

抄 録 集

中・小型血管臨床研究分科会報告

「MPO-ANCA 関連血管炎に関する標準的プロトコールの有用性を明らかにする前向き臨床試験」の解析

中・小型血管炎臨床研究分科会、活動性評価委員会

中林公正、湯村和子・吉田俊治 (BVAS)、小林茂人 (VDI)、黒澤美智子 (SF-36)、他

目的：標題の臨床試験の有用性を明らかにすること。対象症例と方法：全国の計 24 病院の参加の下に、標準的プロトコールに沿った前向き臨床試験を施行した。即ち、最重症例、重症例、軽症例に分類して、夫々の治療法を行なった。治療前、治療後の経過に沿って、生命予後、腎予後、感染症、BVAS、VDI、SF-36 などを記載して戴いた。登録症例は 52 例、解析対象症例は 39 例で、年齢は 26～84 歳で、平均 67 歳であった。経過観察期間は、1 週間から 2 年間であった。成績：症例の病型は、全身型 1 例、肺腎型 12 例、RPGN 型 11 例、腎炎型 2 例、肺線維症型 5 例、その他型 8 例であった。39 例中 5 例 (13%) が死亡。全身型の 1 例の最重症例は治療にもかかわらず 8 日目に脳出血で死亡 (血管炎死)。重症型の肺腎型の 2 例は、1 例は治療にもかかわらず 3 ヶ月目に脳出血 (血管炎死) で、もう 1 例は寛解後再燃し感染症で 12 ヶ月目に死亡 (感染症死)。重症型の RPGN の 1 例は、寛解に至ったが 10 ヶ月後に感染症で死亡 (感染症死)。軽症型の肺線維症型の 1 例は肺出血で 3 ヶ月目に死亡 (血管炎死)。前回の 1998 年の調査の重症型の死亡率の 43% や最近の欧米の成績の全症例での 25% の死亡率と比較して、生命予後は著明に改善していた。感染症を発症した症例は 8 例 (死亡 2 例を含む) であったが、いずれも IVCY 施行を受けていた。しかし、これ等の症例の内の 4 例はステロイドパルスが施行されていたが、4 例は未施行であった。この成績から、IVCY 施行後は、感染症に注意する事が重要と考えられた。BVAS、VDI、SF-36 は、夫々の班員が発表する。結語：重症度別の標準的プロトコールを用いた前向き臨床試験から、この治療方針の有用性が示された。又、IVCY 施行後は感染症に対する注意の必要性が示唆された。

顕微鏡的多発血管炎(microscopic polyangiitis : MPA)の Vascular damage index (VDI)

○小林茂人¹⁾、中林公正²⁾、尾崎承一³⁾、JMAAV 活動性評価委員会

順天堂越谷病院内科¹⁾、杏林大学医学部第一内科²⁾、
聖マリアンナ医科大学リウマチ膠原病アレルギー内科³⁾

目的：ANCA 関連血管炎の治療予後については、生存率が向上した現在、疾患自体や治療に伴う臓器障害の評価が治療効果の判定に重要である。EUVAS(UK)グループの提唱した Vasucular Damage Index(VDI)が国際的な標準の評価法である。わが国の顕微鏡的多発血管炎(MPA)患者の JMAAV における prospective study における Vasucular Damage Index(VDI)の解析・評価を行った。

方法：報告された施設数 14、提出された症例数 39、VDI を解析された症例数 25(現時点では増加)を解析した。

結果：治療前の VDI は median 3 (range 0~9)、治療後の VDI は median 4(range1~9)であった。治療後 VDI-前 VDI は平均 0.52 ± 5.5 , median 0, range0~4 であった。平均観察期間(月)は 10.6 ± 5.5 , median 12, range 3~20 ヶ月であった。VDI 増加/月は、 0.06 ± 0.15 , median 0, range 0~0.67 であった。以前の retrospective study (n=46)と比較すると、治療前後の VDI(median)は同じであったが、retrospective study では観察期間が短かったためか、VDI 増加/月は 0.21 ± 0.38 であった。治療開始時に記載された臓器症涯は、GFR の低下(17 症例)、肺線維症(17 症例)、末梢神経障害(14 症例)の順であり、血管炎に起因する症状を表し、最終観察時に記載された新たに出現した症状は、末梢神経障害(3 症例)、白内障(2 症例)、糖尿病(2 症例)、肺炎、圧迫骨折、高血圧などであり、末梢神経障害以外は、治療中の合併症であることが理解できる。

考案：海外の報告は MPA および WG を含めた報告が多い。このために、MPA における VDI の評価・検討は国際的な見地からみて重要であると考えられる。

MPO-ANCA 関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトーム解析

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 Gene chip により網羅的に解析した 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。寛解または軽快した 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 Charcot-Leyden crystal protein をはじめ 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 ADAM 28 をはじめ 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。次に、上記検討において有意性の高かった 44 遺伝子を選定し、Low Density Array(LDA)を作製した。治療後の予後を把握できた 24 症例 (48 サンプル) について解析を行ったところ、LDA は Gene chip の結果を良く再現した。また、サイトメガロウイルス (CMV) 感染症を合併した 2 例では、合併症のなかった症例で認められる特徴的な遺伝子発現パターンが見られず、LDA を用いて治療前および治療開始後 1 週間の末梢血遺伝子発現をプロファイリングすることにより、治療後にサイトメガロウイルス感染等の合併症を呈する症例を予測できる可能性が示唆された。

抄録 2

顕微鏡的多発血管炎（MPA）症例の腎に於ける毛細血管炎について一腎間質の病変に注目して

杏林大学第一内科 中林公正、小路 仁、軽部美穂、有村義宏、山田 明

目的：MPA は腎に高頻度に病変を認める疾患であるが、その主要病変は腎糸球体の毛細血管炎である。ところで、腎間質に毛細血管炎を生じ、間質病変を呈する症例も存在するが、多くの症例では糸球体病変と共に生じる。ところが、腎間質病変だけを認める症例も存在する。そこで、今回はこの様な症例について検討を行なったので、その成績について報告する。対象症例と方法：MPA16例、薬剤性腎間質障害3例、健常腎2例を用い、血管内皮細胞のマーカーであるCD31、血管壁基底膜IV型 collagen に注目して検討を行なった。成績：MPA の中の2例が腎間質病変のみを認める症例であった。残りの14例は、いずれも糸球体病変を有し、腎間質病変も中等度からほぼ存在しない症例迄が存在した。薬剤性腎間質障害例は、いずれも帯状に障害を認める症例であった。健常腎は、間質病変は認められなかった。間質病変のみを有する症例のMPAでは、間質毛細血管のCD31の染色性が広範囲に消失していた。この所見は、IV型 collagen が消失している毛細血管では勿論消失していたが、まだIV型 collagen が存在する毛細血管でも消失していた。これ等の糸球体内のCD31IV型 collagen の消失は僅のみであった。しかし、薬剤性腎間質障害例では、障害部位でCD31とIV型 collagen が消失していた。他の領域では消失していなかった。健常腎ではいずれもが染色された。結語：MPA 症例で腎間質障害のみを主体とし腎糸球体に病変を有しない症例が存在した。この様な症例では、腎間質の毛細血管のCD31マーカーが広範囲に消失しているのが確認された。この所見は毛細血管基底膜の障害よりも早期に発症することが観察された。又、腎糸球体病変の程度とは関連していなかった。以上から、MPA でも症例により、障害する臓器の血管領域に差異の存在することが考えられた。

抄録 3

血管炎症候群に対する抗 TNF 療法の有用性について

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

血管炎症候群の治療の主体は現在でもステロイド薬が基本であるが、易感染性以外にステロイド薬特有の副作用である骨粗鬆症、糖・脂質代謝異常、ミオパチーによる筋力低下などが臨床上問題となる。さらにステロイド薬に抵抗性の難治例もある。近年、ステロイド抵抗性の高安動脈炎と巨細胞動脈炎（側頭動脈炎）に対し、抗 TNF α 抗体製剤である infliximab が有効との報告がある。当科でもステロイド抵抗性の高安動脈炎の 1 例と、高齢者で有害事象が懸念される巨細胞動脈炎の 1 例の計 2 例に infliximab を投与した。前者では効果は一過性で有用とは言えなかったが、後者の症例ではステロイド薬を使用する事なく効果が得られた。昨年 11 月から新たな 1 例の巨細胞動脈炎の患者（84 歳の男性）に PSL 15 mg と infliximab 単回投与で治療開始したことを前回の本会議で報告したが、その後の経過は順調で、PSL 5 mg/kg まで漸減して経過観察中である。本例では、infliximab の併用でステロイド薬大量療法をせずに巨細胞動脈炎の炎症反応を確実に抑制しえた。今後、高齢者が多い当疾患では、有用な治療戦略となりうる可能性が示唆される。

血管炎症候群の各疾患は稀少疾患であるため対照をおいて治療法の有用性を検討することが困難である。文献的にもまだ十分な evidence があるとは言えず、このような症例を積み重ねて抗 TNF 療法の有用性の evidence を検討する必要がある。

中・小型血管炎の生検部位・皮膚病変と皮膚型 PN の臨床検討

小林茂人¹⁾、橋本博史²⁾、高崎芳成²⁾

順天堂越谷病院内科¹⁾、順天堂大学膠原病内科²⁾

目的：中・小血管炎の皮膚所見について再検討した。各疾患での生検部位とその結果について検討した。皮膚型 PN に関する臨床所見について検討した。

方法：順天堂大学膠原病内科の 2007 年 5 月以前の血管炎 150 症例の入院患者を連続して検出し、入院カルテを検討した。MPA31 例、WG20 例、CSS24 例、Cutaneous PN 18 例、計 91 例について検討した。高安動脈炎、バージャー病、側頭動脈炎、cPN は除いた。

結果：皮疹は MPA 7(23%),CSS 12(50%),WG 3(15%),CPAN18(100%)に認められた。皮膚に限らず臓器の生検は MPA11(35%),CSS15(63%),WG16(80%),CPAN12(67%)施行され、生検によって診断された症例は、MPA10(91%),CSS 12(80%),WG10(50%),CPAN11(92%)であった。生検部位は MPA:腎、筋・神経、CSS 筋・神経、皮膚、WG 鼻粘膜、TBLB、CPAN 皮膚が多かった。皮疹の性状は、CSS に紅斑、下腿潰瘍などさまざまな所見が記載され、WG の記載は少なかった。CPAN では結節性紅斑、下腿潰瘍、下腿壊疽、皮下結節が多かった。CPAN18 症例を検討したところ、発症から観察期間まで 0~21 年 (平均:7.1±6.2 年)、CRP 平均:4.2±4.3 mg/dl、DSA は 2 症例に行われ、いずれも陰性、ANCA は検索された症例でいずれも陰性であった。

考案：中・小血管炎の生検部位の傾向と結果が認められた。また、皮膚病変の頻度と種類が確認された。皮膚型 PN の臨床検討の結果、全身型の PN に移行しないこと、ANCA も陰性であり、MPA の範疇ではないことが推定され、皮膚型 PN は、虫垂、胆のう、精巣、子宮の PN のように、「limited form」の PN であることが推定された。

【演題】皮膚型結節性多発動脈炎の疾患概念および診断基準に関する検討

【演者】古川福実

【共同演者】中村智之、金澤伸雄、池田高治、山本有紀

【所属】和歌山県立医科大学皮膚科

【抄録】皮膚型結節性多発動脈炎(CPN)は結節性多発動脈炎(PN)と異なり、比較的若い女性に多い傾向があり、炎症反応はみられても軽度で、内臓病変を伴わず予後良好であるが、疾患の独立性については以前から議論が続いている。昨年われわれは改めて国内8施設を対象にアンケート調査を実施し、回答のあった21例のCPN症例について検討した。その結果、男女比は3:18で圧倒的に女性に多く、3年以上経過を観察した症例は6例あったがPNへ移行した例や死亡例は存在せず、CPNはPNと異なる背景を持つ独立疾患である可能性が高いと考えられた。なおCPNでは皮膚症状(皮下結節、リベド、紫斑、潰瘍など)以外にも末梢神経症状、筋肉痛などをさまざまな程度に伴うことがあり、われわれの調査でも約3割の症例に末梢神経症状が認められ、なんらかの随伴症状を伴う症例は6割を超えていた。これらの結果に関していくつかの学会で意見を伺ったところ、(1)「随伴症状が血管炎による場合はPN」という意見と、(2)「随伴症状が血管炎による場合であっても皮疹部に限局している場合はCPN」という意見が聞かれた。厚生労働省のPN診断基準はCPNについては言及していないものの、おそらく(1)の立場と考えられるが、(2)の立場からすればCPNがPNと診断される恐れがある。そこで、血管炎の診療を行っている主だった全国の皮膚科関係部局へのアンケート調査を行った。その結果をふまえて、厚生労働省のPN診断基準に多少の修正を加え、CPNを除外できる『PN診断基準試案』と『CPN診断基準試案』の作成を試みたので、それぞれの診断基準試案を提示したい。

抄録6

顕微鏡的多発血管炎患者における動脈硬化の検討

—発症期と寛解期を比較して—

難治性血管炎に関する調査研究班 中・小型血管炎臨床分科会

分担研究者

榎野 博史 岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学 教授
研究協力者

佐田 憲映 岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学 助教

古城 昭一郎 岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学 医員

顕微鏡的多発血管炎（MPA）における寛解導入療法の進歩により、MPA 患者の急性期の予後は改善しつつある。本邦における同患者の平均年齢は高く、維持療法期において今後、動脈硬化などに伴う心血管系の合併症が問題になることが予測される。前回我々は寛解導入療法開始後 1 年以上経過した MPA 患者における動脈硬化について、年齢をマッチさせたパイロット研究を行い、RA・SLE・慢性腎不全患者に比べて動脈硬化が進行しており、発症時の活動性が関係している可能性が考えられた。

以上のことを踏まえて、今回我々は年齢をマッチさせた発症時と 1 年以上寛解を維持している MPA 患者において PWV を用いた動脈硬化の検討を行った。対象症例の年齢は発症期群 68.7 ± 2.1 才、寛解期群 68.4 ± 2.1 才であった。各群での PWV は発症期 1711 ± 167 、寛解期 2294 ± 167 (cm/s)と有意な動脈硬化の進行が示唆された。患者背景として、寛解期群では治療の影響と考えられる脂質代謝異常の増悪、血圧の上昇などを認めたが、重回帰分析では、「年齢」と「血管炎の治療後であること」が PWV の上昇に対する独立した危険因子として抽出された。今後 MPA 患者における治療開始後の動脈硬化進展因子を明らかにすることでより早期からの動脈硬化対策を行うことが重要である。

抄録 7

ANCA関連血管炎の病態とBVAS

自治医科大学 腎臓内科 湯村和子

目的：MPO-ANCA 関連血管炎において主たる病態を明確にするためにも国際的な臨床活動性の基準になっている BVAS の9項目に関して出現の有無を解析することは重要である。さらにその疾患活動性の治療による変化も検討する。対象：後ろ向き調査による98例に関しては、MPO-ANCA 関連血管炎の病態を解析した。結果および考察：ANCA 関連血管炎の病態では、腎の項目の出現が他に比し有意に高率（89.8%）であった。続いては、全身症状(70.4%)が高頻度に認められ、肺病変発症頻度は(56,1%)であり、神経障害(40.8%)も高率であった。発症年齢は、18歳から88歳であり、平均年齢は65±14歳であった。男女差はなかった。腎の項目では、蛋白尿・血尿はいずれも44.3%に認められ、高血圧の頻度は低く、血清クレアチンが1.9mg/dL以下では、特に高血圧の発症頻度は低かった。血清クレアチンの程度を4群に分けると最も1.9mg/dL以下で発見されている症例が多く、早期に診断されている可能性が高い。尿異常では尿蛋白や血尿単独に出現する症例は少なく、血清クレアチンの上昇の程度にかかわらず、尿蛋白と血尿を有する患者が高頻度であった。またMPO-ANCA の値では、～99U/ml以下、100～299U/ml、300U/ml以上に分けてみると、MPO-ANCA 値に関係なく全身、胸部、腎臓は出現していたが、神経障害の項目が出現する場合は、MPO-ANCA の低値の患者は少なかった。CRPの値で全身、胸部、腎臓の障害の出現に関して、いずれも差はないが、神経障害の項目では、CRP低値は少なかった。肺・腎の病変の単独、合併とでCRP値の程度は、腎のみの出現の場合は、CRPが低い傾向があり、腎・肺合併の場合はCRPが高い傾向が認められた。BVAS は診断時、平均13±8.5点であった。、今後のBVASをもとにした病態の解析は重要であり、詳細な検討がANCA関連血管炎の病態を明らかにする能性がある。

抄録 8

高安動脈炎における抗内皮細胞抗体の検討

吉田秀雄、玉熊桂子、岩館知史、吉田俊治
藤田保健衛生大学 医学部 リウマチ・感染症内科

背景・目的：我々は、高安動脈炎(TA)に特異性の高い抗内皮細胞質抗体 (AECA)として Western blot 法で 74kDa バンド (抗 74kDa 抗体) を検出し報告した。その対応抗原の分析のため二次元電気泳動法で認められた特徴的ないくつかのスポットからアミノ酸分析を行いいくつかの候補蛋白を同定した。

今回あらためて、抗 74kDa 抗体の臨床的意義を明らかにするため当科で経験した全 TA 患者 32 例で抗 74kDa 抗体の有無を検討した。

また、抗 74kDa 抗体が診断に有用であった男性 TA 患者を報告する。

方法：ヒト大動脈内皮細胞を抗原とし Western blot 法を行った。

対象：TA 患者血清 32 例

結果：74kDa バンド陽性は 17 例 (53%) であった。性別は男性 7/8 例 (87.5%) 女性 10/24 (42.7%) であった。

症例：35 歳の男性。頸部・肩・胸背部痛、炎症反応高値の持続で入院。造影 CT 検査で右総頸～内外頸動脈分岐部、左鎖骨下動脈起始部での全周性壁肥厚を認めた。ベーチェット病等の鑑別診断を行い TA と診断した。プレドニゾン 50mg/日の加療を開始し炎症反応は改善し経過は良好である。抗核抗体、リウマトイド因子、抗 ENA 抗体は陰性であったが、Western blot 法で抗 74kDa 抗体が検出された。今回、Western blot 法で治療前後の経時的な血清の分析を行い。検出された 74kDa バンドはアミノ酸分析を行った。

考察：TA における抗 74kDa 抗体は疾患特異性が高く診断に有用である。

今後は、ELISA 法などの測定系を確立し、抗 74kDa 抗体の測定を一般化する必要があると考えられる。

演題名：MPO-ANCA 関連血管炎の疾患活動性を反映する MPO-ANCA affinity 検出の開発と感染症予防対策

所属：東京医科大学八王子医療センター腎臓内科¹、横浜市立大学²

演者名：吉田雅治¹、佐々木まり子¹、中林 巖¹、明石真和¹、富安朋宏¹、中村元信¹、鮎澤信宏¹、赤芝 聖¹、渡辺妙子¹、吉川憲子¹、山田道之²

MPO-ANCA 力価と腎および肺を中心とする全身の MPO-ANCA 関連血管炎症候との関係をみると、MPO-ANCA 関連血管炎の未治療活動期に MPO-ANCA 力価が高値を示す例（「相関型」）と血管炎症候と無関係に MPO-ANCA 力価が変動する症例「非相関型」がある。「非相関型」の患者の場合に、副腎皮質ステロイド剤や免疫抑制剤を主体とする強力な非特異的免疫抑制治療は、患者の免疫機能を低下させ、MPO-ANCA 関連血管炎の最も多い死因である感染症死を導き兼ねず、過剰な免疫抑制治療は好ましくない。しかし、MPO-ANCA 力価を参考の指標として免疫抑制治療を実施している現状では ANCA 関連血管炎に対するより適切な治療法の選択は困難である。そこで MPO-ANCA 関連血管炎の活動性を反映する高親和性 MPO-ANCA と低親和性 MPO-ANCA とを区別して検出する方法を開発した。ヒト高純度 MPO 抗原固相化したマイクロプレートに、患者血清と、ヒト高純度 MPO 抗原を段階的に希釈した溶液を同時に添加する事により阻害（競合抑制）ELISA テストを行った。MPO-ANCA の親和性を、抗体活性を 50% 阻害する MPO 濃度として IC₅₀ で表示した。自験 MPO-ANCA 関連血管炎（男性 9 例、女性 8 例、平均年齢 71 歳）を対象として、厚労省難治性血管炎に関する調査研究班の MPO-ANCA 関連血管炎に対する重症度分類により、1 群〔最重症（肺出血）、重症（RPGN）：11 例〕と 2 群〔軽症（CRF、神経、筋、関節症状他）：6 例〕に分類した。

17 例は高親和性患者（IC₅₀：0.15 μg/ml 以下）11 例と低親和性患者（IC₅₀：0.61 μg/ml 以上）6 例に分かれた。高親和性患者 11 例と低親和性患者 6 例の重症度と IC₅₀ 値の関連は、最重症および重症の血管炎を呈する 11 例の全身の血管炎 BVAS スコアは(16.5±5.7)で全て高親和性（IC₅₀ 値：平均 0.15±0.06）であり、軽症血管炎患者 6 例の BVAS スコアは(8.7±5.4)で全て低親和性（IC₅₀ 値：平均 0.61±0.12）で阻害 ELISA による IC₅₀ 値の測定による affinity の検出は、MPO-ANCA 関連血管炎の重症度の判定が簡便かつ確実に可能であった。合わせて自験 MPO-ANCA 関連血管炎免疫抑制治療中の感染症予防対策の実際についても述べる。

抄録 10

難治性 Wegener 肉芽腫症に対するリツキシマブの有用性

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、大岡正道、尾崎承一

目的：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。また、シクロホスファミドが使用困難な症例も少なくない。かかる難治性 Wegener 肉芽腫症の 4 例に対しリツキシマブを投与し、1 年以上経過観察しえたので、その有用性を検討した。

方法：症例は、男女各 2 例で年齢は 22～63 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、Wegener 肉芽腫症の診断時に C-ANCA または PR3-ANCA 陽性であった。3 例はシクロホスファミド間歇静注療法(IVCY)による治療経過中に視力障害が再燃した。うち 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。残りの 1 例は、IVCY を 2 回投与後に肺アスペルギルス症を併発し、シクロホスファミドの投与が困難となったため、IVCY を中止し、抗真菌薬を投与中であった。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/m² 体表面積の点滴静注を 1 週ごとに計 4 回投与した。

結果：リツキシマブ投与直前の PR3-ANCA は 4 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症例では、咳嗽や画像所見の消失をみとめた。治療開始後 1 2 ヶ月以内に 3 例が再燃徴候を認めた。2 例は末梢血 CD19 陽性細胞の軽度増加を伴ったため、1 例にはリツキシマブを再投与した。他の 1 例は MTX5~7.5mg/週を追加した。3 例目は、末梢血 CD19 陽性細胞の増加が見られずに再燃したため、IVCY にて治療した。以後、この 3 例と 4 例目は現在まで寛解を維持している。infusion reaction や感染症などの副作用はみられなかった。

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。4 例とも ANCA 陰性であったことから、難治性 Wegener 肉芽腫症の病態形成における ANCA 非依存的な B 細胞機能の関与が示唆された。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。

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」2007

能勢真人 (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 (千葉大、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)

2005-2007 年度3年間の活動計画、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項目において、具体的な遺伝子、分子の同定とその機能の解析と、班全体での横断的研究を推進した。今年度は、①においては、1) 血管炎惹起性ラット T 細胞クローンの血管内皮細胞対応抗原の解析、2) 可溶性 Tie-2 の産生機構と Ang-1/Tie-2 シグナルの制御機構の解析、3) CAWS 誘発マウス冠動脈炎・大動脈炎マウスモデルにおける抗 VEGF 抗体ならびに抗 TNF- α 抗体投与による病変制御効果、4) 血管炎発症に係わる活性化好中球の MPO、CD69 を含めた機能分子の解析、5) 血管炎モデルマウス由来動脈平滑筋細胞株の樹立とトランスクリプトーム解析、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増悪と抑制にそれぞれ係わる新規血管炎関連遺伝子の同定、③では、1) MPA 患者における *IRF5* を含む type I IFN パスウェイ遺伝子の SNPs による関連解析、2) 血管炎モデルマウスの組換え近交系 (RI) マウス MXH/lpr の SNPs 解析、④では、1) ヒト血管炎での抗血管内皮細胞自己抗体のプロテオミクスによる新規自己抗原の解析、2) 無細胞タンパク質合成系と AlphaScreen 法を組み合わせた high through-put な自己抗体検出法による血管炎関連抗原の網羅的探索、⑤では、1) 無細胞系合成タンパク質をリアクタントとする自己抗体の ELISA 法の確立、2) 血管炎で発現する抗内皮細胞抗体の対応抗原の無細胞系タンパク質合成、⑥では、1) 血管炎患者末梢血中の病態関連ペプチドの検索、2) 血管炎コンジェニックマウス McH5/lpr に対する抗 IL-6R 抗体の治療効果の検討、において新たな成果を得た。

無細胞タンパク質合成系による簡便な ELISA 法の確立

小森浩章¹、田中ゆき²、澤崎達也³、遠藤弥重太³、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) 愛媛大学統合科学研究支援センター
- 3) 愛媛大学無細胞科学生命科学工学研究センター

自己抗体価の測定には ELISA 法が頻用されているが、従来の合成タンパク質を使用する ELISA 法では、タンパク質の精製、固相化などに様々な行程、条件設定が必要で、煩雑な操作を必要とし、多種類の抗原を用いた自己抗体の測定には問題がある。そのため今年度は、無細胞タンパク質合成系で合成した GST タグをつけた融合タンパク質を用いた capture ELISA system の確立を試みた。この方法では、多種類のタンパク質を一度に合成できる無細胞タンパク質合成系を利用して合成したタンパク質を、精製せずに crude な状態で ELISA の抗原に供することができる。そこで、そのモデルとして、GST-Tag 融合合成タンパク質を RF リアクタントとした capture ELISA system を樹立した。この系では、従来の recombinant Fc を抗原としてもちいた血清 IgG-RF および血清 IgM-RF との間で測定結果に大きな差は認められず、このシステムは、今後、新たなタンパク質に対する自己抗体を簡便かつ迅速に定量する上で非常に有用な方法であると考えられる。

一方、昨年度に無細胞タンパク質合成系と AlphaScreen 法とを組合わせた新規自己抗体の探索法を確立したが、本法は、定量性に問題が残されているが、高感度で、しかも多種類のタンパク質を対象に、一度に、かつ簡便に自己抗体を測定するという利点がある。この方法を用いて、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 個のタンパク質を合成し、血管炎モデルマウスのリコンビナントインブレットドマウス MXH/lpr の 10 系統の血清を対象とし解析した。その結果、30 個以上の合成タンパク質に対する新規の自己抗体産生が観察された。その中には、血管炎関連自己抗体も含まれていた。今後、上記 ELISA 法と組み合わせて、これら自己抗体の定量解析を行う。

抄録 13

自己血管内皮細胞反応性ラット T 細胞の解析

石津明洋¹、外丸詩野²、岩崎沙理^{1,2}、飯沼千景¹、佐藤亜矢¹、佐々木直美²、馬場智久²、笠原正典²、吉木 敬³

¹北海道大学医学部保健学科

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

結節性多発動脈炎類似の壊死性血管炎を発症する env-pX ラットより、血管内皮細胞 (EC) 依存的に増殖亢進を示すリンパ球 PC4 を得た。PC4 はオリゴクローナルな Th1 タイプの CD4 陽性 T 細胞である。PC4 を同系ラットに静注することにより肺に血管炎が誘導されたが、他系統のラットに投与した場合には血管炎は誘導されなかった。肺血管内膜には MHC クラス II 陽性細胞があり、MHC 拘束性に局所で増殖した PC4 が直接または間接的に肺血管を傷害する機序が考えられた。

一方、試験管内における 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が、その際抗原細胞として用いた EC には MHC クラス II の発現は認めなかった。これに対し、PC4 は MHC クラス II と CD80 を発現しており、貪食能も有することから、PC4 と EC の共培養かでは PC4 自身が抗原提示細胞として働き、自律的な T 細胞増殖を媒介していると考えられた。EC から抽出した蛋白を HPLC により分画し、PC4 に添加してクラスター形成の有無を観察したところ、ペプチドサイズの分画に対して反応が認められた。線維芽細胞から抽出した蛋白の同サイズの分画には反応は認めなかった。PC4 の認識抗原を解析することにより、血管炎の標的分子を明らかにすることができると考えられる。

抄録 1 4

全身性血管炎における末梢血小ペプチドの検出

加藤智啓 (聖マリアンナ医科大学 疾患プロテオーム・分子病態治療学)

1) 血管内皮細胞抽出蛋白質を用いて、2次元電気泳動/ウエスタンブロットおよび質量分析を行い、血管炎で出現する抗内皮細胞抗体の対応抗原の検出と同定を行った。150 個強の自己抗原候補を検出し、現在までに 63 個を同定した。大部分は血管炎での自己抗原として報告のないものであった。現在 20 個強について組換え蛋白質を作成し、自己抗原性の確認各種血管炎における出現頻度を検討している。

2) 血管炎の病因病態に関連し、診断的意義を持つペプチドを患者末梢血より探索した。質量 5×10^3 ダルトン以下のペプチドに焦点を当て、疎水性担体結合ビーズを用いてペプチドを回収し、MALDI-TOF 型質量分析器でそれらペプチドピークの質量を検出した。健常人と比べ mPA で特異的に出現するペプチドを複数検出した。現在その同定を試みているとともに、JMAAV 登録の症例群血清についても現在探索を行っている

抗 VEGF-A 抗体、抗 TNF α 抗体投与によるマウス CAWS 誘発冠動脈炎の発症抑制効果に関する病理学的検討

西尾壽乗 1,2、鬼丸満穂 1、藤井浩 1、三浦典子 3、大野尚仁 3、高橋啓 4、鈴木和男 5、原寿郎 2、居石克夫 1

- 1.九州大学大学院医学系学府病態医学専攻病理病態学
- 2.九州大学大学院医学系学府成長発達医学専攻
- 3.東京薬科大学薬学部免疫学教室
- 4.東邦大学医療センター大橋病院病院病理部
- 5.国立感染症研究所生物活性物質部

【目的】 *Candida albicans* 菌体外多糖画分(以下 CAWS)をマウスの腹腔内投与することにより、川崎病類似の冠動脈炎が惹起される。ヒト川崎病患者の血中 VEGF-A 濃度の上昇は多数報告されており、川崎病の病態に大きく関わっていると考えられている。また、難治性川崎病症例に対し、抗 TNF α 抗体投与が行われ改善した症例が報告されている。今回 CAWS 誘発冠動脈炎モデルマウスに対し抗 VEGF-A 抗体および抗 TNF α 抗体投与による冠動脈炎の発症抑制効果について病理学的検討を行った。

【方法】 C57B6/L(5week)に CAWS 4mg/day、5日間腹腔内投与を行い、投与後5週目に病理学的評価を行った。抗 VEGF-A 抗体あるいは抗 TNF α 抗体を腹腔内投与および浸透圧ポンプを用い、CAWS 投与終了後から1週間かけて計 300 μ g の持続投与を行った。病理学的評価は大動脈弁レベルの冠動脈および大動脈の炎症細胞浸潤および弾性線維障害の程度、内膜肥厚の有無をスコアリングした。

【結果】 抗 VEGF-A 抗体投与群(n=7)および抗 TNF α 抗体投与群(n=7)は無投与群(n=8)と比べて有意に炎症細胞浸潤、弾性線維障害の軽減を認め(各 p=0.002、p=0.018)、また抗 VEGF-A 抗体投与群と比べて抗 TNF α 抗体投与群は有意に所見の改善を認めた(p=0.025)。

【結論】 抗 VEGF-A 抗体および抗 TNF α 抗体投与、特に抗 TNF α 抗体投与は、マウス CAWS 誘発冠動脈炎の発症抑制効果があると考えられ、今後川崎病の治療法の一つとして期待できる。

血管炎モデルマウスのMPO-ANCAとそのrisk epitopeの動態

— 急速進行性糸球体腎炎自然発症 SCG/Kj mouse の解析から —

鈴木和男^{1,2}、高橋 啓³

¹千葉大院医免疫発生・炎症制御、²国立感染研 免疫、³東邦大医療センター大橋病院病理

MPO-ANCA 関連血管炎の病態には、MPO-ANCA のリスクエピトープが関与していることをすでに報告した(1-3)。MPO-ANCA 関連血管炎のモデル動物である SCG/Kj マウスは、急速進行性糸球体腎炎(RPGN)を自然発症し、今回、MPO-ANCA を高値を示す。その病態と MPO-ANCA のリスクエピトープとの関連を解析した。

【方法】SCG/Kj マウス (9-10 週令、雌) の血清中 MPO-ANCA 値および、マウス MPO 全長およびヒト MPO H 鎖部分の deletion fragments への相対的な反応の強さにより risk epitopes を測定した。

【結果および考察】SCG/Kj マウスの RPGN の病態に連動して血清中 MPO-ANCA 値が変動した。また、MPO-ANCA のリスクエピトープは、MPO fragments の H 鎖中央部 (H-6) に対応する部分と強く反応することが確認された Risk epitope である H-6 は、RPGN の病態と相関し。さらに、H-6 に反応する MPO-ANCA の IgG subclass は IgG2b を示した。一方、SCG/Kj マウス血清でのサイトカインレベルは、IL-12p40, IL-13 (Th2 type cytokine) が高値を示し、IL-12p70 (Th1 type cytokine) の変動は弱かった。

これらの結果から、SCG/Kj マウスの MPO-ANCA に関連した病態には、MPO-ANCA の risk epitope H-6 (IgG2b subclass, Th2 type IgG) が主に関与することと、Th2 type cytokine 濃度が高値へシフトすることによっていることが示唆された。

【文献】

1. Tomizawa, K., Mine, E., Fujii, A., Y. Ohashi, Y., Yamagoe, S., Ishida-Okawara, A., Y. Hashimoto, Ito, M., Tanokura, M., Yamamoto, T., Arimura, Y., Nagasawa, T., Mizuno, S. and **Suzuki, K.** A panel set for epitope analysis of myeloperoxidase (MPO)-specific anti-neutrophil cytoplasmic antibody MPO-ANCA using recombinant hexamer histidine-tagged MPO Deletion Mutants. *J Clin. Immunol.* 18, 142-152, 1998.
1. Fujii, A., Tomizawa, K., Arimura, Y., Nagasawa, T., Y-Ohashi, Y., Hiyama, T., Mizuno, S. and **K. Suzuki.** Epitope analysis of myeloperoxidase-specific anti-neutrophil Cytoplasmic antibody (MPO-ANCA) associated glomerulonephritis. *Clin. Nephrology* 53, 242-252, 2000.
1. **Kazuo 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.in press.*

ANCA 関連血管炎における I 型インターフェロンパスウェイ遺伝子群の関連解析

土屋尚之¹、川崎綾¹、伊東郁恵¹、古賀農人²、有波忠雄²、尾崎承一³、小林茂人⁴、橋本博史⁴

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 遺伝医学分野、³ 聖マリアンナ医大リウマチ・膠原病・アレルギー内科、⁴ 順天堂大学膠原病内科

最近、全身性エリテマトーデス(SLE)のみならず、関節リウマチ、強皮症、筋炎などにおいても、I 型インターフェロン(type I IFN)系の重要性を示唆する知見が集積している。微生物に対する免疫応答異常が病因の一つの可能性として議論されている血管炎症候群においても、type I IFN パスウェイに関連する遺伝子群は、有力な候補遺伝子といえることができる。

本研究では、SLE において確立した疾患感受性遺伝子であり、最近、ヨーロッパ系集団における Wegener 肉芽腫症(WG)との関連が報告された(Edberg et al., 2007 American College of Rheumatology) interferon regulatory factor 5 (*IRF5*)遺伝子から、連鎖不平衡を考慮して6個所の SNP を選択し、日本人血管炎患者 75 例(うち顕微鏡的多発血管炎[MPA] 49 例、WG 8 例、Churg-Strauss 症候群[CSS] 9 例、古典的結節性多発動脈炎 6 例)および健康対照群 201 例による関連解析を施行した。

患者群全体において、*IRF5* 遺伝子の 3'側約 5kb 下流に位置する SNP (rs2280714)の G/G 遺伝子型頻度が減少していた(患者群 0.147, 対照群 0.259, $P=0.049$)。この関連は、MPA 群単独では有意差に到達せず、むしろ、WG 群および CSS 群における A/A 遺伝子型頻度の増加傾向(WG 0.375, CSS 0.444, 対照群 0.299)に由来する可能性が高いと考えられた。A アリルは *IRF5* mRNA レベルの増加と関連することが報告されているアリルであることから、ヨーロッパ系集団における報告同様、WG における *IRF5* の役割を示唆する可能性を支持するものと考えられる。

また、より網羅的に type I IFN パスウェイの関連解析を施行する目的で、type I IFN 系の 55 遺伝子から連鎖不平衡を考慮して 384 SNP を選択し、カスタムアレイの作成を完了した。現在、これらの SNP のタイピングデータを取得中であり、年度末までに統計解析を含めた関連解析を完了する予定である。