

第4分野 課題番号SH44410 平成16-18年度総合研究報告書

抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎の本邦・欧州間での臨床疫学調査および診断薬と治療法開発に関する研究

所 属 順天堂大学附属順天堂越谷病院

主任研究者 橋 本 博 史

研究要旨 日本と欧州間での ANCA 関連血管炎の臨床・疫学的差異について、日本の臨床施設の医療現場を視察して、問題点の検討し、欧州で実施されている方法を使用して調査・比較した。1) ANCA 関連腎血管炎 (ANCA-associated primary renal vasculitis) について宮崎県の過去5年間の後方視的調査結果と英国 (Norfolk) における同時期の前方視的調査結果を比較検討した。発症頻度はほぼ同等 (14.8 人 vs 13.9 人/100 万人) であったが、宮崎の症例は全例 顕微鏡的多発血管炎 (MPA) であったが、英国 (Norfolk) ではウェゲナー肉芽腫症 (WG)、MPA、Churg-Strauss 症候群 (CSS) の症例が含まれ、両地域の ANCA 関連腎血管炎の疾患および病態の差異が認められた。2) WG の臨床像の相違を腎症の有無に着眼して検討した結果、欧米の報告 (77%) と比べ、わが国の WG は腎症の合併が少ない (12 ~ 63%) 傾向があった。3) 本邦の患者血清を使用して、日本と欧州で使用されている ANCA の測定試薬の比較検討を行なった。MPO-ANCA および PR3-ANCA の測定試薬はいずれも感度と特異度に優れ、日・欧の試薬間に統計上優位の相関を認めた。4) 市販診断薬にて ANCA 陰性の血管炎患者血清を、健康者好中球から精製した MPO (nMPO) を抗原として ANCA 測定すると陽性になることが判明し、ANCA の診断・新しい抗原決定基の存在が明らかになった。5) 欧州血管炎グループ (EUVAS) の腎生検病理組織所見の検討方法を行なった。日本の ANCA 関連血管炎の腎組織所見では EUVAS の症例に比べ、arcuate artery の血管炎の頻度が高いことが指摘された。6) 外国の研究者による日本の ANCA 関連血管炎の特徴が理解され、日本の多施設による臨床疫学調査が始まった。MPO-ANCA の epitope 解析の検証が多施設で行われ、診断薬や治療薬へ応用することを現在検討している。

分担研究者 (施設)

鈴木和男 (国立感染症・生物活性物質部)
武曾恵理 (北野病院・腎臓内科)
富野康日己 (順天堂大学・医・腎臓内科)
居石克夫 (九州大学・医・病理病態学)
布井博幸 (宮崎大学・医・小児科)
猪原登志子 (田附興風会・第一研究部)
小林茂人 (順天堂大・医・順天堂越谷病院内科)
井関邦敏 (琉球大学医学部附属病院血液浄化療法部)
能勢真人 (愛媛大学医学部附属病因・病態学講座)
稲葉 裕 (順天堂大学医学部衛生学)
山崎康司 (広島市民病院)

外国側分担研究者 (施設)

David Jayne (Cambridge)
David G Scott (Norwich)
Richard Watts (Norfolk)
Franco Ferrario (S. Carlo Borromeo Hospital)

A. 研究目的

抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎は本邦と欧米間にて、顕微鏡的多発血管炎 (MPA) とウェゲナー肉芽腫症 (WG) の患者の発症率や ANCA の種類 (MPO-/PR-3-ANCA) の陽性率の相違が認められる。この疫学上の相違点を国際的に認められた方法

(population-based study)で正しく実証することが本研究の第一の目的である。つまり、欧州の血管炎研究グループ(EUVAS)のこれまでの研究方法に基づき、1)臨床疫学調査(発症率、診断方法、臨床的特徴)、2)ANCA 測定法の異同の検討を行う。また、これまで本研究班で明らかになった病因に深く関連する MPO-ANCA の反応する MPO epitope の解析結果に基づき、3)日英間で ANCA 関連血管炎の病因に重要な新しい ANCA 診断薬の開発を行う。また、4)その ANCA の反応する MPO epitope を担体に結合したカラムを作成し、このカラムを使用した血漿交換吸着カラムによる ANCA 関連血管炎の新しい治療法を開発することを検討することを目的とする。

B. 研究方法

臨床疫学調査に関しては、欧州血管炎研究グループ(EUVAS)の方法に従い、血管炎患者の発症率(incidence)を「prospective, population-based study」の方法で行う。宮崎、沖縄、仙台、盛岡、旭川などが EUVAS group と検討されてきた候補地であり、EUVAS の主要メンバーである英国分担研究者が実際に視察し、後ろ向きの疫学調査を行った上で、方法や問題点を相互に確認した後、前向き調査を開始する。疫学研究組織を作成し、登録票、臨床評価票、検体の収集システムなどの作成を行う(稲葉、山崎、小林、猪原、武曾、富野、鈴木)。患者検体(血清の ANCA 測定および病理検体)を研究材料にするため、主任研究者や各施設の倫理委員会に本研究の審査をはかる。

病因に重要な MPO-ANCA が反応する MPO のエピトープ解析は申請者らがすでに作製したリコンビナント MPO をもとに、多くの peptide fragment を作成し、ELISA にて測定する(鈴木)。ルーチンに測定できる組織を立ち上げ

て日・欧州間で研究結果の検証を行う。病因に重要な MPO のエピトープに反応する新しい ANCA の検査試薬(ELISA など)の開発を行う。また、この MPO epitope を担体に結合したカラムを作成し、このカラムを使用した血漿交換吸着カラムを開発する。検査試薬および治療法は、国際的にも新しい試みなため、国際的な特許取得の可能性を考慮する。

(倫理面への配慮)

遺伝子の解析を行う場合には、政府や科学技術会議で提唱されているヒトゲノム研究に関するガイドラインに添って行う。基本疫学調査・検体提供をうけたり、前向き研究を行うので、患者さんに目的と方法を説明し、文章による同意を得て行う。各施設の倫理委員会あるいは治験委員会の承認を得てから研究を開始する。疫学研究に関しては疫学研究に関する倫理指針(平成14年文部科学省・厚生労働省告示第2号)にしたがって、十分倫理面へは配慮し、研究への参加は個人の意思を尊重する。また、個人情報担当の個人識別情報分担管理者により暗号化され個人識別情報分担管理者により個人のプライバシーは保たれる。本プロジェクトにおいて、不正アクセスなどによる個人データの流出は絶対にあってはならないことである。そのため、本プロジェクトでは、①各種サーバソフトに対する定期的なパッチ適用、②ファイアウォールの導入、③侵入検知システム(IDS: Intrusion Detection System)の導入という三重のセキュリティ対策を施し、堅牢なシステム運営を行う。また、個人の特定が可能な最重要個人情報は、インターネットとは物理的に切り離れたデータベースで管理して行う予定である。

C. 研究結果

1. 年度別研究報告

平成 16 年度

第一回日英疫学調査会議:ケンブリッジ、エマニエルカレッジ

1) 日・欧州の疫学上の異同・問題点、2) 疫学調査データベース、臨床検査結果(血清学、遺伝子学、病理所見)について討論した。EUVAS の方法を国際的な標準的な方法として行うことを確認し、疫学調査を「population-based, prospective study」の方法で行うことになり、宮崎(布井、藤元)と沖縄(井関)が候補地になった。

平成 17 年度

第二回日英疫学調査会議:(日本一東京、宮崎、沖縄)

東京での会議終了後、英国側分担研究者 David Jayne, Richard Watts および David Scott とともに宮崎、沖縄の施設を視察して、まずこの2ヶ所で疫学調査を行うこと決定した。

宮崎の過去5年の予備調査(population-based study)では、1) ANCA 関連血管炎患者 56 症例が検出され、その発症率(incidence)は 14.8/100 万人であり(95%CI, 10.8-10.9)、欧州での発症率と差異がないこと、2) 患者はすべて顕微鏡的多発血管炎(MPA)であったこと、3) ANCA の種類は ANCA 陰性の5例を除いて、すべて MPO-ANCA であったこと、4) 都市から離れた地域にて夏から秋に発症率が高い傾向にあった(布井、藤元)。沖縄での過去の調査でも MPA が WG 患者よりも圧倒的に多く、かつ、MPO-ANCA 陽性の比率が圧倒的に高かった(井関) (Clinical Journal of American Society of Nephrology:revised)。沖縄での過去の調査でも MPA が WG 患者よりも圧倒的に多く、かつ、MPO-ANCA 陽性の比率が圧倒的に高かった(井関)。

第三回(ハイデルベルグ)

H17 年 6 月(15-18 日)ハイデルベルグで行われた第 12 回国際血管炎 ANCA ワークショップにて本研

究を発表した。ハイデルベルグにて、腎の組織所見を中心とした判定法の国際標準化の問題が提唱された。

第四回(東京、仙台、盛岡)

H18 年 2 月東京での第 2 回班会議にて病理学的な検討が行われた(能勢、Franco Ferrario:ミラノ)。また、欧米では北に WG が、南 MPA が多い傾向が確認されている。このため、H18 年 2 月に仙台・盛岡の施設での調査が行われ、WG の症例の存在が確認された。

第五回(ジュネーブ)

H18 年 10 月 10 日

日欧から参加し、今後の方針を確認した。

日本側:鈴木和男、小林成人、猪原登志子、藤元昭一

欧州側:David Jayne, David Scott, Richard Watts, Peter Menckel, ほかに数名

第六回(東京、旭川)

旭川に WG が多いとの感触の発表があり、欧州からの 5 名(David Jayne, David Scott, Richard Watts, Niels Rasmussen, Ulrich Specks)と共に、旭川大学、旭川赤十字病院、旭川市立病院、北彩都病院の 4 大病院を訪問し、病院ベースのデータとしては、他の国内施設とそれほど大きな差がないことがわかった。

以上の国内の施設訪問(那覇から旭川までの南北)により、頻度調査の地点が、

1. 那覇、2. 宮崎、3. 仙台、4. 旭川の総合データベース化をし、欧州との頻度の違いを解明し、治療方針を確定することや新治療法の確立に有用な調査を実施する。疫学調査時に、Genomics, Proteomics のデータも加えることとすることが確認された。

2. 研究課題別報告

1. 臨床疫学研究に関して

1) 宮崎県の ANCA 関連腎血管炎(ANCA-related primary renal vasculitis:PRV)に関する

population-based, retrospective study が報告 (Clin J Am Soc Nephrol 1:1016-1022, 2006) された。結果は、1) ANCA 関連腎血管炎患者 56 症例が検出され、その発症率 (incidence) は 14.8/100 万人であり (95%CI, 10.8-10.9)、欧州での発症率と差異がないことが本研究にて明らかになった。2) 患者はすべて顕微鏡的多発血管炎 (MPA) であった。3) ANCA の種類は ANCA 陰性の 5 例を除いて、すべて MPO-ANCA であった。4) 都市から離れた地域にて夏から秋に (特に 8 月～10 月) 発症率が優位に高い傾向にあることが本研究にて明らかになった (図1) (布井、藤元)。

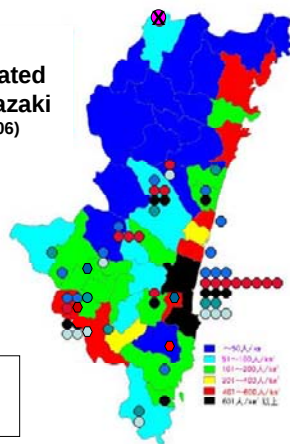
Figure 1.

Incidence of ANCA-related renal vasculitis in Miyazaki (Clin J Am Soc Nephrol, 2006)

- 9 patients / 2000
- 9 patients / 2001
- 9 patients / 2002
- 16 patients / 2003
- 13 patients / 2004

56 patients in 5 years

Annual incidence:
14.8 / million·adults
(95% CI, 10.8 – 18.9)



宮崎県の RLV の報告を同時期における英国 (Norfolk) の prospective study の結果を同じ診断基準を用いて比較・解析した。発症頻度はほぼ同等 (14.8 人 vs 13.9 人/100 万人) であった。宮崎では全例が MPA であったが、Norfolk では WG, MPA, CSS (それぞれ、6.3, 5.8, 1.4 人/100 万人) が含まれ、両地域の ANCA 関連腎血管炎の疾患の頻度の差異が認められた。ANCA の種類は MPO-ANCA がそれぞれ 91.1% vs 50.0%, PR-3 ANCA は 0% vs 36.7% で優位差が認められた (布井・藤元・Watts・Scott・Jayne)。英国の PRV では WG の症例が含まれることが理解され、臨床症状の差異が指摘され (表 1, 2,)。

**Table 1. Incidence of vasculitis:
Comparison between Japan and UK**

	Japan	UK
male : female	24 : 32	16 : 14
mean age (yr)	70.4	64.8
Incidence (/million)		
total	14.8 (10.8-18.9)	13.9 (9.48-19.8)
MPA	14.8 (10.8-18.9)	5.8 (3.1-10.0)
WG	0	6.3 (3.4-10.6)
CSS	0	1.4 (0.3-3.9)

Table 2. Clinical features and ANCA serology of vasculitis: Comparison between Japan and UK

	Japan	UK
ENT	1 (1.8%)	19 (63.3%) *
Respiratory	19 (33.9%)	18 (60.0%) *
Nervous	3 (5.4%)	10 (33.3%) *
GIT	2 (3.6%)	3 (10.0%)
pANCA/MPO	51 (91.1%)	15 (50.0%) *
cANCA/PR3	0 (0.0%)	11 (36.7%) *
Negative ANCA	5 (8.9%)	4 (13.3%)

* P < 0.001, χ^2 test

3) MPO-ANCA 関連腎血管炎にて悪性腫瘍の合併 (肺癌、消化管癌) が指摘され、担癌患者にインターフェロン α の産生低下が認められた (武曾)。悪性腫瘍の合併は、MPA の合併症のひとつとして臨床重要であると考えられた。

4) 英国側からに日本の WG には腎症の合併が少ないことを指摘され、順天堂大学膠原病内科の WG20 症例を検討した結果、腎症合併は 45% であった。これまでの厚生労働省の研究班の 2 回の報告では 39%, 64% で、北海道の耳鼻科 2 施設からの報告は 12%, 45% であり、欧米の報告 77% (ドイツ), 77% (米) と比べ少ない傾向があった (小林) (表 3)。旭川医大の耳鼻科 (原淵教授) などの施設を英国側研究協力者 3 名とともに、デンマークの耳鼻科医 1 名、米国呼吸器内科医 1 名が視察し、旭川の WG の約 30 症例の検討を行ない、旭川医大の症例では、腎症が少ないこ

と、PR3-ANCA の陽性率が少ないことが指摘された。

表 3、腎症合併に関するこれまでの報告

1. 厚生労働省難治性血管炎研究班 (39～63%)
1988 年 63% (146 症例)、発症時 3. 5%
1998 年 39% (26 症例)、発症時 14. 3%
2. 耳鼻咽喉科の報告 (12～40%)
2002 年北大 40% (15 症例)
2004 年旭川医大 12% (16 症例)
3. 外国 (全経過中) (77%)
1992 年 Hoffman 77% (158 症例)
(初発時 15%)
2000 年 Gross 77% (70 症例)
4. 順天堂膠原病内科の結果
2006 年 45% (20 症例)

5) 緯度の違いによる MPA, WG の発症率の差異
欧州では、北に WG が、南に MPA が多いことが報告されている (図 2、表 4)。

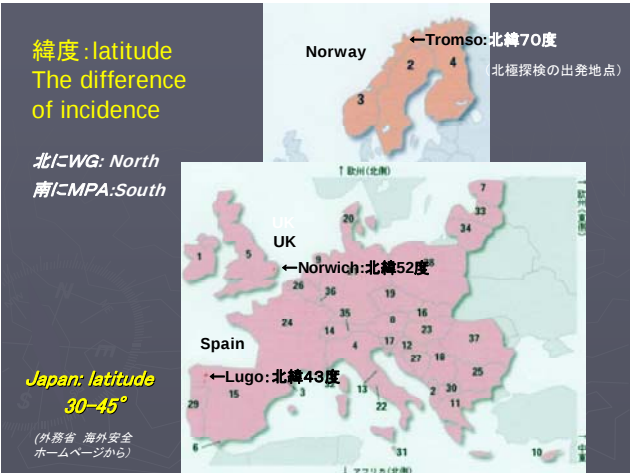


図 2. 緯度による ANCA 関連血管炎の頻度の差異

	Tromsø	Norwich	Lugo	Germany*	Japan
Latitude	70°N	52°N	43°N	44-52°N	30-45°
WG	10.5	10.6	4.9	7/5.5	2.0
CSS	0.5	3.1	0.9	1/1	0.8
MPA	2.7	8.4	11.6	3/1.5	15.0
Total	13.7	18.9	18.3	NA	18.6

Figure indicates /million

表 4. 緯度による ANCA 関連血炎の発症頻度の差異
(日本の数値は年間の受給者数)

この報告を検討することも目的として 3 年間で、沖縄、宮崎、仙台、盛岡、旭川の施設を視察した。これまでの視察では、視察した診療科 (腎臓内科、リウマチ・膠原病科、耳鼻科) の違いにも起因するが、沖縄・宮崎や本州には WG が少なく、旭川では WG が多い傾向にあったが、今後の population-based, prospective study の研究結果を待つ必要がある。厚生労働省の特定疾患受給者の調査 (1997 年度、2005 年度) では、WG の受給者数と人口比は、北海道に多く (それぞれ、46 人、64 人; 8.1 人/100 万人、11.4 人/100 万人)、沖縄県 (3 人、6 人; 2.3 人/100 万人、4.4 人/100 万人) には少なかったが、人口比では他の地域で高い県も存在した (稲葉・黒澤・小林) (表 5)。沖縄県でのこれまでの調査では、ANCA 関連腎炎 20/100 万、WG 1/100 万人と報告され (井関)、本邦においても、南に MPA、北に WG が多いことが推定された。また、欧米の報告のように受給者数は増加し (稲葉・黒澤・小林) (図 3)、ANCA 関連疾患は高齢者起こり、多くの合併所を有し QOL の低下、医療経済などから今後社会的な問題になることが予想される。

県	1997 年度		2005 年度	
	受給者数	人口 100 万対	受給者数	人口 100 万対
北海道	46	8.1	64	11.4
青森	5	3.4	9	6.3
岩手	7	4.9	10	7.2
宮城	10	4.3	20	8.5
秋田	5	4.2	15	13.1
山形	7	5.6	10	8.2
福島	15	7	30	14.3
宮崎	12	10.2	10	8.7
沖縄	3	2.3	6	4.4
全国	720	5.7	1135	8.9

表 5. 1997 年度と 2005 年度の北海道、東北、宮崎、沖縄、全国のウェゲナー肉芽腫症受給者数と人口比

武曾、鈴木) (図 4、表 6)。このため、測定試薬キットに起因する欧州と本邦での MPO-ANCA および PR-3 ANCA においても陽性率の差異はないことが明らかになった。

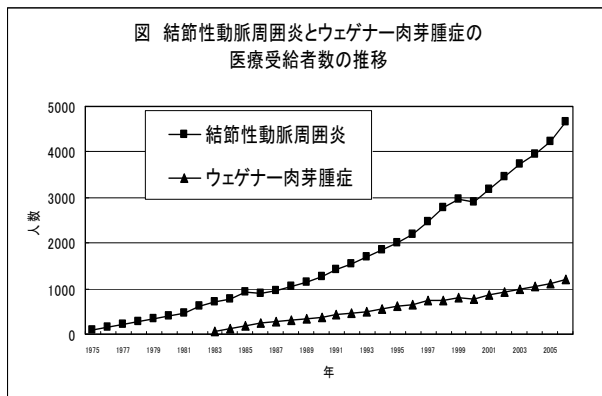


図3. 結節性動脈周囲炎、ウェゲナー肉芽腫症の受給者数の推移

6) 日・欧の腎生検病理組織所見の比較・検討を行なうにあたり、欧州血管炎研究グループ (EUVAS) の評価方法が紹介され、日本の ANCA 関連血管炎の腎組織所見が検討された。わが国の組織所見では EUVAS の症例に比べ、arcuate artery の血管炎の頻度が高いことが指摘された(能勢・城・Ferrario・Jayne)。

7) 本研究に関する計画書が順天堂大学の倫理委員会にて承認され(通知番号 1820、平成 18 年 12 月 5 日)、各研究協力施設の倫理委員会の承認を経て、retrospective/prospective, hospital-based /population-based study が行なわれている。

2. ANCA の測定方法および MPO-ANCA 反応エピートープ解析の研究について

1) 日・欧にて使用している ANCA の測定試薬の違いによって、日欧にて ANCA の陽性率が異なるか検討した。

今年度は、MPO-ANCA とともに、PR-3ANCA についても検討し、日欧にて使用されているそれぞれ 4 種類の試薬について、わが国の患者血清を使用し、感度・特異度および試薬間の相関性を検討した。いずれの試薬も感度・特異度に優れ、日欧で使用している試薬間の相関性が確認された(猪原、

vs Wieslab MPO

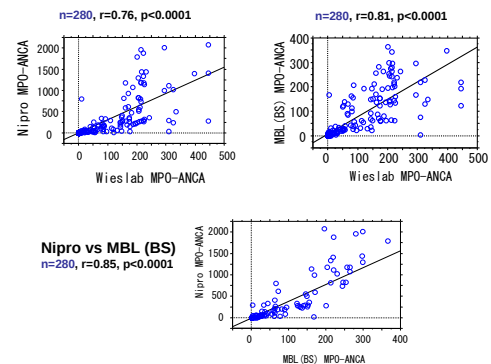


図4. 日本と欧州における MPO-ANCA 測定試薬間の相関性の検討

Summary

		Sensitivity	Specificity
MPO for MPA	Nipro	92.3% (48/52)	98.5% (137/139)
	MBL(BS)	90.2% (46/51)	98.6% (137/139)
	Wieslab	88.5% (46/52)	99.2% (138/139)
PR3 for WG	Nipro	100% (5/5)	96.3% (187/191)
	MBL(BS)	100% (5/5)	93.7% (178/190)
	Wieslab	80% (4/5)	97.9% (187/191)

表6. 日欧の ANCA 測定試薬の感度・特異度

2) MPO-ANCA が反応する MPO の epitope の病因と密接に関連する部位は MPO の N 末端または C 末端であり、このうち H 鎖 N 末端領域の H4p1-H4p10 の細フラグメントの 4P4 に反応することが明らかになった。今年度はこの検証のため、多施設から活動期・非活動期の検体を収集し、測定を行なっている(鈴木)(図 5、6)。結論は後日になる。欧州の血清を使用した検討が開始される予定である。

Figure 3

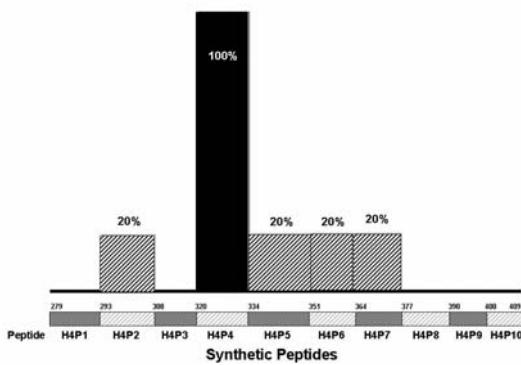


図5. MPO の H 鎖 N 末端領域の H4p1-H4p10 の細フラグメントの 4P4 に対する反応性

Figure 2

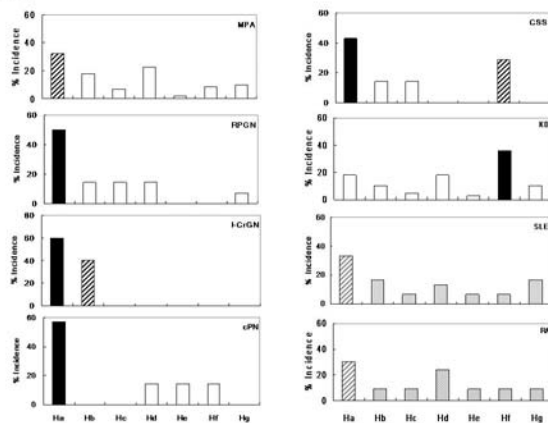


図6. MPO フラグメントに対する様々な疾患の血清の反応性の検討

表7. MPO-ANCA 応答 T 細胞クローンの解析

Antigen	Donor	CD4/CD8 phenotype	HLA classII restriction	Gene segment			Amino acid sequence			CDR3 length (amino acids)
				Vβ	Jβ	Cβ	Vβ	N-Dβ-N-Jβ	Jβ	
MPO-L	patient 1	CD4 ⁺	DR	2.1	1.5	1	CS	ARVPAGISNQPQHF	GDGTRLSIL	14
	patient 3	CD4 ⁺	DR	7.2	2.4	2	CASS	QDLAGGENIQYF	GAGTRLSVL	12
MPO-HII	healthy	CD4 ⁺	DR	22.1	1.6	1	CAS	RTGQSTSPLH	GNGTRLTV	11
	patient 2	CD4 ⁺	DQ	4	2.2	2	CS	VDTGASGELFF	GEGRSLTVL	11
	patient 4	CD4 ⁺	DR	1.1	1.5	1	CASS	ATGASNQPQH	GDGTRLSIL	11

3)臨床検査会社の作成した MPO-ANCA 検査試薬は、健常者の喀痰中の好中球からミエロペルオキシダーゼ (MPO) を精製し、抗原として使用したものである。この試薬での測定結果では MPO-ANCA 値がつねに陰性であるにもかかわらず、研究室において健常者末梢血好中球から精製した MPO(ここでは「nMPO」とする)を抗原として MPO-ANCA を測定した場合には、nMPO-ANCA 値が強陽性になる臨床で強い活動性を有する患者が存在することが判明した(鈴木:)。このため、現行の MPO-ANCA 測定法をカバーする検査試薬の必要性があることが本研究ではじめて明らかになった。新しい MPO-ANCA の反応 epitope と考えられ、臨床検査試薬、治療法の応用が検討された。

4) MPO-ANCA 応答 T 細胞クローンを得て、HLA 解析、T 細胞受容体解析を行った。全てのクローンは HLA-DR または DP 拘束性で、IFN γ を分泌する Th0/Th1 であった。TCR β CDR3 には特定の amino acid モチーフが検出されたことが本研究で明らかになった(表7)(橋本、小林、瀬田; 慶応大学 桑名正隆先生との共同研究である)。

3. 臨床診断薬・治療法への応用

1) MPO-ANCA の反応 epitope、nMPO-ANCA の臨床診断における有用性を現在、多施設にて検証している。この結果、有用性が判断されれば、国際的な特許の申請・承認を行い、臨床検査試薬会社による試薬の製造、臨床検査会社による測定の実施が世界に先駆けて、本研究班の研究成果から実現される。また、病因に関連した epitope や nMPO を血漿交換カラムに固着させ、血漿交換の吸着カラムとして治療に応用できる可能性がある。

D. 考察

臨床疫学研究に関して

1) 研究方法は EUVAS の方法に従い、地域の選定・調査方法(診断、検査法)など英国側分担研究者と検討を重ね、かつ、宮崎・沖縄・仙台・盛岡・旭川での多くの医療機関の視察、症例の検討を行ない、疫学研究の方法・問題点の提起やその確認が行われたことにより、英国側(rheumatologist 2 名; Watts, Scott, nephrologist 1 名; Jayne)、デンマークから耳鼻科医(Rasmussen N)、米国の呼吸器内科医(Specs U)、イタリアのnephropathologistらが、欧米と比較した日本のANCA 関連血管炎の疾患の頻度、ANCA の種類の相違、病状の相違、腎組織所見の相違を理解するに至った。特に宮崎県の報告(Clin J Am Soc Nephrol 11:1016-1022, 2006)を用いて、同時期・同じ診断基準による英国(Norfolk)のRLV の比較研究は、これまでの日・欧のANCA 関連血管炎の相違を確認するための本研究の大きな成果と考えられた。本研究成果は2007年4月のANCA 関連血管炎国際ワークショップ(メキシコ)に日英から共同研究として2演題報告される。また、現在、欧米研究者から3年間の成果の論文の作成が行なわれ、両研究チームによって確認作業を行なっている。

2) 18年度の視察地は旭川であり、旭川医大耳鼻科のWGの多くの症例を検討した。これまでの沖縄、宮崎、仙台、盛岡ではWGの症例は皆無であり、

日本においても北にWGが多い印象を持ったことと、日本のWGでは腎症の合併が少ない印象を得たことなどが大きな研究成果と考えられた。本研究を推進するために耳鼻科医の協力が必要であることが理解された。

3) 現在、倫理委員会の採択を得て、後ろ向きおよび前向き臨床疫学調査、検体の収集など進めている。本研究によって、研究方法や診断方法とその意義について、日欧の研究者および日本の研究協力者の理解の浸透が基本的に重要であり、3年間の協議・検討にて本研究方針の方向性が確認された。欧州の報告では「緯度」による疾患の発症頻度の相違が報告されているため、人種的に均一な日本で英国の研究者の仮説が前向き調査によって実証されることになる。その間、各研究者によって後ろ向き調査を行なうことにより、問題点が把握されてきたことが本研究の成果である。疫学調査と並行して、疾患の診断・分類基準・診断方法や腎生検組織の病理学的評価方法について国際的な検討が協議された。英国のメンバーにて発表されたANCA 関連血管炎のEMEAアルゴリズムの報告は新しい簡易な診断方法であり、日本の症例で検証し、日本の厚生労働省の血管炎の診断基準の整合性が検討されれば、これまでの日本の血管炎の臨床研究の意義が国際的に再確認されることが考えられる。各施設の後ろ向き調査を多施設での後ろ向き調査に発展させ、前向き調査に活かし、それぞれの研究を日・欧で比較検討することを企画している。

MPO-ANCA反応エピトープ解析、臨床診断薬への応用の研究

本邦のMPA患者ではMPO-ANCAの陽性率が90%以上であるのに対して、欧米の報告では50-70%と相違がある。本研究結果により、MPO-ANCA測定試薬キットの相違に基づく欧州と本邦でのMPO-ANCA陽性率の差異はないことがはじめて明らかになり、これまでのMPAの

MPO-ANCA 陽性率に関する本邦での多くの成績が国際的に実証されたことが重要な成果と考えられる(猪原:in preparation)。また、「nMPO-ANCA」に関しては、本研究の過程で見つかった国際的な新しい発見である。臨床の現場においては、これまでの MPO-ANCA 陰性の症例の早期診断・早期治療に有用であることと、同時に MPA の病因や発症機序を研究する上で重要と考えられる。

MPO-ANCA 反応エピトープ解析に関する研究は、国際的にこれまでにこのような報告がない。「MPO-ANCA 陽性または高値」が必ずしも診断や治療など臨床の現場に反映されないことも多い。このため病因に深く関与する MPO-ANCA epitope の発見は本研究の重要な成果である。「MPO-ANCA 反応エピトープを使用した吸着カラムによる血漿交換治療」に応用できる可能性があり、難治性血管炎に関する新しい治療方法として期待される。

MPO-ANCA 応答 T 細胞クローンを得て、HLA 解析、T 細胞受容体解析を行った。全てのクローンは HLA-DR または DP 拘束性で、IFN γ を分泌する Th0/Th1 であった。TCR β CDR3 には特定のアミノ酸モチーフが検出されたことが本研究で明らかになった(橋本、小林)。この研究成果は、これまで鈴木および橋本・小林が、それぞれ独自に報告した「MPA 患者が HLA- DRB1*0901 を優位に保有する」という研究結果を裏付けるものであり、世界に先駆けた研究結果と考えられる。

E. 結論

欧州・米国の研究者に、日本の ANCA 関連血管炎の疾患の頻度、ANCA の陽性率、病状、病理組織所見の差異が理解された。疫学調査の検討・確認が行われ、多施設の後向き・前向き調査が開始された。多施設。新規な nMPO-ANCA

の存在が本研究にて明らかになった。世界に先駆けて MPO-ANCA エピトープ解析が行われ、診断薬への応用および欧州の検体での確認作業が行なわれている。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1.Fujimoto S, Uezono S, Hisanaga S, Fukudome K, Kobayashi S, Suzuki K, Hashimoto H, Nakao H, Nunoi H. Incidence of ANCA-associated primary renal vasculitis in the Miyazaki Prefecture: the first population-based, retrospective, epidemiologic survey in Japan. Clin J Am Soc Nephrol 1: 1016-1022, 2006
- 2.Miyashita R, Tsuchiya N, Yabe T, Kobayashi S, Hashimoto H, Ozaki S, Tokunaga K. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor genotypes with microscopic polyangiitis Arthritis Rheum 54:992-997, 2006
- 3.Tamura N, Matsudaira R, Hirashima, Ikeda M, Tajima M, Nawata M, Kaneda K, Kobayashi S, Hashimoto H, Takasaki Y. Two cases of refractory Wegener's granulomatosis treated with Rituximab. Int Med. 46. 6156, 2007 (in press).

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録

特許取得

なし

1. 実用新案登録

なし

2. その他

なし