

熊谷俊一（神戸大学）、渥美達也（北海道大学）

吉田雅治（東京医大八王子医療センター）、中澤 隆（倉敷中央病院）

研究要旨

ANCA 関連血管炎の多施設共同前向き研究で集積された 48 例について、合併症の現状およびその危険因子を検討したところ、19 例で 29 件の感染症があり、ステロイドなどリスク因子の一部が明らかになった。これをもとに感染症予防のガイドライン作成に向けての案を提示した。

A. 研究目的

ANCA 関連血管炎のわが国における治療法の確立のために、治療中の合併症の実際とその危険因子を明らかにすることを目的とする。合併症は、感染症、血管イベント、糖尿病、骨折や骨訴訟症など多岐にわたり、生命や QOL を損なう重篤なものも含まれていた。本年度は、これらのうち感染症に焦点をあて、その種類や頻度、発現時期や程度を調査し、その危険因子を明らかとする。次年度には、この解析をもとに、感染症を減少させるための治療法や予防法についてのガイドラインの作成をめざす。骨粗鬆症や糖尿病などの長期的な合併症や、心や脳血管イベント、あるいは悪性腫瘍等についても調査を継続し、その実態と予防法などの提唱を目指す。

B. 研究方法

対象は、「ANCA 関連血管炎のわが国における治療法の確立のための多施設共同前向き臨床研究」に登録し、除外症例を除いた 48 例。これらについての「有害事象報告書」「VDI 報告書」および二次アンケートにより合併症に関する情報を抽出し、これらを解析した。

B-1 感染症合併のリスク因子の解析

候補リスクとして年齢・性別・臨床病型（治療開始前に登録する重症度分類）・ANCA 値・eGFR・糖尿病の有無・ステロイド初期投与量・ステロイドパルス療法の有無・シクロフェニト（CY）投与の有無を挙げ、感染症

合併群対非合併群との比較について、ロジスティック回帰分析を行った。さらにステップワイズ変数選択法を用いて解析した。また、全例のステロイド総投与量を計算し、感染・非感染群間で比較した。

B-2 感染種別のリスク因子

B-1 と同様の手法を用いて解析した。また、感染種ごとの特徴を抽出し、予防投薬のなされたニューモシス肺炎（PCP）と真菌感染症については、その効果について検討した。

B-3 感染予防のガイドライン（案）作成

本研究結果から得られた感染リスクを基に、既存の報告や汎用される他分野でのガイドラインも参考にして作成した。

（倫理面への配慮）

本研究全体として、各施設倫理委員会の承認および ID 番号による匿名化を行った。

C. 研究結果

心血管系イベント 1 例、脳血管イベント 3 例、糖尿病 10 例、脊椎圧迫骨折を含む骨折 4 例、感染症 19 例・29 件（軽微なものを除く）を認めた。CY の合併症として危惧された骨髄抑制・出血性膀胱炎について Grade3 以上のものの発症はなかった。重症感染症 Grade4 が 2 件、死亡例（Grade5）が 1 例あった。

C-1 感染症合併のリスク因子の解析

感染症の発症時期は平均約 200 日であった。候補としたリスク因子のなかで、

「CY 投与かつステロイドパルス療法」が統計学的に有意なリスク因子であり、年齢についてもその傾向を認めた(表1、表2)。

感染・非感染群について、ステロイド使用量や積算量(PSL換算)を、感染症発症中間値137日、平均値200日の2つの病日について解析した。この2点において、ステロイド総投与量は感染群において統計学的に有意に多く、感染群におけるステロイド減量の遅れや困難さを示していた。また平均値200日以降に発症した感染症のほとんどはCY併用群であった。

C-2 感染種別のリスク因子の解析結果

細菌感染症(11件)、真菌感染症(6件)、PCP(3件)、ウイルス感染症(7件)、未分類(2件)の5群において、C-1と同様の説明因子を用いて多変量解析を行ったところ、ウイルス感染症において「CY投与かつステロイドパルス療法」がリスクになる傾向がみられたが、他においては有意な因子はあげられなかった(解析不能も含む)。

細菌感染症は呼吸器や尿路感染症が多く、発症時期も様々であった(表3、図1)。特徴として治療開始後長期経過してから、大腸菌によるGradeIV以上の重篤な尿路感染症を生じた症例が3件あり、いずれもCY併用群であった(表3)。PCP発症の3例はも全例CY併用群で、いずれもST合剤の予防服用の無い症例(1例は肝障害のため中止時期)であった。比率の検定により、ST非投与がPCP発症リスクの傾向となり、PCP予防にST予防投与の効果を示された。ST非投与群(17例)でのPCP発症リスクを抽出することは不可能であったため、ST予防投与不要条件を示すことはできなかった(表4)。

真菌感染症6件の特徴として、肺真菌症が多く、そのうち3件はアスペルギルス症であった(表5)。経口アゾール系抗真菌薬で予防投薬していた3例には真菌感染症を生じなかったが、アンホテリシンBシロップ含嗽による予防群11例中1例で真菌感染症を生じた。またこれらの真菌感染予防の行われていなかった35例中4例(5件)で真菌感染症を生じたが、両群間に統計

学的有意差は見出せなかった。

ウイルス感染症の大半を占めた帯状疱疹4件はいずれもCY投与群だったが、全例とも重篤化せず軽快した(GradeIII)。

D. 考察

本研究の対象解析患者48例において、GradeIII以上の重篤な合併症として、心血管系イベント1例、脳血管イベント3例、糖尿病10例、脊椎圧迫骨折を含む骨折4例、感染症19例・29件(軽微なものを除く)が認められた。これは、同様の海外の試験CYCAZARAM(David Jayneら)における144例中33件の感染症と比較して、感染症合併率が高かった¹⁾。

CY使用者での感染症合併率は59.1%(23例中13例)と非使用者の23.1%(26例中6例)に比べ多かったが、有意ではなかった。感染症のリスク因子についてロジスティック回帰分析を行ったところ、CY単独ではリスクとならなかったが、ステップワイズ変数選択法でCY+ステロイドパルスがオッズ比6.39(1.12-46.23)と有意のリスク因子として抽出された。

またステロイド使用量との関係では、感染群で感染症発症時のステロイドの使用量とそれまでの総使用量が非感染群に比べて有意に多く、ステロイド減量の遅れが感染症併発のリスクとなる可能性が示唆された。また今回の調査の特色として治療開始後200日以降に、重症感染症Grade4が2件、死亡例(Grade5)が1例の発症が報告された。これらの症例はいずれも大腸菌による尿路感染症で、CYの併用例であった。病型(重症度)や腎機能などは感染症のリスク因子としては同定されず、ステロイドの可及的速やかな減量と、CY長期投与の回避が重症感染症の防止に重要と考えられた。

感染症の種類別にそのリスク因子と予防薬使用の有無を検討した。本臨床試験の48例中31例でST合剤が使用されていたが、PCPを発症した3例は全例服用しておらず、予防投薬の有用性が示唆された。今回の検討ではST予防投与不要条件の抽出は困難であり、またEULARの

ガイドラインにおいても、CY使用のANCA関連血管炎全例にST予防を推奨していることから、CY使用例には全例ST合剤の予防投与を要すると結論した²⁾。

本臨床試験中に肺アスペルギルス症3件(を含む真菌感染症を6件(5例)生じた。真菌感染症予防についてイギリスのガイドライン内に「EUVASの臨床試験より、免疫抑制療法を受ける患者はナイスタチン、経口フルコナゾール、アンホテリシンなどの抗真菌薬の予防投与を考慮すべき」とあるが、その根拠はPCPのように具体的ではない³⁾。早期発見早期治療が重要と考えられるが、既存の肺障害などリスクの高い患者に対して予防を行うかどうかなどは、今後の課題と考えている。

なぜ日本人の血管炎患者に感染症の頻度が高いのかについては、CYの代謝に関わる遺伝子多型など人種差も考慮する必要があるかもしれない⁴⁾。グレード4や5などの感染症合併予防のため、より詳細な二次調査が必要と考える。

E. 結論

感染症はMPO-ANCA陽性ANCA関連血管炎の合併症のうち、もっとも頻度が高く重篤なものであることが明らかとなった。その予防は本疾患の治療を行う上で大変重要なことであり、標準的治療に伴い生じうる感染症の予防に関するガイドライン(案)を作成した(表6)。これをもとに、加筆修正し、次年度末にはガイドラインとして報告する。

文献:

1. Jayne D, et al: N Engl J Med, 349: 36-44, 2003.
2. Mukhtyar C, et al: EULAR recommendation for the management of primary small and medium vessel vasculitis. Ann Rheum Dis. 68(3):310-7, 2009. Epub 2008 Apr 15.
3. Lapraik C, et al: BSR and BHRP guidelines for the management of

adults with ANCA associated vasculitis. Rheumatology, 2007.

4. Takeda, K, et al: Arthritis Rheum. 50:2202-10, 2005.

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 吉田雅治：膠原病、リウマチ性疾患—アレルギー性肉芽腫性血管炎 (Churg-Strauss 症候群). 内科学書 改訂第7版(2):189-190, 2009
 2. 吉田雅治：膠原病、リウマチ性疾患—Wegener 肉芽腫症. 内科学書 改訂第7版(2):190-194, 2009
 3. M Yoshida et al: Rapid decrease of anti- β -glucan antibody as an indicator for early diagnosis of carinii pneumonitis and deep mycotic infections following immunosuppressive therapy in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. Clin Rheumatol 28:565-571, 2009
 4. M Yoshida et al: Two types of myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with a high affinity and a low affinity in small vessel vasculitis. Clinical and Experimental Rheumatology 27:(Suppl. 52) S28-S32, 2009
 5. Sakai Y, Atsumi T, Ieko M, Amengual O, Furukawa S, Furusaki A, Bohgaki M, Kataoka H, Horita T, Yasuga S, Koike T: The effects of phosphatidylserine dependent antiprothrombin antibody on thrombin generation. Arthritis Rheum 60, 2457-67, 2009
 6. Kyogoku C, Morinobu A, Nishimura K, Sugiyama D, Hashimoto H, Tokano Y, Mimori T, Terao C, Matsuda F, Kuno T, Kumagai S: Lack of association between tyrosine kinase2 (TYK2) gene polymorphisms and susceptibility to SLE in a Japanese population. Mod Rheumatol. 2009;19(4):401-6
 7. Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, Nishimura K, Sakai Y, Chin T, Saura R, Kurosaka M, Kumagai S. Arthritis Rheum. 2009 May;60(5):1294-304
 8. Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki K, Tsuji G, Nakazawa T, Morinobu A, Kumagai S: Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. Ann Rheum Dis. 69:70-81, 2010 [Published online first 28 January 2009].
- ### 2. 学会発表
1. 林 伸英、生戸健一、河野誠司、熊谷俊二：膠原病診断におけるマルチプレックス技術を用いた自己抗体スクリーニングの有効性の検討 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会 2009.4
 2. 上田奈つき、中澤 隆、綾野雅宏、西川あゆみ、横田敏彦、杉山大典、熊谷俊二：生物学的製剤を投与中の関節リウマチ患者における感染症の危険因子の検討 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会 2009.4
 3. 西田美和、林 宏樹、辻 剛、三枝 淳、杉本 健、河野誠司、森信暁雄、熊谷俊二：エタネルセプト (Eta.) 投与下にリステリア髄膜脳炎を発症した関節リウマチ (RA) の1例 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会 2009.4
 4. 西村邦宏、杉山大典、橋本正良、秋田穂

東、河野誠司、森信暁雄、熊谷俊一：脈
派伝導速度による妊娠、出産の動脈硬化
に対する防護作用の検討 第 56 回日本
臨床検査医学会学術集会 2009.8

5. Kumagai S, Hayashi N, Kawano S,
Sugiyama D, Nishimura K, Kasagi S,
Saegusa J, Morinobu A:prevalence of
Anti-Cyclic Citrullinated Peptide
Antibody and Its Association with
Smoking in General Population:a Cross
Sectional Study. 第 75 回米国リウマチ
学会 2009.10
6. Saegusa J, Fujita M, Tanaka S,
MorinobuA, Kawano S, Takada Y, Kumagai
S:Secretory Phospholipase A2 Group
Binds to Integrin v3 and Induces
Proinflammatory Signaling. 第 75 回米
国リウマチ学会 2009.10
7. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T,
Morinobu A, Hatachi S, Shimatani K,
Tanaka Y, Minato N, Kumagai S:Anti-
PD-1 Antibody Reduces CD4+PD-1+ T
Cells and Relieves the Lupus-Like
Nephritis of NZB/W F1 Mice. 第 75 回
米国リウマチ学会 2009.10

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
 該当なし
2. 実用新案登録
 該当なし
3. その他
 なし

表.1 ロジスティック回帰分析を用いた感染症リスク因子解析

	オッズ比	95%CI 下限	95%CI 上限	p 値
年齢	1.10	1.01	1.23	0.050
男性 vs 女性	0.57	0.10	3.05	0.507
病型 3* vs 1*+2* (☆)	0.79	0.22	2.80	0.715
eGFR	1.00	0.97	1.04	0.857
糖尿病あり	0.27	0.03	2.12	0.229
ステロイド* 初期投与量	0.97	0.87	1.08	0.625
ANCA 値	1.00	1.00	1.00	0.819
CY 投与 OR ステロイド* パルス	5.21	0.76	47.22	0.108
CY 投与 AND ステロイド* パルス	7.59	0.95	80.38	0.068

☆ 病型 2* は 2 名しかいなかったため、病型 1* に加えた。

表.2 ステップワイズ変数選択法を用いた感染症リスク因子解析

	オッズ比	95%CI 下限	95%CI 上限	p 値
年齢	1.08	1.00	1.19	0.075
CY 投与 OR ステロイド* パルス	3.47	0.69	21.22	0.146
CY 投与 AND ステロイド* パルス	6.39	1.12	46.23	0.047

表 3. 細菌感染症の一覧

	内容	発症時期(治療開始病日)	病型	CYの有無
呼	NTM再燃	125	RPGN	なし
	γ連鎖球菌肺炎(血液培養)	371	腎神経	あり
	肺炎	14	全身	あり
	誤嚥性肺炎	29	肺腎	あり
	気管支炎	101	腎	なし
尿	腎盂腎炎→sepsis(大腸菌)	495	肺・腎	あり
	尿路感染(尿培養クレブシエラ)	425	全身	あり
	尿路感染→sepsis(大腸菌)	476	重抵抗	あり
	尿路感染などで死亡(大腸菌)	270	RPGN肺神	あり
蜂	同一例でいずれも臨床診断	200	胸・心膜炎	なし
		462		

細菌感染症 11 件の内容、発症時期、現疾患の病型および CY 投与の有無を示した。治療開始長期経過してから、重篤な尿路感染症が 3 件生じており、いずれも CY 併用群であった。呼：呼吸器感染症、尿：尿路感染症、蜂：蜂窩織炎。

表 4. PCP 発症 3 例の一覧

背景			発症時			転帰
症例	病型	初期治療	day	PSL mg	CY total mg	
ID24 76 歳女	3	PSL30mg + CY(p.o pulse)	71	20	1600 (3 回目投与 の day2)	ST 4 錠で治療し、軽快。 以後 ST 予防。
ID30 * 71 歳男	1	PSL40mg + IVCY	273	10	500	ST 点滴し軽快。以後 ST 予防。
ID31 69 歳女	3	PSL30mg + CY(p.o pulse)	60	20	1000 (2 回目 投与の day9)	ST + steroid-pulse で軽 快。以後 ST 予防。

全 48 例中 31 例で ST 投与。 ST 非投与 17 例中 3 例に PCP 発症 (*ID30 は、当初 ST 予防していたが、day186 に肝障害あり ST 中止。Day273 に PCP 発症)。ST 投与群の PCP 発症率 0%と ST 非投与群の PCP 発症率 17%を比率の検定にて比較したところ、p=0.07 と

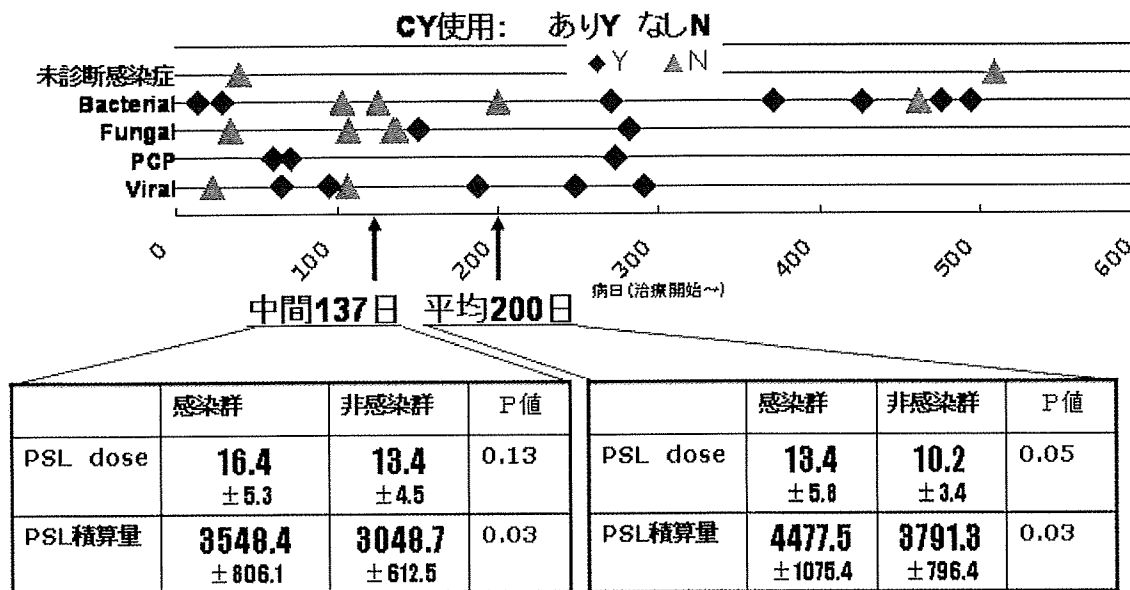
差がある傾向を認めた。

表 5. 真菌感染症 6 件の一覧

		病日	型	CY
肺 4 件	肺アスペルギローマ (剖検診断)	282	RPGN 肺・神	あり
	肺アスペルギルス	150	RPGN	あり
	肺空洞症 (アスペルギルス血清診断) *	34	肺腎	なし
	カンジダ肺炎	134	RPGN	なし
他 2 件	食道カンジダ症*	107	肺腎	なし
	カンジダ眼内炎	137	RPGN 肺・神	なし

上記混*印の 2 件は同一症例。

図 1.



- 1) 29 件の感染症発症病日一覧（グラフ）に、感染種別の感染症発症時期が plot した。CY 投与の有無を赤◆と青▲で示した。
- 2) 29 件の感染発症病日の中間値（137 日）と平均値（200 日）の時点において、そのときのステロイド投与量（PSL 換算 mg/日）と総投与量（PSL 換算積算量 mg）を表に示した。
- 3) 感染種別に発症時期の傾向を述べることはできないが、29 件の平均 200 病日以後の感染発症のほとんどが CY 併用群である。

表 6. 合併検討委員会の提案する指針（案）

- 臨床病型・CYの使用・ステロイド薬初期投与量やパルス療法自体は明らかな感染リスクではないため、標準治療に沿った治療をためらうべきではない。(2)
- 現疾患の寛解が最重要課題であることを前提に以下を提案
 - ・ 標準治療を行う際の重症感染症の合併率は約 40%と高い。(1)
 - ・ シロリファミド（CY）+ステロイドパルス併用療法をする場合は、とくに留意することが推奨される。(2)
 - ・ CY 使用症例では寛解維持期での重篤な尿路感染症があり、その発症はステロイド総投与量と関連していたので、寛解後のステロイド薬減量速度や維持量に留意することを推奨する。(3)
 - ・ PCP の予防のため ST の予防投与が推奨される（とくに CY 使用例）。(4)
 - ・ 肺の重篤な真菌感染リスクとなりえる症例には経口アゾール系抗真菌薬の予防投与が推奨される。(5)
 - ・ 一度感染症を合併した症例は、反復する可能性が高い。(6)

(1) 本臨床研究において、48 例の標準治療中に 19 例（29 件）の感染症（Grade3 以上）を併発した。これは、同様の海外の試験 CYCAZARAM（David Jayne ら N Engl J Med 2003; 349:36-44.）における 144 例中 33 件の感染症と比較しても感染症合併率が高いといえる。

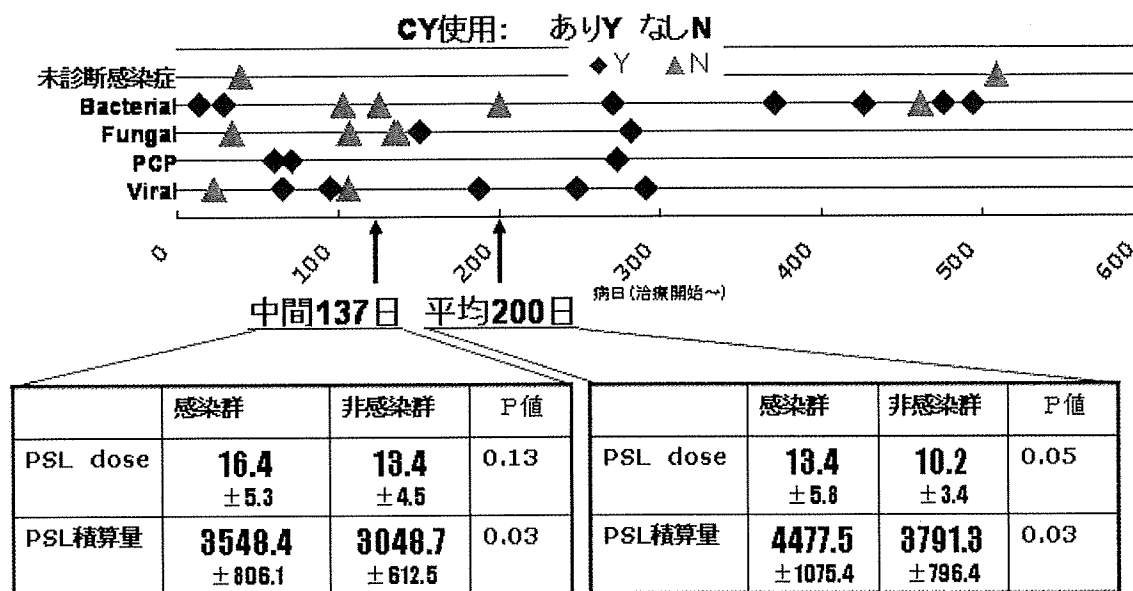
(2) 感染症リスク因子の多変量解析より、CY+ステロイドパルス併用療法が唯一の感染リスク因子であった（オッズ比 7.59 95%CI 0.95-80.38 p 値 0.068 下表）。

ロジスティック回帰分析を用いた感染症リスク因子解析

	オッズ比	95%CI 下限	95%CI 上限	p 値
年齢	1.10	1.01	1.23	0.050
男性 vs 女性	0.57	0.10	3.05	0.507
病型 3* vs 1*+2* (☆)	0.79	0.22	2.80	0.715
eGFR	1.00	0.97	1.04	0.857
糖尿病あり	0.27	0.03	2.12	0.229
ステロイド初期投与量	0.97	0.87	1.08	0.625
ANCA 値	1.00	1.00	1.00	0.819
CY 投与 OR ステロイドパルス	5.21	0.76	47.22	0.108
CY 投与 AND ステロイドパルス	7.59	0.95	80.38	0.068

☆ 病型 2* は 2 名しかいなかったため、病型 1* に加えた。

(3) 治療開始後 200 日を越えた寛解維持期において、CY 使用症例では Grade4 以上の尿路感染症を 3 件生じた（下図）。感染症発症時期の平均・中間時点において、感染症発症群と非感染症群間のステロイド総投与量（積算量）を比較すると前者で多い可能性があった（下図）。このことは、感染症発症群においてはステロイド漸減が遅かった可能性があることを示している。



(4) 本臨床試験の 48 例中 ST 投与 31 例、非投与 17 例で、後者にのみ PCP を発症した（3 例）。うち 1 例は肝障害のため ST 中止後約 2 ヶ月で PCP を発症した。比率の検定により、ST 非投与が PCP 発症リスクの傾向となり、PCP 予防に ST 予防投与の効果が示された。ST 非投与群（17 例）での PCP 発症リスクを抽出することは不可能であったため、ST 予防投与不要条件の抽出は困難であり、全例もしくは特に CY 使用例には ST 予防投与を要すると結論した。ヨーロッパリウマチ学会（EULAR）のガイドラインにおいても、CY 使用の ANCA 関連血管炎全例に ST 予防を推奨している。

(5) 本臨床試験中に真菌感染症は 6 件（5 例）生じており、肺アスペルギル症が 3 件（3 例）認められた（下表）。アスペルギル感染症予防について、EULAR やイギリスの本疾患治療のガイドラインには具体的な方針はなく、真菌感染症予防についてイギリスのガイドライン内に「EUVAS の臨床試験より、免疫抑制療法を受ける患者はナイスタチン、経口フルコナゾール、アンホテリシンなどの抗真菌薬の予防投与を考慮すべき」とあるが、その根拠は PCP のように具体的ではない（C.Lapraik ら Rheumatology 2007; 1 of 11）。HIV 感染患者に対する日和見感染予防ガイドライン（CDC2009）には、アスペルギル感染症の一次予防に関するデータはないが血液腫瘍と好中球減少症患者においては posaconazole（欧米で Noxafil®）とし

て販売されるトリアゾール系薬剤) がフルコナゾールに比して有効であるとの記載がある (Coenely OA ら N Engl J Med 2007;356:348-59)。造血幹細胞移植の際の予防としては、まず、HEPA フィルターや陽圧部屋などを使用した暴露の予防を推奨している (CDC2000 年)。IDSA のガイドラインが推奨する侵襲性アスペルギル症の予防法は上述の posaconazole をリスクの高い GVHD 患者、AML または MDS 患者に使用することで (IDSA guideline for Aspergillosis Clinical Infectious Diseases 2008; 46:327-60)、イトラコナゾールも効果的かもしれないが副作用などの観点から使用できる症例に限られるとしている。腐食性アスペルギル症 (アスペルギルローマや慢性肺アスペルギル症など) に対する推奨予防法の記載はない。先天性免疫不全症である慢性肉芽腫症患者についてのイトラコナゾールによる真菌感染予防効果を示した報告がある (John I. Gallin ら N Engl J Med 2003;348:2416-22)。これらの他分野の情報より、ここで推奨できるのは、既存の肺障害があるなどの肺アスペルギル症のリスクが高いと思われる症例への抗真菌薬の投与を考慮すべきで、その際フルコナゾールやイトラコナゾールの内服が候補となる (posaconazole は本邦では未販売、イトラコナゾールの予防効果に対するデータはない)。

(6) 本臨床試験中の感染症 29 件 (19 例) のうち 6 例が複数回感染した。その多くは CY 非投与群であったが、複数回感染した症例のリスクについて検討したが、有意な因子は見つからなかった。現時点では、一度感染した症例は二度目以降の感染に注意が必要であることの注意喚起にとどまる (下表)。

- | |
|---|
| a) 全例の感染の割合・・・19 例 / 全 48 例　・・・39.5% |
| b) 感染症群の中の複数回感染の割合・・・6 例 / 19 例・・・31.6% |
| a)と b)を比較した時、複数回感染が多いとは言えない。 |
| CY 非使用群について |
| c) CY 非使用群の感染の割合・・・5 例 / 全 26 例　・・・19.2% |
| d) 複数感染の割合・・・4 例 / 5 例　・・・80.0% |
| c)と d)の比較は Fisher exact 検定にて p 値 0.06 であり、差がある傾向を示した。 |

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
ANCA 関連血管炎のわが国における治療法の確立のための多施設共同前向き臨床研究
トランスクリプトーム解析委員会 研究報告書

委員長 石津 明洋 北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野 教授
研究協力者 外丸 詩野 北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野 講師

研究要旨

MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前ならびに治療開始後 1 週間の末梢血についてトランスクリプトーム解析を行った。はじめに、12 症例について Gene chip 解析を行った。12 症例の重症度は、軽症 6 例、重症 5 例、最重症 1 例であり、治療後の経過は、寛解維持 9 例、寛解後再燃 2 例、非寛解 1 例であった。MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前末梢血遺伝子発現プロファイルは、重症度よりはむしろ治療後の経過と相関することが示唆された。しかしながら、治療後の経過との相関が示唆された 62 遺伝子のうち有意性の高かった 45 遺伝子を選択し、35 症例（寛解維持 26 例、寛解後再燃 7 例、非寛解 2 例）について、BioMark システムによる定量的発現解析を行ったところ、寛解維持群とそれ以外の症例の間に、治療前末梢血遺伝子の有意な発現差は認められなかった。次に、Gene chip 解析に用いた 12 症例のうち、治療開始後 6 週で寛解が導入され、その後も寛解が維持された 9 症例について、治療前と治療後 1 週間の末梢血について遺伝子発現の変化を検討したところ、58 遺伝子が治療後に有意な発現減少を示し、7 遺伝子が有意な発現増加を示した。寛解維持症例において、治療後に発現減少を示した遺伝子には、インターフェロン関連遺伝子や TNF 関連遺伝子、ケモカイン関連遺伝子などが含まれていた。また、治療後に発現増加を示した遺伝子には、defensin や azurocidin といった ANCA の対応抗原が含まれていた。

A. 研究目的

MPO-ANCA 関連血管炎の患者末梢血を用いて、本疾患の病態や治療予後に関連する遺伝子群を明らかにする。

B. 研究方法

平成 16 年 7 月 1 日から平成 20 年 3 月 31 日の期間に JMAAV に登録された MPO-ANCA 関連血管炎の症例は 52 症例であった。除外基準に該当する 4 症例を除いた 48 症例の内訳は、軽症 23 例、重症 23 例、最重症 2 例であり、治療により寛解し、18 ヶ月の観察期間に再燃を認めなかった寛解維持症例が 31 例、寛解後に再燃または死亡した症例が 11 例、非寛解例が 2 例、脱落例が 4 例であった。

これらの症例より採取された治療前末梢血および治療開始後 1 週間の末梢血をサンプルとし、Affymetrix 社の Human Genome Focus Array ならびに Fluidigm 社の BioMark システムを用いて、トランスクリプトーム解析を行った。

（倫理面への配慮）

患者検体の採取にあたっては、文部科学省・厚生労働省・経済産業省の掲げる遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき、各々の検体採取機関の倫理委員会の承認を受け、全例インフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

はじめに、MPO-ANCA 関連血管炎 12 症例について、Human Genome Focus Array (Affymetrix) による Gene chip 解析を行った。12 症例の重症度は、軽症 6 例、重症 5 例、最重症 1 例であり、治療後の経過は、寛解維持 9 例、寛解後再燃 2 例、非寛解 1 例であった。MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前末梢血遺伝子発現プロファイルは、重症度よりはむしろ治療後の経過と相関することが示唆された。しかしながら、治療後の経過との相関が示唆された 62 遺伝子のうち有意性の高かった 45 遺伝子を選択し、35 症例（寛解維

持 26 例、寛解後再燃 7 例、非寛解 2 例) について、BioMark システム (Fluidigm) による定量的発現解析を行ったところ、寛解維持群とそれ以外の症例の間に、治療前末梢血遺伝子の有意な発現差は認められなかった。

次に、Gene chip 解析に用いた 12 症例のうち、治療開始後 6 週で寛解が導入され、その後も寛解が維持された 9 症例について、治療前と治療後 1 週間の末梢血について遺伝子発現の変化を検討したところ、58 遺伝子が治療後に有意な発現減少を示し、7 遺伝子が有意な発現増加を示した。寛解維持症例において、治療後に発現減少を示した遺伝子には、インターフェロン関連遺伝子や TNF 関連遺伝子、ケモカイン関連遺伝子などが含まれていた。また、治療後に発現増加を示した遺伝子には、defensin や azurocidin といった ANCA の対応抗原が含まれていた。

D. 考察

治療により寛解維持が得られた MPO-ANCA 関連血管炎患者の末梢血において、治療後に有意な発現減少を示した遺伝子には、インターフェロン関連遺伝子や TNF 関連遺伝子、ケモカイン関連遺伝子などが含まれていた。これらの遺伝子は免疫反応や炎症反応において重要な役割を果たしていることが知られており、MPO-ANCA 関連血管炎の病態増悪に関与している可能性が考えられる。

一方、治療後に発現増加を示した遺伝子には、defensin や azurocidin といった ANCA の対応抗原が含まれていた。治療後早期に、幼若な好中球の産生が亢進している可能性が示唆されるが、それが ANCA 関連血管炎の病態とどのように関連しているかについては、現時点では明らかではなく、今後の検討課題である。

E. 結論

MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前末梢血遺伝子発現プロフィールと、疾患の重症度ならび治療後の経過との間には、明らかな相関は認めなかった。

治療により寛解が導入維持された MPO-ANCA 関連血管炎 9 症例の末梢血において、治療後に有意な発現減少を示す 58 遺伝子と、発現減少を示す 7 遺伝子を抽出した。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Tomaru U, Ishizu A, Murata S, Miyatake Y, Suzuki S, Takahashi S, Kazamaki T, Ohara J, Baba T, Iwasaki S, Fugo K, Otsuka N, Tanaka K, Kasahara M. Exclusive expression of proteasome subunit β 5t in the human thymic cortex. *Blood* 113: 5186-5191, 2009.
 - 2) Sasaki N, Ogawa Y, Iinuma C, Tomaru U, Katsumata K, Otsuka N, Kasahara M, Yoshiki T, Ishizu A. Human endogenous retrovirus-R env glycoprotein as possible autoantigen in autoimmune disease. *AIDS Res Hum Retroviruses* 25: 889-896, 2009.
 - 3) Ishizu A, Abe A, Miyatake Y, Baba T, Iinuma C, Tomaru U, Yoshiki T. Cyclic AMP response element binding protein is implicated in IL-6 production from arthritic synovial cells. *Modern Rheumatol* (in press)
 - 4) 石津明洋, 吉木 敬. env-pX ラットの血管炎発症機序. *脈管学* 49: 17-20, 2009.
 - 5) 石津明洋, 外丸詩野, 村井太一, 吉木 敬, 尾崎承一. MPO-ANCA 関連血管炎の予後予測因子の探索. *脈管学* 49: 45-51, 2009.
2. 学会発表
 - 1) 石津明洋. A 演説 (学術研究賞) モデル動物の解析による自己免疫疾患発症機序の多面的理解. 第 55 回日本

病理学会秋期特別総会，東京，2009.

- 2) 石津明洋，外丸詩野，岩崎沙理，飯沼千景，村井太一，山本智宏，吉木 敬，尾崎承一. 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. 第 98 回日本病理学会総会，京都，2009.
- 3) 飯沼千景，佐々木直美，岩崎沙理，外丸詩野，石津明洋. 自己血管内皮細胞反応性ラット T 細胞の解析. 第 98 回日本病理学会総会，京都，2009.
- 4) 外丸詩野，石津明洋，高橋里実，鈴木小百合，小原次郎，風巻 拓，宮武由甲子，村田茂穂，田中啓二，笠原正典. プロテアソームのキモトリプシン様活性の異常と病態形成に関する検討. 第 98 回日本病理学会総会，京都，2009.
- 5) 鈴木小百合，外丸詩野，石津明洋，高橋里実，小原次郎，風巻 拓，宮武由甲子，村田茂穂，田中啓二，笠原正典. 胸腺プロテアソームの発現と T 細胞分化に関する検討. 第 98 回日本病理学会総会，京都，2009.
- 6) 岩崎沙理，馬場智久，益田紗季子，勝俣一晃，外丸詩野，笠原正典，石津明洋. ヒト末梢血に検出される CD8 陽性単球の解析. 第 98 回日本病理学会総会，京都，2009.
- 7) 石津明洋，外丸詩野，岩崎沙理，吉木 敬，尾崎承一. 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. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会，東京，2009.
- 8) Iinuma C, Waki M, Yamaguchi M, Sasaki N, Tomaru U, Ishizu A. Establishment and analysis of vasculitogenic T cell clone. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会，大阪，2009.
- 9) Suzuki S, Tomaru U, Ishizu A, Takahashi S, Ohara J, Kazamaki T, Miyatake Y, Murata S, Tanaka K, Kasahara M. Skewed T cell development in mice with ectopic expression of thymoproteasome. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会，大阪，2009.
- 10) Masuda S, Iwasaki S, Baba T, Katsumata K, Tomaru U, Kasahara M, Ishizu A. Analysis of CD8 positive monocytes and granulocytes in human peripheral blood. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会，大阪，2009.
- 11) 木内隆之，外丸詩野，高田明生，武藤修一，大岡智学，村上達哉，宮武 司，大場淳一，青木秀俊，石津明洋. 動脈破裂をきたした von Recklinghausen 病の 2 症例：破裂血管における hypoxia-inducible factor-1 α 発現の検討. 第 14 回血管病理研究会，佐賀，2009.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
該当なし。

2. 実用新案登録
該当なし。

3. その他
該当なし。

顕微鏡的多発血管炎患者血清ペプチドの網羅的探索

黒川真奈絵 聖マリアンナ医科大学大学院 疾患プロテオーム・分子病態治療学 講師

顕微鏡的多発血管炎（MPA）の病態解明と早期診断に有用な血清ペプチドを、質量分析法より血清から直接探索した。治療前と治療開始後の MPA 患者 26 例、対照として治療前の全身エリテマトーデス（SLE）患者 27 例の血清中ペプチドを質量分析で網羅的に検出したところ、イオン強度が MPA 治療前に高値で治療後に減弱し、SLE 治療前群では殆ど認められないペプチドを 3 個検出した。その 1 つはアポリポ蛋白質 A-I (ApoAI) の C 末端 13 アミノ酸残基 (AC13) であることを MS/MS 法にて同定した。MPA 患者 14 例の治療前後の ApoAI 血中濃度を ELISA で測定したところ、治療前では低値であったが、治療後には健常人基準値と同程度まで回復していた。AC13 を微小血管内皮細胞に添加し、炎症性サイトカインの分泌を real time PCR と ELISA にて検討した結果、AC13 は IL-6 と IL-8 の分泌を促進していた。また上記細胞の AC13 添加後発現蛋白質を、非添加の細胞の発現蛋白質と 2 次元ディファレンシャルイメージ電気泳動 (2D-DIGE) を行い網羅的に比較した結果、AC13 の添加により HSP27 を含む 9 個の蛋白質において発現量に有意差が認められた。AC13 は MPA の活動期に血中で増加し、好中球を遊走させ血管炎病態を増悪させる可能性が示された。

A. 研究目的

顕微鏡的多発血管炎 (MPA) は MPO-ANCA 関連血管炎の 1 つであり、原因不明の難治性疾患である。本研究では分子量が 10kD 程度以下の血清小ペプチドを検索同定する手法を確立し、MPA の病態解明と早期診断に有用なペプチドを検出することを目的とした。

B. 研究方法

本調査研究班における多施設共同研究で収集された MPA 患者 26 例の血清 52 検体（治療前、および治療後 1 週間または 6 週間）について解析した。対照として、全身性エリテマトーデス (SLE) 患者 27 例の血清を用いた。各血清より疎水性担体を用いてペプチドを濃縮・精製し、質量分析器を用い分子量 10kD 以下の血清ペプチドを網羅的に検出した。ClinProt プログラムによる統計処理後、MPA と SLE の結果を比較し、MPA 特異的に出現した血清ペプチドを選定した。このペプチドのアミノ酸配列を、2D-HPLC により血清を分画した後 MS/MS 法を施行し同定した。同定されたアミノ酸配列を用いて蛋白質のデータベー

ス探索を行い、このペプチドの由来する蛋白質を同定した。

血管内皮細胞の培養系に合成した当該ペプチドを添加し、各種サイトカインの産生に及ぼす影響を ELISA と real time PCR にて検討した。また上記血管内皮細胞のペプチド添加後発現蛋白質を、非添加の細胞の発現蛋白質と 2 次元ディファレンシャルイメージ電気泳動 (2D-DIGE) により比較し、ペプチド添加により発現量が増加する蛋白質を網羅的に検索した。

なお、本研究は所属大学の生命倫理審査委員会の承認を得て行われている。

C. 研究結果

MPA 患者血清を解析した結果、治療前でイオン強度が高値を示し治療により減弱する 1523m/z、1738m/z、2503m/z、7771m/z のペプチド群、また治療前ではイオン強度が低く治療により増強する 1624m/z、2116m/z、7160m/z のペプチド群を検出した。1523m/z、1738m/z および 2503m/z のペプチドは殆どの SLE 患者血清では検出されなかった。1523m/z

のペプチドのアミノ酸配列は、アポリポ蛋白質 A-I (ApoAI) の C 末端 13 アミノ酸残基の配列と一致した。このペプチドを AC13 と命名した。

血中 ApoAI 濃度をサンドイッチ ELISA 法にて測定したところ、治療前の MPA 患者では低下しており、治療後 6 週間で健常範囲に回復していた。

合成した AC13 を成人皮膚由来の微小血管内皮細胞 (HMVEC) および肺由来の微小血管内皮細胞 (HMVEC-L) の培養系に添加し、炎症性サイトカインの産生に与える影響を培養上清の ELISA にて検討したところ、両細胞において、無添加の場合に比較し AC13 添加時に IL-6 および IL-8 の産生が有意に増加した。両細胞の real time RT-PCR にても同様の結果が得られた。

また両細胞において、AC13 添加後発現蛋白質を、非添加の細胞の発現蛋白質と 2 次元ディファレンシャルイメージ電気泳動 (2D-DIGE) により網羅的に比較した結果、AC13 の添加により有意に発現量が増加した蛋白質を 9 個検出した。そのうち 2 個は、両細胞において有意に発現量が増加しており、それらは heat shock 27kDa protein 1 (HSP27) と potassium channel tetramerisation domain containing 12 (KCTD12) であった。

D. 考察

MPA 患者血清中より治療前後で量の変化を示すペプチド群を複数認めた。治療前に高値を示し治療後に減少するペプチド群は病勢の悪化に、逆に治療前では低値で治療により増加するペプチド群は疾患の抑制に関わっている可能性がある。このうち 1523m/z (AC13)、1738m/z および 2503m/z のペプチドは MPA の活動期に高値を示し、MPA の疾患活動性マーカーとなる可能性が示された。

1523m/z のペプチドは、アミノ酸配列解析の結果 ApoAI の C 末端 13 アミノ酸残基であると同定された (AC13)。ApoAI は HDL-コレステロールの代謝に関わる蛋白質であり、抗炎症作用および慢性炎症疾患において治療前に血中濃度が減少すること等が報告されている。

この ApoAI の血中濃度を MPA 患者で測定したところ、治療前では減少しており、治療後に健常人と同程度まで回復していた。AC13 は治療前に高値であることより、MPA の発症時に ApoAI からの切断が亢進して増加したものと考えられた。

AC13 を添加した培養血管内皮細胞では、炎症性サイトカインである IL-6、および好中球の遊走作用をもつ IL-8 の産生が増加しており、このペプチドは炎症の増悪および局所への好中球の遊走を来す可能性が示された。また AC13 刺激により 2 種類の微小血管内皮細胞で共に有意に発現が増加した蛋白質のうち、KCTD12 の機能は未だ不明であるが、HSP27 はシャペロン蛋白として働く他に、リン酸化されると p38-MAPK 依存性に IL-8 の産生を増加することから、好中球の遊走を惹起し、炎症を増悪させることが考えられた。

E. 結論

MPA 患者血清ペプチドの網羅的検索を行い、治療前後に量の変化を示し診断あるいは病勢のマーカーとなり得るものを複数検出した。治療前で高値であった ApoAI C 末 13 アミノ酸残基 (1523m/z ペプチド) は、炎症性サイトカインの産生亢進を来し MPA の病態に関与する可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kayama M, Kurokawa MS, Ueno H, Kumagai Y, Masuda C, Takada E, Chiba S, Ueno S, Tadokoro M, Suzuki N. Transfection with pax6 gene of mouse ES cells and subsequent cell cloning induced retinal neurin progenitors, including retinal ganglion cell-like cells, in vitro. *Ophthalmic Res*, in press
2. Katano M, Okamoto K, Arito M, Kawakami Y, Kurokawa MS, Suematsu N, Shimada S, Nakamura H, Xiang Y, Masuko K, Nishioka K, Yudoh K, Kato T. Implication of GM-CSF Induced neutrophil gelatinase-associated lipocalin in pathogenesis of

rheumatoid arthritis revealed by proteome analysis. *Arthritis Res Ther* 2009; 11:R3.

3. Hatsugai M, Kurokawa MS, Kouro T, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Itoh F, Kato T. Protein profiles of peripheral blood mononuclear cells are useful for differential diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Gastroenterol*, in press.
4. Iizuka N, Okamoto K, Mastushita R, Kimura M, Nagai K, Arito M, Kurokawa MS, Masuko K, Suematsu N, Hirohata S, Kato T. Identification of autoantigens specific for systemic lupus erythematosus with central nerve system involvement. *Lupus*, in press.
5. Kurokawa MS, Suzuki N. Effect of nocotine on differentiation of vascular endothelial cells and mural cells derived from mouse embryonic stem cells. *J St. Marianna Univ*, in press.

2. 学会発表

1. 岡本一起、永井宏平、有戸光美、黒川真奈絵、増子佳世、末松直也、遊道和雄、磯橋文秀、加藤智啓. ビタミン B6 酵素の転写を促進する核内受容体コアクティベーター (MTI-II) のホモログタンパク質 (prothymisin) の活性. 日本ビタミン学会第 61 回大会. 2009 年 7 月.
2. 有戸光美、黒川真奈絵、増子佳世、岡本一起、永井宏平、末松直也、加藤智啓. 「アセチル化」プロテオミクスによる関節リウマチ (RA) 関連分子の探索. 日本プロテオーム機構第 7 回大会. 2009 年 7 月.
3. 初谷守朗、黒川真奈絵、紅露剛史、永井宏平、有戸光美、増子佳世、末松直也、岡本一起、伊東文生、加藤智啓. 末梢血単核球のプロテオーム解析による潰瘍性大腸炎クローン病の鑑別診断. 日本プロテオーム機構第 7 回大会. 2009 年 7 月.
4. 飯塚進子、岡本一起、有戸光美、永井宏平、黒川真奈絵、増子佳世、末松直也、廣畑俊成、加藤智啓. 中枢神経ループスにおける抗神経細胞抗体の対応抗原の検出. 日本プロテオーム機構第 7 回大会. 2009 年 7 月.
5. 高桑由希子、黒川真奈絵、大岡正道、永井宏平、有戸光美、増子佳世、末松直也、岡本一起、尾崎承一、加藤智啓. 顕微鏡的多発血管炎患者血清ペプチドの網羅的探索. 日本プロテオーム機構第 7 回大会. 2009 年 7 月.
6. 深澤雅彦、岡本一起、中村学、永井宏平、有戸光美、黒川真奈絵、増子佳世、末松直也、肥塚泉、加藤智啓. めまいモデルラット前庭代償期における小脳片葉プロテオーム解析. 日本プロテオーム機構第 7 回大会. 2009 年 7 月.
7. 金城永幸、小板橋賢一郎、Yang Xiang、永井宏平、黒川真奈絵、岡本一起、有戸光美、増子佳世、遊道和雄、安田隆、末松直也、木村健二郎、加藤智啓. 血清ペプチドミクス解析による IgA 腎症の診断マーカーの探索. 日本プロテオーム機構第 7 回大会. 2009 年 7 月.
8. 安藤敬、永井宏平、近田正英、岡本一起、黒川真奈絵、増子佳世、有戸光美、末松直也、小林俊也、加藤智啓、幕内晴朗. プロテオミクスによる腹部大動脈瘤形成機序の解明. 第 50 回日本脈管学会総会. 2009 年 10 月.
9. Arito M, Kurokawa M, Masuko K, Okamoto K, Nagai K, Suematsu N, Kato T. Acetyl-Proteomics for the Investigation of Pathological Molecules in Rheumatoid Arthritis. HUP0 8th Annual World Congress, Toronto, Sep., 2009.
10. Nagai K, Kaneshiro N, Xiang Y, Kurokawa M, Okamoto K, Arito M, Masuko K, Yudoh K, Yasuda T, Suematsu N, Kimura K, Kato T. Comprehensive analysis of short peptides in sera from patients with IgA nephropathy. HUP0 8th Annual World Congress, Toronto. Sep., 2009.

11. Fukasawa M, Okamoto K, Nakamura M, Nagai K, Arito M, Kurokawa M, Masuko K, Suematsu N, Koizuka I, Kato T. Proteomics of Cerebellar Floccules during Vestibular Compensation of A Rat Vertigo Model HUP0 8th Annual World Congress, Toronto, Sep., 2009.
 12. Hatsugai M, Kurokawa M, Kouro T, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Ito F, Kato T. Protein Profiles of Peripheral Blood Mononucleocytes are Useful for Discrimination of Ulcerative Colitis from Crohn's Disease. HUP0 8th Annual World Congress, Toronto, Sep., 2009.
 13. 有戸光美, 松尾光祐, 黒川真奈絵, 永井宏平, 岡本一起, 増子佳世, 末松直也, 加藤智啓. 関節リウマチ関連分子アネキシン A7 の機能解析. 第 82 回日本生化学会大会. 2009 年 10 月.
 14. 初谷守朗, 黒川真奈絵, 紅露剛史, 永井宏平, 有戸光美, 増子佳世, 末松直也, 岡本一起, 伊東文生, 加藤智啓. 末梢血単核球のプロテオーム解析による潰瘍性大腸炎とクローン病の鑑別診断. 第 82 回日本生化学会大会. 2009 年 10 月.
 15. 高桑由希子, 黒川真奈絵, 大岡正道, 永井宏平, 有戸光美, 増子佳世, 末松直也, 岡本一起, 尾崎承一, 加藤智啓. 顕微鏡的多発血管炎患者血清ペプチドの網羅的探索. 第 82 回日本生化学会大会. 2009 年 10 月.
 16. 岡本一起, 末松直也, 増子佳世, 黒川真奈絵, 有戸光美, 永井宏平, 遊道和雄, 加藤智啓. 新規の核内レセプター・コアクティベーター (MTI-II) の立体構造と転写促進活性. 第 82 回日本生化学会大会. 2009 年 10 月.
 17. 深澤雅彦, 岡本一起, 中村学, 永井宏平, 有戸光美, 黒川真奈絵, 増子佳世, 末松直也, 肥塚泉, 加藤智啓. 片側内耳破壊後の前庭代償におけるラット小脳片葉タンパク質のプロテオーム解析. 第 82 回日本生化学会大会. 2009 年 10 月.
 18. 永井宏平, 金城永幸, Yang Xiang, 黒川真奈絵, 岡本一起, 有戸光美, 増子佳世, 遊道和雄, 安田隆, 末松直也, 木村健二郎, 加藤智啓. 多変量解析 OPLS-DA を用いた IgA 腎症の血清ペプチドマーカーの検索. 第 82 回日本生化学会大会. 2009 年 10 月.
 19. Takakuwa Y, Kurokawa MS, Ooka S, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Ozaki S, Kato T. Comprehensive Analyses of Serum Peptides in Microscopic Polyangiitis. American College of Rheumatology 71th scientific meeting, Oct., 2009.
 20. Iizuka N, Okamoto K, Mastushita R, Kimura M, Nagai K, Arito M, Kurokawa MS, Masuko K, Suematsu N, Hirohata S, Kato T. Identification of autoantigens specific for systemic lupus erythematosus with central nerve system involvement. American College of Rheumatology 71th scientific meeting, Oct., 2009.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)**
1. 特許取得
なし。
 2. 実用新案登録
なし。
 3. その他
特になし。
- その他
当研究は、以下の研究者の協力のもと遂行された (50 音順、敬称略) : 大岡正道、尾崎承一、加藤智啓、高桑由希子。

西本憲弘 和歌山県立医科大学免疫制御学講座 教授

山田秀裕 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科 准教授

尾崎承一 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科 教授

研究要旨

シクロホスファミドとステロイドの併用療法の適応困難または抵抗性の ANCA 関連血管炎患者に対するトシリズマブの探索的治療研究 Tocilizumab treatment of cyclophosphamide-resistant patients with ANCA-associated vasculitis (ToCRAV) を多施設共同で行う。患者の選択基準、除外基準、トシリズマブの用法・用量、評価方法、中止ならびに脱落基準と探索的研究の各項目が固定された。

A. 研究目的

ANCA 関連血管炎症候群に対してシクロホスファミドとステロイドの併用療法は有効な治療法であり、すでに当研究班では多施設共同前向き臨床研究 JMAAV 研究を行い、その有効性と安全性の評価を行ってきた。また探索的臨床研究として RiCRAV を行いリツキシマブの有用性の検討を行った。しかし、いずれの治療法においても治療抵抗性を示したり重篤な副作用を生じたりする症例も少なくなく、有効性と安全性に優れた新たな治療法の確立が望まれる。

一方、トシリズマブは、既にキャスルマン病、関節リウマチ、若年性特発性関節炎に対して世界に先駆けて本邦で承認されており、さらに、我々は高安血管炎に対する有用性も報告した。そこで、シクロホスファミドとステロイド併用療法の適応が困難、または、併用療法では寛解導入が困難な ANCA 関連血管炎に対するトシリズマブの探索的治療を多施設共同臨床研究として計画した。本試験は Tocilizumab treatment of cyclophosphamide-resistant patients with ANCA-associated vasculitis (ToCRAV) と命名された。

ANCA 関連血管炎症候群に対するトシリズマブの至適用法・用量はいまだ不明である。そこで、過去の臨床研究から、血管炎を合併した関節リウマチ患者（悪性

関節リウマチ）におけるトシリズマブ投与時の薬物動態ならびに臨床効果の情報を解析し、それを基にトシリズマブ投与のレジメンならびに治療のプロトコールを検討した。

B. 研究方法

関節リウマチ患者に対するトシリズマブの臨床試験の中から血管炎を合併した患者のデータを抽出し、血中トシリズマブ濃度、CRP、免疫複合体値の推移について検討し、血管炎に対する治療のレジメン作成の参考にした。先進医療として聖マリアンナ医科大学倫理委員会の承認申請を行う。トシリズマブの製薬企業からの無償提供について公正取引協議会の許可を得る。さらに、厚生労働省医政局研究開発振興課専門官に高度医療実施申請について事前相談を行う。

（倫理面への配慮）

トシリズマブの探索的治療の実施にあたっては、施設ごとに倫理委員会の承認を得た上で行う。また、ヘルシキ宣言を遵守し、被験者の文書による同意の取得のうえ行う。多施設共同臨床試験のため、症例登録ならびに臨床情報集計と解析、検体採取にあたっては患者の個人情報（氏名、生年月日、住所など）を削除し、匿名化する。その内容をプロトコールに明記した。