

【臨床病理分科会】

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患政策研究事業
難治性血管炎の医療水準・患者QOL向上に資する研究班
分担研究報告書

臨床病理分科会報告

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 教授
川上 民裕 東北医科薬科大学 医学部 皮膚科学教室 教授
菅野 祐幸 信州大学 学術研究院医学系 医学部病理組織学教室 教授
高橋 啓 東邦大学医療センター大橋病院 病理診断科 教授
宮崎 龍彦 岐阜大学 医学部附属病院 臨床教授

研究協力者：

池田 栄二 山口大学 大学院医学系研究科 病理形態学講座 教授
大原関 利章 東邦大学医療センター大橋病院 病理診断科 准教授
小川 弥生 NPO 法人北海道腎病理センター 副理事長
鬼丸 満穂 九州大学 大学院医学研究院 病理病態学 助教
倉田 美恵 愛媛大学 大学院医学系研究科 解析病理学 講師
中沢 大悟 北海道大学病院 内科2 助教
武曾 恵理 田附興風会医学研究所 北野病院 腎臓内科 客員研究員

研究要旨 実地臨床医ならびに実地病理医の血管炎診療の質を高めることを目的とし、血管炎病理診断コンサルテーションシステムならびにウェブ版血管炎病理アトラスを運用するとともに、血管炎病理学的所見における未解明問題として、GCA の大型血管病変の特徴、AAV の上気道生検組織の特徴、PAN の皮膚病変と皮膚動脈炎の相違を明らかにする課題ならびに FFPE 切片を用いた血管壁免疫グロブリン沈着の検出法開発に取り組んだ。今年度は 7 件の依頼症例に対し血管炎病理診断コンサルテーションを実施し、ウェブ版血管炎病理アトラスの画像使用について 2 件許諾した。また、ウェブ版血管炎病理アトラスのコンテンツの英文化に着手した。全国調査を行い、GCA の診断確定症例における大動脈病変の病理標本を review した。AAV の上気道生検組織の特徴として、筋性動静脈の血管炎や閉塞を抽出した。人工知能を用いた解析により、PAN と皮膚動脈炎の組織所見が異なる可能性を示唆した。FFPE 切片を用いた血管壁免疫グロブリン沈着の検出法として 2 つの抗原賦活法が提案され、検討を開始した。

A. 研究目的

実地臨床医ならびに実地病理医の血管炎診療の質を高めることを目的とする。

B. 研究方法

1. 血管炎病理診断コンサルテーションシステムならびにウェブ版血管炎病理アトラスの運用
2. 血管炎病理学的所見における未解明問題への取り組み
 - 1) GCA の大型血管病変の病理学的特徴の解明
 - 2) AAV の上気道生検組織の病理学的特徴の解明
 - 3) PAN の皮膚病変と皮膚動脈炎の病理学的特徴の相違の同定
 - 4) FFPE 切片を用いた血管壁免疫グロブリン沈着の検出

(倫理面への配慮)

人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に則って実施した。

C. 研究結果

1. 血管炎病理診断コンサルテーションシステムならびにウェブ版血管炎病理アトラスの運用
7 件の依頼症例に対し、血管炎病理診断コンサルテーションを実施した (表 1)。ウェブ版血管炎病理アトラスの画像使用について、2 件許諾した (表 2)。また、コンテンツの英文化に着手した。
2. 血管炎病理学的所見における未解明問題への取り組み
 - 1) GCA の大型血管病変の病理学的特徴の解明 (WG 座長：菅野祐幸)
側頭動脈をはじめとする頭蓋内外の頸動脈分枝に典型的な GCA 病変を有することが病理組織学的に確認され、GCA の診断に異議の少ない高齢の症例で、大動脈炎病変の病理組織学的な検討の可能な症例 (cranial GCA

with established extracranial involvement; C-GCA with EECI に相当) を収集して、その大型血管病変の組織学的特徴を明らかにする。併せて頭蓋内外の頸動脈分枝には血管病変が確認されず大型血管にのみ病変を有する GCA 症例 (extracranial GCA; EC-GCA) の組織像と比較する。症例の収集に当たっては厚労省難治性血管炎班の班員へのアンケートを実施し、また剖検輯報等の情報を参照した。本研究は信州大学医学部医倫理委員会の承認を得るとともに (承認番号：4452)、症例提供先の施設における倫理審査の承認を受けて標本の提供を受けた。C-GCA with EECI 症例 1 例の大動脈炎病変を検討できた。巨細胞の出現を伴う虫食い状の大動脈中膜炎だが、中膜最外層の弾性線維は保たれ外膜における炎症細胞浸潤と線維化は比較的軽微であった。こうした所見は EC-GCA と考えられる症例の大動脈炎病変と共通の所見であり、C-GCA with EECI、EC-GCA の病型に関わらず共通の大動脈炎病変を示すものと考えられた。

- 2) AAV の上気道生検組織の病理学的特徴の解明 (WG 座長：宮崎龍彦)
旭川医科大学耳鼻咽喉科より提供された OMAAV 病変と対照病変の組織標本について予備比較を行い、筋性動・静脈炎の有無、筋性動・静脈の閉塞の有無、浮腫・好酸球浸潤・形質細胞浸潤の程度が OMAAV 鑑別の組織学的指標となりうることを見出した。これらのパラメーターの妥当性を検証するため、聖マリアンナ医科大学大学院疾患バイオマーカー・標的分子制御学 黒川真奈絵教授の協力を得て、Training Set と Testing Set に分けた。男女比ほぼ同じで、平均年齢も±2 歳以内に収めることができた。今後、抽出した因子の validation を行う。
- 3) PAN の皮膚病変と皮膚動脈炎の病理学的特徴の相違の同定 (WG 座長：石津明洋)
臨床的に確定診断されている PAN と CA の皮膚生検 (40 倍 HE 染色) 画像 (各 13 枚、

75 枚) をそれぞれ 10000 枚まで増幅し、トレーニング画像とテスト画像 (8:2) に分割した。畳み込みニューラルネットワークに入力し、学習曲線を用いて AI の正解率を、また、損失関数を指標として学習の成否を評価した。オリジナル画像を用いた場合、画像をグレースケールとした場合、RGB の単色成分のみを持つ画像とした場合、RGB の二つの色成分を持つ画像をした場合について解析した。AI は PAN と CA のオリジナル画像を 96% の正解率で識別した。画像をグレースケールとした場合や、赤・緑・青一色のみの画像とした場合には、損失関数の下降が見られず、学習は成功しなかったが、赤と緑の二色画像とした場合には、損失関数が下降し、学習の成功が示唆された。PAN と CA の HE 染色画像には何らかの差異が存在し、それは赤と緑の色情報に反映されている。

4) FFPE 切片を用いた血管壁免疫グロブリン沈着の検出

IgA 血管炎の診断が確定している症例の皮膚生検 FFPE 切片を収集し、IgA や補体の沈着を検出するための抗原賦活法を検討する。分科会構成員の各施設で解析対象症例の有無を調査した結果、30 例ほどが該当した。また、抗原賦活法として異なる 2 つの方法が提案された。今後解析を実施する。

D. 考察

血管炎病理診断コンサルテーションとウェブ版血管炎病理アトラスを運用することにより、血管炎病理診断の課題が浮き彫りになってきた。そして、その課題を解決するべく 4 つのプロジェクトに鋭意取り組んでいる。

E. 結論

各プロジェクトは順調に進行している。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Fukazawa R, Kobayashi J, Ayusawa M, Hamada H, Miura M, Mitani Y, Tsuda E, Hiroyuki Nakajima, Matsuura H, Ikeda K, Nishigaki K, Suzuki H, Takahashi K, Suda K, Kamiyama H, Onouchi Y, Kobayashi T, Yokoi H, Sakamoto K, Ochi M, Kitamura S, Hamaoka K, Senzaki H, Kimura T, on behalf of the Japanese Circulation Society Joint Working Group. JCS/JSCS 2020 Guideline on Diagnosis and Management of Cardiovascular Sequelae in Kawasaki Disease. *Circ J* 84: 1348-1407, 2020.

2) Kobayashi T, Ayusawa M, Suzuki H, Abe J, Ito S, Kato T, Kamada M, Shiono J, Suda K, Tsuchiya K, Nakamura T, Nakamura Y, Nomura Y, Hamada H, Fukazawa R, Furuno K, Matsuura H, Matsubara T, Miura M, Takahashi K. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (6th revised edition). *Pediatr Int* 60: 1135 -1138, 2020.

3) 武曾恵理. ANCA 関連腎炎の治療. エビデンスに基づく急速進行性糸球体腎炎 (RPGN) の診療ガイドライン 2020. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業 難治性腎疾患に関する調査研究班編集. 東京医学社. 2020.

4) 石津明洋. 薬剤関連抗好中球細胞質抗体. 日本医師会雑誌 149(特別号(2)), S347-S349, 2020.

5) Ikeda T, Kawakami T, Arimura Y, Ishiguro N, Ishizu A, Ito F, Ito-Ihara T, Okiyama N, Ono S, Suzuki K, Sugawara K, Seishima M, Kodera M, Tanaka M, Hasegawa M, Furukawa F, Yamaguchi Y, Yoshizaki A, Revised committee for guidelines for the management of vasculitis and vascular disorders of the Japanese Dermatological Association. Survey of Japanese dermatological vasculitis specialists on cases of cutaneous arteritis (cutaneous polyarteritis nodosa). *J Dermatol* 47(5): 534-537, 2020.

- 6) Nakazawa D, Ishizu A. Immunothrombosis in Severe COVID-19. *EBioMedicine* 59: 102942, 2020.
- 7) Kobayashi M, Matsumoto Y, Satomi H, Tateishi A, Ohya M, Ito I, Kanno H. The ratio of CD163-positive macrophages to Iba 1-positive macrophages is low in the intima in the early stage of cutaneous arteritis. *Immunologic Res* 68(3): 152-160, 2020.
- 8) Takahashi-Kobayashi M, Usui J, Kaneko S, Sugiyama H, Nitta K, Wada T, Muso E, Arimura Y, Makino H, Matsuo S, Yamagata K. Age-dependent survival in rapidly progressive glomerulonephritis: A nationwide questionnaire survey from children to the elderly. *PLoS One* 15(7): e0236017, 2020.
- 9) Yokoi S, Kasuno K, Nishimori K, Nishikawa S, Nishikawa Y, Morita S, Kobayashi M, Fukushima S, Mikami D, Takahashi N, Oota Y, Kimura H, Soya Y, Kimata S, Nishimura K, Ono T, Muso E, Yoshida H, Yodoi J, Iwano M. Analytical and clinical validation of rapid chemiluminescence enzyme immunoassay for urinary thioredoxin, an oxidative stress-dependent early biomarker of acute kidney injury. *Clin Chim Acta* 507: 271-279, 2020.
- 10) Watanabe-Kusunoki K, Nakazawa D, Ishizu A, Atsumi T. Thrombomodulin as a physiological modulator of intravascular injury. *Front Immunol* 11: 575890, 2020.
- 11) Uno K, Muso E, Ito-Ihara T, Endo T, Yasuda Y, Yagi K, Suzuki K. Impaired HVJ-stimulated Interferon producing capacity in MPO-ANCA-associated vasculitis with rapidly progressive glomerulonephritis lead to susceptibility to infection. *Cytokine* 136: 155221, 2020.
- 12) Kobayashi M, Matsumoto Y, Ohya M, Harada K, Kanno H. Histological and immunohistochemical evaluation of infiltrating inflammatory cells in Kawasaki disease arteritis lesions. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 29(1): 62-67, 2021.
- 13) Iwasaki S, Watanabe T, Tsuji T, Otsuka T, Makita K, Fukasawa Y, Ishizu A. Infliximab-induced granulomatous vasculitis with amyloid deposition in the tongue of a patient with Behçet's disease. *J Clin Rheumatol* (in press)
- 14) Ota H, Sato C, Igarashi A, Inoue S, Masuda S, Ishizu A, Watanabe M. Spontaneously regressed granulomatosis with polyangiitis: a case report. *Respiratory Invest* (in press)
- 15) Kawakami T, Tamura U, Dong Y, Yoshinari M, Nishibata Y, Masuda S, Tomaru U, Ishizu A. Anti-phosphatidylserine/prothrombin complex antibodies in patients with cutaneous vasculitis: possible involvement in the pathogenesis. *J Dermatol* (in press)
- 16) Abe Y, Saeki K, Dobashi H, Kawakami T, Hayashi T, Kobayashi M, Kaname S, Harigai M, Tamura N. Clinical characteristics and social productivity levels of patients with malignant rheumatoid arthritis based on a nationwide clinical database in Japan: annual survey from 2003 to 2014. *Mod Rheumatol* (in press)
- 17) Sato W, Yokouchi Y, Oharaseki T, Asakawa N, Takahashi K. The pathology of Kawasaki disease aortitis: a study of 37 cases. *Cardiovasc Pathol* (in press)
- 18) 高橋 啓, 大原関利章, 横内 幸. COVID-19 と川崎病—SARS-CoV2 関連小児多臓器炎症症候群と川崎病—. *呼吸器内科* 39: 66 -71, 2021.

2.学会発表

- 1) Kawakami T. Dermatological perspective on eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA), including the MIRRA study (mepolizumab, an anti-IL-5 antibody treatment). Mepolizumab EGPA seminar. The XX IV International Pigment Cell Conference. Yamagata, 2020.
- 2) Ishizu A. Updates on the pathogenesis of ANCA-associated vasculitis. JSA/WAO Joint Congress 2020. Online.
- 3) Takahashi K. Pathology of Cardiovascular Lesion of Kawasaki Disease. Third annual conference of Indian Society of Kawasaki Disease. Online, 2020.
- 4) 石津明洋. 血管炎と NETs. 第 109 回日本病理学会総会・ワークショップ 6. 血管疾患の病態病理. Online, 2020.
- 5) 池田栄二. 神経系血管バリアーの機能異常と疾患.

第 109 回日本病理学会総会・ワークショップ 6. 血管疾患の病態病理. Online, 2020.

6) 石津明洋. AAV 病態解明の update. 第 64 回日本リウマチ学会総会・学術集会シンポジウム 7. 全身性血管炎の病態と診療の update. Online, 2020.

7) 西端友香, 益田紗季子, 中沢大悟, 外丸詩野, 石津明洋. 抗好中球細胞質抗体(ANCA)に続き抗糸球体基底膜(GBM)抗体が産生されるメカニズム. 第 64 回日本リウマチ学会総会・学術集会. Online, 2020.

8) 宮部千恵, 川上民裕. 皮膚血管炎における抑制性共刺激因子の役割. 第 119 回日本皮膚科学会総会. Online, 2020.

9) 川上民裕. 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症の最新の病態理解と治療. 皮膚疾患の病態・治療と好酸球. 第 119 回日本皮膚科学会総会. Online, 2020.

10) 川上民裕. 血管炎・血管障害診療ガイドライン委員会のこれまでとこれから. 日本皮膚科学会“初”の新 Minds 法による本格的ガイドラインの作成新血管炎・血管障害診療ガイドライン改訂委員会の試み. 第 119 回日本皮膚科学会総会. Online, 2020.

11) 池田高治, 小松俊郎, 宮部千恵, 高橋一夫, 川上民裕. 早期のメボリズマブ投与が有用であった好酸球性多発血管炎性肉芽腫症の一例. 第 119 回日本皮膚科学会総会. Online, 2020.

12) 川上民裕. 血管炎 自己免疫疾患 up date. 第 84 回日本皮膚科学会東部支部学術大会. Online, 2020.

13) 渋谷倫太郎, 小野さち子, 川上民裕, 梶島健治. ステロイド内服拒否によりアザチオプリンで加療した皮膚動脈炎の一例. 第 84 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. Online, 2020.

14) 川上民裕. 皮膚科診療における血管炎の診断から治療まで. 日本臨床皮膚科医会岡山県支部・日本皮膚科学会岡山地方会. Online, 2020.

15) 川上民裕. 臨床医の立場から血管炎を科学する. 第 71 回日本皮膚科学会中部支部学術大会. Online, 2020.

16) 川上民裕, 董宇鵬, 小松俊郎, 横山華英, 池田高治, 高橋一夫. 国際的な流通キットを使用した皮

膚血管炎における抗ホスファチジルセリン・プロトロンビン複合体抗体の測定. 第 71 回日本皮膚科学会中部支部学術大会. Online, 2020.

17) 高橋 啓, 横内 幸, 大原関利章, 浅川奈々絵, 佐藤若菜. 冠動脈非形成川崎病既往成人 4 突然死例の病理学的検討. 第 56 回日本小児循環器学会・学術集会. Online, 2020.

18) 大原関利章, 高橋 啓. *Candida albicans* 細胞壁多糖で誘導される川崎病血管炎マウスモデルの血管炎発症機序と治療戦略. 第 94 回日本感染症学会総会, イブニングシンポジウム 4, 真菌感染症の発症病態と治療戦略における新知見. Online, 2020.

19) 大原関利章, 横内 幸, 浅川奈々絵, 佐藤若菜, 三浦典子, 大野尚仁, 高橋 啓. カンジダ細胞壁多糖誘導川崎病血管炎マウスモデルにおける血管炎誘発物質接種後の血清サイトカインの経時的変動. 第 56 回日本小児循環器学会総会. Online, 2020.

20) 大原関利章, 浅川奈々絵, 横内 幸, 佐藤若菜, 三浦典子, 大野尚仁, 高橋 啓. 血管炎と高脂血症はマウス生命予後を低下させる—カンジダ細胞壁多糖誘導川崎病血管炎モデルを用いた検討—. 第 40 回日本川崎病学会・学術総会. Online, 2020.

21) 谷口美咲, 寺柿万理子, 遠藤知美, 武曾惠理, 福井基成, 塚本達雄. 間質性肺炎の経過中に顕微鏡的多発血管炎による急速進行性糸球体腎炎を発症した一例. 第 50 回日本腎臓学会西部部会, 和歌山, 2020.

22) 猪原登志子, 八城正知, 武曾惠理. 阪神淡路大地震後の ANCA 関連血管炎. 第 65 回日本透析医学会総会, 大阪, 2020.

23) 川村美保, 水谷陽子, 松山かなこ, 周円, 宮崎龍彦, 清島真理子. IgG/IgM 血管炎および IgA 血管炎の臨床的組織学的比較検討. 日本臨床皮膚科医会. 第 36 回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術集会, 浜松, 2020.

24) 石津明洋. 病理から見た皮膚症状を来す血管炎. 第 84 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. シンポジウム 2. 診療科横断的に考える血管炎の病態. Online, 2020.

25) 菅野祐幸, 小林実喜子, 池田栄二, 鬼丸満穂, 倉田美恵, 石津明洋. 巨細胞性動脈炎の大型血管病変の病理学的特徴. 厚労省「難治性血管炎班」臨床病理分科会プロジェクト研究. 第 25 回日本血管病理研究会. Online, 2020.

26) 宮崎龍彦, 小林一博, 新居俊典, 酒々井夏子, 石津明洋, 武曾恵理, 小川弥生, 中沢大悟, 黒川真奈絵. OMAAV の上気道生検組織の病理学的特徴. 厚労省「難治性血管炎班」臨床病理分科会プロジェクト研究. 第 25 回日本血管病理研究会. Online, 2020.

27) 新海隼人, 加藤千恵次, 川上民裕, 高橋 啓, 西端友香, 益田紗季子, 田中 敏, 外丸詩野, 石津明洋. 人工知能による結節性多発動脈炎と皮膚動脈炎の皮膚生検画像の鑑別. 厚労省「難治性血管炎班」臨床病理分科会プロジェクト研究. 第 25 回日本血管病理研究会. Online, 2020.

28) 高橋一夫, 宮部千恵, 池田高治, 菅原正幸, 川上民裕. 下腿潰瘍から診断に至った抗リン脂質抗体症候群の 1 例. 第 50 回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会. Online, 2020.

29) 川上民裕. 実臨床からみた血管炎症候群とアトピー性皮膚炎におけるタクロリムス軟膏の位置付け. 日本皮膚科学会岩手地方会学術大会第 394 回例会. 盛岡, 2021.

30) 武曾恵理. EGPA を含む ANCA 関連血管炎・腎炎の診断の治療の展開. 広島血管炎セミナー2021 Online, 2021.

H. 知的財産権の出願・登録

該当なし。

表 1. 血管炎病理診断コンサルテーション実績概要

症例	年 齢	性 別	依頼概要	コンサルタント所見	
				A	B
VC035	9	男	4歳時に発熱，骨髄炎，強膜炎発症 鼻中隔軟骨炎，肺出血を疑う画像所見 大動脈基部炎と狭心症，脾梗塞，顔面神経麻痺 ステロイド依存性，ANCA陰性 4歳時に生検した骨：血管炎？	Indefinite for vasculitis	Indefinite for vasculitis
VC036	46	男	間質性肺炎，MPO-ANCA 12.1 U/ml，腎炎なし 結節性紅斑様皮疹部から生検：MPA？	Thrombophlebitis, granulomatous	Suggestive of Thrombophlebitis
VC037	37	男	2020年4月に頭痛，5月に意識障害 白血球増多，CRP上昇，ANCA陰性，IgG4<135 MRIにて左乳突蜂巣炎＋硬膜下膿瘍 抗菌薬投与で改善なし 穿頭硬膜生検 硬膜切除，人工硬膜置換術 PSL 60mgで改善，CRP陰性化 血管炎？	Hypertrophic pachymeningitis possibly associated with granulomatous vasculitis	Hypertrophic pachymeningitis possibly associated with granulomatous vasculitis
VC039	53	男	2003年 急性心筋梗塞 2011年 左大腿動脈仮性動脈瘤 2012年 腹部大動脈瘤 2020年 右外腸骨動脈破裂 2020年 CABG+冠動脈切除 結合組織脆弱性疾患？	検討中	
VC040	31	男	臨床診断：アスペルガー症候群，統合失調症 2018年 不穏 2019年 右不全片麻痺 MRIで脳梗塞疑い 脳生検 PCNSV？	Suggestive of Vasculopathy	Cerebral microcirculatory disturbance-based ischemic damage, Suggestive
VC041	30	女	倦怠感，両下肢紫斑，顕微鏡的血尿 皮膚生検にて白血球破砕性血管炎（IgA沈着なし） プレドニン 25 mg/day の投与に反応乏しい IgA血管炎？	Leukocytoclastic vasculitis	Leukocytoclastic vasculitis, IgA vasculitis, consistent with

表 2. ウェブ版血管炎病理アトラスの画像使用許諾

申請日	申請者	目的	諾否
2020/9/20	青梅市立総合病院 長坂憲治	神奈川地区のリウマチ専門医を対象とした研究会	諾
2019/11/19	北海道大学大学院保健科学研究院 石津明洋	第84回日本皮膚科学会東京支部学術大会シンポジウム	諾