

Lancet 360: 427-35, 2002

2. Oda M, Kato K, Toba K, Otaki K, Kitajima T, Ikarashi N, Yanagawa T, Higashimura M, Asami F, Isoda M, Ozawa T, Moriyama M, Hirono S, Okura Y, Hanawa H, Kodama M, Aizawa Y. Prognostic factors for critical limb ischemia after autologous bone marrow implantation. *J Cardiol* 50: 235-42, 2007
3. Saigawa T, Kato K, Ozawa T, Toba K, Makiyama Y, Minagawa S, Hashimoto S, Furukawa T, Nakamura Y, Hanawa H, Kodama M, Yoshimura N, Fujiwara H, Namura O, Sogawa M, Hayashi J, Aizawa Y. Clinical application of bone marrow implantation in patients with arteriosclerosis obliterans, and the association between efficacy and the number of implanted bone marrow cells. *Circ J* 68: 1189-93, 2004
4. Ozawa T, Toba K, Kato K, Minagawa S, Saigawa T, Hanawa H, Makiyama Y, Moriyama M, Honma K, Isoda M, Hasegawa G, Naito M, Takahashi M, Aizawa Y. Erythroid cells play essential roles in angiogenesis by bone marrow cell implantation. *J Mol Cell Cardiol* 40: 629-38, 2006

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業） 研究報告書

難治性血管炎に対する血管再生療法の多施設共同研究

膠原病・リウマチ性疾患における血管新生療法の検討

分担研究者 石ヶ坪良明
研究協力者 井畑 淳、上田敦久、大野 滋*、岳野光洋
横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科
横浜市立大学附属総合医療センター病院*

研究要旨

膠原病・リウマチ性疾患は、全身性炎症性疾患であるが、しばしば血管の炎症に伴う諸臓器の重篤な血行障害を来す。そのなかで、四肢虚血による潰瘍や壊疽は患者の疼痛による苦痛のみならずQOLを著しく低下させる。

私どもは、膠原病・リウマチ性疾患に併発する難治性の四肢虚血病変を対象にして同療法を施行している。いずれの症例もデブリドマンと同時に、外用剤、リポ化プロスタグランディンE1製剤等の治療にて改善が認められなかった難治症例である。私どもは、強皮症の血管障害による四肢の虚血性潰瘍に対し同療法の著効を確認してきた経験に基づき、さらに血管炎や血栓による虚血性潰瘍に対しても適応を拡大し治療を行った。なお、本療法施行早期には安全性および治療反応性を確認するために片側のみに血管新生療法を施行していたが、その後は、罹患側のみならず血流が悪く潰瘍に発展する可能性のある対側にも治療範囲を拡大しその効果を検討した。

方法としては、腸骨より骨髓液を約400～900ml採取し、単核球を分離精製後、虚血肢骨格筋内に投与した。

副作用の有無については、術前・術後の経過中、最長172週まで経過観察を行ったが、重篤な有害事象は認められなかった。

A. 緒言

従来、成人における血管新生は、既存の成熟血管内皮細胞の増殖と遊走によるとされてきたが、成人の末梢血中には、血管内皮細胞（endothelial cell: EC）に分化しうる血管内皮前駆細胞（endothelial progenitor cell: EPC）が存在することが明らかになった（1,2）。また種々の動物実験により、成人の血管新生においても、胎生期に見られる血管発生型の血管新生（angiogenesis）が関与している可能性が示唆されている（3,4）。これらの血管内皮前駆細胞は

骨髓より動員されることが示唆され（5,6）、実際に骨髓細胞移植によって虚血組織の血管新生を誘導できることが報告されている（7）。

このような、基礎研究に基づき、臨床的にも末梢動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症・Buerger病）患者への自己骨髓幹細胞による血管新生療法（虚血部への筋肉内注入）が施行され、血行障害肢に対する新しい治療法としてTACT study（therapeutic angiogenesis by cell transplantation）においてその有用性が実証された（8）。

全身性炎症性疾患であり膠原病・リウマチ性

疾患（関節リウマチ・全身性エリテマトーデス・全身性強皮症・血管炎症候群など）においても、しばしば血管の炎症に伴う諸臓器の重篤な血行障害を来す。特に全身性強皮症における血行障害は比較的頻度が高くレイノー現象はほぼ必発であり、主として微小循環、時に小動脈が障害される（9,10,11）。

四肢虚血による皮膚潰瘍や壊疽は患者に疼痛による多大な苦痛を与えるのみでなく、Quality of Life (QOL) を著しく低下させ、ステロイド薬や免疫抑制薬のほか、抗凝固療法、血管拡張療法、局所感染対策などが奏功しない場合、不幸にも四肢切断に至る症例も日常臨床上よく経験する。このような症例に対して、血管新生促進因子やその遺伝子治療はいまだ十分に有効性が示されておらず（12）、自己骨髄幹細胞による血管新生療法の有用性が期待されている。しかしながら、膠原病・リウマチ性疾患においてはその背景に免疫異常があり、血管新生療法が免疫異常に与える影響が不明な理由からこれまでに十分な検討はされていない。

近年、全身性強皮症についての研究が進み、病態論として、血清中のVEGF濃度は、健常対照に比して高濃度に存在しているにも関わらず（13,14）、循環血管内皮前駆細胞が少なく、分化能が低下していることが報告されている（15）。また、新たな治療戦略の一つとして、血管内皮前駆細胞の動員に statin などの有用性が検討されている（16）。

今回、私どもは、膠原病・リウマチ性疾患における四肢虚血病変に対して、自己骨髄幹細胞を用いた血管新生療法を施行し、その認容性および有効性について検討した。

B. 研究目的

膠原病・リウマチ性疾患における四肢虚血病変に対する自己骨髄幹細胞移植による血管新生療法の有用性、長期予後について検討し、更に適応疾患の拡大の可否について検討、複数肢への治療の認容性および機器変更による麻酔時間・分離時間の短縮について検討した。

C. 研究方法

C-1. 対象

膠原病・リウマチ性疾患自身の活動性はコントロールされているが、四肢のいずれかに虚血性潰瘍を合併する症例のなかで、従来の血行改善薬や局所軟膏処置にて潰瘍の改善が認められない症例を対象とした。なお、対象年齢は、20歳以上75歳未満で、性別は問わず、下記は適応除外基準とした。合併症などのために余命が1年未満と考えられるもの、過去3ヶ月以内に薬物やアルコール依存の既往があるもの、活動性のある糖尿病性網膜症を有するもの、5年以内に悪性新生物の既往を有するかスクリーニング検査によりその可能性があるかと判断されたもの、1年以内に虚血性心疾患や脳血管障害の既往のあるもの、心、肺、造血器などに重篤な臓器病変がある場合。また、本研究は横浜市立大学医学部倫理委員会の承認を得ており、本研究に関する十分な説明が同意説明文書をもとに行われ、その主旨を理解し文書による同意が得られた症例に対して施行された。

私どもは、血管新生療法を平成16年度から（研究班員としては17年度から）施行し（症例1～6の6症例）厚労省研究補助金難治性疾患克服研究事業報告書にすでに報告している。以下には、平成19年から21年までに血管新生療法を施行した患者（症例7～14）の病歴および病変（図7～14：症例番号と同じ）を示す。それ以前に施行された6症例については病変（図1～6：症例番号と同じ）のみ掲載する。

症例7：59才、女性。1974年SLEと診断。2002年左足趾にチアノーゼ・潰瘍を生じ切断。2004年抗リン脂質抗体症候群と診断。2006年9月、左第一趾潰瘍改善なく当科紹介受診。初診時ステロイドの使用なし。外来にてリポPGE₁製剤投与するも改善なく、12月、血管新生療法目的で入院。左第1趾に潰瘍（+）、左第2,3,4趾は切断、右第2,3趾紫色調、左足背動脈触知せず、神経学的所見特になし。
症例8：32才、女性。1993年SLEと診断。PSL30mg/日で治療開始し、1998年PSL中止。2001年出産後再燃。PSL30mg/日再開され、症

状改善しPSL17.5mg/日へ漸減。2006年9月レイノー現象悪化。10月末、左第5指指尖部の壊死出現。リポPGE1製剤投与するも改善なく、2007年1月、血管新生療法目的で入院。両手指冷感、チアノーゼ、左第2,5指、右第5指に潰瘍。神経学的所見特になし。

症例9：31才、女性。1995年夏、眼の乾燥症状出現、他院でシェーグレン症候群と診断。2005年2月、日光過敏+多発関節炎+筋力低下等症状あり混合性結合組織病と診断。2007年秋、第2指の冷感・蒼白を自覚、徐々に潰瘍形成。2008年1月、近医に入院。シロスタゾール・PGE製剤点滴・アルガトロバン・プロスタグランジン外用加療も改善せず徐々に悪化。2008年2月外来紹介受診、2008年3月血管新生目的で入院。レイノー現象(+)、左第2指先真皮層に至る深い潰瘍。pVAS 22mm/100mm。

症例10：53才、女性。2000年SLEと診断。腎生検にてWHO II型。2002年左下腿潰瘍にて皮膚科入院。PSL 6mgまで減量。その後も皮膚潰瘍繰り返す、2003年SLEの再燃のためPSL 30mgに増量。2006年腰痛、発熱出現、化膿性脊椎炎にて入院。2007年肺炎のため入院。その後も下腿潰瘍は治癒・再燃を繰り返す。2008年6月血管新生療法目的にて当院当科入院。肺音fine crackle、レイノー現象(+)、両下腿に真皮層に至る多発潰瘍。pVAS 0 mm/100mm (鎮痛目的で麻薬使用中)。

症例11：61才、女性。1974年発症のSLE (蝶形紅斑、多発関節炎、白血球減少、リンパ球減少、抗核抗体陽性)。リンデロンにて加療、寛解、漸減中止。1992年、左足趾にチアノーゼ、潰瘍形成後切断。その後第一足趾に潰瘍形成を繰り返す。2004年、カルジオリピン抗体陽性となり、抗リン脂質抗体症候群と診断。2006年、9月中旬左第1趾潰瘍改善なく、当科紹介受診。12月、左足に血管新生療法施行。同部位潰瘍は改善。2008年 左第1趾、左第4指、右第3指に皮膚潰瘍出現。再度血管新生療法の目的で9月入院。レイノー現象(+), 右第3指、左第4指、左第1趾真皮層に至る

深い潰瘍。pVAS 2.5mm/100mm。

症例12：60才、女性。2003年発症の強皮症 (レイノー症状(+), ANA160 (speckle)、強指症(+), 両手背皮膚硬化(+), 組織学的浮腫性硬化)。冬期に手指のしびれ増悪。2005年当科受診時、右手指第3指の潰瘍あり、以後手指潰瘍繰り返すため2009年3月血管新生療法目的で入院。fine crackle聴取。レイノー現象(+), 手指硬化あり、神経異常なし。

症例13：59才、女性 2002年発症の強皮症。徐々にレイノー現象が悪化。2008年12月、左手3指壊死、近医受診、ワーファリン5mg、サルボグレラート300mg投与も改善せず。2009年5月、指尖潰瘍および壊死が改善なく当科紹介受診。2009年7月、血管新生療法目的にて入院。右側胸部および背部吸気時捻髪音聴取。神経学的所見なし。左第3指先潰瘍(+)(黒色) 右第2,3,5指尖潰瘍(+)

症例14：49才、女性。2004年3月、右下腿に暗赤色の皮疹。2008年2月、朝のこわばり。潰瘍の併発ありリウマトイド血管炎と診断。8月、下腿潰瘍に対する血管新生療法目的で入院。両下腿・両前腕に網状皮斑、右下腿潰瘍。両足背動脈触知せず、両手関節の腫脹なし。

C-2. 術前検査

術前スクリーニング検査として、血液検査、尿検査、便潜血検査、胸部および腹部 X 線写真撮影、心エコー、胸部および腹部 CT 検査、頭部MRI検査等を施行し、全身麻酔に伴うリスクを評価するとともに、除外対象となる虚血心疾患、脳血管障害、糖尿病性網膜症、悪性新生物等を検索した。また、血管新生療法3週間前に自己血を保存した。

C-3. 手術方法

移植2週間前にプロスタサイクリン以外の抗血小板薬を中止し、自己血400mlを貯血した。骨髓液は、バイオクリーンのある手術室で採取し、初回穿刺の骨髓液は細胞数計測とライトギムザ染色標本作製した。全身麻酔下(一例は、肺繊維症合併のため腰椎麻酔および硬膜外麻酔)に伏臥位とし、両側腸骨稜から採取した400~500mlの骨髓液を、ヘパリン添加した

RPMI培地もしくは生理食塩水（500mlあたりへパリン10000単位）中へ浮遊させた。Bone Marrow Collection Kit（Baxter）もしくはBone Marrow Collection System（Baxter）を用いて骨髓液中の脂肪塊や骨片などを除去後、自動血球計算機にて赤血球数およびヘマトクリット値を測定した。Cobe Spectra血液成分分離装置を用いた場合、術前の貯血自己血400mlと骨髓液を混合し密度勾配遠心分離により骨髓単核球を分離後、1500回転10分間遠心し（KUBOTA遠心機）、上清を吸引し合計25mlの細胞浮遊液に調整した。このうち20mlを移植用検体とし、1mlシリンジ40本に0.5mlずつ分注し、21G針で筋肉内に40箇所、等間隔に注入した。Fresenius COM.TEC血液成分分離装置（Fresenius Hemocare）を用いた場合、貯血自己血は使用せず、密度勾配遠心分離により（図15）骨髓単核球を分離後、25～50mlの細胞浮遊液に調整した。このうち20～45mlを移植用検体とし、1mlシリンジ40～90本に0.5mlずつ分注し、21G針で筋肉内に40箇所等間隔に注入した。残りの5mlは、有核細胞数、生細胞率およびCD34陽性細胞数（フローサイトメトリー法：Stem-Kit法－ISHAGEガイドライン準拠）の解析および凍結保存用とした。有核細胞数の測定は血球計算機LH755を使用、CD34測定にはclass III epitopeを認識するFITC標識モノクローナル抗体 clone 581（BECKMAN COULTER社）を用いて2回測定しその平均値を算出した。

C-4. 治療効果判定

移植前および移植後2週、4週、12週、24週、48週その後は12週毎に、問診（Visual analog scale: VAS、SHAQ、レイノー現象の有無など）、身体所見（皮膚潰瘍の大きさ、深さ、性状を観察し、デジタルカメラで写真撮影）、ABI、サーモグラフィー、パルスドップラー、毛細血管顕微鏡などのデータを解析した。サーモグラフィーは、室温23度の環境下、10分間の馴化時間後に測定した。また経動脈性 digital subtraction angiography（IA-DSA）による末梢動脈の評価は、移植前および移植8週後に施行したが、静脈相出現の時相で末梢動脈の造影について比較した。

D. 結果

D-1. 各症例の臨床的特徴

本研究に参加した症例は、アメリカリウマチ学会の全身性強皮症分類基準を満たす全身性強皮症8例、全身性エリテマトーデス4例、混合性結合組織病1例および関節リウマチ1例であり、年齢は32～72歳、全て女性であった。罹病期間は5～35年であった。（表1）

全症例で疾患活動性は安定しており、症例9を除く13症例でレイノー現象を認めた。臓器合併症は逆流性食道炎が4例、原発性胆汁性肝硬変が2例、肺線維症が4例に認められた。強皮症8症例において皮膚硬化の程度を示すmodified Rodnan total skin score（mRodnanTSS）の平均値は20.4点と比較的高い数値を示した

D-2. 皮膚潰瘍の性状および移植後の経過

潰瘍部位は症例11の重複例を含め、上肢指尖部10例（症例1～3,5,6,8,9,11～13）、足趾3例（症例4,7,11）、下腿2例（症例10,14）で、深さはいずれも真皮層におよび、大きさは平均345.3mm²であった。前治療としては、創のデブリドマンや軟膏処置、リポ化プスタグランジンE1製剤の静注療法などが施行され、潰瘍形成から血管新生療法までの平均罹病期間は9.6ヶ月であった。血管新生療法を施行した全症例の皮膚潰瘍の治癒経過を図1から14に示す。症例10,14を除く12例で皮膚潰瘍は軽快し上皮化した。比較的潰瘍が浅く、潰瘍径が小さいものは、移植後数日で乾性となり、2週後には潰瘍は縮小傾向を示し、8週後には上皮化した。症例10,14については潰瘍の縮小は認められたが、観察期間中には消失しなかった（図16）。また足底に生じた深い潰瘍は、完全な上皮化までは24週を要した。また、移植後変化として、これまで停止していた爪の伸張が認められた。皮膚潰瘍の治癒経過と疼痛の指標であるVASの関係を図17に示すが、潰瘍の縮小とともに、VASの軽減が認められた。皮膚硬化については、移植後、皮膚が柔らかくなったと感じる症例も認めたが、皮膚硬化の客観的な評価法であるmRodnanTSSの経過は不変で（図18）、QOLの指標であるSHAQも変化を認めなかった（図

表1 各症例の臨床的特徴 (1)

	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4	症例 5	症例 6	症例 7
基礎疾患	SSc	SSc	SSc	SSc	SSc	SSc	SLE
年齢 (yr) / 性別	63 / F	50 / F	57 / F	72 / F	62 / F	58 / F	59 / F
罹病期間 (yr)	22	5	19	22	5	19	33
自覚症状							
Raynaud現象	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
m-Rodnan TSS (0-51)	27	8	32	9	18	32	
SHAQ (0-60)	0	6	30	13	2	40	10
臓器合併症							
cardio-pulmonary	(-)	(-)	(-)	(-)	IP	(-)	(-)
gastro-intestinal	GERD	(-)	GERD/PBC	(-)	GERD	GERD/PBC	(-)
自己抗体							
ANA	1280 dis sp	1280 dis sp	1280 dis sp	1280 dis sp	1280 dis sp	1280 dis sp	1280 sp
anti-centromere	140.1	136.0	189.3	89.9	< 7.0	89.9	< 7.0
anti-Scl 70	< 7.0	< 7.0	< 7.0	8.9	* < 7.0	8.9	< 7.0
anti-RNP							2680
血管新生までの治療法							
PSL	(-)	(-)	5mg / day	(-)	8mg / day	5mg / day	(-)
prostaglandin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

表1 各症例の臨床的特徴 (2)

	症例 8	症例 9	症例 10	症例 11	症例 12	症例 13	症例 14
基礎疾患	SLE	MCTD	SLE	SLE	SSc	SSc	RA
年齢 (yr) / 性別	32 / F	30 / F	54 / F	61 / F	61 / F	60 / F	49 / F
罹病期間 (yr)	14	14	10	35	7	7	5
自覚症状							
Raynaud現象	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
m-Rodnan TSS (0-51)					30	7	
SHAQ (0-60)	15	0	6	12	5	1	2
臓器合併症							
cardio-pulmonary	(-)	(-)	IP	(-)	IP	IP	(-)
gastro-intestinal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
自己抗体							
ANA	320 sp	1280 sp	640 sp	1280 sp	1280 sp	160 sp	640 sp
anti-centromere	< 7.0	< 7.0	< 7.0	< 7.0	< 7.0		< 7.0
anti-Scl 70	< 7.0	< 7.0	< 7.0	< 7.0	< 7.0	< 7.0	< 7.0
anti-RNP	246	6320	151	2680			
血管新生までの治療法							
PSL	15mg / day	7mg / day	18mg / day	(-)	(-)	(-)	20mg / day
prostaglandin	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)

表2 採取骨髄液中のCD34陽性細胞数および移植した細胞数 (1)

	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6	症例7
採取骨髄液量 (ml)	490	390	405	390	420	390	400
骨髄単核球細胞数 ($10^4/\mu\text{L}$)	1.96	1.39	1.64	1.88	2.03	6.25	7.62
CD34 ⁺ 細胞 / μL (%)	3790 (2.22)	230 (0.44)	1970 (2.49)	2210 (4.10)	1620 (1.74)	1265 (3.2)	945 (2.15)
移植された単核球 生細胞数(10^9 cells)	3.44	1.06	1.56	1.07	1.73	0.79	0.87
移植されたCD34 ⁺ 生細胞数(10^7 cells)	7.58	0.46	3.94	4.42	3.01	2.53	1.89

表2 採取骨髄液中のCD34陽性細胞数および移植した細胞数 (2)

	症例8	症例9	症例10	症例11	症例12	症例13	症例14
採取骨髄液量 (ml)	557	535	510	770	900	600	830
骨髄単核球細胞数 ($10^4/\mu\text{L}$)	19.35	3.96	9.81	3.06	1.6	13.6	1.22
CD34 ⁺ 細胞 / μL (%)	2720 (2.14)	765 (2.61)	405 (0.47)	575 (2.16)	801 (1.92)	1613 (3.66)	1075 (2.64)
移植された単核球 生細胞数(10^9 cells)	2.54	0.59	2.40	1.18	1.89	1.99	1.85
移植されたCD34 ⁺ 生細胞数(10^7 cells)	5.44	1.53	1.12	2.59	3.60	7.26	4.84

19)。レイノー現象に関しては、移植後アイスクリームを持ってもレイノー現象を認めなかった症例や、移植した肢が温かく感じた症例も認めた。

D-3. 骨髄細胞数およびCD34陽性率の解析

採取した骨髄液量および骨髄細胞数の平均値は、それぞれ 545 ± 46 mlおよび $28.7 \pm 8.2 \times 10^9$ cellsであった。全症例における移植した生細胞数の平均値は、 $1.64 \pm 0.21 \times 10^9$ cellsであり、このうちCD34陽性細胞は、 $3.59 \pm 0.58 \times 10^7$ cellsであった。

血球分離装置変更前後で比較すると分離時間はそれぞれ 201 ± 9.0 分、 120 ± 12.0 分であり、分

離に使用した自己血は400ml, 200ml。分離後の生細胞数は $1.63 \pm 0.33 \times 10^9$ cells、 $1.65 \pm 0.27 \times 10^9$ cellsであり、移植されたCD34陽性細胞数は $3.66 \pm 0.78 \times 10^7$ cells、 $3.49 \pm 0.94 \times 10^7$ cellsであった (表2)。

D-4. サーモグラフィーによる体表温度、レーザードップラー脈波計および血流量の検討

移植前後の体表温度の変化はサーモグラフィーを用いて検討した。症例2は、左第3指に皮膚潰瘍を認めたが指尖に近いほど体表温度は低下していた (図20A白矢印)。移植後 (図20B)、体表温度が低い領域は減少した。体表温度の上

表3 治療経過のまとめ (1)

	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4	症例 5	症例 6	症例 7
フォローアップ期間(月)	65	55	18	53	40	36	21
皮膚潰瘍の転帰	上皮化	上皮化	上皮化	上皮化	上皮化	上皮化	上皮化
有害事象	眩暈 (術直後のみ)	なし	咽頭痛 (術直後のみ)	なし	なし	なし	悪心
レイノー現象の出現	あり	あり	あり	あり	あり	あり	あり
LipoPGE ₁ の使用	あり	あり	あり	あり	なし	なし	なし
皮膚潰瘍の再発	なし	なし	なし	なし	あり	なし	あり

表3 治療経過のまとめ (2)

	症例 8	症例 9	症例 10	症例 11	症例 12	症例 13	症例 14
フォローアップ期間(月)	34	20	17	14	8	4	3
皮膚潰瘍の転帰	上皮化	上皮化	表皮欠損	上皮化	上皮化	上皮化	表皮欠損
有害事象	発熱	発熱	なし	発熱	発熱	なし	発熱
レイノー現象の出現	あり	あり	あり	あり	あり	あり	あり
LipoPGE ₁ の使用	なし	あり	あり	あり	あり	あり	あり
皮膚潰瘍の再発	なし	なし	あり	あり	なし	なし	

昇が血流の増加に起因するか否かを確認するために、レーザードップラーを用いて血流量の変化を測定した。レーザードップラーは、全身性強皮症に認められるレイノー現象の評価に有用であることが報告されている (17)。図20CおよびDは、皮膚潰瘍を認めた左3指の移植前後のレーザードップラー波形である。縦軸は血流量を示すが、移植後に血流量は約2倍に増加した。また、移植前には認められなかった脈波が移植後に認められるようになった。

D-5. 毛細血管顕微鏡による爪上皮毛細血管の検討

移植前後の患肢体表温度や血流量の増加が毛

細血管レベルの微小循環の改善に起因するか否か評価する目的で、毛細血管顕微鏡による爪上皮毛細血管を観察した。図21A (20倍) およびB (80倍) は、健常対照の毛細血管を示す。爪上皮毛細血管は、径10 μ m程度の血管が近位から遠位に向かいヘアピン構造を形成後再び近位に帰るが、管内を血球が迅速に流れている様子が観察される。図21 (C-G) に、血管新生療法を施行した症例の爪上皮毛細血管の治療経過の一例を示す。潰瘍が認められない右第5指では、強皮症の特徴である毛細血管の著明な蛇行および一部狭小化や著明な拡張が認められた (C: 20倍、D: 80倍) (13)。管内を流れる血球

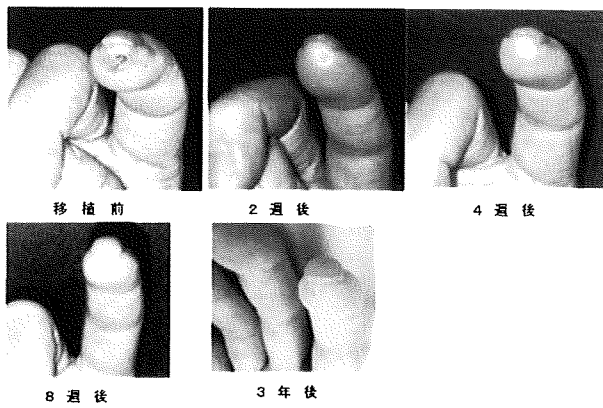


図1 症例1 治療経過

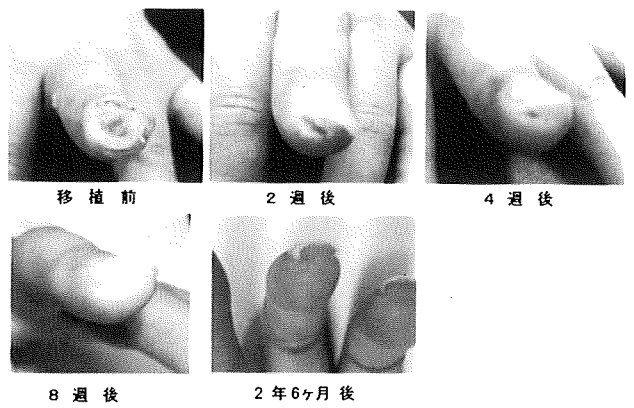


図2 症例2 治療経過

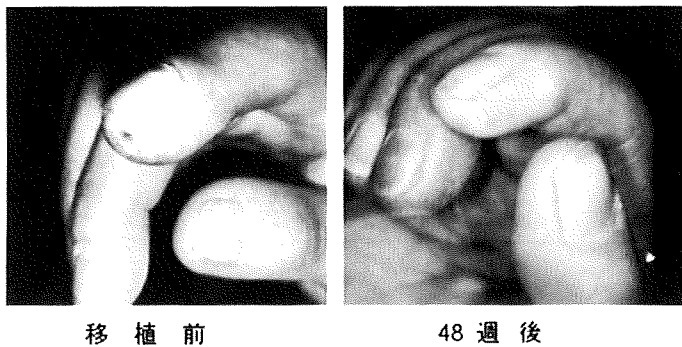
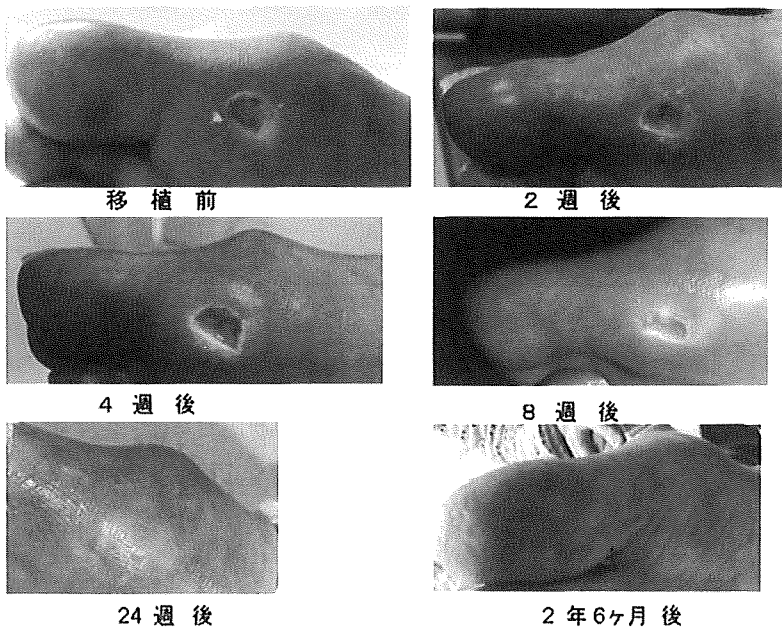
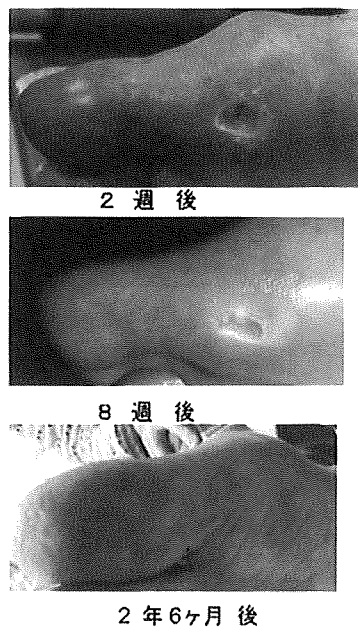


図3 症例3 治療経過



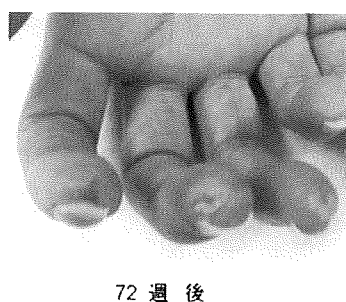
↑ 図4 症例4 治療経過



↓ 図5 症例5 治療経過



移植前



72週後

の速度は非常に緩慢であり、血流が途絶している箇所も散見された。さらに、皮膚潰瘍を形成した右第2指では、移植前は、毛細血管が殆ど認められなかったが (E: 20倍、F: 80倍)、移植2週後には、ゴマ塩状の毛細血管が認められ、血管内に血流も観察されるようになった (G)。

D-6. 経動脈的digital subtraction angiography (IA-DSA) による解析

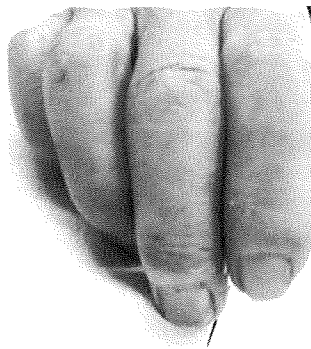
移植前後の患肢体表温度や血流量の増加が、中小動脈レベルでの血流の改善に起因するかどうかを検討するために、移植前後で、経動脈的digital subtraction angiography (IA-DSA) を施行した。代表例として症例1の移植前および移植8週後の結果を図22に示す。移植前は、尺骨動脈は完全に閉塞し描出されず、指尖部に潰瘍を形成した右第2指へ向かう固有掌側指動脈も途絶していた (図22A黒矢印)。移植後は、側副血行路形成に伴う血管網の増加を認め、尺骨側にも側副血行路の形成が認められた (図22B白矢印)。他の症例でも同様の変化が観察された。

D-7. 有害事象について

表3に示すとおり、手術直後に眩暈、咽頭痛、悪心がそれぞれ一症例ずつ認められ、発熱が5症例に認められたが、いずれも一過性であり経過とともに自然軽快した。その他の



移植前



48週後

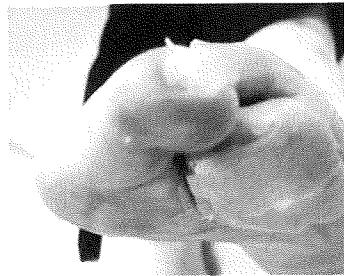
図6 症例6 治療経過



移植前

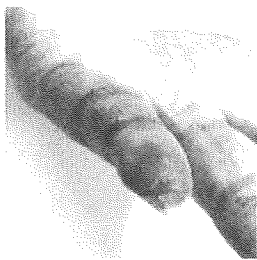


24週後



48週後

図7 症例7 治療経過



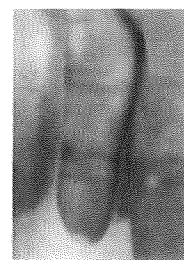
移植前



12週後



36週後



48週後

図8 症例8 治療経過

病各1症例に対し自己骨髄幹細胞移植による血管新生療法を施行した。その結果、速やかな疼痛の軽減および潰瘍の治癒が認められ、リウマチ・膠原病疾患に対しての血管新生療法の有効性が認められた。臨床的効果は、術前術後でサーモグラフィやレーザードップラー検査により虚血肢の皮膚温の上昇、血流量の増加が認められたこと、さらに、毛細血管顕微鏡や血管造影により、毛細血管レベルでの血流の改善、中小動脈を連結する側副血行路の増加が観察されたことなどから客観的にも裏付けされた。血管新生療法を施行した症例のなかで、2例の再発例が認められたが、症例2は非移植肢に壊疽が生じ、症例3は移植した同側の他手指に新しい潰瘍が生じたものである。さらに、症例3は再発時の血管造影所見から再発の原因が固有掌側動脈の途絶によるものであり、術前と比較して側副血行路は形成されていることが確認されている。本症例では、骨髄機能の回復を待って2回目の移植を施行し新しく生じた潰瘍は改善し、その後は再発を認めていない。本症例

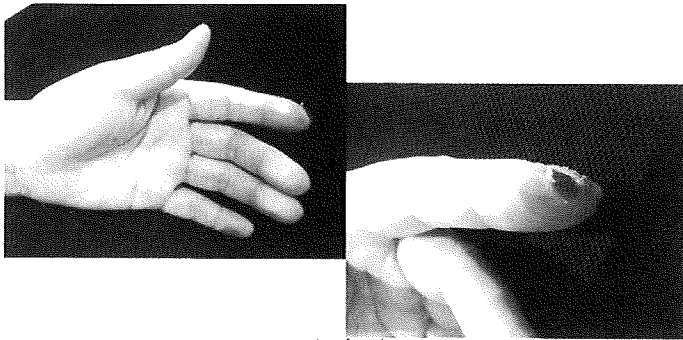
有害事象は、術中術後ともに現在まで認めていない。

E. 考察

難治性の虚血性四肢皮膚潰瘍を併発した全身性強皮症8症例、全身性エリテマトーデス4症例、リウマトイド血管炎および混合性結合組織

の経験から血管新生療法が一定の期間の後に複数回の移植も可能であることが示された。

全身性強皮症の病態においては循環血管内皮前駆細胞の減少や分化能の低下の重要性が報告されており(2)、血管内皮細胞の傷害と血流低下が潰瘍の形成機転と考えられる。しかし、他の膠原病において潰瘍形成の機序は明らかでは



治療前

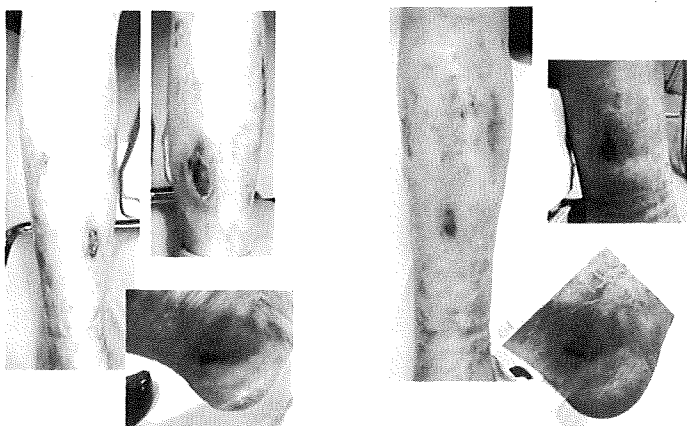


4週後

図9 症例9 治療経過



治療前



8週後

16週後

図10 症例10 治療経過

なく、血管炎が主体となる場合の血管新生療法への潰瘍治癒への反応性は強皮症とは異なる可能性が推測される。私どもの経験した強皮症以外の膠原病6症例においても潰瘍の治癒経過はほぼ今までの報告と同様であり、原疾患の活動性の悪化も経過中認められなかった。

また、症例9まで、手術肢と非手術肢との比較のため、病変肢のみに施行していた血管新生療法を、症例10～14の5症例では多肢に施行した。多肢に血管新生療法を施行した5症例（図10～14）の治療経過は良好であり発熱のほか合併症も認められず、（表3）、多肢への血管新生療法は有用と考えられた。

最近、治療を施行した6症例に関しては、血球分離装置を従来のCobeSpectraから、Fresenius COM.TEC（Fresenius Hemocare社）へ変更している。新しく使用したFresenius COM.TECは血液悪性腫瘍領域において骨髄移植を行う際に標準的に使用される機器のひとつであり、安全性に関しては特に問題は報告されていない。この機器は血球分離の際に最初に血漿を指定量分離することにより、全体の容量を減少させ、その結果として分離時間を短縮することが可能である。多肢に移植した症例では採取骨髄液量が増加し、採取時間も延長しているが、機器の変更により分離時間は大幅に短縮し、分離に使用された自己血の量も減少した。その結果として、手技全体の麻酔時間も短縮され、患者に与える侵襲も軽減した。また、以前に使用していたRPMIを骨髄移植ガイドラインに準じて生理食塩水に変更したが、浮遊液の変更は、分離後の生細胞数に大きな影響を与えなかった。複数回血管新生療法施行症例において、CD34陽性細胞数および生細胞数が低下する傾向が認められたが、治療経過には特に問題は認められていない。

最近、血管新生療法の長期安全性に対する疑問が報告されたが（18）、私ども

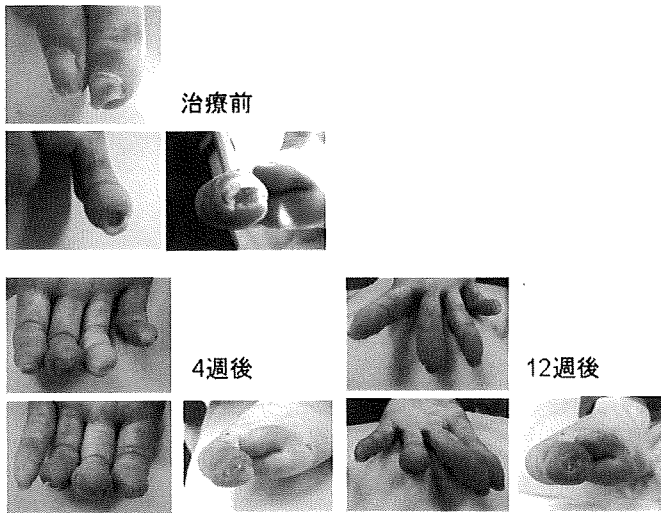


図11 症例11 治療経過

左第2指

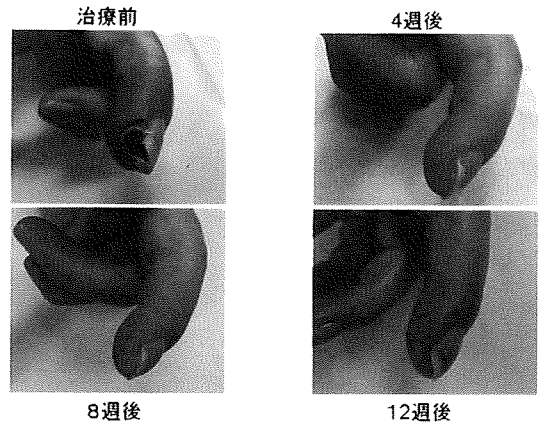
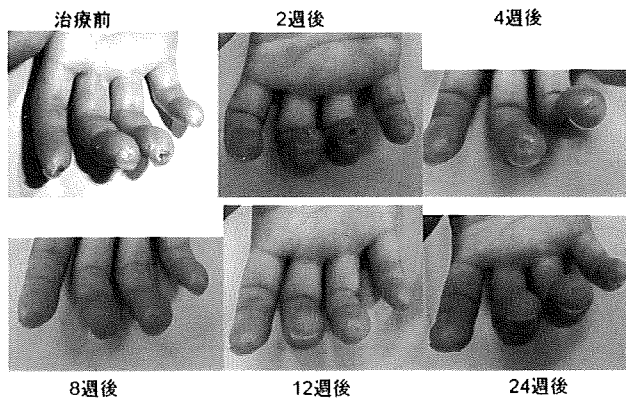


図13 症例13 治療経過

①右手



②左手

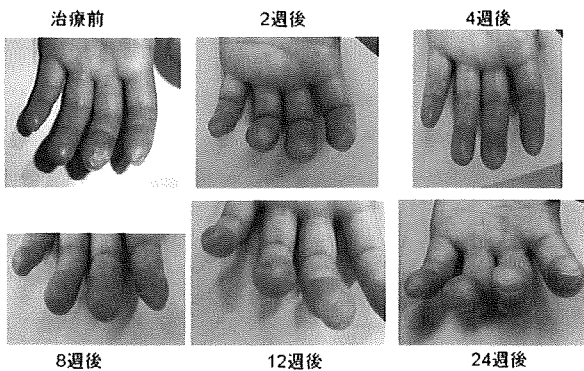


図12 症例12 治療経過

の延べ14症例を検討した結果では、手術および術後経過の経過観察において、最長172週、のべ1636週の経過で重篤と考えられる合併症は認めていない。膠原病・リウマチ性疾患における臓器病変および重症度は多様であり、血管新生療法の安全性に関する評価は今後も注意深く観察する必要があるが、他に有効な治療法がなく難治性潰瘍に苦慮する場合、患者の疼痛による苦痛およびQOLを考慮すると選択されるべき治療法の一つと考えられる。

F. 結論

膠原病・リウマチ性疾患に併発した難治性虚血性皮膚潰瘍に対して自己骨髄幹細胞移植による血管新生療法は、多肢に施行例の長期経過観察においても安全性、認容性が認められた。

自己骨髄幹細胞移植による血管新生療法は難治性虚血性皮膚潰瘍に対する新たな治療選択の一つに成り得ることが示唆された。

G. 健康危険情報

特になし。

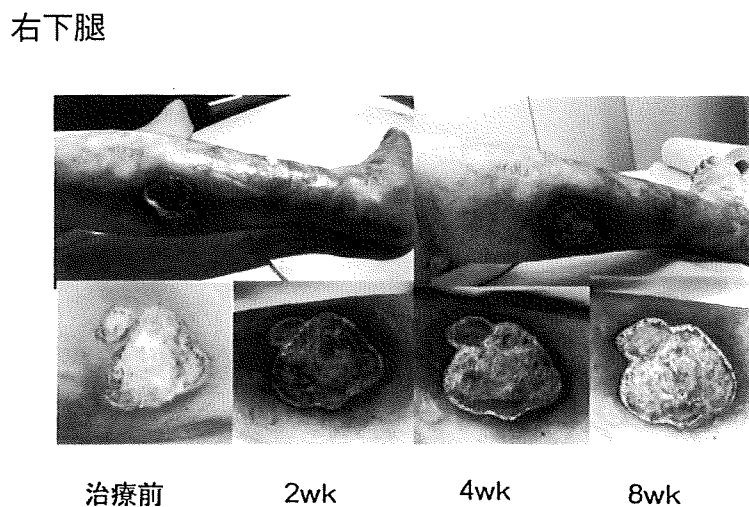
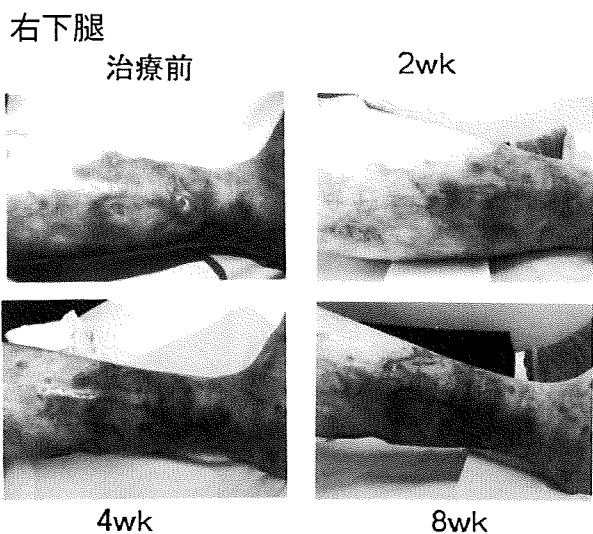


図14 症例14 治療経過

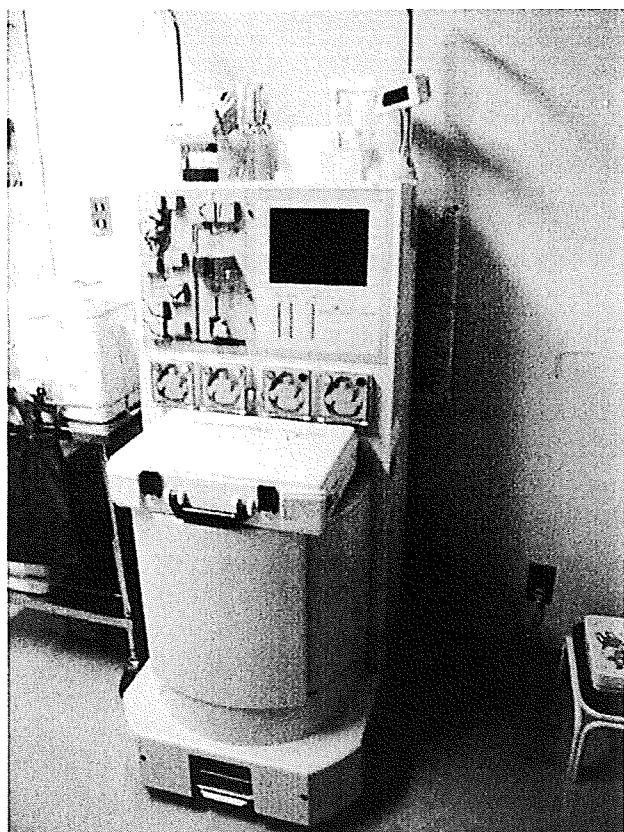


図15 Fresenius COM.TEC 血液成分分離装置

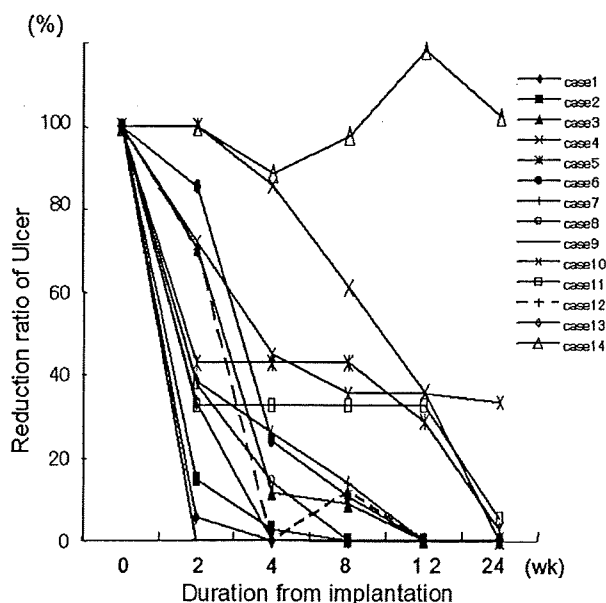


図16 移植開始から24週までの潰瘍の大きさの変化

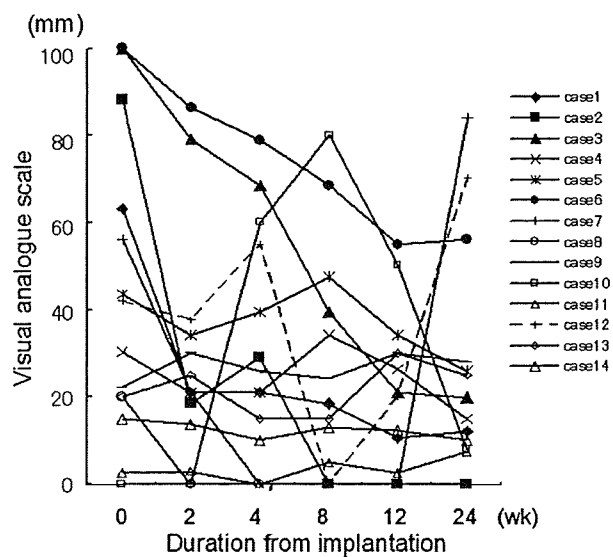


図17 24週までのVASの推移

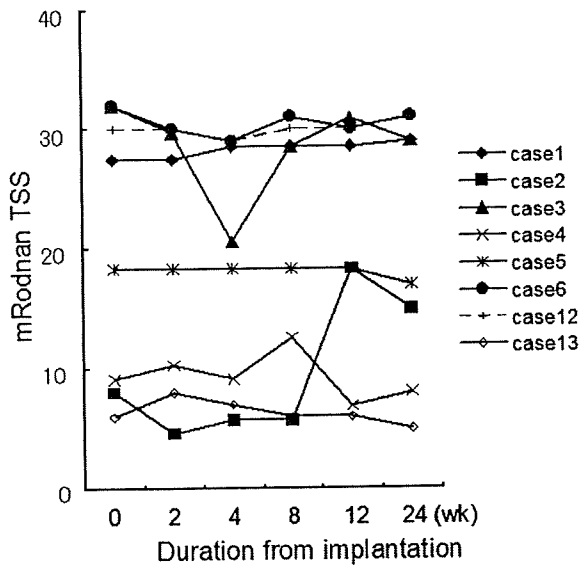


図18 24週までのmodified Rodnan TSSの推移（強皮症のみ）

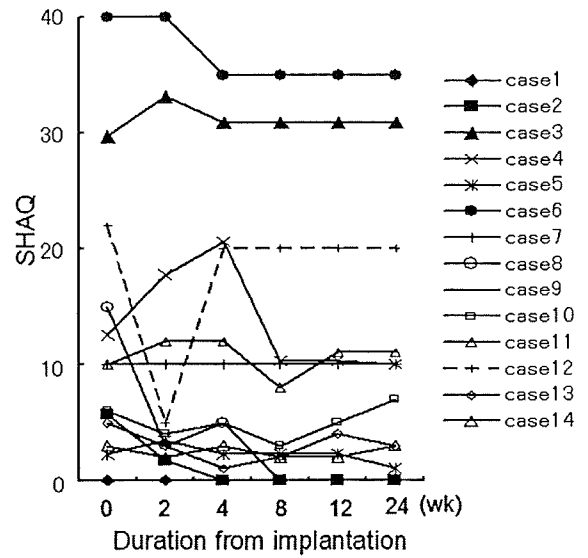


図19 24週までのSHAQの推移

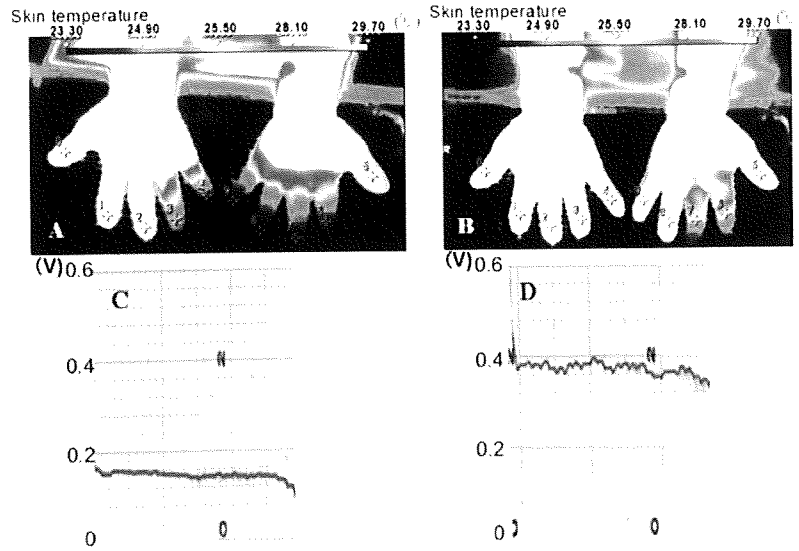


図20 A,B サーモグラフィー C,D Laser Doppler Flowmetry A,C は移植前、B,D は移植後

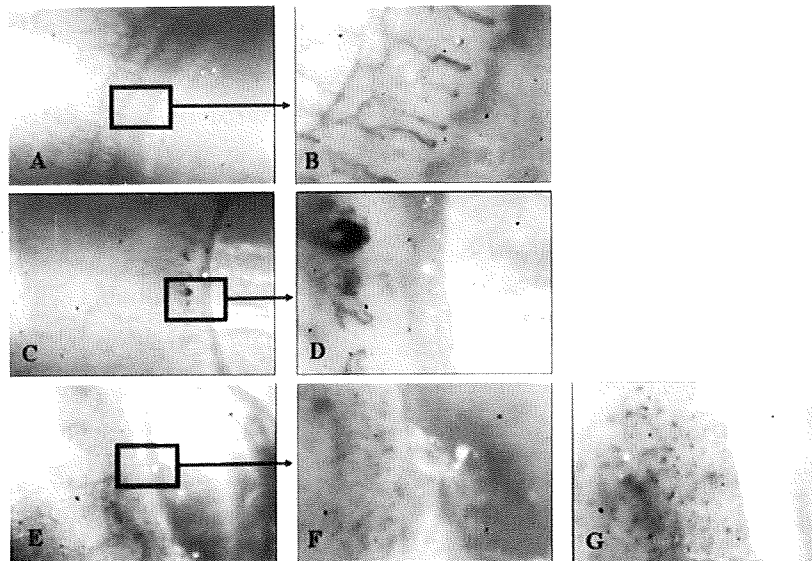


図21 毛細血管顕微鏡所見

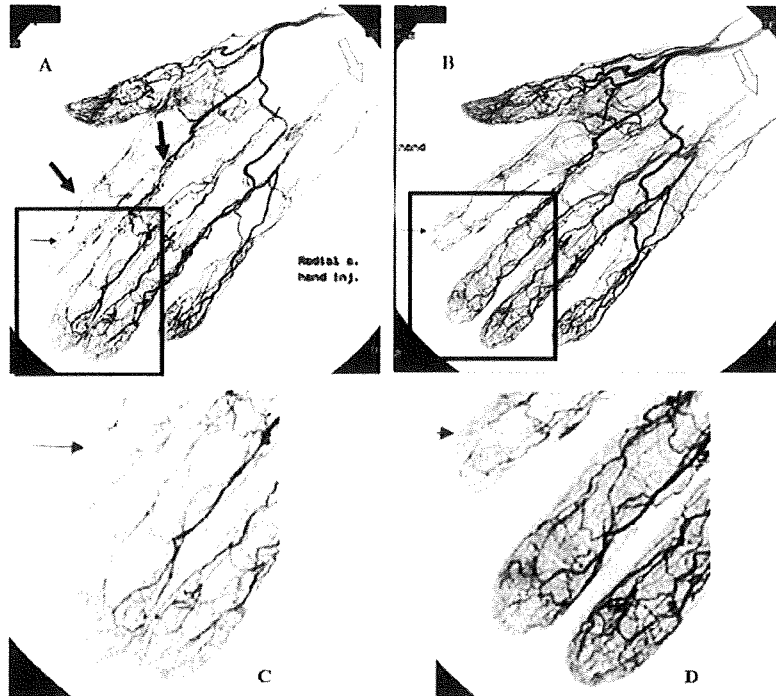


図22 経動脈的 DSA 検査所見

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Y Ishigatsubo, A Ihata Therapeutic angiogenesis in patients with systemic sclerosis by autologous transplantation of bone-marrow derived cells. **Mod Rheum** (in press)
- 2) Takase K, Ohno S, Ideguchi H, Uchio E, Takeno M, Ishigatsubo Y. Successful switching to adalimumab in an infliximab-allergic patient with severe Beh_ et disease-related uveitis. **Rheumatol Int** 2009 Oct 9.
- 3) Yamamoto M, Ueda A, Kudo M, Matsuo Y, Fukushima J, Nakae T, Kaneko T, Ishigatsubo Y. Role of MexZ and PA5471 in transcriptional regulation of mexXY in *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology** 155: 3312-21, 2009
- 4) Kanamori H, Enaka M, Ito S, Motohashi K, Hagihara M, Oshima R, Sakai R, Fujisawa S, Tanaka M, Fujimaki K, Fujita H, Ishigatsubo Y, Maruta A. Myeloablative hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome in patients younger than 55 years: impact of comorbidity and disease burden on the long-term outcome. **Int J Lab Hematol** (in press)
- 5) Tomita N, Tokunaka M, Nakamura N, Takeuchi K, Koike J, Motomura S, Miyamoto K, Kikuchi A, Hyo R, Yakushijin Y, Masaki Y, Fujii S, Hayashi T, Ishigatsubo Y, Miura I. Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both BCL2 and MYC translocations. **Haematologica** 94: 935-43, 2009
- 6) Kirino Y, Ihata A, Shizukuishi K, Hama M, Takase K, Suda A, Ueda A, Ohno S, Takeno M, Ishigatsubo Y. Multiple extra-articular synovial cysts complicated with rheumatoid arthritis. **Mod Rheumatol** 19: 563-6, 2009
- 7) Tomita N, Takeuchi K, Hyo R, Hashimoto C, Takemura S, Taguchi J, Fujita H, Fujisawa S, Ogawa K, Motomura S, Ishigatsubo Y. Diffuse large B cell lymphoma without immunoglobulin light chain restriction by flow cytometry. **Acta Haematol** 121: 196-201, 2009
- 8) Oka H, Ueda A, Watanuki Y, Tsukiji J, Kuroda H, Akashi S, Hirai Y, Fuyuki T, Kaneko T, Ishigatsubo Y. The efficacy of high-dose

- penicillin for community-acquired pneumonia diagnosed by pneumococcal urine antigen test. *J Infect Chemother* 15: 108-12, 2009
- 9) Hyo R, Tomita N, Takeuchi K, Aoshima T, Fujita A, Kuwabara H, Hashimoto C, Takemura S, Taguchi J, Sakai R, Fujita H, Fujisawa S, Ogawa K, Motomura S, Suzuki R, Ishigatsubo Y. The therapeutic effect of rituximab on CD5-positive and CD5-negative diffuse large B-cell lymphoma. *Hematol Oncol.* (in press)
- 10) Kudo M, Matsuo Y, Nakasendo A, Inoue S, Goto H, Tsukiji J, Watanuki Y, Ueda A, Kaneko T, Ishigatsubo Y. Potential clinical benefit of the in situ hybridization method for the diagnosis of sepsis. *J Infect Chemother* 15: 23-6, 2009
- 11) Murakami S, Takeno M, Kirino Y, Kobayashi M, Watanabe R, Kudo M, Ihata A, Ueda A, Ohno S, Watanuki Y, Kaneko T, Ishigatsubo Y. Screening of tuberculosis by interferon-gamma assay before biologic therapy for rheumatoid arthritis. *Tuberculosis* (in press)
- 12) Takase K, Ohno S, Ideguchi H, Murakami S, Takeno M, Ishigatsubo Y. Mycobacterium tuberculosis-specific immunospot assay of pleural exudate mononuclear cells is useful for the exclusion of tuberculous pleuritis in patients with lupus pleuritis. *Lupus* 18: 175-7, 2009
- 13) Ideguchi H, Ohno S, Takase K, Tsukahara T, Kaneko T, Ishigatsubo Y. A case of Poncet's disease (tuberculous rheumatism). *Rheumatol Int* 29: 1097-9, 2009
- 14) Motohashi K, Ito S, Hagihara M, Maruta A, Ishigatsubo Y, Kanamori H. Cutaneous zygomycosis caused by *Cunninghamella bertholletiae* in a patient with chronic myelogenous leukemia in blast crisis. *Am J Hematol* 84: 447-8, 2009
- 15) Koharazawa H, Kanamori H, Sakai R, Hashimoto C, Takemura S, Hattori M, Taguchi J, Fujimaki K, Tomita N, Fujita H, Fujisawa S, Harano H, Ogawa K, Motomura S, Maruta A, Ishigatsubo Y. Long-term outcome of L86 and L97 protocols for adult acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 49: 2133-40, 2008
- 16) Kobayashi M, Miyazawa N, Takeno M, Murakami S, Kirino Y, Okouchi A, Kaneko T, Ishigatsubo Y. Circulating carbon monoxide level is elevated after sleep in patients with obstructive sleep apnea. *Chest* 134:904-910, 2008
- 17) Naganawa S, Yokoyama M, Shiino T, Suzuki T, Ishigatsubo Y, Ueda A, Shirai A, Takeno M, Hayakawa S, Sato S, Tochikubo O, Kiyoura S, Sawada K, Ikegami T, Kanda T, Kitamura K, Sato H. Net positive charge of HIV-1 CRF01_AE V3 sequence regulates viral sensitivity to humoral immunity. *PLoS ONE* 3:e3206, 2008
- 18) Suda A, Nagaoka S, Ohono S, Ideguchi H, Soga T, Ishigatsubo Y. The efficacy and safety of bucillamine as a second-line DMARD in the treatment of rheumatoid arthritis: a retrospective cohort study. *Mod Rheumatol* 18:609-614, 2008
- 19) Kirino M, Kirino Y, Takeno M, Nagashima Y, Takahashi K, Kobayashi M, Murakami S, Hirasawa T, Ueda A, Aihara M, Ikezawa Z, Ishigatsubo Y. Heme oxygenase 1 attenuates the development of atopic dermatitis-like lesions in mice: implications for human disease. *J Allergy Clin Immunol* 122: 290-297, 2008
- 20) Fujita A, Tomita N, Fujita H, Motohashi K, Hyo R, Yamazaki E, Hattori M, Fujisawa S, Kanamori H, Ogawa K, Motomura S, Kodama F, Ishigatsubo Y. Features of primary extranodal lymphoma in Kanagawa, a human T-cell leukemia virus type 1 nonendemic area in Japan. *Med Oncol* 2008
- 21) Ideguchi H, Ohno S, Takase K, Ueda A, Ishigatsubo Y. Outcomes after switching from one bisphosphonate to another in 146 patients at a single university hospital. *Osteoporos Int* 19: 1777-1783, 2008
- 22) Murakami S, Takeno M, Oka H, Ueda A, Kurokawa T, Kuroiwa Y, Ishigatsubo Y. Diagnosis of tuberculous meningitis due to

- detection of ESAT-6-specific gamma interferon production in cerebrospinal fluid enzyme-linked immunospot assay. *Clin Vaccine Immunol* 15: 897-899, 2008
- 23) Fujimaki K, Tanaka M, Takasaki H, Hyo R, Kawano T, Sakai R, Fujita H, Fujisawa S, Kanamori H, Maruta A, Ishigatsubo Y. Thiotepa/cyclophosphamide/TBI as a conditioning regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients aged 50 years and over. *Intern Med* 47:379-383, 2008
- 24) Kirino Y, Takeno M, Watanabe R, Murakami S, Kobayashi M, Ideguchi H, Ihata A, Ohno S, Ueda A, Mizuki N, Ishigatsubo Y. Association of reduced heme oxygenase-1 with excessive Toll-like receptor 4 expression in peripheral blood mononuclear cells in Behcet's disease. *Arthritis Res Ther* 10: R16, 2008
- 25) Kirino Y, Takeno M, Watanabe R, Murakami S, Kobayashi M, Ideguchi H, Ihata A, Ohno S, Ueda A, Mizuki N, Ishigatsubo Y. Association of reduced heme oxygenase-1 with excessive Toll-like receptor 4 expression in peripheral blood mononuclear cells in Behcet's disease. *Arthritis Res Ther* 10: R16, 2008
- 26) Suzuki T, Ueda A, Kobayashi N, Yang J, Tomaru K, Yamamoto M, Takeno M, Ishigatsubo Y. Proteasome-dependent degradation of alpha-catenin is regulated by interaction with ARMC8alpha. *Biochem J* 411: 581-91, 2008
- 27) Tomita N, Kodama F, Motomura S, Itoh S, Ohshima R, Hyo R, Kawano T, Hashimoto C, Takemura S, Yamazaki E, Fujita H, Fujisawa S, Ogawa K, Kanamori H, Ishigatsubo Y. Adjuvant radiotherapy to an initial bulky mass in diffuse large B-cell lymphoma: lack of survival benefit. *Int J Lab Hematol* 30: 53-7, 2008
- 28) Ideguchi H, Ohno S, Takase K, Hattori H, Kirino Y, Takeno M, Ishigatsubo Y. Successful treatment of refractory lupus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis with infliximab. *Rheumatology* 46: 1621-1622, 2007
- 29) Inoue S, Oshiro H, Watanuki Y, Miyazawa N, Kudo M, Goto H, Tsukiji J, Kaneko T, Ishigatsubo Y. Metastatic brain mass caused by slow-growing small-cell lung cancer: differential vascular endothelial growth factor expression in primary and metastatic tumor. *Clin Lung Cancer* 8:436-438, 2007
- 30) Miyazaki T, Fujimaki K, Shirasugi Y, Yoshida F, Ohsaka M, Miyazaki K, Yamazaki E, Sakai R, Tamaru J, Kishi K, Kanamori H, Higashihara M, Hotta T, Ishigatsubo Y. Remission of lymphoma after withdrawal of methotrexate in rheumatoid arthritis: relationship with type of latent Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol* 82: 1106-1109, 2007
- 31) Ideguchi H, Ohno S, Hattori H, Ishigatsubo Y. Persistence with bisphosphonate therapy including treatment courses with multiple sequential bisphosphonates in the real world. *Osteoporos Int* 18:1421-1427, 2007
- 32) Ishizawa J, Fujita H, Iguchi M, Tachibana T, Taguchi J, Ishigatsubo Y. Quantification of circulating varicella-zoster virus DNA for follow-up in a case of visceral varicella-zoster infection ameliorated with intravenous acyclovir. *Int J Hematol* 85: 242-245, 2007
- 33) Kobayashi N, Yang J, Ueda A, Suzuki T, Tomaru K, Takeno M, Okuda K, Ishigatsubo Y. RanBPM, Muskellin, p48EMLP, p44CTLH, and the armadillo-repeat proteins ARMC8alpha and ARMC8beta are components of the CTLH complex. *Gene* 396: 236-247, 2007
- 34) Okamura M, Yamaji S, Nagashima Y, Nishikawa M, Yoshimoto N, Kido Y, Iemoto Y, Aoki I, Ishigatsubo Y. Prognostic value of integrin beta1-ILK-pAkt signaling pathway in non-small cell lung cancer. *Hum Pathol* 38: 1081-1091, 2007
- 35) Ideguchi H, Ohno S, Ishigatsubo Y. Risk factors associated with the cumulative survival of low-dose methotrexate in 273 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 13: 73-

8, 2007

- 36) Tomita N, Motomura S, Hyo R, Takasaki H, Takemura S, Taguchi J, Fujisawa S, Ogawa K, Ishigatsubo Y, Takeuchi K. Comparison of peripheral T-cell lymphomas and diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer* 109:1146-1151, 2007
- 37) Ideguchi H, Ohno S, Ueda A, Ishigatsubo Y. Catastrophic antiphospholipid syndrome associated with malignancies. *Lupus* 16: 59-64, 2007
- 38) Kirino Y, Takeno M, Murakami S, Kobayashi M, Kobayashi H, Miura K, Ideguchi H, Ohno S, Ueda A, Ishigatsubo Y. Tumor necrosis factor alpha acceleration of inflammatory responses by down-regulating heme oxygenase 1 in human peripheral monocytes. *Arthritis Rheum* 56:464-475, 2007
- 39) Ideguchi H, Ohno S, Ishigatsubo Y. A case of pure red cell aplasia and systemic lupus erythematosus caused by human parvovirus B19 infection. *Rheumatol Int* 27: 411-414, 2007

- I. 知的財産権の出願、登録状況
特になし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業） 研究報告書

難治性血管炎に対する血管再生療法の多施設共同研究

難治性血管炎・膠原病による末梢動脈疾患(PAD)に対する 自己骨髄幹細胞血管新生療法の安全性・有効性評価

分担研究者 宮本正章
日本医科大学大学院器官機能病態内科学

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）難治性血管炎・膠原病による重症末梢動脈疾患（PAD）に対する自己骨髄幹細胞血管新生療法の安全性・有効性評価を行った。前医で治癒不可能或いは患肢大切断と診断された膠原病・アレルギー疾患によるPAD 12例（PSS 4例、高安大動脈炎 1例、シェーグレン症候群 1例、未分類膠原病 2例、MCTD 1例、RA 2例、クリオグロブリン血症 I 型 1例）に対して「自己骨髄幹細胞による血管新生療法」を実施した。創傷治癒・自立歩行による退院を primary endpoint とした結果、著効 8例、有効 2例、BKA 1例、ショパール切断 1例、で有効率は、83.3%であり、有害事象は認めなかった。さらにバージャー病 12例では全例が著効を示し、有効率100%であった。膠原病・アレルギー疾患によるPADに対する「自己骨髄幹細胞による血管新生療法」の安全性・有効性が確認され、特に膠原病の中でも難治性の四肢末梢潰瘍・壊疽を形成することが最も多いPSSに対しては、有効率は100%であり、安全に実施可能な新治療法となり得ることが示唆された。

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）難治性血管炎・膠原病による重症末梢動脈疾患（PAD）に対する自己骨髄幹細胞血管新生療法の安全性・有効性評価する。

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 μ l 及び200 μ 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24-26G シリンジで虚血

下肢筋肉内及び debridement 後の潰瘍・壊疽周辺に筋注した。

（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 診療科代表者 8 人）よりなる血管再生療法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、全例（100%）がIV度（24/24例）を占め、視覚的アナログ（visual analog scale: VAS）にて定量的に疼痛を検討したが、術前 82.3.3 \pm 14.8（mm）に対して術後 4

週で 10.2 ± 5.8 (mm) と著明に低下していた ($p < 0.0001$)。前医で治癒不可能或いは患肢大切断と診断された膠原病・アレルギー疾患による PAD 12例 (PSS 4例, 高安大動脈炎 1例, シェーグレン症候群 1例, 未分類膠原病 2例, MCTD 1例, RA 2例, クリオグロブリン血症 I 型 1例) に対して「自己骨髄幹細胞による血管新生療法」を実施した。創傷治癒・自立歩行による退院を primary endpoint とした結果, 著効 8 例, 有効 2 例, BKA 1 例, ショパール切断 1 例, で有効率は, 83.3% であり, 有害事象は認めなかった。さらにバージャー病 12 例では全例が著効を示した。有効率 100% であった。

D. 考 察

さらに 9 例の自己骨髄幹細胞による血管新生療法症例を retrograde に解析し, 有効例 15 例 (group NA), BKA 症例 4 例 (group A), を検討した。その結果, ^{99m}Tc -TF 血流シンチグラフィでは, group NA は group A (0.90 ± 0.34 vs. 0.42 ± 0.14 , $p < 0.02$) に対して統計学的有意差が存在し, さらに 100% O_2 , 5 分間吸入した後の経皮酸素分圧測定 (ΔTcPO_2) においても ΔTcPO_2 : 17.1 ± 11.3 mmHg vs. -0.75 ± 2.87 mmHg, $p < 0.02$) と統計学的有意差が存在した。しかし, ABI では統計学的有意差は存在しなかった。 ^{99m}Tc -TF 血流シンチグラフィ値と 100% O_2 , 5 分間吸入した後の経皮酸素分圧測定 (ΔTcPO_2) 値は, CLI に対する自己骨髄幹細胞による血管新生療法の有効限界を示唆する重要なマーカーとなり得ることが示唆された。

E. 結 論

膠原病・アレルギー疾患による難治性末梢動脈疾患 (PAD) に対する「自己骨髄幹細胞による血管新生療法」の安全性・有効性が確認され, 特に膠原病の中でも難治性の四肢末梢潰瘍・壊疽を形成することが最も多い PSS に対しては, 有効率は 100% であり, 安全に実施可能な新治療法となり得ることが示唆された。

F. 健康危険情報

本療法の副作用に関連しては認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 論 文

1. Hiroshi Mizuno, Masaaki Miyamoto, Minoru Shimamoto, et.al. Therapeutic angiogenesis by autologous bone marrow cell implantation together with allogeneic cultured dermal substitute for intractable ulcers in critical limb ischemia. Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery 2010
2. Kawanaka, Hidekazu, Takagi, Gen, Miyamoto, Masaaki, et.al. Therapeutic angiogenesis by controlled-release fibroblast growth factor in a patient with Churg-Strauss Syndrome complicated by an intractable ischemic leg ulcer. The American Journal of the Medical Sciences 338, 341-342, 2009
3. Masafumi takahashi, Atsushi Izawa, Masaaki Miyamoto, et.al. Therapeutic neovascularization by the implantation of autologous mononuclear cells in patients with connective tissue disease. Current Pharmaceutical Design 15, 2778-2783, 2009
4. Akira Katsuno, Takayuki Aimoto, Eiji Uchida, Yasuhiko Tabata, Masaaki Miyamoto. The controlled release of basic fibroblast growth factor promotes a rapid healing of pancreaticojejunal anastomosis with potent angiogenesis and accelerates apoptosis in granulation tissue. J. Surg Research 2009
5. Shuhei Tara, Masaaki Miyamoto, Sadamitsu Asoh, et al. Transduction of the anti-apoptotic PTD-FNK protein improves the efficiency of transplantation of bone marrow mononuclear cells. J of Molecular and Cellular Cardiology 42, 489-497, 2007
6. Masayuki Arakawa, Masahiro Yasutake, Masaaki Miyamoto, et al. Transduction of anti-cell death protein FNK protects isolated rat hearts from