

図 3 : Fli1 の ERα プロモーターへの結合。

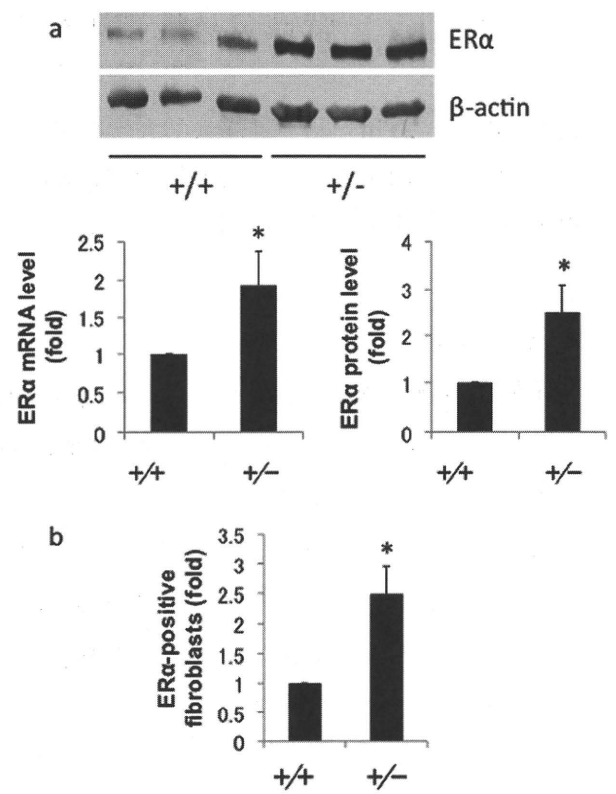


図 4 : Fli1 ヘテロノックアウトマウスの真皮線維芽細胞における ERα 発現。

腎性全身性線維症の石灰化形成機序の検討

研究分担者 石川 治 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 教授

協力者 岡田悦子 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 助教

協力者 山中正義 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 助教

研究要旨

腎性全身性線維症 (nephrogenic systemic fibrosis : NSF) は高度の腎不全患者に MRI 造影剤であるガドリニウムを投与することにより全身諸臓器の線維化・石灰化をきたす疾患であるが、ガドリニウムの作用の詳細については明らかになっていない。ガドリニウム (Gd) はヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) に対して、石灰化を誘導するが、Gd が属するランタノイド (希土類元素) であるランタン (La)、ホルミウム (Ho) でも Gd と同様に、HAMSC の石灰化を誘導した。また、亜鉛 (Zn)、アルミニウム (Al) では HAMSC の石灰化を抑制した。NSF の石灰化形成の機序を明らかにすることで、発症を予防できる可能性がある。

A. 研究目的

腎性全身性線維症(nephrogenic systemic fibrosis: NSF) は、2000 年に提唱された疾患概念で、皮膚、筋肉、横隔膜、心臓、肝臓、肺など、全身諸臓器の線維化を特徴とする疾患である¹⁾。高度の腎機能不全患者にガドリニウム造影剤を使用することにより、高率に NSF が発症することが判っているが、その詳細なメカニズムについては未だ明らかにされていない。

我々の施設で経験した NSF 患者は、高度の皮膚の硬化と関節の拘縮、更に著明な皮膚・皮下の石灰化をきたしており、その QOL は著しく損なわれていた²⁾。NSF は線維化をおこす疾患として知られているが、自験例以外にも石灰化病変の合併は多数報告されている^{3,4)}。全身性強皮症でもしばしば皮膚や軟部組織に石灰化が生じることがあり、また陰茎の線維化を特徴とする Peyronie's disease でも 15～

25% に石灰化を伴うことが知られている⁵⁾。

これまで我々は、我々は MC3T3-E1 細胞 (マウス前骨芽細胞)、ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞、さらにはヒト皮膚由来線維芽細胞において、ガドリニウムが濃度依存性に細胞の石灰化を誘導していることを示し、NSF では、組織に沈着したガドリニウムが間葉系幹細胞や線維芽細胞に直接的に作用して石灰化を誘導している可能性を報告した。

ガドリニウムによる石灰化・線維化のメカニズムは、強皮症にも共通するメカニズムがあるはずであり、今回の結果は強皮症研究にもフィードバックしたいと考えている。

B. 研究方法

1) 細胞培養

ヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) は Zen-Bio 社より購入した。細胞培養には Lonza 社の Mes-

enchymal Stem Cell Growth Medium (NM : normal medium) と hMSC Differentiation BulletKit-Osteogenic (OM : osteogenic medium) を使用した。

2) cell proliferation assay

96 well plate にヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) を播種し、24 時間培養後、目的とする濃度の金属溶液を添加し、48 時間後に CellTiter96 AQueous one solution cell proliferation assay (Promega) により細胞増殖能を測定した。

金属溶液は $GdCl_3$ 、 $LaCl_3$ 、 $HoCl_3$ 、 $AlCl_3$ 、 $ZnCl_2$ 、 $CuCl_2$ 、 $MgCl_2$ を各 0、10、100 μ M ずつ添加した。

3) Alizarin Red 染色

24 well plate に MC3T3-E1 を 7.5×10^4 /well で播種し、24 時間培養後、目的とする濃度の金属溶液を添加した培地で培養。培地交換は週 2 回行ない、1 週間ないし 2 週間培養。培養液を除去後、PBS で 1 回洗浄、冷 70% エタノールを加え、4 $^{\circ}$ C で 1 時間固定。蒸留水で 3 回洗浄後、40mM Alizarin Red S (pH4.2, in deionized water) を 500 μ l 加え、緩やかに振盪しながら 15 分間染色。蒸留水で 5 回洗浄、PBS で 1 回洗浄した後、写真撮影。(定量) 10% cetylpyridium chrolide (pH7.0, in 10mM sodium phosphate) を 500 μ l 加え、15 分間緩やかに振盪後、吸光度 (562nm) を測定。

C. 研究結果

1) ランタノイドのヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) に対する細胞増殖に及ぼす影響

$GdCl_3$ は通常の増殖培地 (NM : normal medium)、骨分化誘導培地 (OM : osteogenic medium) いずれの培地中でも、濃度依存性に細胞増殖を促進していた。また、 $LaCl_3$ 、 $HoCl_3$ も濃度依存性に細胞増殖を促進していた (図 1)。

2) ランタノイドのヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) に対する石灰化に及ぼす影響

Alizarin red 染色を用いて検討した結果、ランタノイドは通常培地 (NM) では石灰化を誘導しないが、骨分化誘導培地 (OM) では高濃度で石灰化を誘導した。(図 2)

3) ランタノイド以外の金属元素によるヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) 及ぼす影響

$AlCl_3$ 、 $ZnCl_2$ 、 $MgCl_2$ は HAMSC の細胞増殖を抑制しないが、 $CuCl_2$ は濃度依存性に HAMSC の細胞増殖を抑制した。

$CuCl_2$ 、 $MgCl_2$ は HAMSC の石灰化に影響を与えないが、 $AlCl_3$ 、 $ZnCl_2$ は骨分化誘導培地 (OM) において、濃度依存性に石灰化を抑制した。(図 3)

D. 考察

これまでに我々は、ガドリニウム (Gd) はヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) に対して、細胞増殖作用および石灰化誘導作用を有することを示した。Gd の作用機序を明らかにするために、Gd と類似の性質を有するランタノイドでも同様の結果を得た。ランタノイドは生体内に存在しない金属元素であり、作用する細胞やシグナルなどは明らかでないが、HAMSC への作用を検討することで、そのメカニズムを知る契機になる可能性がある。

さらに、生体に存在する金属元素では、Al、Zn は細胞増殖を抑制しないが、明らかに石灰化を抑制した。これは HAMSC に直接作用した結果だが、Gd との共同作用により Gd が促進する石灰化を抑制し、NSF 患者の石灰化病変の発症を予防できる可能性を示している。さらに NSF のほかに強皮症や皮膚筋炎などにも石灰化を生じる疾患は多く存在するため、臨床に応用できる可能性を示した。

E. 結論

ガドリニウムが石灰化を及ぼす HAMSC に対して、ガドリニウム以外の金属の作用を検討した。石灰化をきたす NSF や全身性強皮症などの臨床症状を予防する可能性を示した。NSF の石灰化機序を解明することは、強皮症の石灰化病変の病態解明のための大きな手がかりになるのではないかと考えられた。

F. 文献

1. Cowper SE, Robin HS, Steinberg SM, Su LD, Gupta S, Leboit PE. Scleromyxoedema-like cutaneous diseases in renal-dialysis patients. *Lancet* 2000; 356: 1000-1001.
2. Nagai Y, Hasegawa M, Shinmi K, Kishi C, Tsumishima Y, Endo K, Okabe K, Suzuki K, Ishikawa O. Nephrogenic systemic fibrosis with multiple calcification and osseous metaplasia. *Acta Derm Venereol.* 2008; 88: 597-600.
3. Edsall L, English J, Teague M, Patterson JW. Calciphylaxis and metastatic calcification associated with nephrogenic fibrosing dermopathy.

J Cutan Pathol 2004; 31: 247-253.

4. Ruiz-Genao D, Pascual-Lopez M, Fraga S, Aragues M, Garcia-Diez A. Osseous metaplasia in the setting of nephrogenic fibrosing dermopathy. *J Cutan Pathol* 2005; 32: 172-175.
5. Vernet D, Nolazco G, Cantini L, Magee TR, Qian A, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Evidence that osteogenic progenitor cells in the human tunica albuginea may originate from stem cells: implications for peyronie disease. *Biol Reprod.* 2005; 73: 1199-210.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
第17回分子皮膚科学フォーラム 2010年7月
9-10日 福岡

H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

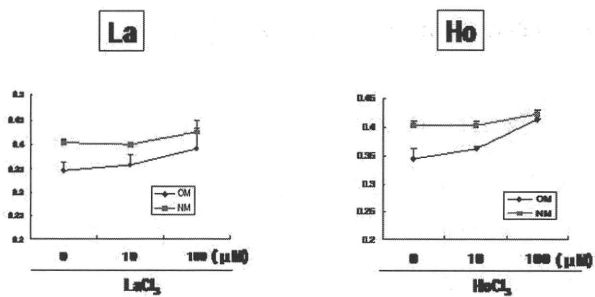


図1：La、Ho添加によるヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) の cell proliferation assay (48 時間後：MTS 法)

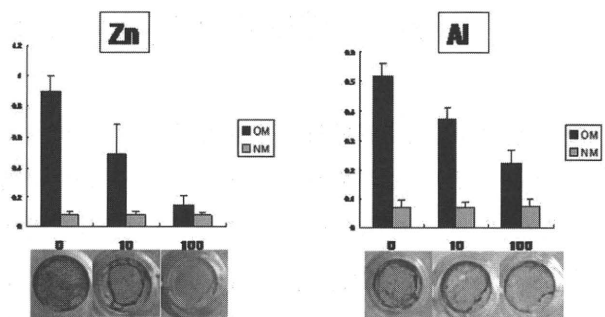


図3：Al、Zn添加によるヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) の石灰化に及ぼす影響 (Alizarin Red 染色)

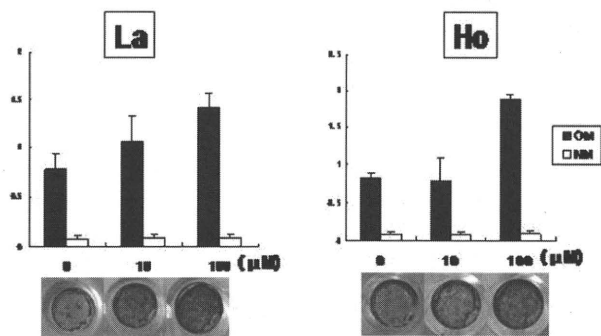


図2：La、Ho添加によるヒト皮下組織由来間葉系幹細胞 (HAMSC) の石灰化に及ぼす影響 (Alizarin Red 染色)

肺動脈性肺高血圧症に対する Imatinib mesylate の効果

研究分担者	波多野将	東京大学医学部附属病院循環器内科 助教
研究分担者	浅野善英	東京大学医学部附属病院皮膚科 講師
協力者	八尾厚史	東京大学医学部附属病院循環器内科 助教
協力者	絹川弘一郎	東京大学医学部附属病院循環器内科 講師
協力者	平田恭信	東京大学医学部附属病院先端臨床医学開発講座 特任准教授
協力者	永井良三	東京大学医学部附属病院循環器内科 教授
協力者	玉城善史郎	東京大学医学部附属病院皮膚科 助教
協力者	川嶋智彦	東京大学医学部附属病院皮膚科 助教
研究代表者	佐藤伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科 教授

研究要旨

肺動脈性肺高血圧症（Pulmonary arterial hypertension：PAH）は予後不良の疾患であるが、近年治療薬の進歩によりその予後は飛躍的に改善した。しかしながら、強皮症に合併する肺高血圧症（Scleroderma-associated PAH：SSc-PAH）は PAH の中でも特に治療抵抗性であり、現代においても十分な予後の改善を得られていない。その中であって、慢性骨髄性白血病などの治療薬として臨床応用されている Imatinib mesylate は、血小板由来増殖因子（PDGF）阻害作用を有し、PAH 治療薬として期待を集めている。そこで今回我々は、既存の PAH 治療薬によっても WHO 機能分類Ⅲ度から改善を得られない、SSc-PAH 患者 3 名を含む PAH 患者 5 名に対し、Imatinib mesylate 100mg の追加投与を行い、その効果を検討した。その結果、6ヶ月間の Imatinib 投与により、血漿 PDGF 濃度は有意に低下した（ $P=0.04$ ）。また、肺拡散能も投与 12 週後には有意に改善し（ $P<0.01$ ）、その効果は 24 週後まで持続する傾向を認めた（ $P=0.05$ ）。血行動態及び運動耐容能については全体では有意な改善は認められなかったが、投与前の血漿 PDGF 濃度が高値であった 2 例については、投与 12 週後に肺血管抵抗が 15% 以上低下し、特に良好な反応を示した。Imatinib mesylate は血漿 PDGF 濃度が高値である PAH 患者に特に有効である可能性が示唆された。

A. 研究目的

肺動脈性肺高血圧症（Pulmonary arterial hypertension：PAH）は予後不良の疾患であるが、近年治療薬の進歩によりその予後は飛躍的に改善した。しかしながら、強皮症に合併する肺高血圧症（Scleroderma-associated PAH：SSc-PAH）は PAH の中で

も特に治療抵抗性であり、現代においても十分な予後の改善を得られていない。

PAH の病態生理に関わる pathway として、これまで Endothelin pathway、Nitric oxide pathway、Prostacyclin pathway が広く知られているが、近年 PAH 患者においては血小板由来増殖因子（PDGF）

受容体の発現が亢進しており、この signaling pathway を通じて血管平滑筋の増殖や細胞外マトリックスの形成が起こり、病態の悪化に関与していることが明らかとなってきた。慢性骨髄性白血病などの治療薬として臨床応用されている Imatinib mesylate は、PDGF 受容体阻害作用を有し、PAH 治療薬としても期待されているため¹⁻³⁾、今回我々は Imatinib の SSc-PAH を含めた PAH に対する治療効果を検討した。

B. 研究方法

1) 対象患者

既存の肺高血圧治療薬（ボセンタン、シルデナフィル、ベラプロスト、エポプロステノール）を2剤以上投与しても WHO 機能分類Ⅲ度以上から改善を得られない、SSc-PAH 患者3名を含む PAH 患者5名。

2) 方法

既存の肺高血圧治療薬はすべて継続の上で Imatinib mesylate 100mg/day を24週間追加投与した。主要評価項目として血行動態（平均肺動脈圧、心係数、肺血管抵抗（PVR））、副次評価項目として血漿BNP、PDGF-BB 及び VEGF 濃度、自転車エルゴメーターによる運動耐容能及び呼吸機能を測定した。自転車エルゴメーターは15ワットのウォーミングアップを4分間行った後、1分間に5ワットずつ負荷を漸増するランプ負荷で行った。

また、24週の Imatinib 100mg/day 投与により重篤な有害事象を認めなかった3例においては、その後 Imatinib を200mg/day に増量し、その12週後に前述の項目について評価を行った。

C. 研究結果

1) 患者背景

対象患者は SSc-PAH の患者3名、特発性/家族性肺動脈性肺高血圧症（IPAH/FPAH）の患者2名の計5名であった。Imatinib 投与開始時までの平均治療期間は15ヶ月で、全例 WHO 機能分類はⅢ度であった（表1）。

2) 血行動態及び運動耐容能の推移

12週及び24週後の血行動態及び運動耐容能の推移は表2に示した通りで、治療開始12週後にPVRは治療前より平均7.6%低下、最大酸素摂取量は2.9%増加したが、いずれも治療前と比べて有意差はなかった。また、24週後は血行動態及び運動耐容能のいずれも治療前とほぼ不変であった。SSc-PAH患者とIPAH/FPAH患者の間で治療効果に明確な差は認められなかった。

3) 血漿 PDGF-BB 及び VEGF 濃度の推移

12週後に血漿 PDGF 濃度は治療前に比して有意な低下を認めた（ $P=0.04$ ）。血漿 VEGF 濃度については治療前後で有意差は認めなかった（図1）。

4) 肺拡散能の推移

肺拡散能は投与12週後には有意に改善し（ $P<0.01$ ）、その効果は24週後まで持続する傾向を認めた（ $P=0.05$ ）。

D. 考察

今回の研究では症例数が少ないこともあって Imatinib の効果を明確に確認するには至らなかった。しかしながら、Imatinib 投与前の血漿中 PDGF 濃度が高かった2例（症例2及び5）についてはいずれも12週後にPVRが15%以上低下し、特に良好な反応を示した。Nakamuraらは、PAH患者の肺動脈平滑筋細胞（PASMC）を用い、ImatinibはPDGF

の存在下で PSMC の apoptosis を誘導することを報告しており⁶⁾、PDGF が高値の患者ほど効果があるということが一つの可能性として考えられる。実際、いくつかの腫瘍細胞においては PDGF が自己分泌され、それが細胞増殖に重要な役割を果たしていることが報告されており⁷⁻¹⁰⁾、PAH 患者の PSMC においても同様なことが起こっているとすれば、Imatinib が PSMC における PDGF 自己分泌のループを断ち切ることにより細胞増殖を抑制している可能性が考えられる。

また、肺拡散能は PAH の重症度を反映することが知られているので、投与 12 週後に肺拡散能が有意に改善したことは、Imatinib の PAH に対する有効性を示すひとつの指標と言えるかもしれない。しかしながら、SSc-PAH の患者は 3 例とも肺線維症を合併していたことを考えると、肺拡散能の改善は肺機能そのものの改善を示している可能性があり、この点については今後さらに検討を要する。

有害事象については 5 例中 3 例で腎機能障害を認めた。うち 2 例では 200mg に増量後に出現しており、腎機能障害については用量依存性に起こるものと思われる。この機序については不明な点も多いが、Imatinib による尿細管障害の報告が散見されることから¹¹⁻¹⁴⁾、Imatinib 投与に際しては腎機能を注意してモニタリングする必要があるものと考えられる。

E. 結論

SSc-PAH に対する Imatinib mesylate の有効例が存在する。Imatinib は血漿 PDGF 濃度を低下させるが、その意義についてはさらなる検討を要する。

F. 文献

1. Schermuly RT, et al. Reversal of experimental

pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J Clin Invest.* Oct 2005; 115 (10): 2811-2821.

2. Barst RJ. PDGF signaling in pulmonary arterial hypertension. *J Clin Invest.* Oct 2005; 115 (10): 2691-2694.

3. Ghofrani HA, Seeger W, Grimminger F. Imatinib for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* Sep 29 2005; 353 (13): 1412-1413.

4. Patterson KC, Weissmann A, Ahmadi T, Farber HW. Imatinib mesylate in the treatment of refractory idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Ann Intern Med.* Jul 18 2006; 145 (2): 152-153.

5. ten Freyhaus H, Dumitrescu D, Bovenschulte H, Erdmann E, Rosenkranz S. Significant improvement of right ventricular function by imatinib mesylate in scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *Clin Res Cardiol.* Apr 2009; 98 (4): 265-267.

6. Nakamura K, et al. Imatinib Inhibits Proliferation and Migration and Induces Apoptosis in Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells From Patients With Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation.* Nov 3 2009; 120(18): S1136-S1136

7. Yang J, Liu X, Nyland SB, et al. Platelet-derived growth factor mediates survival of leukemic large granular lymphocytes via an autocrine regulatory pathway. *Blood.* Jan 7 2010; 115 (1): 51-60.

8. Ranza E, Mazzini G, Facchetti A, Nano R. In-vitro effects of the tyrosine kinase inhibitor ima-

- tinib on glioblastoma cell proliferation. *J Neurooncol.* Feb 2010; 96 (3): 349-357.
9. Kim R, Emi M, Arihiro K, Tanabe K, Uchida Y, Toge T. Chemosensitization by STI571 targeting the platelet-derived growth factor/platelet-derived growth factor receptor-signaling pathway in the tumor progression and angiogenesis of gastric carcinoma. *Cancer.* May 1 2005; 103 (9): 1800-1809.
10. Handolias D, McArthur GA. Imatinib as effective therapy for dermatofibrosarcoma protuberans: proof of concept of the autocrine hypothesis for cancer. *Future Oncol.* Apr 2008; 4 (2): 211-217.
11. Gafter-Gvili A, Ram R, Gafter U, Shpilberg O, Raanani P. Renal failure associated with tyrosine kinase inhibitors--case report and review of the literature. *Leuk Res.* Jan 2010; 34 (1): 123-127.
12. Pou M, Saval N, Vera M, et al. Acute renal failure secondary to imatinib mesylate treatment in chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma.* Jul 2003; 44 (7): 1239-1241.
13. Foringer JR, Verani RR, Tjia VM, Finkel KW, Samuels JA, Guntupalli JS. Acute renal failure secondary to imatinib mesylate treatment in prostate cancer. *Ann Pharmacother.* Dec 2005; 39 (12): 2136-2138.
14. Francois H, Coppo P, Hayman JP, Fouqueray B, Mougnot B, Ronco P. Partial fanconi syndrome induced by imatinib therapy: a novel cause of urinary phosphate loss. *Am J Kidney Dis.* Feb 2008; 51 (2): 298-301.
- ## G. 研究発表
- 1) 論文発表
- Hatano M, Yao A, Shiga T, Kinugawa K, Hirata Y, Nagai R. Imatinib mesylate has the potential to exert its efficacy by down-regulating the plasma concentration of platelet-derived growth factor in patients with pulmonary arterial hypertension. *Int Heart J.* 2010 Jul; 51 (4): 272-6.
- 2) 学会発表
- 第74回日本循環器学会総会・学術集会（京都：2010年3月5日-7日）
- Masaru Hatano, Atsushi Yao, Taro Shiga, Koichiro Kinugawa, Yasunobu Hirata, Ryoza Nagai. Imatinib is a Potential Drug for Patients with Pulmonary Arterial Hypertension.
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

表1. 患者背景

Patient	Age (years)	Sex	Pathogenesis	WHO FC	Duration of previous treatment (months)	Previous treatment			BNP (pg/mL)
						Prostanoids	Bosentan	Sildenafil	
1	63	M	SSc-PAH	III	16	Epo 25 ng	125 mg	60 mg	394.9
2	66	F	SSc-PAH	III	10	Ber 120 μ g	250 mg	60 mg	360.2
3	69	F	SSc-PAH	III	7	Ber 180 μ g	125 mg		529.4
4	67	F	FPAH	III	10	Ber 360 μ g		60 mg	264.1
5	22	F	IPAH	III	32	Epo 50 ng	250 mg		23.9
Mean	57.4				15				387
SD	19.9				10				188

Patient	Peak VO ₂ (mL/min/kg)	Respiratory function test		RAP (mmHg)	mean PAP (mmHg)	CI (L/min/m ²)	PVR (dyne·sec/cm ⁵)
		%TLC (%)	%DLCO (%)				
1	11	85	24.5	9	27	2.2	427
2	6.8	75	30.4	8	51	2.94	747
3	7.7	43	-	6	35	1.95	705
4	11.8	75	86.6	6	64	1.51	2161
5	14.1	99	78.9	3	64	2.46	1208
Mean	9.3	75.4	55.1	6.4	48.2	2.2	1050
SD	2.4	20.6	32.2	2.3	16.8	0.5	682

Ber: beraprost, BNP: B-type natriuretic peptide, CI: cardiac index, DLCO: diffusion capacity of the lung for carbon monoxide, Epo: epoprostenol, FPAH: familial PAH, IPAH: idiopathic PAH, μ g: μ g/day, mg: mg/day, ng: ng/kg/min, PAP: pulmonary arterial pressure, PVR: pulmonary vascular resistance, RAP: right atrial pressure, SSc-PAH: scleroderma-associated PAH, TLC: total lung capacity, WHO FC: World Health Organization functional class, DLCO could not be measured in patient 3 because her vital capacity was too small.

表2. Imatinib の血行動態及び運動耐容能に対する効果

Patient	Δ %mean PAP (%)			Δ %CI (%)			Δ %PVR (%)			Δ %Peak VO ₂ (%)		
	12w	24w	post up-titration	12w	24w	post up-titration	12w	24w	post up-titration	12w	24w	post up-titration
1	0	-15	-	5	-7	-	10	0	-	3	11	-
2	-16	-14	-	-6	-5	-	-17	-13	-	0	15.0	-
3	9	0	46	13	15	-1	-1	-20	47	0	-13.0	-14
4	-2	6	13	4	-1	15	-3	9	-10	8	-17.0	5
5	-3	3	25	37	7	8	-27	12	23	-1	-1	-23
Mean	-2.4	-3.8		10.6	1.9		-7.6	-2.4		1.9	-1.0	
SD	8.7	9.8		16.3	0.9		14.5	13.8		3.4	14.0	

Each value is expressed as % change from the baseline. CI: cardiac index, PAP: pulmonary arterial pressure, PVR: pulmonary vascular resistance, 12 w: 12 weeks after the initiation of imatinib, 24 w: 24 weeks after the initiation of imatinib, Post up-titration: 12 weeks after titrated up to 200 mg.

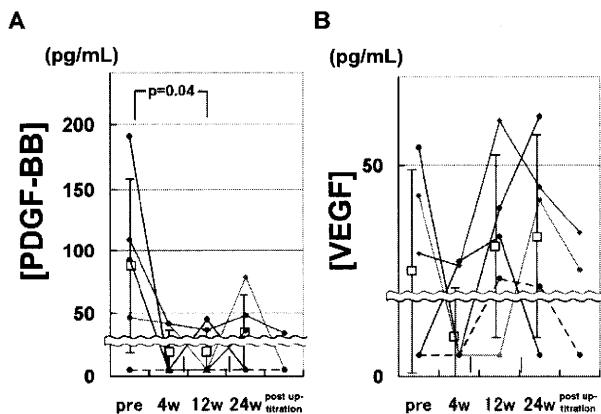


図1：血漿PDGF-BB濃度 (A) 及びVEGF濃度 (B) の推移

個々の症例の推移を折れ線で記した。青、黒、緑、黒点及び赤の線はそれぞれ順に症例1、2、3、4、5を表す。[PDGF-BB]:血漿PDGF濃度、[VEGF]:血漿VEGF濃度、Pre: Imatinib投与前、4w、12w、24w: Imatinib投与4、12、24週後、Post up-titration: 200mgに増量12週後

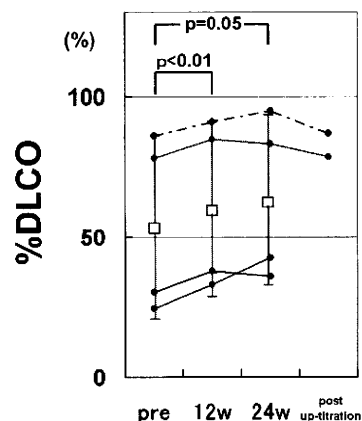


図2：肺拡散能の推移

個々の症例の推移を折れ線で記した。青、黒、黒点及び赤の線はそれぞれ順に症例1、2、4、5を表す。症例3の拡散能は肺活量不足で測定不能であった。DLCO:肺拡散能、Pre: Imatinib投与前、4w、12w、24w: Imatinib投与4、12、24週後、Post up-titration: 200mgに増量12週後

汎発性強皮症における % FMD 値と臨床症状および 各種検査値との相関に関する検討

研究代表者	佐藤伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科 教授
研究分担者	浅野善英	東京大学医学部附属病院皮膚科 講師
研究協力者	高橋岳浩	東京大学医学部附属病院皮膚科 助教
協力者	市村洋平	東京大学医学部附属病院皮膚科 助教
協力者	遠山哲夫	東京大学医学部附属病院皮膚科
協力者	谷口隆志	東京大学医学部附属病院皮膚科 助教
協力者	青笹尚彦	東京大学医学部附属病院皮膚科 大学院生
協力者	赤股要	東京大学医学部附属病院皮膚科 大学院生
協力者	川嶋智彦	東京大学医学部附属病院皮膚科 大学院生
協力者	富田学	東京大学医学部附属病院皮膚科
協力者	玉城善史郎	東京大学医学部附属病院皮膚科 助教
協力者	網谷英介	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科
協力者	中尾倫子	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科
協力者	大関敦子	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科
協力者	渡邊綾	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科
協力者	河原崎秀一	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科
協力者	波多野将	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科
協力者	渡辺昌文	東京大学大学院医学系研究科・医学部循環器内科

研究要旨

汎発性強皮症においては Raynaud 症状や指尖部潰瘍などの末梢循環障害を認め、血管内腔の狭窄と血管新生の異常を認める。強皮症患者ではニトロプルシドによる血管内皮非依存性の血管拡張反応の障害がほとんどないのに対して、アセチルコリンによる血管内皮に依存した血管拡張反応は高度に障害されており、その病因の一つとして血管内皮の障害が考えられている。今回我々は、2010年に当科に入院した汎発性強皮症患者 35名について、macrovascular レベルでの血管内皮機能の指標とされている上腕動脈での血流依存性血管拡張反応 (FMD) を計測し、その臨床所見、罹病期間等との相関を検討した。結果として、NFB、Raynaud 症状の有無などでは %FMD 値に有意差が見られなかったが、指尖部潰瘍の有無では有意差が見られた。罹病期間との関連については、抗セントロメア抗体陽性の患者において有意な負の相関が見られた。それぞれ、指尖部潰瘍、抗セントロメア抗体と血管内皮機能障害の関連を表すものと考えられた。

A. 研究目的

汎発性強皮症においては Raynaud 症状や指尖部潰瘍などの末梢循環障害を認め、血管内腔の狭窄と血管新生の異常を認める。強皮症患者ではニトロプルシドによる血管内皮非依存性の血管拡張反応の障害がほとんどないのに対して、アセチルコリンによる血管内皮に依存した血管拡張反応は高度に障害されており、その病因の一つとして血管内皮の障害が考えられている^{1,2)}。

近年、血管エコーにより血流依存性血管拡張反応 (Flow Mediated Dilation; FMD) を測定することで、血管内皮機能として評価する方法が広く用いられている。四肢 (上腕) の虚血反応性充血後の FMD を血管径の変化率 %FMD 値で評価するものであり、導管血管 (macrovascular) レベルでの血管内皮機能を反映しているものと考えられている^{3,4)}。

今回、我々は当科に入院した汎発性強皮症 35 例について、Raynaud 症状、指尖部潰瘍の有無などの臨床所見、特異抗核抗体のパターン、罹病期間に注目し、それらと %FMD 値の相関について検討した。

B. 研究方法

2010 年に当科に入院となった全身性強皮症患者 35 例において、%FMD 値を測定し、各種臨床所見、検査所見、罹病期間、特異抗核抗体等との相関を検討した。

なお、本研究において、%FMD 値の測定を含めて各種検査について患者より文書による同意を得て行った。

C. 研究結果

強指症、NFB、pitting scar、毛細血管拡張、Raynaud 症状、胸部 CT 上での肺線維症、RVSP 値の上

昇 (>35mmHg)、%DLco の低下 (<70%)、の有無で患者群を 2 群に分けたところでは両群に %FMD 値に統計的有意な差は見られなかった。しかし、指尖部潰瘍の有無ではそれらを有する患者群の方が有意に %FMD 値が低下していた ($p<0.05$) (表 1)。

また、抗セントロメア抗体陽性患者、および抗トポイソメラーゼ抗体陽性患者をそれぞれ罹病期間 10 年以下と 10 年より長い群に分けて比較したところ、抗トポイソメラーゼ抗体陽性患者では罹病期間の短い群と長い群での有意差はなかったものの、抗セントロメア抗体陽性患者においては罹病期間の長い患者群で、短い群に対して有意に %FMD 値が低下していた ($p<0.05$) (図 1)。

これに対応するように、患者群全体では %FMD は罹病期間と %FMD に有意な相関は見られなかったものの (図 2)、抗セントロメア抗体陽性患者に限ってみると、罹病期間と %FMD 値に有意な負の相関が認められた ($r=-0.61$, $p<0.05$) (図 3)。

D. 考案

第一に、強指症、Raynaud 症状、NFB、pitting scar、胸部 CT 上での肺線維症の有無、RVSP 値の上昇の有無では %FMD 値に有意差が見られなかったものの、指尖部潰瘍の有無では有意差が見られたことについては、FMD で評価しているものが導管血管レベルの macrovascular レベルでの血管内皮機能であり、NFB の有無などに比較して指尖部潰瘍の有無は比較的 macrovascular レベルの血管の内皮機能を反映すると考えれば⁵⁾、自然に解釈が可能であると考えられる。

次に、抗セントロメア抗体陽性患者において、罹病期間と %FMD 値に有意な負の相関が認められたことについては、抗セントロメア抗体陽性患者にお

いて、経時的により強い動脈性の血管障害のリスクがあることを示唆するものと考えられる。抗セントロメア抗体陽性患者においては長期的な経過の中で肺高血圧症の発症のリスクが高いことが知られており⁶⁻¹⁰、この事実とも関連するものと考えられる。

E. 結 論

汎発性強皮症の患者において、%FMD 値は指尖部潰瘍を有する患者群で、それを有しない患者群に比較して有意に低下していた。また、抗セントロメア抗体陽性の患者群において、%FMD 値は罹病期間と有意な負の相関を示した。

F. 文 献

1. Herrick AL. Vascular function in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2000 Nov; 12(6): 527-33.
2. Ho M, Veale D, Eastmond C, Nuki G, Belch J. Macrovascular disease and systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2000 Jan; 59(1): 39-43.
3. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov 7; 340(8828): 1111-5.
4. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuiliez C, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995 Mar 1; 91(5): 1314-9.
5. Marvi U, Chung L. Digital ischemic loss in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol*. 2010; 2010.
6. Steen V, Medsger TA, Jr. Predictors of isolated

pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum*. 2003 Feb; 48(2): 516-22.

7. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2003 Apr; 42(4): 534-40.
8. Hesselstrand R, Ekman R, Eskilsson J, Isaksson A, Scheja A, Ohlin AK, et al. Screening for pulmonary hypertension in systemic sclerosis: the longitudinal development of tricuspid gradient in 227 consecutive patients, 1992-2001. *Rheumatology (Oxford)*. 2005 Mar; 44(3): 366-71.
9. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2005 Aug; 35(1): 35-42.
10. Alkotob ML, Soltani P, Sheatt MA, Katsetos MC, Rothfield N, Hager WD, et al. Reduced exercise capacity and stress-induced pulmonary hypertension in patients with scleroderma. *Chest*. 2006 Jul; 130(1): 176-81.

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

表 1. 各種臨床所見の有無により患者を 2 群に分けたときのそれぞれの %FMD 値の Mean ± S.D.

Clinical signs	(+) : (-)	(+)	(-)	p-value
Sclerodactyly	11:24	4.72 ± 2.75	6.62 ± 3.58	0.13
Nail-fold bleeding	11:24	6.21 ± 3.59	5.95 ± 2.61	0.93
Pitting scars	12:23	7.56 ± 4.63	5.42 ± 2.46	0.12
Digital ulcers	9:26	4.11 ± 3.57	6.68 ± 3.17	0.048*
Telangiectasia	22:13	6.25 ± 4.07	5.64 ± 2.12	0.62
Raynaud's phenomenon	31:4	6.07 ± 3.51	5.65 ± 3.07	0.82
Pulmonary fibrosis	18:17	5.90 ± 2.67	6.18 ± 4.32	0.5
Elevated eRVSP (>35mmHg)	16:14	5.40 ± 3.05	6.02 ± 2.45	0.54
Decreased %DLco (<70%)	14:21	4.80 ± 3.31	6.84 ± 3.32	0.08

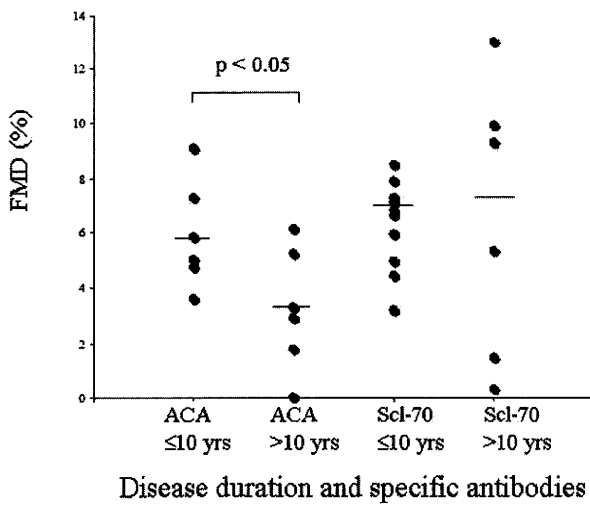


図 1 : 抗セントロメア抗体陽性の患者群、および抗トポイソメラーゼ抗体陽性の患者群を罹病期間により 10 年以下の群と 10 年より長い群のそれぞれ 2 群に分けたときの %FMD 値の比較。

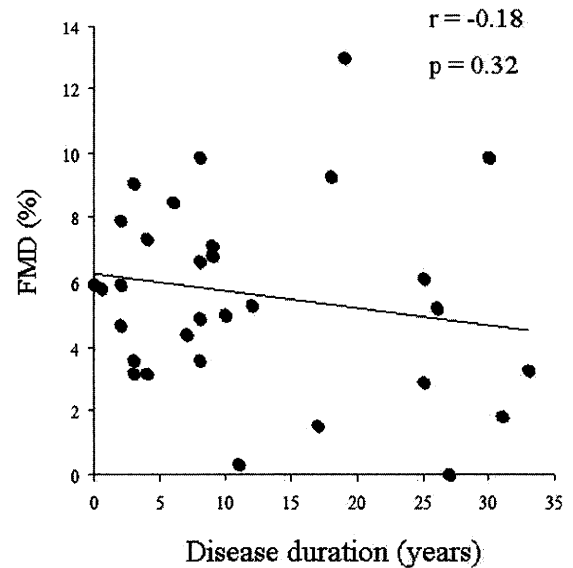


図 2 : 全患者における罹病期間と %FMD 値の相関。

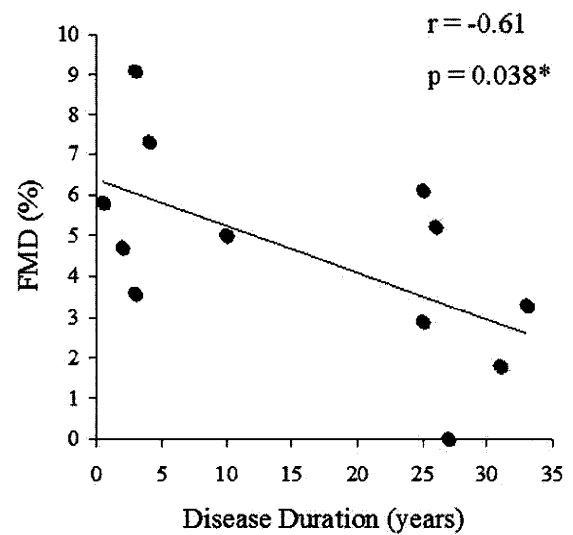


図 3 : 抗セントロメア抗体陽性患者における、罹病期間と %FMD 値の相関。

SSc 合併肺高血圧症の治療成績についての研究

研究分担者 田中住明 北里大学医学部 膠原病感染内科学 講師

協力者 星 健太 北里大学医学部 膠原病感染内科学

研究要旨

当院では膠原病に合併する肺高血圧症 (PH) に、目標を設定し PH 治療薬を逐次追加する逐次追加治療を 44 名に行ってきた。生命曲線の樹木解析により、SSc 患者の PH では生命予後に不良な傾向が認められた。SSc 合併 PH48 例の検討で、生命予後は WHO 機能分類の重症度、逐次追加治療、間質性肺病変 (ILD) の順に依存する傾向がみられ、特に ILD 合併例の生命予後は不良であった。難治な SSc 合併 PH の早期診断と、ILD を考慮した治療戦略が必要だと考えられた。

A. 研究目的

複数の肺動脈性肺高血圧症 (PAH: pulmonary arterial hypertension) に対する有効な治療薬を逐次併用療法 (goal oriented therapy) により PAH の生命予後が改善されてきた。昨年の我々は、既存治療やベラプロストナトリウム (BPS: beraprost sodium) の単剤治療と比較して、逐次併用療法は、SSc 患者に合併する PH においても生命予後を改善していることを示した¹⁾。

本年度は、今日展開されている逐次併用療法下において、SSc 患者に合併する PAH 患者の特徴を示すことを目的とした。

B. 研究方法

対象

1980 年から 2010 年までに、当院で逐次追加治療にて治療を行った膠原病性 PAH 患者 46 例を対象とした。その内、データ解析が可能であった 44 例について検討を行った。

逐次追加治療

当院における治療選択は Hopper MM らの方法²⁾に、自施設の検討³⁾も参考にし、「治療開始後 6 か月目の WHO 機能分類の改善、または血清 BNP 73.8 pg/ml」を達成するために、BPS、ボセンタン (BOS: bosentan)、シルデナフィル (SIL: sildenafil)、タダラフィル (TAD: tadalafil)、アンブリセンタン (AMB: ambrisentan)、エポプロステノール (EPO: epoprostenol) の併用または変更を行った。

生命予後に対する治療効果の検討

主要観察項目を「PAH による生死」とし、後ろ向きコホート研究にて検討した。生命曲線は Kaplan-Meier 法にて求めた。性別、膠原病の種類 (SSc、MCTD、SLE)、PAH 診断時の年齢、WHO 機能分類、間質性肺病変 (ILD: interstitial lung disease) の広さによる生命曲線に対する関与の程度は、系統樹分析を用いて検討した。

データは中央値と範囲を用いて示し、グループ間の比較では、カイ 2 乗検定にて用いた p 値を示した。

倫理面への配慮

PAHは重篤な疾患であるため、後ろ向きコホート研究を行った。

C. 研究結果

患者背景

39症例は女性であり、PAHの診断年齢は49.1(18.4-74.5)歳であった。SScは17例で、その内14例はdc-SSc、MCTDは14例、SLEは7例を占めていた。PAH診断時のWHO機能分類は、I度10例、II度14例、III度16例、IV度4例であった。平均肺動脈圧36.5(27.0-60.0)mmHg、肺血管抵抗8.4(3.9-16.0)Wood単位・m²であった。表1に各種膠原病におけるPAHの重症度の比較を示す。

系統樹による生命曲線の分析

系統樹分析により生命曲線の分析を行った(図1)。各種因子を総当たりで比較し、p値の小さいものから順次に2つに分配し、系統樹を作成した。まず、基礎疾患SScにより分配され、長期生存率において予後不良である傾向が認められた。SSc以外の基礎疾患である場合は、WHO機能分類がI-II度の軽症である場合に長期予後が良好である傾向が認められた。

逐次追加療法を行ったSSc合併PAH症例の予測生存率は、1年後0.941(0.866-0.975)、3年後0.834(0.658-0.929)、5年後0.739(0.506-0.886)、10年後0.546(0.272-0.794)であった。

膠原病性PAHに対するILDの影響

各種膠原病におけるILDの範囲や呼吸機能について検討した。表2にPAH診断時の呼吸機能検査の結果を示す。

各種膠原病性PAHに対する治療薬の選択

各種膠原病におけるPAHの治療に用いられた治療薬を表3に示す。

D. 考案

系統樹による生命曲線の分析より、SSc患者に合併したPAHの生命予後に対してはMCTDやSLEに合併した場合より、逐次追加治療の効果が乏しい傾向が認められ危惧された。

対象患者44例のPAH診断時におけるWHO機能分類や圧データは、若干SSc患者に重症な傾向があったが、統計的には基礎疾患となる膠原病において有意な差は認められなかったため、各疾患群におけるPAHの重症度に基づく生命予後の差異では無いと考えられた。

一方、PAH診断時においてSSc患者ではILDの合併率やレントゲン写真におけるILDの範囲はMCTDやSLEと比べて有意に高く、低酸素血症も重症であった。これらのことより、逐次追加治療においてもSSc合併PAHの生命予後が不良である要因には、ILDが推測された。

我々のPAH治療薬の選択は、本邦では長年にわたりPAH治療薬はBPSのみであったため、BPSが大部分の症例に投与されている。さらに、近年SILがPAHやILDにおいて、換気血流不均衡を改善し、動脈血酸素分圧を改善することが報告されているので、SScに合併するPAHではSILも多数例で投与を試みている。しかし、これらの工夫においてもSSc合併PAHに対して逐次追加治療が十分に奏効していない。SSc合併PAHの治療のためにも、より強力かつ有効なILD治療戦略の開発が必要だと考えられた。

E. 結論

SSc合併PAHでは、MCTDやSLEに合併するPAHと比較して、逐次追加治療が奏効しにくい傾向が認められ、その主因はILDによる低酸素血症が推

測された。

難治な SSc 合併 PH の早期診断と、ILD を考慮した治療戦略が必要だと考えられた。

F. 文 献

1. 田中住明：全身性強皮症合併肺動脈性肺高血圧症の長期生命予後についての研究．厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）強皮症における病因解明と根治的治療法の開発 平成 21 総括・分担研究報告書、229-231、2010.
2. Hoepfer MM, Markevych I, Spiekerkoetter E, Welte T, Niedermeyer J. Goal-oriented treatment and combination therapy for pulmonary arterial hypertension. Eur Respir J 2005; 26(5): 858-63.
3. 近藤啓文、田中住明、岡田 純：当院における膠原病に合併した肺高血圧症 74 症例の臨床像に関する研究、免疫疾患の合併症とその治療法に関する研究・平成 17 年度総括研究報告書（3 分冊）、270-272、2006.

G. 研究発表

1. 論文発表

- ①田中住明、星健太：soluble guanylate cyclase 刺激薬、Heart View、15(1)、95-98、2011
- ②田中住明、星健太、廣畑俊成：膠原病性肺動脈性肺高血圧治療における PGI₂ 経口薬の位置付け、Therapeutic Research、31 (10)、1439-1441、2010
- ③田中住明、東野紀子：【“肺高血圧#内科的治療の最前線 この難治性疾患に挑む”】膠原病合併 PAH、医学のあゆみ、233 (7)、517-521、2010
- ④橋本篤、手嶋智子、田中住明、廣畑俊成、遠藤平仁：肺高血圧症合併膠原病患者における酸化スト

レスマーカーの測定 臨床リウマチ、22 (3)、288-293、2010

- ⑤遠藤平仁、田中住明：【肺高血圧症の臨床における最新薬物治療】 膠原病専門医が診る肺高血圧症ボセンタン追加投与が有効であった原発性抗リン脂質抗体症候群に合併した慢性血栓塞栓性肺高血圧症の 1 例、Modern Physician、30 (臨時増刊号)、10-12、2010
 - ⑥Matsushita R, Hashimoto A, Tomita T, Yoshitawa H, Tanaka S, Endo H, Hirohata S: Enhanced expression of mRNA for FK506-binding protein 5 in bone marrow CD34 positive cells in patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 28(1), 87-90, 2010
 - ⑦田中住明、飯塚進子、廣畑俊成：目でみる症例 混合性結合組織病(肺高血圧症)、内科、103(2)、349-354、2009
 - ⑧田中住明、小川英佑、東野俊洋、廣畑俊成：肺高血圧症治療薬の併用療法について、膠原病に伴う肺高血圧症に対する併用療法、Therapeutic Research、30 (10)、1567-1569、2009
- ### 2. 学会発表
- ①東野紀子、東野俊洋、田中住明、田中淳一、松井俊通、永井立夫、廣畑俊成．成人スチル病・軟骨炎・掌蹠膿疱症 当院における成人スチル病 46 例の初回治療後の再発状況の検討．日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 2010: 54 回・19 回：504.
 - ②田中住明、莊信博、東野紀子、東野俊洋、和田達彦、永井立夫、廣畑俊成：肺病変 膠原病性肺動脈性肺高血圧症における epoprostenol 持続静注治療の成績、日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集

2010; 54 回・19 回 : 572.

③田中住明：膠原病性肺高血圧症に対するプロスタサイクリン療法、日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 2010; 54 回・19 回 : 406.

④荘信博、松井俊通、星山隆行、東野紀子、東野俊洋、田中淳一、永井立夫、田中住明、石川章、廣畑俊成：胸部 X 線上の肺動脈陰影異常により診断に至った大動脈炎症候群の 1 例 . 日本内科学会関東地方会 2010; 570 回 : 26.

⑤安部学朗、星山隆行、桐生麻衣子、東野紀子、手嶋智子、東野俊洋、田中淳一、松井俊通、永井立夫、田中住明、廣畑俊成：慢性間質性腎炎を合併したサルコイドーシスの 1 症例、日本リウマチ学

会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 2010; 54 回・19 回 : 608.

⑥Tanaka S, Hoshi K, Tanaka J, Wada T, Matsui T, Nagai T, Okada J, Hirohata S. Determination of the Accurate Incidence of pulmonary arterial hypertension in patients with Systemic Sclerosis, Mixed Connective Tissue disease and Systemic Lupus Erythematosus by Prospective Study for 3-Years. 74th ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2010; Atlanta.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 各種膠原病別の重症度指標

	SSc(n=17)	MCTD(n=14)	SLE(n=7)
性別: 女性	16 (94.1%)	13 (92.7%)	7 (100%)
PAH診断時の年齢(歳)	59.5 [39.7-74.5]	43.7 [26.6-68.0]	36.0 [18.4-42.6]
CTD診断~PAH診断までの期間(年)	6.5 [0.1-28.8]	8.9 [0.0-23.5]	3.2 [0.0-9.5]
PAH診断時:			
WHO-FC			
6分間歩行距離(m)*	190[0-315]	399[200-570]	ND
mPAP (mmHg)**	36.5 [27-48.7]	39.5[27.6-51.3]	41.2[27.6-44.3]
PVR (unit)*	8.54[4.9-16.0]	9.0[5.5-13.9]	9.6[3.9-16.0]
急性肺血管拡張試験***	0.70[0.45-1.1]	0.80	0.90[0.45-0.93]

*SSc (n=5), *MCTD (n=3), **SSc (n=10), **MCTD (n=4), **SLE (n=6), ***SSc (n=4), ***MCTD (n=1), ***SLE (n=4)

表 2. 各種膠原病別のILDの重症度

PAH診断時	SSc(n=17)	MCTD(n=14)	SLE(n=7)	p
ILD				0.0050
PaO ₂ (RA)*	59.5 [50.2-77.8]	77.8 [68.0-84.0]	84.7 [77.9-90.0]	0.2250
DLco*	26.0 [17.3-37.1]	39.2 [25.6-47.0]	44.7 [42.7-47.0]	0.1317

*SSc (n=6), **MCTD (n=6), **SLE (n=4)

表 3. 各種膠原病別の PAH 治療薬使用状況

	SSc (n=17)	MCTD (n=14)	SLE (n=7)
BPS	15	13	6
BOS	11	6	1
AMB	0	2	0
SIL	8	6	2
TAD	2	0	1
EPO	2	2	4

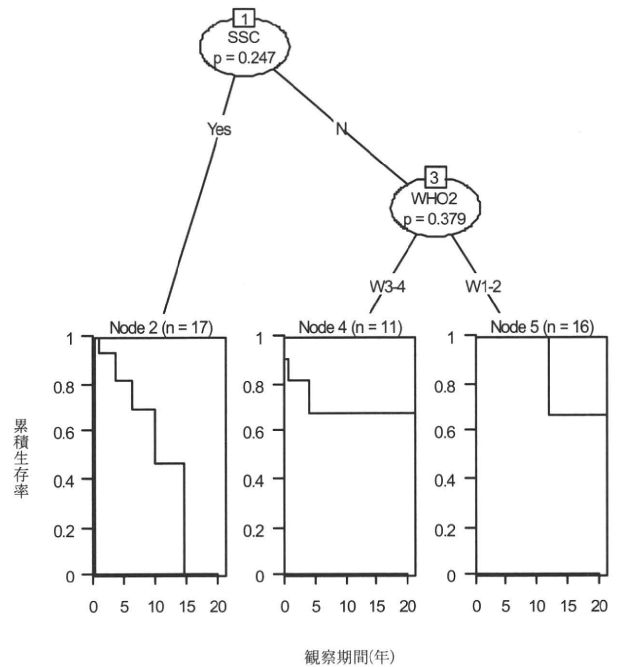


図 1: 逐次追加治療による生命曲線の系統樹による解析