

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

強皮症における病因解明と根治的治療法の開発

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 竹原 和彦

平成18年（2006年）3月

## 【目 次】

### 班員名簿

#### I. 総括研究報告

- 強皮症における病因解明と根治的治療法の開発 ..... 1  
主任研究者 竹原和彦（金沢大学皮膚科）

#### II. 分担研究報告

##### 一般研究報告

1. 強皮症に合併する間質性肺病変に対するシクロホスファミド（CY）静注療法の治療効果の検討 ..... 7  
分担研究者 川口鎮司（東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター）  
協力者 梶本明子，高木香恵，立石睦人，原まさ子
2. 強皮症に対するシクロホスファミド静注療法は循環血管内皮前駆細胞を動員する ..... 13  
分担研究者 桑名正隆（慶應義塾大学内科）  
協力者 古屋善章，岡崎有佳，加治賢三，穂山雄一郎  
分担研究者 佐藤伸一  
主任研究者 竹原和彦
3. 強皮症に対するスタチン療法の循環血管内皮前駆細胞に対する効果 ..... 17  
分担研究者 桑名正隆（慶應義塾大学内科）  
協力者 岡崎有佳，鏑木淳一
4. 強皮症に伴う肺高血圧症の当科での治療例 ..... 21  
分担研究者 長谷川稔（金沢大学皮膚科）  
協力者 早川郁子，白崎文朗 藤本 学，安井正英，麦井直樹  
分担研究者 佐藤伸一  
主任研究者 竹原和彦
5. Bosentanが指端潰瘍にも著効した肺動脈性肺高血圧症合併した強皮症の一症例 .... 29  
分担研究者 遠藤平仁（北里大学膠原病・感染内科）  
協力者 田中住明，田中淳一，西 正大，近藤啓文
6. 難治性潰瘍に対するTopical Hemotherapyの工夫とその効果 ..... 33  
研究協力者 室 慶直（名古屋大学皮膚科）  
協力者 富田 靖，杉浦一充，岩山美智子  
主任研究者 竹原 和彦

7. 全身性強皮症における指尖潰瘍・壊死（皮膚潰瘍含）の治療経験 .....	37
研究協力者 佐々木哲雄（国際医療福祉大学熱海病院皮膚科）	
協力者 池澤善郎，高橋一夫，石ヶ坪良明，小林 弘，内田敬久， 山口由衣，小野田雅仁，近藤 恵	
8. 全身性強皮症患者血清中の可溶性CD40値の検討 .....	43
主任研究者 竹原和彦（金沢大学皮膚科）	
分担研究者 佐藤伸一，長谷川稔	
協力者 小村一浩，藤本 学	
9. CD40-CD154シグナル阻害による線維化抑制効果 .....	49
分担研究者 桑名正隆（慶應義塾大学内科）	
協力者 河合正孝	
10. ICAM-1の欠損によりtight skinマウスの皮膚硬化は減弱する .....	55
分担研究者 長谷川稔（金沢大学皮膚科）	
協力者 松下幸世，藤本 学	
分担研究者 佐藤伸一	
主任研究者 竹原和彦	
11. ブレオマイシン誘発肺臓炎モデルにおける細胞接着分子の役割 .....	63
分担研究者 長谷川稔（金沢大学皮膚科）	
協力者 堀川真由香，濱口儒人，藤本 学	
分担研究者 佐藤伸一	
主任研究者 竹原和彦	
12. 肺線維症モデルに対するアンギオテンシン変換酵素阻害薬およびアンギオテンシン受容 体拮抗薬の効果 .....	71
研究協力者 安井正英（金沢大学細胞移植学）	
分担研究者 長谷川稔	
主任研究者 竹原和彦	
13. 強皮症患者におけるCD1dアイソフォームとNKT細胞反応性の解析 .....	79
分担研究者 後藤大輔（筑波大学内科）	
協力者 松本 功，伊藤 聡，堤 明人，住田孝之	
14. 全身性強皮症におけるBAFFの発現異常 .....	87
分担研究者 長谷川稔（金沢大学皮膚科）	
協力者 松下貴史，藤本 学	
分担研究者 佐藤伸一	
主任研究者 竹原和彦	

15. 全身性強皮症におけるB細胞機能分子多型の検討 ..... 97  
 研究協力者 土屋尚之 (東京大学人類遺伝学)  
 協力者 人見祐基, 川崎 綾, 藤本 学, 徳永勝士  
 分担研究者 佐藤伸一, 長谷川稔  
 主任研究者 竹原和彦
16. TGF- $\beta$  シグナルの低分子化合物による抑制 ..... 103  
 分担研究者 宮園浩平 (東京大学分子病理学)  
 協力者 今村健志, 野出 學  
 主任研究者 竹原和彦
17. 骨髄由来細胞の分化誘導に基づく臓器線維症の治療戦略 ..... 109  
 研究協力者 稲垣 豊 (東海大学基盤診療学系)  
 協力者 東山礼一, 岡崎 勲  
 主任研究者 竹原和彦
18. 皮膚線維化におけるCTGFとc-Mycの関連 ..... 115  
 協力者 藤本 学 (金沢大学皮膚科)  
 協力者 近藤美幾, 白崎文朗  
 主任研究者 竹原和彦
19. Hepatocyte Growth FactorのMatrix Metalloproteinase-1発現誘導作用の機序の検討  
 ..... 121  
 分担研究者 尹 浩信 (熊本大学皮膚科)  
 協力者 神人正寿, 玉置邦彦
20. 汎発性強皮症患者由来皮膚線維芽細胞におけるc-SkiおよびSnoNの発現 ..... 127  
 分担研究者 尹 浩信 (熊本大学皮膚科)  
 協力者 神人正寿, 玉置邦彦
21. Sphingosine kinase-1は、TNF  $\alpha$  - NF- $\kappa\beta$ , JNKシグナル伝達経路を介して  
 ヒト  $\alpha 2(I)$  コラーゲン遺伝子の転写活性を制御している ..... 133  
 分担研究者 石川 治 (群馬大学皮膚科)  
 協力者 山中正義  
 主任研究者 竹原和彦
22. ヒト皮膚線維芽細胞におけるEGFによる I 型コラーゲン発現抑制の機序について  
 ..... 141  
 分担研究者 尹 浩信 (熊本大学皮膚科)  
 協力者 三村佳弘, 浅野善英, 神人正寿, 山根謙一, 玉置邦彦
23. IL-13による皮膚線維芽細胞における I 型コラーゲン遺伝子発現亢進の機序の検討  
 ..... 149  
 分担研究者 尹 浩信 (熊本大学皮膚科)  
 協力者 神人正寿, 山根謙一, 玉置邦彦

24. 強皮症線維芽細胞におけるトロンボスポンジン I の発現について .....	155
分担研究者 尹 浩信 (熊本大学皮膚科)	
協力者 三村佳弘, 浅野善英, 神人正寿, 山根謙一, 玉置邦彦	
25. ヒト線維芽細胞の細胞外基質関連蛋白産生に対するシクロスポリンの影響 .....	165
分担研究者 石川 治 (群馬大学皮膚科)	
協力者 安部正敏, 曾我部陽子, 横山洋子, 周東朋子, 石渕裕久	
主任研究者 竹原和彦	
26. タクロリムスによる強皮症線維芽細胞のIL-1 $\alpha$ 産生抑制 .....	173
分担研究者 川口鎮司 (東京女子医大リウマチ痛風センター)	
協力者 原 まさ子, 栃本明子, 副島 誠, 菅野朗子	
27. Nodular Sclerodermaにおける、CTGF, HSP47の発現の検討 .....	179
研究協力者 山本俊幸 (東京医科大学皮膚科)	
28. 全身性強皮症皮膚における各種virus DNAについての検討 .....	183
研究協力者 大塚 勤 (獨協医大越谷病院皮膚科)	
協力者 山崎雙次	
29. 全身性強皮症における血清中酸化ストレスマーカー8-isoprostane値の臨床的意義 .....	191
分担研究者 佐藤伸一 (長崎大学皮膚科)	
協力者 小川文秀, 清水和宏, 室井栄治, 原 肇秀	
30. 全身強皮症における血中Nitrotyrosin値の検討 .....	197
分担研究者 佐藤伸一 (長崎大学皮膚科)	
協力者 清水和宏, 小川文秀	
31. 全身性強皮症における血清COMP測定 of 臨床的有用性 .....	203
分担研究者 高橋裕樹 (札幌医科大学第一内科)	
協力者 山本元久, 鈴木知佐子, 嵯峨賢次	
32. ヒトprothrombin特異的phosphatidylserine依存性抗prothrombin抗体測定法の 開発とその臨床的意義 .....	209
研究協力者 山崎雅英 (金沢大学血液内科)	
分担研究者 長谷川稔	
主任研究者 竹原和彦	
33. 重症心筋障害合併強皮症の経過観察における血清心筋マーカー測定 of 意義 .....	217
分担研究者 遠藤平仁 (北里大学膠原病・感染内科)	
協力者 星 健太, 西 正大, 田中住明, 近藤啓文	

34. 全身性強皮症における食道通過障害: 流動食と固形食を用いた動態解析 .....	223
研究協力者 中嶋憲一 (金沢大学核医学診療科)	
35. <sup>13</sup> C標識脂肪酸吸収呼吸気試験を用いた全身性強皮症腸管病変の 経過の把握に関する定量的評価 .....	229
分担研究者 遠藤平仁 (北里大学膠原病・感染内科)	
協力者 星 健太, 吉田 秀, 田中住明, 近藤啓文	
36. 日本人強皮症患者におけるHAQと臓器別重症度との相関 .....	233
研究協力者 室 慶直 (名古屋大学皮膚科)	
協力者 富田 靖, 杉浦一充, 森田有紀子	
主任研究者 竹原和彦	
37. 全身性強皮症における手指ストレッチングの効果 - 関節可動域とHAQによる検討 .....	239
研究協力者 麦井直樹 (金沢大学リハビリテーション部)	
分担研究者 佐藤伸一, 長谷川稔	
協力者 生田宗博, 立野勝彦, 西 悦子, 沢崎詩織, 藤本 学	
主任研究者 竹原和彦	
38. 汎発性強皮症における原発性胆汁性肝硬変合併例の長期的臨床検討 .....	245
研究協力者 矢澤徳仁 (東京大学皮膚科)	
協力者 浅野善英, 神人正寿, 三村佳弘, 玉城善史郎, 富田 学, 玉置邦彦	
39. 小児全身性強皮症の1例 .....	249
分担研究者 石川 治 (群馬大学皮膚病態学)	
協力者 青山久美, 遠藤雪恵, 永井弥生	
40. 偽性腸閉塞を併発した全身性強皮症の1例 .....	253
研究協力者 佐々木哲雄 (国際医療福祉大学附属熱海病院皮膚科)	
協力者 矢田佳子, 伊東祥雄, 小林照子, 唐澤英偉	
41. エンドセリン受容体拮抗薬ボセンタンによる薬疹を生じた 重症肺高血圧症合併全身性強皮症 .....	259
分担研究者 石川 治 (群馬大学皮膚病態学)	
協力者 永井弥生, 山中正義	

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

強皮症に関する調査研究班（強皮症における病因解明と根治的治療法の開発）

班 員 名 簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主任研究者	竹原 和彦	金沢大学大学院医学系研究科血管新生・結合組織代謝学 (皮膚科学)	教 授
分担研究者	宮園 浩平	東京大学大学院医学系研究科分子病理学	教 授
	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚病態学	教 授
	佐藤 伸一	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学	教 授
	尹 浩信	熊本大学大学院医学薬学研究部皮膚機能病態学	教 授
	遠藤 平仁	北里大学医学部膠原病・感染内科学	助教授
	桑名 正隆	慶應義塾大学医学部内科学教室リウマチ内科	助教授
	川口 鎮司	東京女子医科大学附属病院膠原病リウマチ痛風センター	講 師
	後藤 大輔	筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床免疫学	講 師
	長谷川 稔	金沢大学医学部附属病院皮膚科	講 師
	高橋 裕樹	札幌医科大学第一内科	講 師
研究協力者	佐々木哲雄	国際医療福祉大学附属熱海病院皮膚科	教 授
	室 慶直	名古屋大学大学院医学系研究科皮膚結合組織病態学	助教授
	稲垣 豊	東海大学医学部地域・環境保健系地域保健学	助教授
	大塚 勤	獨協医科大学越谷病院皮膚科	助教授
	土屋 尚之	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室	助教授
	山本 俊幸	東京医科大学附属病院皮膚科	助教授
	中嶋 憲一	金沢大学医学部附属病院核医学診療科	講 師
	安井 正英	金沢大学医学部附属病院呼吸器内科（第三内科）	講 師
	山崎 雅英	金沢大学医学部附属病院血液内科（第三内科）	助 手
	麦井 直樹	金沢大学医学部附属病院リハビリテーション部	作業療法士

# I. 総括研究報告



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総括研究報告書

強皮症における病因解明と根治的治療法の開発

主任研究者	竹原 和彦	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学教授
分担研究者	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚病態学教授
分担研究者	宮園 浩平	東京大学大学院医学系研究科分子病理学教授
分担研究者	佐藤 伸一	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学教授
分担研究者	尹 浩信	熊本大学大学院医学薬学研究部皮膚機能病態学教授
分担研究者	遠藤 平仁	北里大学医学部膠原病・感染内科学助教授
分担研究者	川口 鎮司	東京女子医科大学附属病院膠原病リウマチ痛風センター講師
分担研究者	桑名 正隆	慶應義塾大学医学部内科助教授
分担研究者	後藤 大輔	筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床免疫学講師
分担研究者	長谷川 稔	金沢大学医学部附属病院皮膚科講師
分担研究者	高橋 裕樹	札幌医科大学第一内科講師

A. 研究目的

強皮症は、その病名の示すごとく、「皮膚硬化」を主徴とし、更には肺、消化管、心、腎などの全身諸臓器に線維化をきたす全身疾患である。

本症の線維化の機構については、①免疫学的側面、②コラーゲン代謝、③サイトカイン異常、④血管障害、⑤遺伝的背景、⑥環境要因の関与などが想定されるものの、これらの異常がどのように関連しているのか、明確な一元的仮説は確立していない。また、治療に関しても、さまざまな対症療法薬の進歩はみられるものの、ターゲットを特定の分子に絞った根治的治療法の確立には至っていない。

本研究では、強皮症のエキスパートを集約するとともに、基礎研究領域よりも数名のエキスパートを加え、幅広い見地よりの研究チームを構成し、難治性疾患である本症の病因的解明と根治的治療法の確

立に努めることを計画した。

1. 研究及び基礎的治療研究

昨年までに得られた結果をもとに、病因研究としての基礎研究の一部においては、すでに治療のターゲットとなる分子を想定して実験が重ねられた。

(1)免疫担当細胞の活性化の機構の解明と基礎的治療研究

昨年、我々は、これまで自己免疫疾患においてあまり注目されていなかったB細胞異常について、ヒト患者ではCD19の発現の亢進、モデルマウスであるTSKマウスではCD19のリン酸化の異常を見い出したが、本年度は治療ターゲットとしてのB細胞活性化分子の制御、特にBAFF発現異常及びCD22遺伝多型を中心に検討した。

(2)病変部由来線維芽細胞の活性化の機構の解明と基礎的治療研究

これまで、TGF- $\beta$ による活性化機構（TGF- $\beta$ レセプターの発現増強と TGF- $\beta$ 細胞情報伝達因子である smad ファミリーについての検討、CTGFによりコラーゲン遺伝子活性化の検討）の解明を目指し、それらの阻害薬のスクリーニングを行う。

### (3)強皮症動物モデルの確立と基礎的治療研究への応用

以下の4つの強皮症動物モデルを用いて、線維化機構の解明とそれらの阻害薬となるターゲットの因子を見い出す。

#### 2. 臨床研究

##### (1)重症型の全身性強皮症の長期経過を解析するための多施設共同研究

強皮症の臨床研究において、現在、我が国で最も必要と考えられるのは、エキスパートによって、十分な検討が加えられた詳細な臨床データの長期的な蓄積である。しかしながら、本症は比較的まれな疾患であり、diffuse SSc に分類される重症例の多数例のデータを集積するためには、単独の施設ではなく、症例数の豊富なエキスパート施設よりのデータを10年以上に及んで蓄積し、予後を左右する因子や治療成績などを解析することが必要と考えられる。

我々は、昨年度より、主任研究者及び分担研究者9施設より、毎年、初診かつ早期のdiffuse SScの症例を詳しいデータシートとともに事務局に登録し、さらに毎年のデータを蓄積するプロジェクトを開始した。今後、重症例の長期的予後を左右する因子、日本人における自然経過、日本人重症例の臨床像の欧米人との比較、治療による予後の差、治療薬の効果と副作用、合併症の頻度と予後に対する影響などさまざまな方向より検討を続けることとした。

なお、本研究班の期間終了後も次期の班、あるいは強皮症研究会議でデータベースの蓄積を継続し、最低でも20年及ぶ長期的プロジェクトとして継続

していく予定である。

##### (2)臓器別病変に対する既存の治療法の応用と評価

本年度は肺高血圧症、早期肺線維症、血管障害の3つに焦点を当て、各施設での臨床データを班全体として集計し、検討する。

## B. 研究方法と成果

### 1. 病因研究

##### (1)免疫担当細胞の活性化の機構の解明と基礎的治療研究

前年度までの本研究班で見い出されたB細胞の活性化の機構の解明のために、患者血液中B細胞の異常について更に検討したところ、本症においてB細胞の活性化因子であるBAFFの活性化を見い出した。更に過去に報告したB細胞活性化分子であるCD19の遺伝多型に加えて、抑制因子であるCD22の遺伝多型も見い出した（土屋、佐藤）。以上より、B細胞の活性化を抑制する薬剤、例えば既にB細胞リンパ腫の治療薬として認可されている抗CD20モノクローナル抗体であるリツキサンの本症治療薬としての可能性が示された。

更に、ICAM-1の欠損により、強皮症モデルマウスであるTSKマウスの皮膚硬化が減弱することを見い出したことより、ICAM-1も本症の治療ターゲットとなることが示された（長谷川）。

##### (2)病変部由来線維芽細胞の活性化の機構の解明と基礎的治療研究

病変部由来線維芽細胞は、これまでの研究で主としてTGF- $\beta$ とCTGFの二つのサイトカインの刺激によって活性化されていることが示されてきたが、本年度は、*in vitro*におけるTGF- $\beta$ による活性化の阻害を目的で種々の基礎的治療研究が達成された。

まず、TGF- $\beta$  I型レセプターのキナーゼ活性を特異的に阻害する低分子化合物A-83-01が見い出され、

外用薬及び内服薬として本症治療に応用しうることが示された（宮園）。

また、CTGFの線維化維持作用の機構が*in vitro*の実験系でc-Mycの抑制を介するものであることが示された（竹原）。

更に、強皮症病変部由来皮膚線維芽細胞の活性化機構についても詳細に検討され、C-Ski, SnoN, thrombospondin-1, IL-1, IL-13などの関与が新たに明らかにされた（尹）。

### (3)強皮症動物モデルの確立と基礎的治療研究への応用

①TGF- $\beta$ およびCTGF皮下注入におけるマウス線維化モデルにおける抑制薬の開発を目指し、DNA免疫法による抗ヒトCTGFモノクローナル抗体が確立され、動物モデルでの抑制が確認された（竹原）。

②TSKマウスにおいてICAMの欠損により、皮膚硬化の抑制がみられ、線維芽細胞に発現されるICAMそのものが治療ターゲットとなることが示された（長谷川）。

③ブレオマイシン誘導性肺線維症において、E-selectin及びP-selectinの抑制は予想に反して線維化を抑制し、両接着因子の顆粒因子が治療薬となりうることが示された（長谷川、竹原）。また、ACE阻害薬及びアンギオテンシン受容体拮抗薬では肺線維症の抑制がみられたことより、臨床の場においても高容量投与によって肺線維症が抑制しうる可能性が示された（安井、竹原）。

## 2. 臨床研究

### (1)重症型の全身性強皮症の長期経過を解析するための多施設共同研究

9施設より4年間で計92例の登録があり、詳細なデータの蓄積が開始された。次年度は死亡例についての解析を行う予定である。

### (2)臓器別治療法の確立

#### ① 肺線維症

早期肺線維症に対するシクロフォスファミドパルス療法の有用性が金沢大及び東京女子医大より報告され、長期予後も良好であることが確認された（竹原、川口）。

#### ② 肺高血圧症

致命的とされてきた肺高血圧症に対してED治療薬であるシルデナフィル及びエンドセリンレセプター阻害薬であるボセンタンの有効性が金沢大及び北里大より報告された（長谷川、竹原、遠藤）。

#### ③ 血管病変

循環血管内皮前駆細胞（CEP）の減少がこれまでの班研究で報告されてきたが、シクロフォスファミドパルス療法及びスタチン療法の有効性が報告された（桑名）。

## C. 今後の展望

本研究の成果に基づき

① 大量免疫グロブリン静注療法の臨床試験（日本ベネシス社）。

② びまん性皮膚硬化型全身性強皮症特異抗体である抗RNAポリメラーゼ抗体測定法の保険収載のための臨床試験（SRL社）。

③ 膠原病合併肺高血圧症に対するシルデナフィルの適応追加申請準備中（ファイザー社）。

などが進行しており、これらを本研究班メンバーが中心となりサポート、推進していく予定である。

更に、抗TGF- $\beta$  Iレセプター阻害薬A-83-01及び抗ヒトCTGFモノクローナル抗体の効果を早急に動物モデルで検証し、臨床応用へ発展させたい。

## II. 分担研究報告

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

**強皮症に合併する間質性肺病変に対するシクロホスファミド(CY)**

**静注療法の治療効果の検討**

分担研究者

川口鎮司 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター講師

協力者

栃本明子 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター助手

高木香恵 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター助手

立石睦人 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター講師

原まさ子 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター教授

## 研究要旨

全身性強皮症は、多臓器の線維化を主症状とする疾患であるが、特に、肺の線維化病変は、その生命予後を考えるうえに、最も重要な合併症と位置づけられている。間質性肺病変を合併することを予測する血清学的指標として、抗 DNA topoisomerase I 抗体があり、この自己抗体陽性患者では、高頻度に間質性肺病変を合併してくる。そのため、肺病変に関しては、無症候性の時期から検索を行ない、早期から診断が可能となってきた。しかしながら、早期においても間質性肺病変を治療することは困難と考えられていた。昨年、1年間の我々の検討では、シクロホスファミド点滴静注療法は有効であった。今回の我々の検討では、早期の活動性を有する強皮症合併間質性肺病変に対して、シクロホスファミドの点滴静注療法が 2 年間の期間においても有用性が高いことが示され、長期に効果が認められることが明らかとなった。

## A. 研究目的

全身性強皮症では半数以上に肺線維症が認められ、間質性の肺病変は、生命予後を決定する重要な内臓病変の一つと考えられている。特に、欧米と比較し、腎病変の頻度が少ない日本人においては、治療の観点から最も重要な合併症と考えられている。未だに強皮症の間質性肺病変に対する治療法は確立されていないが、近年、有効であったとされる治療法の報告が欧

米からなされている。特に 2005 年の米国リウマチ学会において、米国、英国より、プラセボをコントロールとした1年間のシクロホスファミドの治療成績が発表された。早期での治療効果はプラセボと比較し、有意に高かった。日本人に対する評価は、今のところ、施設により一定しておらず、まとまった報告も少ない。そこで、昨年に引き続き、我々は、活動性のある初回治療の間質性病変を選び、シクロホスファミド点滴静注療法を行ない、

2年後までの結果が得られたので報告する。

## B. 研究方法

対象は、2000年以降に東京女子医科大学附属青山病院にて入院加療を受けた方で、強皮症と診断され、活動性のある間質性肺病変を有していた症例とした。全例が、過去にシクロホスファミドの点滴静注療法をうけたことの無い症例とした。10例の患者の背景を表1に示す。肺病変の活動性の評価は、自覚症状の悪化、胸部CTでのスリガラス陰影を伴った間質陰影の出現の2項目を満たし、それ以外に、肺泡洗浄液中のリンパ球または好酸球の増加、血液酸素濃度または呼吸機能検査の悪化、血清KL-6の悪化の3項目のうち少なくとも1項目を満たすものとした。治療は、シクロホスファミドの点滴静注療法(400 mg/m<sup>2</sup>/month)を6クールと中等量プレドニソロン(30-40 mg/day)の内服併用療法を行なうこととした。プレドニソロンは、投与後、1ヶ月目より週に2.5-5 mgの減量を行ない、10 mg/dayでの維持療法を行なった。

評価は、治療開始時、3ヶ月後、6ヶ月後、12ヶ月、24ヶ月後にて、自覚症状、CT所見、%VC、血清KL-6のそれぞれの項目を、表2に示すようなスコアで行なった。

## C. 研究結果

### 1) 自覚症状

図1に示すように、12ヶ月目までは全例で、自覚症状の改善があったが、24ヶ月目までに、症例4、5にて自覚症状の悪化がみられた。

### 2) 胸部CT所見

図2に示すように、治療により、全例で、スリガラス陰影の改善がみられたが、24ヶ月の間に、症例4、5にて再燃が認められた。

### 3) %VC (vital capacity)の評価

図3に%VCの継時的な測定の結果を示します。24ヶ月の間に、症例4のみ悪化を示した。

### 4) 血清KL-6

図4に示すように、症例3, 4, 5で上昇を認めた。症例4, 5では治療後24カ月の観察期間で再燃を呈しており、KL-6の改善がみられない症例では再発の危険性が高いことが推測された。

### 5) 総合評価

4項目の評価項目の平均を継時的に表した。図5に示すように多くの症例で改善が認められ、症例4, 5にて再発がみられた。

### 6) 安全性の評価

シクロホスファミドの副作用として報告されている出血性膀胱炎や心筋障害は今回のプロトコールでは一例も認められなかった。

## D. 考案

強皮症に合併した間質性肺病変に対する治療として、d-ペニシラミンの有効性が低いことが推定されて以来(1)、コルチコステロイド大量療法やシクロホスファミド免疫抑制療法が試みられている(2-5)。日本人での強皮症合併間質性肺病変にたいする免疫抑制療法の検討は今までのところ報告が少ない。以前我々が検討したシクロホスファミド点滴静注療法群とステロイド大量療

法群との比較では、12カ月後に、ステロイド大量療法群で間質性肺病変の再発が高頻度にみられ、シクロホスファミド治療群では、再発がみられなかった。そこで、シクロホスファミドの静注療法を前向きに検討した。一方、シクロホスファミド単独治療群と、シクロホスファミドとステロイドの併用群の比較検討は我々の施設では行なわれていない。欧米でステロイドの併用が有効であったとする論文(6)があることより、今回の検討では、より治療効果が高い治療法を検討するため、併用治療法を選択した。昨年報告した12カ月でのシクロホスファミドとプレドニソロン中等量内服療法は、有効性が認められた。しかしながら、24ヶ月の期間では、10例中、2例に再発を認めている。この2症例の特徴としては、自覚症状やCTでの再燃所見より早く、KL-6の上昇が認められていた。KL-6の上昇は、再燃の良い指標となることが示唆された。

## E. 結論

シクロホスファミド点滴静注療法と中等量ステロイド内服療法は、2年間の観察期間においても、強皮症に合併する活動性間質性肺病変に有効な治療法であり、安全性も高いと考えられた。しかしながら、再発する症例があり、再発を早期に予測し、再発症例に対する治療法も検討して行く必要があると考える。

## F. 文献

1. Clements PJ, Furst DE, Wong WK, Mayes M, White B, Wigley F, Weisman MH, Barr W, Moreland LW, Medsger TA Jr, Steen V, Martin RW, Collier D, Weinstein A, Lally E, Varga J, Weiner S, Andrews B, Abeles M, Seibold JR. 1999. High-dose versus low-dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis: analysis of a two-year, double-blind, randomized, controlled clinical trial. *Arthritis Rheum* 42:1194
2. Giacomelli R, Valentini G, Salsano F, Cipriani P, Sambo P, Conforti ML, Fulminis A, De Luca A, Farina G, Candela M, Generini S, De Francisci A, Tirri E, Proietti M, Bombardieri S, Gabrielli A, Tonietti G, Cerinic MM. 2002. Cyclophosphamide pulse regimen in the treatment of alveolitis in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 29:731
3. Davas EM, Peppas C, Maragou M, Alvanou E, Hondros D, Dantis PC. 1999. Intravenous cyclophosphamide pulse therapy for the treatment of lung disease associated with scleroderma. *Clin Rheumatol* 18:455
4. Griffiths B, Miles S, Moss H, Robertson R, Veale D, Emery P. 2002. Systemic sclerosis and interstitial lung disease: a pilot study using pulse intravenous methylprednisolone and cyclophosphamide to assess the effect on high resolution computed tomography scan and lung function. *J Rheumatol* 29:2371
5. White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA. 2000. Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with

scleroderma and alveolitis. Ann Intern Med 132:947

6. Pakas I, Ioannidis JP, Malagari K, Skopouli FN, Moutsopoulos HM, Vlachoyiannopoulos PG. 2002. Cyclophosphamide with low or high dose prednisolone for systemic sclerosis lung disease. J Rheumatol 29:298

表 1 患者背景

症例	性	年齢	type	罹病期間	自己抗体
1	F	50	D	1年	Topo-I
2	F	73	D	1年	ANA
3	F	54	D	9年	陰性
4	F	55	D	9年	Topo-I, CENP
5	M	64	D	1年	Topo-I
6	F	49	D	7ヶ月	Topo-I
7	F	47	L	7ヶ月	U1-RNP
8	F	67	D	10ヶ月	ANA
10	F	52	D	10ヶ月	U1-RNP, CENP
12	F	64	D	8年	Topo-I

D=Diffuse cutaneous SSc, L=Limited cutaneous SSc

表 2 強皮症に併発する間質性肺病変の評価基準

自覚症状				
息切れのため外出不能	5	%VC	<50	5
100m以上の連続での平地歩行困難	4		50≤, <60.4	
平地歩行はできるが息切れを感じる	3		60≤, <70.3	
坂、階段の昇降でのみ息切れを感じる	2		70≤, <80.2	
乾性咳嗽症状がある	1		80≤, <90.1	
特に息切れを感じない	0		90≤	0
CT所見				
全肺野に拡がる間質陰影	4	KL-6	2500≤	5
下肺野から中肺野	3		2000≤, <2500	4
下肺野に限局	2		1500≤, <2000	3
横隔膜に接した部分のみ	1		1000≤, <1500	2
間質陰影の消失	0		500≤, <1000	1
スリガラス陰影がある場合	+1		<500	0



図 1

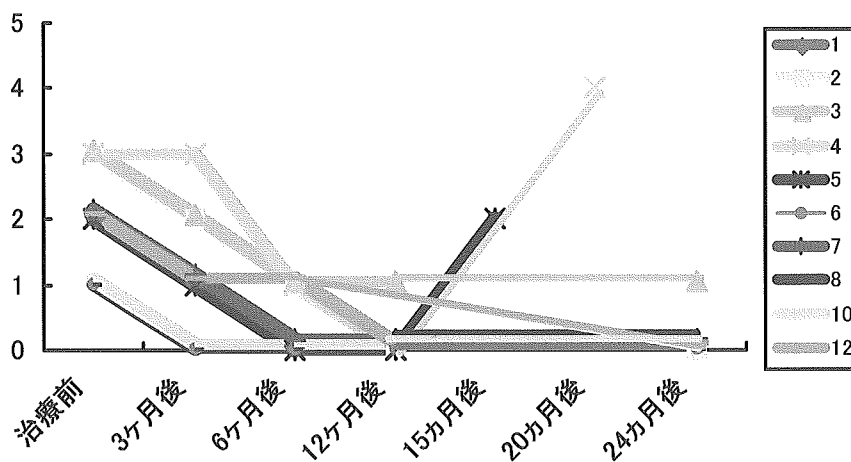


図1. 治療経過での自覚症状の推移

図 2

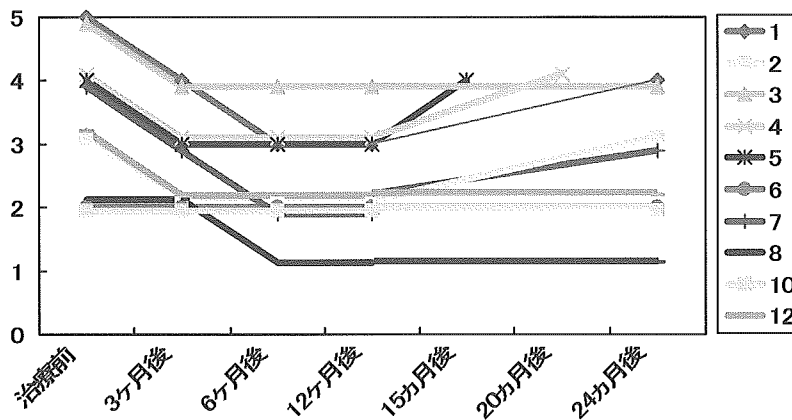


図2. 治療経過での胸部高感度 CT の推移

図 3

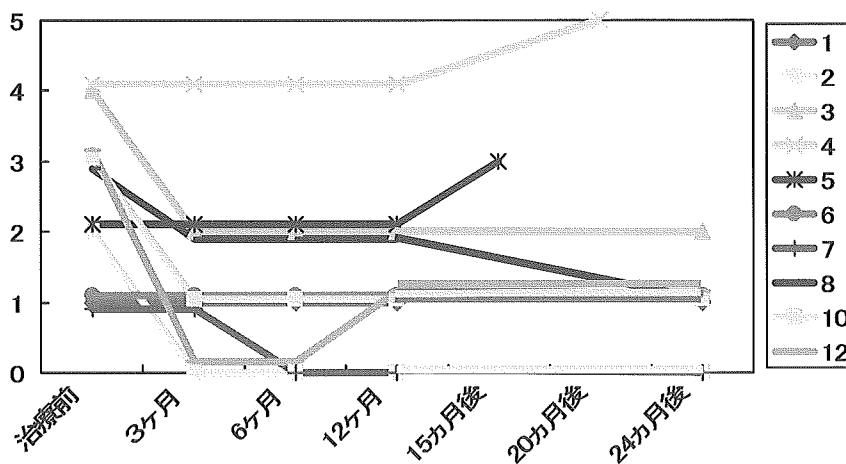


図3. 治療経過での%VC の推移

図4

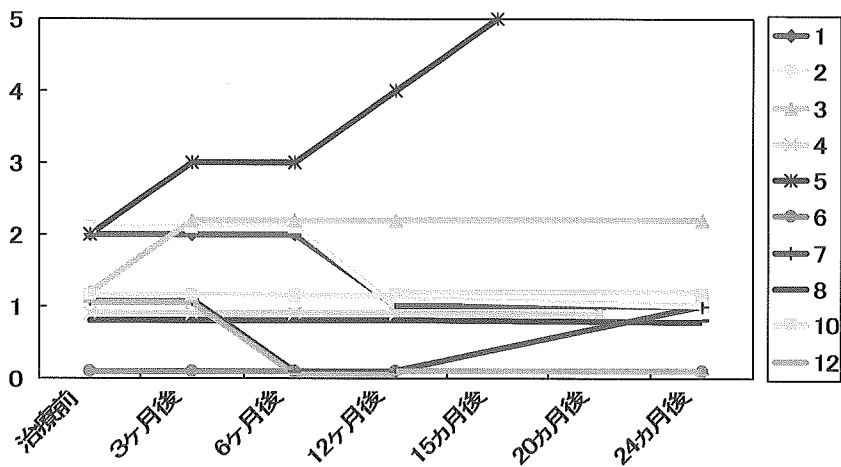


図4. 治療経過での血清 KL-6 の推移

図5

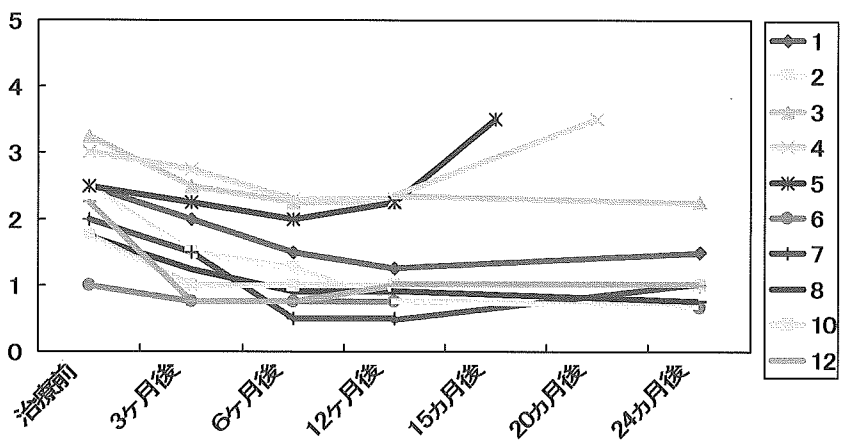


図5. 治療経過での総合評価

治療評価の4項目を平均化して各症例の推移を示した。

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

## 強皮症に対するシクロホスファミド静注療法は循環血管内皮前駆細胞を動員する

分担研究者 桑名正隆 慶應義塾大学医学部内科助教授  
協力者 古屋善章 慶應義塾大学大学院大学院生  
協力者 岡崎有佳 慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター特別研究助手  
協力者 加治賢三 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学医員  
協力者 穠山雄一郎 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学医員  
分担研究者 佐藤伸一 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学教授  
主任研究者 竹原和彦 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学教授

### 研究要旨

強皮症の間質性肺病変に対するシクロホスファミドの有効性が報告されているが、その効果を示す機序は明らかでない。一方、我々は血管の修復に重要な役割を果たす循環血管内皮前駆細胞（CEP）が強皮症患者で減少し、さらに分化能も障害されていることを明らかにした。そこで、シクロホスファミド間欠静注療法（IVCY）が効果を示す機序の一つとして CEP の末梢血中への動員が関わる可能性を想定した。強皮症の間質性肺病変に対して IVCY を施行した 8 症例を対象とし、新規にステロイドを開始した 5 例をコントロールとした。治療前と投与 2 週間後に CEP 数を測定したところ、IVCY 施行 8 例中 4 例で投与後に CEP が増加したが、ステロイド単独群では CEP 数の変化はみられなかった。また、IVCY 群 6 例で施行前ならびに 6 クール終了後に %VC を比較したところ、CEP 非増加の 1 例でのみ肺機能障害が進行した。したがって、IVCY 療法が効果を示す機序の一つとして CEP の動員を介した組織修復機転が関わる可能性が示された。今後、検討症例数を増やして長期的な効果を検討する予定である。

### A. 研究目的

強皮症の病態は、皮膚や臓器の過剰な線維化、末梢循環障害、血清学的異常に特徴付けられる。末梢循環障害はレイノー現象にとどまらず、壊疽など生命予後を左右する重篤な病態をきたす場合もある。生体内でみられる血管形成機構には vasculogenesis と angiogenesis の 2 つがあり、前者にかかわる骨髄由来の循環血管内皮前駆細胞（CEP）は成人での血管新生や損傷血管の修復に重要な役割を果たすことが近年の研究により

明らかにされた<sup>1)</sup>。そこで我々は、CEP に特徴的な表面マーカー（CD34・CD133・VEGFR2）を用いて定量化するアッセイを確立し、強皮症患者末梢血中で CEP の減少と成熟障害が存在することを報告した<sup>2)</sup>。この結果に基づき、CEP の量的および質的異常が強皮症の末梢循環障害を誘導するという仮説を提唱し、CEP 数の増加あるいは成熟能の改善が新たな治療戦略となる可能性を考えている。

一方、強皮症の間質性肺病変に対してシクロホ

スファミドの有効性が示されているが<sup>3)</sup>、その作用機序は明らかでない。G-CSF に大量シクロホスファミド静注を併用する末梢血造血幹細胞移植の conditioning regimen では、CEP を含む CD34+ 単核球が末梢血中に動員されることが知られている。そこで、我々はシクロホスファミド間欠静注療法 (IVCY) が間質性肺病変に対して効果を示す機序の一つとして CEP の動員が関わる可能性を着想した。本研究では、間質性肺病変に対して IVCY を施行した強皮症患者を対象として、投与前後の CEP 数の変化および間質性肺病変に対する治療効果を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 対象

アメリカリウマチ学会 (ACR) の分類基準<sup>4)</sup> を満たす成人強皮症患者で、本研究班で作成した治療指針<sup>5)</sup> で間質性肺疾患に対して治療の適応となる 8 例を対象とした。すなわち、全例が高解像度 CT 検査ですりガラス様影、%VC  $\geq 50\%$  を満たし、悪性疾患合併例は除外した。IVCY はシクロホスファミド 500~1000 mg を経静脈的に投与し 1 ヶ月の間隔で計 6 回施行した。対象全例が IVCY に加えてプレドニゾン (PSL: 5~25 mg/日) 内服を併用していたため、新規に PSL 内服を開始した 5 症例を対照とした。

### 2. CEP の定量<sup>2)</sup>

末梢血 20ml より単核球を分離し、MACS ビーズ (Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Germany) を用いて CD34+細胞を分離した。CD34、CD133、VEGFR2 に対するモノクローナル抗体を用いて CD34 陽性細胞を三重染色した。フローサイトメトリーにて 3 つのマーカーが陽性となる細胞の割合を求め、FlowCount マイクロビーズ (Beckman-Coulter, Hialeah, FL, USA) を用い

て定量化した。CEP 数は末梢血 20 ml あたりの絶対数で表した。IVCY または PSL 開始 2 週間後の CEP 数が健常人レベル (末梢血 20 ml 中 700 個以上) または前値の 3 倍以上となった場合を「増加」とした。

### 3. IVCY の治療効果判定

IVCY 開始前と 6 クール終了後に %VC を測定し、開始前に比べ 6 クール終了後に 5% 以上低下した例を「肺機能低下例」と定義した<sup>5)</sup>。

### 4. 統計学的解析

治療前後の CEP 数の変化は、paired t-test を用いて検定した。

## C. 研究結果

まず、強皮症患者 1 例で IVCY 施行後の末梢血中の CEP 数の推移 (投与前、投与後 1、3、7、14 日目) を検討したところ、投与 14 日後をピークとした上昇を認めた。さらに、他の 1 例において IVCY 計 6 クール全てで投与前と 2 週間後の CEP 数を調べたところ、5 クールで CEP の増加が観察された。この結果に基づいて、6 クール中のいずれか 1 回につき投与前ならびに投与 2 週間後に CEP を測定することとした。

IVCY 群 8 例とコントロールの PSL 単独投与群 5 例における治療前後の CEP 数の推移を図 1 に示す。統計学的な有意差は示さなかったものの ( $P = 0.07$ )、IVCY 群では投与 2 週間後に CEP が増加する傾向を認め、8 例中 4 例が増加した。

IVCY の肺病変に対する 6 ヶ月後の治療効果を評価し得たのは 6 例であった。CEP 非増加 3 例中 1 例に肺機能低下を認めたが、CEP 増加 3 例は全て肺機能が安定していた。

## D. 考案

少数例での検討であるが、IVCY 後に末梢血の