

東海地区における血管炎診療連携システムの構築

愛知医科大学リウマチ科

山村昌弘

血管炎データベースの構築は、わが国の血管炎の疫学的特徴とその治療の実態を明らかにし、また長期にわたる観察コホート研究の基盤となる。しかし、血管炎は稀少疾患であることから、データ集積の実現には多数の地域基幹病院の連携と協力なくしては不可能である。

愛知県、三重県、岐阜県、静岡県を含めた東海地区は、人口 1,500 万人余りの地理的および社会的地域単位である。この地域の主要な基幹病院において血管診療に携わるリウマチ・膠原病あるいは腎臓病の専門医を中心に、東海地区血管炎研究グループを創設する。その定期的な研究会開催・会合を通して交流・連携を深め、アンケート調査により地域での血管炎患者の診療実態を明らかにし、また診断・治療の情報交換による血管炎診療の向上を図る。

このような地域を基盤とする血管炎診療連携システムの構築は、全国規模の中央登録システムによる「血管炎データベース構築」の早期実現に資するものと考ええる。

データベースを用いた観察研究 —REAL 研究の経験から—

研究分担者氏名： 針谷正祥

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科薬害監視学 客員教授

- A. 研究目的：データベースを用いた観察研究は、発症率が比較的低い疾患の治療の有効性・安全性および生命予後などを評価する上で、有用な研究手法である。観察研究の研究デザインとしてコホート研究と横断的研究が一般に挙げられるが、研究目的に応じて適切な研究デザインを選択する必要がある。本年度は、平成 17 年から稼働中の関節リウマチ患者を対象とする「日本における生物学的製剤使用関節リウマチ患者に関する疫学研究 (REAL 研究)」の経験を基に、中・小型血管炎を対象とした血管炎データベース構築およびデータベースを利用した観察研究における問題点を抽出し、本研究事業の疫学研究デザインに関して考察する。
- B. 方法：REAL 研究における research question の設定から、データベース構造の確定までの手順を検証し、対象患者、観察項目、統計学的事項、倫理的配慮、実行可能性について検討する。これらの考察を基に、血管炎データベースを用いた観察研究の可能性を探る。
- C. 結果：REAL 研究は、『関節リウマチに対する生物学的製剤と従来の抗リウマチ薬による治療の間には、安全性の違いがあるか』を research question として設定し、米国リウマチ学会分類基準 (1987 年) を満足する関節リウマチ患者を対象として実施中の観察研究である。研究計画策定時に実行可能

性を考慮し、「安全性」を「重篤な有害事象の頻度と種類」に読み替え、観察項目、統計学的事項を決定した。倫理的配慮には細心の注意を払い、ヘルシンキ宣言、疫学研究倫理指針などを意識して研究計画書を作成した。

- D. 結論：血管炎データベースを用いた観察研究を開始するに当たっては、適切な research question の設定と、限定された研究期間内における実行可能性を踏まえた研究デザインの検討が最も重要である。

ANCA 関連血管炎の寛解維持療法における
副腎皮質ステロイド療法の研究

有村義宏¹⁾、和田 隆志²⁾

1) 杏林大学第一内科

2) 金沢大学医薬保健研究域医学系

血液情報統御学同附属病院腎臓内科・検査部

再燃率の高い疾患である ANCA 関連血管炎において、副腎皮質ステロイド薬 (corticosteroid: CS) は寛解維持療法の基本薬剤として最も重要である。しかし、寛解導入後の CS の減量法、維持量、使用期間、中止基準、再燃時における CS 強化療法については、いまだ明確な基準は無い。そこで、1) 自験の ANCA 関連血管炎を対象にこれまで施行した寛解導入後の CS 減量法、CS 維持量、CS 中止と再燃、副作用との関連などについて後ろ向き検討を行う。2) これまで集積された全国調査をもとに同様の解析を行う。3) 寛解維持療法におけるステロイド治療の診療指針作成のために、a) 我が国の主な膠原病専門施設にアンケート調査をお願いし後ろ向き研究を行う。b) 全国調査の解析をもとに、無作為前向きの試験を行う。c) 診療指針作成にあたっては、ANCA 関連血管炎の研究を施行されている厚労省各研究班の同意を得た上で共同研究を行い、各研究班の診療指針と整合性のある治療指針を作成する。

日本の血管炎の臨床と疫学：欧米の血管炎との比較検討

順天堂越谷病院内科 小林茂人

平成 16-18 年度に行われたヒューマンサイエンス財団による「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する研究」(主任研究者 橋本博史)によって、以下のことが明らかになった。1) ANCA 関連腎血管炎 (ANCA-associated primary renal vasculitis) について宮崎県の過去 5 年間の後方視的調査結果と英国 (Norfolk) における同時期の前方視的調査結果を比較検討し、発症頻度はほぼ同等 (14.8 人 vs 13.9 人/100 万人) であった。宮崎の症例は全例 MPA であったが、英国 (Norfolk) では WG, MPA, CSS の症例が含まれ、両地域の疾患および病態の差異が認められた^{1,2)}。2) WG の臨床像の相違を腎症の有無に着眼して検討した結果、欧米の報告 (77%) と比べ、わが国の WG は腎症の合併が少ない (12~63%) 傾向があった。また、通常 ELISA では陰性であったが、Capture ELISA にて陽性結果を得た難治性 WG の 2 症例を経験した³⁾。3) 本邦の患者血清を使用して、日本と欧州で使用されている ANCA の測定試薬の比較検討を行なった。MPO-ANCA および PR3-ANCA の測定試薬はいずれも感度と特異度に優れ、日・欧の試薬間に統計上優位の相関を認めた⁴⁾。4) 市販診断薬にて ANCA 陰性の血管炎患者血清を、健常者好中球から精製した MPO (nMPO) を抗原として ANCA 測定すると陽性になることが判明し⁵⁾、ANCA の診断・新しい抗原決定基の存在が明らかになった⁶⁾。5) 欧州血管炎グループ (EUVAS) の腎生検病理組織所見の検討方法を行なった。日本の ANCA 関連血管炎の腎組織所見では EUVAS の症例に比べ、arcuate artery の血管炎の頻度が高いことが指摘された⁷⁾。6) 旧難治性血管研究班 (橋本班) 時代からの研究として、MPA の遺伝子解析 (土屋先生)^{8,10)}、血管炎全般の mRNA レベル解析 (野島先生)^{11,12)} 研究成果が発表された。7) 外国の研究者による日本の ANCA 関連血管炎の特徴が理解された^{2,13,14)}。

本研究班では以上の研究結果から、日本の血管炎の臨床・疫学の特徴を、retrospective, hospital-based study によって特徴を明らかにして、これを英国グループの data と比較し、同時に prospective, population-based study を推進して行くことを考える。

文献

1. Fujimoto S et al. Incidence of ANCA-associated primary renal vasculitis in the Miyazaki Prefecture: the first population-based, retrospective, epidemiologic survey in Japan. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1(5):1016-22.
2. Watts R et al. Renal vasculitis in Japan and the UK—are there differences in epidemiology and clinical phenotypes? *Nephrol Dial Transplant* 2008 Jun 27.
3. Tamura N et al. Two cases of refractory Wegener's granulomatosis successfully treated with rituximab. *Intern Med* 2007;46(7):409-14.
4. Ihara-Ito et al. Comparison diagnostic accuracy of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits for antineutrophil cytoplasmic autoantibodies available in Japan and Europe. *Clin Exp Rheumatol* (in press).
5. Yamanishi Y, et al. Usefulness of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies targeting native myeloperoxidase antigen for diagnosing and treating vasculitis patients. (in preparation).
6. Suzuki K et al. Analysis of risk epitopes of anti-neutrophil antibody MPO-ANCA in vasculitis in Japanese population. *Microbiol Immunol* 2007;51(12):1215-20.
7. Joh K et al. Renal pathology of ANCA-related vasculitis: proposal for standardization of pathological diagnosis in Japan. *Clin Exp Nephrol*; 2008 Apr 22.
8. Tsuchiya N et al. Genetic background of Japanese patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: association of HLA-DRB1*0901 with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol* 2003; 30(7):1534-40.

9. Tsuchiya N et al. Association of HLA-DRB1*0901-DQB1*0303 haplotype with microscopic polyangiitis in Japan.
10. Mamegno K et al. Association of LILRA2(ILT1,LIR7) splice site polymorphism with systemic lupus erythematosus and microscopic polyangiitis. *Genes Immun* 2008;9:214-23.
11. Tougan T et al. Focused microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells from Churg-Strauss syndrome patients. *DNA Res* 2008 15(2):103-14
12. Kobayashi S et al. Expression profiling of PBMC-based diagnostic gene markers isolated from vasculitis patients. *DNA Res* 2008 Jun 17.
13. Suzuki Y et al. Clinical manifestations of RPGN and ANCA-associated vasculitides : a 11-year retrospective hospital-based study in Japan (in preparation).
14. Watts R, Kobayashi et al. Wegener's granulomatosis—renal and granulomatous disease manifestations may have different aetiologies/triggers—experience from Europe and Japan (in preparation).

抄録 17

本邦におけるアレルギー性肉芽腫性血管炎 (AGA) / Churg Straus 症候群
(CSS) の臨床像の実態について

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

本邦では 1998 年に厚労省の研究班により診断基準が作成されているが、いまだ特定疾患に指定されていないため、その臨床像の実態（各症状の頻度、治療反応性、長期予後など）は不明な点が多い。そこで、retrospective に自験例の臨床像を解析するとともに、疫学班と共同して、多数例でその実態を明らかにすることを目的とする。今年度は 1998 年の診断基準を基本とした調査表を作成し、当科における自験例の実態を調べる。

難治性血管炎における臨床個人調査票を用いた疫学研究

分担研究者 岡山大学 腎・免疫・内分泌代謝内科学 佐田憲映
研究協力者 順天堂大学医学部 衛生学教室 准教授 黒澤美智子

【背景】特定疾患については自治体単位での臨床個人調査票の電子入力化が開始され、これらを用いた観察研究を行うことが可能になりつつある。特定疾患に罹患するほとんどの症例で新規の申請が行われていることが想定され、この調査票を用いた難治性血管炎における観察研究を行うことが可能かもしれない。

【目的】難治性血管炎における寛解導入時の背景や病態と治療法選択との関連を明らかにする。この結果から抽出された因子を交絡因子として調整して現在の治療と予後との関連を明らかにする

【研究デザイン】後ろ向きコホート研究

Phase 1: 新規登録の個人調査票を用いた横断研究 (MPA, WG, MRA)

Phase 2: 連結された継続登録の個人調査票を用いた予後調査 (WG, MRA)

【対象】

顕微鏡的多発血管炎 (2007 年度～)、ウェゲナー肉芽腫症 (2001 年度～)、悪性関節リウマチ (2001 年度～)

特定疾患として登録されている上記患者で、臨床個人調査票の入力が開始され、昨年入手分では 2004 年度分が約 70% 入力されている。入力率は毎年上昇している。

【調査項目】

・ 背景因子、臨床症状、検査所見、重症度分類、鑑別診断、初期治療

【アウトカム】

・ Primary outcome 寛解率
・ Secondary outcome 死亡率、再燃率、合併症発症率

【主たる要因】

・ 初期ステロイド量、免疫抑制剤併用の有無、血漿交換療法併用の有無

【想定される Limitation】

診断の妥当性、入力不備の問題、転帰の評価の問題、治療前の状態の評価、治療の調整については評価が困難

【解析計画】

・ Phase 1: 治療調整要因 (初期ステロイド量、免疫抑制剤併用の有無、PE の併用) に関連する背景・臨床因子をロジスティック回帰分析を用いて抽出する
・ Phase 2: 予後に影響すると考えられるすべての要因を log-rank 検定にて検証。治療調整要因を主たる要因として Cox-Hazard 分析を用いて交絡因子を調整する

【今年度の計画】

・ プロトコルの作成
・ 厚生労働省への使用申請
・ 現在の入力状況の確認

抗 U1RNP 抗体の血管病原性に関する研究

京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学

藤井隆夫

【目的】抗 U1RNP 抗体は、レイノー現象、肺高血圧症、無菌性髄膜炎などの臨床症状と相関すると考えられているが、それらの病態に対する直接的な病原性は不明である。われわれは、膠原病の難治性血管傷害である肺動脈性高血圧症 (PAH) を合併する患者では、合併のない患者に比し血清中の抗 U1-A 抗体価が高い傾向を示すことを見いだした。そこで本年度は、抗 U1RNP 抗体のなかでも抗 U1-A 抗体に着目し、同抗体と血管障害との関連をより明確にする。

【方法】U1-A 抗原の部分ペプチドを作成し、それらを固相化した ELISA を確立する。当科の抗 U1RNP 抗体陽性血清を用い、各 U1-A ペプチドとの反応性を調べる。またその反応性と PAH および他の血管病変との相関を明確にする。もし血管障害と関連する抗原エпитープが同定された場合には、同エピトープに対する抗体を精製し、*in vitro* で血管内皮細胞をもちいてその直接的な影響を検討したい。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
難治性血管炎に関する調査研究

平成 20 年度 第 2 回班会議

プ ロ グ ラ ム

日時：平成 21 年 1 月 16 日（金）10：00～15：00（本会議）

場所：都市センターホテル 6 階 606 会議室

東京都千代田区平河町 2 丁目 4 番 1 号

TEL：03(3265)8211 FAX：03(3262)1705

研究代表者 槇野博史

厚生労働省「難治性血管炎に関する調査研究班」

平成 20 年度第 2 回班会議 プログラム

平成 21 年 1 月 16 日 (金)

1. 厚生労働省より基調講演 10:00~10:10
厚生労働省健康局疾病対策課 海老名 英治
2. 研究班の活動報告 10:10~10:30
研究代表者 横野 博史
3. 研究報告
I. 病理・基礎研究分科会 10:30~11:30
分科会報告
分科会長 能勢 真人

各個研究報告
① 「無細胞蛋白質合成系を用いた効率的な血管炎関連新規自己抗体検索法の確立」
愛媛大学医学部ゲノム病理学分野 能勢 真人
② 「血管炎の発症機序解明と新しい病態診断法の開発」
北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学分野 石津 明洋
③ 「高安動脈炎と抗 Peptidylprolyl isomerase A (cyclophilin A) 抗体」
聖マリアンナ医科大学大学生化学教室 加藤 智啓
④ 「血管炎誘発機序の解析- Th₁₇ 活性化に関与する好中球とサイトカイン -」
千葉大学免疫発生学・炎症制御学 鈴木 和男
⑤ 「難治性血管炎アトラス集の構成と疾患リスト」
岡山大学大学院皮膚科学 岩月 啓氏
- II. 大型血管炎の臨床研究分科会 11:30~12:20
分科会報告
分科会長 重松 宏

各個研究報告
① 「Buerger 病に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法例の長期成績」
東京医科大学外科学第二講座 重松 宏
② 「バージャー病における歯周病の関与について」
東京医科歯科大学大学院血管・応用外科学 井上 芳徳
③ 「高安病の病勢診断と予後」

東京医科歯科大学大学院循環制御内科学 磯部 光章

- ① 「末梢血単核球移植による血管新生治療」
千葉大学大学院医学系研究院循環病態医科学 小室 一成

昼食 12:20~13:20

Ⅲ. 中・小型血管炎の臨床研究分科会 13:20~15:00
分科会報告

分科会長 尾崎 承一

各個研究報告

- ① 「ANCA 関連血管炎の寛解導入治療の現状とその有効性と安全性に関する観察研究」
愛知医科大学リウマチ科 山村 昌弘
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科薬害監視学 針谷 正祥
京都大学医学部付属病院免疫・膠原病内科 藤井 隆夫
岡山大学大学院腎・免疫・内分泌代謝内科学 佐田 憲映
- ② 「MPO-ANCA 陽性顕微鏡的多発血管炎の寛解維持療法における再燃の危険因子に関する研究」
杏林大学第一内科 有村 義宏
金沢大学大学院医学系研究科血液情報統御学 和田 隆志
- ③ 「血管炎の概念・分類基準に関する EULAR/ACR の動向と JUEVAS-NET 発足について」
順天堂越谷病院内科 小林 茂人
- ④ 「本邦におけるアレルギー性肉芽腫性血管炎 (AGA) /Churg Straus 症候群 (CSS) の臨床像の実態調査」
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
- ⑤ 「臨床個人調査票を用いた欧米の分類基準の評価」
岡山大学大学院腎・免疫・内分泌代謝内科学 佐田 憲映
- ⑥ 「当科におけるウェゲナー肉芽腫症症例の検討-発症時に診断基準に当てはまらなかった症例について」
旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 原渕 保明

4. 事務連絡

抄 錄 集

I. 病理・基礎研究分科会 分科会報告

「血管炎の病因・病態の解明と診断・治療への展開」

能勢真人 (愛大・病理学)

石津明洋 (北大・病理学)

加藤智啓 (聖マ大・疾患プロテオーム・分子病態治療学)

鈴木和男 (千葉大・免疫発生学・炎症制御学)

岩月啓氏 (岡大・皮膚科学)

土屋尚之 (筑波大・生命システム医学)

長谷川均 (愛大・生体統御内科学)

鬼丸満穂 (九大・病理病態学)

城謙輔 (国立千葉東病院・臨床研究センター)

澤井高志 (岩手医大・病理学)

勝岡憲生 (北里大・皮膚科学)

1. 動物モデルを用いた血管炎の病因・病態の解明

①血管炎感受性遺伝子の探索:MRL/lprマウスと野生型マウスMSMとの交配実験およびリコンビナントコンジェニックマウスの作製により、腎炎、血管炎抵抗性遺伝子CD59aを見出した。(能勢)

②無細胞タンパク質合成系を用いた血管炎関連自己抗体の探索:MRL/lprとC3H/lprマウスとのリコンビナントインブレッドマウスMXH/lprを用いて、血管炎に特異的な自己抗体対応抗原タンパク質を同定し、その定量的測定法を確立した。(能勢)

③結節性多発動脈炎モデルにおける発症機序の解明:壊死性血管炎発症env-pXラットに由来する血管内皮細胞反応性T細胞の標的分子を解析した。(石津)

④冠状動脈血管炎モデルの発症機構の解明:*C. albicans*由来のmannose-protein-1, 3-b-glucan (CAWS)による冠状動脈炎誘発モデルマウスにおけるTh17活性化ならびにANCA産生機構を解析した。(鈴木)

⑤治療モデルの開発:MRL/lprマウスモデルにおいて、MCP-1、FKNアンタゴニストが腎炎、血管炎の発症および進展を抑制することを明らかにした。(長谷川) FGF-2を軸とする治療的血管新生機序を明らかにした。(鬼丸)

2. ヒト血管炎における病因・病態の解析

①血管炎関連タンパク質の網羅的解析:血管炎での抗内皮細胞抗体の対応抗原を解析する中で、高安動脈炎に感度、特異度ともに高い抗cyclophilin A抗体を明らかにした。(加藤) また、MCTDにおける抗肺小血管内皮細胞抗体を探索した。(澤井)

②ANCA関連血管炎の遺伝子発現解析:治療前後の末梢血単核細胞のDNAアレイによる遺伝子発現プロファイルを解析し、寛解例で治療後に発現が低下する遺伝子として Charcot-Leyden crystal proteinを、増加する遺伝子としてADAM28を同定し、また、これらを含むLow Density Arrayを作製した。(石津)

③日本人集団におけるMPA感受性遺伝子の探索:MPA感受性遺伝子についてDRB1*0901ハプロタイプに載ったMHC領域における原因的多型を探索した。(土屋)

④血管炎の病理診断ガイドラインの開発:MPO-ANCA関連腎炎における腎生検時の臨床・病理パラメータの相関に関する解析を行い、6つの臨床病理学的亜型に分類した。(城)

⑤皮膚血管炎アトラスの作成:関連皮膚科施設の協力を得て、皮膚血管炎・血管障害および鑑別疾患の症例収集を行い、その皮膚所見、病理所見、検査所見を統一のページ構成にまとめ、診療に役立つアトラス集を作成中である。(岩月、勝岡)

無細胞蛋白質合成系を用いた効率的な血管炎関連新規自己抗体検索法の確立

小森浩章¹⁾、田中ゆき¹⁾、澤崎達也²⁾、遠藤弥重太²⁾、能勢真人³⁾

1 愛媛大学総合科学研究支援センター

2 愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター

3 愛媛大学大学院医学系研究科ゲノム病理学分野

MRL/lpr マウスは *Fas* 遺伝子の欠損マウスで、4~5 ヶ月齢で spontaneous にリンパ節腫脹と免疫グロブリン値および各種自己抗体化の上昇などの自己免疫現象、ならびに血管炎、糸球体腎炎、関節炎などの自己免疫病態を同一個体で自然発症する自己免疫病モデルマウスである。我々は、この自己免疫病自然発症モデルマウスである MRL/lpr マウスと、同じ *lpr* 遺伝子を持ちながら自己免疫病を発症しない C3H/lpr マウスから、組み換え近交系 MHX/lpr 系統群を 15 系統作成し、病理形態と相関する自己抗体の候補を無細胞蛋白質合成系を用い特定の染色体遺伝子座に関して AlphaScreen 法により網羅的にスクリーニングした。その結果、複数個の合成蛋白質に関して、統計学的に有意に正の相関を示し、なおかつ反応性の高い(=titer が高い)自己抗体の存在を同定することができた。しかし、AlphaScreen 法では測定された抗体価の定量性について疑問の残る余地がある。本年度は、昨年報告した、無細胞蛋白質合成系を用い簡便かつ迅速に試料中の抗体価を定量的に測定しうる capture ELISA 法を用い、AlphaScreen 法により血管炎関連自己抗体の候補として挙げられた蛋白質について、血管炎病態との関連を詳細に検討した。

血管炎の発症機序解明と新しい病態診断法の開発

石津明洋¹、外丸詩野²、岩崎沙理^{1,2}、飯沼千景¹、佐々木直美²、村井太一³、山本智宏³、吉木敬³

¹北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学分野

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

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、血管炎惹起性 T 細胞であった。PC4 に EC 抽出物を添加することにより、PC4 はクラスターを形成した。EC 抽出物を膜分画と核分画に分けて採取した場合、PC4 のクラスター形成は膜分画の添加に比べて核分画の添加で強く起こった。EC の核抽出物を HPLC により分画し、PC4 のクラスター反応を指標として各分画に含まれる蛋白質を同定することにより、PC4 の認識抗原、すなわち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。

また、MPO-ANCA 関連血管炎患者の末梢血トランスクリプトーム解析を行い、治療予後を反映する 74 遺伝子を抽出した。その内訳は、寛解症例で治療後に発現が減少する遺伝子として Charcot-Leyden crystal protein (CLC) をはじめとする 59 遺伝子が、治療後に発現が増加する遺伝子として ADAM 28 をはじめとする 15 遺伝子が含まれていた。患者群と健常者との間で末梢血の遺伝子発現を定量的に解析したところ、CLC には有意差は認めなかったが、ADAM28 は治療前の患者群で発現の有意な減少が観察された。今後、ADAM28 の発現低下と MPO-ANCA 関連血管炎の病態の関連を検討する必要がある。次に、74 遺伝子の中から有意性の高かった 44 遺伝子を選定し、Low Density Array (LDA) を作製した。LDA の結果をもとに重回帰分析を行い、治療予後を最も正確に予測する組み合わせとして、16 個の遺伝子を抽出した。治療前と治療開始後の早期におけるこれら 16 個の遺伝子の発現変化を測定することにより、治療予後を精度良く推定することができると考えられる。

高安動脈炎と抗 Peptidylprolyl isomerase A (cyclophilin A) 抗体

唐澤 里江¹⁾、加藤 智啓²⁾

聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 先端医薬開発部門¹⁾

聖マリアンナ医科大学 大学院 医学研究科 疾患プロテオーム・分子病態治療学²⁾

A. 研究目的

本研究では、血管炎症候群に高頻度に認められ、疾患活動性との相関や病態形成に関与している可能性が指摘されている抗血管内皮細胞抗体 (anti-endothelial cell antibodies: AECA) の対応抗原を、プロテオミクスを用いて網羅的に検出し、個々の対応抗原からその病態的意義、診断的意義、あるいは治療標的としての意義を明らかにする。

B. 研究方法

2次元電気泳動法とウエスタンブロット (WB) を組み合わせることで、内皮細胞特異的の自己抗原の検出を行い、さらに質量分析により同定を行った。同定された蛋白に関しては、組換えタンパク質による ELISA・WBによる解析と内皮細胞を用いた機能的解析を行っている。

C. 研究結果

- 1) 前年度までの班会議で報告した抗 Peroxiredoxin2 (Prx2) 抗体に加えて、高安動脈炎に感度・特異度ともに高い抗 cyclophilin A 抗体を検出した。
- 2) 抗 cyclophilin A 抗体価はほぼ検討を行った高安動脈炎全症例で、疾患活動性と相関した。
- 3) 各種血管内皮細胞の抽出蛋白を用いた Western blotting で、cyclophilin A はとりわけ大動脈血管内皮細胞に高発現していた。

D. 考察および今後の目標

- 1) 抗 cyclophilin A 抗体は、高安動脈炎の疾患特異的のマーカーとなる可能性が考えられた。
- 2) Cyclophilin A は cyclosporin A (CyA) の結合蛋白であり、抗 cyclophilin A 抗体価と CyA 治療効果含め、臨床的意義を明らかにしていきたい。
- 3) 今後、患者数を増やして抗 Prx2 抗体および抗 cyclophilin A 抗体陽性率の大規模検討を行い、両抗体が高安動脈炎の疾患特異的のマーカーとなり得るか否か評価を行う予定である。

血管炎誘発機序の解析

- Th₁₇活性化に関与する好中球とサイトカイン -

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
ksuzuki@faculty.chiba-u.jp協力研究者：高橋 啓（東邦大医療センター大橋病院・病理）
協力：長尾朋和（千葉大学大学院医学研究院）、大野尚仁（東京薬大・薬学）

発症初期過程を解析とモデル動物による治療効果を判定する目的で、*C. albicans* 由来の mannose-protein-1,3-β-glucan (CAWS) の誘発の冠状動脈炎モデルを開発してきた。CAWS 投与により、末梢血の好中球の活性化や ANCA 増加や血漿中の complement 3 の減少、IL-1β、IL-6、IL-12p70、IL-17、IL-23 の増加が認められた。一方、腹腔好中球を *in vitro* で CAWS および MPO 抗体により共刺激することで、IL-6、IL-17A と IL-23p19 の発現と産生が増加した。しかし、CAWS の代わりに補体によっても IL-17A と IL-23p19 の発現が上昇した(J. Autoimmune, 2008)。これらのことから、CAWS 投与により産生される MPO 抗体(MPO-ANCA)と補体を經由して、好中球からの IL-6、IL-23 と IL-17 の発現・放出が促進されることがわかってきた。このように自己免疫に関与する Th₁₇ が、血管炎発症の初期プロセスに作用すると推定された。来年度は、好中球関与の Th₁₇ によって誘導される活性化 B-cell の ANCA 産生機構および糸球体血管内皮細胞の傷害機構について解析する計画である。

II. 大型血管炎の臨床研究分科会 分科会報告

東京医科大学外科学第二講座（血管外科）

重松 宏

当分科会では、高安大動脈炎、Buerger病、炎症性腹部大動脈瘤を主な対象疾患として、重症虚血肢による難治性潰瘍例に対する血管新生療法を含めて、病態・診断・治療を中心に研究を進めている。

高安大動脈炎について、厚生省基準及びACR分類基準の感度と特異度の比較検討を進めるとともに、臨床病像の変遷、外科的治療例の遠隔期合併症の種類と発生頻度について調査研究を行っている。Retrospectiveな検討で、高安病の血管合併症は減少する傾向にあること、CRPの陰性化は緩解の指標とはならないが、MMP-3は再燃・緩解の指標となりうること、などが明らかになっている（磯部ら）。7施設から近年の63例について臨床調査結果が得られ解析を行っている（種本ら）。

Buerger病について、菌周病菌に対するIgG抗体価とDRB1*1501やDPB1*0501のHLAアリルやCD14多型との関連性、MyD88のSNPとの関連性、および健常人における*P. gingivalis*による血小板凝集について検討が行われた（井上ら）。難治性虚血性潰瘍に対する血管新生療法について、末梢血単核球移植（小室ら）、HGFプラスミド局所投与などによる治療成績、長期経過観察例の転帰（重松ら）などを検討した。

炎症性腹部大動脈瘤に対する治療について、2004年に行われたアンケート調査結果で257例が集録されたが、その治療成績は19例、7.3%に30日以内の手術死亡例が認められ、極めて不良な治療成績であったことから、2007年に保険償還が可能となったステントグラフトを用いた治療について、その成績を検討することとした。ステントグラフト実施基準管理委員会が症例登録と遠隔期成績の追跡調査を行っている。現在、腹部大動脈瘤に対するステントグラフト実施承認施設は252施設、実施医証明277名、指導医認定127名であり、追跡調査登録施設は129施設、術直後調査1661例、6ヶ月調査670例、1年後調査258例、となっている。わが国へのステントグラフトの導入が直近であるため、炎症性腹部大動脈瘤に対する調査は、次年度以降が望ましい。

Buerger 病に対する HGF プラスミドを用いた血管新生療法例の長期成績

東京医科大学外科学第二講座 (血管外科)

重松 宏

Buerger 病については、その診断基準に基づいて確定診断された Buerger 病による動脈病変のため、虚血性潰瘍を有している 20 歳以上 85 歳未満のもので、既存の内科的治療や処置を 4 週間以上 (観察期間) 行っても投与対象肢の症状の改善が認められないものを対象に、AMG0001 を 2.5mg/mL、1.85mL/バイアル含有する注射剤を生理食塩水で希釈し、投与対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5mg ずつ 8 部位 (合計 4mg) に筋肉内投与した。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行い、治療期 8 週間において改善傾向が認められない場合には、さらに 3 回目の投与を実施した。施注方法は一定の手順を定めて行った。虚血性潰瘍は長径と短径を計測して、 $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ で、安静時疼痛は VAS スケールを用いて評価した。

被験者の背景や潰瘍・安静時痛の推移、血中 HGF 濃度、安全性については既に報告した。本治療では、15 ヶ月まで有効性と安全性、24、36 ヶ月まで安全性をフォローすることになっている。安全性と切断の有無の調査はほぼ全例調査が行われているが、有効性については 24 週は 7 例、9 ヶ月は 4 例、15 ヶ月後は 3 例のみの調査となっている。対象となっていた 10 例中 1 例は経過観察中に強皮症を発症したため除外した。9 例に 15 ヶ月の追跡成績が得られた。24 週時点で 7 例中 5 例は潰瘍が治癒、9 ヶ月時点では 4 例中 3 例が治癒、全体として 9 例中 3 例に小切断、1 例に大切断が行われた。追跡期間中に発現した有害事象としては、喉頭癌が 1 例、直腸結腸ポリープと消化管運動障害が各 1 例、末梢性浮腫が 1 例有り、因果関係が否定されなかった。