

CEPが増加するという仮説を支持する成績が得られた。血管内皮が傷害されると、それを修復するために傷害部位からVEGFやbFGFなどの血管新生因子が産生され、骨髄からCEPが動員される。強皮症患者ではこれら血管新生因子の血中濃度が高値であるにもかかわらずCEPの絶対数が少ない<sup>2)</sup>。このことは骨髄でのCEPの分化や放出障害の存在を示唆する。我々は、強皮症患者においてスタチン系薬剤がCEPを増やすことを見出しているが、本研究によりIVCYにも同様の作用があることが示された。従来IVCYは免疫抑制薬に分類されてきたが、強皮症のみならずループス腎炎でも線維化病変の進行を抑制することが知られている。その機序は現時点では不明だが、CEPの動員を介した組織修復に関わる可能性が示唆された。今後、症例数を増やしてIVCYによるCEP数の増加と間質性肺病変の抑制効果との関連を検討していく予定である。

## E. 結論

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に関わる可能性が考えられた。

## F. 文献

1. Urbich C, et al. Endothelial progenitor cells: Characterization and role in vascular biology. *Circ Res.* 2004; 95: 343-353.
2. Kuwana M, et al. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet* 2004; 364: 603-610.
3. Clements PJ, et al. The Scleroderma Lung Study (SLS) shows the beneficial effects of cyclophosphamide over placebo in systemic sclerosis (SSc) patients with active alveolitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52(9): S257.

4. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-590.
5. 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」重症度分類・治療指針試案(2004)

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y. Increase in circulating endothelial precursors by atorvastatin in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* In press.

### 2. 学会発表

桑名正隆、鏑木淳一、岡崎有佳、安岡秀剛、池田康夫: 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. 第49回日本リウマチ学会総会(横浜). 2005. 4.

Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, Yasuoka H, Ikeda Y. Atorvastatin mobilizes circulating endothelial precursors in patients with systemic sclerosis. The 69th Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology (San Diego). 2005. 11.

## H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

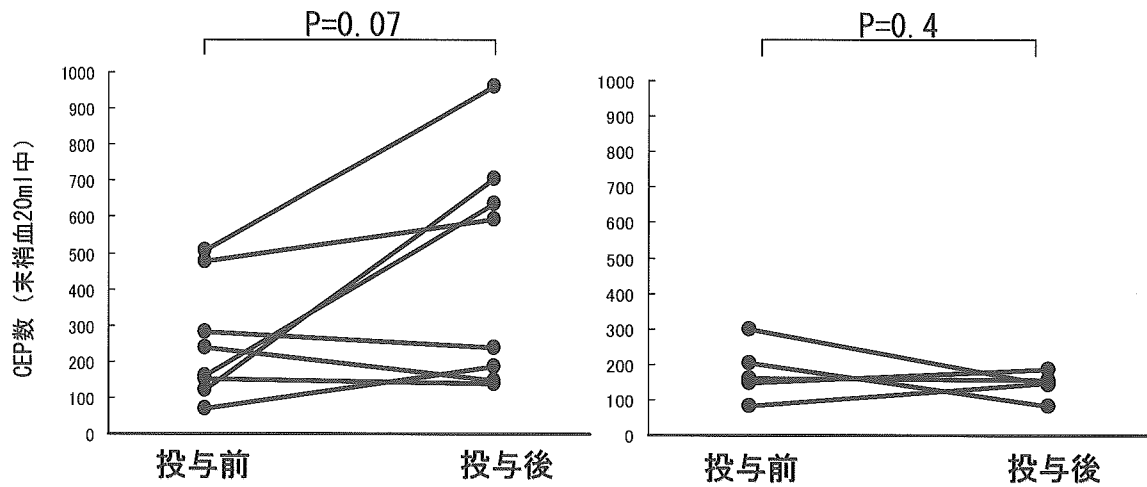


図1. 投与前と投与2週間後の末梢血20ml中のCEP数の変化。

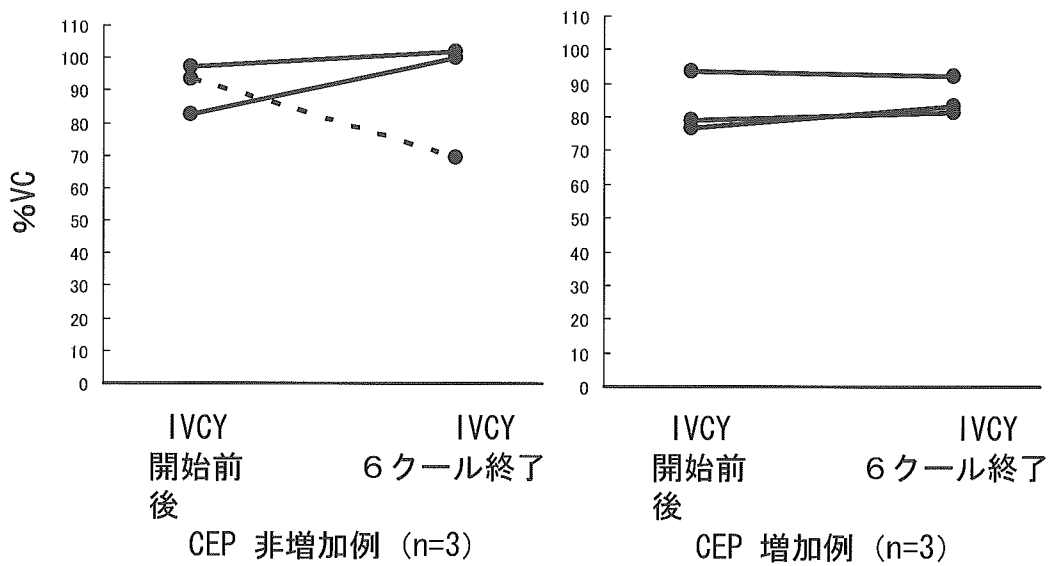


図2. IVCY後のCEP非増加および増加例におけるIVCY開始前と6クール終了後の%VCの変化。IVCY開始前と6クール終了後に肺機能検査を行ったIVCY施行6例のうち、CEP非増加例の1例(点線)で肺機能の低下を認めた。

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

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 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 鏑木淳一 東京電力病院内科科長

研究要旨

近年、成人における血管の修復に骨髄由来の循環血管内皮前駆細胞(CEP)が重要な役割を果たすことが示された。我々は強皮症患者には末梢血中 CEP の減少と成熟障害が存在し、末梢血管病変と関与することを見出した。そこで、昨年度より骨髄から末梢への CEP の動員を誘導する作用が知られているスタチン系薬剤(アトルバスタチン)を強皮症患者に 12 週間投与し、CEP 数および末梢循環障害の程度を経時的に調べる前向きオープン試験を行った。14 例をエントリーしたが、1 例は総コレステロール値が 100mg/dl 未満となったため 8 週で投与を中止し、解析から除外した。アトルバスタチン投与により CEP の増加、Raynaud Condition Score の改善、bFGF など血管新生因子の減少、可溶性 VCAM-1 など血管障害マーカーの減少を認めた。これら変化はアトルバスタチン中止後に前値に戻る傾向を示した。ただし、CEP 数は健常人のレベルまで増加せず、また投与継続中にもかかわらず 13 例中 8 例で CEP が減少傾向となった。したがって、スタチン系薬剤は CEP を動員することで強皮症の末梢循環障害に対して有効なことが示されたが、その効果は限定的と考えられた。本研究結果から、CEP の動員が強皮症に対する新たな治療戦略となることが示された。

A. 研究目的

強皮症では皮膚および内臓諸臓器の線維化に加えてレイノー現象、指尖潰瘍などの末梢循環障害を高率に認める。強皮症に伴う血管病変は病理学的に小動脈レベル以下の動脈における内腔狭窄と血管数減少の 2 つの特徴を有する。従来、成人における傷害血管の修復や血管新生は近傍の成熟血管内皮細胞の増殖と移動により誘導されると考えられてきた。近年、成人におけるこの過程に骨髄由来の循環血管内皮前駆細胞(CEP)が重要な役割を果たすことが明らかにされた<sup>1)</sup>。CEP は末梢血単核球にきわめて少数しか存在しないため、その検出が困難であった。我々は特徴的な表面マーカー

CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup>を用いて CEP を定量化するアッセイ系を確立し、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 の異常が強皮症の末梢血管病変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強皮症の末梢循環障害に対する新たな治療となる可能性を考えた。そこで、骨髄から末梢への CEP の動員を促進する作用が知られているスタチン系薬剤(アトルバスタチン)<sup>3)</sup>を強皮症患者に 12 週間投与し、CEP の増加および末梢循環障害の改善がみられるかを検討する前向きオープン試験を昨年度から開始した。本年度はその最終結果を報告する。

## B. 研究方法

### 1. 対象

アメリカウマチ学会 (ACR) の分類基準<sup>4)</sup>を満たす成人強皮症患者 14 例を対象とした。強皮症の病型、罹病期間、血清総コレステロール値は問わず、文書による同意が得られた患者のみをエントリーした。

### 2. 試験プロトコール

偽薬投与群を設定しないオープン前向き試験とした。強皮症に対して疾患修飾作用を有する可能性がある薬剤 (副腎皮質ステロイド、D-ペニシラミン、ブシラミン、シクロフォスファミド) および血管拡張作用を有する薬剤 (Ca 拮抗薬、プロスタサイクリン製剤、ビタミン E、血小板凝集抑制薬など) の投与を過去 6 ヶ月間変更していない強皮症患者にアトルバスタチン (商品名リピトール) 10mg 朝 1 回を 12 週間投与した。投与開始日、投与期間中 (4、8、12 週)、投与終了後に以下の検討を行った。①末梢血 20ml あたりの CD34<sup>+</sup>細胞数および CEP 数、②血漿中血管新生因子 (VEGF、bFGF)、③血清中血管内皮障害マーカー (可溶性 VCAM-1)、④アンケート調査によるレイノー状態スコア (Raynaud condition score: RCS)、⑤血清肝機能 (AST、ALT、ALP) および CK 値。筋痛、脱力、皮疹などの副作用の可能性のある症状の出現、あるいは総コレステロール値が 100mg/dl 未満となった時点で投与を中止することとした。なお、本研究計画は慶應義塾大学医学部倫理委員会での承認を受けた。

### 2. CEP の定量および分化能の解析<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<sup>+</sup>細胞を分離した。CD34、VEGFR2、CD133 に対するモノクローナル抗体を用いて CD34<sup>+</sup>細胞を三重染色した。CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup>細胞の割合をフローサイトメトリーにより求め、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 20ml あたりの絶対数で表した。CEP の成熟血管内皮への分化能は、VEGF など血管新生因子を含む培地 (EBM-2) 中での 5 日間の培養における vWF 発現細胞の割合により評価した。

### 3. 循環液性因子濃度の測定

血漿 VEGF、bFGF および血清可溶性 VCAM-1 濃度は市販の ELISA キット (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) により測定した。

### 4. 統計学的解析

経時的なパラメータの変化は repeated measures ANOVA (平均±標準偏差) を用いて検討し、有意差 ( $P < 0.05$ ) が得られれば Bonferroni correction を用いて投与前値に対して有意なポイントを検定した。

## C. 研究結果

同意の上で研究にエントリーした 14 例の強皮症患者 (うち 7 例が diffuse 型) のうち、1 例で 8 週時に総コレステロール値が 100mg/dl 未満となったためアトルバスタチンの投与を中止した。そのため、本例を脱落例として以後の解析から除外した。全例で投与期間中に筋症状、皮疹、肝機能障害、CK 上昇などアトルバスタチンとの関連が疑われる有害事象は観察されなかった。表 1 にアトルバスタチン投与前、投与中、中止後の各種パラメータの推移を示す。総コレステロール値は投与期間中に有意に減少した。CEP はアトルバスタチン投与期間中に増加し、中止により減少した。ただし、健常人の CEP 数の平均 (1081/20ml 末梢血) まで増加した症例はなかった。全ての症例で投与期間中に CEP の増加がみられたが、13 例中 8 例はアトルバスタチン継続服用中にもかかわらず 4 週をピークに徐々に CEP 数の減少傾向を認めた。末梢循環障害に基づく臨床症状は RCS により評価した。RCS はアトルバスタチン開始後

に徐々に低下し、12 週目には前値に比べて有意に改善した。また、投与中止後に RCS は悪化した。

末梢血中の血管新生因子の推移を調べると、投与期間中に VEGF はわずかに減少し、中止 4 週間後も低値が持続した。bFGF はアトルバスタチン服用中に顕著に減少し、中止後は前値に戻った。また、血管内皮傷害・活性化マーカーである可溶性 VCAM-1、E-セレクチンはアトルバスタチン投与により有意に減少した。

今回エントリーした 5 例でアトルバスタチン投与前と投与 12 週間後の CEP の分化能を調べたが、いずれの症例も治療前後ともに分化効率は 20%程度で改善を認めなかった。

#### D. 考案

今回の前向きオープン試験により、アトルバスタチン投与により強皮症患者末梢血で CEP が増加することが確認された。また、アトルバスタチン投与中は血管新生因子 (VEGF、bFGF)、血管傷害・活性化マーカー (可溶性 VCAM-1、E-セレクチン) が減少し、レイノー現象の程度 (回数、持続時間および強さ) を反映する RCS も改善した。血管内皮が傷害されると、それを修復するために損傷部位から VEGF、bFGF などの血管新生因子が産生され、骨髄から CEP が動員される<sup>5)</sup>。強皮症患者では VEGF や bFGF など血管新生因子が高値であるにもかかわらず CEP の絶対数が少ない。このことは、骨髄での CEP の分化、放出障害の存在を示唆する。スタチン系薬剤は CEP の幹細胞レベルでの分化、増殖を促進する作用が報告されており<sup>6)</sup>、今回の検討から CEP の質的異常が存在する強皮症においてもある程度の効果を発揮することが示された。CEP が骨髄から動員されれば、末梢における血管新生因子過剰産生が抑制されることが予測され、今回の血中の血管新生因子の推移はこの仮説と一致した。また、血管内皮傷

害・活性化の程度を反映する指標は減少し、CEP の動員により血管内皮の修復が促進された可能性がある。ただし、スタチン系薬剤は抗凝固作用や抗炎症作用などの多面性作用 (pleiotropic effect) を有することが知られ、これら血中因子の推移が CEP の増加による二次的な効果とは断定できない。

一方、強皮症患者に対する常用量のアトルバスタチン投与では CEP 数は健常人レベルまで上昇せず、過半数の症例で継続服用中に CEP 増加効果は減弱した。さらに、アトルバスタチンは強皮症患者にみられる CEP の成熟血管内皮への分化障害を是正しなかった。これらの結果は、スタチン系薬剤の種類や投与量の変更あるいは間欠的投与などの投与法の工夫が必要なることを示すが、スタチン療法の効果の限界を示唆する結果かもしれない。しかし、本研究成果は骨髄から CEP を誘導することが強皮症の末梢血管病変の治療につながる可能性を示すもので、このような手法が新たな治療戦略となることを示した点できわめて有用である。

#### E. 結論

スタチン系薬剤が CEP の誘導を介して強皮症の末梢血管病変に対して有効な可能性が示された。CEP の動員が強皮症に対する新たな治療戦略となることが示された。

#### F. 文献

1. Bhattacharya V, McSweeney PA, Shi Q, et al. Enhanced endothelialization and microvessel formation in polyester grafts seeded with CD34<sup>+</sup> bone marrow cells. *Blood* 2000; 95: 581-5.
2. Kuwana M, Okazaki Y, Yasuoka H, et al. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet* 2004; 364: 603-10.
3. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, et al. Increase

in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2885-90.

4. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-90.
5. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434-8.
6. Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest* 2001; 108: 391-7.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y. Increase in circulating endothelial precursors by atorvastatin in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. In press.

### 2. 学会発表

桑名正隆、鍋木淳一、岡崎有佳、安岡秀剛、池田康夫: 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. 第49回日本リウマチ学会総会 (横浜). 2005. 4.

Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, Yasuoka H, Ikeda Y. Atorvastatin mobilizes circulating endothelial precursors in patients with systemic sclerosis. The 69th Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology (San Diego). 2005. 11.

## H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

表 1. アトルバスタチン投与前後における各種パラメータの推移

	Week 0 (投与前)	Week 4	Week 8	Week 12	Week 16 (投与後)	Overall P
CEP (/20 mL peripheral blood)	132 ± 78	300 ± 188 <sup>†</sup>	295 ± 123 <sup>†</sup>	308 ± 208 <sup>†</sup>	111 ± 55	< 0.0001
RCS	4.41 ± 1.45	3.64 ± 1.46	3.63 ± 1.82	2.95 ± 1.60 <sup>†</sup>	3.39 ± 1.58	0.04
Total cholesterol (mg/dl)	205 ± 36	155 ± 26 <sup>†</sup>	157 ± 23 <sup>†</sup>	158 ± 27 <sup>†</sup>	195 ± 26	< 0.0001
VEGF (pg/mL)	29.7 ± 9.1	29.6 ± 10.1	29.4 ± 8.7	25.8 ± 8.7*	26.3 ± 7.9	0.02
bFGF (pg/mL)	14.3 ± 4.4	10.0 ± 5.4 <sup>†</sup>	10.1 ± 4.4 <sup>†</sup>	9.7 ± 5.7 <sup>†</sup>	12.8 ± 4.8	< 0.0001
Soluble VCAM-1 (ng/mL)	595 ± 189	546 ± 193 <sup>†</sup>	497 ± 173 <sup>†</sup>	517 ± 170 <sup>†</sup>	556 ± 192 <sup>†</sup>	< 0.0001
Soluble E-selectin (ng/mL)	44.7 ± 16.0	42.2 ± 14.4	40.3 ± 13.2 <sup>†</sup>	42.9 ± 15.0	42.9 ± 14.6	0.007

NT, not tested; NS, not significant. \* $P < 0.05$  and <sup>†</sup> $P < 0.01$  compared with week 0.

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

強皮症に伴う肺高血圧症の当科での治療例

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
協力者	早川 郁子	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学
協力者	白崎 文朗	金沢大学医学部附属病院皮膚科講師
協力者	藤本 学	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学助教授
協力者	安井 正英	金沢大学大学院医学系研究科第3内科講師
協力者	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
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

全身性強皮症には肺高血圧症の合併が約6%に認められる。多くの症例では、種々の治療にかかわらず数年以内に死亡するので、全身性強皮症の予後不良因子の一つである。肺動脈性肺高血圧症の治療として、最近エンドセリン受容体拮抗剤のトラクリアが保険収載され、クエン酸シルデナフィルなどのホスホジエステラーゼ5拮抗剤（PDE5阻害剤）が有用であることがわかってきた。金沢大学医学部附属病院に通院中の強皮症患者のうち肺高血圧を有する2例にPDE5阻害剤を、5例にトラクリアを、1例ではPDE5阻害剤にトラクリアの追加投与を行った。これらの症例では、いずれも投与開始から2週間以内に臨床症状の改善や運動機能の改善を認め、問題となる副作用を認めていない。長期投与の有効性と安全性については、今後の検討が必要と思われる。

A. 研究目的

全身性強皮症（systemic sclerosis；SSc）は、皮膚や内臓の線維化と血管病変により特徴づけられる膠原病である。ほとんどの症例には本疾患に特異的な自己抗体が検出され、その発症には自己免疫異常が関与すると考えられている。SScはLeRoyらの分類により、

皮膚硬化が肘関節より末梢に局限したlimited cutaneous SSc（lcSSc）とそれ以外のdiffuse cutaneous SSc（dcSSc）に大きく分類される。一般に予後が不良なのは、皮膚硬化が高度で内臓病変を伴いやすいdcSScであるが、肺高血圧症はdcSScだけでなくlcSScでも生じうる重篤な合併症である。SScには、

肺動脈性肺高血圧症および間質性肺炎から二次性に生じる肺高血圧症の合併が約6%に認められる<sup>1</sup>。その頻度は高くないが、多くの症例で、種々の治療にかかわらず、労作時息切れを自覚してから数年以内に死亡するので、全身性強皮症の予後不良因子の一つと考えられている。SScに伴う肺高血圧症の病因は明確にされていないが、血管内皮細胞の障害、肺泡低酸素に伴う血管攣縮、エンドセリン-1 (ET-1) などの血管収縮物質の産生亢進や線維化による血管内腔の狭小化などが関与していると考えられている<sup>2</sup>。我々は、金沢大学附属病院に通院中のSSc患者にみられた肺高血圧症に対して、新規の治療薬であるホスホジエステラーゼ5型 (phosphodiesterase type 5 ; PDE5) 阻害剤、エンドセリン受容体拮抗剤の効果と安全性を検討した。

#### <PDE 5 阻害剤>

クエン酸シルデナフィル (シルデナフィル、商品名バイアグラ) は PDE5 を阻害し、cGMP の分解を抑制することにより陰茎血管を拡張するため、勃起不全の治療薬として認可されている。しかし、PDE5 は陰茎血管以外に肺血管にも多く分布しているため、シルデナフィル投与が肺血管を拡張し、肺高血圧症に有効であることが明らかとなり、最近米国では Ravatio の名前で肺高血圧治療薬として認可された。実際、シルデナフィル1回投与により肺血管抵抗の低下や動脈血酸素分圧の増加がみられ、大動脈圧には影響を及ぼさないことが報告されている<sup>3,4</sup>。シルデナフィルを肺高血圧症患者に5ヶ月間連日投与した最近の報告では、肺動脈圧の低下と6分間歩行距離

の増加がみられたが、有意な副作用は認められていない<sup>5</sup>。また、我々は2例のSSc女性患者に合併した肺動脈性肺高血圧症に対し、本剤が6ヶ月の観察期間の間、有効かつ安全であったことを報告した<sup>6</sup>。

#### <エンドセリン受容体拮抗剤>

ET-1 は、肺血管の平滑筋細胞や内皮細胞で豊富に合成される循環調節ペプチドのひとつで、肺血管平滑筋細胞のエンドセリン受容体 A を介して肺血管の収縮や平滑筋細胞の増殖を促進させる作用を持っているが、肺高血圧患者の血管内皮細胞では ET-1 が過剰に発現していることが報告されている<sup>7</sup>。トラクリアはエンドセリン受容体 A と受容体 B の両方の拮抗剤で、肺動脈収縮抑制、血管平滑筋収縮抑制などの効果を有している<sup>8</sup>。2005年6月に本邦でもトラクリアが重症の肺動脈性肺高血圧症に保険収載された。

金沢大学附属病院でSSc患者の肺高血圧症にPDE5阻害剤またはエンドセリン受容体拮抗剤の投与を行った症例について、現在までの経過を報告する。なお、PDE5阻害剤については、肺高血圧症に保険収載がなされていないため、当院倫理委員会の承認を受け、文書による同意を得て投与を行った。

## B. 症例

症例1は56歳女性。13年前 Raynaud現象で初発し、抗セントリオール抗体が陽性。初診時のmodified Rodnan total skin thickness score (mTSS) は2点で、右手指の屈曲制限、爪上皮出血点、指尖潰瘍を認めた。胸部CTで



は肺線維症を認めず、呼吸機能検査では%VCは81.2%と正常、%DLcoは33.4%と低下していた。ベラプロストナトリウム1日180mgとワルファリンカリウムを内服していたが、収縮期右室圧は69mmHgで、NYHA心機能分類はIII、すなわち軽度の身体活動でも息切れが出現する状態であった。

クエン酸シルデナフィル 50mg を投与開始して、間もなくから半年後まではドップラー心エコーによる推定収縮期右室圧の低下や6分間歩行距離の延長が続き、自覚症状として明らかな息切れや咳の改善がみられた(図1A)。しかし、1年後には症状の悪化がみられるようになり、シルデナフィルを50mgから75mgに増量した。増量により6分間歩行距離は延長したが、推定右室圧は次第に増加し、2年後の時点でトラクリアを追加投与した(図1B)。その後、推定右室圧の低下と6分間歩行距離の延長がみられ、息切れや咳などの自覚症状も改善している。特に副作用はみられていない。

症例2は59歳女性。10年前 Raynaud現象、手指腫脹で初発し、抗核抗体は陰性であった。初診時のmTSSは5点で、手指にチアノーゼ、爪上皮出血点、指尖陥凹性癬痕を、顔面や胸部には毛細血管拡張を認めた。胸部CTでは軽度の肺線維症を認め、呼吸機能検査では%VCは118.6%と正常、%DLcoは37.7%と低下していた。ベラプロストナトリウム1日180mg、ワルファリンカリウムとカルシウム拮抗剤を内服していたが、収縮期右室圧は90mmHgで、NYHA心機能分類はIIIであった。クエン酸シルデナフィルの内服により推定右室圧収縮期圧の低

下や6分間歩行距離の延長が投与後間もなくよりみられ、自覚症状の改善もみられた(図2)。しかし、2年後の時点で推定右室圧が再び上昇してきたため、この症例でもトラクリアを併用予定である。特に副作用はみられなかった。

症例3は55歳男性。活動性のある重症の間質性肺炎を有し、これに伴う肺高血圧症がみられた症例である。抗トポイソメラーゼI抗体が陽性、mTSSは32点であった。ベラプロストナトリウム、ワルファリンカリウム、酸素投与を行っていた。間質性肺炎はサイクロファスファマイドパルス療法が無効で、ステロイドとシクロスポリンAの内服で、かろうじて進行を抑えられている状態である。収縮期右室圧は48mmHgで、NYHA心機能分類はIVであった。塩酸バルデナフィル20mgの内服開始後3ヶ月の間、少なくとも推定右室圧の上昇傾向はみられなかった(図3)。6分間歩行距離は投与後間もなくより著明な改善がみられているが、投与前に認められた細菌性肺炎の改善によるものとも考えられた。自覚症状としては軽度の改善が認められ、全体として肺高血圧への効果は軽度と考えられた。問題となる副作用はみられていない。

症例4は、現在は活動性はないが高度の肺の線維化を有する56歳女性。抗トポイソメラーゼI抗体、抗U1-RNP抗体陽性でmTSS15点であった。ベラプロストナトリウム、ワルファリンカリウム、酸素投与を行っていた。トラクリア投与開始後現在4週ですが、右室圧の低下と6分間歩行距離の延長がみられ、自覚症状も改善している(図4)。また、特に副作

用は認められていない。

他にまだデータの得られていない4例にトラクリアの内服を開始しているが、どの症例でも息切れなどの自覚症状の改善が認められている。2例で軽度の肝機能障害を認めたが、現時点では中止や減量を必要としていない。

#### D. 考 案

クエン酸シルデナフィルについては、基礎疾患のない肺動脈性肺高血圧症ばかりでなく、SScに伴う肺動脈性肺高血圧症やSScの間質性肺炎に伴って生じた肺高血圧症に対しても試みられ、良好な結果が報告されている<sup>3, 9-11</sup>。最近の肺動脈性肺高血圧症に対するプラセボを対照とした6週間の2重盲検クロスオーバー試験の結果は、トレッドミルを用いて測定した運動時間、心係数 (cardiac index) および自覚症状が有意に改善し、有意差はなかったが収縮期肺動脈圧の低下を認めた<sup>12</sup>。今回我々がシルデナフィルを投与した1cSScの2例においても、それまでのベラプロストナトリウムやワルファリンカリウムによる治療に肺高血圧症は抵抗性であったが、本試験開始2週間後には、自覚症状、6分間歩行距離、推定右室圧の改善を認めた。

シルデナフィルを50mg内服した場合、約15分後から肺動脈拡張作用が出現し、45-60分後にはその作用は最大に達し<sup>3</sup>、その半減期は4時間ほどであると考えられている。また、シルデナフィル投与後の肺動脈圧を経時的に観察すると、シルデナフィル25mg投与時に最

も肺動脈圧は低下し、50mgや100mgに増量しても、それ以上の肺動脈圧低下はみられなかったと報告されている<sup>13</sup>。したがって、今回の試験では1回25mg、1日2回の内服であったが、シルデナフィルの薬物動態を考えれば、肺高血圧症増悪時には1回投与量を増加させるのではなく、投与回数を1日3-5回に増やすことが重要であると思われる。実際に、症例1は6ヵ月の試験終了後もシルデナフィルの投与を継続していたが、再び推定収縮期右室圧が上昇してきたため、1年後にシルデナフィルを1日2回内服から1日3回の内服へと増量し、自覚症状と収縮期右室圧の改善をみている。肺高血圧症は長期的には進行性であることが多いため、このような増量が必要になる可能性があると思われる。

塩酸バルデナフィルについても、その作用機序からクエン酸バルデナフィルと同様の治療効果が期待される。我々が投与した症例3は間質性肺炎の活動性が高度で、これに伴う肺高血圧症ということで、治療効果の判断が難しい症例であった。今後、症例の集積が必要と考えられる。

PDE5阻害剤の安全性に関しては、頭痛、四肢のしびれ、腹部不快感などが報告されている<sup>12</sup>が、いずれもシルデナフィルを中止するほど重篤なものではなかった。しかし、今後長期間内服時の安全性に関して注意深く検討する必要があると思われる。

肺高血圧症では、肺動脈性・二次性のいずれに関わらず、末梢血中のET-1濃度が上昇し、その上昇が肺高血圧の重症度と相関することが知られている<sup>7</sup>。また、肺高血圧では、末梢

血ばかりでなく、肺血管内皮細胞での ET-1 発現が亢進し、肺血管での ET-1 産生が亢進していることが示されている<sup>14</sup>。ET-1 は血管平滑筋に対する強力な収縮作用と増殖作用を有していることから、ET-1 の増加は肺高血圧の中心的な悪化因子と考えられている。ET の受容体 A と受容体 B の両方の拮抗剤であるトラクリアは、肺高血圧患者の臨床症状や運動機能を高めること、生存率を改善することなどが明らかとなり、肺動脈性肺高血圧症の治療薬として保険収載されるにいたった。我々は間もなく、以前より肺高血圧の治療に難渋していた 6 例にトラクリアの投与を開始し、全例で投与後数日より、臨床症状、日常生活での運動機能の改善を認めている。データの得られた 2 例では、投与開始後、推定収縮期右室圧や 6 分間歩行距離の有意な改善がみられている。これらの 1 例はシルデナフィルが最初は無効であったものの効かなくなってきた症例である。シルデナフィルとエンドセリン受容体拮抗薬であるトラクリアとの併用が難治性の肺高血圧症治療に有効であると最近報告された<sup>15</sup>ので、症例 1 では 2 年後にトラクリアを追加したところ、これが奏功している。難治の症例では、NO の効果を增強して血管を拡張する PDE5 阻害剤と強い血管収縮作用を有する ET-1 をブロックするトラクリアの併用を考慮すべきと思われる。また、もう 1 例は肺線維症による 2 次性の肺高血圧症であり、厳密にはトラクリアの保険適応はない。しかしながら、このような症例においても ET-1 による血管収縮が悪化因子になっていると思われるために投与したところ、予想以上に有効

であった。今後、間質性肺炎に関連した肺高血圧症についても、その有効性の検討が期待される。トラクリアの副作用として頻度が高いものは、頭痛、めまい、肝機能障害などであるが、今回の症例では現時点で投薬を中止したり、減量を必要とするような副作用はみられていない。

## E. 結 論

SSc に伴う肺高血圧の治療として、早期の発見、治療開始が重要なのは言うまでもないが、ベラプロストナトリウム、トラクリア、ワルファリンカリウム、酸素などの組み合わせが有用と考えられている。シクロスポリンなどを使用していてトラクリアが使用できない症例では、保険収載はされていないが、クエン酸シルデナフィルや塩酸バルデナフィルの投与が有用と思われる。難治の症例では、トラクリアにクエン酸シルデナフィルや塩酸バルデナフィルなどの作用機序の異なる薬を併用するなど積極的な治療が望まれる。間質性肺炎を伴う肺高血圧症に対してもこれらの治療が有用な可能性があり、今後の検討が必要と思われる。

## F. 文 献

1. Sacks DG, Okano Y, Steen VD, Curtiss E, Shapiro LS, Medsger TA, Jr. Isolated pulmonary hypertension in systemic sclerosis with diffuse cutaneous involvement: association with serum anti-U3RNP antibody. *J Rheumatol* 1996;23:639-42.

2. Coghlan JG, Mukerjee D. The heart and pulmonary vasculature in scleroderma: clinical features and pathobiology. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:495-9.
3. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F et al. Sildenafil for treatment of lung fibrosis and pulmonary hypertension: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:895-900.
4. Michelakis E, Tymchak W, Lien D, Webster L, Hashimoto K, Archer S. Oral sildenafil is an effective and specific pulmonary vasodilator in patients with pulmonary arterial hypertension: comparison with inhaled nitric oxide. *Circulation* 2002;105:2398-403.
5. Stiebellehner L, Petkov V, Vonbank K et al. Long-term treatment with oral sildenafil in addition to continuous IV epoprostenol in patients with pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2003;123:1293-5.
6. Hayakawa I, Shirasaki F, Hirano T, et al. Successful Treatment with Sildenafil in Systemic Sclerosis patients with Isolated Pulmonary Arterial Hypertension: Two Case Reports. *Rheumatol Int* 26:270, 2006.
7. Yoshiyoshi M, Nishioka K, Nakao K, et al. Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. Evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation. *Circulation* 1991;84:2280.
8. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002; 346:896.
9. Prasad S, Wilkinson J, Gatzoulis MA. Sildenafil in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2000;343:1342.
10. Watanabe H, Ohashi K, Takeuchi K et al. Sildenafil for primary and secondary pulmonary hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 2002;71:398-402.
11. Rosenkranz S, Diet F, Karasch T, Weihrauch J, Wassermann K, Erdmann E. Sildenafil improved pulmonary hypertension and peripheral blood flow in a patient with scleroderma-associated lung fibrosis and the raynaud phenomenon. *Ann Intern Med* 2003;139:871-3.
12. Sastry BK, Narasimhan C, Reddy NK, Raju BS. Clinical efficacy of sildenafil in primary pulmonary hypertension: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1149-53.
13. Wilkens H, Guth A, Konig J et al. Effect of inhaled iloprost plus oral sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104:1218-22.
14. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, et al. Expression of endothelin-1 in the

lungs of patients with pulmonary hypertension. N Engl J Med 1993; 328:1732.

15. Hoepfer MM, Faulenbach C, Golpon H, Winkler J, Welte T, Niedermeyer J. Combination therapy with bosentan and sildenafil in idiopathic pulmonary arterial hypertension. Eur Respir J 2004;24:1007-10.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Hayakawa I, Shirasaki F, Hirano T, Oishi N, Hasegawa M, Sato S, and Takehara K: Successful Treatment with Sildenafil in Systemic Sclerosis patients with Isolated Pulmonary Arterial Hypertension: Two Case Reports. Rheumatol Int 26:270, 2006.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

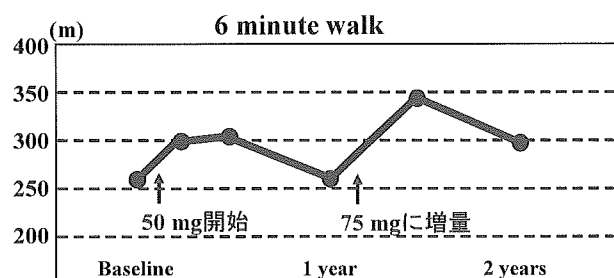
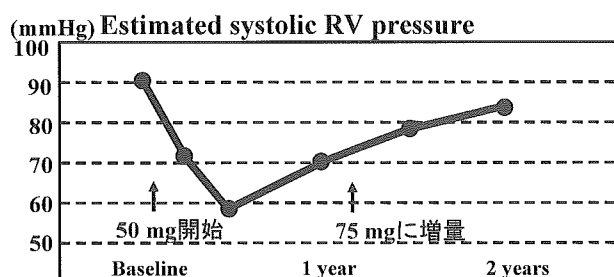


図 1 A

図 1 A: 症例 1 のクエン酸シルデナフィル投与後の経過

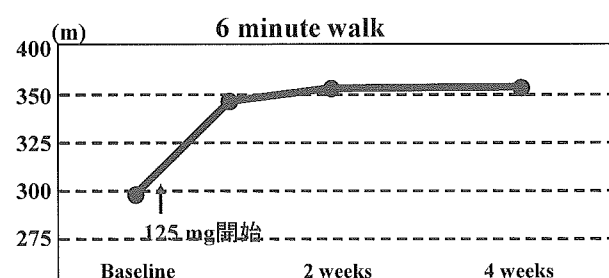
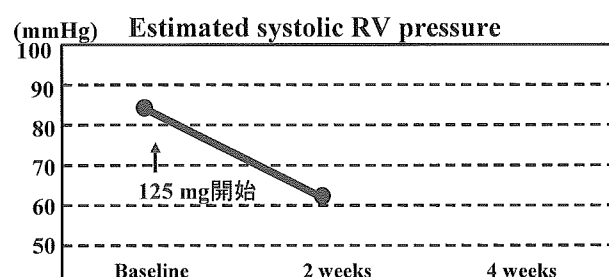


図 1 B

図 1 B: 症例 1 のトラクリア投与追加後の経過

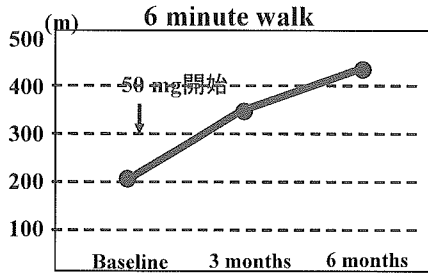
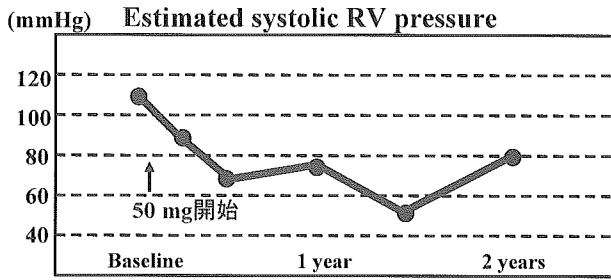


図2

図2：症例2のクエン酸シルデナフィル投与後の経過

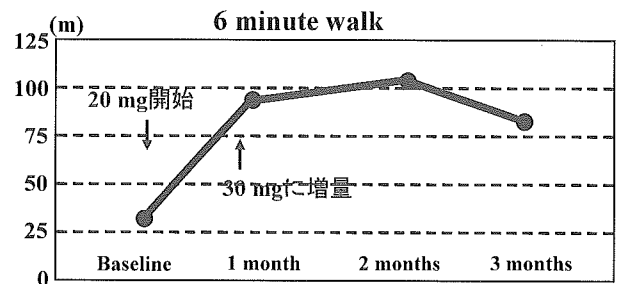
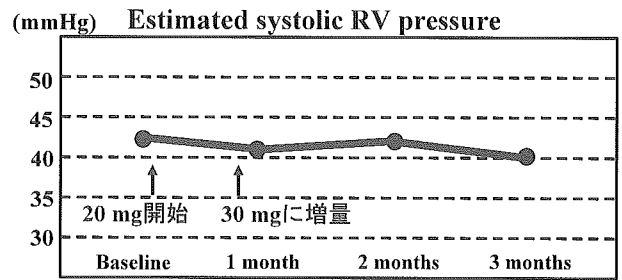


図3

図3：症例3の塩酸バルデナフィル投与後の経過

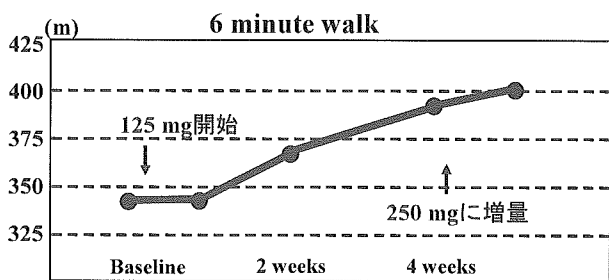
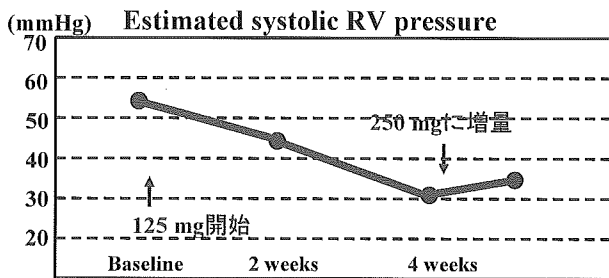


図4

図4：症例4のトラクリア投与後の経過

## 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

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
研究協力者	田中住明	北里大学医学部膠原病感染内科学講師
協力者	田中淳一	北里大学医学部膠原病感染内科学助手
協力者	西正大	北里大学医学部膠原病感染内科学助手
研究協力者	近藤啓文	北里大学医学部膠原病感染内科学教授

### 研究要旨

ベラプロストナトリウム(BPS: Beraprost Sodium)治療が無効であった全身性硬化症(SSc: Systemic Sclerosis)に合併した肺動脈性肺高血圧症(PAH: pulmonary arterial hypertension)患者をボセンタンで治療した。PAH の改善に伴い、指端潰瘍やレイノー現象などの末梢循環不全も改善した。本症例の経験より、ボセンタンは SSc の血管病変に対して有用な治療薬剤と考えられた。

### A. 研究目的

ベラプロストナトリウム(BPS: Beraprost Sodium)治療が無効であった全身性硬化症(SSc: Systemic Sclerosis)に合併した肺動脈性肺高血圧症(PAH: pulmonary arterial hypertension)患者をボセンタンで治療した。本症例は PAH の改善に伴い、指端潰瘍やレイノー現象などの末梢循環不全も改善した。ボセンタンの血管病変に対して有用性を確認できた症例を経験したので報告する。

【主訴】 労作時呼吸困難

【現病歴】 1989年1月頃(53歳)よりレイノー現象が出現し、6月に紹介され当院へ入院した。手指硬化、肺線維症(肺底部)と抗Scl-70抗体が認められ強皮症と診断され、ビタミンEやD-PCを投与されていた。2002年11月頃(67歳)よりレイノー現象が強くなりPGE2静注が行われ、2003年1月に指端潰瘍となり入院した。様々な血管拡張治療が行われたが改善せず、4月に指切断術が行われた。

2005年1月(68歳)、労作時呼吸困難(NYHA III度)のため入院した。心エコーで三尖弁反差90mmHg、肺血流シンチ所見より肺動脈性肺高血圧症と診断された。BPS 160 $\mu$ gを投与しBNPは306から67pg/mlに改善し退院した。しかし、徐々に浮腫や労作時呼吸困難が強くなってきた。5月頃(69歳)からレイノー現象や指・趾の疼痛が強くなり、7月26日、PAHによる右心不全となり入院した(NYHAIV度)。

【既往歴】 腸関節炎(1995年)、D-ペニシラミンによる膜性腎症(1997年)。

【家族歴】 特記事項なし。

【入院時現症】 身長147.5cm、体重53.9kg、体温36.4 $^{\circ}$ C。血圧99/56 mmHg、脈拍72/min(整)。貧血・黄疸なし。舌小帯の肥厚あり。頸静脈怒張の怒張は認めなかった。胸部聴診で肺動脈性II音亢進とIII音を認め、収縮期逆流雑音(Lev II/VI)を聴取した。

両側下肺野に捻髪音も認めた。肢端には著名なレイノー現象がみられ、右第II、III指中節骨部で切断さ

れており、左第V指の指先端部に潰瘍が認められた。皮膚硬化は口周囲および四肢末端に軽度であり TSS は5点。浮腫はみとめられなかった。

【入院時検査所見】末梢血液像では白血球数4400/ $\mu$ l、ヘモグロビン12.5g/dl、血小板数P9.9万/ $\mu$ l。凝固系でプロトロンビン時間10.7秒、活性化部分トロンビン時間APTT26.7秒であった。血清生化学検査では総蛋白量6.9g/dlで $\gamma$ -グロブリンは3.6g/dlであった。尿酸5.7mg/dl、クレアチニン0.65mg/dl。血液免疫検査にてCRP0.2mg/dl、CH<sub>50</sub>13mg/dlであり、抗核抗体320倍で抗抗Scl-70抗体と抗SS-A抗体が陽性であった。抗UIRNP抗体、抗Sm抗体、抗DNA抗体および抗セントロメア抗体が陰性であった。BNPは107.6pg/mlであり、この時の心エコー検査では推定肺動脈圧47/16(26)mmHg、心拍出量3.9 L/minであり全肺血管抵抗6.7mmHg $\cdot$ L $\cdot$ min<sup>-1</sup>であった。

動脈血液ガス分析で室内気における酸素分圧は79.0Tor。胸部レントゲン写真で両側肺底部に僅かな間質性陰影を認め、心電図で右脚ブロック、右軸偏位および胸骨陰影のV1-3で陰性T波を認めた。

【治療経過】PAHの急性増悪に対しドパミンを持続静注した。BPSをボセンタンに変更し漸増していった。圧データとBNPの改善がみられ、退院時にはボセンタン250mgを内服しBNP15.6pg/mlにまで下がった。入院直後より肢端の循環障害と潰瘍に伴う疼痛が著明であり、PGE2製剤の静注や動注および各種の麻酔を併用した。しかし、ボセンタン導入後およそ1週間後よりまず疼痛が軽減し、その後潰瘍も改善した。経過中に原因不明の喘息発作を起したがステロイド大量投与を行い改善した。

## B. 考察

ボセンタンは、エンドセリンレセプター拮抗薬であり強力な血管拡張作用を有し、PAHに対して有用性が認められている(1-5)。近年、SScの指端潰瘍に対する有用性も報告されている。

本症例ではPAHのみならず、同時に指端潰瘍も改善した。肺血管病変と指端潰瘍の増悪と改善の経時的変化は平行し、肺血管病変と四肢末梢血管病変の関連性が推測される。また、本例ではBPSが無効であったPAHと指端潰瘍をボセンタンを用いることにより改善している。このことより、ボセンタン単独またはボセンタンとBPSの併用療法が、肺血管病変や末梢血管病変を含むめたSScの血管病変の強力な血管拡張治療になることが推測される。

## C. 結論

SScの血管病変に対してボセンタンは有用な治療薬と考えられた

## D. 文献

1. Humbert, M., and J. Cabane. 2003. Successful treatment of systemic sclerosis digital ulcers and pulmonary arterial hypertension with endothelin receptor antagonist bosentan. *Rheumatology (Oxford)* 42:191-193.
2. Kom, J. H., M. Mayes, M. Matucci Cerinic, M. Rainisio, J. Pope, E. Hachulla, E. Rich, P. Carpentier, J. Molitor, J. R. Seibold, V. Hsu, L. Guillemin, S. Chatterjee, H. H. Peter, J. Coppock, A. Herrick, P. A. Merkel, R. Simms, C. P. Denton, D. Furst, N. Nguyen, M. Gaitonde, and C. Black. 2004. Digital ulcers in systemic sclerosis: prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 50:3985-3993.
3. Krum, H., and D. Liew. 2003. Current status of endothelin blockade for the treatment of cardiovascular and pulmonary vascular disease. *Curr Opin Investig Drugs* 4:298-302.
4. Snyder, M. J., M. R. Jacobs, R. G. Grau, D. S. Wilkes, and K. S. Knox. 2005. Resolution of



severe digital ulceration during a course of Bosentan therapy. *Ann Intern Med* 142:802-803.

5. Varga, J. 2005. New hope for systemic sclerosis patients with digital ulcers. *Curr Rheumatol Rep* 7:127-128.

## G. 研究発表

- 1 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

## H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

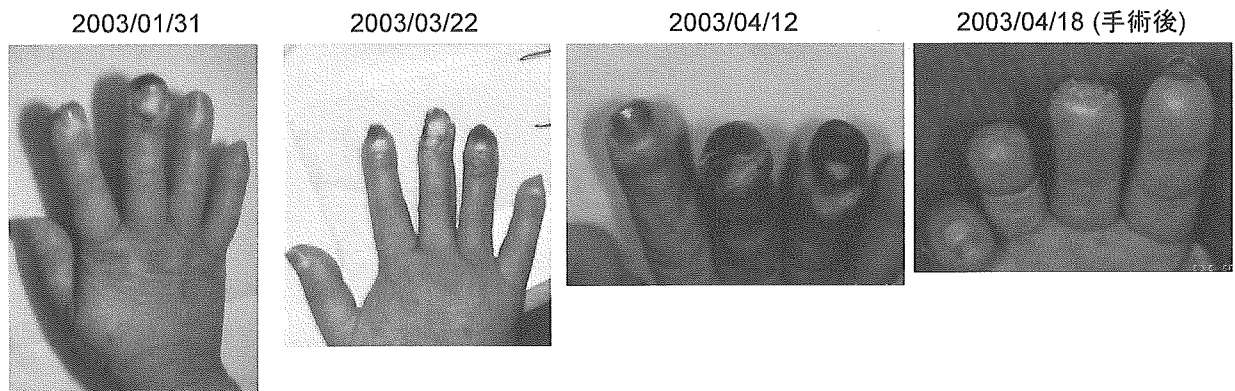
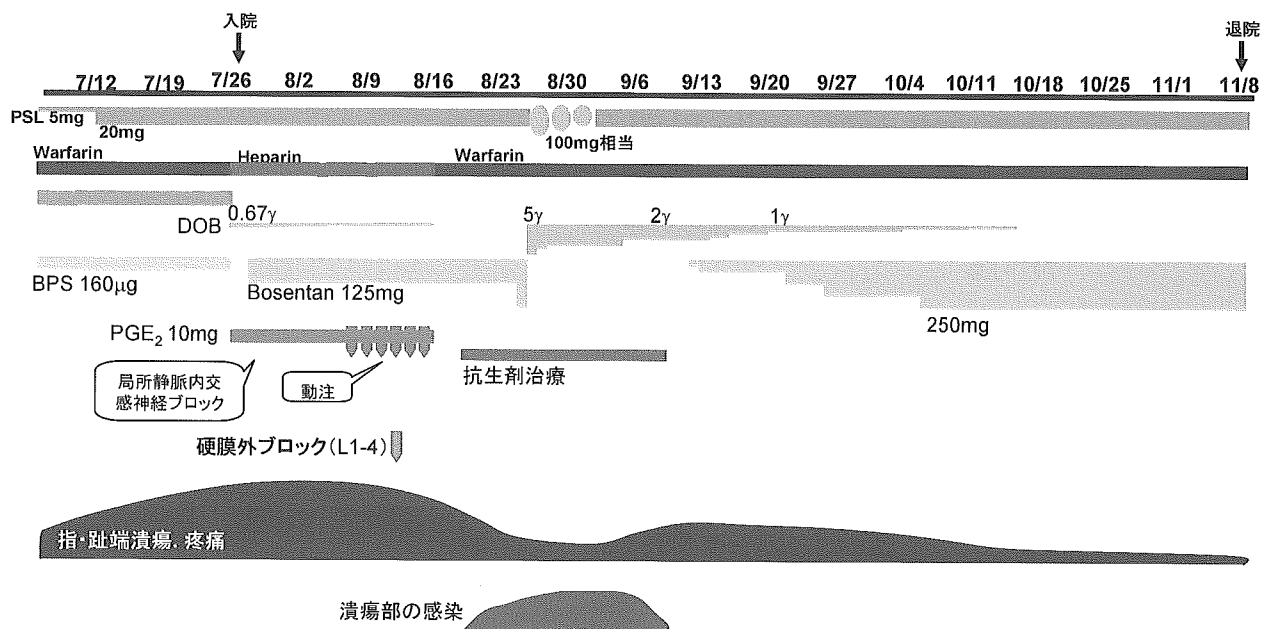


図1. 指端潰瘍の経過 (今回の入院まで)



<b>BNP (pg/ml)</b>	<b>107.6</b>	<b>40.4</b>	<b>53.3</b>	<b>15.6</b>
PAPm (mmHg)	26.3	27.0	28.0	26.0
CO (L/min)	3.9	3.8	4.8	6.4
PVR (mmHg·L <sup>-1</sup> ·min)	6.75	7.12	5.83	4.06

図2. 入院経過図

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

## 難治性潰瘍に対する Topical Hemotherapy の工夫とその効果

研究協力者 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  
協力者 富田 靖 名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学教授  
杉浦 一充 名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学講師  
岩山美智子 名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学  
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

全身性強皮症では、末梢循環障害により指趾に潰瘍が生じ難治性となることがしばしばある。Topical Hemotherapy（以下、THT）は難治性潰瘍に対し、ヘパリン化した静脈血を occlusive dressing 法にて潰瘍面に直接外用するという方法である。血漿中の細胞増殖因子、プロテアーゼなどの効果により肉芽形成が促進されると考えられている。今回、強皮症にて通院中に生じた右母趾の難治性潰瘍に対し THT を施行した。THT の密封方法を工夫したことで従来では適応にならなかった趾での良好な肉芽形成が認められた。この THT の変法は、強皮症などの膠原病や糖尿病などによってできる難治性潰瘍の治療の選択肢のひとつになり得ると考える。

### A. 研究目的

Triquet ら<sup>1)</sup>は、15 例の難治性下腿潰瘍に対して、ヘパリン化自己静脈血を潰瘍面に直接外用し occlusive dressing 法を行うという方法を行い良好な肉芽形成を認め、Topical Hemotherapy (THT) と命名した。この方法は、種々の局所療法、血管拡張剤の点滴などの治療によっても改善のない潰瘍においてもある程度の効果を示すものである。しかし、原法ではリウマチなどを基礎疾患とした下腿のように比較的広範囲に平面をつくり

やすい部位での潰瘍に対して密封方法を紹介したものであった。一方、強皮症で生じる潰瘍は四肢末端のような狭い範囲の曲面に生じることが多く、難治性になりやすい。しかも知覚低下を伴わないため、痛みにより機械的デブリドマンが十分に行えない場合がある。THT は処置時にほとんど痛みを伴わず、また良好な上皮化の期待できる方法である。この方法を従来では適応とならなかった指趾でも用いることができるように、dressing 方法を工夫して行った。

## B. 研究方法

症例は 53 歳女性。強皮症にて当科に通院中、平成 17 年 2 月頃、右母趾に潰瘍が出現し洗浄、外用剤塗布、プロスタグランジン製剤の点滴などの治療に抵抗して徐々に拡大していった。最初米粒大であった潰瘍が、平成 17 年 5 月頃には 500 円硬貨大にまで拡大し、5 月 9 日に入院した。入院後 Oberst 麻酔を併用しながら、洗浄、機械的デブリドマン、プロスタグランジン製剤の点滴などの治療を行った。外用剤には、フィブラストスプレー<sup>®</sup>と、プロスタンディン軟膏<sup>®</sup>を使用した。潰瘍の一部は骨に達していた。壊死組織が硬く創床に付着しており、一部を除いて十分に除去することは困難であった。そこで、5 月 30 日より THT を開始した。THT は、潰瘍面を洗浄後、患者のヘパリン化自己静脈血を潰瘍面に直接外用し occlusive dressing を行う。この処置を 2 日に 1 回行う。以下に THT の原法を示す<sup>2)</sup>。

THT の方法：

- 1) 潰瘍面を 0.05% クロルヘキシジン (ステリクロン<sup>®</sup>) で消毒
  - 2) 生食 100ml にて潰瘍面を洗浄
  - 3) ヘパリン採血 (静脈血 1ml あたり 0.1ml のヘパリンを加える。ただしヘパリンは 1ml あたり 1000IU)
  - 4) occlusive dressing
- 上記処置を 1 回/2 日施行

被覆材には、Triquet<sup>ら</sup><sup>1)</sup> は、親水コロイドを用い、山野<sup>ら</sup><sup>2)</sup> は透明フィルム剤を用いた。

本症例でも同様の方法にて行ってみたが曲面の右母趾の潰瘍であったため、注入した血液の半分以上が外にもれてしまった。よって密封方法を、以下のように工夫することでその問題を克服した。まず、コムフィール<sup>®</sup>を趾の形に合わせてカットし (図 1 ①)、テガダーム<sup>®</sup>も同様に、適当な大きさにカットした (図 1 ②)。次に、コムフィール<sup>®</sup>とテガダーム<sup>®</sup>を上下に合わせて 3mm 大の孔をあけ (図 1 ③)、潰瘍面を覆った (図 1 ④)。このとき、潰瘍周囲の正常皮膚と被覆剤の間に隙間のできないように十分に注意した。密着の不十分なところにはさらにテガダーム<sup>®</sup>を補強に用いた。ヘパリン化した血液をいれたシリンジに 20G 留置針の外筒をつけて 3mm 孔より注入した (図 1 ⑤)。3mm 孔は、適当な大きさにカットしたテガダーム<sup>®</sup>を蓋として密封し (図 1 ⑥)、ガーゼ、包帯で覆った。こうすることにより、血液の流出はほとんどなくなった。

## C. 研究結果

THT 第 0 日に見られた壊死組織の範囲が第 4 日には縮小し (図 2)。潰瘍辺縁には、良好な上皮化を認めた。その後、第 7 日、第 11 日と処置をするにしたがって確実に壊死組織は減少し、良好な肉芽形成を認めた。週 2～3 回の頻度で、2 週間 (計 8 回) 処置を行い、壊死組織がほとんどみられなくなった時点で Thiersh 植皮術を施行した。植皮片は良好に生着し、7 月 9 日に退院した。痛みの程度が最も強いときを 10 として患者が 10 段階