

効果を検討した。

DAMPs としてのヘムの検討については、TLR4KO マウス腹腔マクロファージのヘムによる IL-1 の誘導、マクロファージ細胞株のミオグロビン、ヘモグロビンによる IL-1 の誘導を検索した。さらに TLR2、3、4(MD2+CD14)、5、7、8、9、NOD1、2 をそれぞれ遺伝子導入した HEK293 細胞、TLR2、TLR4、TLR6 を共発現した HEK293 細胞を用いてヘムによる IL-8 の誘導をしらべ、ヘムの炎症促進蛋白誘導経路を検討した。

C. 研究結果

T 細胞の寿命に影響し、サイトカイン産生にも影響があると報告されているオステオポンチンは、コラーゲンやファイブロネクチンなどの細胞外基質と異なり、心筋炎の発症直前から急激に上昇し、急性期には 1000 倍以上発現が増加した。また細胞外基質を分解する多くの MMP の発現は心筋炎発症初期から増加していた。MMP の中でも MMP-3、MMP-9 は IL-1 によって誘導された。MMP の阻害作用を持つ TIMP については、TIMP-1 は発症、IL-1 刺激によって増加していたが、TIMP-3 は発症や IL-1 刺激によりむしろ低下した。細胞外基質の分解を阻害する SLPI による治療は、ラット心筋炎の心体重比、心筋炎面積率を有意に改善させた。

TLR4KO マウスの腹腔マクロファージはヘムによる IL-1 誘導がほとんどみられず、ヘムの刺激は TLR4 を介すると考えられた。また、ヘムだけでなく、ヘモグロビン、ミオグロビン自体でもマクロファージ細胞株は強力に IL-1 発現が誘導された。しかし、HEK 細胞を用いた炎症促進蛋白誘導経路の

検討では、どの遺伝子導入 HEK 細胞でも IL-8 は強い誘導は示さず、その反応経路はスカベンジャー受容体など、他の分子が関わっている可能性が想定された。

D. 考案

血管炎、臓器炎はサイトカイン、ケモカインが傷害を進展させることがわかっているが、その誘導および作用は多岐にわたっている。今回検討した細胞外基質の中でもオステオポンチンは心筋炎発症直前から起こっており、急激に発現が増強は非常に大きかった。オステオポンチンは T 細胞の寿命を延長させ、IL-12 などのサイトカインを誘導するなどの過去の報告と考え合わせると心筋炎でも発症を引き起こす時に重要な因子なのではないかと思われる。また、MMP、その阻害作用のある TIMP についても IL-1 による誘導はそれぞれ異なっており、その役割は異なる可能性があり、今後の検討が必要かもしれない。いずれにしても、SLPI がラット心筋炎に対して有効であったことを考えると、細胞外基質と炎症は密接に関わっており、血管炎、臓器炎の治療が細胞外基質にどのような影響を与えるのかを意識することは重要ではないかと思われる。

強力な DAMPs と考えられるヘムは全身に広く存在するため、様々な血管炎、臓器炎において大きな影響を及ぼす可能性が考えられる。ヘムだけでなく、ヘモグロビン、ミオグロビンだけでも炎症促進蛋白が誘導されることは、その影響が容易に起こりうることを示唆している。TLR4 は重要な DAMPs 受容体であるが、ヘムもこれを介した反応であると考えられる。しかし、

TLR4+MD2+CD14 を遺伝子導入した HEK 細胞でもヘムに反応しなかった結果は、LPS と異なる経路を示していると考えられる。その他の TLR を単独で遺伝子導入した HEK 細胞、TLR2,4,6 を同時に遺伝子導入した HEK 細胞でも反応せず、その詳細な機序はまだ不明であり、今後の検討が必要である。おそらくスカベンジャー受容体など他の分子もこの反応経路に関わっている可能性がある」と推測される。

E. 結論

オステオポンチンは発症直前から急激に発現が増強し、炎症の進展に大きな影響を及ぼしている可能性がある。ヘム蛋白自体でも強力な DAMPS になると考えられたことは、全身の様々な血管炎、臓器炎で容易にこの現象が起こりうることを示唆するものと考えられる。ヘムの反応は少なくとも TLR4 を介していると考えられるが、その詳細な機序は未だ不明であり、今後検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hao K, Hanawa H, Ding L, Ota Y, Yoshida K, Toba K, Ogura M, Ito H, Kodama M and Aizawa Y: Free heme is a danger signal inducing expression of proinflammatory proteins in cultured cells derived from normal rat hearts. *Mol Immunol* 48: 1191-1202, 2011.

2. 学会発表

国際会議

1. H. Hanawa, K. Hao, T. Yoshida, R. Watanabe, M. Kodama, Y. Aizawa Free heme and heme proteins as endogenous ligands strongly induce proinflammatory proteins via toll-like receptor-4 in cardiovascular diseases. 28th ISHR 2011/12/2-3 TOKYO

国内会議

1. 埜 晴雄, 羽尾和久, 柏村 健, 小幡裕明, 伊藤正洋, 小玉 誠, 長谷川剛, 相澤義房 フリーのヘムは Toll 様受容体を介して心臓在住マクロファージを強力に活性化する 第15回日本心不全学会学術集会 2011年10月13-15日 鹿児島

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。

ザイモザン誘発性肺炎におけるミエロペルオキシダーゼ欠損の影響

分担研究者： 荒谷康昭 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科・教授

研究要旨：

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)の肺にザイモザンを投与すると、MPO-KO マウスは野生型マウスよりも重篤な肺炎を誘発した。肺に浸潤した細胞のほとんどは好中球であった。投与直後の肺中の MIP-2 量は、野生型マウスよりも MPO-KO マウスの方が一過的に著しく高値を示した。ザイモザン投与時に MIP-2 抗体も投与すると好中球の肺への浸潤が著しく軽減した。興味深いことに、MPO-KO マウスからの単離好中球に培養下でザイモザンの刺激を加えると、野生型好中球よりも高い MIP-2 産生能を示した。すなわち、MPO の欠損による好中球からの MIP-2 産生の促進が、MPO-KO マウスにおけるザイモザン誘発性肺炎の重篤化の一因になっている可能性が示された。

A. 研究目的

炎症誘発における食細胞由来の活性酸素の関わりを知ることを目的とした。MPO は主に好中球に存在する活性酸素の代謝酵素であり、過酸化水素と塩化物イオンから次亜塩素酸を生成する反応を触媒する。MPO-KO マウスにカンジダ菌などの病原菌が肺感染すると、野生型マウスよりも重篤な肺炎を誘発して早期に死亡することを以前に報告している。感染した菌を殺菌できないことがその理由であると考えられる。本研究では、酵母菌体成分であるザイモザンを用いて、生菌ではなく、菌体成分に生体が暴露した際に惹起される炎症における食細胞由来活性酸素の影響を探った。

B. 研究方法

野生型マウス (C57BL/6 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 10 回以上戻し交配して、C57BL/6 と遺伝的背景を等しくした後に使用した。いずれも 8-10 週令の雄マウスを使用した。マウスの飼育は、公立大学法人横浜市立大学動物実験指針、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。

市販ザイモザンの懸濁液をマウスに経鼻投与した。投与後の肺の組織切片を HE 染色して、肺の炎症像を組織学的に解析するとともに、肺胞洗浄によって回収された細胞数を計測した。さらに、回収した細胞の細胞種をフローサイトメトリーで同定した。抗 MIP-2 抗体を投与する際は、ザイモザン投与 30 分前に経鼻

的に投与した。

単離好中球からの MIP-2 産生量を知るために、マウスの大腿骨髄より Percoll 密度勾配遠心法により骨髄好中球を単離した。一方、ザイモザン非投与のマウスから肺胞洗浄法により肺胞マクロファージを単離した。単離した好中球およびマクロファージをザイモザン存在下で 6 時間培養したのち、その上清を回収した。肺ホモジネート中、単離好中球および単離マクロファージが産生する MIP-2 量は市販の ELISA 測定キット(R&D)を用いてメーカーの推奨する方法に準じて測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験にあたっては、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等を遵守し、公立大学法人横浜市立大学動物実験指針、同八景キャンパス動物実験指針、ならびに同木原生物学研究所動物実験指針に準じた。必要最小限のマウスを使用することに努め、やむを得ず安楽死させる際には頸椎脱臼法を採用した。ノックアウトマウスは、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に準じて、組換え体として飼育した。

C. 研究結果

野生型マウスにザイモザンを経鼻投与すると、投与後 6 日目までほぼ同程度の軽度の肺炎しか観察されなかった。一方、MPO-KO マウスの炎症は、投与後 1 日目ですでに野生型マウスよりも進行し、6 日目には肺胞のほとんどすべての領域が炎症細胞で充満した重篤な炎症の発症が観察された (図 1A)。

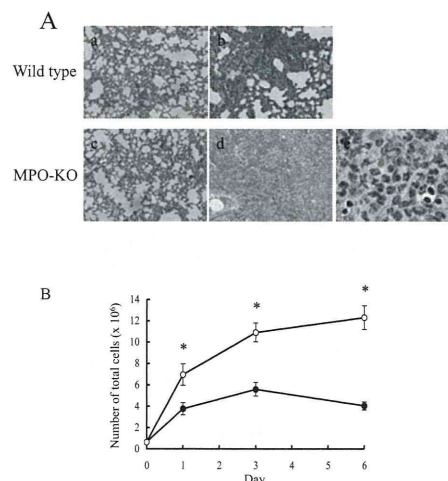


図 1 ザイモザン投与後の肺炎像(A)と肺胞洗浄によって回収された細胞数

(A) a,c:ザイモザン非投与、b,d,e:投与 6 日

(B) ●野生型マウス、○MPO-KO マウス

投与後 6 日目の MPO-KO マウス肺からは野生型マウス肺の 5 倍量の細胞が回収された (図 1B)。その 8 割以上が好中球であった。以上より、MPO-KO マウスの方が野生型マウスより、ザイモザンで誘発される好中球性肺炎が早期に重篤になることが明らかとなった。MIP-2 は好中球の炎症患部への遊走を促進する。ザイモザン投与後 6 時間の肺組織中の MIP-2 量は、MPO-KO マウスの方が野生型マウスよりも 3 倍高値を示した (図 2)。MIP-2 が真に MPO-KO マウスにおける好中球の浸潤に関わっているかを知るために、MIP-2 抗体を投与し中和した結果、好中球の集積が有意に減少したことから MIP-2 は炎症初期の好中球の集積に関与していることが明らかになった。

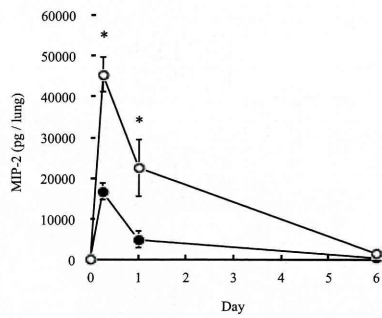


図2 肺ホモジネート中の MIP-2 量
● 野生型マウス ○MPO-KO マウス

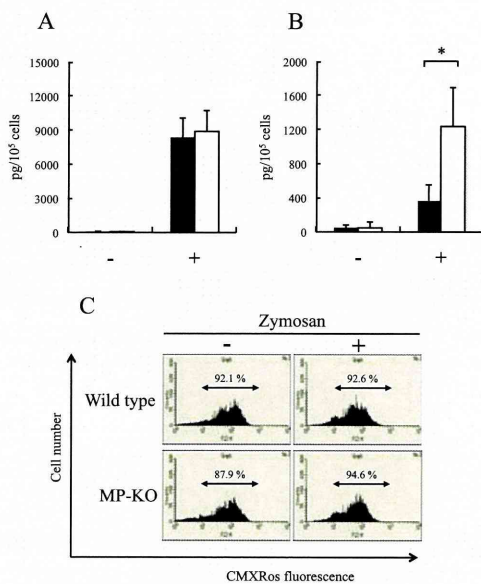


図3 肺胞マクロファージ(A)および単離好中球(B)からの MIP-2 産生量と CMXRos による細胞呼吸量の測定 (C) ■ 野生型 □MPO-KO

MIP-2 の産生源を明らかにするために、ザイモザン投与後 6 時間後に肺胞洗浄によって肺胞に集積した細胞を回収し MIP-2 の細胞内染色を行った。その結果、肺胞マクロファージと好中球が MIP-2 を産生していることが判明した。さらに、野生型および MPO-KO マウスの大腿骨髄から単離した好中球に培養下でザイモザンを添加して 6 時間培養し、培地に分泌された MIP-2 量は、MPO-KO マウス好

中球が野生型よりもおよそ 3 倍高値を示した (図 3B)。一方、単離した肺胞マクロファージにザイモザンを添加して 6 時間培養しても MIP-2 の産生が認められたが、野生型と MPO-KO との間に産生量の違いはなかった (図 3A)。培養前後の細胞のミトコンドリア呼吸量に相違は認められなかったことから (図 3C)、MIP-2 産生量の違いが細胞死によるのではないことが確認できた。さらに、MPO の組換え標品を培養液中に添加すると部分的ではあるが有意に MIP-2 の産生が抑制された (図 4)。

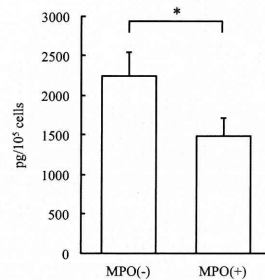


図4 MPO-KO 好中球からの MIP-2 産生における組換え MPO 添加の効果

以上の結果から、好中球の MPO 欠損は、単に殺菌能の低下による炎症の誘発を導くだけでなく、菌体成分による炎症の誘発も助長することが示された。

D. 考察

酵母菌体抽出成分であるザイモザンによって誘発される肺病変を解析した。MPO-KO マウスは、野生型マウスよりもザイモザン誘発性肺炎が重篤化することが示された。この炎症は好中球性であり、リンパ球の集積はほとんど検出できなかった。MPO-KO マウスで多くの好中球が肺に集積する理由を知るために、肺中の MIP-2 量の経時変化を解析した結果、ザイモザン投与後 6 時間の MPO-KO マウスの

MIP-2 量が、野生型マウスよりも顕著に増加した。MIP-2 抗体の投与によって炎症が軽減したことから、MIP-2 量が一過的に上昇することが肺炎重篤化の一因と考えられた。

次亜塩素酸が細胞傷害性を持つという従来の知見から、次亜塩素酸を産生できない MPO-KO マウスの方が野性型よりも炎症は軽度であると考えるのが一般的である。したがって、本研究で逆の結果が得られたことは興味深い。今後、MPO-KO マウスが重篤な肺炎を発症する機構をさらに深く知るために、MPO 欠損によって MIP-2 産生量が増大する分子機構の解明が重要となり、その解明は炎症疾患全般の発症機構を知るための一助になる。

E. 結論

好中球からの活性酸素産生異常は、ザイモザンの肺投与によって重篤な肺炎を発症し、好中球からの MIP-2 産生能が高いことがその一因と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takeuchi, K., Umeki, Y., Matsumoto, N., Yamamoto, K., Yoshida, M., Suzuki, K., and Aratani, Y: Severe neutrophil- mediated lung inflammation in myeloperoxidase-deficient mice exposed to zymosan. *Inflamm. Res.*, in press.
- 2) Sugamata, R., Dobashi, H., Nagao, T., Yamamoto, K., Nakajima, N., Sato, Y.,

Aratani, Y., Oshima, M., Sata, T., Kobayashi, K., Shoji Kawachi, Nakayama, T., and Suzuki, K: The contribution of neutrophil- derived myeloperoxidase in early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. *Microbiol. Immunol.* in press.

- 3) Phung, T., Sugamata, R., Uno K. Aratani, Y., Ozato, K., Kawachi, S., Nguyen, L., Nakayama, T., and Suzuki, K: Key role of RANTES (regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted), nonstructural protein1 and myeloperoxidase in cytokine storm induced by influenza virus PR-8 (A/H1N1) infection in A549 bronchial epithelial cells. *Microbiol. Immunol.* 55, 874-884 (2011).
- 4) Nagao, T., Suzuki, K., Utsunomiya, K., Matsumura, M., Saiga, K., Wang, P., Minamitani, H., Aratani, Y., Nakayama, T., Suzuki, K: Direct activation of glomerular endothelial cells by anti-moesin activity of anti- myeloperoxidase antibody. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26, 2752-60 (2011)

2.学会発表

国際会議

- 1) Kazuhiro Takeuchi, K., Umeki, Y., Matsumoto, N., Yamamoto, K., Yoshida, M., Suzuki, K., and Aratani, Y: Myeloperoxidase deficiency enhances lung inflammation in mice exposed to zymosan. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, Mar 28-31, Tokyo, Japan (予定)

国内会議

- 1) 大河内善史、荒谷康昭、宮脇奈那、佐々木真理、鈴木和男、岡村康司：感染防御機構における電位依存性プロトンチャンネル VSOP の役割の解析。近畿生理学談

- 話会、2011年10月1日（大阪）
- 2) 荒谷康昭、三浦典子、大野尚仁、鈴木和男：真菌感染防御における好中球由来の活性酸素の役割。第55回日本医真菌学会学術集会、2011年10月21日（東京）
 - 3) 荒谷康昭、本目みずき、三浦典子、大野尚仁：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのカンジダ死菌による肺炎の重篤化。第17回MPO研究会、2011年10月28日（熊本）
 - 4) Phung, T.,菅又龍一、宇野加津子、荒谷康昭、Ozato, K.,河内正治、Nyuyen, L., 中山俊憲、鈴木和男：劇症型ARDSのインフルエンザウイルスNS1とMPOが連続するcytokine-chemokine誘導の亢進はサイトカインストームに貢献している。第17回MPO研究会 2011年10月28日、（熊本）
 - 5) Kazuhiro Takeuchi, K., Umeki, Y., Matsumoto, N., Yamamoto, K., Yoshida, M., Suzuki, K., and Aratani, Y: Severe neutrophil-mediated lung inflammation in myeloperoxidase-deficient mice exposed to zymosan. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日（横浜）
 - 6) Matsumoto, N., Yamamoto, K., and Aratani, Y: Myeloperoxidase deficiency enhances MIP-2 expression in mouse neutrophils exposed to zymosan. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日（横浜）
 - 7) Tateno, N., Nishikawa, N., Honme, M., and Aratani, Y: Phagocyte NADPH-oxidase regulates zymosan induced acute lung inflammation. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日（横浜）
 - 8) Honme, M., Sugimura, M., Tateno, N., Miura, N., Ohno, N., and Aratani, Y: Severe lung inflammation in myeloperoxidase- and phagocyte NADPH-oxidase-deficient mice expose to sterilized *Candida albicans*. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日（横浜）
 - 9) Yoshifumi Okochi, Y., Aratani, Y., Suzuki, K., Miyawaki, N., Sasaki, M., Okamura, Y: The role of voltage-gated proton channel VSOP in host defense against pathogen. 第89回日本生理学会大会、2012年3月29日（松本）
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

免疫グロブリン大量療法の対象となる病理所見を呈する MPO-ANCA 陽性 MPA の糸球体病変を指標とする組織分類の我が国における評価

分担研究者：武曾恵理	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科部長
研究協力者：遠藤知美	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科医員
垣田浩子	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科レジデント
立石 悠	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科医員
古宮俊幸	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科副部長
岩崎由加子	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科研究補佐員
猪原登志子	公益財団法人田附興風会北野病院医学研究所	腎臓内科客員研究員
板橋美津世	東京女子医科大学	腎臓内科助教
湯村和子	自治医科大学	腎臓内科教授
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
城謙輔	仙台社会保険病院	病理部長
鈴木和男	千葉大学大学院医学研究院	免疫発生学特任教授

研究要旨：免疫グロブリン大量療法の治療対象となる MPO-ANCA 関連血管炎の急性期において、その糸球体病理所見を、米国で提唱されている 4 つのカテゴリーに分類し、MPO-ANCA 関連血管炎のみで構成される我が国の成績を少数精鋭施設で 47 例集め、その結果を米国の結果と比較した。その結果、我が国での従来の組織所見の解析法はこのカテゴリー分類に適応できることが明確となった。Focal グループが最も予後が良く、sclerotic グループが最も悪いことは、米国と同様ながら、我が国では crescentic が少なく、また mixed の予後が米国に比し、良好であった。すなわち、糸球体病変のみでの病理評価による予後推測の可能性が示され、これらの病理解析に対し、我が国から推奨した病理解析法は有効であり、今後の免疫グロブリン治療の対象を選択する際の指標にもなりうる可能性を占めた。

A. 研究目的

MPO-ANCA 関連血管炎の腎病理所見が腎予後に結びつくことはほぼコンセンサスが得られているが、有用な病理所見基準については、議論が続いている。我が国からは以前より、糸球体、間質尿細管、間質それぞれの活動性および慢性進行性の病変に基

づく病理所見パラメーターを紹介してきた。

(1) 最近、米国からこれらを含めた 4 つのカテゴリー (Focal, crescentic, mixed, and sclerotic (2) の提唱があり、予後との関連性が良好であるとの報告があった。これらの対象となったのは、100 症例の ANCA 陽性血管炎に伴う糸球体腎炎症例で、

Wegener 肉芽腫症 36 例、MPA64R 例の内訳であった。そこで、我が国で多い MPO-ANCA 関連腎炎について本分類法の評価を試行開始した。

B. 研究方法

対象：北野病院と東京女子医大病院で腎生検が施行され、5年後の予後が確認されている MPA 症例 52 例（平均年齢:64.5 歳 (49-89)）男女比：：23:29。解析法：腎病理所見を上記論文に基づく 4 カテゴリー（表 1）に分類、腎生検時、半年、一年、5 年後の Cr, eGFR, 腎生存率を検索。腎機能の推移を eGFR で検討。腎生存率を Kaplan Meier 法で解析し、上記報告と比較した。

表 1：糸球体病変による分類法（参考文献 2 より）

Class	Inclusion Criteria ^a
Focal	≥50% normal glomeruli
Crescentic	≥50% glomeruli with cellular crescents
Mixed	<50% normal, <50% crescentic, <50% globally sclerotic glomeruli
Sclerotic	≥50% globally sclerotic glomeruli

C. 研究結果

我が国の組織病変の解析法から得られた所見から、各カテゴリーを割り出すことは容易に可能であった。各カテゴリーは Focal 18 例、crescentic, 6 例、mixed 14 例、sclerotic 14 例であった。予後の解析では、Focal, sclerotic group は報告と一致した傾向であったが、mixed が米国に比し良好であった

。一方、cellular は症例数が比較的少なく、一定の結果が出ていない。

(図 1 参照)

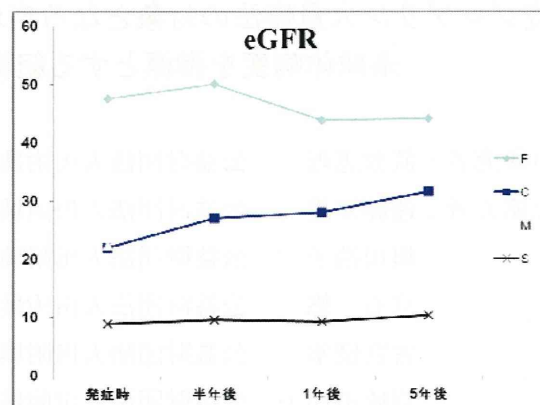


図 1：4 カテゴリー別の年次 eGFR の推移

D. 考案

これらの解析法はこれまでの組織解析の視点からずれることはなく、より簡潔であった。MPA が中心の我が国の症例における予後との関連性の評価で、focal は最も予後良好で、sclerotic は当初から腎機能低下しており腎死も多いのは上記評価同様であったが、mixed に関してはより予後が良好であった。Cellular 症例が少ないのは、発見がやや遅い可能性もある。さらにカテゴリーは糸球体のみ在所見で分類することが特徴であるが、従来より尿細管間質病変の重症度が予後を左右することも言われていることであり（3）、それらの結果に比し、このカテゴリー法がより有用であるかどうかは、今後の症例の蓄積を待つべきと考えられる。

E:結論

糸球体病変を有する MPO-ANCA 陽性血管炎において、糸球体病変の我が国から提唱した病理所見の解析を利用した、focal, cellular mixed, sclerotic の簡潔型カテゴリー

分類は、PR3-ANCA 陽性例が混在した米国での予後比較に比し、大筋は同様であったが、mixed 型の予後は比較的良好で、より heterogeneity の高い病変が混在していることが推測された。

F. 健康危険情報

なし。

G 研究発表

1. 論文発表

[英文論文]

1. Eri Muso, Kazuko Uno, Toshiko Ihara and Kazuo Suzuki:Effect of IVIg monotherapy on 'cytokine and chemokine storm 'in acute phase of MPO-ANCA-positive MPA. Clin Exp Immunol 164(1)85-99 2011

2. Hitomi Miyata-Watanabe, Kazuko Uno, Takahiko Ono, Masatomo Yashiro, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, Takeshi Kimura and Eri Muso :Suppressed IFN- α production in patients with nephrotic syndrome and potential effect of LDL apheresis (Therapeutic Apheresis and Dialysis in press)

[和文論文]

1. 池田昌樹、塚本達雄、三宅崇文、垣田浩子、古宮俊幸、米本智美、武曾恵理：偽性高クレアチニン血症を呈したマクログロブリン血症の1例(会議録/症例報告)日本腎臓学会誌 53(6)p806.2011
2. 古宮俊幸、武曾恵理：虚血性尿細管間質障害 特集：尿細管間質性腎障害 日本腎臓学会学会誌 53(4) : 625-628. 2011
3. 武曾恵理：A. IVIG 4-6-2.日本で

の現状 厚生労働省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班・難治性血管炎に関する調査研究班・進行性腎障害に関する調査研究班 ANCA 関連血管炎の診療ガイドライン p81-86 2011

(著書：分担執筆)

1. 武曾恵理：急速進行性糸球体腎炎 診療ガイド Q&A 第7章 RPGN の治療 急速進行性糸球体腎炎症候群 第2版 ダイジェスト版 pp.105-109 診療と診断社 2011
2. 武曾恵理：血管炎の腎病変 全身性疾患に伴う腎障害の診断と治療の実際 総合臨床 2011 vol.60(6) pp.1371-1377 永井書店
3. 武曾恵理：免疫グロブリン大量療法 特集 免疫疾患と腎障害 腎と透析 70(1) 121-123 2011 東京医学社、

2. 学会発表

[国際会議]

1. Eri Muso, Kazuko Uno, Toshiko Ihara and Kazuo Suzuki:Effect IVIg monotherapy on 'cytokine and chemokine storm 'in acute phase of MPO-ANCA-positive MPA.Clin Exp Immunol 164(1)85-99 2011 ANCAWORKSHOP USA

[国内発表]

1. 武曾恵理：血管炎症候群の病態と診断・治療 第1回安芸血管炎研究会 2011. 3.15 (呉)
2. 宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、鈴木和男：ヒトのサイトカイン産生能と疾患特性、個人特性の検討第16回MPO研究会 2011.

1.29 (仙台)

3. 立石悠、垣田浩子、佐藤有紀、米倉由利子、古宮俊幸、米本智美、塚本達雄、武曾恵理：ANCA 関連血管炎における補体と腎光顕組織の相関性の検討 第16回MPO研究会 2011. 1.29 (仙台)

F. 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

参考文献

1. 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

2. Annelies E. Berden, Franco Ferrario, E. Christiaan Hagen, David R. Jayne,§、J. Charles Jennette, Kensuke Joh, Irmgard Neumann, Laure-He' le' ne Noel Charles D. Pusey, Ru' diger Waldherr, Jan A. Bruijn, and Ingeborg M. Bajema : Histopathologic Classification of ANCA-Associated Glomerulonephritis : *J Am Soc Nephrol* 21: 1628–1636, 2010.
3. Berden AE, Jones RB, Erasmus DD, Noel LH, Ferrario F, Waldherr R, Bruijn JA, Jayne DR, Bajema IM: One year renal function predicted by T cell tubulitis and tubular atrophy in patients with ANCA-associated vasculitis treated with rituximab. *J Am Soc Nephrol* 20: 306, 2009

急性期川崎病血管炎における免疫グロブリン投与前後のアディポサイトカイン プロファイル

研究分担者氏名：佐地 勉：東邦大学医療センター 教授

研究協力者名：監物靖、高月晋一、嶋田博光、直井和之、中山智孝、松裏裕行
（同、助教、同 *准教授）、高橋 啓（同 大橋病院病理、教授）、川合眞一（同 膠原病内科）

研究要旨：今回、急性期川崎病の IVIG 治療前後でアディポサイトカイン Family のなかの数種のサイトカインを測定した。

[目的と方法]血清中 Resistin, High-molecular weight HMW adiponectin, leptin, visfatin を ELISA で測定した。**[対象]** 急性期川崎病（KD）56 例、健常小児対照（HC）30 例、急性感染症対照（FC）31 例、全:117 例。

[結果] Resistin level は KD 群で,HC,FC 群より有意に高値であった。一方、HMW adiponectin, leptin, visfatin は有意な高値を示さなかった。そして、この上昇した Resistin は、IVIG 後に有意に低下し、また IVIG 無反応群で有意に高かった。そして、多変量モデルでは CRP 値と最も良い相関を示した。

[結論] Resistin は他のアディポサイトカインと異なり、IVIG 療法の効果を判定できる有意なマーカーと考えられる。

はじめに：全身性血管炎である急性期川崎病 aKD の強い炎症性変化を沈静化する目的で、超大量単回免疫グロブリン IVIG 静注療法が使用されているが、不応例も 15%程度見られ、その効果を判定するよりの確な指標を見つける必要がある。

A. 研究目的

日常的な炎症マーカーである WBC,CRP の低下や、TNF α 、IL-6 等のサイトカインは、重症度や有効性の判定で良い指標となるが、血管炎による臓器障害をどのように反映するかは不明な点が多い。また、IVIG により

炎症は沈静化されても冠動脈に後遺症を来たす症例が存在する。

今回、血管炎を主な障害場所とする aKD において、アディポサイトカインは脂肪組織 Adipose tissue から分泌されるサイトカインの一種で、近年メタボリック症候群、糖尿病、肥満、動脈硬化以外にも、血管炎や炎症においても重要な役割を果たす事が報告されている。抗炎症、抗血管炎、抗心筋細胞、抗内皮細胞等の IVIG の多彩な効果、ならびに IVIG 不応性を推測する。

B. 研究方法

血清中 Resistin, High-molecular weight HMW adiponectin, leptin, visfatin を ELISA で測定した。

対象：

急性期川崎病 (KD) 56 例、健常小児対照 (HC) : 30 例、急性感染症対照 (FC) 31 例、全: 117 例

C. 研究結果

図 1 に Adipocytokine のうち、左から Resistin, HMW Adiponectin, Laptin, Vistatin の値を Box 表示で示す。Resistin は急性期で増加し、熱性疾患よりも高値である。Resistin level は KD 群で、HC, FC 群より有意に高値であった。一方、HMW adiponectin は熱性疾患で KD と手低下し、leptin, visfatin は有意な高値を示さなかった。

図 2 は IVIG 前後の値である。この上昇した Resistin は、IVIG 後に有意に低下し、また IVIG 無反応群で有意に高かった。そして、多変量モデルでは CRP 値と最も良い相関を示した。他の 3 つの Adipocytokine は有意な変化を示さなかった。

D. 考察

今回の検討で、Resistin のみが KD 血管炎においては、CRP、WBC 等重症度と有意に相関することが判明した。また IVIG 不応例で有意に高値を示した事も興味深いし、IVIG 後速やかに改善していることも有意な変化である。ヒトのレジスチンは主に脂肪細胞よりも単核球から遊離される。つまり KD では単核球(monocyte/ macrophage)の活性化の裏付けと考えられる。また resistin は TLR 4 を介するサイトカイン活性を示すとの報

告もある。また JIA でも resistin が高いことなどから、今後もしウマチ性疾患同様、KD でも IVIG 治療の有益な効果判定マーカーとなると思われる。

E. 結論

Resistin は Adiponectin などの他のアディポサイトカインと異なり、IVIG 療法の効果を判定できる有意なマーカーと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 佐地 勉 : Question12 子どもの病気 川崎病 冠動脈拡張改善のアスピリンはいつまで服用? 再発は? 暮らしと健康 (保健同人社) .2011.3 月号 : 84.2011
2. 佐地 勉 : 急性期川崎病への抗サイトカイン療法 (抗 TNF α 製剤 Infliximab) . Annual Review 循環器 2011:中外医学社, 2011.1、東京
3. Kemmotsu Y, Saji T, Kusunoki N, Tanaka N, Nishimura C, Ishiguro A, Kawai S: Serum adipokine profiles in Kawasaki disease. Mod Rheumatol. 2011. [Epub ahead of print]
4. Mori M, Kawashima H, Nakamura H, Nakagawa M, Kusuda S, Saji T, Tsutsumi H, Yokota S, Itoh S, Surveillance Committee for Severe RSV Infection: Nationwide survey of severe respiratory syncytial virus infection in children who do not meet indications for palivizumab in Japan. J Infect Chemother, 2011; 17: 254-263
5. Kemmotsu Y, Nakayama T, Matsuura H,

Saji T: Clinical characteristics of aseptic meningitis induced intravenous immunoglobulin in patients with Kawasaki disease. *Pediatric Rheumatology*. 2011; 9:28

6. Takahashi K, Oharaseki T, Nagao T, Yokouchi Y, Yamada H, Nagi-Miura N, Ohno N, **Saji T**, Okazaki T, Suzuki K: Mizoribin provides effective treatment of sequential change of arteritis and reduction of inflammatory cytokines and chemokines in an animal model of Kawasaki disease. *Pediatric Rheumatology*. 2011; 9: 30

7. **佐地 勉**、田村恵子: 小児の在宅酸素療法-現状と問題点-. *THE LUNG*. 2011; 19: 65-68

8. 小林徹、**佐地 勉**: 特集 ケアの根拠と理解でスキルアップ! 小児・新生児循環器疾患看護 10. *川崎病.こどもケア*. 2011; 6: 52-58

9. **佐地 勉**: 急性期川崎病への抗サイトカイン療法 抗 TNF α 製剤 Infliximab. *Annual Review 循環器 2011*. 中外医学社. 2011

2. 学会発表

1. **佐地 勉**: (特別講演) 川崎病の IVIG 不応例にどう対処するか. 第 19 回横須賀・三浦小児科医会学術講演会. 2010.11、横須賀
2. **佐地 勉**: 小児に用いる医薬品の用法用量のガイドライン作成に関する研究. 平成 22 年度厚生労働省科学研究費補助金 医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「小児等の特殊患者に対する医薬品の適正使用に関する研究」第 2 回班会議. 2011.1、東京
3. **佐地 勉**: 日本川崎病学会使用実態調査

～過去 4 回と 5 回 (2010 年) の実態調査から～. RAISE study 第 3 回レミケード研究会. 2011.1、東京

4. **佐地 勉**: 日本川崎病学会使用実態調査～シクロスポリン～. RAISE study 第 3 回レミケード研究会. 2011.1、東京
 5. 大原関利章、横内幸、儘田洋、山田仁美、武藤里志、三浦典子、大野尚仁、**佐地 勉**、鈴木和男: 川崎病類似系統的血管炎モデルにおける抗サイトカイン療法の血管炎抑制効果. 第 47 回日本小児循環器学会. 2011.7、福岡
 6. 井村求基、小嶋靖子、黒澤武介、原田涼子、長谷川慶、館野昭彦、**佐地 勉**: 多彩な脳神経症状を呈し、血漿交換を施行したギランバレー症候群の 1 男児例 (7 分). 第 138 回東邦医学会例会. 2011.6、東京
 7. 布施茂登、小林徹、**佐地 勉**: 川崎病小児における冠動脈エコーによる冠動脈の同定と検出率の検討. 第 31 回日本川崎病学会. 2011.9、横浜
 8. 福士茉莉子、池原聡、直井和之、嶋田博光、中山智孝、松裏裕行、**佐地 勉**: 肝逸脱酵素の著しい上昇 (AST > 5000, ALT > 2000) を呈した川崎病の 1 例. 第 31 回日本川崎病学会. 2011.9、横浜
 9. 市田露子、**佐地 勉**、梶野浩樹、小川俊一、中西敏雄: わが国の小児期心筋疾患の頻度～過去 6 年間の稀少疾患調査から～. 第 20 回日本小児心筋疾患学会. 2011.11、東京
- 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

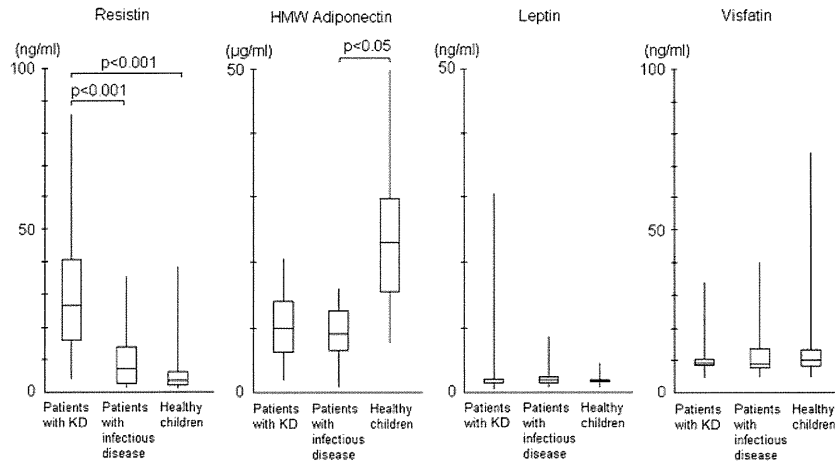


図 1 : Adipocytokine のうち、左から Resistin, HMW Adiponectin, Leptin, Vistatin の値を Box 表示で示す。Resistin は急性期で増加し、熱性疾患よりも高値である。一方、HMW Adiponectin は急性期に对照に比し低い。Leptin, Visdatin は有意差を示さない。

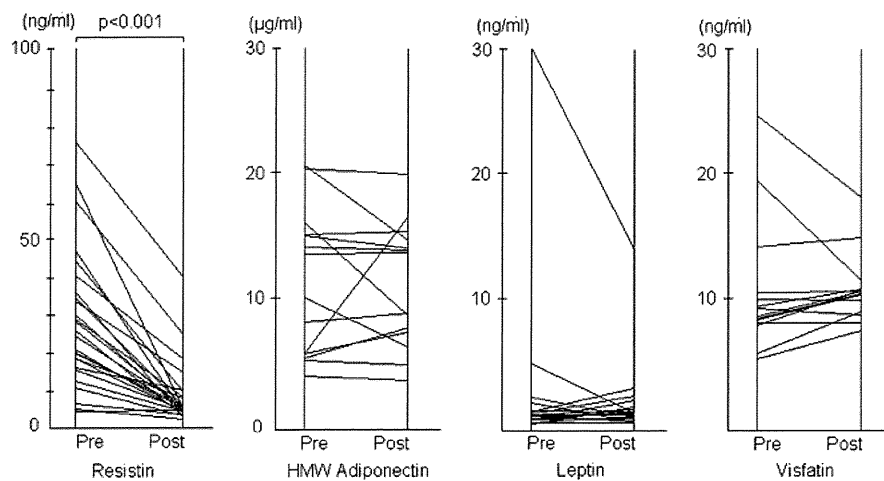


図 2 : IVIG 前後の値

間質障害を主体とする ANCA 関連腎炎に対する病理学的考察

研究分担者

今井圓裕 名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学 特任教授

研究協力者

野中慶佑 名古屋大学医学部附属病院腎臓内科学 医員

尾崎武徳 名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学 助教

丸山彰一 名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学 特命教授

松尾清一 名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学 教授

研究要旨：組織学的に糸球体障害を欠き、間質炎および小動脈炎主体の病変を示す MPO-ANCA 関連腎炎を2症例経験したので報告する。症例1は60代男性で MPO 陽性の急速進行性糸球体腎炎（RPGN）の患者であり、弓状動脈レベルに壊死性血管炎を認めたものの、糸球体に半月体形成は認めず、壊死性小動脈炎＋尿細管周囲毛細血管炎を伴う尿細管間質性腎炎と診断した。症例2も同じく60代男性で、間質性肺炎（NSIP 疑い）へのプレドニン(PSL) 5mg による維持療法中、発熱、炎症反応上昇、中等度血尿、蛋白尿を伴う sCr 上昇、および MPO-ANCA 陽性(140EU)から、ANCA 関連腎炎による RPGN と診断したが、糸球体に半月体形成を認めず、間質の繊維化と炎症細胞の浸潤、尿細管萎縮が主病変で間質性腎炎と診断した。両症例ともにメチルプレドニゾロンパルス療法および PSL による後療法により腎機能改善をみた。過去の報告からは、MPO-ANCA 関連腎炎患者の1%程度で間質障害主体の病変を示すとされている。尿所見が軽度で、腎機能が急速に悪化する際には、稀有ではあるが本例のような病態を考慮する必要がある。

A. 研究目的

ANCA 関連腎炎において、糸球体に半月体形成を認めず、尿細管間質性腎炎の病理型を示す患者について報告する。

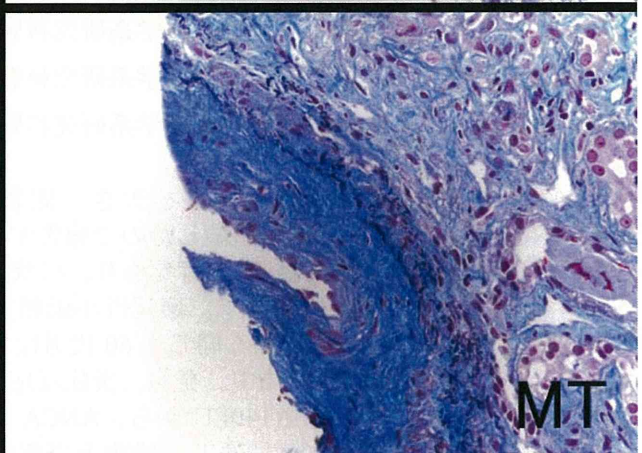
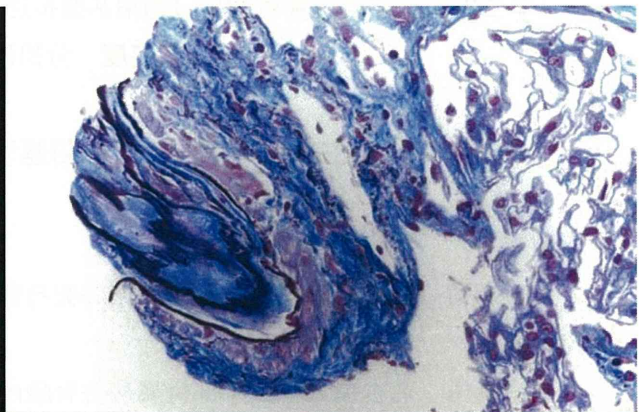
B. 研究方法

名古屋大学医学部附属病院腎臓内科に平成23年度に入院した ANCA 関連患者5名の中から、腎生検を行った症例のうち、尿細管間質腎炎の病理型を示す2症例を提示して、検討する。

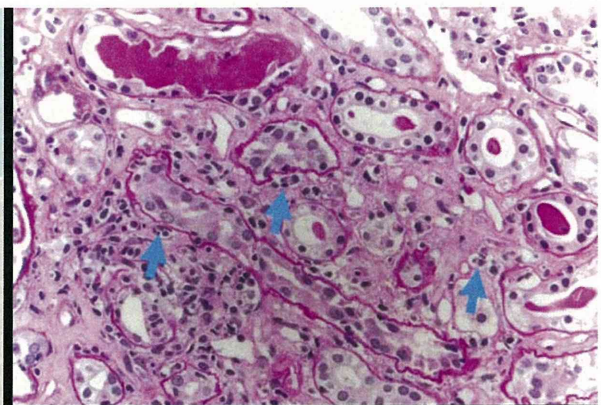
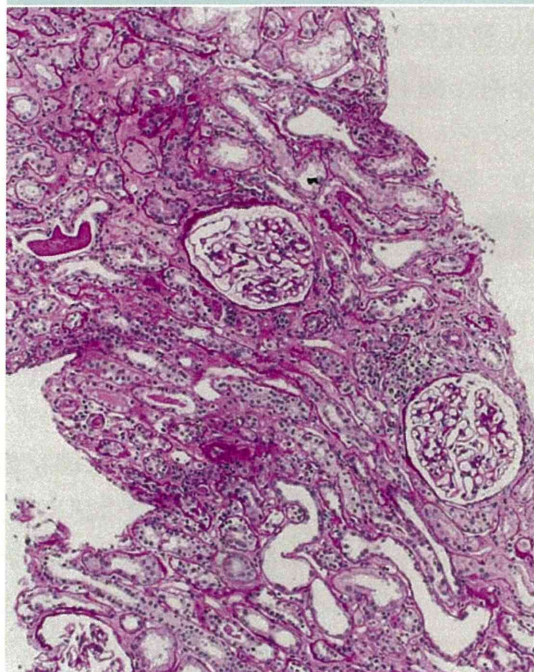
C. 研究結果

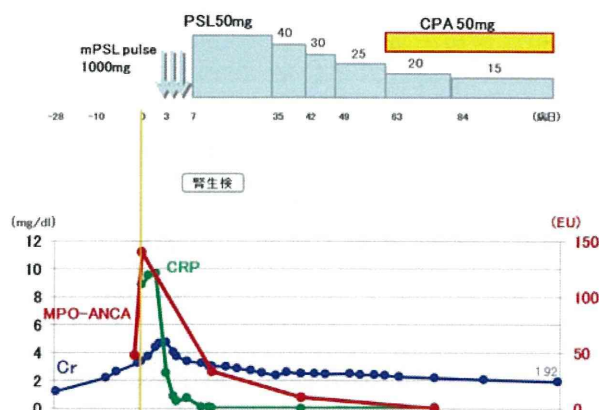
症例は60代男性。間質性肺炎（NSIP 疑い）へのプレドニン(PSL) 5mg による維持療法中、発熱、炎症反応上昇を呈した。感染症を疑い治療するも改善なく、精査加療目的に当院紹介。中等度血尿、蛋白尿を伴う sCr 上昇、および MPO-ANCA 陽性(140EU)から、ANCA 関連腎炎による RPGN と判断。腎生検組織上は、糸球体に半月体形成を認めず、間質の繊維化と炎症細胞の浸潤、尿細管萎縮が主病変であった。血管炎所見は認めず、間質性腎炎と診断した。両症例ともにメチルプレドニゾロンパルス療法および PSL による後療法により腎機能改善をみた。

- ・壊死性動脈炎なし
- ・間質の線維化と細胞浸潤著明



- ・PTC内に炎症細胞を浸潤認め
る。
- ・半月体形成認めず。





D. 考案

MPO-ANCA 関連腎炎患者の 1%程度で間質障害主体の病変を示すとされている。尿所見が軽度で、腎機能が急速に悪化する際には、稀有ではあるが本例のような病態を考慮する必要があると考えた。

糸球体炎からの波及ではなく、一次性に PTC 炎をきたし得る機序としては、MPO の抗原エпитープや IgG のアフィニティの違いが考えられているが、未だ明らかとはなっていない。

間質毛細血管炎から始まり、壊死性半月体形成性糸球体腎炎に発展する例がある。ANCA 陽性の間質性腎炎では、糸球体炎への移行を念頭に置く必要がある。

E. 結論

ANCA 関連腎炎の中には、少数例ではあるが、間質性腎炎の病理型を示すものがあり、血尿、蛋白尿は軽微であるにもかかわらず、腎機能低下を示すことがある。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Imai E, Yasuda Y, Horio M, Shibata K, Kato S, Mizutani Y, Imai J, Hayashi M, Kamiya H, Oiso Y, Murohara T, Maruyama S, Matsuo S. Validation of the equations for estimating daily sodium excretion from spot urine in patients with chronic kidney disease. Clin Exp Nephrol Clin Exp Nephrol. 15(6):861-7, 2011.
2. Horio M, Imai E, Yasuda Y, Watanabe T, Matsuo S. Performance of serum cystatin C versus serum creatinine as a marker of glomerular filtration rate as measured by inulin renal clearance. Clin Exp Nephrol. 15(6):868-76, 2011.
3. Nakamori A, Ando Y, Matsuda H, Kimura T, Minami H, Imai E, Yura T. Influence of proteinuria on renal Doppler sonographic measurements in chronic kidney disease and in diabetes mellitus. J Clin Ultrasound. 39(9):506-11, 2011.

2. 学会発表

国際会議

なし

国内会議

1. 野中 慶佑 糸球体病変を欠く ANCA 関連腎炎の 2 症例 第 41 回日本腎臓学会西部学術大会 2011 年 9 月 30 日 - 10 月 1 日 徳島

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

ANCA関連血管炎の再燃時治療における γ グロブリン療法の代替療法について

分担研究者：山縣 邦弘 筑波大学医学医療系臨床医学域腎臓内科学 教授

研究協力者：

筑波大学医学医療系臨床医学域腎臓内科学

臼井俊明、樋渡昭、臼井丈一、甲斐平康、森戸直記、斎藤知栄、楊景堯、鶴岡秀一

研究要旨：

ANCA 関連血管炎の難治症例を通して再燃時治療を検討する。再燃時治療の一選択肢として γ グロブリン療法が挙げられるが、その代替療法である免疫抑制療法の使用法の工夫に関して、ミゾリビン療法を中心に考察する。

A. 研究目的

我々は本研究班においてANCA関連血管炎の再燃時治療としての γ グロブリン療法の有効性を検討してきた。今回、ANCA関連血管炎の一難治症例を通して、 γ グロブリン療法の代替療法として免疫抑制療法に関して、再燃時のミゾリビン療法を中心とした免疫抑制薬の投与方法を検討する。

B. 研究方法

57歳男性のANCA関連血管炎難治例に関して、診療録を検討した。

C. 研究結果

<症例報告>

44歳時結膜炎、関節痛が出現。45歳時血蛋白尿を指摘。その数ヶ月後に発熱、鼻出血、血痰、急速進行性糸球体腎炎（以下RPGN）を呈し当院に紹介入院となる。精査の結果、PR3-ANCA陽性、腎生検でpauci-immune型半月体形成性腎炎であり、ANCA陽性RPGNと診断した（鼻粘膜生検、腎生検ともに肉芽腫は検出されず）。ステロイドパルス療法2回で寛解導入した。48歳時ANCA陽転化、経口エンドキサン、アザチオプリンを追加するもANCA陰転化せず、ミゾリビンに変更しANCA陰転化を導

く。50歳時ANCA陽転化とともに関節痛出現、再燃と判定した。経口ステロイド増量、経口エンドキササンで寛解導入した。以降経口ステロイドを漸減し52歳時より経口ステロイド+ミゾリビンで寛解維持療法を行う。53歳時RPGN進展したため経口ステロイドを一時増量した。54歳時ANCA陽転化するもミゾリビン再開で陰転化した。56歳時血清CRP陽性とともに多発肺結節が出現し（経気管支鏡的肺生検で初めて肉芽腫を確認した）、Granulomatosis polyangiitis（Wegener肉芽腫症）と確定診断するとともに再燃と判定した。ステロイドパルス1回、エンドキサンパルス6回で寛解導入した。経口ステロイド漸減も2011年1月ANCA陽転化した。同年3月発熱、血清CRP上昇、RPGNは進展し、血液透析導入となった。現在、ANCA陰転化せず、寛解維持目的に経口ステロイド、ミゾリビンの投与調整中である。

D. 考察

ANCA関連血管炎の生命・腎予後改善のため、その再燃の抑制は重要課題である。解析した難治・頻回再燃性症例のように、適切にANCA関連血管炎の再燃を判断し、その有効性および安全性を考慮した上で、

複数の免疫抑制薬の投与法を工夫することが大切である。また、本邦のANCA関連血管炎症例に適した免疫抑制療法の投与法の検討、特に高齢者主体の免疫疾患への投与法の検討が必要であり、現在、厚生労働省進行性腎障害研究班RPGN分科会でRPGNの再燃抑制による腎予後の改善を目的とし、ANCA関連血管炎寛解維持療法に対するミゾリビンの臨床試験（MARPGN study）を実施している。わが国におけるRPGNの特徴に合わせた独自の有効かつ安全な寛解維持療法の開発は急務であり、MARPGN studyの成果に基づき、高齢化社会を背景に近年増加傾向にあるRPGN症例の治療プロトコールが確立されれば、高い社会的貢献に値すると思われる。

E. 結論

腎死例ではあるが免疫抑制薬を駆使し長期生存を実現しているGranulomatosis polyangiitis（Wegener肉芽腫症）の難治例である。再燃時治療、ミゾリビンを中心とした免疫抑制療法に焦点を当て検討した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamagata K, Usui J, Saito C, Yamaguchi N, Hirayama K, Mase K, Kobayashi M, Koyama A, Sugiyama H, Nitta K, Wada T, Muso E, Arimura Y, Makino H, Matsuo S. ANCA-associated systemic vasculitis in Japan: clinical features and prognostic changes. Clin Exp Nephrol 2012 in press
2. Ozaki S, Atsumi T, Hayashi T, Ishizu A, Kobayashi S, Kumagai S, Kurihara Y, Kurokawa MS, Makino H, Nagafuchi H,

Nakabayashi K, Nishimoto N, Suka M, Tomino Y, Yamada H, Yamagata K, Yoshida M, Yumura W. Severity-based treatment for Japanese patients with MPO-ANCA-associated vasculitis: the JMAAV study. Mod Rheumatol. 2011 in press

3. 臼井丈一, 山縣邦弘. 高齢者の急速進行性糸球体腎炎で大量免疫抑制療法は必要か? 内科 107: 1162-1168; 2011
4. 臼井丈一, 山縣邦弘. 急速進行性糸球体腎炎. 医学のあゆみ 237: 895-899; 2011
5. 加瀬田幸司, 臼井丈一, 山縣邦弘. 急速進行性糸球体腎炎, ANCA 関連腎炎. カレントセラピー 29: 697-701; 2011
6. 臼井丈一, 山縣邦弘. 急速進行性糸球体腎炎, ANCA 関連腎炎. EBM 腎臓病の治療 2011-2012. 中外医学社. p42-46. 2011
7. 松尾清一, 山縣邦弘他. 急速進行性糸球体腎炎診療ガイドQ&A. 診断と治療社. p1-154. 2011
8. 臼井丈一, 山縣邦弘. ANCA 関連血管炎: ANCA 標的抗原の好中球細胞膜表面レセプター. Annual Review 腎臓 2012, p165-170, 2012

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