

200936207A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 林 松彦

平成 22 年 (2010 年) 3 月

目次

総括研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究	1
林 松彦	

分担研究報告書

1. 血管石灰化と骨回転の関連についての検討	6
細谷龍男	
2. 透析患者データベースからの解析	8
秋葉 隆	
3. 冠動脈石灰化におよぼすリン吸着剤の影響	10
深川 雅史	
4. サルコイドーシスに calciphylaxis を発症した症例の検討	12
重松 隆	
5. 血液透析患者における大動脈石灰化と骨密度の関連	14
中元 秀友	
6. 剖検にみる慢性腎臓病(CKD)患者の冠動脈石灰化についての組織学的検討	17
川村 哲也	

添付資料 1 全国調査質問票	19
----------------	----

添付資料 2 Calciphylaxis 患者調査票	21
----------------------------	----

添付資料 3 Calciphylaxis 確実例一覧表	27
-----------------------------	----

添付資料 4 診断規準(案)全国配布資料	37
----------------------	----

添付資料 5 本邦症例報告要約・原著	39
--------------------	----

研究成果の刊行に関する一覧表	140
----------------	-----

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究

研究代表者 林 松彦 慶應義塾大学医学部教授

研究要旨

Calciphylaxis は、慢性血液透析患者を中心として生じる多発性皮膚潰瘍を主病巣とする難治性疾患であり、敗血症などにより、死亡率は50%を越えると報告されている。本研究は、本疾患について、本邦で初めての全国調査を実施し、その病像を明らかとして、診断基準・治療指針の策定を目標として実施された。まず、日本透析医学会所属3760施設に予備調査を行った結果、151施設から計249例の症例を経験したことが明らかとなったが、一方、疾患の認知度は40%程度と極めて低いことが示された。この249例中67例の臨床情報を収集することができ、35例がcalciphylaxisの概念と一致し、32例は他の疾患による皮膚病変と考えられた。この35例の情報を元にして、特異度、感度の観点からともに95%以上となる診断基準を作成し、全国の透析施設、皮膚科学会教育認定施設への配布を行った。また、calciphylaxisの基礎病変である動脈石灰化の機序について基礎的検討を加え、転写因子であるnuclear factor κ B (NF κ B)の関与などを明らかとした。さらに、臨床的にこの血管石灰化の指標となる検査として、レントゲン撮影の条件設定を行い、基礎的検討を終了した。

分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名

細谷 龍男 東京慈恵会医科大学教授
秋葉 隆 東京女子医科大学教授
中元 秀友 埼玉医科大学教授
梅澤 明弘 国立成育医療センター研究所・幹細胞生物学部長
重松 隆 和歌山県立医科大学教授
深川 雅史 東海大学医学部教授
川村 哲也 東京慈恵会医科大学准教授
佐藤 裕史 慶應義塾大学医学部教授
板井 昭子 株式会社医薬分子設計研究所
代表取締役

A. 研究目的

Calciphylaxis は、慢性血液透析患者を中心として発症する、皮膚の多発性・難治性潰瘍を主病変とする疾患であり、皮膚潰瘍への細菌感染から敗血症などを併発して、死亡率は50%を越えることが報告されている。本邦では症例報告が年に数例散見され

る程度であるが、診断基準もなく、糖尿病、動脈硬化症などの血管障害による病変との鑑別が困難であり、欧米の報告では透析患者の数%に上る可能性も示唆されている

(Curr Opin Nephrol Hypertens 17: 629, 2008)ことから、実際の症例数はさらに多いことも想定される。また、本邦慢性透析症例数は今なお増加傾向にあり、本症症例数も増加することが想定される。しかし、これまで本邦では本疾患についての系統的な調査・研究がなされたことはなく、実態は不明である。Calciphylaxisの難治性、致死率の高さ、生活の質を著しく低下させることなどから、その対策は極めて重要であり、実態把握、病態解明、診断基準作成を目的として本研究は計画された。Calciphylaxisは、これまでの組織学的検討から、血管石灰化に続き、皮膚創傷などを契機とした微小多発性血栓形成、そして皮膚潰瘍にいたる発症機転が考えられている。基礎病変と

なる動脈石灰化にはカルシウム・リン代謝異常が、*calciphylaxis* 発症には nuclear factor κ B (NF κ B) の活性化が、各々重要な役割を果たすことが骨芽細胞などの研究データから類推されているが (J Am Acad Dermatol 58: 458, 2008)、その検証は、これまで国内外で行われていない。我々は、これまでの研究で、二次性副甲状腺機能亢進症治療薬であるビタミンDアナログも、生体へのカルシウム・リン負荷を増大させ、血管石灰化を助長する可能性を示してきた (Nephrol Dial Transplant 19: 2067, 2005)。また、NF κ B の慢性腎臓病の間質障害における役割を検討して報告するとともに (Kidney Int 68: 464, 2005)、細胞特異的に NF κ B 活性化を抑制することができる遺伝子改変マウスを作成してきた。本研究において、基礎・臨床研究により *calciphylaxis* の実態を解明し、その基礎病変である血管石灰化の診断方法の検証を行い、最終的には、認知度の低い難治性疾患である *calciphylaxis* の診断基準の作成と、その予防・治療法の確立のための臨床研究計画を立案することを目的とした。

B. 方法

① *Calciphylaxis* に関する全国調査と患者登録

先ず、予備調査として、全国透析施設 3760 ヶ所に、*calciphylaxis* 症例の診療経験の有無と、疾患への認識の調査用紙を配布し、解答を得た (資料1)。この間に、症例の臨床情報収集のための調査票を作成し、当該の倫理委員会での承認を得た。症例を経験したことがあり、かつ、調査用紙に協力の意思を示した 151 施設に調査票 (資料2) を配布し、さらに皮膚生検病理標本または virtual slide 使用可能な施設では、virtual slide に取り込んだ皮膚生検病理標本画像ファイルの収集を行った。病理標本が送られた場合は、研究班において virtual slide に取り込み、画像ファイルとした後、資料を返却した。

また、過去 10 年間に本邦で症例報告がなされた症例を医学中央雑誌で検索を行い、

学会報告の抄録、論文を収集して、臨床情報を解析した (資料5)。

② 動脈石灰化を指標とする二次性副甲状腺機能亢進症治療指針作成のための臨床研究立案とそのための予備研究

Calciphylaxis の基礎病変である血管中膜石灰化に関与するカルシウム・リン代謝異常、二次性副甲状腺機能亢進症治療についての、最適な治療法決定のために、前向き無作為研究を立案し、実施に向けての準備を行った。臨床研究実施の前段階として、血管石灰化の指標としての軟レントゲン線撮影の有用性を検証して、石灰化変化の客観的評価を行うための手法開発を検討した。

③ *Calciphylaxis* の成因と治療に関する基礎的研究

培養血管平滑筋細胞 (VSMC) を用いた検討；高リン濃度培地で誘導される VSMC の石灰沈着の機序を検討するために、高リン濃度環境で VSMC を培養して、と NF κ B 活性化の役割を NF κ B 活性化阻害薬 IMD-0354 の効果により検討した。石灰化の指標は、Kossa 染色と、細胞内カルシウム含有量により測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、臨床研究に関する倫理指針に準じて施行され、慶應義塾大学医学部倫理委員会承認されている。

C. 研究結果

① *Calciphylaxis* に関する全国調査と患者登録

平成 21 年 8 月、日本透析医学会所属 3760 施設に予備調査を行い、151 施設から計 249 例の症例を経験したことが報告された。その結果、男性 160 例、女性 89 例、20 歳未満 2 例、21~30 歳 4 例、31~40 歳 17 例、41~50 歳 35 例、51~60 歳 59 例、61~70 歳 77 例、71 歳以上 53 例

であり、症例の性別・年齢分布は、本邦透析患者全体と比べ、男女比はほぼ同等であ

るが年齢分布は30代、40代、50代に多い傾向を示した。また、症例の経験がない施設における疾患の認知度は次の通りであった。

Calciphylaxis について；よく知っている 108、大体知っている 511、疾患名のみ知っている 587、知らない 472、最終的に回収率 48.6%、1829 施設より解答が寄せられた。

症例を経験した 151 施設から、倫理委員会承認後に患者臨床情報収集を行い、67 例の臨床情報が寄せられ、35 例が calciphylaxis の概念と一致し、この中の 13 例で病理標本画像情報が提供された(資料 3)。いずれも 10 年以内に経験された症例であった。これらの臨床情報を基に、以下の診断規準案を作成し、平成 22 年 1 月末に本邦 3760 透析施設と、日本皮膚科学会教育認定 641 施設に資料を作成して配布した(資料 4)。

診断規準：以下の臨床症状 2 項目と皮膚病理所見を満たす場合、または臨床症状 3 項目を満たす場合、calciphylaxis と診断される。

【臨床症状】

- 1 慢性腎臓病で透析中、または糸球体濾過率 15 ml/min 以下の症例。
- 2 周囲に有痛性紫斑をとともなう、2ヶ所以上の皮膚の有痛性難治性潰瘍。
- 3 体幹部、上腕、前腕、大腿、下腿、陰茎に発症する、周囲に有痛性紫斑をとともなう皮膚の有痛性難治性潰瘍。

【皮膚病理所見】

皮膚生検は、可能な場合に実施する。臨床症状の 2 項目を満たす場合、他の疾患との鑑別困難な場合は、特に皮膚生検を行うことを推奨する。特徴的な皮膚生検所見は下記の通りである。

皮膚の壊死、潰瘍形成とともに、皮下脂肪組織ないし真皮の小～中動脈における、中膜、内弾性板側を中心とした石灰化、および、浮腫性内膜肥厚による内腔の同心円状狭窄所見を認める。

注：特に潰瘍、紫斑が極めて強い疼痛をとともなうことは重要な症状である。

【参考所見】

下記除外診断のために、ガドリニウム造影剤使用歴調査と抗核抗体、クリオグロブリン定量、抗リン脂質抗体の各測定を行う。Calciphylaxis に特異的な検査所見はない。

【除外診断】

糖尿病性壊疽、ヘパリン起因性血小板減少症(heparin-induced thrombocytopenia: HIT)にともなう皮膚壊死、ワーファリン潰瘍、全身性皮膚硬化症、Nephrogenic systemic fibrosis 初期病変、コレステロール塞栓、蜂窩織炎、クリオグロブリン血症、ハイドレラによる皮膚潰瘍、抗リン脂質抗体症候群、低温熱傷、壊死性筋膜炎、下肢静脈瘤にともなう潰瘍病変、異所性石灰化にともなう皮膚症状

上記の診断規準により確実例 35 例中 34 例が calciphylaxis と診断されたが、腎機能障害以外の疾患に合併して、陰茎のみに生じる症例が存在することがその後示され、その場合にはこの診断規準では診断できないことが今後の課題となっている。

一方、過去 10 年に本邦で論文として症例報告された症例の全てを検索し、内容の検討を行った(資料 5)。これら症例報告例の中で、今回情報収集した症例との重複例を除くと、24 例が見出されたが、臨床情報は限定されており、診断規準作成のための症例には含まなかった。これら症例報告例を含めても、発症例は去 10 年間で 59 例であり、この間の本邦透析患者数を勘案すると、発症率は年間 3 人/10 万人程度と、諸外国の 1%以上の報告に比べ著しく低率であった。治療指針は、35 例中 25 例が死亡し、生存例と死亡例間で治療法の差異はなく、策定するにいたっていない。現時点で推奨できる治療法についての意見を提示すべく、慎重な検討を進めているが、カルシウム・リン代謝の改善、腹膜透析の場合血液透析への変更、高圧酸素療法、積極的な患部搔爬、十分な抗生物質投与が試みるべき治療として挙げられるとの結論にいたっている。

② 動脈石灰化を指標とする二次性副甲状腺機能亢進症治療指針作成のための臨床研究立案とそのための予備研究

Calciphylaxis の基礎病変である血管中膜石灰化に關与するカルシウム・リン代謝異常、二次性副甲状腺機能亢進症治療についての、最適な治療法決定のために、以下のような前向き無作為研究を立案した。

対象患者；慢性血液透析患者で、血清副甲状腺ホルモン値 300 pg/ml 以上の症例を以下の 2 群に無作為に割り付ける。目標症例数各群 200 例。登録期間 6 ヶ月、観察期間 2 年。

活性型ビタミン D (calcitriol) 初期投与群
カルシウム感受性受容体アナログ

(cinacalcet) 初期投与群

リン吸着剤として塩酸セベラマー、または炭酸ランタンを用いる。

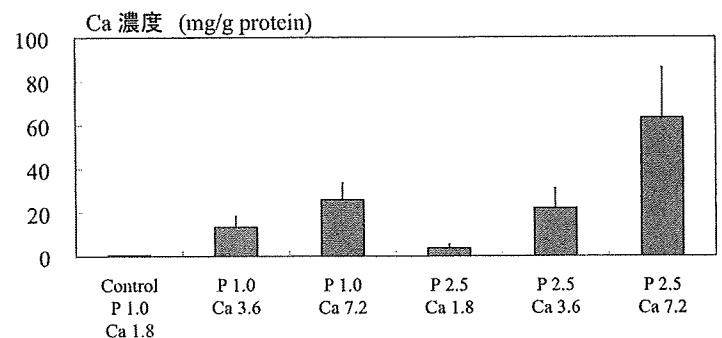
Primary endpoint；血清副甲状腺ホルモン値 250 pg/ml の達成、頸動脈エコーと両手レントゲン線撮影による血管石灰化の変化
Secondary endpoint；骨折の発生、心・血管系イベント発生、あらゆる原因による死亡
この臨床研究実施の前段階として、血管石灰化の指標としての軟レントゲン線撮影の有用性を検証した。解像度を検討するために、卵殻をファントムの上に貼り付けてレントゲン撮影を行ったところ、通常の撮影でもその条件を変えることにより、0.3 mm までの石灰化が観察できることが明らかとなった。また、マンモグラフィに用いる軟レントゲン撮影はより高い解像度を示し、0.2 mm まで判別可能であったが、同機器による手足の撮影は認可がないことから、臨床で用いるためには、多くの制約があると推定された。

③ Calciphylaxis の成因と治療に関する基礎的研究

先ず、予備実験として、高リン培地の細胞内カルシウム含有量におよぼす影響を検討した。図に示すように、高リン培地 (control P 濃度 1.0mM、高リン濃度 2.5mM) において明らかな細胞内カルシウム量の増加を見た。

さらに、培地の Ca 濃度を control の 1.8mM より、3.6、7.2 と増加したところ、さらに細胞内カルシウム濃度の上昇を見た。

今回は、高リン培地を主体として、NFκB 活性化阻害薬 IMD-0354 の効果を検討した。高リン培地での細胞内カルシウム増加は IMD-0354 の添加により、減少傾向を認めたが、値の変動が大きく統計的有意差に至らなかった。



D. 考察

これまで諸外国の報告では、calciphylaxis の発症率は年間 1-4% に上る可能性が示唆されていたが、今回の我々の調査により、本邦では 2 人/10 万人/年程度と、極めて稀な疾患であることが明らかとなった。また、これも欧米での報告であるが、危険因子として、女性、腹膜透析、ワルファリン内服、低蛋白血症、著しいカルシウム・リン代謝異常が挙げられていた。これに対し、本研究の結果では予備調査の結果では男女比を透析患者全体と比べ差異は無かったが、詳細な臨床症状が報告された確実例 35 例中では女性が 18 例と明らかに多い傾向を示した。また、ワルファリンについても、投薬内容が報告された 26 例中 11 例が服用中で、一般透析患者の統計がないことから単純な比較はできないが、危険因子としての可能性が支持される結果といえる。一方、低蛋白血症、カルシウム・リン代謝については明らかな傾向を認めなかった。また、疾患への認識を調査したが、回答された施設の約 60% では知識が極めて限定されており、他の疾患、糖尿病性壊疽、蜂窩織炎などと混同されている可能性も考慮された。

診断基準については、班会議を開催して議論を重ね、前述のような案を作成した。この診断基準は、35例中34例を診断でき、同時に臨床データを入手しえたが calciphylaxis とは考えにくい32症例は全て除外することが可能であった。一方、腎機能障害以外の疾患に合併して、陰茎のみに生じる症例はこの診断規準では診断されないことから、このような特殊な症例への対応が今後の課題となっている。また、この診断基準案は、あくまでも過去に報告された症例の分析に基づくものであり、今後、今回の資料配布で認知度が高まり、症例数が増加するなどの要因により改訂されることが必要となる可能性が十分考慮される。したがって、今後は前向きに患者を登録するレジストリーを作成して、この診断基準に対するパブリックコメントを受けるとともに、検討を重ねる必要があると考えられた。一方、治療指針は、本疾患の発症率が極めて低く、十分な症例が蓄積されているとは考えにくい状況であった。今後、治療指針についても前向きに症例を集めることで検討を加える必要があろう。

臨床研究を行うにあたり血管石灰化をエンドポイントとした場合の臨床的に簡便に用いる指標を検討した。通常のレントゲン撮影であっても、撮影条件を適宜設定することにより、指間の動脈レベルまでは容易に判定できることが検証された。さらに軟X線撮影は、より細かいレベルの動脈石灰化も検出可能であることが明らかとなったが、現時点ではマンモグラフィの撮影機器として認可されているものであり、その適応外使用ということになり、多くの施設で臨床研究を実施する際には障害となると考えられた。

基礎研究では、高リン培地が血管平滑筋細胞のカルシウム沈着を促進することを確認した。さらに、培地のカルシウム濃度を上昇させると、著しいカルシウム沈着が生じることが示された。この現象は、in vitroの結果ではあるが、透析患者のカルシウ

ム・リン管理を考えると、極めて重要な結果と考えられた。すなわち、血管の石灰化には高リン血症が寄与することが知られていたが、この状態に高カルシウム血症が加わることにより著しく石灰化が促進されるということが示唆された。したがって、二次性副甲状腺機能亢進症にしばしば用いられるビタミンD製剤と、リン吸着に用いられる炭酸カルシウムはいずれも、血管病変に対してその促進に働くことが示されており、今後の治療に重要な示唆を与えていると考えられる。一方、高リン培地でのカルシウム沈着にNFκB活性化が関与する可能性が示されたが、結果の変動が大きく、今後さらなる検討が必要と考えられた。

E. 結論

今回の調査・研究により、calciphylaxis診断規準案を策定した。また、全国調査により、初めて疾患の本邦での概要が明らかとなり、その発症率は極めて低いものの、致死率は極めて高く、今後重点的に対策を進めていく必要性が示された。一方、治療方針については策定する段階がなく、さらに臨床情報を収集し、分析することが望まれる。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
投稿準備中。
2. 学会発表
第55回日本透析医学会発表予定（2010年6月、神戸）

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究
血管石灰化と骨回転の関連についての検討

研究分担者 細谷龍男 東京慈恵会医科大学教授

研究要旨

カルシフィラキスは、透析患者における血管石灰化の病型の一つである。そこで、その成因解明のため、患者の血管石灰化と骨回転の関連についての検討を行った。脂質メディエーターであるスフィンゴシン 1 リン酸 (shingosine-1-phosphate : S1P) は破骨細胞前駆細胞の遊走を制御していることが明らかになった。このS1Pは血管ペリサイトの安定性にも寄与することが知られている。従って「S1Pが血管石灰化と骨回転の関連に重要な役割を演じている」という仮説を立案し、Liquid Chromatograph Mass Spectrometer (LC/MS) でS1Pを測定する系を確立した。その後、34名の透析患者における血清S1P値を測定した。この患者群にカルシウム受容体アゴニストであるシナカルセト塩酸塩を投与し、骨回転の是正を行ったところ、全例においてS1P濃度の低下を認めた。今後、この病態を明らかにするために、破骨細胞抑制因子であるOsteoprotegerin (OPG)を初めとしたサイトカインの挙動を合わせて検討したい。

A. 研究目的

カルシフィラキスは、透析患者における血管石灰化の病型の一つである。我々は、透析患者における血管石灰化と骨回転に着目し、その病態で重要な役割を演じていると想定されるS1Pの挙動を検討した。S1Pは多彩な生理活性を有するが、ヒトにおける血管石灰化及び骨回転との関連性を示した検討は無い。ここで、S1Pの測定系を確立させ、血管石灰化におけるS1Pの関与を評価する。さらに、シナカルセト塩酸塩を用い、透析患者における骨回転を是正した条件下で、血清S1P値の変化を測定した。

B. 研究方法

Positive ion ESI LC-MS/MS analysisにてS1Pの測定系を確立後、血液透析患者34名の患者血清のS1P値を測定する。その後、この患者群にシナカルセト塩酸塩を投与して、投与前後の各種臨床データと

S1P値を測定する。

(倫理面への配慮)

尚、本研究は、臨床研究に関する倫理指針（平成20年厚生労働省告示第415号）に準じて施行され、東京慈恵会医科大学の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

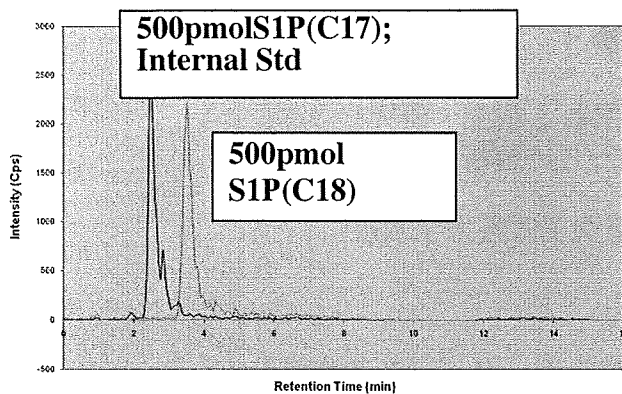
S1Pの測定系の確立(研究結果1)

我々は、LC-MS/MSを用い、測定系を確立した。以下に患者血清と健常人の血清のチャートを示す。

血液透析患者34名の患者血清のS1P値(研究結果2)

対象患者は男性28例、女性6例、平均透析歴156.9月)であった。シナカルセト塩酸塩を24週投与しS1Pを測定した。血清S1Pは平均で897.5pmol/mLから259.1 pmol/mLに有意に低下した(P<00.1)。同時に血清iPTH、血清Ca、血清P値も有意に低下した。さらに

TRAP5bも低下した。



1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。

D. 考察

S1Pは破骨細胞前駆細胞の遊走を制御していることが明らかとなっているが (Ishii, M. Nature 458 2009)、今回の結果と結び付けるには更なる検討が必要である。しかし、S1Pの有する多様な生理活性を考慮した時、シナカルセト塩酸塩の副甲状腺ホルモン分泌抑制以外の作用との関連は無視できない。その一つに血管石灰化への影響があることは否定できない。

E. 結論

S1Pは破骨細胞前駆細胞の遊走を制御していることが明らかになった。このS1Pは血管ペリサイトの安定性にも寄与することが知られている。我々は、「S1Pが血管石灰化と骨回転の関連に重要な役割を演じている」という仮説を立案している。

今後、この病態を明らかにするために、破骨細胞抑制因子である Osteoprotegerin (OPG)を初めとしたサイトカインの挙動を合わせて検討したい。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
投稿準備中。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究
透析患者データベースからの解析

研究分担者 秋葉 隆 東京女子医科大学教授

研究要旨

本学透析施設の導入症例を全例詳細に観察しデータベースを作成し、解析することで、異所性石灰化に至る因子を解明することができると期待される。

A. 研究目的

Calciphylaxisの発症要因となる、慢性透析患者の血管石灰化および異所性石灰化の頻度とその予後に関わる影響について、その年齢、性別、原疾患、検査所見、保存期治療内容、透析期治療内容などの関与を明らかにし、その予防と治療法を解明する。

B. 研究方法

本学における慢性腎不全透析導入患者を全例その背景、保存期治療内容を調査し、導入時の血管石灰化、血管以外の異所性石灰化、動脈硬化の状態を記載し、血清中の各種骨・カルシウム・リン調節因子を測定する。導入後は6カ月ごとに前記因子を観察継続し、その後の治療内容とを比較して、関連のある因子を明らかにする。また、calciphylaxisを発症した症例について、これらの因子を発症していない症例と背景をそろえて比較し、calciphylaxis発症に関わる因子を明らかにする。

C. 研究結果

昨年4月以降導入した96例について、データベースを構築した。現時点では、経過を比較した症例が少数で期間も6カ月未満がほとんどで、石灰化に関わる因子は明らかではない。

D. 考察

今後観察期間の延長と、症例数の増加により、何らかの結果が得られるものと期待している。

E. 結論

本学透析施設の導入症例を全例詳細に観察しデータベースを作成し、解析することで、異所性石灰化に至る因子を解明することができると期待される。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 石原美和, 大坪茂, 木全直樹, 内田啓子, 秋葉隆, 新田孝作 シナカルセトの二次性副甲状腺機能亢進症改善が腎性貧血に及ぼす効果 東京女子医科大学雑誌 79(8):355-359, 2009

3) Sugi O, Kimata N, Miwa N, Otsubo S, Nitta K, Akiba T. Successful cinacalcet treatment of refractory secondary hyperparathyroidism due to multiple lung parathyroid adenomas Nephrol Dialysis Transplant Plus 3: 60-63, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究
冠動脈石灰化におよぼすリン吸着剤の影響

研究分担者 深川 雅史 東海大学医学部教授

研究要旨

透析患者に対するリン吸着剤が冠動脈石灰化に与える影響を前向きに解析した。炭酸カルシウム投与群（84名）と比較し、塩酸セベラマー投与群（79名）では、冠動脈石灰化の進行が抑制されることが示された。

A. 研究目的

透析患者は血管石灰化に関連する死亡リスクが高く、その機序にはカルシウム負荷や高リン血症が関与している。リン吸着剤は高リン血症の治療に有効であるが、カルシウム含有・非含有の違いが石灰化の進行に及ぼす影響は十分には検証されていない。そこで本研究では、透析患者を対象にリン吸着剤の種類が冠動脈石灰化の進行に及ぼす影響を解析した。

B. 研究方法

神奈川県透析施設で透析を受けている患者を対象に、リン吸着剤を炭酸カルシウムと塩酸セベラマーの二群に分け、冠動脈の石灰化指数の経時的変化を前向きに観察した。また各種生化学検査とともに、血清pentosidine、LDLコレステロールも測定し、石灰化の進行に与える影響を解析した。（倫理面への配慮）本研究の実施は倫理委員会の承認を得ており、研究への参加は同意の得られた患者のみを対象とする。

C. 研究結果

対象患者のうち、炭酸カルシウム投与群84名、塩酸セベラマー投与群79名が研究を完遂した。単変量解析の結果、塩酸セベラマーの使用、血清pentosidine、LDLコレステロールが血管石灰化の進行に有意な影響が

認められた。さらに多変量解析に置いても、塩酸セベラマーの使用と血清pentosidineは有意であった。

D. 考察

塩酸セベラマーはカルシウムを含有しないことに加え、血清pentosidineの上昇を抑制する機序やLDLコレステロールを低下する機序によっても血管石灰化の進行を抑制する可能性が考えられた。

E. 結論

塩酸セベラマーは、多面的な機序で血管石灰化の進行を遅延させ得る。本治療はcalciphylaxisの発症予防にも有効である可能性が期待される。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
投稿準備中。

2. 学会発表

第21回日本腎性骨症研究会（2010年2月、東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究
サルコイドーシスに calciphylaxis を発症した症例の検討

研究分担者 重松 隆 和歌山県立医科大学教授

研究要旨

Calciphylaxisの多くは慢性腎不全の患者に発症するが、今回サルコイドーシスによる高Ca血症にともないcalciphylaxisを合併した症例を経験したので、その臨床像を報告するとともに、診断規準立案策定の参考資料とした。

A. 研究目的

今回、血管石灰化を伴う難治性且つ生命予後不良のまれな疾患であるCalciphylaxisの診断・治療に関わる調査・研究の目的にて、該当すると思われる症例の検索を行った。この症例の詳細な分析を行う事で、発症の危険因子や治療にかかわる効果を明らかにする事を目的とする。

B. 研究方法

当科（和歌山県立医科大学 腎臓内科・血液浄化センター）にて、和歌山県立医科大学附属病院に入院した透析中の慢性腎不全の全患者より、疼痛を伴う難治性潰瘍を伴う症例を抽出した。今回、一例のサルコイドーシス例を抽出し得たので、詳細な分析を行い発症の危険因子や治療にかかわる効果を明らかにする。

C. 研究結果

【症例】サルコイドーシスを合併した糖尿病性透析患者に発症した

penile calciphylaxisの60歳代の一男性例

既往歴：

1990年 糖尿病にてインスリン導入

1998年 脳梗塞

2004年 ケトアシドーシス、無菌性髄膜炎

2006年 血液透析導入

家族歴：

母 糖尿病

【入院後の経過】

第1回入院：2006年7月より週3回の維持透析を受けていた。

2007年5月ごろより慢性的な呼吸苦、発熱が出現。CT上縦隔リンパ節腫大、高Ca血症

(11.0mg/dl)、好酸球増多(WBC19200/ μ l、Eos 58.0%)が見られ、精査加療目的で入院となった。臨床診断基準にてサルコイドーシスと診断し、経口プレドニゾロン30mg/

日にて治療開始したところ、高Ca血症、好酸球増多は改善し、退院となった。

第2回入院：退院後、低Ca血症が持続したため経口活性型ビタミンDが増量投与されていたが、約3ヶ月後に再び高Ca血症(補正Ca11.2mg/dl、iP11.2mg/dl)が出現した。高Ca血症は経口活性型ビタミンD投与中止により改善したが、同時期より陰茎亀頭部に強い疼痛が出現し、亀頭部は壊死状態となっていたため入院となった。

【入院時所見】

入院時現症：意識清明 体温 37.4度 呼吸数 18回/分

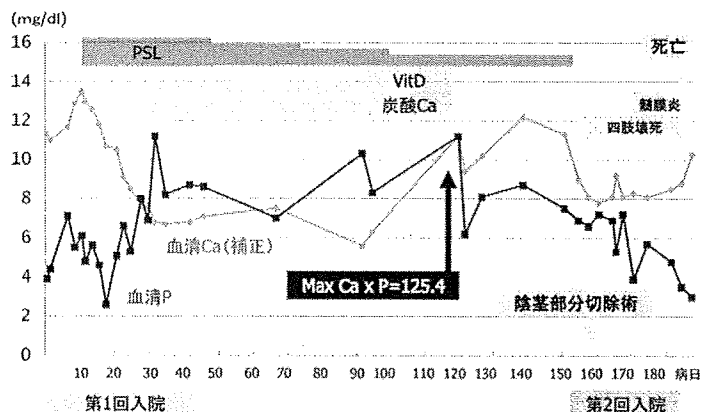
血圧 133/73mmHg 脈拍 97回/分

眼瞼結膜軽度貧血 眼球結膜黄疸なし

項部硬直なし 頸部血管雑音聴取せず

心音 雑音(一) 呼吸音 ラ音(一)

腹部 平坦軟 腸蠕動音正常
四肢 末端冷感(+) 両下肢知覚低下(+)
両側足背動脈触知
陰茎亀頭部に壊死を認める



Urine	PT(%)	81.5 %	UA	5.9 mg/dl
Not examined	PT-INR	1.09	T-bil	0.2 mg/dl
Stool	Fib	521 mg/dl	Glu	116 mg/dl
OB (-)	FDP	5.2 μg/ml	HbA1c	6.1 %
	TP	7.5 g/dl	Na	135 mEq/l
Blood	Alb	2.9 g/dl	K	3.8 mEq/l
WBC	CK	381 IU/L	Cl	99 mEq/l
Eosi	GOT	17 IU/L	Ca	7.9 mg/dl
RBC	GPT	12 IU/L	補正Ca	9.0 mg/dl
Hb	LDH	250 IU/L	P	2.9 mg/dl
Ht	ALP	203 IU/L	iPTH	12 pg/ml
PLT	Cr	7.96 mg/dl	CRP	6.95 mg/dl
	BUN	53 mg/dl		

D. 考察

Calciphylaxisとは、

これまで以下のような症例をされてきた。

- 1) 血管の石灰化に伴い、該当する血管支配領域が壊死する病態
- 2) 全身性に起きうる
- 3) 中年女性の糖尿病患者、透析患者に多い

ただし糖尿病との関連は不明

- 4) 明らかな原因は不明
- 5) $Ca \times P > 70$ で発症しやすいとの報告例や、protein C, S欠損症や感染との関連性を示唆する報告例も存在する。

Penile calciphylaxisについて

- 1) 陰茎には陰茎背動脈、陰茎深動脈、尿道動脈の3経路による豊富な血液供給が存在するため、壊死は比較的稀である。
- 2) 国内報告例は17例、全例において長期の糖尿病罹患歴がある。透析歴は一貫していない。
- 3) 治療法として、副甲状腺切除、低分子ヘパリン投与、高P高Caの是正、デブリードマン、陰茎切除などが行われているが、確立されたものはない。
- 4) 予後不良を示唆する合併症の一つと考えられる。

E. 結論

今回、サルコイドーシスを合併し、二次性副甲状腺機能亢進症を伴わないpenile calciphylaxisの一例を経験した。このcalciphylaxisは確実例を報告し、今回のcalciphylaxisの診断基準作りに有用と思われる。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

- 1) 学会発表
第54回日本透析医学会学術集会・総会にて、口演にて発表。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究
血液透析患者における大動脈石灰化と骨密度の関連

研究分担者 中元 秀友 埼玉医科大学教授

研究要旨

Calciphylaxis発症の要因となる血液透析患者の動脈石灰化について、関連する因子を明らかにする目的で、骨密度と大動脈石灰化との関連を検討した。透析患者の女性では年齢、透析歴によって骨密度は低下した。また大動脈石灰化の強い患者では、骨密度は有意に低下しており、いずれも透析による腎性骨異常栄養症に伴う変化である可能性が示唆された。この結果から、骨の石灰化障害が血管の石灰化を生じる可能性が支持された。

A. 研究目的

Calciphylaxisは血管の石灰化に伴い組織の虚血を来す疾患であり、末期腎不全の重篤な合併症として知られている。急速進行性に組織の潰瘍、壊死をひきおこし、極めて予後が不良な疾患である。その要因として血管石灰化が最も重要であり、血液透析患者の動脈石灰化に及ぼす因子を明らかにする目的で、骨密度と大動脈石灰化との関連を検討した。

B. 研究方法

研究方法

たむら記念病院（千葉県銚子市）において安定した状態で血液透析を施行中の末期腎不全患者22名（平均年齢 69 ± 13 歳、男性12名、女性10名）に対してDEX法を用いて腰椎骨塩量（BMD、L1-4）を毎年1回、7年間継続して測定した。

1）これらの患者の骨密度と透析歴、intact-PTH (i-PTH)、血清Ca、血清IPとの関連を検討した。

2）i-PTHの値によってi-PTH高値群（180 pg/ml以上、H群）と低値群（180 pg/ml未満、L群）の2群に分類した。H群とL群の間に

おける骨密度、年齢、性差、i-PTH、血清Ca、血清IP、VitaminD投与量、炭酸Ca投与量（g/日）を比較検討した。

3）これら22名の患者の腹部CTの所見から大動脈の石灰化面積を計測し、石灰化の強い群（A群）、軽度の群（B群）の2群に分け、それぞれの患者群の骨密度の変化を比較した。

C. 研究結果

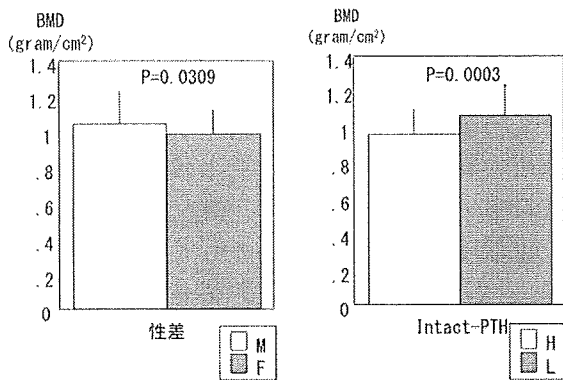
1）腰椎骨塩量（BMD）の性別により比較では、女性が有意に低値であった（M: 1.076 ± 0.179 、F: 0.856 ± 0.832 、 $P=0.0180$ ）（図1左）。BMDはi-PTH、透析年数、血清Caと有意な負の相関を認めた。女性では年齢、透析歴（ $r=-0.676$ 、 $P=0.0103$ ）と有意な正の相関を認めたが他の因子との相関は見られなかった。男性では測定した因子とBMDの有意な相関は見られなかった。

2）i-PTHの高値群では、有意に骨密度は高値であった（i-PTH高値群: 0.95 ± 0.14 、i-PTH低値群: 1.06 ± 0.17 、 $P=0.0003$ ）（図1右）。高値群では透析歴は有意に長く（ $P<0.0001$ ）、炭酸Caの投与量は多かった（ $P=0.0117$ ）が、

年齢、性差、血清 Ca、血清 IP では H 群と L 群の間に有意な差は認められなかった。

3) 大動脈石灰化の強い群では骨密度は有意に低値であった (P=0.0009)。これらの群では血清 Ca (P<0.0001) ならびに血清燐 (P=0.0243) はいずれも有意に高値であった。大動脈石灰化の強い群では炭酸 Ca の投与量は有意に大であった (P=0.0001) であったが、VitaminD の投与量に有意な差は認められなかった。また i-PTH は二群間で有意な差は認めなかった。

図1. 性差ならびにintact-PTHの骨密度(BMD)に及ぼす影響



左図：性差 Mは男性、Fは女性を示す。
右図：Hは intact-PTH 高値群、Lは intact-PTH 低値群を示す。以下データは平均値±標準偏差

図2. 骨密度(BMD)とintact-PTHの相関

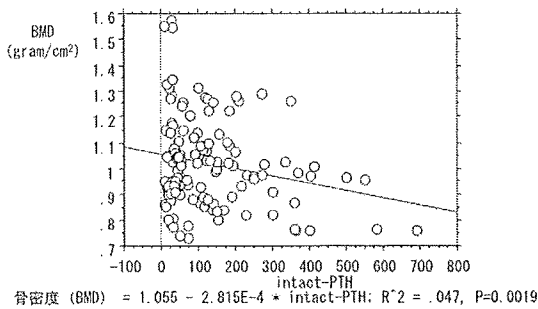


図3. 骨密度(BMD)と透析年数の相関

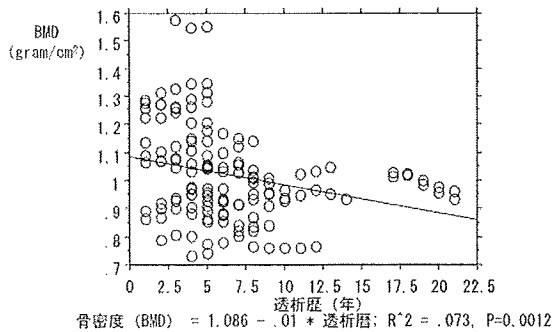


表5. Intact-PTH高値群(H群)と低値群(L群)の比較検討

	H群	L群	P
年齢(歳)	64.5±13.1	60.4±13.5	0.0838
透析暦(年)	9.4±5.5	4.8±2.8	<0.0001
Ca (mg/dl)	9.3±0.6	9.3±0.7	0.7633
IP (mg/dl)	5.6±0.8	5.7±0.9	0.7119
CaCo3	3.6±1.5	2.8±1.5	0.0117
VitD	0.245±0.270	0.239±0.434	0.9253
iPTH	231.1±154.0	62.3±53.6	<0.00010.
骨密度	0.95±0.14	1.06±0.17	0003

図5. 大動脈石灰化の有無による血清CaならびにPの比較

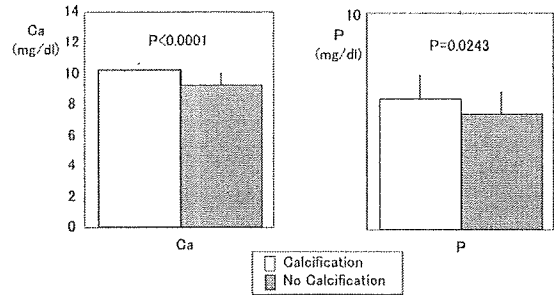


図6. 大動脈石灰化の有無による骨密度(BMD)ならびにintact-PTHの比較

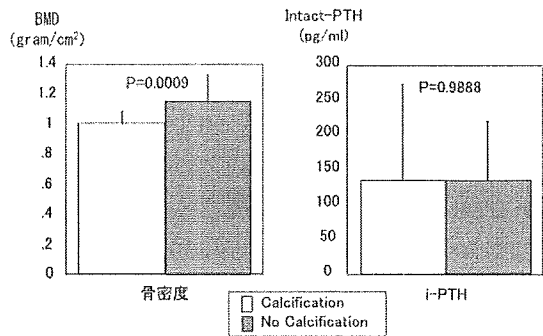
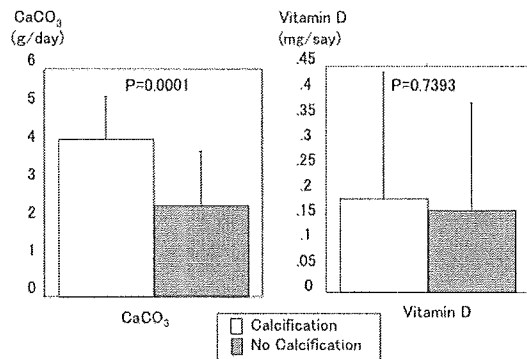


図7. 大動脈石灰化の有無による炭酸CaならびにVitamin D



D. 考察

Calciphylaxis の病態に関して明らかではないが、現在まで報告されているものとして、Ca ならびに Pi の高値、その他にも Ca・Pi 積の上昇が、発症の危険因子として報告されている。特に Ca 値で 10.5mg/dl 以上、Pi で 5.0mg/dl 以上、さらに Ca・Pi 積では

70mg²/dl²以上が危険因子と報告されている (Int J Dermatol 44: 101, 2005)。その他にも発症を誘発する因子として、若年、女性、肥満 (BMI>30)、長期の透析歴、糖尿病、腹膜透析施行患者、プロテインCの低下、プロテインSの低下、ビタミンDの投与、炭酸Caの投与、ステロイドの投与、ワーファリンの投与、副甲状腺機能亢進症の合併、低アルブミン状態などが報告されている (透析会誌 43:77, 2010)。これまでの報告では、Calciphylaxisの発症には、核内κBリガンドの可溶性受容体 activator (receptor activator of nuclear factor-κB ligand: RANKL) が、破骨細胞の分化と骨吸収機能を誘導し、心血管系をおこすことが関与していると推測されている (Endocrinology 142: 4047, 2001)。またそれ以外にも、さまざまな誘発因子が関与していることが推測されているが、現在なお明らかではない。

Calciphylaxisの病態の基本は中小の細動脈の石灰化が基本であるが、これらの判断は組織を採取しその病理標本から判断すべきであるが、現実にはすべての患者で生検による血管石灰化の確認をすることは極めて難しい。したがって、一般的に血管石灰化は大動脈の石灰化によって判断することが一般的である。そこで今回我々は大動脈の石灰化へ及ぼす種々の危険因子の関与を検討した。

大動脈石灰化と骨密度の関係は、大動脈の石灰化が認められる透析患者において、有意に骨密度の低下が見られた。これらの患者群は有意に血清Caと血清IPは高値であった。この結果は大動脈の石灰化は血清Caと血清IPに強く影響される、そしてこれらの患者ではi-PTHの高い患者が多く、i-PTHの高い患者では骨密度の低下が見られる、とのこれまでの報告結果と一致するものであった (透析会誌 39: 1435, 2006)。我々の前半の検討結果も、それらの結果を示唆するものであった。今回の患者群では、問題点として炭酸Ca投与量が3g以上であり、2006年に発表された「透析患者における二次性副甲状腺機能亢進症治療ガイド

ライン」 (Guidelines for the management of secondary hyperparathyroidism in chronic dialysis patients)の炭酸Caは一日3g以下にするべき、との指針より多い点が上げられる。この点に関して今回のガイドラインでは、Ca負荷が生命予後に悪影響を与えるという報告から「炭酸カルシウムの投与量は3g/dayを超えないことが望まれる」ことを明記されている (Nephrol Dial Transplant 15: 1014, 2000、N Engl J Med 342: 1478, 2000)。今回の検討が指針発表前の時期に中心的にとられた結果であったためCa負荷量は多めであるが、この結果血清Ca高値の症例が多く、血管の石灰化に影響をしていた可能性は否定できない。

今回の結果から言えることは、大動脈石灰化の強い患者では、骨の変化 (ROD) も強く起こっていること、そしてこれらは血清CaとIPの上昇に強く影響されることであった。これらの病変に、さらに血管障害や血栓形成が影響して末梢循環障害などの病態が生じてくる可能性が示唆された。

E. 結論

透析患者の女性では年齢、透析歴によって骨密度は低下した。また大動脈石灰化の強い患者では、骨密度は有意に低下しており、いずれも透析によるRODに伴う変化である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1) 学会発表
第54回日本透析医学会学術集会・総会にて、口演にて発表。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Calciphylaxis の診断・治療に関わる調査・研究
剖検にみる慢性腎臓病(CKD)患者の冠動脈石灰化についての組織学的検討

研究分担者 川村 哲也 東京慈恵会医科大学准教授
研究協力者 吉田 啓 東京慈恵会医科大学助教
横山 啓太郎 東京慈恵会医科大学講師

研究要旨

慢性腎臓病(CKD)患者における血管石灰化は心血管合併症の発症と伸展、ひいては生命予後に大きく関与しているが、その発症病期、発症機序については不明な点が多い。本研究では血管石灰化にはCKD早期には炎症が、透析期には炎症に加え血管平滑筋の骨芽細胞様形質転換が関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease: CKD)患者における血管石灰化は、組織学的特徴から内膜石灰化(Arterial Intima Calcification: AIC)と中膜石灰化(Arterial Media Calcification: AMC)の二つに大別でき、AICが一般の動脈硬化の終末像であるのに対し、AMCはCKD患者に特有の病変と考えられているが、その発現病期、発現機序は不明な点が多い。そこで剖検から得られた検体を用いて、CKD stageによる血管石灰化の発現病期ならびにAICとAMCの発現機序の差異につき組織学的に検討した。

毛細血管の中膜石灰化を特徴とするCalciphylaxisと冠動脈のAMCには共通の病態が関与している可能性が想定される。

B. 研究方法

1. 対象

冠動脈中枢部に石灰化を認めるCKD stage 2-3群5例および透析群14例を対象とし、マクロファージの指標であるCD68、血管平滑筋の骨芽細胞様形質転換の指標であるCbfa1/Runx2による免疫組織染色を行った。

(研究の倫理面への配慮)

病理解剖にあたり、家族への十分な説明を行い、同意を得た。

C. 研究結果

CKD stage 2-3群ではAICを認めるもののAMCは認めなかった。透析群ではAICとAMCの両者を認めた。AICについてはCKD stage 2-3群ではCD68が陽性、Cbfa1/Runx2は陰性、透析群ではCD68とCbfa1/Runx2の両者が陽性であった。AMCについては透析群でCbfa1/Runx2が陽性であったが、CD68は陰性であった。

D. 考察

一般にAICは動脈硬化の終末像であり、炎症や酸化ストレス、加齢、高血圧、脂質代謝異常、糖尿病などが原因と考えられている。本研究ではAICには早期CKD患者ではマクロファージの浸潤、透析患者ではそれに加えて骨芽細胞化した血管平滑筋細胞の浸潤を認めた。AMCについては早期CKD患者での発現が報告されているが、本研究では早期CKD患者には発現していなかった。AMCの機序は不明な点が多いが、本研究では骨芽細胞化した血管平滑筋細胞の浸潤を認めた。

E. 結論

AIC は早期 CKD 患者にも見られるのに対し、AMC は透析患者に特有の病変であった。AIC には早期 CKD 患者では炎症、透析患者では炎症と血管平滑筋の骨芽細胞様形質転換の両者が関与するのに対し、AMC には炎症は関与せず、血管平滑筋の骨芽細胞様形質転換が関与する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 学会発表

第 53 回日本腎臓学会学術総会（2010 年 6 月神戸）にて発表予定。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当事項なし。

2. 実用新案登録

該当事項なし。