

## 全身性強皮症のレイノー現象に対する温熱刺激の 部位別効果・安全性を調査する臨床研究

研究分担者 熊ノ郷 淳 大阪大学大学院医学系研究科呼吸器免疫内科学講座 教授  
研究協力者 嶋 良仁 大阪大学大学院医学系研究科血管作動温熱治療学共同研究講座 特任教授

### 研究要旨

レイノー現象は全身性強皮症(SSc)に高頻度に発生する血行障害であり満足できる治療法がない。SSc 患者が日常的に行い得る対策として加温がある。しかしながら加温の効果を示す実データはなく、また手指を加温していると日常生活動作が損なわれる。そこで手指以外の部位を加温してレイノー現象が緩和されるか、また加温時に毛細血管の代謝因子はどう影響を受けるかを検討した。単施設での非盲検前向き前後比較研究を立案実施した結果、頸部や肘関節上腕側を使い捨てカイロで加温するとレイノー現象を緩和出来ると観られた。また頸部や肘、手関節部の加温の結果、指尖部で毛細血管伸展因子である angiopoietin-1 が増加することが判明した。軽微な熱傷の発生があったが、後頸部は被験者自身で確認することが出来ず、安全性に問題点があると考えられ、肘の加温が有用と考えられた。

### A. 研究目的

レイノー現象(RP)は、全身性硬化症(SSc)の患者、特に指で頻繁に発生する<sup>1)</sup>。手指疼痛が発生し、時には手指潰瘍に至る。キャピラスコピーによる観察では、末梢毛細血管の密度が疾患の進行とともに減少することが判明しており<sup>2)</sup>、血管新生関連因子、特にアンジオポエチン(Angpt)-1の低下が報告されている<sup>3)</sup>。寒冷刺激はRPの引き金であるため、指を加熱することはRP症状を解放するのに合理的と思われる。しかし、この方法は日常生活動作に差し障る。手指以外を温めても効果あるのかは情報がなく、そもそも温めることがRPに有効であるとのデータも存在しない。そこで、SSc患者の指以外のさまざまな部分を加熱し、RPへの影響と指の毛細血管の構造に関連する因子の変動を調査した。

### B. 研究方法

<被検者>

この研究の被験者選択基準には、(a)大阪大学病院に通院している、(b)20歳以上80歳未満、(c)1980年 American College of Rheumatology のSSc診断基準を満たす(d)研究に関する書面および口頭の説明に対する書面による同意を得た対象を被験者とした。発熱、感染症、糖尿病、末梢神経障害など、他の慢性疾患の患者は除外しました。加熱部位に皮膚障害のある場合も除外した。

<介入刺激>

90mm×70mmの使い捨てカイロ(以下カイロ、小林製薬株式会社、大阪市)を頸部用、肘関節用、手関節用

に製作された専用ホルダーに挿入し、後頸部左右(頸)、両側肘関節背側面上腕側(肘)、両側手関節背側面(手首)に装着して1週間ずつ3ヶ所をランダム順に加温した。各加温期間の前には1週間ずつの前加温期間を設けた。参加者の安全のため、カイロの使用時間は被験者の自由裁量とし、夜間の使用は禁止した。参加者は、主要エンドポイントとして前観察期間を含む全行程で100mmの視覚的アナログ尺度(VAS)を用いたRP重症度を連日記録した。副次的評価項目として、介入内容の煩わしさ評価目的として日常業務が妨げられた程度も100mmVASで評価されました。

<採血と血管新生関連因子アッセイ>

採血と血清保存の許可を得た被験者については、訪問毎に肘静脈と指尖部から採血を実施した。指尖部血液は血糖測定用ランセットで指先を穿刺し、ピペットで20 $\mu$ lの血液を吸引し、180 $\mu$ lのリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で希釈した後、1200rpmで5分間遠心分離して検体とした。

肘静脈血と指尖部血を用い、血管新生関連因子(血管内皮増殖因子[VEGF]、Angpt-1、Angpt-2、およびエンドスタチン)をBioPlex法(Bio-Rad Laboratories、Hercules、CA、USA)もしくは酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)法(Quantikine®ELISA Human Angiopoietin-1 Immunoassay、R&D、Mineapolis、MN、USA)を使用して計測した。

### (倫理面への配慮)

この介入研究は、大阪大学医学部附属病院の倫理委員会によって承認され(#18218、18219)、研究計画は大学病院医療情報ネットワーク(UMIN 000035332、

000035333) で公開され、ヘルシンキ宣言の原則に従って実施された。

### C. 研究結果

#### <RP 重症度の VAS 値>

16 名の SSc 患者が登録され、14 名の被験者がすべてのプロセスを終了した。被験者が記録した日記によると、1 日あたりのカイロの平均使用時間は頸で 9.0 時間、肘で 9.6 時間、手首で 9.4 時間であった。それぞれの部位における前観察期間中の VAS 値と加温期間中の VAS 値の変化は図 1 に示す。頸および肘の加温期間の平均 VAS 値はそれぞれの前観察期間の平均 VAS と比較して有意に低下した (Welch *t*-test を用いた検定で頸の場合は  $P=0.018$ 、肘では  $P=0.044$  であった)。一方、手首期間は低下が観察されなかった。

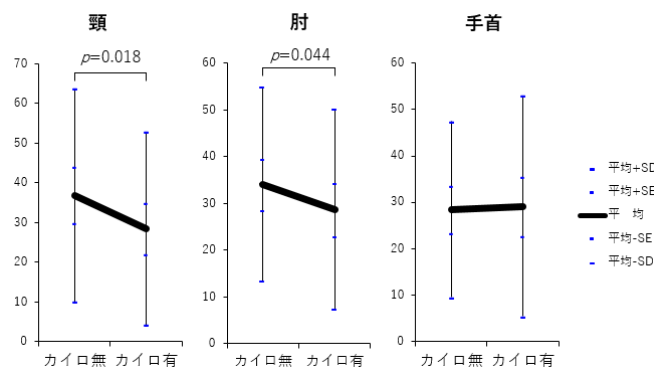


図 1 レイノー現象への VAS 評価の変動

#### <各部位加温時の煩わしさの VAS 値>

各部位加温時の煩わしさの平均 (SE) VAS 値は、頸 34.2 (7.6)、肘 19.3 (5.0)、および手首 14.4 (5.4) であった。煩わしさの程度は頸で高くなる傾向が観察されたが、strict Holm 補正の結果、いずれの領域でも有意差は検出されなかった (Welch *t*-test を用い、頸と肘との検定では  $P$  値は 0.067、頸と手首の場合は 0.045、肘と手首の場合は 0.458 であった)。

#### <血管新生関連因子の定量的評価>

ベースラインの肘静脈血液サンプル中の平均 (SE) Angpt-1 濃度は、40.2 (3.9) ng/ml であった。頸部、肘、手首の加熱期間終了翌朝、Angpt-1 濃度はそれぞれ 42.3 (5.7)、43.3 (3.6)、42.6 (4.4) ng/ml に達したが、統計的有意性はなかった (頸の  $P$  値 0.771、肘の場合は 0.566、手首の場合は 0.695)。一方、指尖部血液サンプルにおける Angpt-1 値の平均は頸加温期間終了翌朝で平均 (SE) 5.6 (0.8) ng/ml、肘加温期間後で 6.3 (0.9) ng/ml、手首加温期間後 8.5 (0.9) ng/ml であった。これらの値は、ベースライン 3.2 (0.4) ng/ml よりいずれも有意に高値であった (図 2)。

肘正中静脈採血サンプルでは VEGF または Angpt-2 の平均レベルは、加熱期間による変動を示さなかつ

た。指先から採取したサンプルでは遠心操作のため VEGF が測定できず、Angpt-2 は検出できなかった。ベースラインで肘静脈から収集されたエンドスタチンの平均 (SE) レベルは 52.5 (4.9) ng/ml であったが、首、肘、手首の加熱期間の翌日のレベルは 49.6

(3.9)、48.1 (3.6)、および 49.0 (3.4) ng/ml、それぞれ (Welch *t*-test を用い頸加温後とベースラインとは  $P=0.651$ 、肘の場合は  $P=0.483$ 、手首の場合は  $P=0.571$  であった)。一方、頸、肘、手首を加熱した翌日の指先血液サンプルの平均エンドスタチンレベルは、それぞれ 24.7 (2.0)、23.7 (2.0)、25.6 (1.7) ng/ml であった。手首の加熱期間中、エンドスタチンレベルはベースラインと比較して有意に高かった [18.9 (1.7) ng/ml] (Welch *t*-test を用い頸の場合は  $P=0.040$ 、肘は 0.081、手首は 0.011 であった)。

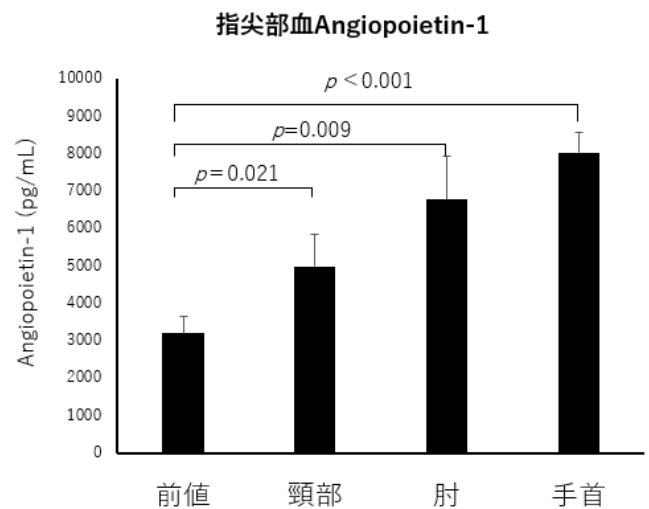


図 2 指尖部血液中の angiopoietin-1 の変動

### D. 考察

RP は冷氣および/または感情的ストレスによる刺激後の二相性または三相性の皮膚の色の変化を特徴とする末梢血管障害であり、SSc の患者の大多数に現れ、指の痛みや麻痺を引き起こす。血管拡張剤の経口または経静脈投与に基づく RP の治療選択肢は多くの副作用を生じ、満足いく効果を上げることが出来ない。たとえば、Smith らのニフェジピンを用いた検討では、被験者の 29% で顔面紅潮が発生し、24% で頭痛が発生した<sup>4)</sup>。Rodeheffer らの報告では、ニフェジピン期間中に被験者の 80% で頭痛が発生した<sup>5)</sup>。Wigley らのイロprost 経口服用による検討では 67.3% の症例で頭痛、31.4% の症例で顔面紅潮が発生したと報告している<sup>6)</sup>。これらの薬剤は血行分布に従って分配されるため、潜在的に血流の乏しい患部には行きわたらず、標的部位の外側で不必要な血管拡張をもたらすと考えられる。したがって、血流を介さずに局所的に作用できる RP 対策が必要である。その点、熱刺激は局所的な末梢血管に影響を与える物理的的刺激であり、RP を

軽快させる優れた候補と考えられる。

ただし、この刺激は被験者の体温感覚が損なわれていない限り盲検化することは不可能である。このため、今回は介入前と介入中の非盲検単群比較研究として実施した。何かを身に着けているという自覚が被験者の RP の VAS 値を動かした可能性を排除することはできない。

各加温部位における平均カイロ使用時間と VAS の改善の程度には関連が観られず、身体上の加温部位によって手指血行の影響に差がでた機序が不明である。

血液サンプルを用いた検討において、VEGF、Angpt-1、Angpt-2、およびエンドスタチンのレベルを分析した。VEGF はもともと血管透過性因子として発見され<sup>7)</sup>、血管内皮細胞の成長因子である<sup>8)</sup>。Angpt-1 は内皮細胞に発現する Tie2 受容体を刺激する血管新生因子として発見され<sup>9)</sup>、Angpt-2 はそのアンタゴニストである<sup>10)</sup>。エンドスタチンは血管新生の阻害物質である<sup>11)</sup>。Michalska-Jakubus らは SSc 患者では Angpt-1 の血清レベルが低い VEGF には差が無いと報告している<sup>3)</sup>。今回の検討では Angpt-1 の熱刺激による増加が観察されたが、このメカニズムはまだ不明である。可能性として第一に血管構成細胞が熱ストレスにさらされたときに Angpt-1 を産生できることである。Li らは 41°C で加熱した後の骨芽細胞を含む内皮細胞の培養上清において Angpt-1 レベルの上昇を示した<sup>12)</sup>。第二の可能性は、一過性受容体電位 (TRP) チャネルの活性を介した経路である。温度感知神経終末は、さまざまな温度や化学物質に反応する TRP チャネルを含む自由神経終末として真皮乳頭層にある<sup>13)</sup>。TRPV1 の刺激は VEGF を増加させ<sup>14)</sup>、TRPC5 の刺激は Angpt-1 を増加させることが報告されている<sup>15)</sup>。今回の研究では TRP チャネルの活性を評価していないが、熱刺激が TRP チャネルを介した血管新生因子に影響を及ぼしているかもしれない。エンドスタチンの増加も観察されたが、Angpt-1/エンドスタチン比は加熱後に増加し、加熱の効果が Angpt-1 の変動に大きく反映されていることを示唆している。肘正中静脈採血検体では変化がなかったことから Angpt-1 の増加は全身の変化ではなく、指先での局所的な反応であると予想される。したがって、指尖部での採血は、RP の血管新生因子を理解するために重要であり、この方法は RP の調査に適していると考えられる。

## E. 結論

頸や肘への熱刺激が RP を軽減し、また血管新生因子 Angpt-1 がアップレギュレーションされることを報告した。

## F. 健康危険情報

軽度の熱傷のイベントが 5 件あった。3 件は頸の加

温後にし、2 件は肘の加温後に発生した。また発汗増加によるとおもわれる湿疹が頸加温後に 1 件見られた。すべて治癒した。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Shima Y, Watanabe A, Inoue N, Maruyama T, Kunitomo E, Hamano K, Kawanishi T, Takasugi M, Kumanogoh A. Proximal heat stress up-regulates angiopoietin-1 in fingers and reduces the severity of Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis: a single-centre pilot study. *Mod Rheumatol* 2022; 32: 351-7.

### 2. 学会発表

嶋 良仁、渡邊あかね、井上暢人、丸山哲也、國友栄治、熊ノ郷淳「全身性強皮症のレイノー現象に対する使い捨てカイロの部位別使用感・安全性を調査する臨床研究」第 64 回日本リウマチ学会学術集会  
嶋 良仁、渡邊あかね、井上暢人、丸山哲也、國友栄治、熊ノ郷淳「上肢血行障害に対する使い捨てカイロの部位別使用感・安全性を調査する臨床研究 (第二報)」第 65 回日本リウマチ学会学術集会

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

参考文献

- Cutolo M, Herrick AL, Distler O, Becker MO, Beltran E, Capentier P, et al. Nailfold videocapillaroscopic features and other clinical risk factors for digital ulcers in systemic sclerosis: a multicenter, prospective cohort study. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68:2527-39.
- Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2000;27:155-60.
- Michalska-Jakubus M, Cutolo M, Smith V, Krasowska D. Imbalanced serum levels of Ang1, Ang2 and VEGF in systemic sclerosis: Integrated effects on microvascular reactivity. *Microvasc Res.* 2019;125:103881.

4. Smith CD, McKendry RJ. Controlled trial of nifedipine in the treatment of Raynaud's phenomenon. *Lancet*. 1982;2:1299–301.
5. Rodeheffer RJ, Rommer JA, Wigley F, Smith CR. Controlled double-blind trial of nifedipine in the treatment of Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med*. 1983;308:880–3.
6. Wigley FM, Korn JH, Csuka ME, Medsger Jr TA, Rothfield NF, Ellman M, et al. Oral iloprost treatment in patients with Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis: a multicenter, placebo-controlled, double-blind study. *Arthritis Rheum*. 1998;41:670–7.
7. Sobel AT, Branellec AI, Blanc CJ, Lagrue GA. Physicochemical characterization of a vascular permeability factor produced by conA-stimulated human lymphocytes. *J Immunol*. 1977;119:1230–4.
8. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev*. 2004;25:581–611.
9. Devis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell*. 1996;87:1161–9.
10. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science*. 1997;277:55–60.
11. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*. 1997;88:277–85.
12. Li M, Fuchs S, Böse T, Schmidt H, Hofmann A, Tonak M, et al. Mild heat stress enhances angiogenesis in a co-culture system consisting of primary human osteoblasts and outgrowth endothelial cells. *Tissue Eng Part C Methods*. 2014;20:328–39.
13. Ferrer-Montiel A, Fernández-Carvajal A, Planells-Cases R, Fernández-Ballester G, González-Ros JM, Messeguer A, et al. Advances in modulating thermosensory TRP channels. *Expert Opin Ther Pat*. 2012;22:999–1017.
14. Garreis F, Schröder A, Reinach PS, Zoll S, Khajavi N, Dhandapani P, et al. Upregulation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel activity and Ca<sup>2+</sup> influx dysfunction in human pterygial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:2564–77.
15. Zhu Y, Gao M, Zhou T, Xie M, Mao A, Feng L, et al. The TRPC5 channel regulates angiogenesis and promotes recovery from ischemic injury in mice. *J Biol Chem*. 2019;294:28–37.