Wegener 肉芽腫症早期診断のための抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 測定的重要性 —— ANCA 陽性 9 症例の検討 ——

北海道大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：犬山征夫教授）

間 口 四 郎, 滝 沢 昌 彦, 劉 沢 周, 折 館 伸 彦
福 田 諭, 犬 山 征 夫

CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (ANCA)
FOR THE DIAGNOSIS OF WEGENER'S GRANULOMATOSIS IN THE EARLY STAGE

SHIROH MAGUCHI, M.D., MASAHICO TAKIZAWA, M.D., TAKUSHU RYU, M.D.
NOBUHIKO ORIDATE, M.D., SATOSHI FUKUDA, M.D. and YUKIO INUYAMA, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

In recent years, the prognosis of Wegener's granulomatosis (WG) has been dramatically improved by treatment with cyclophosphamide and glucocorticoids, if the diagnosis is made correctly in the early stage of the disease. However, it is often difficult to diagnose of WG relying only on clinical symptoms and histological confirmation with biopsy specimens.

Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) has already been reported to have high sensitivity and specificity for WG. Since February, 1991, we examined this antibody level in the sera of patients suspected of having WG using an indirect immunofluorescence technique, and have experienced nine WG patients who were ANCA positive. Six of the 9 patients showed limited forms of WG before active generalized symptoms developed, and only 3 were diagnosed as having WG with pathologic findings from their biopsy samples. These results show that correct diagnosis of WG is possible with the aid of ANCA determination, even if the patient has a limited form of the disease and even without evidence of characteristic pathologic features of WG on biopsy specimens. Therefore, it is apparent that ANCA determination is a valuable tool for diagnosing WG as early as possible.

In Japan, the ANCA test is not as yet a common laboratory examination and has only rarely been used as seromarker for the diagnosis and treatment of WG. We believe that ANCA determination is essential for the diagnosis of WG, especially in its early stage, which leads to a better prognosis for WG patients.

Key words: Wegener 肉芽腫症, ANCA, 間接蛍光抗体法, 早期診断

A 96—1288—30131

1. はじめに

Wegener 肉芽腫症（以下 WG と略す）は上気道、下気道の壊死性肉芽腫性病変、フィブリノイド型血管炎、

糸球体腎炎を trias とする疾患である。1985年, van der Woude ら¹⁾がこの疾患に自己抗体の一種である抗好中球細胞質抗体 (Anti-neutrophil cytoplasmic

antibody ; ANCA) が特異的に出現することを報告して以来、欧米においてこの抗体と WG に対して多くの調査研究がなされており²⁾、現在までの報告^{3)~6)} から、この抗体は WG に対して sensitivity, specificity とともに非常に高いとされている。

我々の施設においても1991年2月以来WGを疑う患者においてANCAを測定しているが非常に有用な結果を得ており、一部は既に報告している⁷⁾⁸⁾。しかしながらこの抗体の測定はいまだわが国においてはWGの診断に十分利用されているとは言い難い。そこで今回我々は、今後のANCA測定の普及の一助とするため自施設におけるANCA陽性の9症例の症状発現からANCA測定に至るまでの経過を検討し、本抗体測定のWG早期診断における有用性を明らかにしたいと考えた。また現在の間接蛍光抗体法によるANCA測定の手技およびその問題点についてもあわせて検討したので報告する。

2. ANCA 測定の対象および方法

(1) ANCA 測定の対象

1991年2月より1992年12月までの約2年間に当科外来を受診したWGおよびその疑いの患者、その他の自己免疫疾患の患者の血清を主体としてANCAの測定を行った。この中には内科などにおいてWGを疑われ、検査の依頼を受けた患者血清も含まれている。その結果65名の155の血清に対して測定を行った。

(2) ANCA の測定方法

ANCA は van der Woude¹⁾、深瀬⁹⁾らの方法に若干の変更を加え、間接蛍光抗体法によって測定した。具体的には以下の方法で行った。

(a) 好中球の分離

健康人の血液5mlをヘパリン採血し、これに3%のデキストラン T-70 を5ml 加え、40分間静置した後、沈殿した赤血球部分を取り除き、上清を1000rpm、10分間遠心した。遠心後の上清を除き、得られた沈殿を1mlの生食に溶解し、次いで混在する赤血球を取り除くため5mlの脱イオン水を加え攪拌、40秒後に5mlの1.8% NaCl 液を加えた。1000rpm、5分間遠心した後、pellet を2mlの生食に溶かし、Ficol Pacque 3ml の上に重層し、1500rpm、30分間遠心した。試験管の管底の沈殿物をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で洗浄、遠心を3回繰り返した後、無蛍光スライドグラスに薄くのばし、99.5%冷エタノールにて10分間固定、乾燥させたものをヒト好中球基質とした。

(b) 間接蛍光抗体法による ANCA の測定

患者の血清を段階的にPBSで希釈し、スライドグラス上の好中球スミアに25 μ l 滴下し、37°C、30分間湿潤箱中で反応させた後、PBSで3回洗浄し、次いで20倍に希釈したDAKO社製のFITC標識ウサギ抗ヒトIgG (code No. 202) を25 μ l 滴下し30分間、同様に反応させた。PBSにて3回洗浄し風乾、グリセリンに包埋し、蛍光顕微鏡で観察した。正常人血清をnegative control に、またWGの患者でANCAの存在が明らかとなっている患者の血清をpositive control とし

図1 間接蛍光抗体法による鏡検像 (×400)

図2 共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡 (MRC-500) による画像
($\times 500$; 5nm) 好中球の核が抜け細胞質のみが蛍光を発している。

て、この2つの control と対象比較し被験者血清の陽性陰性を判定した。また陽性と判定される被験者血清の最大希釈倍率をもって、ANCA の力価とした。

実際の好中球がどのように蛍光を発するかを図1 (蛍光顕微鏡所見) に示した。図2は共焦点レーザー蛍光走査顕微鏡 (BIO-RAD 社, MRC-500) で捉えた写真であるが、好中球の核が抜け細胞質のみが発色しているのが良く観察される。これが cytoplasmic pattern の ANCA である (c-ANCA)。

ANCA にはこの c-ANCA とは別に perinuclear ANCA (p-ANCA) と呼ばれる別の ANCA が存在する。今回様々な患者の血清において測定したところシェーグレン症候群、SLE などでは p-ANCA 陽性例を多く経験したが、本稿の目的からはずれるので詳述は避けた。なお以下の記述の中で単に“ANCA”と記載されていればこれらはすべて WG に特異的な c-ANCA であることを断っておく。

3. 結果および症例

ANCA を測定した65症例の中で WG 確診例は15例、疑診例は16例であった。確診例15例においては9症例が ANCA 陽性であった。残りの ANCA 陰性の6症例の中で、4症例はいずれも過去数年前に WG と診断され治療を受け、ANCA 測定時においては活動性の病変を認めない寛解例であった。一方、疑診例の16例

は臨床的症状などから WG を否定できなかった症例であり、その内訳は鞍鼻を伴った relapsing polychondritis 3例、空洞を伴った肺陰影により内科で WG を疑われた3例、原因不明の鼻中隔穿孔2例、結節性動脈周囲炎2例、polymorphic reticulosis 1例、その他5例であるが、いずれも ANCA は陰性であった。以上、ANCA 陽性症例は9症例であったが、これら症例に関してその診断までの経過は以下のとおりである。

〔症例1〕A.M. 男性、1928年生 (初診時62歳)

初診：1991年1月18日

主訴：鼻閉、両側難聴、嗄声

経過：1980年より高血圧症にて通院している。1980年12月左眼痛が出現、眼科にて marginal corneal ulcer の診断を受ける。数回の結膜切除、角膜表層移植などの治療にも改善なく1984年10月左眼球摘出術を受ける。1988年末に咳嗽出現、胸部 X-P にて多発性の結節陰影を認め内科にて肺癌の診断を受ける。1990年6月頃より鼻閉認め、鼻出血も出現した。11月上旬より労作時の呼吸困難、両側難聴、両耳鳴および頭痛を自覚する。12月25日頃よりは血痰、嗄声を認め、1991年1月18日精査のため当科へ紹介される。初診時著明な鞍鼻を認め、鼻腔内は膿性鼻汁および痂皮で充満し、鼻中隔穿孔を認めた。声帯および声門下にも痂皮を認めた。また右慢性中耳炎、左滲出性中耳炎を認めた。胸部 X-P では左中肺野に結節状陰影を認め CT で両

上顎洞内に軟部組織陰影を認めた。血沈亢進, CRP 強陽性で, 初診時の鼻中隔よりの生検で WG と診断された。血清中の ANCA は16倍陽性であった。

〔症例2〕T.H. 女性 1943年生 (初診時34歳)

初診: 1977年 8月26日

主訴: 鼻閉, 嘔声

経過: 26歳時に副鼻腔手術施行され, 術後, 耳管狭窄による滲出性中耳炎に罹患。副鼻腔の手術後も鼻閉が続いていたが, 1977年頃より鼻閉, 後鼻漏が増悪し, 嘔声も出現してきたため, 当科を受診。初診時, 両側鼻腔とも下甲介と鼻中隔の癒着を認め, 声門下には両側性の腫脹が認められた。1977年 9月より歩行時の呼吸困難出現したが保存的に治療を続けた。1978年 6月に声門下の腫脹部の生検を実施するもポリープの診断であった。その後も声門下の腫脹は徐々に増大し呼吸困難強くなり, 声門下はいわゆる annular stenosis の状態になった。1978年11月からはステロイド (デカドロン) の間歇的投与を開始し, 1980年 9月からはリンデロン 0.5mg の時々服用によって声門下の狭窄は軽快した。滲出性中耳炎に対しては鼓膜切開を適宜行っていた。1991年 3月15日受診時の血液検査にて ANCA は1倍陽性と判明し, はじめて WG と診断された。

〔症例3〕Y.Y. 女性 1927年生 (初診時56歳)

初診: 1983年 6月10日

主訴: 咳嗽, 血痰

経過: 1957-61年に鼻, 副鼻腔炎の手術を計 4-5 回施行されている。1970年より71年にかけて中耳炎を繰り返し鼓膜切開を受けている。1980年に気管支炎, 肺炎にて入院, 治療を受けている。1982年12月感冒罹患後より咳嗽持続し気管腫瘍疑われ, 1983年 6月10日当科初診, 入院した。この時, 右耳は鼓膜穿孔があり鼓室内には肉芽が認められた。また鼻中隔には大きな穿孔が認められたが, 過去の鼻の手術によるものと考えられた。6月13日, 気管切開し声門下腫瘍を切除, 病理学的には squamous metaplasia の診断であった。その後比較的経過良好であったが, 1990年10月, 12月, 91年 3月に他院で左篩骨洞嚢胞の手術を都合 3度受けたが左眼瞼内側の腫脹を繰り返し, 腫脹時目のかすみ, 複視が現れるとのことで1991年 4月12日当科を再度受診した。血清中の ANCA を測定したところ 8倍陽性であった。

〔症例4〕O.T. 男性 1937年生 55歳

初診: 1992年 2月19日

主訴: 鼻閉, 悪臭鼻漏

経過: 30年前より (20歳台) より鼻閉が出現, 40歳頃よりは高血圧の診断にて降圧剤を服用している。1983年より角膜周辺よりはじまった潰瘍で治療を受けている。その頃より悪臭を伴った膿性鼻汁も出現するようになり1992年 2月13日他院耳鼻咽喉科を受診, 鼻中隔穿孔もあったため WG を疑われ当科に紹介される。鼻内は肉芽と痂皮で充満しており, 声帯にも痂皮が付着していたが, 鞍鼻は著明ではなかった。鼻腔よりの生検で WG と診断されたが, 血清中の ANCA も 32倍陽性であった。

〔症例5〕O.N. 男性 1939年生 (初診時38歳)

初診: 1977年11月16日

主訴: 鼻閉, 鼻出血, 膿性鼻漏, 嗅覚障害

経過: 1967年頃より上記主訴あり, 1977年 2月他院で両慢性副鼻腔炎, 虹彩炎の診断を受けている。また皮膚科で keratosis の診断にてステロイドの内服投与を受けていた。1977年11月にステロイドの投与量を減量されてより発熱があり, また咳嗽, 血痰あり, 胸部浸潤影も指摘され, 内科にて WG を疑われ紹介され当科を受診。X-P にて副鼻腔に強い陰影あり, 鼻内は鼻中隔が浮腫状で易出血性であった。病理診断は炎症とのことでその後保存的に治療。1979年11月声門下喉頭炎の診断を受ける。この時間節痛や筋肉痛も出現した。1981年 1月, 2月に両側の鼻, 副鼻腔手術を施行, 症状の改善を見るが, 同年夏より再び鼻閉, 嘔声, 呼吸困難出現, 11月に鼻腔, 声門下の生検を行ったが, WG は否定的と診断された。この後鼻腔内は甲介と鼻中隔の癒着が高度となり1984年 1月, 鼻腔の air space を確保するため癒着剝離手術を施行, 鼻道を確保する。この時 Ga シンチにて副鼻腔と喉頭に異常な uptake を認め, また肺には結節状陰影が認められた。1985年 12月, 咳嗽, 呼吸困難強くなり気管切開施行された。しかし生検組織からは WG, relapsing polychondritis などを疑う所見なしとのことで, 引き続き原因不明としてステロイド (プレドニン 30-5mg) 投与, 気管孔には T-tube 挿入となった。1992年 3月, T-tube 交換のため当科受診, この時血清を採取し ANCA を測定したところ 8倍陽性であり, この時点ではじめて WG と診断を下した。

〔症例6〕K.T. 男性 1950年生 41歳

初診: 1992年 4月13日

主訴: 鼻根部腫脹, 発熱, 頭痛

経過: 1992年 3月初旬より感冒様症状, 発熱あり,

ついで頭痛、全身倦怠感が出現してきた。3月24日には右眼の腫脹感出現し他院耳鼻咽喉科を受診した。X-Pにて篩骨洞の陰影が認められ、眼科的には結膜炎の診断であった。入院にて抗生剤、ステロイドの投与を受け軽快したが、ステロイドの減量により再び症状が悪化、左中耳炎もおこし、篩骨洞の陰影も増強、ステロイドの増量ついで4月7日に両鼻内篩骨洞開放術を受けた。病理学的には確定診断つかず、WGを疑われ4月13日当科紹介された。鞍鼻なく、鼻中隔穿孔も認められなかった。血清中のANCAは64倍陽性であった。

〔症例7〕T.M. 女性 37歳

経過：1992年5月はじめより38℃台の発熱および左耳閉感出現した。5月8日近医耳鼻科にて左中耳炎の診断にて抗生剤の投与を受ける。5月20日頃より咳嗽、右胸痛出現し、胸部X-Pにて異常陰影指摘され、近医内科にて抗生剤の点滴を受けるも解熱せず、WGを疑われ5月25日他院耳鼻科を紹介される。両下鼻甲介にピランが認められたが副鼻腔炎はなく、鼻中隔穿孔、鞍鼻も認められなかった。喉頭も正常であった。内科にて6月26日肺生検実施されWGと診断された。治療

前の6月20日の患者血清のANCA測定を依頼された。結果は64倍陽性であった。

〔症例8〕T.H. 男性 1954年生 37歳

初診：1992年9月2日

主訴：鼻閉

経過：1988年頃より主訴出現、鼻内に痂皮が多く付着し鼻洗を行っていた。1989年頃より時折蛋白尿が出現していた。1992年3月頃より鞍鼻が著明になり、他院耳鼻科でWG疑われ当科に紹介された。初診時、鼻内には痂皮付着が著明で、右鼓膜が肥厚、伝音性難聴を呈していた。ANCAを測定したところ128倍陽性であった。

〔症例9〕S.I. 1936年生 男性 56歳

初診：1992年12月4日

主訴：右眼充血、視力低下

経過：25歳頃に肺結核を指摘されている。1988年に肺陰影を指摘されたが陳旧性の肺結核と診断された。その後1990年7月咳嗽、喀痰の出現および肺陰影の増強を認め、肺結核の再燃の診断にてプレドニン10mgと抗結核剤を投与された。この時全身の関節痛、筋肉痛の出現を見た。同年8月に両眼の充血、眼痛が出現

表1 ANCA陽性症例(測定までの経過、病変の有無、ANCAの測定値)

患者名	性	初発年齢	測定時年齢	経過年数	鞍鼻	上気道病変 鼻 喉頭	耳病変	眼病変	肺病変	腎病変	病理学的確定診断	ANCA力価	過去のステロイド治療	症状の推移
症例1 A.M.	M	52	62	10	+	+	+	+	+	+	+	16	—	眼→肺→全身性
症例2 T.H.	F	26	48	22	+	+	+	—	—	—	—	1	+	鼻→喉頭
症例3 Y.Y.	F	30	64	34	+	+	+	+	—	—	—	8	—	鼻→喉頭→眼
症例4 O.T.	M	25	55	30	—	+	—	—	+	—	—	32	—	鼻→眼
症例5 O.N.	M	28	52	24	—	+	+	+	+	—	—	8	+	鼻→喉頭
症例6 K.T.	M	41	41	1ヵ月	—	+	—	+	+	—	—	64	+	全身性
症例7 T.M.	F	37	37	1ヵ月	—	+	—	+	—	+	+	64	—	全身性
症例8 T.H.	M	33	37	4	+	+	—	+	—	—	+	128	—	鼻
症例9 S.I.	M	52	56	4	—	—	—	—	+	+	—	16	+	肺→眼

し、強膜炎の診断を受ける。眼病変は増悪を繰り返し、その都度ステロイドの点眼、内服にて軽快を得ている。1992年8月より右眼強膜に肉芽様変化現れ、WG疑われ当科に紹介された。初診時鼻腔、喉頭などの上気道は全く正常であったが、血清中のANCAを測定したところ16倍陽性であった。

表1に上記9症例の臨床経過をまとめて示した。男性6名、女性3名で、retrospectiveにみてWGによると思われる症状が発現した年齢は25歳から52歳であった。また症状発現からANCA測定、陽性と判定されるまでの期間は1カ月から34年であった。

ANCA測定時点までの各臓器別の症状の有無では上気道病変のうち鼻、副鼻腔の症状のみられたのは9例中8例と最も多く認められた。声門下を含めた喉頭病変は9例中4例に認めた。鞍鼻は9例中4例に、耳の病変は6例に認めた。角膜炎、結膜炎、強膜炎などの眼病変は9例中6例と予想外に多く認められた。このうち症例1, 9は眼病変が主体であり、また症例1, 4では角膜の周辺より潰瘍がはじまるという共通の特徴が認められた。X-Pで確認された肺病変は9例中3例に認めた。ただし症例3はANCA測定による確定診断ののち肺病変を含めた活動性全身型の病態に移行し不幸の転帰をとったが、ANCA測定時点では肺病変がなくこの3例には含めていない。腎病変に関しては腎生検が行われたのは症例1のみであり、蛋白尿、血尿の有無、腎機能障害の有無で見たところ、症例1(血尿、BUN軽度上昇)、症例7(血尿、蛋白尿)、症例8(蛋白尿)の9例中3例と少なく、症例1にのみ軽度BUN上昇があったのみで他の症例にBUN、クレアチニンの上昇は認められなかった。生検標本によって病理学的にWGと確定診断が下されたのは症例1, 4, 8の3症例のみであり、他の6例は時には度重なる生検にもかかわらず診断が不可能であった。

ANCAの値を測定時における患者の状態によって分類すると、active generalized form すなわち発熱、頭痛、CRP高値などを伴った全身性のWGを呈したのは症例1, 6, 7の3例であったが、これらのANCAの値はそれぞれ16倍、64倍、64倍と比較的高い値をとっていた。一方他の6例は病変が限局されていた症例だが、ステロイドを既に投与されている症例2, 5, 9は1倍、8倍、16倍と低く、ステロイド投与を受けていない症例3, 4, 7は8倍、32倍、128倍と高い傾向が見られた。

ステロイド、cyclophosphamideなどの治療によ

ANCA

図3 治療によるANCAの推移

てANCAの値は低下、陰性化することが明らかになっている。図3に症例6, 症例7の治療によるANCAの推移を示した。両者とも抗体価は徐々に低下し、最終的に陰性化しているのがわかる。

個々の患者における各臓器別の症状発現の推移をみると、症例2, 3, 5の3例は非常に良く似ており、難治の鼻炎、副鼻腔炎がまず現れ、数年から数十年を経て喉頭、気管の病変が出現していた。これら3例の症状発現からの経過年数は22年、34年、24年と長期であった。症例4と症例8の2症例は鼻腔病変が主体であり、上に述べた3症例の早期の臨床像と考えられた。経過年数は30年、4年であったが、自然経過にまかせればいずれ上記3例と同様に他の喉頭病変などを生ずるものと考えられた。以上5症例が鼻腔からWGが発症し、徐々に進行して行くタイプと考えられた。一方症例6と症例7の2症例はいきなり全身性の症状の発現したタイプである。残りの症例1と症例9の2症例は限局型の中でも眼病変が顕著な症状として発現した点で特異である。症例1は眼摘を受けた後、6年を経過してから全身性に移行しているが、症例9も自然経過にまかせれば、同様な推移をとるものと考えられた。

厚生省研究班の1987年の改定診断基準に照らすとANCA測定時点において3症例(症例1, 4, 7)が「確実例」であり、5症例(症例2, 3, 5, 8, 9)が「疑い例」となった。

4. 考 察

(1) WG早期診断の必要性

従来WGは予後の極めて悪い疾患とされてきた。古くはWaltonら¹⁰⁾がWG患者の生存例はわずかに認

められるだけで腎不全、肺不全により平均5カ月で死亡すると報告し、日本の統計でも1959年から1981年までの23年間に全国で診断調査された厚生省研究班のアンケート調査¹¹⁾では全症例141例のうち半数が診断後1年以内に呼吸不全、腎不全などで死亡している結果を報告している。しかしながら1983年 Fauci ら¹²⁾がWGを早期に診断し、ステロイドとcyclophosphamideを投与すれば大多数の患者を長期にわたって生存させることを明らかにした。この結果、WGを早期に診断することの重要性が高まってきた。厚生省特定疾患悪性関節リウマチ・結節性動脈周囲炎調査研究班が提唱した1973年の診断基準をあらため、1987年の改定診断基準が長沢らによって提唱されたのも、WGの早期診断を狙ってのものである¹³⁾。要するにWGを腎障害の出現をまった古典的な trias の完成をもって診断するのではなく、腎不全などの不可逆性病変をつくる前に的確に診断することが患者の予後の上で重要である。

(2) ANCA の早期診断における有用性

ANCA がWGにおいて specificity, sensitivity とともに高いことは既に多数の施設から報告されている^{13)~6)}。van der Woude ら¹¹⁾は active なWGにおいて25/27 (93%) でANCAが陽性であったことを報告しているし、Gross ら³⁾は730検体の成績からANCAはWG患者だけに特異的に陽性であったこと、またWGのうち18/34 (53%) でANCAが陽性であり、このうち体重減少、発熱等の症状のあった active stage の症例は全例ANCAが陽性であったことを報告している。日本では吉田ら¹⁴⁾¹⁵⁾の報告があるのみだが、WG23例中16例 (65%) がANCAが陽性であり、特に活動期末治療の患者においては17例中16例 (94%) がANCA陽性であったとしている。

今回我々はANCA陽性の9症例を呈示した。これら9症例はWGの診断基準に照らしてみると必ずしもそれを満たしていないが、その経過をみればどの症例もWGとして矛盾しないことが明らかである。逆にこれら9症例の中で診断基準の確実例が3症例のみで残り6症例がANCAの測定結果がなければ確定診断ができなかったことはまさに本抗体の測定がWGの早期診断に大きな威力を発揮するという証拠と考えられた。

今回の9症例の経過をみるといきなり全身性の症状を呈した症例6、7を除いてみなその経過は年余にわたっている。特に症例2、3、4、5の4例などは難

治性の鼻炎、副鼻腔炎の症状が始まってからじつに20年以上の経過で病状が推移している。この間、時には強くWGが疑われながらも結局WGの確定診断は下されていなかった。診断が保留され積極的な治療がなされなかった理由は病理学的確定診断が得られなかったためである。ANCA出現以前はWGの確定診断の方法は臨床所見以外には病理学的診断しかなかったのである。

1966年 Carington らによって全身の血管炎や腎病変をみない上気道、肺に限局するWGの報告¹⁶⁾がなされているが、現在これらの局所症状のみを呈する症例に関しては予後のよい別のタイプとするよりは単なる全身症状を呈する前のWGの初期臨床像と考えられている。Gross ら¹⁹⁾はWGの1/3以上がこのような限局型のWGを経て全身型に移行すると述べている。我々の9症例の多くがこの限局型の段階に位置しており、このような初期の段階でもANCA陽性の結果が得られることが明らかになった。ANCA測定の早期診断における意義は非常に高いと考えられた。ANCAの有用性は明らかであり、我々は現在ごく単純に、WGを疑う病変がありかつANCAが陽性であれば病理診断がどうであれその時点でWGと診断を下してよいと考えている。

ただし今回症例としては呈示しなかったが、臨床症状、および病理学的所見からWGと診断され、かつ活動的な病変が存在しながらANCAが陰性の症例を2例経験している。このようなANCAが陰性のWGに対してはどのように捉えるべきか結論は出ていない。それが過去の治療による結果なのか、あるいはANCA陽性のWGとは本来区別されなければならないものか等を含め今後検討が必要と思われる。しかしたとえANCAがfalse negativeの症例があったとしても本抗体測定の価値を決して低めるものではないことは言うまでもない。

(3) ANCA が認識する抗原について

抗好中球細胞質抗体をさすANCAは最初ACPA (anticytoplasmic autoantibody) ともよばれていたが、現段階ではほぼANCAに統一されている。ANCAは間接蛍光抗体法でも明らかのように好中球の細胞質に対する自己抗体である。Goldschmeding¹⁸⁾およびNiles ら¹⁹⁾はこの自己抗体が認識する物質は好中球アズール顆粒内のセリンプロテアーゼでその分子量は29Kdaltonであると報告している。またLüdemann ら²⁰⁾²¹⁾はこの物質はproteinase 3というセリンプロ

テアーゼであり、HE60 cell の myeloblastin と同じものであると報告している。ANCA の出現は単に WG の病態の結果ではなく病因に寄与しているものと推察されている。そのメカニズムに関しては現在精力的に研究されているところであるがまだ確定的なものではなくここでは詳述を避けたい。

(4) ANCA の測定の問題点について

今回 ANCA を van der Woude¹⁾、深瀬ら⁹⁾の方法にならない間接蛍光抗体法で測定したが、その方法は比較的簡単である。過去の報告では非特異的な蛍光を考慮して ANCA16倍以上をもって陽性とする文献が多いが、我々は1倍でも陽性と考えた。我々は ANCA を測定する場合、必ず正常人血清を negative control に、そして症例1の患者の血清を positive control として対照とすることになっている。その結果、陽性陰性の判断は1倍でも可能と思われた。ところで症例2に関しては我々は1倍陽性と診断したが、まだ ANCA 測定をはじめたばかりの頃で判定に不安があったため、この血清を SRL を通じて米国で測定してもらったところその結果は20倍陽性という結果であった。陽性陰性ぎりぎりの境界値に近いことは同じであり、結局はどのくらいの蛍光の発光を(+)とするかの認識の違いによるものであり、ANCA の陽性陰性の本質的な判定には影響を及ぼさないものと考えた。

使用する二次抗体に関しては我々は DAKO 社製のものを使用する前に別の会社の抗体を用いたが正常人血清でも陽性にでてしまい全く使い物にならなかった。この2社の抗体以外は使用していないので一概に評価はできないが深瀬ら⁹⁾の使用した DAKO 社製が確かに信頼に足る抗体であったことを付記しておくたい。

間接蛍光抗体法は簡便で容易であるが、得られた抗体価が血清の希釈倍率で表わされるため、厳密には抗体価は半定量値であり微妙な抗体価の変動を捉える手段としては問題がある。海外の報告ではこの欠点を補うため、ELISA、RI 等を用いた定量法が実用化されつつある。しかしながら ELISA にしても RI にしてもその信頼性は用いる好中球の proteinase 3 の精製度に大きく左右されるようである。単なる好中球のホモジナイズ、あるいは TPA による脱顆粒の上清を抗原として用いると false positive の割合が多く⁴⁾²²⁾、好中球の α 顆粒、あるいは精製 proteinase 3 を用いた ELISA は WG に特異性が高く²³⁾²⁴⁾、現在施設でも後者による ELISA 測定法を開始している。

しかしながらこのような ELISA、RI による方法の開発が間接蛍光抗体法に完全にとって代わるものではない。というのは顕微鏡下で好中球の細胞質が明らかに染まる所見は、用いる抗原により ELISA では紛らわしくなる可能性のでてくる p-ANCA との判別にはやはり有用であるためである。将来的には最初の陽性陰性の診断には間接蛍光抗体法を、そして抗体価の測定、特に抗体価の変動値を正確に捉えるためには ELISA が用いられるのではないかと予想される。

日本において吉田ら²⁵⁾によってはじめて ANCA が報告されてからすでに5年が経過していながら ANCA と WG の報告は予想以上に少ない。今回の報告が ANCA 測定の普及にいくらかの貢献ができれば幸いである。

最後に実際の臨床検査で ANCA の測定を依頼すると、現在多くの場合米国まで血清を送って診断を仰いでいる状態であり、報告の得られるまでに約1カ月の期間と自費扱いの検査料を必要とする。このことは一般臨床の場において ANCA 測定を消極的にしているひとつの理由と考えられる。日本において ANCA 測定システムを確立すること、および保険請求可能なものにすることが現実問題として早急に解決の必要があると考えられる。

5. ま と め

(1) 当科における間接蛍光抗体法による ANCA の測定方法をのべるとともに、ANCA 陽性9症例の診断にいたるまでの経過を報告した。

(2) WG 患者の予後改善には早期診断が必要であること、およびそのために ANCA の測定が非常に有用であることを強調した。

(3) 間接蛍光抗体法による ANCA の測定の問題点を明らかにし、今後 ELISA による測定が必要であることを述べると共に、早急な日本における ANCA 測定システムの確立が肝要であると考えた。

文 献

- 1) van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S et al: Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1: 425-429, 1985.
- 2) van der Woude FJ, Daha MR and van Es LA: The current status of neutrophil cytoplasm antibodies.

- Clin exp Immunol 78: 143-148, 1989.
- 3) Gross WL, Lüdemann G, Kiefer G et al: Anticytoplasmic antibodies in Wegener's granulomatosis. Lancet 1: 806, 1986.
 - 4) Savage COS, Winearls CG, Jones S et al: Prospective study of radioimmunoassay for antibodies against neutrophil cytoplasm in diagnosis of systemic vasculitis. Lancet 1: 1389-1393, 1987.
 - 5) Specks U, Cristine L, Weatley BA et al: Anticytoplasmic autoantibodies in the diagnosis and follow-up of Wegener's granulomatosis. Mayo Clin Proc 64: 28-36, 1989.
 - 6) Rasmussen N: Wegener's granulomatosis and anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA). 日気食会報 42: 82-87, 1991.
 - 7) 犬山征夫, 間口四郎, 滝沢昌彦: Wegener 肉芽腫症の診断. 現代医療 24: 1509-1513, 1992.
 - 8) 滝沢昌彦, 間口四郎, 折館伸彦, 福田 諭, 犬山征夫他: 抗ヒト好中球細胞質抗体の推移を追えた Wegener 肉芽腫症の 1 例. 耳鼻と臨床 39: 422-428, 1993.
 - 9) 深瀬 滋, 小池吉郎: ウェゲナー肉芽腫症患者血清中の抗好中球細胞質抗体 — 診断および活動性の評価における重要性 — 耳鼻咽喉科免疫アレルギー 9: 74-79, 1991.
 - 10) Walton EW: Giant-cell granuloma of the respiratory tract (Wegener's granulomatosis). Br Med J 2: 265-270, 1958.
 - 11) 安部 達: Wegener 肉芽腫症 — 臨床から — 田辺達三, 吉木敬編: 難治性血管炎の基礎と臨床 '91. 山藤印刷, 札幌, 1992, 87-92頁.
 - 12) Fauci AS, Haynes BF, Kats P et al: Wegener's granulomatosis; Prospective clinical and therapeutic experience with 85 patients for 21 years. Ann Int Med 98: 76-85, 1983.
 - 13) 吉澤久嘉: ウェゲナー肉芽腫症の診断. リウマチ科 2: 609-614, 1989.
 - 14) 吉田雅治: 抗好中球細胞質抗体 (ANCA) と Wegener 肉芽腫症. 臨床免疫 22: 1838-1846, 1990.
 - 15) Yoshida M, Nagasawa T: Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in collagen diseases associated with vasculitic syndrome in Japan. Jap J Nephrol 34: 371-378, 1992.
 - 16) Carrington CB, Liebow AA: Limited forms of angitis and granulomatosis of Wegener's type. Am J Med 41: 497-527, 1966.
 - 17) Gross WL: Wegener's granulomatosis. New aspects of the disease course, immunodiagnostic procedure, and stage-adapted treatment: Sarcoidosis 6: 15-29, 1989.
 - 18) Goldschmeding R, van der Schoot CE, ten Bokkel Huinink D et al: Wegener's granulomatosis autoantibodies identify a novel diisopropylfluorophosphate-binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. J Clin Invest 84: 1577-1587, 1989.
 - 19) Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF et al: Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine protease. Blood 74: 1888-1893, 1989.
 - 20) Lüdemann J, Utecht B, Gross WL: Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastinolytic enzyme. J Exp Med 171: 357-362, 1990.
 - 21) Lüdemann J, Utecht B, Gross WL: Wegener's autoantigen decoded. Nature 346: 520, 1990.
 - 22) Falk RJ, Jennette JC: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. N Engl J Med 318: 1651-1657, 1988.
 - 23) Rasmussen N, Sjölin C, Isaksson B et al: An ELISA for the detection of anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA). J Immunol Meth 127: 139-145, 1990.
 - 24) Lüdemann J, Utecht B, Gross WL: Detection and quantification of antineutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis by ELISA using affinity-purified antigen. J Immunol Meth 114: 167-174, 1988.
 - 25) 吉田雅治, 長沢俊彦: 血管炎症候群とくに Wegener 肉芽腫症の好中球細胞質に対する自己抗体. 医学のあゆみ 145: 649-650, 1988.
-
- 本研究は、文部省科学研究費（奨励研究 A，課題番号 04771248）の補助を受けた。
-
- (1993年 1月18日受稿 1993年 4月 1日受理)
 別刷請求先 〒060 札幌市北区北15条西 7 丁目
 北海道大学医学部耳鼻咽喉科学教室 間口四郎

<div data-bbox="122 1553 149 1750">A 96—1303—24522</div> <div data-bbox="122 1018 149 1085">日耳鼻</div> <div data-bbox="178 1155 205 1613">平衡維持への頸部入力との関与とその年齢変化</div> <div data-bbox="221 1294 248 1487">野中玲子（日医大）</div> <div data-bbox="264 1018 641 1750"><p>頸部入力/body平衡維持に対する関与とその年齢変化について検討した。6歳から73歳までの健康者計83人を5つの年齢群に分け、頸部振動刺激時により身体動揺に生じる変化を各年齢群間で比較した。変化の大きさは15-44歳が最も小さく、これらの年齢に比べて、14歳以下では重心の前方への偏位量において、60歳以上では単位軌跡長、動揺前後径、重心の前方への偏位において刺激による増大が有意に大きかった。また、加齢とともに前後方向の身体の揺れに関係したパラメータでの変化が顕著者になった。平衡維持への頸部入力との関与は、他の入力との相互関係の年齢変化に関連して、量的にも質的にも変化するものと考えられた。</p></div>	<div data-bbox="122 776 149 969">A 96—1288—30131</div> <div data-bbox="122 237 149 305">日耳鼻</div> <div data-bbox="178 372 236 836">Wegener 肉芽腫症早期診断のための 抗好中球細胞質抗体（ANCA）測定的重要性 —— ANCA 陽性9症例の検討 ——</div> <div data-bbox="264 386 331 823">間口四郎・滝沢昌彦・劉 沢周・折館伸彦 福田 諭・犬山征夫（北大）</div> <div data-bbox="334 237 641 969"><p>WGの予後はcyclophosphamideとステロイドの治療により改善されつつあるが、その早期診断はしばしば困難である。ANCAはすでにWGに対して高い感度と特異性があることが報告されている。我々はこの抗体価を間接蛍光抗体法によって測定し、すでにANCA陽性の9名の患者を経験している。この9名のうち6名は全身性の症状を引き起こす前の限局型のWG患者であり、また3名しか生検標本よりWGの病理学的確定診断が得られなかった。ANCAの測定により、臨床所見と生検標本のみでは確定診断が難しい患者のWGの診断も容易になると考えられた。WGを疑う患者に遭遇した場合、ANCA測定は必須の検査と考えられた。</p></div>
<div data-bbox="680 1553 706 1750">A 96—1311—60010</div> <div data-bbox="680 1018 706 1085">日耳鼻</div> <div data-bbox="736 1244 763 1516">ネコ喉頭腺の自律神経支配</div> <div data-bbox="772 1224 799 1535">—— 免疫電顕による研究 ——</div> <div data-bbox="809 1269 835 1713">田中康政・吉田義一・平野 実（久留米大）</div> <div data-bbox="846 1064 873 1713">久野節二（徳島大・第二解剖）大黒成夫（大塚製薬徳島研究所）</div> <div data-bbox="878 1018 1017 1750"><p>ネコ喉頭腺に分布する vasoactive intestinal polypeptide (VIP), neuropeptide Y (NPY), tyrosine hydroxylase (TH) 陽性線維について電顕免疫組織化学法を用いて検討した。その結果、VIP 陽性線維とNPY, TH 陽性線維では喉頭腺への分布様式が異なることが分かった。</p></div> <div data-bbox="1022 1018 1192 1750"><p>VIP 陽性線維は、筋上皮細胞、腺細胞基底膜に接して終止し、基底膜を貫く線維も認められた。NPY, TH 陽性線維は、筋上皮細胞、腺細胞基底膜に近接して終止し、基底膜は貫かなかった。分泌調節に交感神経も直接的に関与していることが示唆されたが、VIP 陽性線維が最も多いことから、副交感神経が中心を成すものと考えられた。</p></div>	<div data-bbox="680 776 706 969">A 96—1297—71610</div> <div data-bbox="680 237 706 305">日耳鼻</div> <div data-bbox="736 378 763 832">糖尿病ラットにおける気管腺漿液細胞の変化</div> <div data-bbox="772 515 799 709">津田哲也（広島大）</div> <div data-bbox="809 237 878 969"><p>ストレプトゾチン投与により人工的に惹起された糖尿病ラットの気管粘膜を形態学的に観察し、興味深い所見を得たので報告する。</p></div> <div data-bbox="889 237 1192 969"><p>気管腺漿液細胞を透過型電子顕微鏡にて観察したところ、糖尿病ラットの漿液細胞において、低電子密度の基質内に高電子密度の不規則な形状の凝集物を含む顆粒が認められた。低電子密度の基質は粘液細胞の分泌顆粒に類似しており、顆粒内の糖の増加を示唆するものと考えられる。このような気管腺漿液細胞の粘液化を示す変化は、粘液線毛クリアランスの変化や、感染防御物質の産生にも影響を与えると考えられ、糖尿病における呼吸器疾患の発症および増悪の原因の一つになることが推測された。</p></div>