

- mouse bone marrow NK cell subsets.
Blood 2008; 111: 3626-3634
14. Zeng X, Moore TA, Newstead MW, Hernandez-Alcoceba R, Tsai WC, Standiford TJ. : Intrapulmonary expression of macrophage inflammatory protein 1alpha (CCL3) induces neutrophil and NK cell accumulation and stimulates innate immunity in murine bacterial pneumonia. Infect Immun. 2003; 71: 1306-1315
15. Jiang D, Liang J, Hodge J, Lu B, Zhu Z, Yu S, et al.: Regulation of pulmonary fibrosis by chemokine receptor CXCR3.

J Clin Invest. 2004; 114:291-299

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

なし

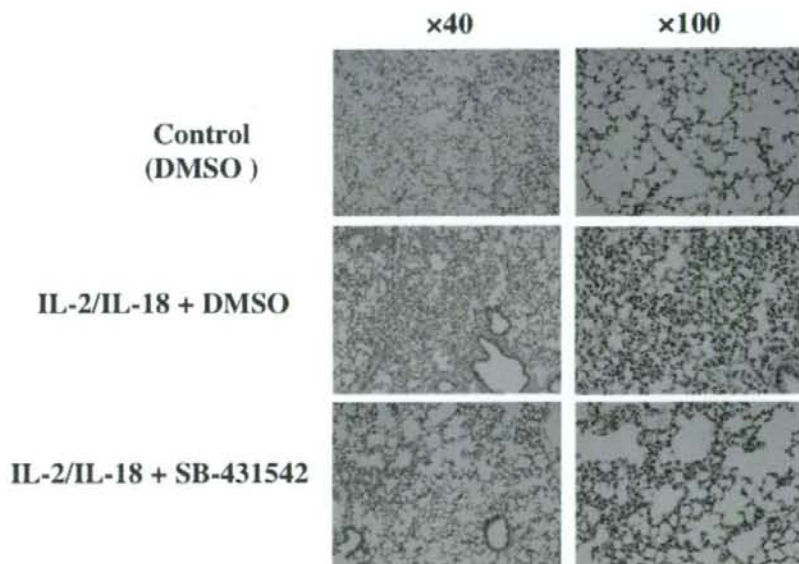


図1 : IL-2 と IL-18 にて誘導された間質性肺炎像が、ALK-5 阻害薬の SB-431542 投与により細胞浸潤像の改善を認めた。

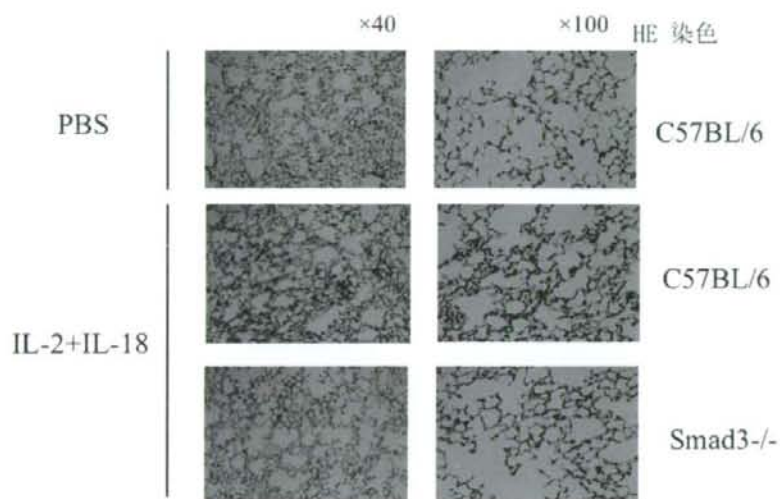


図2 : Smad3 ノックアウトマウスを用いて、IL-2 と IL-18 で間質性肺炎を誘導したところ、野生型に比べ、間質への細胞浸潤の程度が軽度であった。

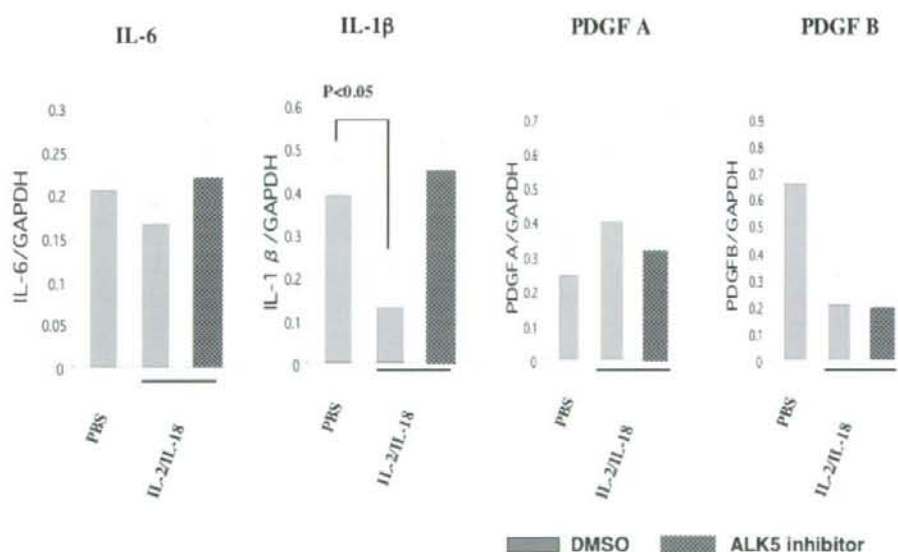


図3 : IL-2 と IL-18 で間質性肺炎を誘導し ALK-5 阻害薬の SB-431542 投与前後で、肺組織でのサイトカインの産生の程度を mRNA 発現にて半定量的に解析した。IL-6、IL-1 β 、PDGFA、PDGFB 発現には有意差は認められなかった。

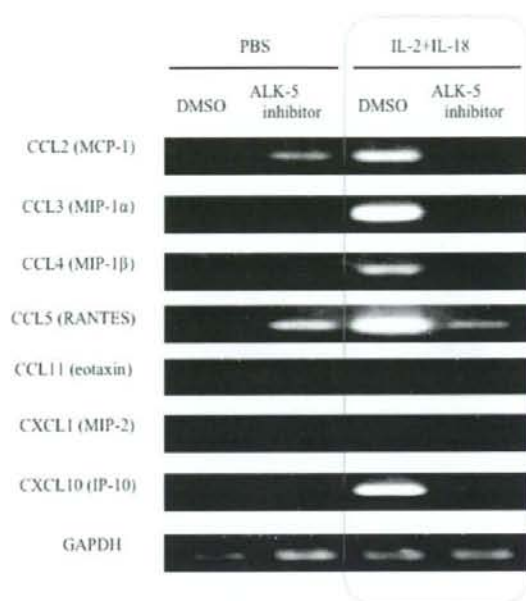


図4：IL-2とIL-18で間質性肺炎を誘導前後で、肺組織でのケモカインの産生の程度をmRNA発現で解析した。ALK-5阻害薬のSB-431542投与により、肺組織でのCCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CXCL10の発現の低下を認めた。

全身性強皮症間質性肺炎の LipoxinA₄ (LXA₄) 産生異常と 実験間質性肺炎における LXA₄ による治療効果

分担研究者	遠藤平仁	北里大学医学部膠原病・感染内科学准教授
研究協力者	北里英郎	北里大学医療衛生学部微生物学教授
研究協力者	橋本篤	北里大学医学部膠原病・感染内科学助教

研究要旨

抗炎症リポッドメディエータ LipoxinA₄ は 5LOX と 12/15LOX の 2 種類のリポキシゲナーゼを各々有する 2 種類の細胞を介して (Transcellular synthesis) 合成される。

Lipoxin A₄ は白血球浸潤抑制、線維芽細胞増殖抑制やコラーゲン合成抑制を惹起し強力な生体反応抑制効果を有する。Lipoxin A₄ 合成は 15LOX 発現に規定されている。強皮症間質性肺炎の気管支肺胞洗浄液中 (BALF) の LXA₄ 濃度を測定した。強皮症間質性肺炎は他の膠原病における間質性肺炎の BALF 中の LXA₄ と比較して低く、一方 LTB₄ 濃度は高値を呈している。したがって LXA₄/LTB₄ 比は強皮症間質性肺炎では他の間質性肺炎より低い。BALF 中の LXA₄ 濃度は血中 KL-6 濃度と逆相関を示し、リンパ球数と相関を示す。また呼吸機能と逆相関を示した。15LOXcDNA をレトロウイルスベクターに組み込み線維芽細胞に感染させ持続発現した細胞 (15LOXCell) をマウス間質性肺炎モデルに投与し線維化病変の進展抑制効果を検討した。15LOXCell 投与により炎症局所に LXA₄ 産生が確認できた。プレオマイシン投与間質性肺炎モデルにおいて 15LOX Cell は肺線維化病変の進展を抑制し肺組織変化やヒドロキシプロリン含量の低下 TGFβ の発現低下を観察した。以上より 15-LOX LipoxinA₄ は線維化病変の新たな制御法に結びつく可能性がある。

A. 研究目的

強皮症の間質性肺炎の気管支肺胞洗浄液中のロイコトリエン: LTB₄ 含量は増加し一方リポキシシン LXA₄ は正常と比較し低値であり LXA₄/LTB₄ 比が強皮症間質性肺炎では低くこのアンバランスが間質性肺炎の病態形成に重要な役割を果たしている¹⁾。また LXA₄ は肺線維芽細胞の増殖やコラーゲン産生抑制作用を有している²⁾。以上の変化は強皮症間質性肺炎に比較して特

異的なものなのかあるいは他の膠原病各疾患における間質性肺炎に共通した異常なのか検討し、LXA₄ の生体内の誘導や体外からの投与は間質性肺炎の新たな治療法に結びつく可能性がある。しかし LXA₄ は生体内で短時間に分解される。合成酵素の一つである 15-LOX を持続発現させた線維芽細胞を移植することにより LXA₄ を誘導し線維化を抑制する新たな線維化治療法を考案しその基礎実験をおこなった。

B. 方法

1. 強皮症間質性肺炎気管支肺胞洗浄液中の LXA₄ 濃度の測定

強皮症間質性肺炎の 8 例において気管支鏡を施行した。同意文書を得て施行した。平均年齢 57±10.3 歳、平均罹病期間 12.4±4.9 か月、CT 上すりガラス陰影の領域より生検及び 10ml 生食にて肺胞洗浄を行い回収細胞比率の測定をした。残りの洗浄液（回収率 70%以上）を Sep Pack - C18 カラムを用い酢酸エチルにて脂質成分を抽出し窒素下風乾後 PBS にて再溶解し ELISA 法にて LXA₄、LTB₄ 濃度を測定した。

同様に他の膠原病間質性肺炎症例 14 例（PM/DM9、RA2、SjS2、MCTD1 例）の気管支肺胞洗浄液中 LXA₄、LTB₄ 濃度を測定した。

2. C57-15LOX 細胞の作成

ヒト 15-*lpx* cDNA はヒト滑膜細胞をヒトリコンビナント IL-4 で 6 時間刺激した cDNA より RT-PCR 法にて作成した。

cDNA はレトロウイルスベクター EGFP/EV 制限酵素処理にて組み込み EGFP/15-LOX を作成した。作成した EGFP/15-LOX 及び未処理の EGFP/EV をそれぞれパッケージング細胞 Ap293 に感染させ Ap293/EV、Ap293/15-LOX を作成。その後、Ap293/EV 及び Ap293/15-LOX からウイルス粒子を回収し、標的細胞 C57Fibroblast 細胞に感染させ 15-LOX 高発現細胞 C57/15-LOX とコントロール細胞 C57/EV を作成した。C57/15-LOX 細胞は RT-PCR により 15-*lpx* 高発現を確認した。

3. プレオマイシン誘導間質性肺炎に対する C57/15-LOX 細胞の効果

C57BL/6N マウス（オス 6 W）に吸入器を用いプレオマイシン（科研薬）100 μg/100

μl を気管内に吸入させた。一群 20 匹 C57/15-LOX 細胞、コントロール C57-EV 細胞 5x10⁵ を各々尾静脈より注射し 2 日後プレオマイシンを気管内に注入した。14 日、28 日飼育後、ネンプター麻酔後、気管に生食 1 ml を用い洗浄し回収し白血球数を測定した。処分後肺を分離しホルマリン固定後パラフィン包埋し薄切しヘマトキシリンエオジン染色し組織変化を観察。肺組織のヒドロキシプロリン量を測定。また RNA 分離後 RT-PCR 法で LXA₄ 受容体、COL、サイトカイン mRNA の発現を測定した。マウスに LXA₄ 受容体拮抗物質 BOC-1 を腹腔内に注射し反応を測定した。

C. 結果

1. 強皮症、他膠原病合併間質性肺炎における気管支肺胞洗浄液中の LXA₄、LTB₄ 濃度の検討（図 1）

SSc BALF は CTD と比較し LXA₄ は有意に低く LTB₄ は高値を呈していた。LXA₄: SSc、11.8±6.3、CTD、18.9±4.4pg/ml P<0.05、LTB₄ SSc79.7±102、PM、RA など 182±60.8pg/ml P<0.05 LXA₄/LTB₄ 比 SSc 0.129±0.063、CTD 0.189±0.044 P<0.05。血中 KL-6 濃度と LXA₄ 濃度は逆相関を示した。呼吸機能の測定記録が残る 9 症例について %VC、%DLco との関係を検討した。相関関係を示した。

2. プレオマイシン誘導間質性肺炎を誘導すると肺組織に LXA₄ 受容体 (ALX) mRNA が誘導された。C57-15LOX 細胞を移植すると C57-EV 細胞移植と比較しマウス生存率が延長した。また BAL の白血球数が減少した。白血球の中で好中球、リンパ球の減少が認められた。また病理組織変化において間質性肺炎の病像が顕著に改善した。プレ

オマイシン誘導間質性肺炎の肺組織に COL 1 α mRNA や IL-8、IL-6、MCP-1 mRNA の増加が認められるが C57-15LOX 細胞移植により肺組織の COL-1 α mRNA、IL-8、MCP-1 mRNA の発現は低下した。

D. 考察

LXA₄ は 5-LOX、12/15-LOX の 2 つの酵素を介して合成されるリピッドメディエータである。強力な抗炎症作用を有し LTB₄ による白血球浸潤を抑制する。炎症の時間経過の中で炎症病態の始まりから 12 時間以降に合成が確認され炎症が収束する Resolution phase に合成される。その際炎症の早期より 5-LOX は持続的に発現され 15-LOX は LXA₄ 発現時期に白血球のなかに誘導される。したがって炎症が進展から収束に転換する鍵になる酵素は 15LOX であるといえる。

未治療の強皮症の間質性肺炎の BAL 液中には LTB₄ 濃度が増加しており一方 LXA₄ 濃度が低くこのバランスの低下が間質性肺炎の進展に関与していた。この BALF 中の LXA₄ 濃度は血中 KL-6 濃度に逆相関した呼吸機能 DLco や %VC に相関する傾向がみられた。すなわち強皮症の間質性肺炎の病態形成にはヒト erythroblastic 15-LOX cDNA をレトロウイルスベクターを用いマウス線維芽細胞に持続過剰発現した細胞を移植することにより炎症早期より LXA₄ が合成され炎症が抑えられるシステムを構築した。このプロスタグランジン酵素発現細胞を移植し間質性肺炎を抑制するシステムは PGDS 細胞により報告している。移植細胞は少なくとも 3 週間は移植局所に生存し機能をはたす。このいわゆる Cell Therapy を 15-LOX LXA₄ システムに応用

し実験間質性肺炎システムに応用した。尿酸塩結晶モデルにおいては顕著に局所炎症を抑え浸潤白血球の減少が認められた。一方 C57-EV 細胞では抑制はなく C57-15LOX 細胞のみ局所での LXA₄ 産生が確認された。LXA₄ 投与でも同等の効果が検出できたが C57-15LOX 移植細胞による LXA₄ の局所産生量は少なく検出方法等に工夫する必要がある。

リポキシゲナーゼ系は強皮症の皮膚病変や間質性肺炎で 5-LOX の過剰発現により LTB₄ が過剰に産生していることが報告されている。腎線維化やメサンジウム細胞増殖でも LXA₄ は抑制的に作用し機能制御に関与していることが報告されている。皮膚病変進展抑制に LXA₄ が関与する可能性もあり検討の必要がある。

E. 結論

レトロウイルスベクターによるヒト 15-LOX cDNA を高発現したマウス線維芽細胞を移植する Cell Therapy によりマウス間質性肺炎モデルの炎症、線維化の抑制が観察された。炎症局所による LXA₄ 誘導による抑制と考えられる。線維化病変に対するあらたな治療戦略が想定された。

F. 参考文献

1. Chang Nan, Arita Makoto, Sherhan CN, Anti-inflammatory circuitry: Lipoxin, aspirin-triggered lipoxins and their receptor ALX, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential fatty acids, 73, 163-177, 2005.
2. Kowal-Bielecka O, Kowal K, Distler O, Rojewski J, Bodzenta-Lukaszyk A,

- Michel BA, Gay RE, Gay S, Sierkowski S, Cyclooxygenase-and Lipoxygenase-derived eicosanoids in bronchoalveolar lavage fluid from patients with scleroderma lung disease, An imbalance between proinflammatory and anti-inflammatory lipid mediators, *Arthritis Rheum*, 52, 3783-3791, 2005.
3. Wu SH, Wu XH, Lu C, Dong L, Chen ZO : Lipoxin A₄ inhibits proliferation of human lung fibroblasts induced by connective tissue growth factor, *Am J Res Cell Mol Biol*, 34,65-72,2006.
4. Kowal-Bielecka O, Dister O, Neidhart M, Kunzler P, Rathage J, Nawara M, Carossino A, Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S.Evidence of 5-lipoxygenase overexpression in the skin of patients with systemic sclerosis : a newly

identified pathway to skin inflammation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*.44, 1865-1875, 2001.

5. Ando,M, Murakami Y, Kojima F, Endo H, Kitasato H, Hashimoto A, Kobayashi H, Majima M, Kondo H, Hayashi I, Retrovillary Introduced Prostaglandin D2 synthase suppresses lung injury induced by bleomycin, *Am.J.Repir,Mol.Biol*.28,582-591,2003.

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

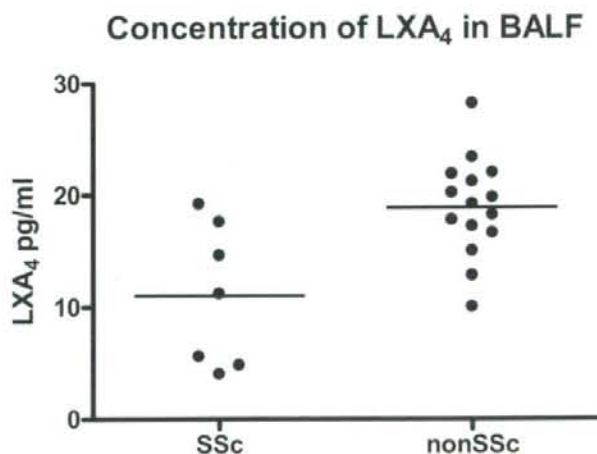


図1A. SScIP8例及びその他膠原病IP患者のBALF中のLXA₄濃度の検討

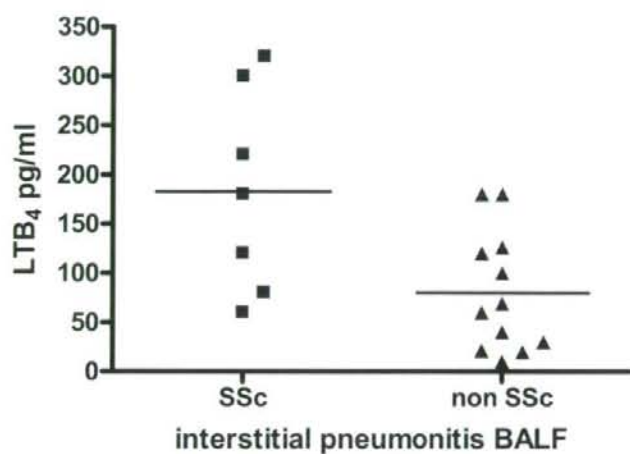


図1B. SScIP8 例及びその他膠原病 IP 患者の BALF 中の LTB₄ 濃度の検討

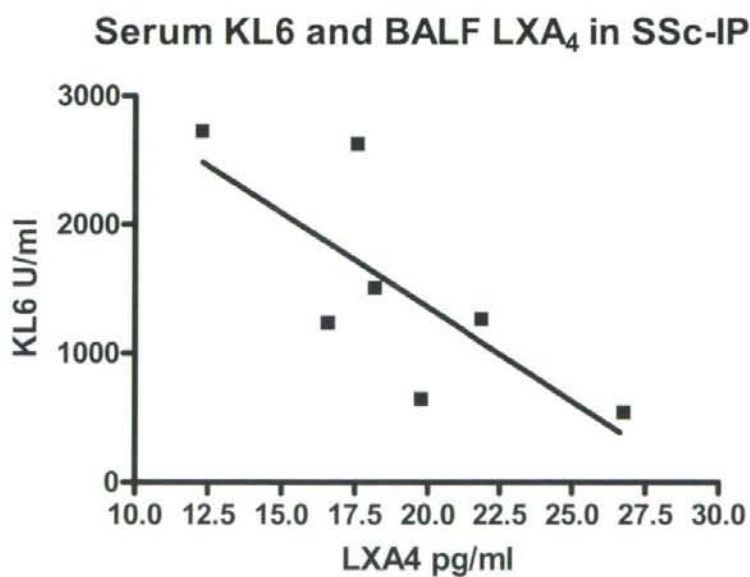


図2. 血中 KL6 濃度と BALF 中の LXA₄ 濃度の関係

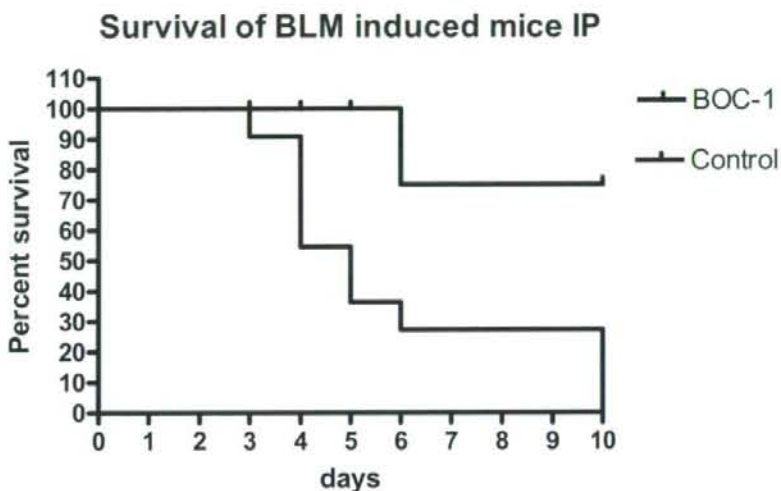


図3A. LXA₄受容体拮抗薬 BOC-1 の BLM 誘導間質性肺炎モデルに対する効果
BOC-1 投与により肺病変の急速な悪化により予後が低下した。

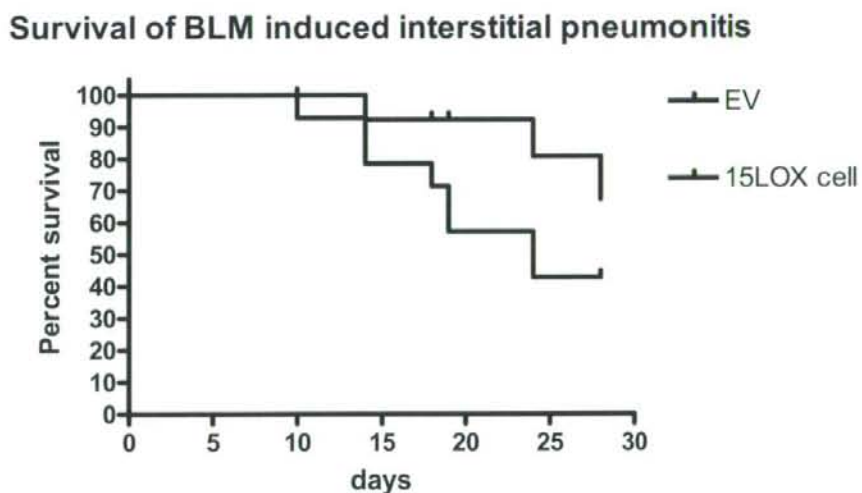


図3B. 15-LOX 遺伝子導入細胞、EV 導入細胞移植マウスにおける BLM 間質性肺炎の
生命予後の効果

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

シクロホスファミド静注およびステロイド内服併用療法による
間質性肺病変合併強皮症の4年間の治療成績

研究分担者 川口鎮司 東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター准教授
協力者 栃本明子 東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター助教
高木香恵 東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター助教
大田ゆう子 東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター医員
立石睦人 東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター講師
原 まさ子 東京女子医大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、肺動脈性肺高血圧症とならび、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 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。2006年に、プラセボを用いた、RCT研究にて、シクロホスファミドの内服あるいは静注療法が、プラセボ群に比較して、呼吸機能を改善したとする報告が米国と英国から続けて出された。一昨年の本研究報告書にて2年間のシクロホスファミド点滴静注療法が、強皮症に合併した間質性肺病変に有効であることを我々は報告した。今回の検討では、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4年間の長期間においても一定の効果が得られることが明らかとなり、有用性が高いことが示された。

A. 研究目的

強皮症患者の半数以上に間質性肺病変 (interstitial lung disease, ILD) が認められ、ILDは、肺高血圧症とならんで、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、2006年に、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(1, 2)。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。我々は、活動性のある初回治療の間質性肺病変を選び、シクロホスファミド点

点滴静注療法を行ない、一昨年、2年後までの有用性を報告したが、今回さらに4年後の結果が得られたので報告する。

B. 研究方法

対象は、2000年5月から2004年11月まで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、強皮症患者121例のうち、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く、また肺高血圧の合併のない症例とした。選択基準を満たした13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、肺胞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/m²/month)を6クールと中等量プレドニロン(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ヶ月後、24ヶ月後、36ヶ月後、48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) 48ヶ月の治療経過

図1に示すように、13例のうち、1例で、シクロホスファミド投与1ヶ月後にウイルス性心筋炎(コクサッキーBウイルス)を併発したため、治療を中止

した。2回以上IVCYを投与した患者では、12ヶ月後までは改善し悪化した症例はなかった。12ヶ月以降再燃が4例でそのうち1例は感染性肺炎を合併し死亡。24ヶ月から36ヶ月の間に1例が再燃した。7例は48ヶ月後まで悪化せずに経過した。

2) 自覚症状

図2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6、8にて自覚症状の悪化がみられた。

3) 胸部CT所見

図3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、12ヶ月以降に再燃例を含む7例で間質陰影の悪化がみられた。

4) %VC (vital capacity)の評価

図4に示すように12ヶ月後までは悪化例はなかったが、再燃した症例8、9では12ヶ月以降に%VCが悪化した。

5) 血清KL-6

図5に示すように、再燃が認められた症例9では、治療3ヶ月後からKL-6の上昇が続いていた。一方、同じく再燃した症例8ではKL-6は一定だった。その他の再燃例では再燃時にKL-6が上昇した。症例13では一度低下したKL-6が再度上昇しているが、48ヶ月までに再燃はなかった。

5) 総合評価

合計ポイントでの評価を図6に示す。脱落した1例を除く12例では12ヶ月までは有意に総合ポイントは低下していた。再燃例を除く7症例は24、

36, 48 ヶ月後でも治療前と比較し、有意に悪化することなく経過した。

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骨髄抑制は今回のプロトコールでは 1 例も認められなかった。シクロホスファミド投与後 1 ヶ月後に、ウイルス性心筋炎を合併した症例が 1 例あり、免疫抑制効果の強いシクロホスファミドとの因果関係はあると思われた。しかしながら、この症例においても、骨髄抑制や肝障害は認められず、治療中止後は、心筋炎は軽快した。

D. 考案

我々の提唱するシクロホスファミド静注療法(月に 1 度を 2-6 回、400 mg/m²)と中等量の経口ブレドニゾン(30-40 mg/日)は、強皮症に伴う間質性肺病変に 48 ヶ月間有効であった。12 ヶ月以降に、5 例(42%)で再発が認められたことより、12 ヶ月以降の免疫抑制剤などによる追加治療を今後検討する。欧米からはシクロホスファミド静注療法後にアザチオプリンの内服による維持療法の効果も報告されている(3)。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(4)、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(1, 2, 5-8)。日本人での強皮症合併間質性肺病変に対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(9)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。

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 4 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. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, et al: Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 354: 2655-2666, 2006
2. Hoyles RK, Ellis RW, Wellsbury J, et al: A multicenter, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, trial of corticosteroids and intravenous cyclophosphamide followed by oral azathioprine for the treatment of pulmonary fibrosis in scleroderma. *Arthritis Rheum* 54: 3962-3970, 2006
3. Berezne A, Ranque B, Valeyre D, et al: Therapeutic strategy combining intravenous cyclophosphamide followed by oral azathioprine

- to treat worsening interstitial lung disease associated with systemic sclerosis: A retrospective multicenter open-label study. *J Rheumatol* 35: 1064, 2008
4. 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: 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, 1999
5. 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: Cyclophosphamide pulse regimen in the treatment of alveolitis in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 29: 731, 2002
6. Davas EM, Peppas C, Maragou M, Alvanou E, Hondros D, Dantis PC: Intravenous cyclophosphamide pulse therapy for the treatment of lung disease associated with scleroderma. *Clin Rheumatol* 18: 455, 1999
7. Griffiths B, Miles S, Moss H, Robertson R, Veale D, Emery P: 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, 2002
8. White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA: Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med* 132: 947, 2000
9. Pakas I, Ioannidis JP, Malagari K, Skopouli FN, Moutsopoulos HM, Vlachoyiannopoulos PG: Cyclophosphamide with low or high dose prednisolone for systemic sclerosis lung disease. *J Rheumatol* 29: 298, 2002
- G. 研究発表
なし
- H. 知的財産権の出願、登録状況
なし

表 1. 患者背景

Pt	Sex	Age	Disease type	mRodnan TSS	Disease duration (Months)	BALF			Antibodies
						L(%)	N(%)	E(%)	
1	F	61	dc	30	8	11	-	-	ANA
2	F	64	dc	30	96		ND		Topo-I
3	F	47	dc	39	7		ND		Topo-I
4	F	52	dc	20	10		ND		U1-RNP
5	F	47	lc	5	7	12	-	-	U1-RNP
6	F	73	dc	30	14	61	5	-	ANA
7	M	55	lc	14	36	41	-	-	SS-A, SS-B
8	F	55	dc	27	108	40	5	5	Topo-I, CENP
9	M	64	dc	33	12	12	-	9	Topo-I
10	M	55	dc	15	3		ND		U1-RNP, SS-A
11	F	50	dc	23	12	7	-	1	Topo-I
12	F	67	dc	44	10		ND		ANA
13	F	43	dc	34	8		ND		ANA

Pt; Patient, dc; Diffuse cutaneous SSc, lc; Limited cutaneous SSc, TSS; Total Skin-thickness Score, L; Lymphocyte, N; Neutrophil, E; Eosinophil, ND; Not determined

表 2. 間質性肺病変の重症度分類

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

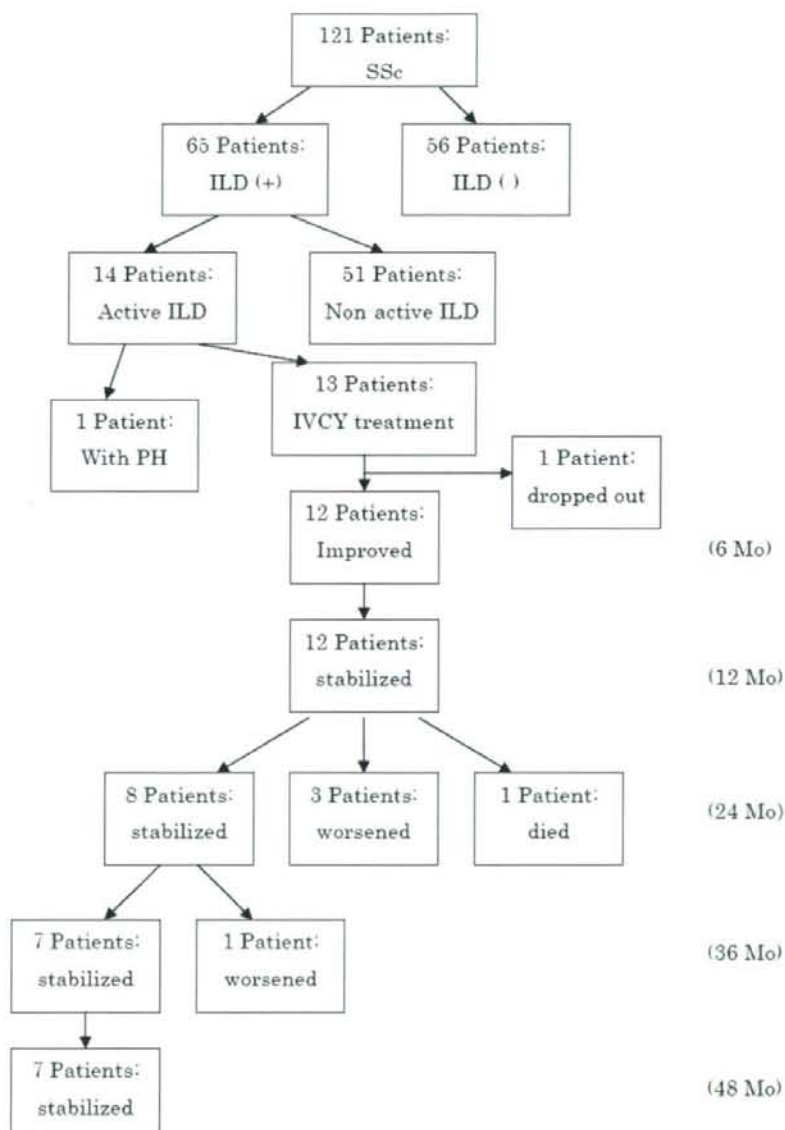


図 1. 患者の選択と治療経過

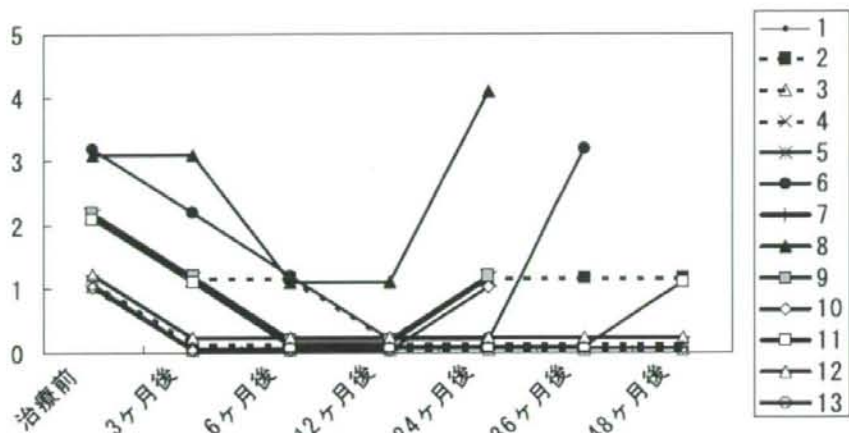


図 2. 治療経過での自覚症状の推移

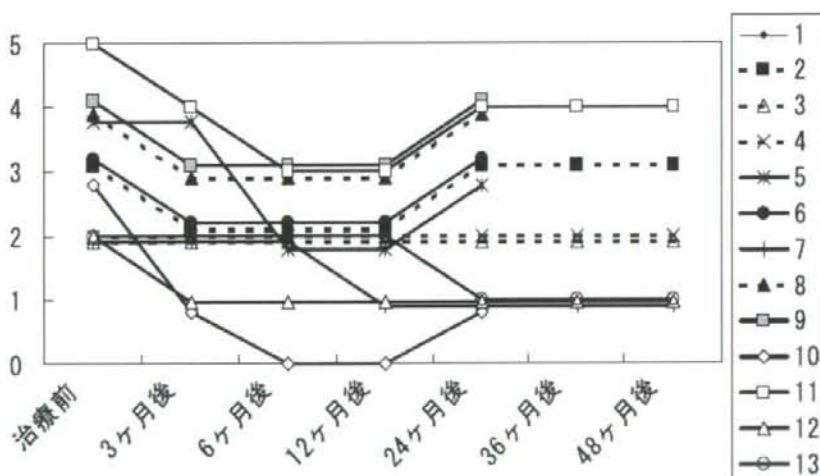


図 3. 治療経過での胸部高感度CTの推移

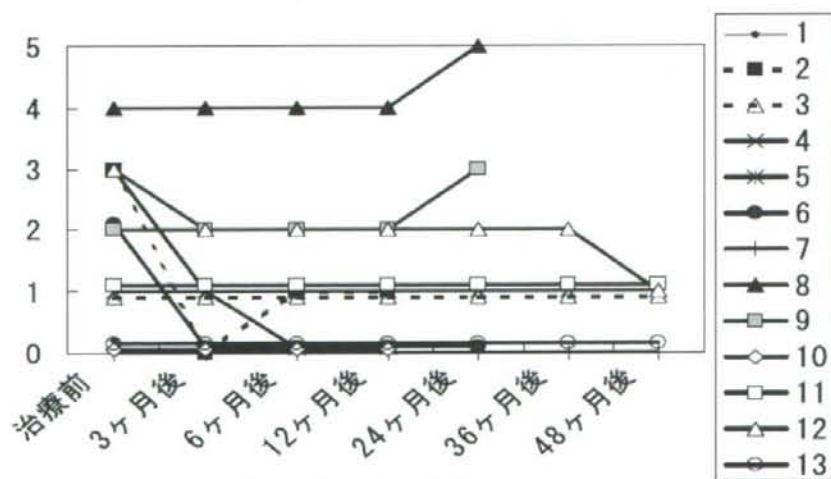


図 4. 治療経過での%VCの推移

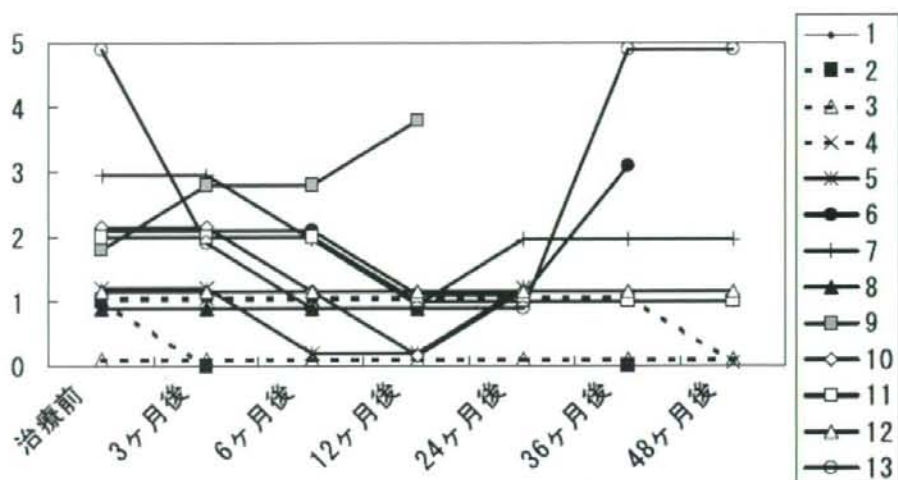
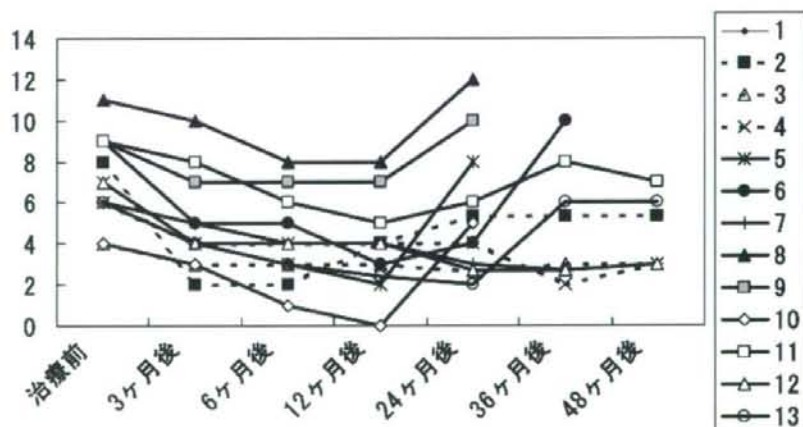


図5. 治療経過での血清 KL-6 の推移



	治療前	3ヶ月後	6ヶ月後	12ヶ月後	24ヶ月後	36ヶ月後	48ヶ月後
mean	6.92	4.92	4.17	3.87	3.71	4.24	4.33
range	4-11	2-10	1-8	0-8	2-6	2-8	3-7
P value (vs Baseline)		0.03	0.005	0.003	0.002	0.02	0.01

(24ヵ月後以降は再燃例を除く)

図6. 治療評価4項目の合計の推移

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(SSc)合併間質性肺炎に対する
シクロホスファミドパルス療法後の維持療法としてミノリピンを用いた2例

研究代表者 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
協力者 吉崎 歩 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学大学院生
協力者 築場広一 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学助教
協力者 岩田洋平 社会保険中京病院皮膚科医員
協力者 小村一浩 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学助教
研究分担者 小川文秀 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学講師研究

研究要旨

近年強皮症に合併した活動性のある間質性肺炎に対して、シクロホスファミドパルス療法が有効かつ副作用の少ない治療として注目を集めている。しかしながら、シクロホスファミドパルス療法単独では治療終了後数年で治療開始前の状態へ戻ってしまうため、副作用の少ない維持療法の開発が望まれている。今回、我々は強皮症合併間質性肺炎の2例においてミノリピン 150 mg の単回内服投与を、シクロホスファミドパルス後の維持療法として用いた。この2例において経過中、間質性肺炎の再燃を認めず副作用も認められなかった。ミノリピン 150 mg の単回内服投与は、強皮症合併間質性肺炎に対するシクロホスファミドパルス後の維持療法として有用と考えられた。

A. 研究目的

強皮症(SSc)において間質性肺炎は頻度が多く(1)、その合併により日常生活は制限され、重篤な場合は生命を脅かす。近年、SSc 合併間質性肺炎に対してシクロホスファミドパルス療法の有効性が報告されているが、シクロホスファミドパルス療法単独では、シクロホスファミドによる炎症の抑制効果は治療後1年間で失われ、肺線維症の状態は未治療群と同程度となってしまうことが報告されている(2, 3)。つまり、シクロホスファミドパルス療法における炎症の抑制は、線維化を

改善させるが、その効果を維持するために、免疫抑制剤による維持療法が必要と考えられる。

ミノリピン(MZR; プレディニン[®])はシクロスポリン、タクロリムス、メトトレキサート、アザチオプリンなどに比べ、肝毒性や骨髄抑制をはじめとする有害事象の発現が少なく、比較的安全な免疫抑制剤とされる(4, 5)。今回の研究目的はシクロホスファミドパルス後の維持療法におけるMZRの有用性について検討することにある。

B, C. 研究方法および結果

症例 1; 66 歳、男性

家族歴; 特記事項なし

既往歴; 特記事項なし

現病歴; 初診の 21 年前よりレイノー症状が出現。同時期より手指、手背、前腕、上腕、前胸部の皮膚硬化を認め、近医にて SSc の診断。初診時に精査目的で撮影された CT にて間質性陰影認め、SSc に合併した間質性肺炎を疑われ、精査加療目的に当科入院。

現症; Raynaud 症状: 有り(三相性)、modified Rodnan total skin thickness score (TSS): 12 点、指尖潰瘍および癩痕: なし

血液検査所見; RBC: $501 \times 10^4 / \mu$ 、Hb: 13.4 g/dl、Hct: 44.2%、Plt: $22.3 \times 10^4 / \mu$ l、WBC: $5500 / \mu$ l、CRP: 0.12 mg/dl、AST: 13 IU/l、ALT: 12 IU/l、LDH: 243 IU/l、BUN: 13 mg/dl、Cr: 0.34 mg/dl、KL-6: 570 U/ml、SP-D: 122 ng/ml、抗核抗体; Speckled 320 倍、抗 RNA polymerase I/III 抗体: 陽性

呼吸機能検査所見; %VC: 98.2%、FEV1.0%: 72.3%、%DLco: 54.6%

胸部 HRCT 所見; 両下葉に胸膜直下より広がる粒状網状影と一部にすりガラス影を認めた(図 1)

気管支肺胞洗浄液(BAL)所見; 総細胞数: $23.2 \times 10^4 / \text{ml}$ 、好中球: 11.4%、リンパ球: 21.3%

治療および経過; 経過を図 2 に示した。入院後に間質性肺炎の原因として感染症などを否定し、強皮症合併間質性肺炎の診断を確定した後に、プレドニゾン 20 mg/day 内服を併用のうえ、シクロホスファミドパルス療法(理想体重 \times 15 mg/dose/month、計 6 回)を行った。シクロホスファミドパルス療法終了後、間質性肺炎の改善を認めた。その後の維持療法として MZR 150 mg の

単回内服療法を開始した。このときの血中濃度は内服後 3 時間値を 1-2 μ g/ml と設定した。併せてプレドニゾンの減量を徐々に行った。維持療法開始後 6 ヶ月間で、胸部 HRCT、呼吸機能検査、KL-6、SP-D などの血液検査上、間質性肺炎の増悪を認めなかった。プレドニゾンは現在 12.5 mg/day まで減量できた。経過を通して現在まで MZR の副作用は認めていない。

症例 2; 46 歳、女性

家族歴; 特記事項なし

既往歴; 小児期に凍瘡

現病歴; 初診の 20 年前よりレイノー症状が出現。初診の 4 年前より手指、手背、前腕、上腕、前胸部の皮膚硬化と指尖潰瘍を認め、近医にて SSc の診断。初診時に撮影された CT にて間質性陰影認め、SSc に合併した間質性肺炎を疑われ、同年、精査加療目的に当科入院。

現症; Raynaud 症状: 有り(三相性)、TSS: 15 点、指尖潰瘍: なし、指尖癩痕: 右第 3、4 指、左第 3 指に認めた

血液検査所見; RBC: $459 \times 10^4 / \mu$ 、Hb: 13.7 g/dl、Hct: 41.1%、Plt: $20.7 \times 10^4 / \mu$ l、WBC: $4900 / \mu$ l、CRP: 0.14 mg/dl、AST: 17 IU/l、ALT: 18 IU/l、LDH: 268 IU/l、BUN: 11 mg/dl、Cr: 0.32 mg/dl、KL-6: 584 U/ml、SP-D: 165 ng/ml、抗核抗体; Speckled 640 倍、抗 topoisomerase I 抗体: 224.2 U/ml

呼吸機能検査所見; %VC: 94.7%、FEV1.0%: 80.2%、%DLco: 54.5%

胸部 HRCT 所見; 両下葉に胸膜直下より広がる粒状網状影と一部にすりガラス影を、一部に浸潤影を認めた(図 1)

気管支肺胞洗浄液(BAL)所見: 総細胞数: $22.8 \times 10^4/\text{ml}$ 、好中球: 5.8%、リンパ球: 16.7%
治療および経過: 経過を図3に示した。入院後に間質性肺炎の原因として感染症などを否定し、強皮症合併間質性肺炎の診断を確定した後に、プレドニゾン 20 mg/day 内服を併用のうえ、シクロホスファミドパルス療法(理想体重 \times 15 mg/dose/month、計6回)を行った。シクロホスファミドパルス療法終了後、間質性肺炎の改善を認めた。その後の維持療法として MZR 150 mg の単回内服療法を開始した。このときの血中濃度は症例1と同様に内服後3時間値を $1-2 \mu\text{g}/\text{ml}$ と設定した。併せてプレドニゾンの減量を徐々にいった。維持療法開始後、18ヶ月間で胸部 HRCT、呼吸機能検査、KL-6、SP-D などの血液検査上、シクロホスファミドパルス療法終了後よりもさらなる間質性肺炎の改善を認めた。プレドニゾンは現在 6 mg/day まで減量できた。経過を通して現在までに、MZR による副作用は認めていない。

D. 考案

近年、シクロホスファミドパルス療法はSSc合併間質性肺炎に対する有効な治療法として注目されるようになってきた。しかし、シクロホスファミドパルス療法は単独ではその効果が治療開始後2年程で失われるため治療後の維持療法が必要とされ、維持療法として副作用の少ない、有効な治療法の開発が課題の一つとして挙げられる。今回、我々は MZR 150 mg の単回内服療法をシクロホスファミドパルス療法後の維持療法として用いた。症例1では維持療法開始後から現在までの6ヶ月間、症例2では18ヶ月間において、間質性肺

炎の再燃および副作用の発現を認めなかった。

1971年に日本で開発された免疫抑制剤である MZR は、*Eupenicillium brefeldianum* の培養液から発見されたイミダゾール系核酸関連物質である(4, 5)。現在までに腎移植における拒否反応の抑制、ループス腎炎、慢性関節リウマチ、原発性糸球体疾患起因性ネフローゼ症候群に対して承認、使用されている(6)。慢性関節リウマチに対して MZR は1992年に治療薬として承認された。慢性関節リウマチに対する MZR の特徴として、朝の手のこわばり、腫脹関節数、疼痛関節数の改善、ならびに臨床検査でのリウマトイド因子の陰性化など免疫学的な改善は認められるものの、CRP や赤沈値の改善などの抗炎症作用は認められないと報告された(7)。その臨床試験での治療効果は、MZR 150 mg 分3投与では、やや改善以上の改善率は45.9%であったと報告されている(8, 9)。また、ループス腎炎においても MZR は尿蛋白減少効果、再燃抑制効果ならびにステロイド減量効果があると報告されているが、従来の1日150 mg 分3投与では十分な治療効果が認められない症例も散見された(10)。In vitro での MZR によるリンパ球の増殖抑制効果を同種抗原刺激でのリンパ球増殖で検討した研究によると、MZR は濃度依存的にリンパ球の増殖を抑制し、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で52.6%抑制すると報告されている(11)。また、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MZR 血中濃度は、150 mg の単回内服投与3時間後に得られ、100 mg の分2投与と150 mg の分3投与ではいずれも $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の血中濃度しか得られないとする報告がある(12, 13)。実際、ループス腎炎および関節リウマチにおいて MZR 150 mg 単回内服投与とし、血中濃度を $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上としたと