

⑤血管炎モデルenv-pXラットにおけるLAMP-2の解析（川上・石津）：皮膚血管炎をおこしたラット3検体中、2検体でLAMP-2高値を認め、その皮膚血管炎浸潤細胞にLAMP-2発現を認めた。

⑥血管炎好発系マウスの治療モデルの開発（能勢）：McH5/lpr血管炎モデルマウスを用いて、新たにFTY720の血管炎抑制効果を見出した。

2. ヒト血管炎における病因・病態の解析

①MPO-ANCA 関連血管炎患者における自己抗原 MPO の翻訳後修飾の検討（加藤）：MPO-ANCAの産生機序として MPO 自己抗原の翻訳後修飾が関与している可能性を明らかにするため、その実験条件の最適化を行い、患者群で翻訳後修飾が健常者と異なる可能性を見出した。

② MPO-ANCA 関連血管炎の末梢血トランスクリプトーム解析（石津）：MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前ならびに治療 1 週間後の末梢血についてトランスクリプトーム解析を行い、治療後に発現が減少する、IFIT family や CCR family を含む遺伝子 13 個と発現が増加する、ANCA 対応抗原を含む遺伝子 3 個を同定した。

③全身性自己免疫疾患共通の疾患感受性遺伝子と ANCA 関連血管炎との関連解析（土屋）：SLE、RA、SSc など、複数の自己免疫疾患に共通の感受性遺伝子であることが明らかになった *BLK*, *STAT4*, *IRF5* 遺伝子多型が ANCA 関連血管炎とも関連する傾向を見出し、これらの疾患の発症あるいは進展機構に共通性がある可能性が示唆された。

④ヒト制御性 T 細胞の分化誘導を促進させる生理活性物質の解析と血管炎治療への応用（長谷川）：ヒト制御性 T 細胞の誘導を促進、安定化する物質を探索する中で、iTreg 細胞の誘導、安定化に有効な PPAR アンタゴニストを見出し、その分子機構に Foxp3 プロモーター領域の脱メチル化の関与を明らかにした。

3. ヒト血管炎の診断開発

①皮膚病変からみた血管炎アトラスアトラス集の作成（岩月・勝岡・川上）：血管炎の診断糸口になる皮膚病変を収集し、同時に、厚労省研究班の診断基準、重症度基準と治療指針を組み入れて、一般診療の手引きとなるアトラス集を編纂した。

②ANCA 関連腎炎の国際分類（城）：MPO-ANCA 関連血管炎の病理パラメーターを腎生検時ならびに腎機能予後の臨床パラメーターと比較してその相関性を解析し、MPO-ANCA 関連腎炎の国際組織分類の作成に関与した。

*Histopathologic classification of Antineutrophil Cytoplasm Autoantibody-associated glomerulonephritis: a working proposal . Berden AE, Ferrario F, Hagen EC, Jayne DR, Jennette JC, Joh K, Neumann I, Noël LH, Pusey CD, Waldherr R, Bruijn JA, Bajema IM. J Am Soc Nephrol. 21(10):1628-36. 2010.

③ヒト皮膚型結節性多発動脈炎の抗リソソーム関連タンパク質抗体の解析（川上）：74 症例中、MPO-ANCA、PR3-ANCA は direct ELISA、capture ELISA とも全例陰性、しかし ANCA 間

接蛍光法で62例(83.8%)が陽性(17例がP-ANCA pattern、45例がatypical pattern)を示した。また、LAMP-2が15例(20.3%)で陽性、組織でも血管炎浸潤細胞に陽性を認めた。この15例は全てANCA間接蛍光法で陽性(7例がP-ANCA pattern、8例がatypical pattern)であった。

④血管炎の組織病理学的診断におけるプロトタイプの検討(澤井・能勢)：バーチャルスライドを利用したコンサルテーションシステムを検討した。

4. 血管炎関連自己抗体の網羅的探索

①ヒトタンパク合成5000プロジェクト(能勢)：自己抗体リアクタントタンパク質として、NCBI cDNAライブラリーより無細胞系タンパク質合成のための転写鋳型を作製し、自己免疫疾患の位置的候補遺伝子に基づくタンパク質、細胞膜タンパク質、分泌タンパク質、サイトカインを合成した。

②新たな血管炎関連自己抗体の解析(能勢)：血管炎が遺伝的に解離して発症する組換え近交系MXH/lprマウス11系統の血清を用いて、AlphaScreen法によるハイスループットな自己抗体探索法で血管炎発症と相関して発現する自己抗体を探索し、新たに血管中膜平滑筋細胞の分化制御に関わるタンパク質に対する自己抗体を新たに見出した。

IV-①

無細胞タンパク質合成系を用いた網羅的な自己抗体探索による新たな血管炎関連自己抗原の同定

田中ゆき^{1,2}、小森浩章¹、曾我美子¹、藤野貴広²、松岡和弘³、澤崎達也³、遠藤弥重太³、能勢真人^{1,4}

¹愛媛大学医大学院医学系研究科ゲノム病理学、²愛媛大学総合科学研究支援センター、³無細胞生命科学工学研究センター、⁴愛媛大学プロテオ医学研究センター

従来我々は、自己免疫病自然発症モデルマウスである MRL/lpr マウスと、*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、系統ごとに様々な組合せの自己抗体、自己免疫病が遺伝的に分離して見られる組み換え近交系 MHX/lpr 系統群を作成してきた。これらの病態の組合せは系統ごとに遺伝的に保存されているため、自己抗体価の推移と病態発症との関連を経時的に観察できる。そこで本研究班では、血管炎と相関する自己抗体を同定する目的で、無細胞蛋白質合成系を用いて、従来明らかにしてきた自己免疫疾患感受性遺伝子座に位置する 109 種類の遺伝子に関してそのタンパク質を合成し、AlphaScreen 法により自己抗体をスクリーニングしてきた。今回、この MHX/lpr 系統群 11 系統の中で高い反応性を示す自己抗体 4 種類を新たに選出し、これらについての定量的解析を行うべく、本研究班で確立した無細胞系タンパク質合成法とリンクさせた capture ELISA 法を用いて、血管炎病態との相関する新規自己抗体を見出した。このリアクタントは、最近血管中膜平滑筋細胞の分化プロセスを阻害、制御することが示唆されているタンパク質であり、血管炎病態との関連性について解析した。

IV-②

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

北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野

1) 自己血管内皮細胞反応性 T 細胞による血管炎発症モデルの解析

中・小型血管炎を発症する env-pX ラットから自己血管内皮細胞反応性 T 細胞を単離することに成功した。単離した T 細胞は、TCR $\alpha\beta$ ⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁻CD25⁺NKR-P1A⁻の形質を有する double negative T 細胞であった。TCR V β 鎖は V β 8.6 を用い、CDR3 領域のアミノ酸配列は RPWGGRF であった。この T 細胞のサイトカイン/ケモカインプロファイルを RT-PCR で解析したところ、IL-2(-), IL-4(+), IL-10(-), IL-17(-), IFN- γ (+), MCP-1(+), MIP-1 α (+), MIP-1 β (+), rantes(+), eotaxin(-)を示した。この T 細胞を野生型ラットに静注することにより、肺その他の組織に血管炎が誘導されたことから、単離した自己血管内皮細胞反応性 T 細胞は血管炎惹起性 T 細胞であると考えられた。

2) MPO-ANCA 関連血管炎の末梢血トランスクリプトーム解析

MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前および治療開始 1 週間後の末梢血をサンプルとして、網羅的遺伝子発現解析を行った。治療後に寛解し、その後も寛解が維持された 9 症例において、88 個の遺伝子が治療前後で統計学的に有意な発現変化を示した。このうち、治療後に発現が減少した遺伝子は 66 個、治療後に発現が増加した遺伝子は 22 個であった。これらの中から、再現性の確認された 30 遺伝子を選択し、MPO-ANCA 関連血管炎 18 症例の末梢血（治療前および治療開始後 1 週間）について、定量的な遺伝子発現解析を行った。治療後の予後との関連について重回帰分析を行い、赤池の情報量基準が最小となる遺伝子セット、すなわち、治療開始後の早期に MPO-ANCA 関連血管炎の治療後の予後を予測する最適遺伝子セットとして、16 個の遺伝子を抽出した。16 個の遺伝子の中には、寛解維持症例において治療後に発現減少を示す遺伝子が 13 個と、治療後に発現増加を示す遺伝子が 3 個含まれていた。前者には IFIT family や CCR family の遺伝子が含まれており、後者には ANCA の対応抗原が含まれていた。

IV-③

モデルマウスの新知見をヒト血管炎の新マーカーへ

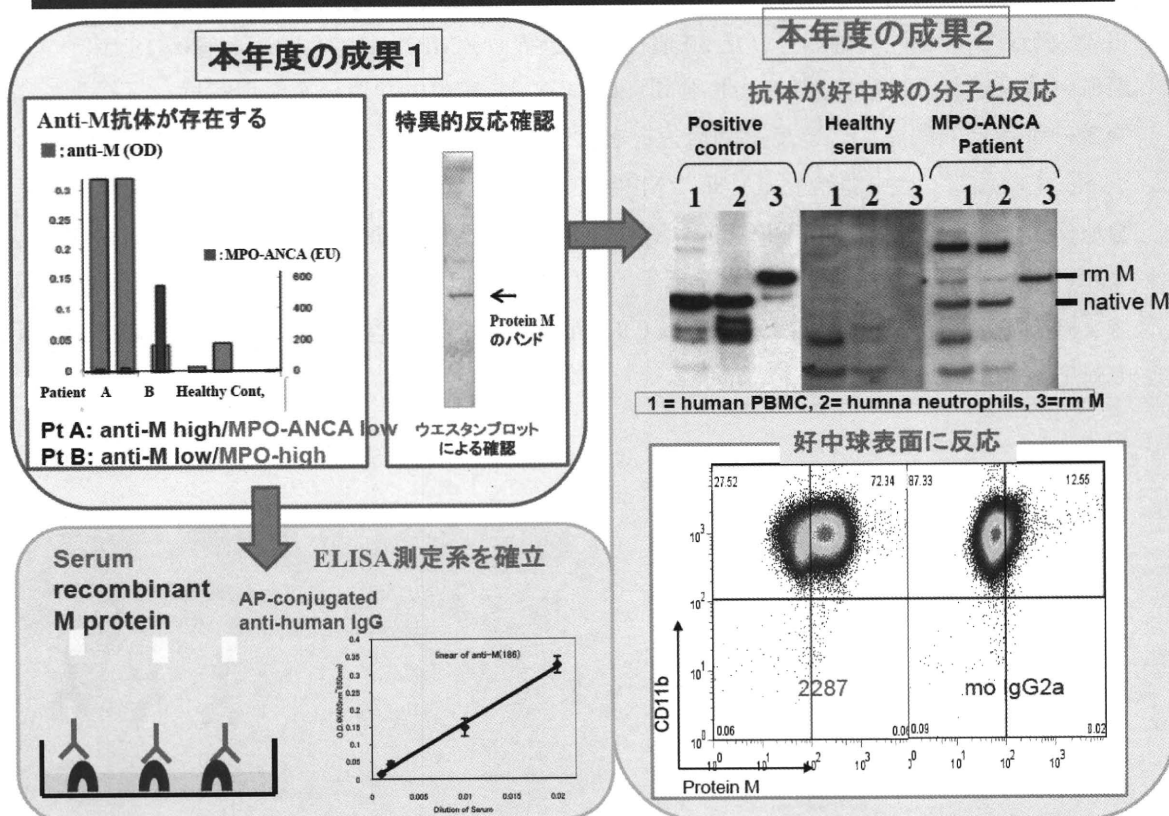
—新規 ANCA の可能性の Anti-M 抗体—

鈴木和男¹⁾、高橋 啓²⁾、長尾朋和¹⁾、湯村和子³⁾

¹⁾千葉大学大学院医学研究院 免疫発生・炎症制御、²⁾東邦大医療センター大橋病院病理、³⁾自治医大・腎臓内科

MPO-ANCA エピトープによる血管内皮細胞障害機構を明らかにする目的で、マウス糸球体内皮細胞に MPO-ANCA の標的分子として MPO 以外の分子が存在することを報告した (NDT, 2007)。本分子の PMF 解析により同定した Protein M には、MPO-ANCA のリスクエピトープ部位が含まれていた (NDT, revision)。ヒトでの Protein M 抗体を定量するため確立した ELISA 測定系を使って、自治医大湯村先生の協力により得た MPA 患者血清が、ウェスタンブロットおよび FACS 解析により、ヒト好中球を認識することが明らかになった。以上から Protein M 抗体が、新たな好中球自己抗体としての血管炎マーカーになる可能性が示された。今後は、班員の先生方の協力を得て、病態と本抗体価との関係を解明する予定である。

Anti-Mの好中球との反応とELISAの確立



IV-④

MPO-ANCA 関連血管炎患者における自己抗原 MPO の翻訳後修飾の検討

永井宏平、内田 貞輔、加藤 智啓

聖マリアンナ医科大学 疾患プロテーム・分子病態治療学

[目的] ミエロペルオキシダーゼ(MPO)-ANCA の産生機序は不明である。自己抗体産生機序として、自己蛋白質の修飾変化が抗原性獲得につながるという考え方があるが、ヒト疾患の標識自己抗原についてはほとんど検討されていない。我々は最近質量分析と二次元ウエスタンブロット法(2DE-WB 法)を用いることで、抗 RNP 抗体の対応抗原について、抗 RNP 抗体が出現する疾患では特徴的な修飾変化があることを見出した。このことから、MPO についても、MPO-ANCA 関連血管炎では修飾変化が起こっている可能性があると考え、本研究ではこれを検索する。その際、MPO は通常の 2DE 条件下で容易に分解されるため、MPO を 2D-WB で解析するための実験条件の最適化を行った後に、MPO-ANCA 陽性患者と健常者における MPO の翻訳後修飾プロファイルの比較を試みた。

[方法] 3 種類の抽出液、すなわち、高濃度の変性剤(7M Urea, 2M Thiourea)と界面活性剤(4% CHAPS)を含む Tris-HCl 緩衝液 (pH8.5) (以下 A 液)、高濃度の界面活性剤(4% CHAPS)を含む酢酸緩衝液(pH4.7) (以下 B 液)、高濃度の界面活性剤(4% CHAPS)と高濃度の塩(1M NaCl)を含む酢酸緩衝液(pH4.7)(以下 C 液)を用いて好中球から蛋白質を抽出し、MPO の検出を試みた。抽出された蛋白質を SDS-PAGE もしくは 2DE で展開後、抗体を用いて MPO を検出し定量した。MPO の抽出効率が最も良かった抽出液を用いて 2D-WB 解析を行い、MPO-ANCA 陽性患者における翻訳後修飾変化を検出した。

[結果と考察] 各溶液で抽出された MPO の一次元 WB での比較では、2DE に通常用いられる A 液を用いた場合、MPO 長鎖が分解され、より低分子量の複数のバンドとして検出された。一方、B 液と C 液での抽出では MPO 長鎖は分解されず、収量も多かった。次に、B 液と C 液で抽出された MPO は 2D-WB 上 p8-11 の範囲に等電点の異なる複数のスポット群として検出され、MPO が生体内で複雑な翻訳後修飾を受けていることが示唆された。検出スポット数は C 液による方が多く、C 液が本実験に適していることが明らかとなった。MPO-ANCA 関連血管炎と健常者の MPO を C 液で抽出し、比較した結果、患者群では MPO スポットがより高い等電点を示している傾向が見られ、患者群で翻訳後修飾が異なる可能性が示唆された。現在、検体数を増やし更なる翻訳後修飾プロファイルの比較を試みている。

IV-⑤

全身性自己免疫疾患共通の疾患感受性遺伝子 *BLK*, *STAT4*, *IRF5* と ANCA 関連血管炎との関連研究

土屋尚之¹、伊東郁恵¹、川崎綾¹、古川宏²、當間重人²、小林茂人³、橋本博史⁴、山田秀裕⁵、尾崎承一⁵、富田誠⁶、宮坂信之⁷、針谷正祥^{6,7,8}、槇野博史⁹

筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻¹、国立病院機構相模原病院臨床研究センター²、順天堂大学附属順天堂越谷病院内科³、順天堂大学医学部⁴、聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科⁵、東京医科歯科大学臨床試験管理センター⁶、東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科⁷、東京医科歯科大学薬害監視学⁸、岡山大学腎・免疫・内分泌代謝内科学⁹

【目的】近年、複数の自己免疫疾患に共通の疾患感受性遺伝子が多数存在することが明らかになってきた。日本人集団においても、*BLK*, *STAT4*, *IRF5* が全身性エリテマトーデス (SLE)、全身性強皮症 (SSc)、関節リウマチ (RA) に関連することが、われわれを含めた複数のグループから報告されている。本研究では、これら 3 遺伝子を候補遺伝子として、日本人 ANCA 関連血管炎との関連を検討した。

【方法】顕微鏡的多発血管炎 (MPA) 99 例、Wegener 肉芽腫症 (WG) 18 例、Churg-Strauss 症候群 (CSS) 10 例、健常対照群 511 例を対象として、いずれも日本人集団における全身性自己免疫疾患との関連が確立している *BLK* 上流に位置する rs13277113、*STAT4* の intron に位置する rs7574865、*IRF5* 下流に位置する rs2280714 の関連研究を施行した。患者試料は、平成 11~13 年度厚生労働省難治性血管炎に関する調査研究班、平成 21 年度厚生労働省抗好中球細胞質抗体関連血管炎患者の genomic DNA 収集に関する研究班 (「MPO-ANCA 関連血管炎に関する重症度別治療プロトコルの有用性を明らかにする前向きコホート研究 (JMAAV)」および「抗好中球細胞質抗体 (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 (RemIT-JAV)」登録者を対象)、および国立病院機構相模原病院臨床研究センターにて収集された。

【結果】*BLK* 上流領域の一塩基多型 (SNP) rs13277113 A/A 遺伝子型が、MPA において増加していた ($P=0.035$, オッズ比 [OR] 1.59, 95%信頼区間 [CI] 1.03-2.45)。MPO-ANCA 陽性群全体においても関連が検出された ($P=0.023$, OR 1.62, 95%CI 1.07-2.45)。また、*STAT4* rs7574865 においても、MPA ($P=0.053$, OR 1.78, 95%CI 0.99-3.22) および MPO-ANCA 陽性群 ($P=0.0095$, OR 2.06, 95%CI 1.19-3.55) において、T/T 遺伝子型の有意な増加あるいはその傾向が検出された。さらに、サンプルサイズは小さいものの、WG において、*IRF5* rs2280714 A/A 遺伝子型の増加傾向が観察された ($P=0.076$, OR 2.35, 95%CI 0.91-6.05)。

【結論】SLE, SSc, RA と関連する遺伝子群が ANCA 関連血管炎とも関連傾向を示し、これらの疾患の発症あるいは病態形成機構に共通性がある可能性が示唆された。

IV-⑥

ヒト制御性 T 細胞の分化誘導を促進させる生理活性物質の解析と血管炎治療への応用
長谷川 均

愛媛大学大学院生体統御内科学

[目的] 血管炎などの自己免疫疾患の制御に制御性 T 細胞 (Treg) が重要な役割を演じている。また、抗原特異的制御性 T 細胞の存在が注目されており、患者末梢血から誘導する必要がある。ところが、TGF- β 存在下で TCR の活性化にて、末梢ナイーブ T 細胞から誘導されたヒト iTreg 細胞は、マウスと異なって、Foxp3 の発現が一過性で、抑制機能を持たないことが示されている。そこで、Foxp3 の発現を増強させ、安定させる物質を生理活性脂質や核内受容体リガンドなどからスクリーニングし、抑制機能を持つヒト Treg 細胞への誘導が可能かどうかを検討している。12 種類単離され、PPAR α および γ アゴニストのヒト Treg の分化誘導機序について解析した。

[方法] PPAR α および γ アゴニストの投与によるの iTreg 細胞の Foxp3 発現、抑制機能、Foxp3 プロモーター領域およびイントロン 1 内領域 (CNS3) のメチル化を検討した。さらに DNA methyltransferase の発現、trichostatin A(TSA)や all-trans-retinoic acid (ATRA) との相乗効果について検討した。

[結果] 1) iTreg 細胞に対する PPAR アゴニストの影響について検討した結果、PPAR α と γ アゴニストを投与した群では、コントロール群と比較して、5 種類とも Foxp3 の発現増強がみられた。機能的には、TGF- β のみで誘導したコントロール iTreg 細胞は抑制機能がないが、PPAR アゴニスト投与群では、5 種類とも抑制機能があり、PPAR アゴニストは抑制機能を持つ iTreg 細胞を誘導することが明らかになった。また、3 種類の PPAR α と 2 種類 PPAR γ では抑制機能に差は認められなかった。2) Foxp3 の発現に重要な役割を演ずるプロモーター領域および CNS3 領域のメチル化状態について検討した。nTreg 細胞では、両領域はほとんど脱メチル化されており、一方、ナイーブ T 細胞と TGF- β のみで誘導したコントロール iTreg 細胞は、ほとんどメチル化された状態であったが、PPAR アゴニスト投与群は有意に脱メチル化されていた。3) 次に、DNA メチル化の維持や安定に重要な働きを示す DNMT の発現について検討した。3 種類すべての DNMT1,3a,3b の発現は、PPAR アゴニスト投与群では著しく低下した。4) TSA あるいは ATRA と PPAR アゴニストを併用すると、相乗効果にて iTreg 細胞の抑制機能が増強することが明らかになった。

[結語] PPAR アゴニストと TGF- β で誘導した iTreg 細胞は抑制機能を持つようになった。さらに、Treg 細胞の機能の増強が報告されている TSA や ATRA と併用すると、PPAR アゴニストは更に iTreg 細胞の抑制機能を亢進させた。これらの結果が ANCA 抗原特異的制御性 T 細胞の誘導や安定に寄与することが期待され、今後 ANCA 抗原特異的制御性 T 細胞の樹立を行う。

IV-⑦

皮膚血管炎・血管障害のスペクトラムと臨床・病理所見

診療の手引き「皮膚病変からみた血管炎アトラス集」

岩月啓氏¹⁾、勝岡憲生²⁾、川上民裕³⁾

¹⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学、²⁾北里大学医学部皮膚科学、

³⁾聖マリアンナ医大皮膚科

研究要旨 血管炎の診断糸口になる皮膚病変を収集し、同時に、厚労省研究班の診断基準、重症度基準と治療指針を組み入れて、一般診療の手引きとなるアトラス集「皮膚病変からみた血管炎アトラス集」を編纂した。

A. 研究目的

国際的新分類および厚労省研究班に準拠して、一般診療において役立つ「皮膚病変からみた血管炎アトラス集」を作成する。

B. 研究方法

Chapel Hill 分類に準拠した血管炎症候群を中心に皮膚病変と病理組織所見を収集し、さらに厚労省診断基準、重症度基準と治療指針を組み入れて編集した。

C. 研究結果

1. アトラス集構成

第I章は国際分類に準拠した典型例の臨床と病理組織所見を中心とした診療の手引き、第II章は、症例提示と鑑別すべき疾患を収集した。

2. 進捗状況

ページデザイン(図1, 2)を決め、最終校正の段階。来春3月の上梓を目標にしている。

D. 考察

本アトラス集が、一般診療医にとって、血管炎症候群・血管病変の診療手引きとして活用されることを期待する。

E. 結論

「皮膚病変から見た血管炎アトラス集」作成のコンセプト、構成と進捗状況について報告した。

V. 中小型血管炎の臨床研究分科会報告

難治性血管炎に関する調査研究一中・小型血管炎臨床研究分科会

分科会長：有村 義宏（杏林大学第一内科）

研究分担者

- 天野 宏一（埼玉医科大学総合医療センターリウマチ・膠原病内科）
伊藤 聡（筑波大学臨床免疫学・膠原病リウマチ学）
佐田 憲映（岡山大学腎・免疫・内分泌代謝内科学）
高崎 芳成（順天堂大学医学部膠原病内科）
土橋 浩章（香川大学 内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科）
針谷 正祥（東京医科歯科大学薬害監視学）
藤井 隆夫（京都大学免疫・膠原病内科）
本間 栄（東邦大学医学部内科学講座（大森：呼吸器内科））
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）
山村 正弘（愛知医科大学リウマチ科）
和田 隆志（金沢大学血液情報統御学）

研究協力者

- 臼井 丈一（筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻腎臓病態医学分野）
小川 法良（浜松医科大学第三内科）
熊谷 俊一（神戸大学大学院医学研究科免疫・感染内科学）
黒崎 敦子（虎の門病院放射線診断科）
黒沢美智子（順天堂大学医学部衛生学教室）
中村 好一（自治医科大学公衆衛生学教室）
野島 博（大阪大学微生物病研究所環境応答研究部門分子遺伝研究分野）
原淵 保明（旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室）
坂野 章吾（名古屋市立大学病院膠原病内科 輸血部）
松原 修（防衛医科大学校 病態病理学講座）
武會 恵理（財団法人 田附興風会医学研究所北野病院 腎臓内科）
村川 洋子（島根大学医学部内科学講座内科学第三内科）
湯村 和子（自治医科大学腎臓内科）
吉田 雅治（東京医科大学八王子医療センター腎臓内科）

中・小型血管炎は易再燃性の希少疾患で、予後不良の難病である。このため、治療法の確立は急務である。本疾患の研究には、全国規模で専門医の総力を結集することが不可欠で、厚生労働省により支援された牽引的研究体制の確立・維持が望まれる。本研究班では、昨年度までに国際的評価基準を取り入れた全国的な患者登録システムを確立し、標準療法の確立に向けた。前向き観察コホート研究「抗好中球細胞質抗体（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（RemIT-JAV）」を開始した。2010年11月21日までの総登録症例は145例となり、着実に成果があげられている。今後、登録症例の解析による研究成果を基に、全国規模の前向き研究を更に推進・改良し、標準的寛解導入治療および寛解維持療法の確立をめざす。本研究により、わが国の血管炎データベースの構築ができ、治療実態の評価と前向き臨床試験の実施が可能となる。さらに、今後長期の前向き臨床研究を継続させるための基盤体制を確立できる。

一方、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観察研究では、62例が解析された。アレルギー性肉芽腫性血管炎／Churg Strauss 症候群の全国調査では、473例の多数例を用い、厚生省基準の感度、特異度、その妥当性をACR基準、Lanham基準との比較し検討した。

今後の研究方針として、(1)血管炎データベースに基づいた前向きコホート研究（榎野、有村、針谷、藤井、和田、天野、高崎、本間、山田、土橋、伊藤、佐田）：初年度は、中小型血管炎に関する患者登録システムを用いて、寛解導入および寛解維持療法の確立に向けた前向き研究のプロトコルを開発する。血管炎データベースの構築には、進行性腎障害に関する調査研究班との共有化を図り、一般診療で利用可能な血管炎の診断法、活動性・重症度評価法、標準治療・代替治療を含めた治療指針を策定する。(2) Wegener 肉芽腫症および顕微鏡的多発血管炎の特定疾患臨床個人調査票の調査項目の改訂（榎野、有村、高崎、藤井、佐田）を行い、より有効な新個人調査票を作成する。

これらの研究は、我が国の中・小型血管炎患者の予後改善に寄与するとともに、質の高いエビデンスを世界に発信するための基盤となると考えられる。

V-①

演題名：アレルギー性肉芽腫性血管炎／Churg Strauss 症候群の全国調査結果

～ACR 基準、Lanham 基準との比較における厚労省基準の妥当性について

演者名：天野 宏一

所属：埼玉医科大学総合医療センター リウマチ膠原病内科

「目的」アレルギー性肉芽腫性血管炎（AGA）／Churg Strauss 症候群（CSS）の現在の厚労省の分類基準の妥当性を検証する。

「対象および方法」全国主要施設の 1564 診療科に AGA/CSS 患者の有無についてアンケートを実施。回答があった 357 診療科（956 例）に 2 次調査票を配布。調査票が回収できた 164 診療科の 473 例で厚労省、ACR および Lanham の 3 つの分類基準について満足度を調べ、ACR および Lanham 基準からみた厚労省基準の感度、特異度を調べ、その妥当性について検証した。

「結果」厚労省基準は確定診断基準で 249 例（52.6%）、疑診を含めると 388 例（82.0%）が満足した。ACR 基準と Lanham 基準の満足度はそれぞれ 226 例（47.8%）、297 例（62.8%）。今回の症例で ACR 基準満足度が低い理由は、肺病変と副鼻腔病変の頻度が低いことと、生検実施率が低いため生検所見の項目が満たされない症例が多いことが原因と思われる。Lanham 基準を満足しない理由として、好酸球数 1500 未満、血管炎による臓器障害数が 1 つしかないことが主であった。ACR 基準満足例からみた厚労省基準の感度は、確定例で 75.2%、疑診を含めると 96.4%、特異度は確定例で 60.2%、疑診を含めると 14.8%と低い。同様に Lanham 基準についても、感度は確定例で 67.3%、疑診例含めて 98.7%、特異度は確定例で 63.8%、疑診例含めると 29.9%と低い。

「結論」今回集積した 473 症例では喘息、好酸球増加、末梢神経障害がほぼ全例に共通の所見であり、ACR 基準では肺と副鼻腔病変を含むこと、Lanham では 2 臓器以上の障害と好酸球数 1500 以上が感度の低下に関連し、より厳しい基準であった。一方厚労省基準では発熱、体重減少、筋痛、関節痛など必ずしも血管炎とは限らない炎症症状が含まれていること、好酸球数に定義がないこと、などが感度の高い一因であるが逆に特異度が低下する可能性がある。今後、世界的に統一した基準を作成していくために議論をしていく必要がある。

V-②

ANCA 関連血管炎の臨床個人調査票の改訂計画

順天堂大学膠原病内科 高崎芳成、同大 李 鍾碩

京都大学大学院医学研究科臨床免疫学 藤井隆夫

ウェゲナー肉芽腫症および結節性動脈周囲炎（顕微鏡的多発血管炎）の両 ANCA 関連血管炎の臨床個人調査票は調査項目が多岐にわたり、検査所見においても診断基準にて求められる検査所見以外の項目も比較的多い。その上、現在の調査票では「新規」と「更新」の調査項目も「鑑別診断」の項目を除けば全く同様の構成となっており、煩雑である事に加え、症状およびステロイドの投与量も含め、治療の変遷も把握しにくい。

一方、現在の「臨床症状」は臓器別の配列となっており、診断基準に対する準拠を確認するためには必ずしも把握しやすい構成となっているわけではない。

これらの問題点を勘案し、今回、我々は両疾患の臨床個人調査票の各項目の必要性和妥当性、さらに全体の構成について検討を加え、その結果に基づいてより有用で使いやすい調査票の作成を目指す。

その第一段階として臨床調査票の各項の必要性、全体の構成、さらにその他、現段階における問題点に関し、班員内でのアンケート調査を実施する。次にその調査結果を通して上げられた各項目の臨床的重要度について再度、班員内におけるアンケート調査を実施する。さらにそれに加えて「特定疾患に関する疫学調査研究班」に協力を依頼し、削除する方向で抽出された項目についての疫学的な意義および有用度について統計学的な解析を行う。

これらの調査、検討を2年度に渡って実施し、最終的により臨床的に優れ、疫学調査にも有用な新たな臨床個人調査票の策定を目指す。

V-③

難治性血管炎に関する調査研究班 中・小型血管炎研究班平成 22 年度班会議抄録 ANCA 関連血管炎・急速進行性糸球体腎炎前向きコホート研究

研究分担者氏名：針谷正祥¹、本間 栄²、土橋浩章³、佐田憲映⁴

¹東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科薬害監視学講座 教授

²東邦大学 医療センター大森病院呼吸器内科 教授

³香川大学 医学部内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科 助教

⁴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

研究協力者氏名 山縣邦弘¹、臼井丈一²

¹筑波大学 大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻腎臓病態医学分野 教授

²筑波大学 大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻腎臓病態医学分野 講師

A. 研究背景 本研究班では、平成 20 年度より抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎 (AAV) 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 (RemIT-JAV) を実施中である。RemIT-JAV には既に 150 例以上の症例が登録され、本邦における AAV の現状を把握する上で重要なデータが集積されつつある。

B. 研究目的 RemIT-JAV に引き続き実施する前向きコホート研究内容をさらに充実させるための、研究方法および研究実施体制を検討する。

C. 方法 平成 22 年 7 月までに集積された RemIT-JAV 登録患者のデータから、各疾患別の患者背景、生存率、寛解率、治療内容を検討した。治療内容では、副腎皮質ステロイドの初期投与量、減量速度、シクロホスファミド併用に着目し、MPA 症例に関しては、治療パターンのクラスター解析を行った。基礎分科会から収集した要望事項の研究計画内への反映についても、併せて検討した。

D. 結果 RemIT-JAV にこれまで登録されたデータでは、患者背景・臨床的特徴・治療内容が多彩であり、治療反応性・予後などのアウトカムを解析するためにはさらに症例登録数を増やし、データを蓄積する必要がある。また、腎・肺などの重要標的臓器病変 (糸球体腎炎、肺胞出血、間質性肺炎) に焦点を絞った研究項目を組み込むことが病態の解析と治療戦略ならびに生命予後の改善に重要であると考えられた。これらの検討結果から、本研究班と進行性腎障害研究班が共同で実施する ANCA 関連血管炎・急速進行性糸球体腎炎前向きコホート研究の骨子を策定した。これらのコホート研究の附随研究として、ゲノム DNA 収集、バイオマーカー探索用検体収集 (mRNA、尿、血清) を実施する予定である。

E. 考案 本研究は、厚生労働省の難治性疾患克服研究事業の関連する 2 つの研究班が共同で実施する前向きコホート研究であり、その最大の特徴は AAV が持つ全身性炎症性疾患および生命予後に大きな影響を持つ ANCA 関連腎炎の両者の視点を有する点にある。さらに、肺画像診断の系統的解析も組み込み、研究の進展に伴い、さらなる関連他班との研究協力・連携も期待できる。RemIT-JAV および本コホート研究結果を統合することにより、我が国の AAV、急速進行性糸球体腎炎の診断および治療に関する新たなエビデンスの構築に役立つことが期待される。

V-④

RemIT-JAV 研究中間解析：わが国の ANCA 関連血管炎の診察実態の把握を目指して

山村昌弘¹, 佐田憲映², 針谷正祥³, 藤井隆夫⁴, 有村義宏⁵

¹愛知医科大学医学部内科学講座腎臓・リウマチ膠原病内科, ²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学, ³東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科薬剤監視学, ⁴京都大学医学部医学研究科内科学講座臨床免疫学, ⁵杏林大学医学部第一内科

前向き観察コホート研究「抗好中球細胞質抗体 (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 (RemIT-JAV)」は厚生労働省難治性血管炎調査研究班において 2009 年 4 月に開始され, 2012 年 12 月に登録終了する。本研究では, ANCA 関連血管炎患者に対する寛解導入療法の治療効果を主要項目である寛解到達率と寛解到達期間により解析し, 副次的評価項目に生存・死亡, 治療反応, 再燃, 重篤感染症発現, 肺限局型血管炎の病態, 厚生労働省認定診断基準の診断一致率がある。

2010 年 11 月 21 日までの総登録症例は 145 例となった。登録時調査票データ固定が完了した 131 例[男/女=51/80;平均年齢 69 ± 12 歳, MPO-ANCA 陽性 108 例(82%), PR3-ANCA 陽性 16 例(12%)]の疾患構成は顕微鏡多発血管炎(MPA)81 例, ウェゲナー肉芽腫症(WG)31 例, Churg-Strauss 症候群(CSS)14 例, 分類不能型血管炎 5 例であった。本研究で用いた Watts らの分類アルゴリズムでは, 肉芽腫性炎症・血管炎代用マーカーと ANCA 所見を利用することにより, 疾患早期や不全型症例の MPA および WG の分類が可能となり, 従来の診断法に比較すると分類不能例が減少した。ANCA 関連血管炎全般に MPO-ANCA 陽性率が高く, WG においても過半数が MPO-ANCA 陽性であった。

治療の中間解析では, プレドニゾン体重換算 0.8mg/kg/日程度のステロイド治療が開始され, ステロイドパルス療法併用およびシクロホスファミド(CY)併用が 40%程度にあった。寛解到達の中央値は 165 日で, 治療開始後 6 か月後の寛解率は 92%であった。6 か月までの再燃率 7%で, 生存率 95%であった。交絡の調整はまだ行えていないがステロイドパルス療法や CY 併用による治療効果の改善傾向を認めた。

Watts らの血管炎分類アルゴリズムは国際的なデータ比較に適した方法である。RemIT-JAV 研究中間解析から, わが国の ANCA 関連血管炎は欧米とは異なり, MPO-ANCA 陽性の MPA が多数を占めることが確認された。本研究が完了し, わが国の ANCA 関連血管炎の治療実態とその有効性と安全性が明らかにされれば, 今後の前向き臨床研究の立案および ANCA 関連血管炎治療プロトコールの修正における重要なエビデンスになるものと期待される。

V-⑤

演題名：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観察研究

演者名：和田隆志¹⁾，原章規¹⁾，吉原堅²⁾，有村義宏²⁾

所属：1)金沢大学附属病院腎臓内科

2)杏林大学第一内科

【背景】中小型血管炎の中で、わが国に頻度が高い顕微鏡的多発血管炎(microscopic polyangiitis; MPA)は、ほとんどが myeloperoxidase (MPO)に対する抗好中球細胞質抗体(anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody; ANCA)陽性で再燃率が高く再燃予防のために長期間の免疫抑制療法を要する。目下のところ、本邦における MPA の寛解維持療法には明確な基準はない。

【目的】MPO-ANCA 陽性顕微鏡的多発血管炎(MPA)患者の寛解維持療法における再燃とその危険因子を明らかにする。この研究成果を基に MPA に関する前向き臨床試験(RemiT-JAV)と連動させる。

【対象と方法】各施設において、2005年1月1日より2006年12月31日までの2年間にMPO-ANCA陽性MPAと診断され、初回寛解導入療法にて寛解に至った症例に対するアンケート調査を行った。主要評価項目を再燃率とし、副次的評価項目を再燃に関する危険因子とした。

【結果】回収された調査票のうち、解析の対象となった症例は62例(男性25例、女性37例)であり、平均年齢は70.0±8.9歳であった。そのうち、15例(24.2%)が再燃し、再燃までの平均期間は16.9±13.5カ月であった。Cox 比例ハザードモデルを用いた検討では、ステロイド減量速度が再燃の有無に対する説明変量として選択された($p<0.01$)。モデル推定の結果、維持療法開始から6カ月以内では94.3%、1年以内では92.8%の患者が寛解を維持していた。また、2年以内では87.8%が、3年以内では76.5%が寛解を維持していた。再燃に関する危険因子について、ロジスティック回帰モデルを用いた解析では有意な因子は抽出されなかった。なお、関連解析では、維持療法開始時のMPO-ANCA定性と再燃の有無との統計的関連は認められなかった。

【考察】

主要評価項目である再燃率は、これまで報告されている欧米の成績とほぼ同等であった。また、ステロイド減量速度が増加すると再燃へのリスクが高まるとの結果が得られた。今後、維持療法が開始される前向きコホート研究(RemiT-JAV)の症例および新規に登録される症例に対する前向き調査を行い、さらに検討する必要がある。

VI. 国際研究協力分科会報告

分科会長：鈴木和男¹

研究分担者：小林茂人²、藤元昭一³、平橋淳一⁴

研究協力者：高橋 啓⁵、湯村和子⁶、中島裕史⁷、猪原登志子⁸、長尾朋和¹

原淵保明⁹

千葉大院医¹免疫疫発生・炎症制御、⁷同・遺伝子制御、²順天堂越谷病院内科、
³宮崎大学医学部附属病院血液浄化療法部、⁴東京大学病院腎臓内科、⁵東邦大大橋医療センター病理、⁶自治医大腎臓内科、⁸田附興風会医学研究所附属北野病院腎臓内科、⁹旭川医科大学・耳鼻咽喉科

以前から提案されていた血管炎の診断・分類基準の国際的な見直しのために、遺伝子背景や環境・生活習慣の異なる地域で比較される国際共同研究（DCVAS）が本格的な調査・研究の段階にさしかかった。日本からは、「国際研究協力分科会」が対応し、国内の登録準備が完了している。また、それに呼応して血管炎の診断法や遺伝子解析の国際標準化への協力も求められているのが現状である。一方、これらの情報は、日本国内の医療従事者に広く普及することが必要であり、普及活動として「普及フォーラム」を昨年度に続き開催した。以下に具体的な事業報告をする。

1. DCVAS(新分類基準研究)への対応状況

現在行われている診断のための検査を考慮に入れた上で、前向きコホートから得られたデータを用いて、分類基準と診断基準を作成することとなり本研究が策定された。国際的な研究においても診療においても使用可能な **criteria** を作成することを目標とする本プロジェクトは、EULAR と ACR により構成された調査特別委員会である“EULAR/ACR endorsed points to consider in the diagnosis of the systemic vasculitides”から発展した DCVAS において行われる。欧州および米国に加え、本調査研究班「国際研究協力分科会」として、国際研究の一員として参画することで、国内組織について国際事務局(Oxford)に提出した。(資料—1)

【DCVAS の目的】

- a) 現行の **classification criteria** を臨床試験に用いるために、MPA の概念を PAN とは異なった存在として導入し、さらに血管炎の新しい分類を作成する。
- b) 診断のための検査(ANCA など)、疾患活動性評価(BVAS) や、血管炎による臓器障害の指標(CDA[VDI])を用いて **criteria** を改良する。
- c) 臨床徴候をクラスタリングすることにより **Reference Standard**(資料2)を作成することで、専門家が臨床徴候によりそれぞれの疾患を区別する限界を同定する。参照基準と鑑別に有用な臨床兆候から専門委員会が個々の患者に対して下す診断を **Consensus diagnosis** とする。
- d) 日常診療に使用可能な診断基準を作成する。

1) 日本の組織と参加施設

当分科会では、研究代表者班長および中小血管炎分科会と協力して登録の開始と解析の準備を進めている。参加施設では、倫理委員会に申請中あるいは承認されている。(資料—1)

2) DCVAS 会議

A) Parma 会議まで

原発性全身性血管炎の分類・診断基準作成のための EULAR/ACR 研究会議である DCVAS (Diagnosis and Classification Criteria for Vasculitis)のこれまでの各国の議論を事務局 Prof. R. Luqmani, Oxford University らがまとめて、publish した。(第1回班会議抄録を再掲) Basu N, Watts R, et al. EULAR points to consider in the development of classification and diagnostic criteria in systemic vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:1744-50.)を受けて、各国の事情などもあるため、英国での倫理委員会申請書案の提示が各国の委員に配布された。日本の状況や問題点を国際研究協力分科会にて、中小血管炎分科会の協力を得て検討し、英国事務局に最終版にむけてコメントを出した。

B) Parma 会議

2010年6月14日、イタリア・パルマ

国際研究協力分科会出席：鈴木和男、小林茂人、藤元昭一、平橋淳一
EUVAS の本会議の前日、DCVAS が開催された。(第一回班会議にて報告済)

Chairs: Raashid Luqmani (英), Peter Merkel (米), Richard Watts (英)

Introduction: Raashid Luqmani, Richard Watts, UK (EULAR)

Overview of study: Ravi Suppiah, UK (EULAR)

Practicalities (language, control groups, sample collection, authorship)

Raashid Luqmani, UK (EULAR)

Vignettes/gold standard: Peter Grayson, USA (ACR)

The role of the expert panel: Peter Merkel, USA (ACR)

Item review: 5グループに分かれて discussion がなされた。

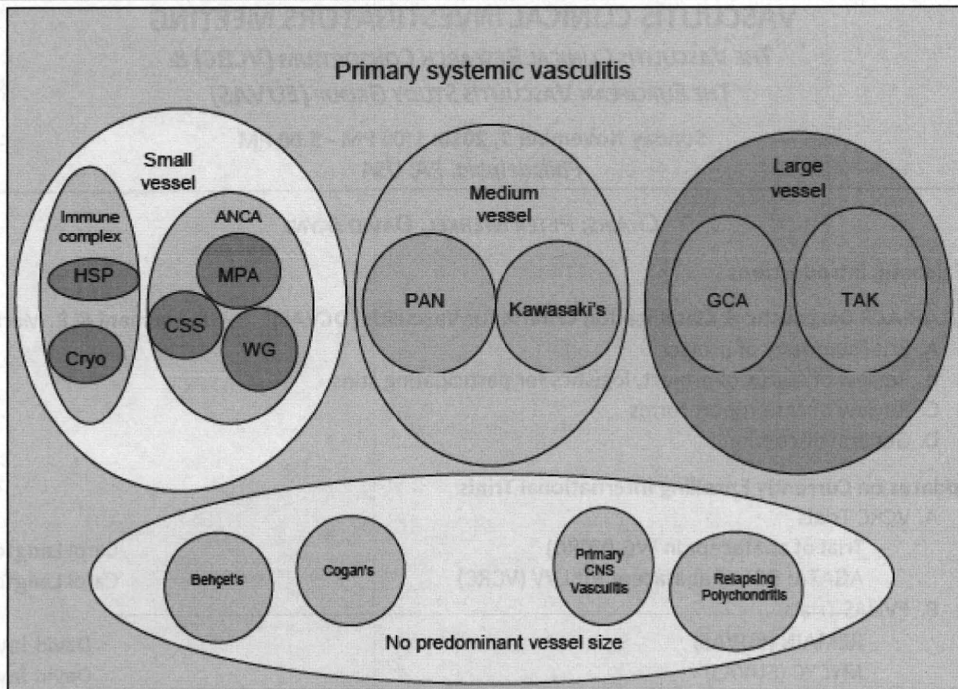
関連検査項目の国際協力

EAVAS 血清委員会にて採択された ANCA エピトープ解析の協力と推進

・MPO-ANCA: Suzuki ら(Chiba University)の解析パネル

・遺伝子、環境要因情報などについても EUVAS から要望がでた。

ACR/EULAR proposed schema for primary systemic vasculitis



Abbreviations:

HSP = Henoch Schönlein purpura
 Cryo = cryoglobulinaemia
 MPA = microscopic polyangiitis
 CSS = Churg-Strauss syndrome
 WG = Wegener's granulomatosis

PAN = non infectious polyarteritis nodosa
 GCA = giant cell arteritis
 TAK = Takayasu's arteritis
 CNS = central nervous system.

C) Atlanta 会議

2010年11月7日(日)、米国 Atlanta

会場: Hilton Atlanta (Northern Court Room-2nd Floor), Atlanta, GA, USA.

国際研究協力分科会出席: 小林茂人、平橋淳一