

性が示唆された。AAVに対する免疫抑制療法中 ST 合剤は ASP の標的治療として有効であり、その際 BG は  $\gamma$  グロブリン療法及び透析治療等の透析膜使用で偽陽性を呈する事があるが、抗 ASBG 抗体はそれらの影響を受けず、AAV の ASP 感染の予知、予測の指標として臨床上有用と考えられた。80 歳男性 MPO-ANCA 関連血管炎例の臨床経過を解析すると、腎不全は血管炎によるものと考えられるが、ST 合剤の単独治療のみで MPO-ANCA が低下し、透析離脱を認めた時期がある。通常、MPO-ANCA 関連血管炎の場合、ステロイド、免疫抑制剤などで治療をしなければ臨床症状の改善は極めて稀である。本例は、深在性の ASP 感染がありそれが MPO-ANCA を誘導し、血管炎を引き起こしていた可能性が考えられた。今回 side effect の出現のため ST 合剤の中止を余儀なくされ、中止後に中枢神経症状の悪化と感染兆候が出現し、投与されていた ST 合剤が潜在的な ASP 感染の活動を抑制していた可能性がある。深在性真菌感染症と MPO-ANCA 関連血管炎の発症進展における関連についても極めて興味深い症例であると考えられた。(Fig 4)

#### E. 結論

ST 合剤は MPO-ANCA 関連血管炎に対する免疫抑制療法施行下のアスペルギルス感染症及び血管炎自体の標的治療の一つとして有効であり、その際、抗 ASBG 抗体は、AAV の ASP 感染の予知、予測の指標として臨床上有用と考えられた。

#### G. 研究発表

1. The solubilization and biological activities of *Aspergillus*  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan. Ken-ichi Ishibashi, Noriko N. Miura, Yoshiyuki Adachi, Hiroshi Tamura, Shigenori Tanaka, Naohito Ohno,

FEMS Immunol. Med. Microb., 42, 155-166 (2004).

2. Role of anti- $\beta$ -glucan antibody in host defense against fungi.

Ken-ichi Ishibashi, Masaharu Yoshida, Iwao Nakabayashi, Hiroyasu Shinohara, Noriko N. Miura, Yoshiyuki Adachi, Naohito Ohno, FEMS Immunol. Med. Microb., in press

#### 1. 学会発表

1 江原美里, 飛田俊介, 石橋健一, 三浦典子, 安達禎之, 中林巖, 吉田雅治, 大野尚仁: *Aspergillus* 菌体の糖ならびにタンパク成分に対する抗体の検討。真菌症フォーラム第 6 回学術大会 2005 年 1 月 29 日

2. 中林巖, 吉田雅治, 江原美里, 飛田俊介, 石橋健一, 大野尚仁: 剖検にて肺、脳の深在性 *Aspergillus* 感染症を認めた MPO-ANCA 関連血管炎の 1 例。真菌症フォーラム第 6 回学術大会 2005 年 1 月 29 日

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

Fig.1

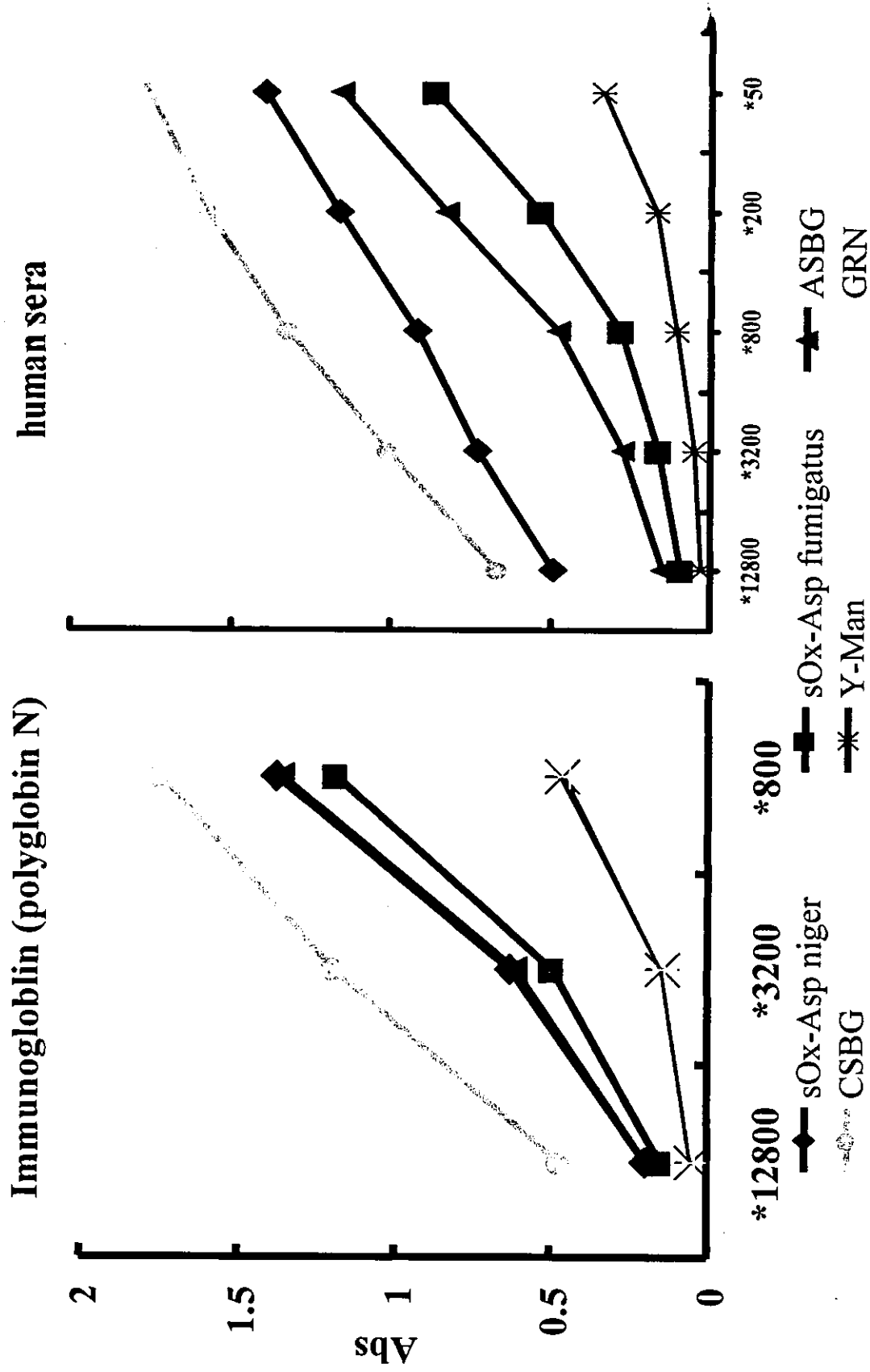


Fig. 1. Reactivity of human sera or immunogloblin (polyglobin N) to *Aspergillus* cell wall glucans on ELISA plate

# Fig.2 Folate synthesis and action mechanism of SMX and TMP

## SMX and TMP

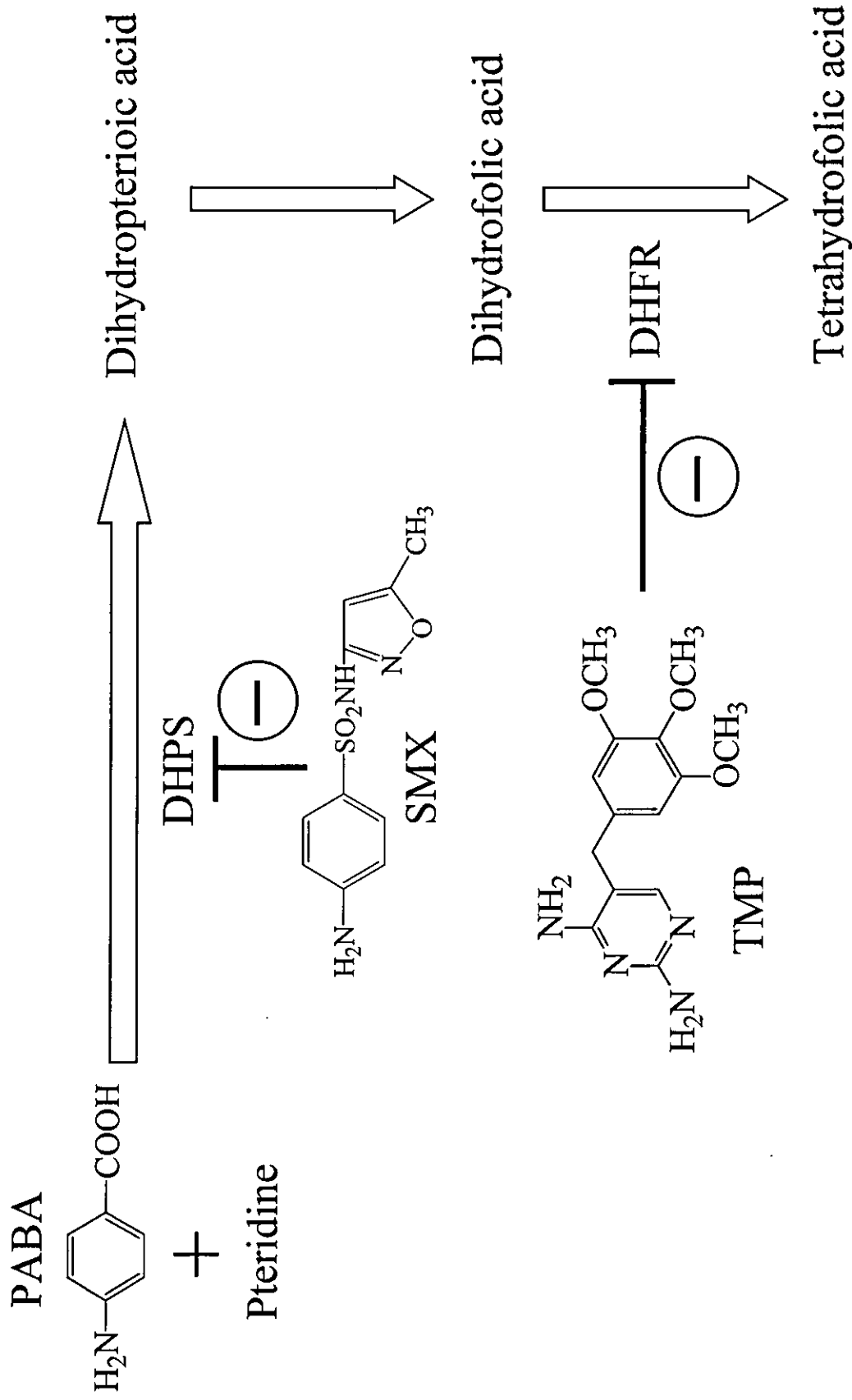


Fig.3

### Anti-Aspergillus activity of SMX-TMP in C-limiting medium agar, a synthetic medium

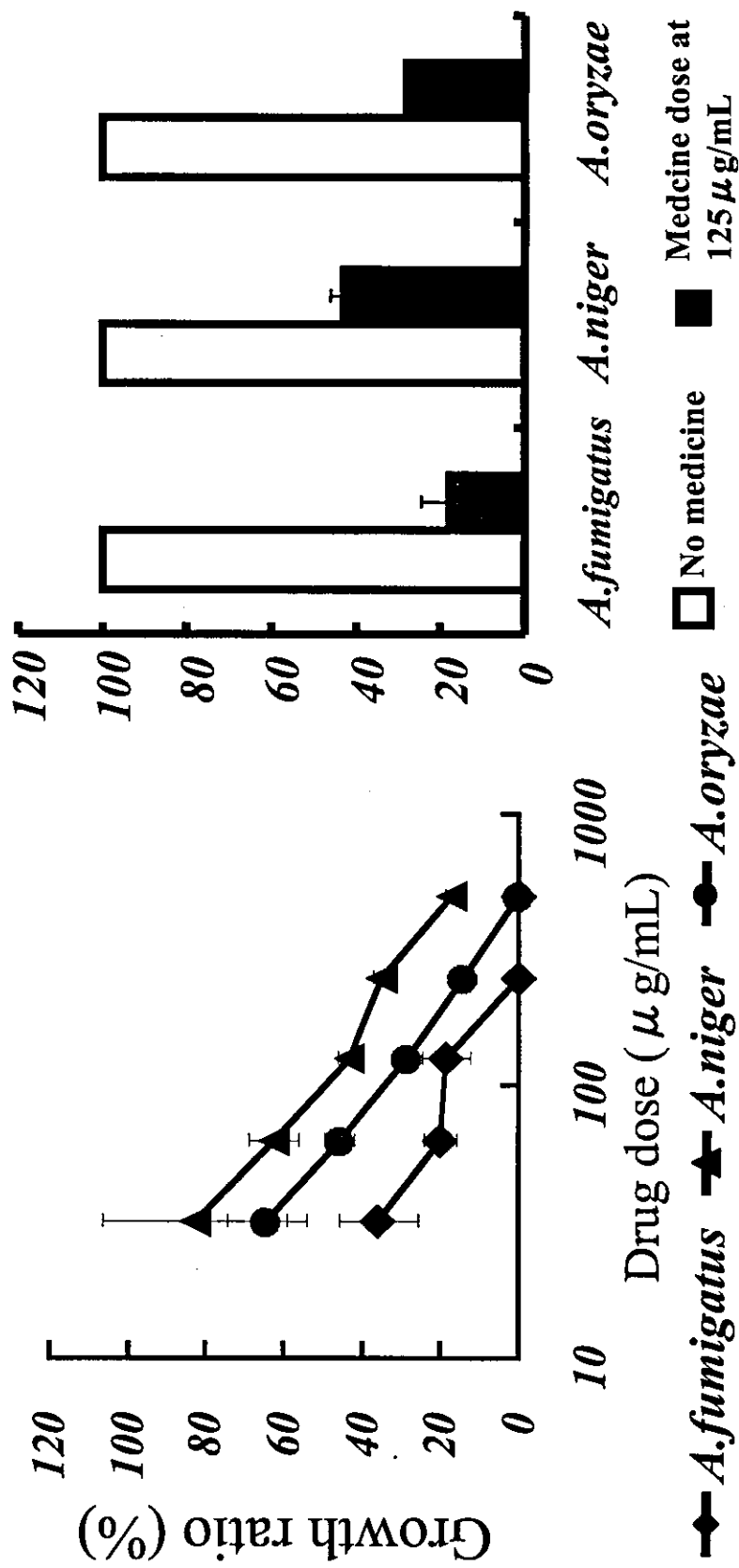
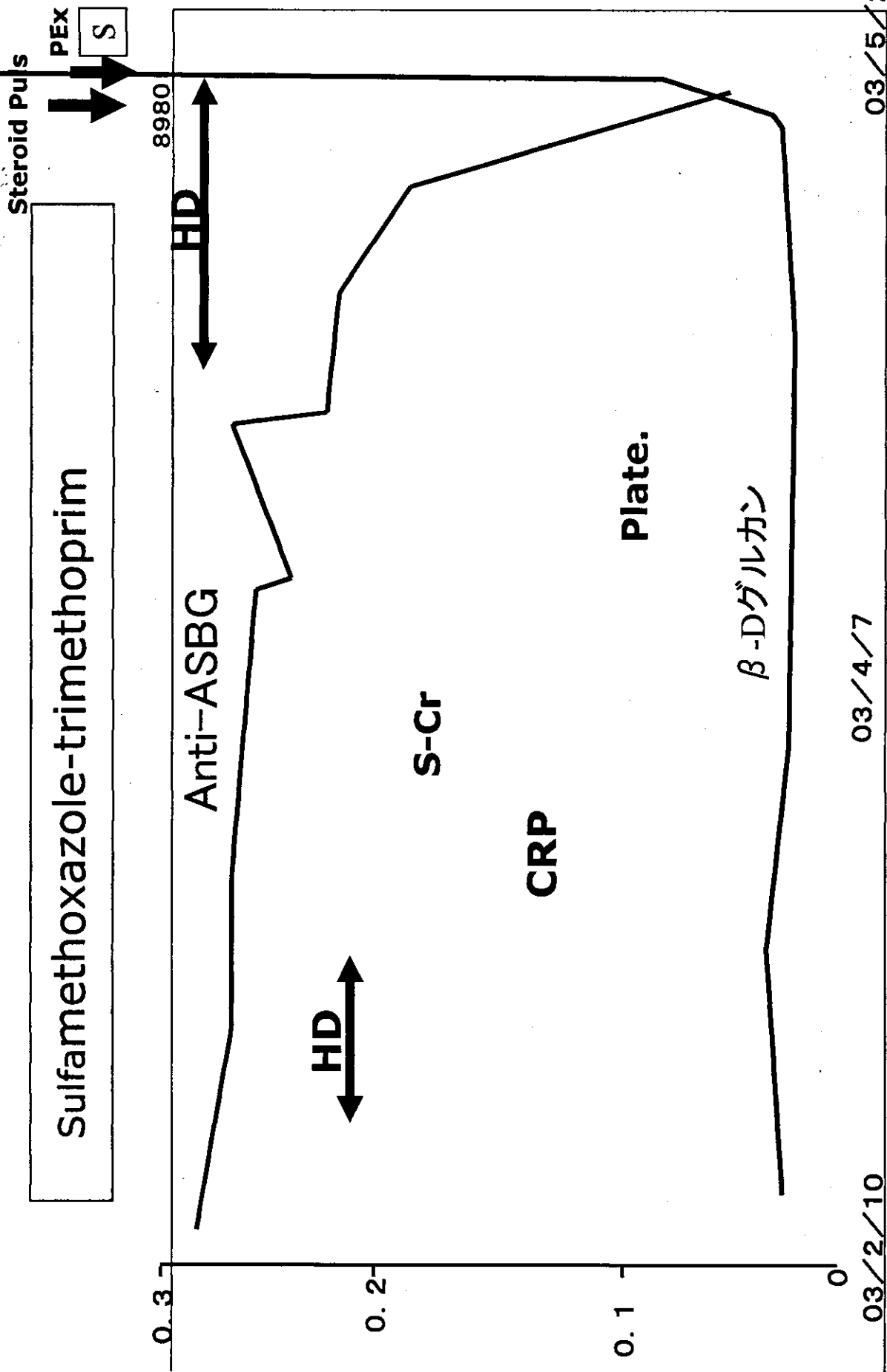


Fig.4

臨床経過 80歳 男性 MPO-ANCA AAV+ASP



## 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

### 分担研究報告書

#### MPO-ANCA 関連血管炎に合併する肺病変の臨床病理学的意義に関する研究

分担研究者 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（助教授）

#### 研究要旨

MPO-ANCA 関連血管炎症候群患者に合併するびまん性肺疾患の臨床像、経過、予後を明らかにするため、病歴調査を行った。臨床病型として急性発症型、亜急性型、慢性型に分類され、いずれの群も高頻度に肺胞出血を併発し、生命表法による解析では、びまん性肺疾患のない患者に比べ、有意に予後不良であった。

#### A.研究目的

MPO-ANCA 関連血管炎患者には、高率にびまん性肺疾患が合併することが知られ、特に肺胞出血は重篤な合併症である。一方、特発性肺線維症として経過観察中に、壊死性腎炎その他の血管炎症状が発現し、MPO-ANCA が陽性であることが判明する症例が増加している。このような慢性型間質性肺炎の臨床経過や予後は不明であり、治療も確立されていない。そこで MPO-ANCA 関連血管炎症候群患者に合併するびまん性肺疾患の臨床像、経過、予後を明らかにし、肺病変に対する早期診断法の開発と治療法に向けた基礎資料を得る。

#### B.研究方法

過去 15 年間に教室で経験した MPO-ANCA 関連血管炎患者の病歴を追跡調査した。症例の選択基準は、MPO-ANCA または p-ANCA 陽性で、厚労省の顕微鏡的多発血管炎、結節性多

発動脈炎の診断基準に準じた。間質性肺炎の診断は、厚労省特発性間質性肺炎の診断基準に準じた。間質性肺炎の臨床病型分類は、呼吸器症状発症から診断までの期間が 6 ヶ月以上の場合を慢性型、3 ヶ月以内の場合を亜急性型、1 ヶ月以内の場合を急性型とした。肺胞出血の診断は、気管支肺胞洗浄液が血性または多数のヘモジデリン貪食マクロファージを認めた場合とした。

#### C.研究結果

男性 12 例、女性 11 例の計 23 例について解析した。間質性肺炎は、慢性型 4 例、亜急性型 3 例、急性 5 例、計 12 例（52%）に合併した。かかる間質性肺炎の経過中に肺胞出血を併発した例が 4 例、血管炎の治療後日和見感染症と共に肺胞出血を併発した例が 2 例あった。その他は、2 例に肺内の結節性病変、7 例には肺病変が見られなかった。間質性肺炎・肺胞出血を来した 14 例とびまん

性肺病変の合併していない9例とを比較した。両群間に年齢、性差、発症から治療までの期間、重要臓器病変の有無、BVAS スコア、MPO-ANCA 値、治療法に有意差は見られなかった。ところが、Kaplan-Mayer の生命表分析では、びまん性肺病変を有する患者の治療開始後の生命予後は有意に不良であった ( $p < 0.05$ , Log-rank test)。また、急性型間質性肺炎のうち1例に肺胞出血が併発した。亜急性型は急性増悪例と肺胞出血併発例を1例ずつみとめた。慢性型間質性肺炎は4例とも経過中に急性増悪し、2例は肺胞出血を併発した。血管炎の治療後に肺感染症を併発し肺胞出血をも併発した2例を含め、急性型と亜急性型の予後は不良であった。潜在性の肺胞出血の検出に非侵襲的な MRI が有用であった1例を経験した。慢性型の急性増悪には、シクロホスファミド間歇静注療法が有用であった。

#### D. 考察

以上より、MPO-ANCA 関連血管炎の間質性肺炎と肺胞出血は共通の病因、すなわち肺胞毛細管炎によるものであると推察され、慢性型では、臨床症状の発現なしにミクロのレベルで肺胞出血が繰り返されて、徐々に肺機能障害を来すものと推定される。また、MRI を用いることにより、血痰のない肺胞出血を同定できた症例を経験した。肺胞出血の早期診断法として有用と考えられた。さらに、慢性型間質性肺炎に対してもシクロホスファミド間歇静注療法が有用であることが示唆された。

#### G. 研究発表

- 1) 山田秀裕、尾崎承一：血管炎症候群。GUIDELINE 膠原病・リウマチ。P70-87, 2005
- 2) 山前正臣、山田秀裕：間質性肺炎。リウマチ・膠原病診療チェックリスト。P. 67-71, 2004

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
平成16年度臨床分科会大型血管炎研究報告書

大型血管炎の診断および治療に関する研究  
大型血管炎分科会長 安田慶秀 北海道大学循環器外科教授

研究要旨

バージャー病および「炎症性」腹部大動脈瘤手術症例に対する長期予後調査、FDG-PET を用いた高安動脈炎活動性直接評価法の確立に関する研究、バージャー病を対象とした AMG0001(HGF 遺伝子プラスミド)の一般臨床試験研究を行い、以下のことが明らかになった。

結論

- 1) 救肢からみたバージャー病患者の長期予後は良好である。
- 2) 「炎症性」腹部大動脈瘤手術では周術期合併症発生率が高く死亡率も高い。
- 3) FDG-PET を用いた高安動脈炎活動性直接評価法に有用である。
- 4) バージャー病重症虚血肢における HGF 遺伝子プラスミドを用いた遺伝子治療治験進行中である。有効な新しい治療としての評価を得るにはさらに症例を積み重ねる必要がある。

1. バージャー病

A.研究目的

バージャー病の長期予後調査

B. 研究方法

全国血管外科施設に対するアンケート調査。

（患者のプライバシー保護に注意するとともに、患者に調査の趣旨を十分説明し協力していただいた）

C.研究結果

血管外科学会との共同研究で全国調査を行い、547名（50施設）に対しアンケート調査を行った。

対象：男性 503例、女性 44例、  
発症時年齢 42.6歳（18～77歳）、  
観察期間 15.7年（最長51年）、喫

煙歴 有り 519例、無し 25例、不明 3例

D.考察

結論：救肢からみたバージャー病患者の長期予後は良好であった。

E. 結論

バージャー病症例の肢保護には、初診後の禁煙を徹底し、保存的治療が有効でない症例に対しては、交感神経切除・血行再建術などの外科治療が有用である。

2. 「炎症性」腹部大動脈瘤

A.研究目的

「炎症性」腹部大動脈瘤の診断と治療成績の現状を明らかにすること。



(患者のプライバシー保護に注意するとともに、患者に調査の趣旨を十分説明し協力していただいた)

### C.研究結果

血管外科学会との共同研究で全国調査を行い、213手術症例について解析し以下の結論を得た

1. 周術期死亡率が高い：16/213 (7.5%)
2. 周術期合併症率が高い。
3. 晩期合併症（術後瘤化、グラフト閉塞など）発生頻度が高いこと。
4. 本症の診断、外科治療の特異性について啓発活動を行う必要がある。

### D.考察

粥状動脈硬化に起因する腹部大動脈瘤の待機手術成績は良好であり、その早期死亡率は2%以下で2%以下である。一方、本研究で明らかになったように、「炎症性」腹部大動脈瘤の術後早期死亡率は2%以下である。一方本症手術では周術期合併症の発生頻度が高く死亡率も7.5%と高く、本症の特異性に対する血管外科医の認識に問題があることを示唆する結果が得られた。手術成績向上のためには、血管外科医二本症の特異性に対する啓発活動を徹底させることが必要と思われる。

### E.結論

「炎症性」腹部大動脈瘤は粥状動脈硬化性腹部大動脈瘤に比し手術リスクが高い。手術成績向上のために

は、血管外科医に対する本症の特異性を十分周知させることが肝要である。

### 3. FDG-PET を用いた高安動脈炎活動性直接評価法の確立

#### A.目的

炎症巣に [Fluorine-18] labeled fluoro-deoxyglucose (FDG) が集積することを利用した TA の直接評価を行うこと。

#### B.研究方法

TA、急性期、慢性期、再燃例を用いて FDG-PET を施行、CT との合成像により解剖学的評価を行うことである。

#### C.研究結果

急性期例、再燃例で大動脈への FDG の取り込みを認めた。

#### D.考察

臨床の現場にフィードバックし、多数例で検証する必要があり、財政処置を考慮し推進するのが課題である

#### E.結論

本症の早期診断、治療効果判定、再燃例での診断に有用であることが示唆された。

### 4. バージェー病を対象とした AMG001(HGF 遺伝子プラスミド)の一般臨床試験

#### A.研究目的

1)バージェー病重症虚血肢における

HGF 遺伝子プラスミドを用いた遺伝子治療の確立.

2)重症虚血肢に対する客観的虚血評価法の確立.

#### B.研究方法

重症虚血肢を有するバージャー病患者に対する open trial

#### C.成果

①. 病態および虚血評価法の客観的評価基準確立：従来に虚血肢評価法に加え、RI による組織血流測定法、TcPO<sub>2</sub> による評価法を確立した.

②. 治験の実施および進捗状況：リストアップ19例、治験開始7, 脱落4, 進行中.

#### D.考察

本治験を行うには一定期間の入院治療が必要であり、若年で家計を支える患者の多いバージャー病では、協力が得られ難い社会的状況がある.

#### E.結論

治験進行中である. 有効な新しい治療としての評価を得るにはさらに症例を積み重ねる必要がある.

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1)Kobayashi Y., et al. Aortic wall inflammation due to Takayasu arteritis imaged with <sup>18</sup>F-FDG positron emission tomography co-registered with enhanced computed tomography. The Journal of Nuclear Medicine. in press

2)Miyamoto M, Yasutake M, Takano H, Takagi H, Takagi G, Mizuno H, Kumita S, Takano T. : Therapeutic angiogenesis by autologous bone marrow cell implantation for refractory chronic peripheral arterial disease using assessment of neovascularization by <sup>99m</sup>Tc-tetrofosmin (TF) perfusion scintigraphy. Cell Transplant. 2004;13(4):429-37

3)Kanetaka T, Komiyama T, Onozuka A, Miyata T, Shigematsu H: Laser Doppler skin perfusion pressure in the assessment of Raynaud's phenomenon. Eur J Vasc Endovasc Surg 27:414-416,2004.

4)Ishii S, Koyama H, Miyata T, Nishikage S, Hamada H, Miyatake S, Shigematsu H: Appropriate control of ex vivo gene therapy delivering basic fibroblast growth factor promotes successful and safe development of collateral vessels in rabbit model of hind limb ischemia. J Vasc Surg 39:629-638, 2004.

##### 2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

潰瘍を有する Buerger 病症例の検討—全国アンケート調査結果から—

分担研究者 重松宏 東京大学医学部附属病院手術部長

重松邦広 東京大学医学部血管外科  
宮田哲郎 東京大学医学部血管外科助教授  
安田慶秀 北海道大学医学部循環器外科教授

**研究要旨** Buerger 病の新規発生患者数は減少してきているが、依然として重症虚血肢として外来を新規に受診する症例は絶えることはない。潰瘍を有する Buerger 病症例の初期治療にあたり大切断を避け、できる限り肢機能を残すことが重要である。【対象と方法】日本血管外科学会評議員が勤務する施設で加療されている Buerger 病症例についてアンケート調査を行い、その中で発症時症状に潰瘍を呈した症例を対象に検討を行った。【結果】50 施設より 547 名のアンケート結果を得た。このうち発症時に上肢潰瘍を認めた症例は 40 例、下肢に潰瘍を認めた症例は 190 例であった。上肢潰瘍症例では大切断は認めず minor amputation が 4 例に施行されていた。アンケート回収時に潰瘍が認められた症例は 4 例であり、36 例には潰瘍を認めなかった。外科治療としては胸部交感神経切除が 19 例に行われており、バイパス術は行われていなかった。その他の症例は主として禁煙と抗血小板剤による保存的治療が行われていた。一方、下肢潰瘍症例は大切断が 22 例に施行され、minor amputation は 62 例に施行されていた。外科治療として腰部交感神経切除術が 117 例に、バイパス術が 57 例に施行されておりうち 44 例には両者が施行されていた。アンケート回答時の症状は潰瘍 40 例、安静時痛 15 例、跛行 78 例であった。喫煙歴に関しては上肢潰瘍症例で発症時 39 例に喫煙歴を認めたが、アンケート調査時には 8 例のみに喫煙者を認めた。下肢潰瘍症例では発症時 182 例に喫煙歴を認めたが、アンケート調査時には 82 例に初診後喫煙歴を認めた。下肢大切断群では 77% に喫煙持続例が認められ、minor amputation 群では 55% が喫煙を継続していた。一方切断を受けなかった症例では 32% のみが喫煙継続していた。【まとめ】潰瘍を呈する Buerger 病症例においても、禁煙を中心とした保存的治療法のみで、多くの症例で症状は軽減し潰瘍が治癒した。下肢潰瘍症例では重症例も多く、切断症例も上肢に比べて多く認められた。重症症例に対しては、外科的治療としての交感神経切除ならびにバイパス術を考慮し、単独では十分な治療効果のない場合には組み合わせることも考慮するべきである。

A. 研究目的

本邦において糖尿病・高脂血症などの生活習慣病が増加してきており、それにと

ない閉塞性動脈硬化症症例も増加してきている。その一方において、以前は末梢血管障害の大多数を占めていた Buerger 病

(Thromboangiitis obliterans) の新規発生患者数は減少している。本疾患は若年発症のため、住居移転などの社会的な事情により長期間同一の医療機関で治療・経過観察が行われている症例はそれほど多くなく、さまざまな専門科や医療機関において経過が観察されている。このため、全国規模の統計を血管外科的な観点から行うことは余り行われていない。今回長期間経過観察が可能であった Buerger 病症例を対象にアンケート調査を施行した。

現在本疾患にて外来受診される症例は高齢化してきているが、新規発生患者が外来受診する際、虚血性潰瘍に伴う疼痛を主訴とする症例が多い。潰瘍症例は重症虚血肢である場合が多く、よりよい治療法を検討して大切断を避けることが必要である。長期間経過を観察されている症例のアンケート調査を検討することにより、潰瘍を有する Buerger 病症例の治療法ならびにその予後を検討した。

## B. 研究方法

日本血管外科学会にご協力いただき、日本血管外科学会評議員の先生方の勤務されている血管外科専門施設を受診されている Buerger 病症例にアンケート調査を依頼した。研究班から各施設に同アンケートを 20 部ずつ送付し、各施設の先生方から直接症例にアンケート回答をお願いした。アンケート回収は各施設の先生方にしていただき、可及的にアンケートの正確性を期するために、先生方に治療内容などをカルテをもとに確認・訂正していただいた上で、返送していただいた。

(倫理面への配慮) 本研究のアンケート回

答に際し、ご本人に個人の資料としては公になることないことをご理解いただいた上でご協力いただける方に回答していただいた。アンケート回答内容は、個人名を伏せた形で集計し、統計処理した。またアンケート内容には遺伝子解析に関わる項目は含まれていない。

## C. 研究結果

アンケートは 50 施設から返送され、547 名のアンケート結果を回収した。内訳は男性 503 例 (92.0%)、女性 (8.0%) であり、外来初診時年齢は 18 歳から 77 歳におよび平均は 42.6 歳であった。初診時からの経過年数は 1 ヶ月から 51 年におよび平均 15.7 年であり、本アンケート回答時年齢は 60.3 歳であった。また発症時までの喫煙歴は 519 例 (94.9%) に認められたが、25 例 (4.6%) には喫煙歴がなかった。

上肢における発症時症状は、冷感 82 例、間歇性跛行 5 例、安静時痛 21 例、潰瘍形成 40 例であり、下肢では冷感 26 例、間歇性跛行 160 例、安静時痛 112 例、潰瘍形成 190 例であった。発症時潰瘍症例であった上肢 40 例と下肢 190 例を本研究の対象とした。

上肢潰瘍症例 40 例の内訳は、男性 38 例女性 2 例であり、初診時平均年齢は 42.6 歳、アンケート時までの経過年数は 17.6 年であった。初診時までの喫煙歴は 39 例に認めた。外科的治療は 19 例に対して胸部交感神経節切除が施行されており、血行再建術の施行された症例は認めなかった。外科的治療なされた群において潰瘍の治癒しない症例は 3 例であった。禁煙と抗血小板剤、血管拡張剤などによる保存的治療は

21例に施行された。2例において潰瘍が治癒していなかった。初診後、禁煙したものは42例であり喫煙を持続したものが8例であった。経過中に大切断に至った症例はなく、指切断である minor amputation が6例に施行された。Minor Amputation は保存的治療症例に2例(喫煙1例)、胸部交感神経節切除群に4例(喫煙2例)認めた。アンケート時には28例において冷感(Fontaine分類1度)よりの症状が改善していた。

下肢潰瘍症例190例の内訳は男性172例女性18例、初診時平均年齢は42.0歳、アンケート時までの経過年数は16.4年であった。初診時までの喫煙歴は、あり182例であった。外科的治療は117例に対して腰部交感神経節切除が、57例に対して血行再建術が施行されており、44例には両者が施行されていた。

アンケート回答時の臨床症状は、Fontaine4度(潰瘍)40例、3度(安静時痛)15例、2度(跛行)78例、1度以下57例であった。経過中に大切断を施行された症例は22例であり、minor amputation を施行された症例は62例であった。一方切断を受けていない症例は121例であった。

外科的治療、すなわち腰部交感神経節切除ならびに血行再建術を施行された症例は130例であった。このうち切断歴のない症例は121例中91例(75%)に外科的治療歴を認めたが、minor amputation された症例の47例中34例(72%)、大切断施行の22例中18例(82%)にそれぞれ外科的治療歴を認めた。一方保存的治療の選択された症例は60例であり、経過中に大切断を施行された症例は4例であり minor

amputation を施行された症例は14例であった。(minor amputation 後に大切断に至った症例は大切断症例とした。)

一方初診後の喫煙歴は、大切断を施行された群では22例中17例(77%)に喫煙持続例が認められ、minor amputation された群では47例中26例(55%)が喫煙を継続していた。一方切断を受けなかった症例では121例中39例(32%)が喫煙継続していた。

#### D. 考察

上肢は、下肢と比較して主幹動脈の閉塞時にも重症化することが少ないが、今回のアンケート調査においても、発症時の症状としての上肢潰瘍症例は547例中40例(7.3%)に認められるだけであったが、下肢潰瘍症例は190例(34%)に認められた。同様にアンケート回答時の症状の検討においても、上肢潰瘍症例で発症した40例中大切断症例を認めず、5例(12.5%)に治癒していない潰瘍を認めるのみであるが、下肢潰瘍症例190例においては大切断22例(11%)に加えて、40例(20%)がFontaine4度症例であった。これらから、やはり上肢 Buerger 病よりは下肢 Buerger 病のほうが重症化しやすく、いったん潰瘍形成など重症化すると難治であると考えられた。

上肢潰瘍症例では禁煙と抗血小板投与を核とする保存的治療の行われた21例中アンケート回答時に潰瘍が2例に認められたが、minor amputation の施行された2例も含めてそれ以外の19例では潰瘍は治癒していた。また胸部交感神経節切除の施行された19例中アンケート回答時に3例

Fontaine4 度で潰瘍が残っていたが、それ以外の 16 例は (minor amputation された症例も含めて) 潰瘍は認めなかった。胸部交感神経節切除術はより重篤な症例に対して施行されたと考えられることを考慮すると、保存的治療が有効でなかった症例に対して胸部交感神経節切除を行うことにより、比較的良好な治療成績が得られるものと考えられた。また上肢に対する血行再建は上肢 Buerger 病症例において、潰瘍を呈している症例においても必ずしも必要ではないと考えられた。

下肢潰瘍症例は、前述の上肢 Buerger 病に比較して重症例が多く 190 例 34% の症例が初診時に潰瘍形成を認めていた。重症例が多いため、上肢に比較して外科的治療の施行されている症例が多く 130 例 (67%) に腰部交感神経節切除もしくは血行再建術が施行された。全体で 47 例に施行された Minor amputation のうち、34 例 (72%) は外科的治療を受けた症例であった。またさらに重症であったと考えられる大切断を施行された症例は全体で 22 例であり、うち 18 例 (82%) が外科的治療を受けた症例であった。切断の施行されなかった症例の 75% のあたる 91 例が外科的治療を施行されていた。

保存的治療が施行された症例では 6% に大切断に至った症例が認められたが、外科的治療を選択された症例よりは救肢率が有意に高かった。これは外来初診時からしっかりと評価がなされており、適切な治療法が選択されたことを示していると考えられた。また外科的治療を行わざるを得ない重症虚血肢症例でも、血行再建術と腰部交感神経節切除の外科的治療を組み合わせ

ることを考慮することにより比較的良好な治療効果が得られると考えられた。

#### E. 結論

潰瘍を呈する Buerger 病症例においても、禁煙を中心とした保存的治療法のみで、多くの症例で症状は軽減し、潰瘍の治癒がみられた。特に上肢潰瘍症例においては保存的治療が有効であった。下肢潰瘍症例では、重症例も多く、外科的治療として腰部交感神経節切除ならびに血行再建術を考慮し、単独では十分な治療効果のない場合には組み合わせることを考慮するべきである。

#### G. 研究発表

1. 論文発表 なし。
2. 学会発表 なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

予定なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

重症難治性慢性虚血肢・心に対する血管再生治療

-自己骨髄幹細胞移植及び DDS 徐放化蛋白質による総合的治療戦略-

分担研究者 高野 照夫 日本医科大学第一内科 教授

研究要旨：現行のいかなる内科的及び外科的治療法でも治癒しない(no optional patients)重症難治性虚血肢（バージャー病，ASO,糖尿病潰瘍・壊疽，PSS）25 例，重症冠動脈性疾患（狭心症，虚血性心筋症）8 例に対して自己骨髄幹細胞移植による血管再生療法を施行し，その有効性及び安全性を示した．<sup>99m</sup>Tc-tetrofosmine(TF) perfusion scintigraphy 等による種々の評価法により，4 週以後良好な血流増加を証明し，疼痛の消失，緩和，QOL の著明な改善をもたらした．本治療法は，limb salvage のための新しい戦略となりうると考えられた．

A. 研究目的

現行のいかなる内科的及び外科的治療法でも治癒しない(no optional patients)重症難治性虚血肢（バージャー病，ASO,糖尿病潰瘍・壊疽，PSS）に対する自己骨髄幹細胞移植による血管再生療法の有効性を証明する．

B. 研究方法

全身麻酔下に腹臥位にて両側腸骨より骨髄細胞液 500 ml を採取した．500  $\mu$ l 及び 200  $\mu$ l のフィルター後，血液分離装置 AS TEC 204 を使用して，骨髄単核球と血小板の細胞層を採取し，最終収量は，60-80 ml に濃縮された．直ちに 24-27G シリンジで虚血下肢及び debridement 後の潰瘍周辺に筋注した．

（倫理面への配慮）

日本医科大学付属病院倫理委員会及び日本医科大学倫理委員会の承認を受け，

その適応に関しては各科（6科7人）よりなる血管再生適応評価委員会において1症例毎の適応を選択した．

C. 研究結果

Fontaine 分類では，92%がIV度(23/25 例)を占め，糖尿病は 52%（13 /25 例）が合併していた．視覚的アナログ（visual analog scale : VAS）にて定量的に検討したが，術前 74.2 $\pm$ 16.3 (mm)に対して術後4週で 14.9 $\pm$ 11.7 (mm)と著明に低下していた（ $p<0.0001$ ）．ABI は，術前 0.60 $\pm$ 0.29 から術後4週で 0.73 $\pm$ 0.27（ $p=0.001$ ）と改善した．術前歩行可能で測定可能であった症例での treadmill test における無痛歩行時間は，術前 140 $\pm$ 53 秒から術後4週で 451 $\pm$ 74 秒と大幅に改善した．（ $p=0.034$ ）

D. 考察

25 例中 10 例では，前医で膝下よりの切断術を宣告されていたが，本療法の結果，

全例で疼痛が除去或いは軽減されたが、2例において切断術を余儀なくされた（1例は術後ギラン・バレー症候群を合併し、1例は心臓血管再生治療合併で、両者とも長期臥床を余儀なくされた症例であった。）

本治療法の有効性を評価するため、客観的でしかも定量化可能な評価法は難しい。Yuyamaら<sup>3</sup>は、angiogenesisの客観的評価法として、ABI, treadmill testにおける無痛歩行時間及び経皮的酸素分圧(TcO<sub>2</sub>)が有効であったと述べているが、我々の検討では、ABI, treadmill testにおける無痛歩行時間では有効性が示唆されたものの、TcO<sub>2</sub>は、測定センサーの接触の問題等により有効ではなかった。

#### E. 結論

現行のいかなる内科的及び外科的治療法でも治癒しない重症難治性虚血肢（バージャー病, ASO, 糖尿病潰瘍・壊疽, PSS）25例, 重症冠動脈性疾患（狭心症, 虚血性心筋症）8例に対して自己骨髄幹細胞移植による血管再生療法を施行し、その有効性及び安全性を示した。<sup>99m</sup>Tc-tetrofosmine(TF) perfusion scintigraphy等による種々の評価法により、4週後良好な血流増加を証明し(平均15%), 疼痛の消失, 緩和, QOLの著明な改善をもたらした。本治療法は、limb salvageのための新しい戦略となりうると考えられた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

①Okamatsu K, Takano M, Sakai S, Ishibashi F, Uemura R, Takano T, Mizuno K.: Elevated

troponin T levels and lesion characteristics in non-ST-elevation acute coronary syndromes. *Circulation*. 2004 Feb 3;109(4):465-70.

②Miyachi Y, Kobayashi Y, Morita N, Iwasaki YK, Hayashi M, Ohmura K, Kato T, Takano T.: Successful radiofrequency catheter ablation of an anteroseptal (superoparaseptal) atrioventricular accessory pathway from the left ventricular outflow tract. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2004 May;27(5):668-70

③Akutsu K, Nejima J, Kiuchi K, Sasaki K, Ochi M, Tanaka K, Takano T.: Effects of the patent false lumen on the long-term outcome of type B acute aortic dissection. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2004 Aug;26(2):359-66.

④Yamamoto T, Sato N, Tajima H, Takagi H, Morita N, Akutsu K, Fujita N, Yasutake M, Tanaka K, Takano T.: Differences in the clinical course of acute massive and submassive pulmonary embolism. *Circ J*. 2004 Nov;68(11):988-92.

⑤Miyamoto M, Yasutake M, Takano H et al. Therapeutic angiogenesis by autologous bone marrow cell implantation in refractory chronic peripheral arterial disease using assessment of neovascularization by <sup>99m</sup>Tc-Tetrofosmin (TF) perfusion scintigraphy *Cell Transplant* 13, 429-437, 2004

⑥宮本正章. 自然免疫を応用した先端医療 自然免疫 innate immunity 研究会 121-132, 2004

##### 2. 学会発表

①宮本正章 他 第66回日本臨床外科学



- |  |                                      |
|--|--------------------------------------|
| 会総会シンポジウム 日本臨床外科学会<br>雑誌 2004                | 研究会 診療と新薬 2004<br>(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入) |
| ②宮本正章 他 第 47 回日本形成外科学<br>会総会ランチョンセミナー12 2004 | H. 知的財産権の出願・登録状況<br>(予定を含む。)         |
| ③宮本正章 他 第 68 回日本循環器病学<br>会総会ランチョンセミナー25 2004 | なし<br>1. 実用新案登録                      |
| ④宮本正章 他 第 3 回日本再生医学会総<br>会 再生医療 2004         | なし<br>2. その他                         |
| ⑤宮本正章 他 第 19 回糖尿病足病変研                        |                                      |

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

難治性血管炎に関する調査研究：大型血管炎の臨床研究

分担研究者 森下竜一 大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学寄附講座教授

研究要旨

肝細胞増殖因子（Hepatocyte growth factor: HGF）遺伝子を用いた閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対する遺伝子治療臨床研究において、初期効果が2年間のフォローアップにおいても維持される傾向にあり、長期安全性も臨床上許容範囲であることが示唆された。また次世代血管新生療法として、PGIS 遺伝子・ets 遺伝子の有用性を基礎実験において示した。

A. 研究目的

遺伝子導入による血管新生療法の開発を目的とする。すでに肝細胞増殖因子（Hepatocyte growth factor: HGF）遺伝子を用いた閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対する遺伝子治療臨床研究を実施しており、今回その長期における安全性・有効性の評価を継続するとともに、新しい血管新生遺伝子治療として PGIS 遺伝子・ets 遺伝子に注目し、その基礎的検討を行う。

B. 研究方法

閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対する遺伝子治療臨床研究では Fontaine IIb, III, IV の重症虚血肢 22 症例（ASO14 例、TAO8 例）を対象とした。naked plasmic DNA の筋肉注射により遺伝子（4mg：14 例、8mg：8 例）を導入し、安全性・有効性について2年間の追跡調査を行った。新しい治療戦略開発のため、マウス、ラット下肢虚血モデルを作成し、PGIS 遺伝子・ets 遺伝子を下肢筋肉に導入し、血流改善効果とそのメカニズムについて検討した。

（倫理面への配慮）

遺伝子治療ガイドラインを遵守し、また大阪大学遺伝子治療臨床研究審査委員会の管理・指導のもと行っている。

C. 研究結果

遺伝子治療臨床研究において遺伝子投与に起因する重篤な有害事象は確認できず、臨床上許容範囲と考えられた。バージャー病8症例に関しては3例ドロップアウト（1例死亡・1例 minor amputation・1例患者希望によりドロップ）したものの、残り6症例に関して症状の増悪はなく、遺伝子投与後2ヶ月における初期効果を維持あるいはさらなる改善が認められた。

さらにマウス下肢虚血モデルに対する PGIS/HGF 遺伝子の共導入は HGF 単独群に比し有意な血流改善効果を示し、血管拡張作用を有する PGIS 遺伝子を用いた治療の可能性が示唆された。さらにラット下肢虚血モデルに対する ets 遺伝子の導入は転写因子 ets により制御される HGF, VEGF の過剰発現を惹起し、さらに ets そのものの内皮細胞遊走作用・管腔形成作用を伴って強力な血流改善効果を示した。HGF, VEGF の中和抗体によりこの作用は阻害され、ets に誘導される growth factor の作用が主たるメカニズムと考えられた。

D. 考察

遺伝子治療臨床研究においては、プラセボを設定していないため、厳密な有効性評価は困難であり、今後 PHASE III における検討が必要で

ある。また局所で遺伝子発現している証拠がヒト研究においては取得困難であること、血管新生を画像的あるいは定量的に測定する手法が現存しないことが効果判定の上での問題点である。

#### E. 結論

HGF 遺伝子治療の安全性・有用性は臨床研究において示唆された。さらに PGIS 遺伝子・ets 遺伝子は虚血性疾患に対する新しいターゲット遺伝子としての可能性が示唆された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Morishita R, Aoki M, Hashiya N, Makino H, Yamasaki K, Azuma J, Sawa Y, Matsuda H, Kaneda Y, Ogihara T. Safety evaluation of clinical gene therapy using hepatocyte growth factor to treat peripheral arterial disease. *Hypertension*. 2004 Aug;44(2):203-9. Epub 2004 Jul 06.

2) Koike H, Morishita R, Iguchi S, Aoki M, Matsumoto K, Nakamura T, Yokoyama C, Tanabe T, Ogihara T, Kaneda Y. Enhanced angiogenesis and improvement of neuropathy by cotransfection of human hepatocyte growth factor and prostacyclin synthase gene. *FASEB J*. 2003 Apr;17(6):779-81. Epub 2003 Feb 05.

3) Hashiya N, Jo N, Aoki M, Matsumoto K, Nakamura T, Sato Y, Ogata N, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R. In vivo evidence of angiogenesis induced by transcription factor Ets-1: Ets-1 is located upstream of angiogenesis cascade. *Circulation*. 2004 Jun 22;109(24):3035-41. Epub 2004 Jun 01.

4) Nakagami H, Morishita R, Nishikawa T, Shimizu H, Iguchi S, Matsumoto K, Nakamura T, Kaneda Y, Ogihara T. Lack of association between the hepatocyte growth factor receptor, c-met, and the anti-apoptotic action of bag-1 in

endothelial cells. *Hypertens Res*. 2004 May;27(5):359-65.

5) Yamasaki K, Aoki M, Makino H, Hashiya N, Shimizu H, Ohishi M, Ogihara T, Morishita R. Effect of nifedipine on endothelial function in normotensive smokers: potential contribution of increase in circulating hepatocyte growth factor. *J Hum Hypertens*. 2004 Oct;18(10):701-5.

6) Matsuki A, Yamamoto S, Nakagami H, Aoki M, Tamai K, Matsumoto K, Nakamura T, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R. No influence of tumor growth by intramuscular injection of hepatocyte growth factor plasmid DNA: safety evaluation of therapeutic angiogenesis gene therapy in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Feb 27;315(1):59-65.

7) Makino H, Aoki M, Hashiya N, Yamasaki K, Hiraoka K, Shimizu H, Azuma J, Kurinami H, Ogihara T, Morishita R. Increase in peripheral blood flow by intravenous administration of prostaglandin E1 in patients with peripheral arterial disease, accompanied by up-regulation of hepatocyte growth factor. Increase in peripheral blood flow by intravenous administration of prostaglandin E1 in patients with peripheral arterial disease, accompanied by up-regulation of hepatocyte growth factor.

8) Shimamura M, Sato N, Oshima K, Aoki M, Kurinami H, Waguri S, Uchiyama Y, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R. Novel therapeutic strategy to treat brain ischemia: overexpression of hepatocyte growth factor gene reduced ischemic injury without cerebral edema in rat model.

Circulation. 2004 Jan 27;109(3):424-31. Epub 2004 Jan 05.

## 2. 学会発表

1) 森下竜一、血管再生遺伝子治療薬の開発、第3回 日本再生医療学会総会、2004年3月23-25 (火、水、木)

2) 牧野寛史、Long Term Evaluation of Clinical Trial of Human Gene Therapy for Peripheral Arterial Disease Using Hepatocyte Growth Factor Gene Transfer (Featured Research Session)、第68回 日本循環器学会、2004年3月27-29(土、日、月)

3) 橋弥尚孝、Therapeutic angiogenesis by a transcription factor;Ets-1 for peripheral arterial disease、第68回 日本循環器学会、2004年3月27-29 (土、日、月)

4) 小池弘美、Improvement of Diabetic Neuropathy by HGF Gene Transfer、第68回 日本循環器学会、2004年3月27-29 (土、日、月)

5) 梶座康夫、Acceleration of wound healing by combination gene transfer of Hepatocyte Growth Factor and Prostacyclin Synthase with Shima Jet、第68回 日本循環器学会、2004年3月27-29 (土、日、月)

6) 森下竜一、末梢動脈疾患の遺伝子治療 (教育セッション)、第68回 日本循環器学会、2004年3月27-29 (土、日、月)

7) 森下竜一 (特別発言)、パネルディスカッション徹底討論3 再生医療・遺伝子治療の適応と再評価：どこまで有効か、第32回 日本血管外科学会学術集会、2004年5月13日 (木)

8) 森下竜一、血管疾患に対する遺伝子

治療の現状と紹介—閉塞性動脈硬化症から大動脈瘤まで—、第32回 日本血管外科学会学術集会、2004年5月13日 (木)  
9) 森下竜一、遺伝子治療の虚血性心疾患治療への応用、第13回 日本心血管インターベンション学会 学術集会、2004年6月30日 (水)

10) 梶座康夫、富田奈留也、富田哲也、谷山義明、小池弘美、森下竜一、シマジェットを用いたHGF遺伝子及びPGIS遺伝子導入による難治性潰瘍の治療、'8回 MolecularCardiovascular Conference、2004年9月3日(金)、4日(土)、5日(日)

11) 橋弥尚孝、城信雄、青木元邦、金田安史、荻原俊男、森下竜一、ラット後肢虚血モデルに対する転写因子Ets-1を用いた遺伝子治療、第27回日本高血圧学会総会、2004年10月7日(木)~9日(土)

12) 森下竜一、閉塞性動脈硬化に対する遺伝子治療の現状 (教育講演)、第52回日本心臓病学会学術集会、2004年9月15日 (水)

13) 森下竜一、血管再生医療の最前線：血管再生医療の実現に向けて、第三回再生医療移植研究会、2004年11月24日(水)

14) 森下竜一、HGF 遺伝子による血管再生医療の展開、第8回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2004年11月26日 (金)

15) 梶座康夫、富田奈留也、富田哲也、谷山義明、小池弘美、大塚マリアナ今日美、森下竜一、シマジェットを用いたHGF及びPGIS 遺伝子導入による難知性潰瘍の治療、第8回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2004年11月26日 (金)