山本健二⁴、中山俊憲¹、南谷晴之²、
鈴木和男¹

(¹千葉大院医・免疫発生学・炎症制御学、²慶大・院・理工学研究科、³横浜市大・木原生研、⁴国立国際医療センター)

14:10-14:40

4. IVIg 治療

座長:河内正治(国立国際医療センター)

4-1 顕微鏡的多発血管炎の腎病理所見と各種サイトカインの連動性の検討

¹武曾恵理、²城謙輔、³宇野賀津子、^{1,3}猪原登志子、¹岩崎由佳子、¹古宮俊幸、⁴鈴木和男

¹財)田附興風会北野病院医学研究所・腎臓内科、²国立病院機構千葉東病院臨床研究センター ³ルイ・パスツール医学研究センター、⁴千葉大学院医学研究院、免疫発生学・炎症制御学

座長:直江史郎(桐蔭横浜大学)

4-2 急性期川崎病に対する静注用ガンマグロブリン超大量単回投与(2g/kg/日)の大規模市販後成績調査から見た有効性と安全性

佐地勉、高月晋一、嶋田博文、池原聡、直井和之、中山智孝、松裏裕行
東邦大学医療センター大森病院 小児科

14:40-14:55

5. 血管炎の免疫調査

座長：布井博幸（宮崎大学医学部小児科学）

5-1 中球細胞質抗体関連血管炎血管炎の日欧（米）間の疫学・臨床共同研究：

これまでの成果と今後の方向

小林 茂人（順天堂大学附属順天堂越谷病院内科）

14:55-15:30 休憩

15:30-17:15

6. 血管炎の基礎および臨床研究の先端研究者によるトピックスの発表

座長：大野尚人（東京薬科大学）

高橋啓（東邦大学医療センター大橋病院病理部）

長澤康行（大阪大学大学院老年・腎臓内科）

6-1 MPO-ANCA 関連血管炎自然発症モデル SCG/Kj マウスにおける

濱野慶朋*、広瀬幸子*、鈴木和男†

*順天堂大学・病理、†千葉大院医・免疫発生学・炎症制御学

6-2 限局型壊死性動脈炎（限局型結節性多発動脈炎）：組織学的病期分類と結節性多発動脈炎との組織学的な違いを基盤とした組織学的な進行過程および疾患の位置づけについて

松本俊治 順天堂大学医学部人体病理病態学講座

6-3 抗糸球体基底膜型腎炎における第Ⅴ因子発現を介した凝固系の加速

小野孝彦、坂本興嗣、大塚秀隆、北村久代、上村和秀（静岡県立大・分子病態解析）

6-4 病理から見た我が国におけるMPO-ANCA関連腎炎の現状：人工γグロブリン製剤治療に対する臨床病理学的いとぐち

城 謙輔¹⁾、中里 毅¹⁾、杉山隆夫²⁾、武曾恵理³⁾、湯村和子⁴⁾、小林茂人⁵⁾、鈴木和男⁶⁾

¹⁾ 国立病院機構千葉東病院臨床研究センター免疫病理研究部、

²⁾ 国立病院機構下志津病院臨床研究部、³⁾ 財) 田附興風会医学研究所北野病院腎臓内科

⁴⁾ 自治医科大学 腎臓内科、⁵⁾ 順天堂大学附属順天堂越谷病院 内科、

⁶⁾ 千葉大院医・免疫発生学・炎症制御学

6-5 大量γグロブリン (IVIg) 療法が奏功した、慢性B型肝炎合併MPO-ANCA関連腎炎の一例

長澤康行・今井圓裕（大阪大学大学院老年・腎臓内科）

6-6 IVIg 療法は H5N1 インフルエンザ感染症に効果があるだろうか？

ハノイ国立小児病院の症例からの検討

河内正治^{1,2)}、鈴木和男^{2,3)}

¹⁾ 国立国際医療センター 手術部麻酔科・ICU、²⁾ 国立感染症研究所・免疫部

³⁾ 千葉大学大学院医学研究院・免疫発生学・炎症制御学

6-7 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

¹⁾ 宇野賀津子、²⁾ 武曾恵理、²⁾ 猪原登志子、八木克巳、藤田哲也、³⁾ 鈴木和男

¹⁾ ルイ・パストゥール医学研究センター、²⁾ 財) 田附興風会北野病院医学研究所・腎臓内科

³⁾ 千葉大学大学院医学研究院・免疫発生学・炎症制御学

17:15-17:45 休憩

17:45-18:15

II. 特別講演(英語)

座長：中山俊憲（千葉大学大学院医学研究院）

NKT cells, the Environment and Asthma.

Dale T. Umetsu (Harvard Medical School, Children's Hospital Boston)

18:15-

Discussion and Closing Remarks

岡崎富男（広島市民病院）

**International conference on Regulation of Inflammatory Diseases
Vasculitis and Asthema-2008 in Chiba**

PROGRAMME

Friday January 18

Auditorium in University Hospital

13:30-17:45

I. Symposium on Synthetic Immunoglobulins

17:45-18:15

II. Keynote Lecture in Inflammation-Asthma 特別講演

**Chair: T. Nakayama (Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan)
NKT cells, the Environment and Asthma**

Dale T. Umetsu (Harvard Medical School, Children's Hospital, Boston, USA)

18:15-18:30

Comments

T. Okazaki (Hiroshima City Hospital, Hiroshima, Japan)

19:00-21:30 Meeting

Saturday January 19

Seminar Room in Chibadai Inohana Innovation Plaza

III. International Meeting 国際会議

9:15-10:40

1. International Collaboration in Vasculitis 血管炎国際協力

1-1 Japan-EU-Joint Study on Vasculitis-Follow-up Study 日英血管炎共同研究

Chair: K. Suzuki (Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan)

E. Muso (Div. Nephrology and Dialysis, Kitano Hospital, Osaka, Japan)

1-1-1 Japan-EU joint study of Vasculitis: epidemiology, trials and genetic approaches

D. Jayne (Department of Medicine, Addenbrooke's hospital, University of Cambridge, UK)

1-1-2 ANCA-associated vasculitides : results of Japan-UK study in recent 3 years and plans in very near future

抗好中球細胞質抗体関連血管炎血管炎の日欧(米)間の疫学・臨床共同研究：これまでの成果と今後の方向

S. Kobayashi (Juntendo University, Koshigaya Hospital, Saitama, Japan)

1-1-3 Incidence of ANCA-associated primary renal vasculitis (PRV) in Miyazaki during 2005-2007

宮崎県における ANCA 関連原発性腎血管炎 (PRV) の罹患率

Shouchi Fujimoto¹⁾, Hiroyuki Nunoi²⁾

¹⁾ Department of Circulatory and Body Fluid Regulation, Miyazaki, Japan

²⁾ Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan

1-2 Comparison of Pathological Evaluation 病理評価の比較

Chair: W. Yumura (Jichi University Medical College, Tochigi, Japan)

1-2-1 Histopathology of ANCA-associated vasculitis

Franco Ferrario (Renal Immunopathology Center San Carlo Borromeo Hospital, Milan, Italy)

1-2-2 Morphological variety of MPO-ANCA related renal small vessel vasculitis in Japan : Correlation between histological and clinical parameters

MPO-ANCA 関連腎炎における腎生検時の臨床・病理パラメーターの相関に関する統計的解析
Kensuke Joh¹⁾, Takashi Nakazato¹⁾, Takao Sugiyama²⁾, Eri Muso³⁾, Wako Yumura⁴⁾,
Shigeto Kobayashi⁵⁾, Kazuo Suzuki⁶⁾

¹⁾ Division of Immunopathology, Clinical Research Center, Chiba-East National Hospital, Chiba,

Japan ²⁾ Department of Internal Medicine, Shimoshizu National Hospital, Chiba, Japan ³⁾ Division of Nephrology, Kitano Hospital, Osaka, Japan ⁴⁾ Department of Nephrology, Jichi University School of Medicine, Tochigi, Japan, ⁵⁾ Rheumatology, Juntendo Koshigaya Hospital, Saitama, ⁶⁾ Dept Immunology, Inflammation Program, Chiba University Graduate School of Medicine, Japan

10:40-11:00 Break

11:00-11:40

1-3 Vasculitis Study USA and Mexico アメリカとメキシコの血管炎研究

Chair: D. Jayne (University of Cambridge, UK)

1-3-1 Current Status of Multicenter Clinical Research in Vasculitis in the United States

P. Merkel (Boston University, Boston, USA)

1-3-2 Wegener granulomatosis and Takayasu arteritis in two referral centres in Mexico.

L. F. Flores-Suarez (Instituto Nacional de Ciencias, Mdicasy Nutricin, Mexico City, Mexico)

11:40-12:10

2. Topics in Vasculitis and Inflammation -2 血管炎と炎症の話題

Chair: Y. Aizawa, K. Toba (Niigata University Graduate School of Med., Niigata, Japan)

2-1 MPO-ANCA negative relapse in MPO-ANCA associated vasculitis

MPO-ANCA 陰性で再燃した MPO-ANCA 関連血管炎の検討

Yoshihiro Arimura, Miyako Sudo, Ken Yoshihara, Kimimasa Nakabayashi, Akira Yamada
(First Dep. of Internal Medicine, Kyorin University, School of Medicine, Tokyo, Japan)

2-2 Histopathology of late-stage arteritis in animal model of Kawasaki disease

川崎病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

Toshiaki Oharaseki, Hitomi Yamada, Yuki Yokouchi, Fumie Ihara, Megumi Wakayama,
Shiro Naoe, Kei Takahashi

(Department of Pathology, Toho University Ohashi Medical Center, Tokyo, Japan)

12:10-13:00 Discussion & Lunch

13:00-14:20

Chair: M. Oshima (National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan)

T. Nagao (Graduate School of Medicine, Chiba University, Japan)

2-3 Involvement of Chlamydia Pneumoniae infection in patients with MPO-ANCA related vasculitis

MPO-ANCA 関連血管炎における *Chlamydia Pneumoniae* 感染の関与

Osamu Hotta (Sendai Shakaihoken Hospital, Sendai Japan)

2-4 Influence of culture conditions on vasculitis and anaphylactoid shock induced by cell wall extracts of *Candida albicans* in mice

Candida albicans 細胞壁 mannan の構造の培養条件依存的な変化と血管炎ならびに急性ショック誘導活性の比較

Naohito Ohno (Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, Tokyo, Japan)

2-5 The paracrine system of Hepsidin and organ injury

ヘプシジンと臓器障害—パラクラインシステムの存在

Toshiki Kitajima, Ken Toba, Haruo Hanawa, and Yoshifusa Aizawa

(Niigata Univ. Graduate School of Medical and Dental Sciences, Hematology/Cardiology, Niigata, Japan)

2-6 Prevalence of variety of artificial poly-clonal gamma globulin.

改良型人工ガンマグロブリンの多様性の検討

¹Yosuke Kameoka, ²Masahiro Furutani and ³Kazuo Suzuki

¹Lab. of Genetic Resources, Nat'l Inst of Biomed. Innov., Osaka, Japan

² Sekisui Chem. Co. Ltd., ³Chiba Univ. Sch. of Med., Osaka, Japan

2-7 Focused microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells from vasculitis patients

選抜アレイを用いた難治性血管炎患者の末梢血液細胞における遺伝子発現解析

Hiroshi Nojima (Department of Molecular Genetics (DDCID), Osaka University, Osaka, Japan)

14:20-14:30

Evaluation 閉会の辞

Y. Niho (Chihaya Hospital, Fukuoka, Japan)