

オブザーバ：山縣邦弘、武曾恵理、佐田憲映（班事務局）

欠席：分科会：小林茂人、高橋 啓、原淵保明、中島裕史、濱野慶朋
議題

- 1) ワーキンググループ結成までの経緯（藤元）
- 2) PEXIVAS プロトコールの概略（猪原）
- 3) PEXIVAS 試験への参画についての重要性（鈴木）
- 4) 本邦における試験実施可能性について。問題点の討議

参考：科学評論社 リウマチ科 2011 年第 45 巻第 4 号「特集血管炎症候群 up to date」pp406-415

7. 血管炎普及フォーラム

血管炎普及フォーラムの開催について

臨床の現場で、私共並びに、難治性血管炎の研究分担者、協力者の方々が所属する大学病院や拠点病院では、血管炎の診断治療をおこなっているが、多くは発見が遅れていることが多かった。血管炎は、全身の血管の炎症であるため、また顕微鏡的多発血管炎の主要傷害臓器が腎臓であるため、診断が困難である。多彩な血管炎の病態、検査異常などをプライマリ・ケア医に熟知していただくことが、第一に重要であり、同時に国際的な血管炎動向も情報として発信することも必須と考えた。

第3回 血管炎の国際情報普及フォーラム開催（案）

主催：厚労省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班」国際研究協力分科会

代表世話人 湯村和子（研究協力者）

血管炎の早期発見・早期診断をめざし、第一線で診療に当たられているプライマリケア医、腎臓専門医、リウマチ専門医に対して、血管炎の国際的動向もふまえた情報を提供する。

日時：平成 23 年 10 月 13 日 木曜日 午後 6 時～8 時

場所：東京都新宿区戸山 1-2-1-1

国立国際医療研究センター 研究棟 地下 1 階 大会議室

（病院からは入れません、研究棟入口は地下 1 階となっています）

参加自由・参加費無料

開催にあたって

【難治性血管炎の調査研究の現状】

岡山大学院医 腎臓・免疫・内分泌代謝

槇野博史（研究代表者）

演題

- 1) ANCA 関連血管炎の変遷 —ANCA を中心に—
千葉大学大学院医学研究院 鈴木和男
- 2) 第 15 回 ANCA ワークショップ（チャペル・ヒル）報告
順天堂大学 医学部 越谷病院 小林茂人

3) ANCA関連血管炎の基礎研究の最近の動向

東京大学 腎臓内科 平橋淳一

4) ANCA 関連血管炎の多彩な病態

自治医科大学 腎臓内科 湯村和子

まとめ

国際研究協力分科会長 鈴木和男

8. Asia Pacific Meeting of Vasculitis & ANCA-Workshop, 2012

実行委員会（有村委員長）、プログラム委員会（石津委員長）を中心に準備は順調に進展している。

・国際委員会のまとめ

15回 ANCA Workshop にて国際委員会を開催した。

AP-VAS 2012 国際実行・プログラム委員会

【日時】 2011年5月18日 午前11時30分～午後0時45分

【場所】 Carolina Inn, Alumni Room, Chapel Hill

【出席者】	Ulrich Specks	VCRC (USA)
	Peter Merkel	VCRC (USA)
	Ronald Falk	VCRC (USA)
	Charles Jennette	VCRC (USA)
	Michael Walsh	Canada
	David Jayne	EUVAS (UK)
	Richard Watts	EUVAS (UK)
	David Scott	EUVAS (UK)
	Loic Guillevin	EUVAS (France)
	Cees Kallenberg	EUVAS (Netherlands)
	Wolfgang Gross	EUVAS (Germany) 代理: Elena Csernok
	Ming-hui Zhao	China
	Judith Anne Savige	Australia
	Chen Au Peh	Australia
	Paul A Gatenby AM	Australia
	Janak de Zoysa	New Zealand
	Kazuo Suzuki	Japan
	Shoichi Ozaki	Japan
	Yoshihiro Arimura	Japan
	Shigeto Kobayashi	Japan
	Akihiro Ishizu	Japan
	Yoshinori Komagata	Japan
	Toshiko Ito-Ihara	Japan
	Francisco Silva	Chile (オブザーバー参加)

【欠席者 (海外)】	Luis Felipe Flores-Suarez	Mexico
	Niels Rasmussen	EUVAS (Denmark)

Kerstin Westman	EUVAS (Sweden)
Seza Ozen	Turkey
Yeong-Wook Song	Korea
Paul Bacon	India
Pham Huu Hoa	Vietnam
Hooi LS	Malaysia
Anita Lim	Singapore

【議事】

1. 開会挨拶（鈴木和男会長）
2. 自己紹介
3. 実行委員会進捗状況報告（有村義宏実行委員長）
4. プログラムおよび座長・指定演者候補者案（5月12日案）提示（石津明洋プログラム委員長）
5. 協議内容（要旨）
 - ・アジア太平洋諸国の血管炎の疫学について焦点をあてるのが良い。
 - ・ANCAの測定法についてのセッションを加えてはどうか。（アジアの検体の多くはシンガポール、インドなどで測定されており、疫学調査と関連して検査実施者も献体研究と同時に疫学調査にも非常に興味を持っている。）
 - ・大型血管炎のセッションでは放射線科や外科からの発表も望ましい。
 - ・日本で多いといわれる間質性肺炎について焦点をあててはどうか。
 - ・ANCA陰性の血管炎、例えばクリオグロブリン血管炎や感染性血管炎に関するセッションがあってもよいと思われる。
 - ・血管炎の分類（定義）につき、CHCC2011の変更決定事項を会議の最初の方でアナウンスしてはどうか。また、日本も参加しているDCVAS studyの意義進捗状況についても、Raashid Luqmaniに発表を依頼してはどうか。
 - ・アジア太平洋諸国への会議案内をしっかりと行うことが重要。（各大使館、オーストラリア・ニュージーランドの腎臓学会やリウマチ学会へのアナウンス、他のAsia-Pacificの学会へのアナウンス。）
 - ・教育目的のセッションなのかサイエンティフィックなセッションなのか明確にする必要がある。
 - ・講演内容のいくつかはClinical and Experimental Nephrologyに掲載予定である。
 - ・多くの臨床家の参加が見込まれるのであれば、学会のはじめの方に疾患に関するオーバービューを設けてはどうか。エキスパートからの疾患のレビューがあれば多くの臨床家に魅力的と感じられ参加者の増加に貢献すると考える。
 - ・各分野の専門家による症例検討 case-discussionの教育的プログラムが非常に有用である。（賛成多数）初めに種々のトピックス（複雑な病態など）をカバーする症例を1-2例選んでおき、トピックスに合致する専門家を1症例につき1-2名招待し、どのように診断・治療を行っていくかどうかについて検討会を行ってはどうか。症例検討は真に臨床的教育的プログラムであるので、実施時間にあたっては教育的プログラムと研究的プログラムの並行セッションも考慮される。
 - ・IVIGについては日本で良い研究がなされているので、ランチョンの演者は日本人の方が良い。
 - ・本日もいただいたサジェスションに基づきプログラム案を改訂し、5月中に各委員にメールで送るので、再度チェックしてもらいたい。
6. 閉会挨拶（尾崎承一副会長）

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23年度 第2回班会議

プ ロ グ ラ ム

日時：平成23年12月16日（金）10：00～

場所：砂防会館 別館3階 六甲

東京都千代田区平河町2-7-5

TEL：03-3261-8386

研究代表者 榎野博史

厚生労働省「難治性血管炎に関する調査研究班」

平成23年度第2回班会議 プログラム

平成23年12月16日（金）

- I. 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 眞野 訓
- II. 研究班の活動報告 10:10～10:30
研究代表者 榎野 博史
- III. 大型血管炎の臨床研究分科会 10:30～11:30
分科会報告
分科会長 種本 和雄
- 各個研究報告
- ① 高安動脈炎の臨床調査個人票データの解析と個人票改訂への検討
川崎医科大学心臓血管外科 種本 和雄
- ② 高安病を含む膠原病に合併した眼病変に対するPET-CTを用いた試み
山口大学医学部地域医療推進学講座 中村 浩士
- ③ Improved Prognosis of Takayasu Arteritis in the Last Decade: Comprehensive Analysis of 106 Japanese Patients
東京医科歯科大学循環器内科 磯部 光章
- ④ Buerger 病罹患動脈壁における Notch pathway の発現について
名古屋大学大学院血管外科 古森 公浩
- ⑤ 難治性大動脈炎症候群に対するtocilizumabによるIL-6阻害療法の効果
大阪大学大学院医学系研究科・循環器内科学 小室 一成
- ⑥ 我が国における炎症性腹部大動脈瘤に対する血管内治療の成績
国際医療福祉大学三田病院血管外科 小櫃 由樹生

IV. 病理・基礎研究分科会

11:30~12:40

分科会報告

分科会長 岡田 保典

各個研究報告

- ① 動脈瘤をモデルにした血管炎発症と進展における組織内微小環境因子代謝解析
慶應義塾大学医学部病理学教室 岡田 保典
- ② 皮膚血管炎症例の病理組織と臨床所見のレポジトリ作成
岡山大学大学院皮膚科学 岩月 啓氏
- ③ 自己血管内皮細胞反応性 NKT 細胞による血管炎発症機序の解明
プロピルチオウラシルによる NETs の形成および分解障害と MPO-ANCA の産生：
MPO-ANCA 関連血管炎の発症機序解明
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
- ④ 血管炎患者末梢血の mRNA 網羅的発現解析
慶應義塾大学医学部リウマチ内科 竹内 勤
- ⑤ ヒト免疫寛容樹状細胞の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
愛媛大学大学院生体統御内科学 長谷川 均
- ⑥ 日本人集団における ANCA 関連血管炎の疾患感受性遺伝子解析
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 土屋 尚之

昼食 12:40 ~ 13:50

V. 中・小型血管炎の臨床研究分科会
分科会報告

13 : 50 ~14 : 50

分科会長 有村 義宏

各個研究報告

① REMIT-JAV に登録された CSS17 例の検討

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

② 「ANCA 関連血管炎の臨床調査個人票改訂計画」

順天堂大学膠原病内科 高崎 芳成

聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科 山田 秀裕

京都大学大学院医学研究科臨床免疫学 藤井 隆夫

③ 抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎・急速進行性糸球体腎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

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 針谷 正祥

④ わが国の ANCA 関連血管炎の前向きコホート研究 RemIT-JAV～中間解析報告

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 佐田 憲映

⑤ ANCA 関連血管炎の寛解維持療法に関する前向き観察研究

金沢大学附属病院腎臓内科 和田 隆志

VI. 国際研究協力分科会
分科会報告

14 : 50 ~15 : 50

分科会長 鈴木 和男

順天堂越谷病院内科 小林 茂人

宮崎大学医学部附属病院血液浄化療法部 藤元 昭一

東京大学病院腎臓内科 平橋 淳一

抄 録 集

II. 大型血管炎分科会報告

- ① 高安動脈炎の臨床調査個人票データの解析と個人票改訂への検討
川崎医科大学心臓血管外科
種本 和雄

- ② 高安病を含む膠原病に合併した眼病変に対する PET-CT を用いた試み
山口大学医学部地域医療推進学講座 中村 浩士
山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学 久保 誠、福田 聖子、松崎 益徳
山口大学大学院医学系研究科情報解析医学系学域医学 眼科学分野 園田 康平
セントヒル病院放射線科 菅 一能

- ③ Improved Prognosis of Takayasu Arteritis in the Last Decade: Comprehensive Analysis of 106 Japanese Patients
東京医科歯科大学循環器内科
磯部 光章

- ④ Buerger 病罹患動脈壁における Notch pathway の発現について
名古屋大学大学院血管外科
小林 昌義、古森 公浩

- ⑤ 難治性大動脈炎症候群に対する tocilizumab による IL-6 阻害療法の効果
大阪大学大学院医学系研究科・循環器内科学
小室 一成(代理発表:研究協力者・中岡 良和)

- ⑥ 我が国における炎症性腹部大動脈瘤に対する血管内治療の成績
国際医療福祉大学三田病院血管外科
小櫃 由樹生

II-①

高安動脈炎の臨床調査個人票データの解析と個人票改訂への検討

川崎医科大学心臓血管外科学

種本 和雄

厚生労働省健康局疾病対策課より高安動脈炎の臨床調査個人票のデータの提供を受け、その解析と検討を行った。2001年から2010年の10年間、のべ26,798件の個人票のデータが提供された。このうち、新規症例は1,771件、更新がのべ25,027件であった。年次別に症例数の変動が見られる。「難病情報センター」のHPに公開されている受給者症例数と比較すると、今回提供されたデータは年度によっては50%以下の年次もあり、残念ながら全数のデータが提供されているのではない模様である。

これらのデータの使用期限は来年の春までと限られているが、提供されたデータを解析した結果を報告する。

高安動脈炎症例のGWAS (Genomewide Association Study)

大血管部会の各施設で倫理委員会の承認を得て、高安動脈炎確定診断例のゲノム解析を行う。症例集積が進行中である。

II-②

高安病を含む膠原病に合併した眼病変に対する PET-CT を用いた試み

山口大学医学部地域医療推進学講座

中村 浩士

山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学

久保 誠、福田 聖子、松崎 益徳

山口大学院医学系研究科情報解析医学系学域医学 眼科学分野

園田 康平

セントヒル病院放射線科

菅 一能

【背景】高安病をはじめとした血管炎や膠原病の診断に PET 検査は多用されているが、技術的な困難さや検査のタイミング等の問題の為に眼科領域の検索はなされていない。

【目的】PET-CT を用いて炎症性眼病変の検索が可能か否かを確認すること。

【方法】事前に同意を得た高安病 4 名、サルコイドーシス 3 名、ベーチェット病 1 名、肺癌疑い患者 1 名の PET-CT 検査の際に両側眼窩部位にも ROI を設定し、撮像を行った。撮像に際しては全員アイマスクを装着し、FDG 投与量は 4.4 MBq/体重 kg、投与後 60~70 分に 10 分間の撮像を行った。

【結果】高安病の 2 名と、ベーチェット病の 1 名の眼球に片側性の FDG 集積を認めた。高安病の 1 名は眼科的に異常を認めなかったが、他方は難治性汎ぶどう膜炎にて眼科治療中である。

【まとめ】PET-CT 検査は、高安病をはじめとした血管炎や膠原病に伴う炎症性眼病変の検出に有用である可能性が示唆された。

II-③

東京医科歯科大学大学院循環制御内科学

磯部 光章

Improved Prognosis of Takayasu Arteritis in the Last Decade: Comprehensive Analysis of 106 Japanese Patients

Objective: We aimed to describe the recent clinical characteristics of Takayasu arteritis (TA) in a cohort of 106 Japanese patients.

Methods: One hundred and six consecutive TA patients were enrolled in this study. We compared the clinical characteristics between patients whose onset was before 1999 and after 2000, whose onset age was younger than 39 years and older than 40 years, patients with monophasic and relapse-remitting clinical course, and patients with and without human lymphocyte antigen (HLA)-B52 allele.

Results: Time from onset to diagnosis had been shortened; the frequency of occlusion in branches of the aortic arch, the complication of moderate or severe aortic regurgitation (AR) and hypertension had decreased; the use of glucocorticoids, the maximum dose of prednisolone, and the use of immunosuppressive agents had increased in patients whose onset was after 2000. The complication of coronary artery lesions and hypertension had increased, and moderate or severe AR had decreased in patients whose onset age was older than 40 years. The maximum dose of prednisolone and the use of immunosuppressive agents had increased, and the mean dose reduction rate of prednisolone was significantly higher in the relapsing-remitting group. There was no significant difference in the clinical characteristics between patients with and without HLA-B52 allele.

Conclusion: The prognosis of TA patients improved in the last decade, and this may be due to early diagnosis owing to the development of noninvasive diagnostic imaging tools and improved medical treatments.

II-④

Buerger 病罹患動脈壁における Notch pathway の発現について

名古屋大学大学院血管外科

小林 昌義、古森 公浩

当施設では今まで採取したバージャー病罹患動脈を用い、その病理学的、免疫組織化学的解析によりバージャー病罹患動脈の特徴につき評価・解析してきた。その結果、バージャー病罹患動脈の病理学的特徴的な病理所見の一つに内膜側、特に内弾性板内側における様々な炎症性細胞浸潤が認められることがわかった。最近の報告では、閉塞性動脈硬化症や一部の血管炎に対する Notch pathway に関する研究はなされてきており、炎症反応、内膜増殖、T-リンパ球の遊走、増殖にこの pathway が関与することが判明してきた。しかしながらバージャー病における Notch pathway に関する研究・報告はない。そこで1980年から2009年までに当科で診断・治療したバージャー病患者のうち検体を採取できた24名の罹患動脈と同時期に得た24名の閉塞性動脈硬化症の検体を比較し、Notch-1、3、そのリガンドである Jagged-1、さらには下流の転写因子である Hes-1、それぞれの抗体を使用し免疫組織化学的にその発現を解析したのでここに報告する。

II-⑤

難治性大動脈炎症候群に対する tocilizumab による IL-6 阻害療法の効果

大阪大学大学院医学系研究科・循環器内科学

小室 一成 (代理発表：研究協力者・中岡 良和)

(背景と目的) 大動脈炎症候群の治療はステロイドが第1選択であるが、一時的に寛解に至ってもその減量過程で再燃することが多い。再燃時にはステロイドと各種の免疫抑制剤を併用することが推奨されているが、ステロイド治療抵抗性症例に対する治療法は未だ確立されておらず、効果的な治療法の確立が必要である。これまで患者血清中の interleukin-6 (IL-6) が大動脈炎症候群の疾患活動性と比例して増加し、寛解に伴い減少することが報告されている。そこで、我々は難治性大動脈炎症候群に対する抗 IL-6 受容体抗体 tocilizumab による IL-6 阻害療法の有効性を検討した。(方法と結果) 大動脈炎症候群 5 症例 (男性 1 名、女性 4 名、年齢は 21~43 歳 (平均 29 歳)) に対して tocilizumab (8 mg/kg/月) を適応外使用して治療を行った。平均治療期間は 21.6 ヶ月で、投与開始後 2 週間以内に全症例で CRP は陰性化し、最終的にプレドニゾロン投与量は 1-10mg/日まで再燃なく減量出来た。また、全症例で血清 IL-6 は治療経過ともに減少し、1 年以上の長期にわたりトシリズマブ治療を行った 3 症例のうち 2 症例では血清 IL-6 の低下と並行して画像上の肥厚血管の退縮が観察された。以上より、トシリズマブによる IL-6 阻害療法が大動脈炎症候群の炎症を鎮静化して、血管リモデリングをリバーシブルにできる可能性が示唆された。(結論) 難治性大動脈炎症候群に対して tocilizumab による IL-6 阻害療法は有効な治療法である可能性が示唆された。

IV. 基礎・病理分科会報告

分科会報告

血管炎病因・病態の究明と臨床応用への展開 2011」

分科会長	岡田 保典	慶應義塾大学医学部病理学
研究分担者	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
	土屋 尚之	筑波大学医学医療系分子遺伝疫学
	長谷川 均	愛媛大学大学院医学系研究科生体統御内科学
	竹内 勤	慶應義塾大学医学部リウマチ内科学
	岩月 啓氏	岡山大学大学院医歯薬総合研究科学皮膚科学
研究協力者	鬼丸 満徳	九州大学大学院医学研究院病理病態学
	澤井 高志	岩手医科大学医学部先進機能病理学
	池田 栄二	山口大学大学院医学系研究科病理形態学

基礎・病理分科会では、血管炎の病因・病態解析を進めるとともに、診断・治療法（臨床応用）への展開を目指している。本年度は、日本人集団における難治性血管炎患者より血管炎関連遺伝子の網羅的探索を進めるとともに、既に見出してきた候補遺伝子に関して疾患感受性遺伝子としての性質を検討した。また、ANCA 抗原特異的に反応する制御性 T 細胞の存在と誘導を検討し、実験的血管炎や大動脈瘤動物モデルを用いて、血管炎発生機構や組織内微小環境因子代謝について解析し、皮膚血管炎病理アトラスのバーチャルスライド化によりレポジトリの作成を進めている。

1) 難治性血管炎における遺伝子解析

- ①日本人集団において複数の膠原病に共通に関連する *STAT4* イントロン、*IRF5* 下流、*BLK* 上流の各領域の SNP と ANCA 関連血管炎（顕微鏡的多発血管炎、多発血管炎性肉芽腫症、好酸球性肉芽腫性多発血管炎、分類不能血管炎）の疾患感受性との関連を検討した（土屋）。
- ②顕微鏡的多発血管炎、多発血管炎性肉芽腫症、皮膚型結節性動脈炎、巨細胞性血管炎、高安大動脈炎のサンプリングと RA 患者と健常者との網羅的解析による発現変動遺伝子の同定を行った（竹内）。

2) 難治性血管炎の病態解析

- ①免疫寛容型樹状細胞への誘導を促進する物質を核内受容体リガンド、生理活性脂質、キナーゼ阻害剤のライブラリーからスクリーニングし、2 種類の分子を見出した（長谷川）。
- ②env-pX ラットにおける ANCA 非依存性血管炎の発症に関わる自己血管内皮細胞反応性 NKT 細胞を同定するとともに、本細胞と反応する抗原分子の解析を進めている（石津）。

3) 血管炎発症と進展における組織内微小環境因子代謝解析

- ①PMA 誘導性 NETs (neutrophil extracellular traps) の形成・分解と MPO-ANCA 産生における抗甲状腺薬プロピルチオウラシル (PTU) の作用を *in vitro* と *in vivo* で解析し、PTU が NETs 形成・分解異常と MPO-ANCA 産生を介して血管炎発症に関わる可能性を示した（石津）。
- ②ヒト大動脈瘤における炎症細胞、vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) や TNF- α の発現解

とともに、CaCl₂ 塗布によるマウス腹部大動脈瘤モデルを作製し、VEGF-A と A disintegrin and metalloproteinase (ADAM) ファミリー分子の一つである ADAM17 の作用を解析した (岡田)。

③Angs/Tie-2 system において Tie-2 シグナルを抑制的に制御する Tie-1 のシェディングによる可溶化機構について検討を進めた (鬼丸)。

4) 皮膚血管炎症例の病理組織と臨床所見のリポジトリ作成

①皮膚血管炎の臨床所見のデータベースのプロトタイプを作成を行った。また、皮膚病理組織所見をバーチャルスライド化し、臨床・病理所見がリンクしたリポジトリの作成を進めている (岩月)。

②当該施設の過去 10 年間の皮膚血管炎 (主として small vessel vasculitis) のリストアップとともに約 60 症例の病理組織標本を解析中である (池田)。

IV-①

動脈瘤をモデルにした血管炎発症と進展における組織内微小環境因子代謝解析

岡田 保典

慶應義塾大学医学部病理学教室

動脈瘤は血管炎や粥状動脈硬化など種々の動脈疾患において惹起され、血栓塞栓症や動脈破裂など重篤な合併症を来す。本研究では、ヒト大動脈瘤血管組織における炎症細胞、血管新生、血管新生因子 vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) 発現などを検討するとともに、マウス大動脈 CaCl₂ 塗布による腹部大動脈瘤モデルを用いて、VEGF-A と組織内微小環境因子代謝酵素である a disintegrin and metalloproteinase (ADAM) ファミリーの一分子 ADAM17 の役割に関して検討した。

(1) 大動脈瘤形成における血管組織での炎症と VEGF-A の役割解析

ヒト大動脈瘤置換術時に採取した腹部大動脈瘤血管壁の検討から、CD68 陽性マクロファージ浸潤、血管新生の亢進、エラスチンの波状構造破壊および VEGF-A タンパク質レベルでの発現亢進が認められた。また、腹部大動脈瘤血管壁での VEGF-A 発現細胞はマクロファージであることが確認された。マウス大動脈瘤モデルではマクロファージ浸潤、血管外膜側優位の血管新生亢進、エラスチンの波状構造破壊など、ヒト大動脈瘤の組織学的特徴を持つことが示された。本マウス大動脈瘤モデルの大血管では、VEGF-A mRNA 発現が正常マウス血管より亢進しており、HIF-1 α と HIF-3 α も発現亢進していた。また、ヒト大動脈瘤と同様に VEGF-A 発現細胞は主にマクロファージであることが確認された。本モデルマウスに可溶性 VEGF-A 受容体 (Flt-1) を投与すると、血管壁における血管新生、マクロファージ浸潤、炎症性サイトカイン (MCP-1、TNF- α および ICAM-1) およびエラスチン分解能を有する MMP-9 と MMP-2 のタンパク質発現が抑制され、細胞外マトリックス構造が保持されることで大動脈瘤発症が抑制された。これらの所見から、大動脈瘤の発症と進展に慢性炎症と血管新生を介した VEGF-A の作用が促進的に関与していることが示唆された。

(2) ADAM17 による血管壁の炎症制御機構の解析

ADAM17 は多機能分子であるが、最も重要な機能の一つはシェディング作用であり、膜型 TNF- α を可溶性 TNF- α にし、そのサイトカイン作用を活性化する。ヒト腹部大動脈瘤組織では ADAM17 の発現亢進と可溶性 TNF- α 形成が正常血管より有意に亢進し、ADAM17 は大動脈瘤血管壁のマクロファージと血管平滑筋細胞で発現していた。ADAM17 conditional knockout マウスに腹部大動脈瘤モデルを作製すると、血管壁へのマクロファージ浸潤、炎症性サイトカイン (MCP-1、TNF- α 、ICAM-1) 発現、血管新生、酸化ストレスマーカー (p47、GPX-1、GPX-3) 発現、MMP-9 と MMP-2 タンパク質発現が野生型マウスと比較して有意に抑制され、大動脈瘤の発症が阻止された。本実験データより、ADAM17 を標的とした治療は血管壁における慢性炎症、血管新生、酸化ストレス抑制を通して細胞外マトリックス構造の維持により、大動脈瘤発症予防に働く可能性があるかと推定された。

IV-②

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究平成 23 年度報告書

皮膚血管炎症例の病理組織と臨床所見のレポジトリ作成（平成 23 年度研究報告）

研究分担者 岩月 啓氏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学分野

研究協力者 白藤 宜紀 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学分野

片山 治子 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学分野

我々は、平成 23-25 年度の本調査研究において、皮膚血管炎症例の臨床所見、検査所見ならびに病理所見のデジタル化・データベース化を行い、将来の血管炎研究の重要なリソースとすることを目的としている。

平成 23 年度は、平成 20-22 年度の活動において作成した、「難治性血管炎診断の手引き」（金原出版、2011 年）に収められた症例および当科における皮膚血管炎の代表的症例を用いて、データベースのプロトタイプ作成を試みた。汎用性が高く、将来的にも継続利用が行いやすいマイクロソフト・エクセル 2007 を用い、患者の年齢・性別、診断名などの基本的情報、血液検査所見、PR3 および MPO-ANCA などをパラメーターとした一覧表を作成し、容易に検索やソーティングを行うことができるようにした。

症例番号	疾患名	性別	年齢	皮膚所見	皮膚病理所見	臨床所見	検査所見	治療	経過	特記事項
1	巨細胞性動脈炎	女	86	左足趾一節部に黒色壊死組織を伴う潰瘍	動脈の内腔閉塞、肉腫様増殖、内弾性板一部断裂、多数の多核巨細胞	腫脹血管	血液検査 真血、血沈、CRP 上昇	PSL 30mg/日	合併症なし	
2	巨細胞性動脈炎	女	80	両前腕部に紫状隆起	動脈の内腔閉塞、肉腫様増殖、内弾性板一部断裂、多数の多核巨細胞、CD68+細胞多数	腫脹血管	血液検査 真血、CRP 上昇	PSL 20mg/日	合併症なし	水溶性糖抗原産生に併発

さらに、ハイパーリンクを用いて、臨床写真や組織所見を容易に閲覧することは勿論、バーチャルスライドシステムによって、データベースを有する PC 上で、皮膚病理組織の全体像および任意部位の強拡大像などを、自在に観察することも可能とした。

今後は、血管炎分類の改訂にも対応できるよう、さらにデータベースのデザインを改良し、また、皮膚血管炎にとどまらず、血管炎症候群全体を網羅したデータベースの構築を目指したいと考えている。

向けて、更なる症例の収集、データベース自体の改善・発展を目指したい。そのために、広くご意見・ご批判をいただければ幸甚である。

1. 自己血管内皮細胞反応性NKT細胞による血管炎発症機序の解明

env-pX ラットは ANCA 非依存性の中小型血管炎を発症する。これまでの解析により、本ラットでは胸腺における分子異常の結果、自己血管反応性細胞が末梢に出現し、自己免疫性血管炎が発症すると考えられている。我々は、env-pX ラットのリンパ節細胞を血管内皮細胞 (EC) で繰り返し刺激することにより、EC 依存的に増殖亢進を示すクローン 1B8 を樹立した。1B8 を野生型ラットに静注することにより血管炎が誘導されたことから、1B8 の血管炎惹起性が確かめられている。1B8 は $\text{TCR}\alpha\beta^+ \text{CD}3^+ \text{CD}4^+ \text{CD}8^-$ であり、サイトカインプロファイルは、 $\text{IFN-}\gamma^+ \text{IL-}2^+ \text{IL-}4^+ \text{IL-}10^+ \text{IL-}17^-$ を示す特異な細胞であった。TCR を詳細に検討したところ、 $\text{V}\alpha 14 \text{V}\beta 8.6$ で構成されており、invariant $\text{V}\alpha 14$ を有していることから 1B8 は NKT 細胞であることが判明した。1B8 は EC と共培養することにより、IL-2、IL-17、eotaxin を産生し、これらのサイトカインやケモカインを介して他の炎症細胞を動員し、血管傷害に関与すると考えられる。また、COS7 細胞にラット cDNA ライブラリーをトランスフェクションし、約 100 株のトランスフェクタントライブラリーを作製、1B8 と共培養し、1B8 に IL-2 と IL-17 産生を誘導するトランスフェクタントクローン 4D2 を見出した。4D2 に組み込まれたラット遺伝子は Gene X であった。Gene X にコードされる分子が血管炎の標的となっている可能性があり、現在解析中である。

2. プロピルチオウラシルによる NETs の形成および分解障害と MPO-ANCA の産生：MPO-ANCA 関連血管炎の発症機序解明

活性化され細胞死に至った好中球は NETs (neutrophil extracellular traps) を形成する。MPO-ANCA 関連血管炎の糸球体病変局所において NETs が形成されていることが報告され、NETs が MPO-ANCA 関連血管炎の病因に関与している可能性が注目されている。一方、抗甲状腺薬プロピルチオウラシル (PTU) を投与された患者では、約 30% に MPO-ANCA が出現し、その一部は血管炎を発症する。我々は、PTU が NETs に何らかの障害を加え、MPO-ANCA の産生を誘導している可能性を検討した。in vitro では好中球に phorbol myristate acetate (PMA) を添加することにより NETs を誘導できるが、これに PTU を加えると、NETs の形態に異常が生じた。生体内では NETs は DNase により分解されることが知られている。PMA で誘導した NETs は DNase で分解されたが、PMA に PTU を添加して誘導した NETs は DNase により分解されなかった。また、PMA に PTU を添加して誘導した NETs をラットに免疫したところ、MPO-ANCA が産生され、肺出血を呈した。PTU を経口投与し、PMA を腹腔内に注射したラットでは、MPO-ANCA の産生と肺出血ならびに pauci-immune 型の糸球体腎炎が発症した。NETs の形成異常と分解障害が MPO-ANCA の産生ならびに MPO-ANCA 関連血管炎発症の原因となっている可能性が考えられる。

IV-④

血管炎患者末梢血の mRNA 網羅的発現解析

慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授

研究分担者 竹内 勤

(目的)血管炎の病態形成には、ANCA を初めとする自己抗体、炎症性細胞と、それらに発現される接着分子や細胞障害顆粒が密接に関与している。しかし、関節リウマチの TNF- α に代表される病態形成の鍵を握る責任分子の同定には至っていない。キメラ型抗 CD20 抗体リツキシマブが IVCY に対して非劣性である事が ANCA 関連腎血管炎で 2010 年初めて証明されたものの、病態関連分子に関する情報は不足し、有効な分子標的治療法の開発は進んでいない。我々は、網羅的遺伝子発現解析を行って RA や SLE で同様の研究を展開して来た。ANCA 関連血管炎、巨細胞性動脈炎、高安大動脈炎、RA 合併血管炎を対象として、患者末梢血を用い DNA チップによって網羅的遺伝子発現解析を行う。本年度はサンプリング、ならびにこれまで集積された発現データを利用して基礎的な検討を行う。

(方 法) 対象:未治療関節リウマチ(RA)44例、MTX 治療中 RA42例、健常人コントロール 124 例。健常人に比して発現に異常のある遺伝子に着目し、それらを対象に、血管炎合併例を臨床的に抽出し、血管炎非合併例との間に発現差があるか否かを検討する。

方法:網羅的遺伝子発現解析:末梢血を PAX Gene RNA Tube(Qiagen, Hilden, Germany)でサンプリングし、total RNA を抽出。RNA 量は Nano Drop ND-100 (Nano Technologies, Wilmington, DE, USA)によって評価する。Agilent 社製の Whole Human Genome4x44K チップを用いて網羅的遺伝子発現解析を行う。RNA 品質は Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)を用いてリボソーム RNA 28S/18S 比 1.3 以上を確認する。得られたデータは遺伝子発現強度の順位によってデータを正規化する Quantile normalization 法を用いて Mann-Whitney U test で検定し、その Z 値で評価する。

(結 果)サンプリング:未治療活動性のウェゲナー肉芽腫症1例、顕微鏡的多発血管炎2例、皮膚型結節性動脈炎2例、巨細胞性血管炎2例、高安大動脈炎3例の PAX gene サンプリングを完了し、cDNA を作成した。

基礎的検討:未治療 RA を健常人と比較した所、有意に発現亢進が認められる遺伝子としてヒストン脱メチル化酵素 JMJD1A、オートファジー関連酵素 ATG4A、プロテアソーム proteasome26 の発現亢進が、分泌蛋白 14-3-3zeta の発現低下が明らかとなった。これら4分子を対象に、未治療 RA44例中、血管炎合併例は2例であり、個々の症例によって各分子の発現にばらつきが大きく一定の傾向は認められなかった。対象を MTX 治療中の症例に広げ、血管炎合併頻度の高いコホートで検討中である。

関節リウマチ末梢血の RNA 発現解析例

