

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.

6.宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木克己、猪原登志子、栂田美由紀、三石瑤子、村上善基、古宮俊幸、谷川真理、稲葉カヨ、鈴木和男、藤田哲也 健康人と各種疾患患者の末梢血のセンダイウイルス刺激 IFN- α 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

7.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 関連炎顕微鏡的多発血管炎に合併する悪性疾患症例の解析と IFN- α 産生能からの考察 2006 PASKEN JOURNAL Vol.19 7-11

8.Uno, K., Muso, E., Ihara, T., Komiya, T., Omatsu, Y., Mitsuishi, Y., Inaba, K., Suzuki, K. Comparison of IFN- α 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.1, (Suppl.44) S-90

9.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 α production (IFN-P). 2007 Clinical Exp Rheumatology, vol.25, No.1, (Suppl.44) S-89

10.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.1, (Suppl.44) S-89

11.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-a production & peripheral plasmacytoid dendritic cell counts in healthy subjects & patients with various diseases. 2007 J IFN Cytokine Res. Vol.27, No.8,734

12.T. Ito-Ihara, E. Muso, S. Kobayashi, K. Uno, N. Tamura, Y. Yamanishi, A. Fukatsu, R.A. Watts, D.G.I. Scott, D.R.W. Jayne, K. Suzuki, H. Hashimoto A comparative study of the diagnostic accuracy of ELISA systems for the detection of anti-neutrophil cytoplasm antibodies available in Japan and Europe, Clinical and Experimental Rheumatology, In press

13.宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、八木克己、鈴木和男 MPO-ANCA 腎炎のサイトカイン・ケモ

カイン動態 PASKEN JOURNAL 2007 Vol.20 1-5

- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
- I. 特許取得
なし
- J. 実用新案登録
なし
- K. その他
なし

CAWS 誘発マウス血管炎モデルにおける薬剤投与による血管炎抑制効果

研究分担者 高橋 啓 東邦大学 教授

研究協力者 大原関利章(東邦大)、三浦典子、大野尚仁(東京薬科大)、
大川原明子(国立感染研)、亀岡洋祐(基盤研)、古谷昌弘(積水化学)、
荒谷康昭(横浜市大)、佐地勉(東邦大)、鈴木和男(千葉大、国立感染
研)

研究要旨：*Candida albicans* 菌体由来物質を用いた CAWS 誘発マウス系統的血管炎モデルは冠状動脈、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。本実験系でヒトおよびマウス免疫グロブリンを投与した場合、血管炎発生は抑制される。さらに、マウスおよびヒト由来人工ポリクローナル免疫グロブリン(SyIG)を投与した際の血管炎抑制効果を検討したところ、マウス由来 SyIG、ヒト由来 SyIG とともに汎血管炎の範囲や炎症の程度を軽減化することが可能であった。さらに、近年川崎病などの血管炎疾患に対する新たな治療として試みられている TNF- α 阻害剤に注目し、その効果を検討した。その結果、これら薬剤は本実験で誘発される血管炎を抑制しうることを示された。

A. 研究目的

Candida albicans 由来の菌体成分(CAWS)によるマウス系統的血管炎誘発モデルについて、ヒト免疫グロブリン(h-IG)や人工グロブリン(syIG)などの薬剤投与による血管炎抑制効果を検討する。

B. 研究方法

1. ヒト免疫グロブリンによる血管炎抑制効果

C57BL/6N マウス(4 週齢、雄)に対し、PBS に懸濁した CAWS 4mg を連続 5 日間腹腔内接種した。次いで、h-IG を CAWS 接種 15 分後にシリンジポンプを用いて尾静脈から点滴した。h-IG 投与量は川崎病治療

に準じ、400mg/Kg x 5 日間連続投与と 2000mg/Kg x 1 回投与を設定した(図 1)。実験 28 日目に安楽死させ、直ちに剖検。冠状動脈分岐部を含む心基部大動脈水平断のステップ標本作製し、血管炎の詳細について観察した。

2. 人工ポリクローナルグロブリンによる血管炎抑制効果

C57BL/6N マウス(4 週齢、雄)に同様の操作で CAWS 4mg を連続 5 日間腹腔内接種した。実験 3 日目から 5 日間、CAWS 接種後に古谷らが作製したマウスおよびヒト由来人工ポリクローナルグロブリン(m-SyIG、h-SyIG)を尾静脈から点滴投与した。

実験 28 日目に安楽死させ、直ちに剖検。

冠状動脈分岐部を含む心基部大動脈水平断のステップ標本を作製した。

3. TNF- α 阻害剤による血管炎抑制効果

C57BL/6N マウス(4 週齢, 雄)に対し同様に CAWS 4mg を連続 5 日間腹腔内接種した。次いで、インフリキシマブおよびエタネルセプトを複数回、腹腔あるいは皮下投与した。実験 28 日目に安楽死させ、剖検。大動脈起始部および冠状動脈のステップ標本を作製し、病理組織学的に検討した。

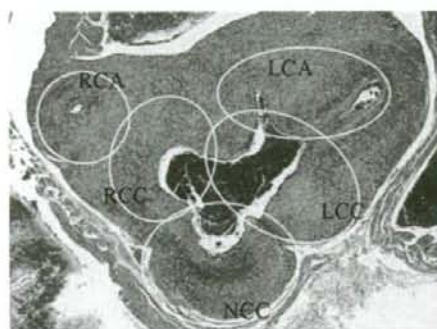


写真 1 血管炎組織像

5つのセグメント全てに汎血管炎をみる

C. 研究結果

1. ヒト免疫グロブリン投与による血管炎抑制効果

対照(未治療)群における汎血管炎の発生頻度は 86%であったが、*h-IG* の 400mg x 5 日間連続投与では発生頻度は 40%に減少した。一方、*h-IG* 2000mg/Kg, 単回投与では実験初日、3 日目いずれに投与しても汎血管炎を抑制することは出来なかった(表 1)。

	Incidence
non-treatment (control)	32/37 (86%)
<i>h-IG</i>	8/20 (40%)
single <i>h-IG</i> , 1st day	8/10 (80%)

single *h-IG*, 3rd day 7/10 (70%)

表 1 *h-IG* 投与による血管炎発生頻度

大動脈起始部および冠状動脈に汎血管炎が生じた場合、いずれの群でも増殖性肉芽腫性炎症が観察され、顕微鏡的観察において明らかな組織学的差異は見出せなかった。

次いで、炎症の程度を、1) 血管壁に炎症が存在しない、2) 炎症細胞浸潤が内膜に限局する、3) 炎症細胞浸潤が内膜と外膜に限局する、4) 汎血管炎に分け、マウスごとに詳細を検討した結果、汎血管炎の頻度が低下した群では炎症は内膜あるいは内膜と外膜に限局する個体が増加していた。しかし、炎症を認めなかったマウスはいずれの群でも存在せず、*h-IG* 投与で血管炎を完全に抑制することは困難であった。

2. 人工ポリクローナルグロブリン投与による血管炎抑制効果

汎血管炎を認めたマウスの発生頻度は、*m-SyIG* および *h-SyIG* 群と対照群との間で有意差を認めなかった。そこで、心基部を無・左・右冠尖および左・右冠状動脈の 5 つの区域に分け、汎血管炎が観察されたセグメント数を比較した。その結果、高容量の Fv 画分が投与された *SyIG* 群において汎血管炎を有するセグメント数が減少する、つまり、汎血管炎の範囲が限局化される傾向を示した(図 1)。

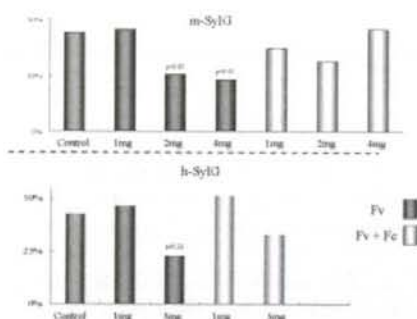


図1 汎血管炎(+)セグメント占有率
(汎血管炎(+)セグメント数/総セグメント数)

さらに、セグメントごとに 1)炎症が存在しない、2)炎症が内膜に限局、3)内膜と外膜に分布、4)汎血管炎の4つの炎症程度に分けて観察した場合、SyIG群で炎症の程度が軽減化していた。

大動脈起始部および冠状動脈に汎血管炎が生じた場合、その組織像はいずれも増殖性肉芽腫性炎症であり、顕微鏡観察の限りでは明らかな差異を見出せなかった。

3. TNF- α 阻害剤による血管炎抑制効果

インフリキシマブ、エタネルセプト投与群共に、対照群と比較して血管炎発生頻度は抑制傾向を示した。血管炎の組織像は対照群との間で差異を見出せなかった。

また、両薬剤共に投与による心筋障害は観察されなかった。

D. 考案

我々は、川崎病剖検例の病理組織学的検索を続ける一方で、*C. albicans*由来の菌体成分を用いたマウス系統的血管炎誘発モデルの検討を続けている。このモデルは冠状動脈、大動脈起始部や腎動脈など

が高頻度に侵襲され、増殖性肉芽腫性炎症を特徴とするなど、川崎病と病理組織学的類似点が多い。

これまでに本実験系にヒトあるいはマウス免疫グロブリンを腹腔内投与すると血管炎発生は抑制されること、本実験系の血管炎発生と血清 MPO-ANCA 値とは密接に関連することなどが判明している。そこで、これまでの方法に改良を加えた CAWS によるマウス血管炎誘発モデルに対し、ヒト免疫グロブリン(*h-IG*)を投与した際の血管炎抑制効果を検討した。その結果、汎血管炎は*h-IG*を投与することで有意に抑制されたが、汎血管炎が抑制された群においても、内膜あるいは内膜と外膜に炎症が生じており、炎症が完全に抑制された個体は見出せなかった。本血管炎モデルにおいて、*h-IG*は炎症の発生を制御するのではなく、血管炎の進展を抑制している可能性がある。

次いで、マウスおよびヒトリンパ球から製造した人工ポリクローナル免疫グロブリン(SyIG)が血管炎発生に及ぼす影響を検討した。この結果、m-SyIG、h-SyIG共に汎血管炎の広がり、ならびに炎症の程度を軽減化させる作用を示した。

最後に、近年川崎病などの血管炎疾患に対する新たな治療として抗サイトカイン療法が試みられている。本実験系においても CAWS 投与後血清 TNF- α が上昇することが示されている。そこで、TNF- α 阻害剤投与による血管炎抑制効果を検討したところ、血管炎の発生や炎症の進展が抑制できた。

E. 結論

本実験系は血管炎の発生機序解明のみな

らず治療効果判定においても応用可能なモデルである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 高橋 啓, 横内幸, 大原関利章:【川崎病 川崎病を総合的に科学する】遠隔期管理 川崎病冠状動脈炎後遺病変の病理, 小児科診療, 69: 1017-1020, 2006
2. Nagi-Miura N, Harada T, Shinohara H, Kurihara K, Adachi Y, Ishida-Okawara A, Oharaseki T, Takahashi K, Naoe S, Suzuki K, Ohno N: Lethal and severe coronary arteritis in DBA/2 mice induced by fungal pathogen, CAWS, *Candida albicans* water-soluble fraction. *Atherosclerosis* 186: 310-320, 2006
3. Shinohara H, Nagi-Miura N, Ishibashi K, Adachi Y, Ishida-Okawara A, Oharaseki T, Takahashi K, Naoe S, Suzuki K, Ohno N: Beta-mannosyl linkages negatively regulate anaphylaxis and vasculitis in mice, induced by CAWS, fungal PAMPS composed of mannoprotein-beta-glucan complex secreted by *Candida albicans*. *Biol Pharm Bull.* 29:1854-1861. 2006.
4. Takahashi K, Oharaseki T, Naoe S, et al. Neutrophilic involvement in the damage to coronary arteries in acute stage of Kawasaki Disease. *Periatr Int*, 47:305-10, 2005
5. 佐地 勉、監物 靖、高月晋一、嶋田博光、中山智孝、松裏裕行、高橋 啓: 川崎病の血管病変、リウマチ科、34:64-73、2005
6. AH Rowley, SC. Baker, ST Shulman, LM Fox, K. Takahashi, FL Garcia, SE Crawford, P Chou, JM Orenstein: Cytoplasmic inclusion bodies are detected by synthetic antibody in ciliated bronchial epithelium during acute Kawasaki disease. *JID*, 2005: 192, 1757-66
7. Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, Naoe S, Jenette JC : Kawasaki Disease Arteries and Polyarteritis Nodosa. *Pathology Case Reviews*. 12:193-199, 2007.
8. 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
9. 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
10. 高橋 啓: 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.

11. 大原関利章、横内 幸、伊原文恵、若山 恵、高橋 啓: 急性期川崎病血管炎の病理. 東邦医会誌 55 : 129-131, 2008
12. Rowley AH, Baker SC, Shulman ST, Garcia FL, Fox LM, Kos IM, Crawford SE, Russo PA, Hammadeh R, Takahashi K, Orenstein JM.: RNA-containing cytoplasmic inclusion bodies in ciliated bronchial epithelium months to years after acute Kawasaki disease. *PLoS ONE*. 2008 Feb 13;3(2):e1582.
13. 大原関利章、横内 幸、高橋 啓: 川崎病の最近の病因論. 小児内科 41: 21-25, 2009
14. 高橋 啓、大原関利章、横内 幸: 冠状動脈病変の病理. 小児内科 41: 30-33, 2009
15. Kato H, Takahashi K: Kawasaki's disease. (GV Ball and SL Bridges ed.) *Vasculitis*, 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2008. p373-389

2. 学会発表

国際会議

1. 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
2. Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, Naoe S: Pathological characteristics of systemic vascular lesion of Kawasaki disease and other vasculitis syndrome. Ninth International Kawasaki Disease Symposium, Taipei, 2008.4
3. Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, Yamada H, Naoe S, Saji T: Effect of anti-human TNF-alpha monoclonal antibody in mice vasculitis model caused by *Candida albicans* water soluble fraction. Ninth International Kawasaki Disease Symposium, Taipei, 2008.4
4. Oharaseki T, Yokouchi Y, Wakayama M, Ihara F, Yamada H, Naoe S, Takahashi K: Histopathology of late-stage arteritis in animal model of Kawasaki disease. Ninth International Kawasaki Disease Symposium, Taipei, 2008.4
5. Oharaseki T, Yokouchi Y, Wakayama M, Ihara F, Yamada H, Naoe S, Takahashi K: Correlation between post-arteritis lesions and atherosclerosis in animal model of Kawasaki disease. Ninth International Kawasaki Disease Symposium, Taipei, 2008.4

国内会議

1. Okawara A, Miura N, Oharaseki T, Takahashi K, Okada H, Ohno N, Suzuki K: Neutrophil activation by CAWS in different cultured

- condition, 第36回日本免疫学会総会, 2006.12.
2. 高橋 啓, 大原関利章, 山田仁美, 三浦典子, 大野尚仁, 村山 研, 野津朋子, 松村実美子, 大川原明子, 鈴木和男, 新井孝夫, 荒谷康昭: CAWS 誘発血管炎モデルにおける合成免疫グロブリン(SyIG)の血管炎抑制作用 第12回MPO研究会, 大阪, 2006.9
 3. 高橋 啓, 大原関利章, 山田仁美, 三浦典子, 大野尚仁, 村山 研, 野津朋子, 松村実美子, 大川原明子, 鈴木和男, 新井孝夫, 荒谷康昭: CAWS 誘発血管炎モデルにおける合成免疫グロブリン(SyIG)の血管炎抑制作用. 第12回MPO研究会, 大阪, 2006.9
 4. 高橋 啓: 川崎病に対する更なる治療を求めて血管炎の場に局在するサイトカインは何か 第26回日本川崎病研究会, 大阪, 2006.10
 5. 高橋 啓: 小児血管炎症候群における腎病変の病理組織像 (教育講演) 第36回日本腎臓学会東部学術大会, 横浜, 2006.11
 6. 高橋 啓: 小児血管炎の病理 -川崎病を中心として- 第4回秋田県小児膠原病研究会, 秋田, 2007.1
 7. 大原関利章, 横内 幸, 若山 恵, 伊原文恵, 山田仁美, 直江史郎, 三浦典子, 大野直仁, 大川原明子, 鈴木和男, 高橋 啓: 川崎病類似マウス動脈炎における免疫組織学的検討. 第96回日本病理学会総会, 大阪, 2007.3
 8. 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: ステンントに対するアレルギーの関与が示唆された冠状動脈炎の1剖検例. 第96回日本病理学会総会, 大阪, 2007.03
 9. 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
 10. 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
 11. 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
 12. 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
 13. 高橋 啓, 大原関利章, 横内 幸, 若山 恵, 伊原文恵, 直江史郎, 提嶋眞人, 小泉ひろみ: 急性期川崎病冠状動脈瘤破裂の1例. 第97回日本病理学会総会, 金沢, 2008.05
 14. 高橋 啓, 大原関利章, 横内 幸, 直江史郎: 系統的血管炎としての川崎病. 第14回MPO研究会, 東京, 2008.10
 15. 大原関利章, 横内 幸, 若山 恵, 伊原文恵, 山田仁美, 直江史郎, 高橋 啓: 川崎病類似マウス動脈炎モデルにおける遠隔期血管病変の組織学的検討. 第97回日本病理学会総会, 金沢, 2008.05
 16. 大原関利章, 横内 幸, 若山 恵, 伊原文恵, 山田仁美, 直江史郎, 高橋 啓: 川崎病類似マウス動脈炎モデルにおける血管炎癥痕と粥状硬化症の病理組織学的検討. 第97回日本病理学会総会, 金沢, 2008.05
 17. 大原関利章, 横内 幸, 若山 恵, 伊原文恵, 山田仁美, 佐地勉, 直江史郎, 高橋 啓: 川崎病動脈炎モデルにおける抗 TNF- α 療法の血管炎抑制効果の検討. 第28回日本川崎病研究会, 札幌, 2008.10
- 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

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

研究分担者 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：野生型マウスとミエロペルオキシダーゼのノックアウトマウス(MPO-KO マウス)に真菌(*Cryptococcus neoformans*)を肺感染させると、MPO-KO マウスの方が著しく重篤な肺炎を誘発して早期に死亡した。感染 7 日目の MPO-KO マウス肺は野生型に比べて IL-4 値が高く、IL-2, IL-12, IFN- γ 値は低値を示した。また、34 日目の MPO-KO マウスでは、IL-1 α / β 量の増加も観察された。興味深いことに、好中球機能異常による肺炎の誘発は、生菌感染時だけに限らなかった。すなわち、酵母菌体膜成分であるザイモザンを食細胞 NADPH-オキシダーゼ欠損マウス(CGD マウス)の肺に投与すると、投与後 6 日目には野生型マウスよりも著しく重篤な好中球性の肺炎を呈した。以上より、白血球由来の活性酸素産生が欠如すると、生菌でも菌体抽出物刺激でも好中球性の肺炎を発症しやすくなることが示された。

A. 研究目的

活性化した好中球は、NADPH オキシダーゼを触媒として、酸素 (O_2) からスーパーオキシド ($\cdot O_2^-$) を産生する。 $\cdot O_2^-$ は、自発的あるいはスーパーオキシドジスムターゼの触媒により過酸化水素 (H_2O_2) に代謝される。さらに H_2O_2 は、ミエロペルオキシダーゼ(MPO)を触媒として塩化物イオン (Cl^-) と反応し、次亜塩素酸 ($HOCl$) に代謝される。本研究は、MPO 欠損マウス(MPO-KO マウス)や食細胞 NADPH オキシダーゼの欠損マウス(CGD マウス)を用い、好中球からの活性酸素産生が炎症疾患の発症にどのように関与しているのかを知ることを目的とした。

B. 研究方法

C57BL/6 マウス(野生型マウス)は日本 SLC

から購入した。MPO-KO マウスは、C57BL/6 マウスに戻し交配したマウスを用いた。CGD マウスは、インディアナ大学 Dr. M. Dinauer から分与を受けた。いずれも、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 8-10 週令の雌マウスを使用した。

感染実験に際しては、国立感染症研究所動物実験規則を遵守した。クリプトコッカス真菌 (*Cryptococcus neoformans*, ATCC 24067) を野生型マウスおよび MPO-KO マウスに鼻腔内投与した。肺ホモジネートのサイトカイン/ケモカイン量の測定は、Bio-Plex (BIO-RAD) を用いて国立感染症研究所において行った。

ザイモザン投与実験では、市販ザイモザンを PBS に懸濁し、各マウスに麻酔下で経鼻的に肺に投与した。投与後の肺症状の経時変化を解剖学的および病理学的に観察するとともに、

肺胞洗浄によって回収された炎症細胞数を計測した。さらに、その細胞種をフローサイトメトリーで同定した。

(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。やむを得ず動物を殺す際には、頸椎脱臼法もしくはエーテル麻酔法で安楽死させた。

C. 研究結果

1) クリプトコッカス感染実験

野生型および MPO-KO マウスにクリプトコッカスを肺感染させると、感染後 1 週間以内の初期段階では、MPO 欠損による易感性は認められないが、その後、MPO-KO マウスの生存率が野生型よりも低下し、肺の残存菌数が野生型マウスよりも高くなり、より重篤な肺炎を発症することが観察できる。このように感染後しばらく日数を経てから、MPO-KO マウスの易感性が現れる理由を知るために、感染後 7 日目と 34 日目のマウスの肺における各種サイトカインおよびケモカイン量を測定した。感染 7 日目の MPO-KO マウスは野生型肺に比べて IL-4 値が有意に高く、IL-2、IL-12p70、および IFN- γ 値は逆に低値を示した (図 1)。すなわち、Th1 の応答異常が易感性の要因である可能性が示唆された。また、感染 34 日目の MPO-KO マウスでは、IL-1 α と IL-1 β 量の増加も観察された。肺における KC 量は野生型と MPO-KO マウス間で差は認められなかった。

2) ザイモザン投与実験

野生型と CGD マウスにザイモザンを経鼻投与して肺炎を誘発させ、1、3、6、および 30 日目のマウスの肺組織切片像を鏡視した。野生型マウスは、ザイモザン投与後 6 日目までごく軽度の肺炎しか発症しなかったが、CGD マウスは、投与後 1 日目にはすでに野生型マウスよりも重篤になり、6 日目まで経時的に

重篤化し、少なくとも 30 日目まで持続した。肺胞内浸潤細胞を肺胞洗浄で回収して計測したところ、ザイモザン非投与群の細胞数に有意差は認められなかったが、CGD マウスでは、ザイモザン投与後 1 日目にはすでに野生型マウスの約 1.8 倍の細胞が集積した。さらに、6 日目では約 5.6 倍の細胞が集積した (図 1A)。次に、肺に集積した炎症細胞種をフローサイトメトリーで解析したところ、ザイモザン非投与群では、野生型と CGD マウス共に、肺胞中に存在している細胞のほとんどがマクロファージであった。野生型マウスのマクロファージ数は、6 日目まではほぼ一定であったのに対して、CGD マウスでは有意に増加した。しかし、その増加量はごくわずかであった (図 1B)。ザイモザンを投与することによって最も顕著に増加したのは好中球であった。ザイモザン投与後 6 時間目には、野生型マウスではほとんどがマクロファージであったのに対して、CGD マウスでは好中球が集積していた。CGD マウスの好中球数は、6 日目にかけて経時的に著しく増加し、その結果として、6 日目の CGD マウスの好中球数は、野生型マウスの約 7.5 倍となった (図 1C)。以上から、CGD マウスにザイモザンを経鼻投与すると、野生型マウスよりも著しく重篤な好中球性の肺炎が誘発されることが明らかとなった。

D. 考察

クリプトコッカス感染実験では、MPO-KO マウスが *C. neoformans* に易感性を示すメカニズムを解明することを目的とし、肺でのサイトカイン/ケモカイン産生量を測定した。Th1 サイトカインはクリプトコッカス感染防御に必須であるので、MPO-KO マウスの感染 7 日目の IL-2、IL-12p70、IFN- γ のレベルが野生型マウスよりも有意に低値を示したことが、このマウスがクリプトコッカスに

対して易感染性を示す一因であると推察できる。IL-4 は Th1 応答を抑制するので、感染 7 日目の MPO-KO マウス肺で認められた高レベルの IL-4 が Th1 応答を抑制している可能性がある。これらの結果から、MPO の触媒によって産生される次亜塩素酸が、Th1 型および Th2 型の宿主応答を制御していることが示唆され、その制御機構の解明が今後の研究課題として残される。

一方、CGD マウスは、ザイモザン誘発性の好中球性肺炎が野性型マウスに比べて重篤となるという興味深い結果が得られた。つまり、好中球からの O_2^- 産生の欠如は、炎症刺激による肺炎を助長することが示された。好中球からの活性酸素産生が欠如しているマウスに生菌を肺感染させると、殺菌力の低下に伴い重篤な肺炎が生じることは前述の通りであり、活性酸素が生体防御に非常に重要であることがわかる。ところが、ザイモザンを投与して肺炎を誘発させても、CGD マウスの方が重篤な肺炎を発症するということは、好中球からの活性酸素産生が欠如すると、生菌だけでなく菌体成分に暴露されるだけで炎症が重篤化することを意味する。今後、この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、炎症疾患の発症機序の解明の一助になると考えられる。

E. 結論

好中球からの活性酸素産生を欠如する好中球機能異常マウスは、クリプトコッカス肺感染によって Th1/Th2 バランスの乱れが生じ、重篤な肺炎を発症することが判明した。また、好中球からの活性酸素産生異常マウスは、生菌だけでなく菌体成分に暴露されるだけで炎症が重篤化するリスクを有していることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Ishida-Okawara, A., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H: Contribution of the myeloperoxidase- dependent oxidative system to host defense against *Cryptococcus neoformans*. J. Med. Microbiol. 55:1291-1299 (2006).
- 2) Komatsu, J., Koyama, H., Maeda, N., and Aratani, Y.: Earlier onset of neutrophil- mediated inflammation in the ultraviolet- exposed skin of mice deficient in myeloperoxidase and NADPH oxidase. Inflamm. Res. 55: 200-206 (2006)
- 3) 荒谷康昭: 真菌感染と好中球ミエロペルオキシダーゼ。日本医真菌学会雑誌. 47, 195-199 (2006)
- 4) 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)
- 5) 荒谷康昭 (分担): ミエロペルオキシダーゼ (MPO) の抗菌活性。臨床検査 (医学書院) 51, 1121-1125 (2007)
- 6) 荒谷康昭 (分担): 好中球 myeloperoxidase の役割。生体防御医学事典 (朝倉書店) 145-149 (2007)
- 7) 荒谷康昭 (分担): 好中球機能異常による呼吸器不全-ミエロペルオキシダーゼ欠損を中心の一。医学のあゆみ (医歯薬出版) 224, 861-862 (2008)
- 8) 荒谷康昭 (分担): 真菌・細菌感染防御の鍵: 好中球 Myeloperoxidase。細胞 (ニューサイエンス社) 41, 56-59 (2009)

2. 学会発表

国際会議

1) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Okawara, A., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H: *In vivo* role of myeloperoxidase for the host defense against fungal infection. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Japan (2006)

2) 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).

国内会議

1) 荒谷康昭, 倉文明, 渡辺治雄, 高野幸枝, 大川原明子, 鈴木和男, 小山秀機: クリプトコッカス感染防御におけるミエロペルオキシダーゼの関与。第27回関東医真菌懇話会, 2006年5月, 東京

2) 荒谷康昭, 倉文明, 渡辺治雄, 高野幸枝, 大川原明子, 鈴木和男, 小山秀機: ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのクリプトコッカス感染防御能の解析。第17回日本生体防御学会学術集会, 2006年7月, 札幌

3) 小林美登里, 松村実美子, 長尾朋和, 荒谷康昭, 星野昭芳, 大川原明子, 山本健二, 南谷晴之, 鈴木和男: 血管炎発症に関わるMPO-ANCAは直接糸球体内皮細胞へ作用する。第17回日本生体防御学会学術集会, 2006年7月, 札幌

4) 荒谷康昭, 倉文明, 渡辺治雄, 赤川久義, 高野幸枝, 大川原明子, 鈴木和男, 小山秀機: クリプトコッカス感染防御におけるMPO-H202-C1系の関与。第12回MPO研究会, 2006年9月, 大阪

5) 高橋 啓, 大原関利章, 山田仁美, 三浦典子, 大野尚仁, 村山 研, 野津朋子, 松村実美子, 大川原明子, 鈴木和男, 新井孝夫, 荒谷康昭: CAWS誘発血管炎モデルにおける合成免疫グロブリン(SyIg)の血管炎抑制作用。第12回MPO研究会, 2006年9月, 大阪

6) 古谷昌弘, 荒谷康昭, 亀岡洋祐, 大野尚仁, 鈴木和男: 人工ポリクローナル免疫グロブリンの開発。第12回MPO研究会, 2006年9月, 大阪

7) Kobayashi, M., Nagao, T., Okawara, A., Aratani, Y., Hoshino, A., Yamamoto, K., Minamitani, H., and Suzuki, K.: Glomerular endothelial cell activation in vasculitis induced by anti-myeloperoxidase antibody and activated neutrophils. 第36回日本免疫学会学術集会, 2006年12月, 大阪

8) 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

9) 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

10) 梅木 祐, 瀬田玄樹, 西川なつき, 鈴木和男, 荒谷康昭: Zymosan誘発性肺炎におけるMyeloperoxidaseの役割。第14回MPO研究会, 2008年10月, 東京

11) 長尾朋和, 松村実美子, 荒谷康昭, 中山俊憲, 南谷晴之, 鈴木和男: MPO-ANCAによる糸球体血管内皮細胞の好中球走化性因子の発現。第14回MPO研究会, 2008年10月, 東京

12) Umeki, Y., Nishikawa, N., Suzuki, K., Aratani, Y.: Myeloperoxidase deficiency promotes zymosan-induced acute lung inflammation. 第38回日本免疫学会学術集会, 2008年12月, 京都

13) Nishikawa, N., Umeki, Y., Aratani, Y.: Phagocyte NADPH-oxidase deficiency promotes zymosan-induced acute lung inflammation. 第38回日本免疫学会学術集会, 2008年12月, 京都

14) Nagao, T., Aratani, Y., Nakayama, T., Suzuki K.: Secretion of neutrophil chemotactic factors from glomerular endothelial cells by anti-myeloperoxidase antibody. 第38回日本免疫学会学術集会, 2008年12月, 京都

15) 荒谷康昭, 梅木 祐, 西川なつき, 戸塚彩子, 吉田后那, 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誘発性肺炎の促進。日本農芸化学会2008年度大会, 2009年3月, 福岡(予定)

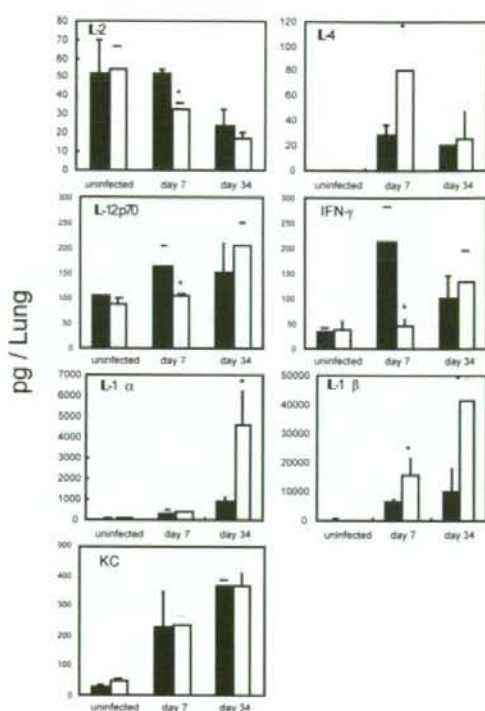


図1 クリプトコッカス感染後7日目および34日目における肺のサイトカイン、ケモカイン産生量 黒：野生型、白：MPO-KO。*、 $P < 0.05$

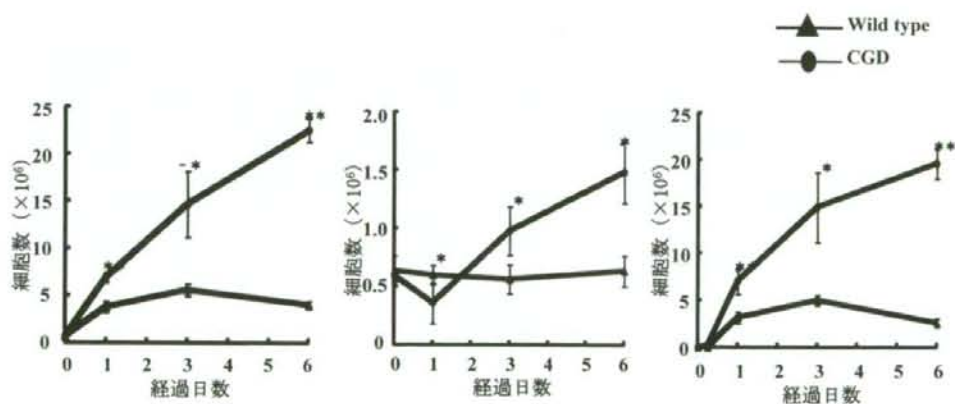


図2 肺胞洗浄液中のA) 全細胞数、B) マクロファージ数、C) 好中球数
* $P < 0.05$ 、** $P < 0.001$

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治療の有効性の確立にむけて

研究分担者 武曾恵理 財団法人田附興風会北野病院医学研究所・腎臓内科 副所長
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
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 教授

MPO-ANCA 関連MPAに伴うRPGNへのIVIg 療法の効果に対する二重盲検調査班

今井園裕:大阪大学医学部付属病院腎臓内科准教授

山縣邦弘:筑波大学付属病院腎臓内科教授

有村義宏:杏林大学医学部付属病院第一内科教授

湯村和子:自治医科大学腎臓内科教授

橋本博史:順天堂大学名誉教授

研究要旨:免疫グロブリンの大量療法(IVIg)は多くの難治性免疫疾患の免疫修飾療法として使用されており、その臨床的有用性は示唆されているが、多くの献血者からの提供によっており感染性、量的確保の困難性など、人工化が待たれている。一方、人工化がなった後の、IVIgの有効性確認の系の確立は、究極の本剤の有用性の確認に必須である。従来から、IVIgの有効性が確認され、広くその治療に用いられている川崎病については、対象が小児であることもあり、有効性確認の系として、不適切である。一方、同じ血管炎でも高齢者に多い MPO-ANCA 陽性の顕微鏡的多発血管炎(MPA)では、重篤な急速進行性糸球体腎炎は頻発するが、大量ステロイドなどの免疫抑制剤で克服できない感染症や臓器障害を避けるため、治療初期に大量の免疫グロブリン治療(IVIg)を行い、その免疫修飾能により、寛解に持ち込むことが可能であり、その有効性をこの班の臨床分科会を中心に、報告してきた。IVIgの有効性が確実にあれば、この系で人工化免疫グロブリンの有効性の検討が可能となると考えられる。このため、今期では、本分科会員が協力し、H17年度より施行した多施設によるIVIgのステロイド治療またはプラセボの同時投与によるプラセボ対象二重盲検試験の結果を検討した。結論として、急速進行性糸球体腎炎の腎機能の改善に、ステロイドへのIVIgの上乗せ効果は明らかにすることはできなかった。今後の方向性として、MPAの血管炎としての全身的な病態への効果を検討することとし、新たなプロトコールの検討に入った。さらに、IVIgの効果の免疫学的検討を、おもに血中サイトカインの動向でおこなって一定の成果をあげた。今後人工グロブリンの血管炎への効果発現の指標として、使用できる可能性を追求している。

I. 臨床治験:MPO-ANCA 陽性 MPA にともなう RPGN 患者を対象とした経静脈的免疫グロブリン大量療法(IVIg)の有効性に関する前期第 II 相探索試験の結果と今後の方針

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発症後急速に腎機能が低下するとともに血管炎に伴う腎外の全身兆候が発現することにより重篤な経過をたどる疾患であり、治療には初期から大量ステロイド療法を含む強力な免疫抑制療法が必要となる。腎臓を巻き込む微小血管炎の中でも Wegener 肉芽腫症に比べ、MPA はわが国での発症割合は圧倒的に高く、緯度の高い欧米との対比が際立っている。その予後を悪くしている感染症の発症を防ぎ、免疫能を抑制することなく、修飾することで、寛解に持ち込み、予後を改善する可能性のあるIVIg 大量療法の効果について、単独療法の効果はすでに報告してきた。その後、ステロイドとIVIgおよびプラセボの同時投与による無作為前向き比較試験に臨床分科会員が協力し、IVIgのステロイド治療への上乘せ効果の検討をRPGNの主に腎機能改善度について行った。すなわちMPO-ANCA陽性でRPGN(臨床学的重症度:Grade I又はII)と確定診断された患者を対象に、急速進行性腎炎症候群の診療指針を基準とした治療を行うと共に、治験薬^{*}を5日間連日投与(0,400 mg/kg/日)し、有効性及び安全性を探索した。

B. 方法(詳細については、H15-17年度報告書に譲る)

【フェーズ】

前期第II相探索

【デザイン】

プラセボ対照・無作為化・多施設共同・二重盲検

並行群間比較試験

※被験薬:静注用免疫グロブリン製剤

対照薬(プラセボ):日本薬局方生理食塩液

【対象疾患と選択基準】

我が国の急速進行性糸球体腎炎診療指針作

成合同委員会作成の診療指針で、決定された確定診断方法によりRPGNと確定診断された患者を対象とする。本治験への参加に対する文書同意が得られた対象患者で、次の1)~4)の基準を全て満たす患者

1) MPO-ANCA陽性

2) 臨床学的重症度^{*}がGrade I又はII

3) 治験参加の同意取得時点において、年齢が20歳以上

4) 治験薬投与期に入院が可能

【治験のスケジュール】

ステロイド療法など、急速進行性腎炎症候群の診療指針を基準とした治療を行うと同時に、治験薬を5日間連日投与し、その後6箇月間観察実施

【評価項目】

有効性評価項目

・Cre, 1 / Cre, BUN, BVAS, CRP,

MPO-ANCA,透析に至るまでの日数等

安全性評価項目

・治験薬投与後の有害事象

【治験実施医療機関】

20施設

【目標症例数】

被験薬投与群 16例

対照薬投与群 8例 計24例

【生命倫理に関する確認】

すべての施設での倫理委員会を通過した上で、患者にはインフォームドコンセントを文書でとっておこなわれた。

C. 結果

【登録症例の内訳】

- ・ 25症例(実薬16症例、プラセボ9症例)
- ・ 年齢:60歳以下3例、60-70歳代11名、70歳以上11名
- ・ Cr値:3.0mg/dl以下17名、3.0-6.08名

- ・ 肺病変11例
- ・ RPGN grade I:9例、gradeII:16例
- ・ 初発症例(22例)、再発症例:3例
- ・ IVIg およびプラセボの有害事象は皆無

【結果】

- ・ 腎機能改善度における両群間での有意な差なし。
- ・ BVASスコア:実薬群で一時的に有意に低下
- ・ 重篤な感染症は全例で発症なし。

D. 考察

今回プラセボを対象とする二重盲検により、IVIgのステロイド治療との同時投与の形で、プラセボとの比較をおこなうRTCを協力した。また、症例はRPGNを伴う形ながら、Grade I-IIと比較的軽症症例に限った。プラセボのみでの治療期間は、倫理上不可能であること、また同様の理由で、軽症症例に限ったことが、特徴である。結果的に、腎機能改善をエンドポイントに置いた系では、有意なIVIgのステロイドへのの上乗せ効果は検証できなかった。一方、BVASは疾患活動性を表すが、この指標では、実薬群の有意な低下を一か月で検証できた。このことから、次回のプロトコールの立て方の工夫として

- 1) 対象症例:MPA全症例(肺、消化管など全臓器を巻き込んだ血管炎症例も対象とする)
- 2) プロトコル案
プロトコル 1:発症期症例
プロトコル 2:ステロイド治療抵抗症例

例

プロトコル 3:再燃例のみ

を考え、プロトコルの作成を行っている。一方、薬剤投与の安全性については、今回の治験で明らかにされた。

E:結論:病初期のRPGNをともなうMPAに対するIVIgのステロイド治療へのの上乗せ効果はこのプロトコルでは不明ながら、活動性の制御は有意に確認された。また安全性も問題はなかった。

さらなるプロトコルの整備と、腎臓内科のみならず、膠原病科、肺疾患などの分野の参加による体制作りに取り組む必要があり、すでに参加者を特定して検討に入った。

II. MPO-ANCA 陽性 MPA にともなう RPGN

患者を対象とした経静脈的免疫グロブリン大量療法(IVIg)の効果発現機序における血中サイトカインの動向

A. 研究目的

MPO-ANCA 陽性 MPA にともなう RPGN 患者を対象とした IVIg療法の効果発現機序の免疫学的背景につき、急性期にはサイトカインストームとも称される、各種炎症性サイトカイン・ケモカインがおびただしく血中に発現する。その発現の背景にはサイトカインの産生能力の障害も示唆されている。IVIgによるこれらへの免疫修飾作用を検討する。

B.対象と方法:血中サイトカインについては、14症例のIVIg前後での血中濃度の変化をBioplex法にて検証した。IFN α 産生能は全血法で、ウィルス刺激による上清のバイオアッセイを行うことにより検定した。活動期治療前23症例(男性11名、女性12名;平均年齢70.5 \pm 11.5才)と、平均年齢をマッチングした正常老年人46名(男性22名、女性24名)を対象とした。また、一部症例については、IVIg前後での検討を行った。

C. 研究結果

C-1. 炎症性サイトカインのIVIg前後での変動(表)

H20年度報告にもあるが、治療前で多くのサ

サイトカイン・ケモカインの増加がみられいわゆる
(表)

Cytokine profile before and after IVIg				
Cytokines	n	Before IVIg (pg/ml)	After IVIg (pg/ml)	p-value Wilcoxon signed rank test
TNF- α	14	40.5 \pm 15.5	27.4 \pm 6.3	0.004
MCP-1	14	166.6 \pm 53.0	129.8 \pm 34.6	0.272
MIP-1 β	14	156.9 \pm 29.1	140.6 \pm 18.1	0.424
IFN- γ	14	383.7 \pm 281.8	236.7 \pm 142.1	0.730
GM-CSF	14	20.2 \pm 12.9	11.5 \pm 5.3	0.224
G-CSF	14	372 \pm 281	251 \pm 151	0.379
IL-1 β	14	18.2 \pm 13.7	8.5 \pm 4.6	0.829
IL-2	14	77.9 \pm 37.6	54.3 \pm 23.7	0.900
IL-4	14	OOOR<	OOOR<	
IL-5	14	17.8 \pm 14.5	12.7 \pm 9.7	0.041
IL-6	14	73.9 \pm 23.1	30.7 \pm 10.2	0.002
IL-7	14	111.4 \pm 102.2	65.0 \pm 55.4	0.730
IL-8	14	69.7 \pm 59.9	18.7 \pm 2.3	0.041
IL-10	14	14.4 \pm 8.8	6.3 \pm 2.4	0.064
IL-12p70	14	945 \pm 938	348 \pm 337	0.090
IL-13	14	101.7 \pm 68.7	101.8 \pm 75.3	0.180
IL-17	14	14.0 \pm 0.7	13.5 \pm 0.6	0.576

OOOR<, Out of range below; data \pm SEM

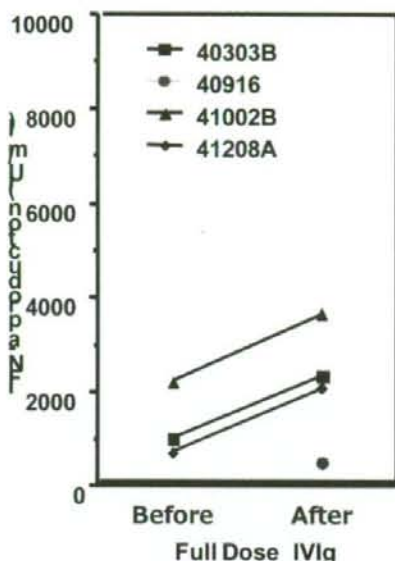
サイトカインストームの状況であるが、これはIgA腎症などと比し、際立っていた。IVIg後では、表に示すようにすべてのサイトカインで低下がみとめられ、特にTNF α 、IL8、IL6の低下は有意であった。

C-2. IFN α 産生能の変動

多くのサイトカインが発現している一方、全血のサイトカイン産生能の検討では、IFN α 産生能は健常人に比較して有意に低下していた(図)。一方、IVIg 前後の産生能の変化では大量療法 3 症例はすべて、治療後に IFN α 産生能の上昇をみたが、小量群では 4 例中 2 例でしか、上昇しなかった。

D. 考案

MPO-ANCA陽性顕微鏡的多発血管炎では急速進行性糸球体腎炎を呈する活動期には炎症性サイトカインは有意に上昇した。この系では、多くのサイトカインを同時に測定することで、この系で動くものとそうでないものが区別でき、その内容を見ることで、末梢血IFN α 産生能の異常低値を呈した。この異常は一部IVIgで是正されその免疫修飾能が一部証明された。IFN α 産生不全と易感染性の関連がすでに他の疾患での以前の研究で指摘されていることから、MPO-ANCA腎炎患者の易感染性の一因として、IFN α 産生不全との関連



(図) Effect of Full Dose IVIg on production and plasma levels of IFN α

を考える事ができる。また、IVIgがこの系の抑制を是正したことは、本療法の作用機序の一端を示している可能性がある。

今後、人工グロブリンの開発後の治療効果判定に、これらの活動性に特化したサイトカイン類を動向をみることで、その病変抑制につながる免疫修飾能を検定することが可能性を示唆し、さらに症例を加えて、検討を続けることとした。

E. 結論

MPO-ANCA陽性顕微鏡的多発血管炎の急性期にはサイトカインストームの様相を呈し、これにかかわる免疫細胞の異常も示唆されているが、IVIgはこれらの免疫異常を就職する能力がある。

F. 健康危険情報

特になし

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 Rheumatol* ;(26(6):1027-33, 2008)
2. Watts RA, Scott DG, Jayne DR, Ito-Ihara T, Muso E, Fujimoto S, Harabuchi Y, Kobayashi S, Suzuki K, Hashimoto H. : Renal vasculitis in Japan and the UK--are there differences in epidemiology and clinical phenotype? *Nephrol Dial Transplant* ;23(12):3928-31, 2008
3. 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* 12 277-291 2008
4. 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
5. 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
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, Suzuki K: Trafficking of QD-conjugated MPO-ANCA in Murine Systemic Vasculitis and Glomerulonephritis model mice. *Microbiol. Immunol* 51(5):551-66, 2007
7. 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.

8. 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.
9. Shimosawa 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
10. 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.

(和文論文)

1. 古宮俊幸, 辻井知美, 石床 学, 田原佐知子, 米本智美, 塚本達雄, 武曾恵理: 血液透析導入時にヘパリン起因性血小板減少症をきたした関節リウマチの2症例. *透析会誌* 41(9):627-633 2008
2. 武曾恵理: ガンマグロブリン大量療法による血管炎に対する効果. *特集 血管炎の診療に役立つ新たな知見 リウマチ科* 40(1):44-52 2008
3. 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
4. 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
5. 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 32. 血尿. *臨床研修プラクティス* 4(2):72-73, 2007
6. 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- α 産生能からの考察. *PASKEN JOURNAL* 7-11, 2007
7. 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, 深津教司, 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
8. 猪原登志子, 大川原明子, 鈴木和男: 腎機能の増悪にて診断に至った MPO-ANCA "偽"陰性の顕微鏡的多発血管炎一例—MPO-ANCA 陽性度の測定法による heterogeneity について—*Pharma Medica* 24(5):122, 2006
9. 武曾恵理: ANCA 関連血管炎に対する γ グロブリン大量療法—臨床症例のまとめと、前期第 II 相試験の進捗状況—. *厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 進行性腎障害*

- に関する調査研究 平成17年度総括・分担研究報告書 76-84, 2006
- 武曾恵理:MPO-ANCA 陽性血管炎に対する経静脈的大量γグロブリン (IVIg) 療法 医学のあゆみ 214(1):113-119, 2006
- (著書)
- 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
 - 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γ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 (国内発表)
- 武曾恵理: 難知性血管炎・ネフローゼ症候群の治療の動向 第 13 回岡山ネフローゼ研究会 2009.1.28(岡山)
 - 猪原登志子、武曾恵理、小林茂人、宇野賀津子、田村直人、山西裕司、深津敦司、Richard Watts、David Scott、David Jayne、鈴木和男、橋本博史: 日本・欧州におけるANCA測定法の違いに関する検討 第 14 回MPO研究会 2008.10.24 (東京)
 - 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、IgA 腎症患者、健康人の血漿中、サイトカイン・ケモカインと IFN- α 産生能の比較 第 14 回MPO研究会 2008.10.24(東京)
 - 武曾恵理、伊藤彰彦、奥崎大介、小林茂人、岩崎由加子、古宮俊幸、橋本博史、鈴木和男、野島博:MPO-ANCA 陽性顕微鏡的多発血管炎 (MPA) の血液細胞での M-ficolin 転写誘導と腎での陽性細胞の局在 第 14 回MPO研究会 2008.10.24(東京)
 - 立石悠、糟野健司、佐藤有紀、近藤尚哉、米倉由利子、飛野杏子、古宮俊幸、福内史子、米本智美、塚本達雄、武曾恵理:C 型肝炎に合併しステロイドが奏功した ANCA 陰性急速進行性糸球体腎炎の一症例 第22回京都腎臓セミナー 2008.9.20(京都)
 - 武曾恵理、宇野賀津子、城謙輔、岩崎由加子、塚本達雄、古宮俊幸、糟野健司、鈴木和男: 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運動性の検討 第51回日本腎臓学会学術総会 2008.5.30(福岡)
 - 小野孝彦、下沢真木子、泊裕輝、大塚秀隆、劉寧、北村久代、上村和秀、野垣文昭、森典子、武曾恵理、吉田治義:HIGA マウスは Toll-like receptor 4 を発現し、LPS 投与により凝固系活性化を介して腎炎を増悪する 第51回日本腎臓学会学術総会 2008.5.30(福岡)
 - 城謙輔、小池健太郎、中里毅、杉山隆夫、武曾恵理、湯村和子:MPO-ANCA 関連血管炎の腎病変パラメーターと臨床情報との関連 第51回日本腎臓学会学術総会 2008.5.30(福岡)
 - 武曾恵理、城謙輔、湯村和子、杉山隆夫、小池健太郎、中里毅:MPO-ANCA 関連血管炎の腎病理所見パラメーターの有用性の検討 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 進行性腎障害に関する調査研究 平成 19 年度研究業績発表会 2008.1.27(東京)
 - 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) 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)
 - 岡岡洋祐、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)
 - 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)
 - 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 α 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)
 - 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)
 - 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)
 - 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)
 - 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)
 - 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 α 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)
 - 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)
20. 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)
 21. II 相試験の進捗状況~ 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 進行性腎障害に関する調査研究 平成17年度研究報告会 2006.1.29(東京)
 22. 武曾恵理: Clinical Trial of IVIg in MPO-ANCA related microscopic polyangitis (MPA) with rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN) インターナショナルシンポジウム「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」 2006.2.7 (東京)
 23. 武曾恵理: 難治性血管炎の病態と免疫修飾治療の展望~好中球細胞質抗体(ANCA)陽性腎炎・血管炎を対象として~ Pasken セミナー(ルイ・パスツール医学研究センター) 2006.4.5(京都)
 24. 武曾恵理: γ グロブリン大量療法 第49回日本腎臓学会学術総会 2006.6.14~16(東京)
 25. 猪原登志子、古宮俊幸、宇野賀津子、田原佐知子、辻井知美、塚本達雄、小野孝彦、深津敦司、北 徹、鈴木和男、武曾恵理: ANCA 関連腎炎におけるIL-12とIL-18の動態 第49回日本腎臓学会学術総会 2006.6.14~16(東京)
 26. 古宮俊幸、岩崎由加子、浅田秀基、杉下岳詩、辻井知美、田原佐知子、塚本達雄、武曾恵理: HIGA マウスにおけるIL12誘導系球体修飾での酸化ストレス及びサイトカインに対するAngiotensin II receptor blockerの影響 第49回日本腎臓学会学術総会 2006.6.14~16(東京)
 27. 日浅俊介、上村和秀、劉 寧、猪原登志子、徳中一寛、武曾恵理、大川原明子、鈴木和男、小野孝彦: ANCA関連腎炎モデルSCG/KJマウスにおける腎病変と肺血管病変の関連 第49回日本腎臓学会学術総会 2006.6.14~16(東京)
 28. 武曾恵理: ANCA 関連 RPGN に対するIVIgの効果 武曾恵理1、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、岸田綱太郎、鈴木和男4: MPO-ANCA陽性顕微鏡的血管炎に伴う急速進行性糸球体腎炎のIFN α 産生能から見た免疫異常とIVIg治療の影響 血管炎のための人工ポリクローナルグロブリン製剤の開発と安全性向上に関する研究班 平成18年度第一回班会議 2006.6.30~7.1(新潟)
 29. 武曾恵理: SLE(血管・ループス)の病態 第1回若手医師のための腎セミナー 2006.9.10(淡路島)
 30. 亀岡洋祐、笠間毅、鈴木哲郎、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 第12回MPO研究会 2006.9.22~23(大阪)
 31. 星野昭芳、猪原登志子、宇野賀津子、武曾恵理、山本健二、鈴木和男: 抗MPO抗体誘導マウス全身血管炎における活性化好中球からのサイトカイン再生 第12回MPO研究会 2006.9.22~23(大阪)
 32. 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、岩崎由加子、岸田綱太郎、鈴木和男: 急速進行性糸球体腎炎を呈するMPO-ANCA陽性MPA患者の末梢血IFN α 産生能傷害とplasmacytoid dendritic cell (pDC)発現低下の関与 第12回MPO研究会 2006.9.22~23(大阪)
 33. 猪原登志子、武曾恵理、宇野賀津子、大川原明子、山西裕司、田村直人、小林茂人、鈴木和男、橋本博史: ANCA-ELISA測定方の違いに関する研究 第12回MPO研究会 2006.9.22~23(大阪)
 34. 宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、古宮俊幸、鈴木和男、岸田綱太郎: IFN産生能と発癌リスク: MPO-ANCA腎炎と種々の疾患のIFN産生能からの考察 第12回MPO研究会 2006.9.22~23(大阪)
 35. 武曾恵理: 全身疾患と腎障害 up to date ~血管炎と腎障害~ 第36回日本腎臓学会西部学術大会 2006.9.29~30
 36. 宇野賀津子、松崎智彦、奥野清隆、猪原登志子、武曾恵理、鈴木和男、菅典道、及川佐枝子、加藤琢磨、羽室淳爾、三石瑠子、岸田綱太郎「モノサイトの細胞内レドックス状態の評価指標としてのグルタチオンインデックスの有用性」, 第6回日本抗加齢医学会 2006.5.19~20(東京)
 37. Kazuko Uno, Yoshiki Omatsu, Toshiko Ihara, Yoko Mitsuishi, Kayo Inaba, Eri Muso, Kazuko Suzuki, Tsunataro Kishida Correlation between the number of plasmacytoid dendritic cells and IFN α production upon stimulation with Sendai virus in human peripheral blood. 第36回日本免疫学会総会 2006.12.11~13 (大阪)
 38. Eri Muso, Kazuko Uno, Toshiko Ihara, Toshiyuki Komiya, Yoshiki Omatsu, Tsunataro Kishida, Kazuko Suzuki Abnormally impaired IFN α production (IFN α -P) in MPO-ANCA related polyangitis with RPGN and its modulation by intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy. 第36回日本免疫学会総会 2006.12.11~13 (大阪)
- (国際会議)
1. phase of IgA nephropathy and ANCA-related glomerulonephritis Asian Intergrated Nephrology Forum Aug 3-5, 2007(Thailand)
 2. Muso E: Impaired biodefense in the active phase of MPO-ANCA positive polyangitis with RPGN—highly suppressed IFN production with abnormal localization of plasmacytoid dendritic cells. The 5th International Meeting on Human Peroxidases Feb. 20-23, 2007 (Akaroa, New Zealand)

3. Komiya T, Iwasaki Y, Asada H, Tahara S, Sugishita T, Tsujii T, Tsukamoto T, Muso E: Angiotensin Receptor Blocker (ARB) Prevents the Induction of Active Crescentic Glomerular Lesion by IL-12 Possibly through Suppression of Oxidative Stress with TNF- α Expression in High IgA Strain (HIGA) of ddY Mice. ASN Renal week November 14-19, 2006 (Philadelphia)
4. Komiya T, Iwasaki Y, Asada H, Tahara S, Sugishita T, Tsujii T, Fukuuchi F, Tsukamoto T, Muso E: Angiotensin Receptor Blocker (ARB) Prevents the Induction of Active Crescentic Glomerular Lesion by IL-12 Possibly through Suppression of Oxidative Stress with TNF- α Expression in High IgA Strain (HIGA) of ddY Mice. *11th International Symposium on IgA Nephropathy Oct. 5-7, 2006* (Tokyo)

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

急性期川崎病に対する超大量単回免疫グロブリン療法（IVIG）単回投与の
使用に関わる大規模市販後使用成績調査と
酸化ストレス抑制効果—特に carbon monoxide への影響について—

研究分担者 佐地 勉 東邦大学医療センター大森病院小児科 教授
研究協力者：盛田俊介*、寺田江里 東邦大学大学院、臨床検査教授*
研究協力者：高月晋一、監物 靖、直井和之嶋田博文、池原 聡、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、助教、助教**

研究要旨：急性期川崎病(KD)に対する静注用ガンマグロブリン製剤（IVIG）の超大量単回療法承認後の大規模使用成績調査 PMS を施行した。[方法]IVIG 製造 4 社から、厚労省へ提出された PMS（2003.8.1～2006.7.31）を、協力と了解を得て収集しそれを基に安全性を検討した。安全性調査対象：副作用:484 例（6.7%）、697 件、重篤な副作用：68 例(1.05%)、78 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。[有効性] 初回治療時無効率:13.5%、追加治療時無効率：17.4%、最終無効率：3.6% 同一疾患の多数例の PMS 報告では、KD への IVIG は有用かつ比較的完全に使用されているが、IVIG 不応例には代替療法が必要である。

また、酸化ストレスマーカーの一つである血中一酸化炭素(carbon monoxide: CO)測定による IVIG 反応性の予測を試みた。KD 急性期において血中 CO 濃度、CRP 値は反応例に比較して不応例で有意に高値を示し、IVIG 療法直後の CRP 値は開始前に比較して、反応例、不応例、共に有意($p=0.0007$, $p=0.0367$)に減少する一方、CO 濃度は反応例では有意($p=0.0158$)に減少したが、不応例では低下せずむしろ増加傾向を示した。KD 急性期では IVIG 療法前後の血中 CO 濃度の動態を解析することは、CRP 値と比較して IVIG 不応の判定・予測に有用である。

A. 研究目的

IVIG 大量単回療法の安全性を再検討する目的で急性期 KD への使用調査を考察することを、初年度ならびに二年目の目的とした。

一方、炎症性血管炎である急性期川崎病の治療薬、静注用免疫グロブリン（IVIG）

の効果の判定の一つとして、血中酸化ストレスに与える影響を、一酸化炭素（CO）で検討し、さらに IVIG 不応例における CO の動態を明らかにすることを、第二の目的とした。