

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

難治性血管炎に関する調査研究

研究代表者 榎野 博史
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 教授

研究要旨

血管炎の病因・病態の究明は依然として進展しておらず、有効な治療法は確立されていない。欧米と比較すると、EBMに準拠した治療指針の作成や新規治療法の開発で立ち遅れており、全国規模で専門医の総力を結集して研究を遂行することが不可欠である。中小型血管炎分科会においては2013年までに中小型血管炎に関する患者登録システムを用いて、標準治療確立に向けた前向き研究(RemIT-JAV・Co-RemIT-JAV)のプロトコルを開発し運営を行ってきた。さらに進行性腎障害に関する調査研究班と共同で行ってきた研究も症例登録を完了した(RemIT-JAV-RPGN)。2013年度はこれまで得られた知見に基づいて診療ガイドラインの改訂を行い年度末に発刊予定としている。また臨床調査個人調査票の改定作業は今後難病制度変更に沿って修正を加える予定である。大型血管炎分科会では2012年12月より開始した大型血管炎に関する前向き研究を継続した。また臨床調査個人票の解析で現状を明らかにするとともに調査の問題点を明らかにした。大型血管炎に関する新規治療の開発、病態・遺伝子に関する研究も行った。基礎・病理分科会では、臨床研究と連携してANCA関連血管炎特異的な候補遺伝子解析を進めるとともに、絶対定量プロテオーム解析システムや小麦胚芽無細胞タンパク質合成技術を利用した自己抗原ライブラリーから、ANCA関連血管炎の活動期バイオマーカーの同定と新規自己抗原の検索を行っている。ゲノムワイド関連研究を目指したサンプル収集を継続し、解析に着手している。さらに、皮膚科領域で集積した臨床症例と病理スライドをデジタル化してデータベースとし、既刊「皮膚症状からみた血管炎診断の手引き」に典型的写真を追加記載した改訂版の上梓を予定している。国際分科会では血管炎の分類・診断基準作成のための多施設国際共同研究(DCVAS)に登録を進め、ANCA関連血管炎に対する国際共同臨床試験(PEXIVAS,RITAZAREM)への参画支援も行った。

研究分担者

有村義宏（杏林大学第一内科・教授）、岡田保典（慶應義塾大学医学部病理学・教授）、種本和雄（川崎医科大学心臓血管外科・教授）、藤元昭一（宮崎大学医学部医学科血液・血管先端医療学講座・教授）、石津明洋（北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学・教授）、土屋尚之（筑波大学医学医療系分子遺伝疫学・教授）、長谷川均（愛媛大学大学院医学系研究科血液・免疫・感染症内科学・准教授）、岩月啓氏（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学・教授）、竹内勤（慶應義塾大学医学部リウマチ内科学・教授）、磯部光章（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科循環制御内科学・教授）、古森公浩（名古屋大学大学院医学系研究科機能構築医学専攻病態外科学講座血管外科学・教授）、小室一成（東京大学大学院医学系研究科循環器内科学・教授）、中村浩士（山口大学医学部地域医療推進学講座・准教授）、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・教授）、藤井隆夫（京都大学大学院医学研究科リウマチ性疾患制御学講座・准教授）、和田隆志（金沢大学医薬保健研究域医学系血液情報統御学・教授）、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・教授）、高崎芳成（順天堂大学医学部膠原病内科学講座・教授）、山田秀裕（聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科学・教授）、本間栄（東邦大学医学部内科学講座呼吸器内科学分野・教授）、土橋浩章（香川大学医学部内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科・講師）、伊藤聡（新潟県立リウマチセンターリウマチ科・副院長）、小林茂人（順天堂大学医学部附属順天堂越谷病院内科

学・教授）、平橋淳一（東京大学医学部附属病院腎臓内分泌内科・助教）、濱野慶朋（東京都健康長寿医療センター腎臓内科・腎臓内科部長）、猪原登志子（京都大学医学部附属病院臨床研究総合センター早期臨床試験部・特定助教）、佐田憲映（岡山大学病院腎臓・糖尿病・内分泌内科・講師）

A. 研究目的

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。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、ANCA 関連血管炎について2009年から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国際的評価基準を取り入れた前向き研究を施行してきた。2012年12月に患者の追跡を完了し、詳細な解析を行い2013年度中に成果を原著論文として現在登校中である。またこれまでの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2011年4月から前向き研究を行っており2013年12月に患者登録を終了した。これらの成果をもとに標準的寛解導入治療および寛解維持療法の確立し、2013年度末に改定版の診療ガイドラインを発刊する。

難治性血管炎の疾患の中でも希少な疾患である大型血管炎症例をデータベース化して収集、解析するために2012年12月より患者登録を開始した。また、高安動脈炎の個人調査票データ解析から得たデータをもとに、臨床調査個人票の改訂にあわせた準備を進める。また、高安動脈炎確定患者の遺伝的背景を調べるための確定症例の遺伝子解析 GWAS、バーチャー病患者の FMD

測定の意義、難治性高安動脈炎に対する生物学的製剤の治療効果等についても併せて研究を進める。

日本人集団における難治性血管炎患者を対象として、複数の疾患感受性候補遺伝子に関して関連を検討するとともに、ゲノムワイド関連研究をめざした試料の収集を進める。また、免疫寛容樹状細胞の誘導と ANCA 抗原特異的な制御性 T 細胞誘導を検討し、自己血管内皮細胞反応性 NKT 細胞クローン血管炎誘導機構と顕微鏡的多発血管炎 (MPA) における好中球細胞外トラップの形成・分解異常を細胞ならびに個体レベルで解析する。さらに、ヒト急性大動脈解離の迅速診断法の開発を試み、好中球の血管壁への浸潤機構を検討する。また、皮膚血管炎の症例を増やしてレポジトリの作成をさらに進める。

血管炎の新たな分類・診断基準の作成が欧米の血管炎グループを中心に行われており、我々も参画している。また、ANCA 関連血管炎の治療に関する国際共同臨床試験への参加に向け側面的な支援を行う。

B. 研究方法

本研究では、血管炎診療に携わる膠原病内科医、腎臓内科医、呼吸器内科医、皮膚科医、循環器内科医、血管外科医、病理医、さらに先端的研究を展開する基礎研究者からなる学際的研究班を組織する。中・小型血管炎、大型血管炎、基礎・病理、および国際研究協力分科会の各分科会から構成され、血管炎データベースを利用した難治性血管炎の治療標準化のための臨床試験の展開、大型血管炎の診断・治療の向上と血管再生治療の開発、動物モデルを用いた血管炎の病因・病態の解明、ヒト血管炎におけ

る病因・病態の解析、国際的診断基準作成に向けた国際研究協力の推進などに取り組み、最終年度に研究成果を統合し、治療指針の策定と診療マニュアルの発刊を行う。

中小型血管炎分科会

(1) 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 (RemIT-JAV-RPGN) (針谷, 本間, 土橋, 佐田)

本研究班および進行性腎障害に関する調査研究班を主体とする本研究参加施設で新たに診断された ANCA 関連血管炎に対して、副腎皮質ステロイド、免疫抑制薬、生物学的製剤による免疫抑制療法を受ける患者を対象に、24 カ月間前向きにフォローする。

1) ANCA 関連血管炎の臨床的特徴の解析、
2) ANCA 関連血管炎に対する寛解導入療法（および寛解維持療法）の有効性と安全性の解析、3) ANCA 関連血管炎腎組織の解析、
4) ANCA 関連血管炎の呼吸器画像の解析を実施する。併せて、ANCA 関連血管炎のバイオマーカー探索のための研究を実施し、臨床データと組み合わせて解析する。

(2) ANCA 関連血管炎前向き観察コホート研究「抗好中球細胞質抗体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)」(針谷, 藤井, 佐田)

研究参加施設において新たに診断された ANCA 関連血管炎に対してステロイドや免疫抑制薬による免疫抑制療法を実施する患者を登録し、治療開始後 24 カ月までの観察を終了している。

(3) ANCA 関連血管炎の寛解維持療法に関する前向き観察研究 (Co-RemIT-JAV)

(和田, 伊藤)

ANCA 関連血管炎の寛解維持療法の実態を調査し、より長期的な治療の有効性と安全性を解析するために、2008 年から 2010 年までに本研究班で実施された RemIT-JAV に登録された ANCA 関連血管炎患者のうち、2 年間の追跡が完了し、かつ本研究への参加同意が得られた患者に対して、前向きに 2 年間の定点観察を行う。

(4) 我が国の好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 (EGPA) の実態と分類・診断基準の妥当性の検討：新たな分類基準の作成の試み—ANCA 陰性 EGPA と HES の鑑別について (天野)

EGPA は ANCA 関連血管炎に分類されているが半数は ANCA 陰性である。この ANCA 陰性 EGPA は、好酸球増多症を示す hypereosinophilic syndrome (HES) と鑑別困難な場合がある。そこで RemIT-JAV と new RemIT-JAV に登録された 28 例の EGPA について診断基準項目への適合度、臨床的特徴について検討した。

(5) ANCA 関連血管炎の臨床調査個人票の改訂計画 (高崎, 山田, 藤井)

これまでに班員内アンケート調査・意見聴取を繰り返し実施しながら、顕微鏡的多発血管炎および多発血管炎性肉芽腫症の臨床調査個人票の改定に向けた準備を進めてきた。今年度は最終的なコンセンサス形成に向けた作業を予定した。

大型血管炎分科会

(1) 高安動脈炎臨床調査個人票解析 (種本、渡部)

2001 年度から 2010 年度分の臨床調査個人票データの使用を厚生労働省に申請し提

供を受けた 7779 例分に基づき、合併症と病態変化、治療について解析を行った。

(2) 大型血管炎 (高安動脈炎と巨細胞性動脈炎) 寛解導入治療の現状と有効性に関する観察研究 (種本、内田)

新規発症の高安動脈炎と巨細胞性動脈炎を対象として有効性と安全性を評価するために 3 年間の観察を行う予定とし、登録を継続している。

(3) ステロイド抵抗性高安動脈炎に対する免疫抑制剤および生物学的製剤の効果 (磯部)

44 例の高安動脈炎患者の中で、ステロイドの初期治療にへの反応性、免疫抑制剤の併用、生物学的製剤の併用効果について検討を行った。

(4) バージャー病患者における FMD 測定の意義に関する検討 (古森)

1980～2012 年に重症虚血症 (潰瘍・壊死) にて当科入院し、現在も定期通院中のバージャー病患者 (B 群; N=15) において、%FMD、血流増大率を測定・評価した。有症状 (Fontaine II 度以上) の ASO 患者 (A 群; N=15) を対照とした。

(5) 難治性高安動脈炎に対する tocilizumab 治療の安全性と有効性について (小室、中岡)

2012 年 4 月以降にステロイド治療抵抗性を示す高安動脈炎患者に対して TCZ (8mg /kg /月) を 2 年間継続投与し有効性と安全性について評価した。

(6) 高安動脈炎における心臓病変の検討 (中村)

高安動脈炎における心臓病変を組織学的に解析する目的で、CD69 欠損マウスに coxsackievirus B₃ ウイルスを腹腔内摂取し

て大血管炎モデルを作成し、大動脈ならびに心臓の組織学的検討を行った。

(7) 高安動脈炎疾患感受性因子としての HLA および GWAS 研究 (吉藤)

高安動脈炎患者の HLA 解析・GWAS を行い疾患感受性、病態などとの関連を検討した。

基礎・病理分科会

(1) 日本人集団における ANCA 関連血管炎の疾患感受性遺伝子に関する研究 (土屋)

昨年までに本研究班を中心とする多施設共同研究により、日本人集団における顕微鏡的多発血管炎(MPA)が、東アジア集団にほぼ特異的に存在する *HLA-DRB1*09:01-DQB1*03:03* ハプロタイプに有意に関連することを、少数検体における解析により報告した。本年度は、共同研究の進展によるサンプルサイズの増加を受け、日本人集団における *HLA-DRB1*09:01* の関連を確認するとともに、これ以外の感受性因子、抵抗性因子の探索を行った。さらに、*HLA-DPBI* の関連研究を施行した。xMAP 技術に基づく PCR-SSOP 法により、*HLA-DRBI* および *DPBI* アリルタイピングを行った。

(2) 血管炎患者末梢血の mRNA 網羅的発現解析 (竹内)

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。本研究では、ANCA 関連血管炎、高安動脈炎、RA 合併血管炎などの血管炎症候群を対象とし

て、臨床データおよび患者末梢血を用いた網羅的遺伝子発現解析により病態関連の鍵分子の同定を目指す。

平成 25 年度は、血管炎症候群 23 例(男性 7、女性 16)、未治療関節リウマチ(RA)20 例(男性 4、女性 16)、健常人コントロール(HC)21 例(男性 5、女性 16)の 3 群合計 64 例を対象症例とした。末梢血より total RNA を抽出し、網羅的に遺伝子発現データを取得し解析を行った。

(3) 定量プロテオーム解析による ANCA 関連血管炎の新規活動性マーカー探索 (長谷川)

質量分析 (MS) を用いた患者血清プロテオームの大規模定量解析により、血管炎の活動性、臓器障害を反映する新規マーカータンパク質の探索を試みた。AAV 患者の血清試料を、エンドプロテアーゼを用いて消化した後、タンデム MS 解析によりタンパク質の同定をおこなった。同定タンパク質の治療前後における比較定量解析は、3 連四重極型 MS を用いた Selected reaction monitoring(SRM)法によりおこなった。

(4) 血管炎の発症機序解明と NET s の関与に関する研究 (石津)

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、本ラットでは自己血管反応性 T 細胞による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ラット血管内皮細胞 (REC) で繰り返し刺激することにより、REC 依存的に増殖亢進を示す T 細胞クローン VASC-1 を樹立した。VASC-1 を野生型ラットに静注することにより小型血管炎が誘導されたことから、VASC-1 は小型血管炎の発症に関わってい

と考えられ検討を進めた。

また、好中球に phorbol myristate acetate (PMA) とともに PTU を添加して作製した NETs が形態異常を示し、DNase I による分解に抵抗性を示すこと、また、このような異常な NETs に含まれる MPO が自己抗原となり、MPO-ANCA が産生されること、さらにその結果として血管炎が発症することをこれまでに報告しさらに検討を進めた。

(5) 急性大動脈解離の迅速診断法開発の試みと血管壁への好中球浸潤機構解析(岡田)

昨年度の研究により、ヒト急性大動脈解離(AAD)患者では血中の matrix metalloproteinase9 (MMP9) と angiotensin II (AngII) が高値を示すことを明らかにするとともに、コラーゲンやエラスチンの架橋阻害剤である β -aminopropionitrile monofumarate (BAPN) と AngII 投与により AAD 発症マウスモデルの作製に成功し、好中球由来 MMP9 が AAD 形成に中心的役割を果たすことを示した。AAD は CT などの画像診断法で確定診断されるが、AAD の迅速診断法やスクリーニング法はない。また、好中球の血管壁への浸潤は AAD のみならず血管炎に共通した現象であるが、そのメカニズムに関する情報は限られている。これらの背景から、本年度の研究では急性大動脈解離の迅速診断法開発の試みと血管壁への好中球浸潤機構解析の2点について検討した。

(6) 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(岩月)

皮膚血管炎臨床研究において、各症例の臨床データを病理組織所見とともに登録することは貴重な知財となる。血管炎症例の

臨床データを病理組織所見とリンクさせたデジタル化データベースし、そのデータをもとに代表的血管炎の診断の手引きを刊行することを目的として、平成23年に岡山大学倫理委員会の承認を得て、血管炎症例の臨床像・検査所見を集積し、同時に生検材料の病理組織所見をバーチャルスライドとして取り込みを行った。最終的には Chapel-Hill コンセンサス会議(2012)に準拠して、血管炎の診断に役立つアトラス集を刊行する。

国際研究協力分科会

(1) DCVAS (Development of Classification and Diagnostic Criteria in Systemic Vasculitis):

欧州リウマチ学会/米国リウマチ学会主導により原発性全身性血管炎の分類・診断基準作成のための研究が行われており当研究班からも選ばれた施設が参加している。

(2) 国際共同試験 PEXIVAS(Plasma exchange in AVV)への参加検討

高度腎障害あるいは肺出血を伴う GPA(WG)/MPA患者に対する、血漿交換療法とグルココルチコイド治療の4群のランダム化対照試験が国際共同試験として開始されている。日本の参加協力も求められており、我が国からの目標登録数を10例程度とし進めている。

(3) AAV (ANCA-associated vasculitis) 日英比較研究

昨年度はMPA-ANCA関連血管炎の日欧比較が行なわれ、論文化された(*J Rheumatol*, in press)。本年はGPA-ANCA関連血管炎の日英比較研究を、中小型血管炎の臨床研究分科会と本分科会が共同で進めている。本研

究班内で参加施設を募り、16施設から参加表明を得て、参加施設からのGPA症例のデータ収集を行っている。

(4) RITAZAREM国際共同試験

リツキサン維持療法が再発AAV症例の予後改善につながるかどうかを検証する国際臨床試験が開始され、本年4月から症例登録が開始されている。5月に日本のRITAZAREM参画について検討を開始し試験組織が立ち上げられた。

C. 研究結果

中小型血管炎分科会

(1) RemIT-JAV-RPGN

平成25年10月31日現在、48施設から298例が登録された。原疾患は、顕微鏡的多発血管炎(MPA)218例、多発血管炎性肉芽腫症(GPA)49例、Churg-Strauss症候群(CSS)24例、分類不能型血管炎(UC)7例であった。調査票を固定できた263例の治療開始時の人口統計学的特徴および臨床的特徴は、年齢(平均 $\pm$ 標準偏差)68 $\pm$ 15歳、女性の割合54%、血清Cr値2.5 $\pm$ 2.9 mg/dl、MPO-ANCA陽性率86%、PR3-ANCA陽性率8.6%であった。ANCA関連血管炎呼吸器画像は161例、腎生検組織は47例から収集・解析中である。RemIT-JAVおよび本コホート研究結果の統合は、我が国のANCA関連血管炎、急速進行性糸球体腎炎の診断・治療に関する新たなエビデンス構築に役立つと期待される。

(2) RemIT-JAV

登録156症例(EGPA14例:9%, GPA33例:21.2%, MPA78例:50%)の中で評価対象155例の登録後18か月までの有効性を解析した。シクロホスファミド(CY)併用は54例(35%)。寛解は140例(91%)で、

寛解までの期間は疾患別に有意差を認めたが($P=0.0004$)、重症度やCY併用の有無では有意差はなかった。生存率は重症度、CY併用の有無で有意差を認めた($P=0.0001, P=0.0404$)。MPA78例では、寛解68例(87%)で、寛解までの期間はCY併用群で早い傾向にあった($P=0.0739$)。死亡は14例(18%)で生存率は重症度で有意差を認めた($P=0.0019$)、CY併用群は生存率が高い傾向にあったが統計学的有意差はなかった($P=0.1428$)。腎死は12例(15%)に認め、重症度と関連していたが($P<0.0001$)、CYの併用では差がなかった。我が国でCY併用率は低いが、寛解率は高かった。

(3) Co-RemIT-JAV

現在までに16施設で、倫理委員会の承認をいただき、72例(MPA45例、GPA18例、EGPA6例、不明3例)の登録が終了している。本研究により、我が国におけるANCA関連血管炎の寛解維持療法のプロトコールの確立に寄与することが期待できる。

(4) ANCA陰性EGPAとHESの鑑別について

ANCA陰性EGPA例では腎病変がなく、ACR分類基準やLanham基準の満足度が低いことが示された。文献的にもANCA陽性例と陰性例で臨床像に差のあることが報告されている。今後のEGPAの診断基準の改定には、ANCA陰性EGPAとHESの違いを明確にすることが重要である。

(5) ANCA関連血管炎の臨床調査個人票の改訂計画

最終的にコンセンサス形成を行う段階となっていたが、厚生労働省今後の難病対策のあり方に関する研究にて特定疾患の申請

が専門医によって Web 上で登録されるようになるなど、大きくシステム変更される予定となったため再度検討を加えて改定する必要が生じた。

大型血管炎分科会

(1) 高安動脈炎臨床調査個人票解析

2001 年度から 2010 年度分の 7779 例分の臨床調査個人票の提供を受けた。期間内の新規登録者は 1733 例で、毎年の新規登録者数は 2004 年以降 200 名前後であった。全 7779 例のデータを 1998 年度の報告書と比較すると、臨床症状では頭部虚血症状と全身症状を有する比率が増加していた。治療はステロイド剤の使用率が低下し、免疫抑制剤の使用率がやや増加していた。ステロイド剤使用量は、1998 年度報告書の PSL 換算 5mg/日より増加し、中央値 7.5mg/日で新規患者の登録 5 年後に見られた量と同等であり、これが現在の慢性期の標準的な維持量であると推察された。

(2) 大型血管炎の寛解導入治療の現状と有効性に関する観察研究

2013 年 12 月までに新規症例 13 例の登録が行われた。今後症例登録を継続し、登録終了および観察終了後に解析を行う。

(3) ステロイド抵抗性高安動脈炎に対する免疫抑制剤および生物学的製剤の効果(磯部)

44 例の高安動脈炎患者の中で、ステロイドの初期治療に抵抗性示した患者、およびステロイド減量に伴って再燃を示した患者が 29 例みられた。その中のステロイド抵抗例 24 例のうち 22 例に免疫抑制剤が投与された。免疫抑制剤が無効であった 6 例に生物学的製剤が使用された。全体としてステ

ロイド抵抗性および依存性患者の 64%で、免疫抑制剤 and/or 生物学的製剤の併用で寛解を維持することが出来た。

(4) バージャー病患者における FMD 測定の意義に関する検討

両群間で平均%FMD に有意差を認めなかった。高齢バージャーマ病患者では ASO のリスク因子の合併が多く、%FMD の低下はその影響も考えられた。一方、ASO のリスク因子を持たない若年患者においても %FMD は低値であり、バージャーマ病においても全身性の内皮機能障害を FMD 測定によって評価することが可能と考えられた。

(5) 難治性高安動脈炎に対する tocilizumab 治療の安全性と有効性について

新規症例ではいずれの症例でもプレドニゾロンに加えて免疫抑制剤が TCZ 治療開始前に用いられていた。継続症例 2 例では特に重篤な副作用は観察中に見られず、依然として寛解が維持されている。新規投与症例の 1 例では腎動脈狭窄による高血圧の合併が見られ、血管形成術後の再狭窄が 2 回見られたが、TCZ 開始後には再狭窄はなく、降圧剤の使用量も減量可能であった。

(6) 高安動脈炎における心臓病変の検討

ウイルス接種後 2 週間における死亡率は 50%であった。炎症性細胞浸潤は心筋間質や血管周囲に focal に集簇していた。大血管に於いては外膜側の浮腫と炎症性細胞浸潤を認めた。

CD69 欠損マウスにおける大血管炎は血管周囲に特徴を認めた。また、ウイルス接種後 2 か月では大動脈における変性を認めており、臨床像と類似していた。

(7) 高安動脈炎疾患感受性因子として

の HLA および GWAS 研究

HLA 解析では B*67 が有意かつ既存の B*52 とは独立した疾患感受性因子であることを確認した。さらに、HLA-B 分子上の第 171 位ヒスチジン（疾患感受性多型）と第 67 位フェニルアラニン（疾患保護的多型）を見出した。この二つのアミノ酸のいずれも HLA のポケット構造に位置することから、高安動脈炎の病態に自己免疫機序に関わることを示唆する。GWAS では *IL12B* 遺伝子多型が臨床症状と相関することを示した。

基礎・病理分科会

（１）日本人集団における ANCA 関連血管炎の疾患感受性遺伝子に関する研究

MPO-ANCA 陽性群における

*HLA-DRB1*09:01* の増加が確認された

($P=2.3 \times 10^{-5}$)。陽性率は低いものの、

*DRB1*11:01* の増加が MPO-ANCA 陽性群、PR3-ANCA 陽性群のいずれにおいても検出された(それぞれ $P=0.033, 0.008$)。

*DRB1*04:05* は、MPO-ANCA 陽性群では有意な減少($P=0.0037$)を示したのに対し、PR3-ANCA 陽性群では増加傾向を示し、両群間の差は有意差に到達した($P=0.037$)。

HLA-DPB1 領域においては、PR3-ANCA 陽性群では、ヨーロッパ系集団同様、*DPB1*04:01* の増加傾向が観察されたが、MPO-ANCA 陽性群では有意に減少していた($P=0.048$)。このことから *HLA class II* 領域には *HLA-DRB1*09:01* 以外にも複数の感受性因子、抵抗性因子が存在すること、MPO-ANCA 陽性群と PR3-ANCA 陽性群の *HLA class II* 領域における遺伝的背景には、共通性と異質性が存在することが示唆され

た。

（２）血管炎患者末梢血の mRNA 網羅的発現解析

主成分分析にて、血管炎群と健常人が分類される傾向が認められた。発現変動遺伝子の抽出を試みたところ、 $P<0.05$ を統計学的有意とすると HC 群と比較した血管炎群で最も多い 912 プローブが抽出された。血管炎群に特徴的な発現遺伝子のうち免疫関連の GO Term を有するものを抽出したところ、*SAMSN1*(Corrected p-value: 3.03E-05)等が上位に選別された。また血管炎全体および血管炎 7 疾患と HC とを比較して発現亢進および低下の遺伝子を抽出し、GO 解析および Pathway 解析を施行しリスト化した。今回の検討で、網羅的に血管炎症候群に特徴的な末梢血遺伝子発現のプロファイルの一端を明らかにできた。今後細胞特異的データを取得することでより高精度に鍵分子の同定が可能になると期待される。

（３） 定量プロテオーム解析による ANCA 関連血管炎の新規活動性マーカー探索

血清試料(顕微鏡的多発血管炎 4 例、肉芽腫性多発血管炎 2 例、好酸球性肉芽腫性多発血管炎 1 例)のプロテオーム解析により、約 400 タンパク質の同定に成功した。そのうち、血管炎との関連が強く示唆されるタンパク質群（89 種類）を選択し、活動期に極めて高い発現を示すマーカー候補の探索を定量 SRM 解析により行ったところ、炎症関連タンパク質（ORM, S100A8, MMP9 等）に加えて、血管内皮障害、腎障害や好中球活性化などに関連する候補タンパク質が明らかになった。現在、さらに多検体試料（ $n=33$ ）によるバリデーション解析を進め

ている。AAV 患者の血清試料に含まれる微量タンパク質 (ng/ml レベル) の治療前後における発現変動プロファイルを明らかにし、活動期および臓器障害に特異的に高い発現を示す新規マーカー候補を同定することに成功した。

(4) 血管炎の発症機序解明と NETs の関与に関する研究 (石津)

VASC-1 は $V\alpha 14$ と $V\beta 8.6$ で構成される TCR を有する CD4 CD8 ネガティブ T 細胞であり、 $IFN-\gamma^+$ $IL-2^-$ $IL-4^+$ $IL-10^-$ を示した。また、REC と反応し、 $IL-2$ 、 $IL-5$ 、 $IL-6$ などの炎症性サイトカインを産生した。一方、 $TGF-\beta$ の発現は REC と反応することにより低下した。REC と反応後のサイトカイン発現は抗 CD1d 抗体により阻害されたが、VASC-1 は α -galactosylceramide を添加した CD1d dimer には結合しなかった。以上より、VASC-1 は REC に反応する invariant な NKT 細胞であり、炎症性サイトカインの産生誘導と炎症抑制性サイトカインの産生低下を介して小型血管炎の発症に関与すると考えられる。

MPO-ANCA には NETs 誘導活性があり、その強さは MPO との結合親和性に依存していた。また、MPA 患者の血清は DNase I 活性・NETs 分解活性も低いことに加え抗 NETs 抗体を有する症例も認められた。このことから MPA 患者では NETs が分解されにくく、MPO-ANCA が産生され、それが新たな NETs を誘導し、抗 NETs 抗体が産生されるなどしてさらに NETs が分解されにくい状況となり、NETs と MPO-ANCA 介した悪循環病態が形成されることが考えられる。

(5) 急性大動脈解離の迅速診断法開発の試みと血管壁への好中球浸潤機構解析

血液中の MMP9 レベルを測定できる迅速イムノテストを開発した。本イムノテストの結果、AAD 患者 14 症例中 6 例が陽性 (4 例が陽性で 2 例が強陽性) を示したのに対し、腹腔動脈解離患者 1 名のうち 1 名、その他の患者 4 名 (背部痛、胆石疑い、失神、胸水それぞれ各 1 名) 中 1 名で陽性所見を示した。今回開発した MMP9 イムノテストは、AAD 患者での陽性率が 43% と低く、25% で偽陽性を示すなど、既存の FDP、D ダイマー、CRP 検査法と比較して必ずしも優れているとは言えず、実用化にはさらなる改良が必要と考えられた。

AAD マウスモデルにおける大動脈での好中球の浸潤のピークは AngII 投与から 24~48 時間にあり、AAD を発症した大動脈壁では種々のサイトカイン・ケモカイン・増殖因子の産生が 24 時間で最も高値を示した。ADAM28 はヒト AAD 大動脈、白血球破碎血管炎、ヒト炎症性組織での血管内皮細胞において免疫組織学的に発現していることが確認された。培養血管内皮細胞を用いた検討では、ADAM28 はサイトカイン刺激により protein kinase C の活性化を介して発現亢進した。また、血管内皮細胞から分泌された分泌型 ADAM28 は白血病細胞株の固相化 P-selectin への接着を特異的に促進した。以上のデータから、AngII による好中球の血管内皮細胞へ接着亢進に ADAM28 が関与し AAD の進展につながると推定された。

(6) 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

当科における皮膚血管炎の代表的症例 (GCA, PAN, GPA, EGPA, MPA, IgA 血管炎, クリオグロブリン血症性血管炎、低補体性

蕁麻疹様血管炎など) の基本臨床診療情報、血液検査所見を集積し、可能な限りの病理組織所見をバーチャルスライドシステムに取り込んだ。Chapel-Hill 病名に準じて典型例を選定し、病理組織のリファレンスライブラリを作成中である。既刊「皮膚症状からみた血管炎診断の手引き」(金原出版、2011 年) を 2012 年の新病名に改訂し、病理組織所見に典型例の写真を加えた。平成 25 年 2 月に改訂版を上梓できる見込みである。今後データベースの公開を予定しており、血管炎の臨床、病理のリファレンスライブラリとして活用されることが期待される。

国際研究協力分科会

(1) DCVAS

目標は全体で 3500 症例であるが、MPA, PAN, TAK の登録症例がターゲットの 260 症例に達しておらず、対照疾患症例も目標より少ないことより、症例登録期間が 2015 年 12 月まで延長された。

日本でも研究登録期間の延長申請を倫理委員会に提出し、23 施設にて症例の再登録を行っている。

(2) PEXIVAS 国際共同試験

現在までに宮崎大学医学部附属病院、田附興風会医学研究所北野病院、帝京大学医学部附属病院、東京都健康長寿医療センターの 4 施設が倫理委員会承認、FWA 登録を経て施設登録を行い、被験者募集可能となった。本年 9 月に、日本からは最初の症例登録が北野病院から行われ、その後さらに同病院からはもう 1 症例の登録がなされた。

(3) AAV 日英比較研究

現在参加施設からの GPA 症例のデータ収

集を行っている。今後、Cambridge 大学症例とのデータ比較を行う予定である。

(4) RITAZAREM 国際共同試験

2013 年 5 月に本分科会を中心に日本の RITAZAREM 参画について検討を開始し国内での試験組織が立ち上げられた。8 月に RITAZAREM-JP キックオフミーティングを行った。現在、倫理委員会提出書類作成など、日本での試験開始に向けて準備中である。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yoda M., Kimura T., Tohmonda T., Morioka H., Matsumoto M., Okada Y., Toyama Y. and Horiuchi K.: Systemic overexpression of TNF- α -converting enzyme does not lead to enhanced shedding activity in vivo. PLoS One 8(1): e54412, 2013.
- (2) Mochizuki S. and Okada Y.: ADAM28. In: Handbook of Proteolytic Enzymes. Ed by Rawlings N.D. and Salvesen G.S. Elsevier Ltd, Oxford, UK. pp1136-1139, 2013.
- (3) Okada Y.: Proteinases and matrix degradation. In Kelley's Textbook of Rheumatology. Ed. by Firestein G. S., Budd R. C., Gabriel S. E., McInnes I. B. and O'Dell J. R. 9th Edition, Elsevier Saunders. Philadelphia. pp97-115, 2013.
- (4) Yoshida H., Nagaoka A., Kusaka-Kikushima A., Tobiishi M., Kawabata K., Sayo T., Sakai S., Sugiyama Y., Enomoto H., Okada Y. and Inoue S.: KIAA1199, a deafness gene of unknown function, is a