

調査票の管理を厳重にすると共に、コンピュータ入力の際は、患者名を入力せず、プライバシーの保護に留意した。

C. 研究結果

1. 解析症例

平成10年度の班内の1次調査における全膠原病患者1588例中PH合併例は48例であった。その内訳は、MCTD230例中16例、SSc320例中16例、SLE847例中14例、PM/DM154例中0例、OL37例中2例であった。このPH合併例のうち現班員施設の44例について2次調査用紙を班員に送付し、平成12年1月27日現在41例を回収した。2例は今回の2次調査でPHではないと主治医が判断したため、残りの39例を解析対象とした。

2. 各種薬物療法の頻度

39例における各種薬物療法の頻度を表1に示す。複

数回答が可能であり、実際多くの患者が複数の薬物を使用されていた。原発性PHに使用される薬剤のほかに、ステロイド薬が64%、免疫抑制薬が10%に使用されていた。

表1 各種薬物療法の頻度

PH合併膠原病患者39例中

1. Ca拮抗薬	16例(41%)
2. ACE阻害薬	7例(18%)
3. PG製剤	23例(59%)
経口PGI ₂	15例(38%)
経口PGE ₁	7例(18%)
静注PGE ₁	2例(5.1%)
未使用	16例(41%)
4. ステロイド剤	25例(64%)
5. 免疫抑制剤	4例(10%)

図1 ステロイド剤とPH発症年齢との関係

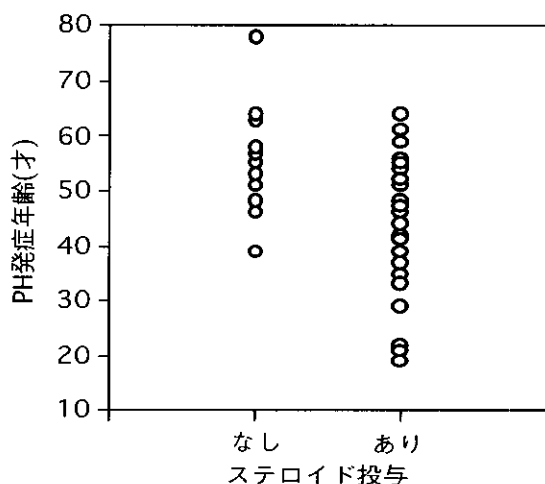


図3 ステロイド最大投与量とPA圧改善度との関係

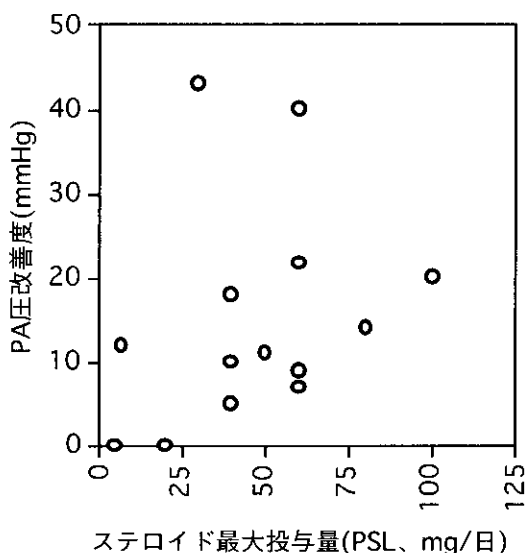


図2 ステロイド投与とPA圧改善度との関係

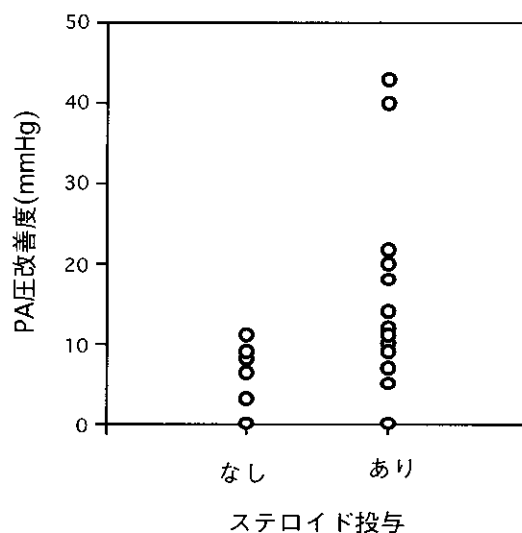
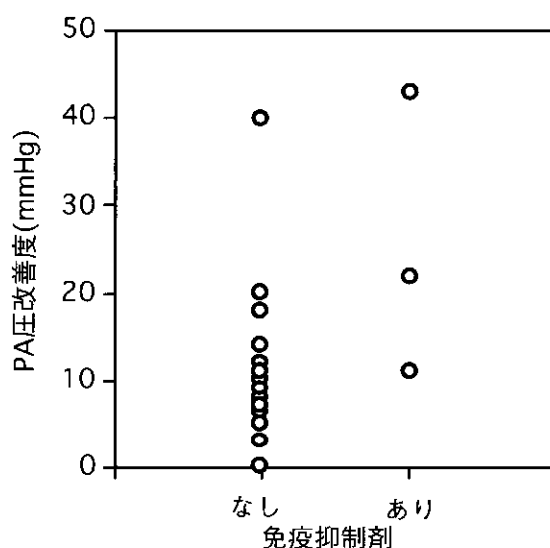


図4 免疫抑制剤とPA圧改善度との関係



3. ステロイド薬使用と関連する臨床所見

1次調査で記入してもらった「MCTDにおけるPH診断の手引き²⁾」に有る臨床所見とステロイド薬使用との関連を調べた。「労作時息切れ」がステロイド薬使用群23例中20例、非使用群9例中6例と使用群に多い傾向がみられ($p=0.069$)、「抗nRNP抗体」はステロイド薬使用群22例中14例、非使用群13例中4例であり、やはり使用群に多い傾向がみられた($p=0.103$)。

また1次調査は受診患者のため全例生存例であり、今回の2次調査までのおよそ1年半の間に6例の死亡例があり、ステロイド薬使用群25例中4例、非使用群14例中2例であった。

4. ステロイド薬使用と関連するPH関連指標

ステロイド薬使用の有無や最大投与量と関連するPH関連指標を検討した。PH発症年齢がステロイド薬使用群で有意に若年であった(使用群の平均±標準偏差 43.9 ± 12.4 才、非使用群 56.3 ± 10.2 才、 $p=0.0050$) (図1)。治療前後のPA圧の差をPA圧改善度とすると、これもステロイド薬使用群で有意に高値であった(使用群 15.1 ± 13.0 mmHg、非使用群 5.11 ± 4.43 mmHg、 $p=0.0388$) (図2)。ステロイド薬最大投与量とPA圧改善度との間にも有意の正の相関がみられた($p=0.0006$) (図3)。

5. 免疫抑制薬使用と関連するPH関連指標

免疫抑制薬についてもステロイド薬と同様の検討を行った。免疫抑制薬使用例は4例と少なかったが、免疫抑制薬使用群では非使用群に比し有意にPA圧改善度が高値であった(使用群 25.3 ± 16.3 mmHg、非使用群 9.05 ± 9.64 mmHg、 $p=0.0213$) (図4)。

D. 考察

班員施設のPH合併膠原病の治療の現況についてアンケート法で調査を行った。その結果、通常の原因性PHで使用されるような血管拡張薬や抗凝固薬、抗血小板薬のほかにステロイド薬や免疫抑制薬などのいわゆる免疫療法が半数以上の症例に投与されていた。そしてステロイド薬使用群はPH発症年齢が若年でPA圧の改善度が高値であり、最大ステロイド薬投与量とPA圧改善度とも正の相関がみられた。また免疫抑制薬についても、治療前後でPA圧を測定したものは3例と少数ではあったが、使用群に有意にPA圧の改善度が高値であった。もちろんこれらの免疫療法の大部分は、PHそのものに向けられて投与されたものではな

く、それぞれの膠原病のPH以外の臓器障害に対して投与されたものと思われる。しかもPHに対するその他の治療薬が大部分の症例で併用されているため、PHそのものに対する免疫療法薬の作用については今回の検討では確定できない。しかしながら日本でも海外でも膠原病合併PHに対して免疫療法薬を使用して良好な効果の得られた報告が散見されること³⁾、膠原病合併PHの中には肺動脈の血管炎が証明されているものもあること、などから免疫療法が膠原病合併PHに対して有効な症例が少なからず存在することが想定される。今後、どのような症例が免疫療法に向いているのかを、調査し、膠原病合併PHの治療指針の一つに組み入れたい。

E. 結論

班員施設の肺高血圧(PH)合併膠原病39例の治療状況を調査した。ステロイド薬使用群(25例)は非使用群(14例)に比し、PH発症年齢が有意に若年であった。またステロイド薬投与の有無、最大ステロイド投与量、免疫抑制薬投与(4例)の有無はいずれも肺動脈圧の改善度と有意に相関していた。以上より、膠原病に合併するPHに対して免疫療法の有効性が示唆された。

文 献

1. 鳥飼勝隆、深谷修作、国枝武義、東條 毅. 混合性結合組織病患者における肺高血圧症の合併率調査. 厚生省特定疾患皮膚・結合組織疾患調査研究班混合性結合組織病分科会平成10年度研究報告書 1999;24-27.
2. 西間木友衛、青塚新一、国枝武義、ほか. 混合性結合組織病の肺高血圧症診断の手引き. リウマチ 1991; 31:159-166.
3. 吉田俊治、片山雅夫、見山仁美、大島久二、鳥飼勝隆: 肺高血圧症に対するステロイド剤の影響に関する検討. 厚生省特定疾患混合性結合組織病に関する研究班平成11年度研究報告書 2000; 19-22.

A SURVEY ON TREATMENT OF CONNECTIVE TISSUE DISEASES WITH PULMONARY HYPERTENSION (PH)

Shunji Yoshida¹⁾, Hirobumi Kondo²⁾, Yoshinari Takasaki³⁾, Masako Hara⁴⁾,
Yoshikata Misaki⁵⁾, Tsuneyo Mimori⁶⁾, and Shusaku Fukaya¹⁾

Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine¹⁾

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine²⁾

Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University School of Medicine³⁾

Department of Internal Medicine, Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University⁴⁾

Department of Allergy and Rheumatology, University of Tokyo⁵⁾

Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine⁶⁾

To clarify the modality of the treatment of MCTD with PH in this committee, 48 PH patients with connective tissue diseases were extracted from the survey which the previous Research Committee (headed by Doctor Takeshi Tojo) had gathered information prospectively on all the patients in their Committee members' outpatient clinic visited during August and September 1998. The new questionnaire for these PH patients with connective tissue diseases were sent to this term Committee members in November 1999, collected and analyzed statistically. The questionnaire from 39 patients were collected so far, 25 were given the steroid hormone and 4 immunosuppressants. The onset age of PH was younger significantly in patients with steroid than those without. Each of the steroid administration, maximum steroid doses, and immunosuppressant administration was significantly correlated with improvement of the pressure of the pulmonary artery. These data may suggest the usefulness of the immunotherapy for PH with connective tissue diseases.

4. 肺高血圧症に対するステロイド剤の影響に関する検討

分担研究者 : 吉田 俊治

研究協力者 : 片山 雅夫、深谷 修作、水谷 昭衛、見山 仁美、
大島 久二、鳥飼 勝隆

所属施設 : 藤田保健衛生大学感染症リウマチ内科

研究要旨

膠原病に合併する肺高血圧症(PH)について、膠原病治療に頻用される免疫療法の有用性を臨床研究およびモデル動物を用いた実験的研究で検討した。当教室での膠原病合併PH症例では、ステロイド剤大量投与群で肺動脈圧の改善度や日常生活動作の改善により傾向がみられた。医学中央雑誌を用いて過去5年間の膠原病合併PHの治療に関する日本語文献を検索した。検討可能症例数59例のなかでステロイド剤や免疫抑制薬の有効例がそれぞれ32/52例、6例/9例に見られた。海外文献でも同様に有効な報告が散見されたが、種々のバイアスや併用薬などのため評価は困難であった。

モノクロタリンを投与してPHを惹起するラットにおけるステロイド剤投与の影響を調べた。右室肥大の程度は第2週では変化はみられなかったが、第5週ではステロイド投与群でモノクロタリンによる右室肥大の増加を抑制する傾向がみられた。また全血管床に占める中膜の割合は2週目ですでにモノクロタリンによる増加を抑制する傾向がみられた。以上より、膠原病に合併するPHに対して免疫療法の有用な症例が存在しており、実験的にもPHを抑制する可能性が示唆された。

A. 研究目的

混合性結合組織病(MCTD)の最大の死因が肺高血圧症(PH)であることから、この治療法の確立がMCTDの予後改善にとって最も重要なテーマのひとつである。MCTD合併PHの治療は、病態的に類似している原発性PHの治療に準じて行われているが、原発性PHと同様確実な治療法は見いだされていない。しかしながら大部分のMCTD患者ではPH以外の臓器病変に対してステロイド剤などの免疫療法がなされており、これによってPHも改善する例をときに経験する。そこで膠原病に合併するPHについて、膠原病治療に頻用される免疫療法の有用性を臨床研究およびモデル動物を用いた実験的研究で検討した。

B. 研究方法

1. 教室例の検討

過去10年間に当科を受診し、心エコー上、推定肺動脈(PA)圧40mmHg以上を示した膠原病17例について解析した。原発性PH様の11例と、肺線維症などに併発する続発性の6例に分けられた。PA圧とNYHA

重症度分類の変化から、特にステロイド剤投与量との関連も含め検討した。

2. 文献検索

医学中央雑誌を用いて過去5年間の原発性PHと膠原病合併PHの治療に関する日本語文献を検索した。各種治療薬の使用の有無を記録した。また海外文献については、免疫療法に関する点を総説などから検索した。

3. Monocrotaline(MCT)投与ラットに対するステロイド剤の影響

10週齢のラットにMCTを皮下投与し、24時間後よりメチルプレドニゾロン(体重当たり30mg/kg、腹腔内)を週3回投与した治療群(B群、n=5)と非治療群(C群、n=5)に分けた。正常ラット(A群、n=5)をコントロールとして用いた。解剖は第2週と第5週に行った。

心臓は心耳を取り除き、右室重量比(右室/左室+中隔)を求めた。また、肺に関しては、ホルマリン固定と凍結保存をして、病理学的検討を行った。HE染色を行い、肺組織の病理学的変化、さらに肺動脈中膜の肥

厚の程度を定量的に求めるため、エラスチカ・ファンギーソン(EV)染色標本を利用して画像処理解析装置ルーゼックスFS (Luzex-FS) を用いて、肺動脈中膜面積の全血管床に占める割合を測定した。

4. 倫理面への配慮

教室例の検討では、コンピュータ入力の際、患者名をいれないなどプライバシーに配慮した。またラットを用いた実験では、解剖の際、麻酔をかけるなどの配慮をした。

C. 研究結果

1. 教室例の検討

原発性PH様症例11例中MCTDが8例であった。プレドニゾロン換算40mg以上のステロイド大量投与群5例ではPA圧の平均は73mmHgから49mmHgと有意に低下したが、40mg未満の少量投与群では、明らかな変化はみられなかった(図1)。そしてPA圧の20%以上改善は、ステロイド大量投与では全例に認められたが、少量投与群では5例中1例も認められなかった。また臨床症状の改善の目安としてNYHAの重症度分類を用いたところ、治療前の平均は3で、ステロイド大量投与群では5例に改善が認められたが、少量投与群では改善は認められなかった。なお続発性PHについては、症例数が少ないため、有意な傾向が見られなかった。

2. 文献検索

医学中央雑誌で過去5年間にみられたPH関連報告数は1154件で、このうち膠原病合併PHの報告数は110件であった。この中で検討可能症例数は59例であり、パルス療法を含むステロイド剤治療群で有効例32例、有効の可能性有り例9例、無効例11例であった。また免疫抑制薬治療群では有効例6例、有効の可能性有り例1例、無効例2例であった。

海外文献では、膠原病合併PHに対して免疫療法を行った症例報告をSanchezら¹⁾が総説の中でまとめている。

3. MCT投与ラットに対するステロイド剤の影響

(1)右室重量比は第2週で3群間に差はなかった。第5週でB群($36.7 \pm 13.6\%$, $n=3$)、C群($41.0 \pm 9.1\%$, $n=2$)はA群($22.8 \pm 2.1\%$, $n=3$)に比し右心肥大がみられ、B群はC群に比し低い傾向がみられた。

腹腔動脈から採取した血清中のエンドセリン-1(ET-1)を測定した。図2に示すように血清中のET-1

濃度と右室重量比(右室/左室+中隔)は正の相関がみられた。MCTで増加したET-1に対するステロイド治療の影響では、第2週では、3群間で明らかな差はなかったが、第5週ではA群($3.0 \pm 0.3\text{pg/ml}$, $n=3$)に比してB群($5.4 \pm 3.5\text{pg/ml}$, $n=3$)およびC群($6.5 \pm 4.2\text{pg/ml}$, $n=2$)で高い傾向がみられ、さらにB群ではC群に比しやや低値の傾向がみられた。

(2)肺の病理組織学的変化は、まず第2週の検討ではMCTを投与した治療、非治療群ともにPHに特徴的な変化である明らかな中膜の肥厚と中膜細胞数の増加がみられたが、治療群においては中膜の肥厚および細胞数の増加が比較的軽度であり、核の空胞化が一部にみられた。また、血管周囲の滲出、血管周囲の細胞浸潤もMCT投与群でみられたがいずれも治療群で軽度の傾向があり治療による効果が考えられた。

第5週非治療群では全周囲性に内膜、内弾性板、外弾性板等の肥厚がみられた。中膜の核密度増加、核の変性、空胞化があった。血管周囲の浸出も強く、plexiformもみられた。ステロイドパルス療法を施行した群においては、血管の肥厚、非肥厚部の混在があり治療の影響が示唆された。さらに治療群では内弾性板の肥厚、内膜の不規則な肥厚、外弾性板の不規則な走行、中膜の核密度増加、核の変性、空胞化が非治療群より目立ってみられた。血管周囲の浸出がみられるが軽度でCONCENTRATEされてきていた。

肺組織にEV染色を行い、外弾性板で仕切られた全血管床面積に占める外弾性板と内弾性板で囲まれた中膜の面積の割合を中膜面積比として求め中膜の肥厚の程度を検討した。第2週では、コントロール群(A群; 0.468 ± 0.103 , $n=12$)、非治療群(C群; 0.645 ± 0.102 , $n=8$)、治療群(B群; 0.569 ± 0.122 , $n=12$)で治療群で非治療群に比し中膜面積比の改善傾向がみられた(図3)。

D. 考察

膠原病に合併するPHが、他の臓器病変にステロイド剤や免疫抑制剤を使用した後、改善した例を少数経験している。教室でのretrospectiveな検討でも、ステロイド剤大量投与群でPA圧の改善度や日常生活動作の改善によい傾向がみられた。もちろんretrospective studyのため、ステロイド使用時に他の臓器病変やPHの程度などが勘案され、かなりバイアスのかかっている可能性が高い。そこでより客観的

図1 PPH 様症例でのステロイド治療前後の推定PA 圧の推移：大量と少量投与の比較

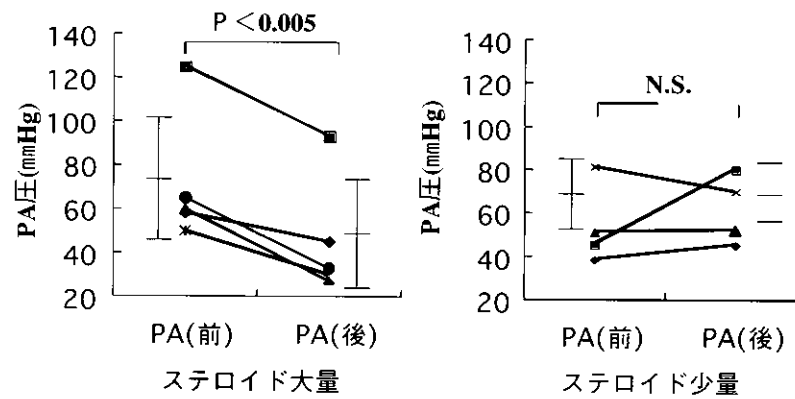


図2 右室肥大の程度(RV/(LV+SEP))と血中ET-1 濃度

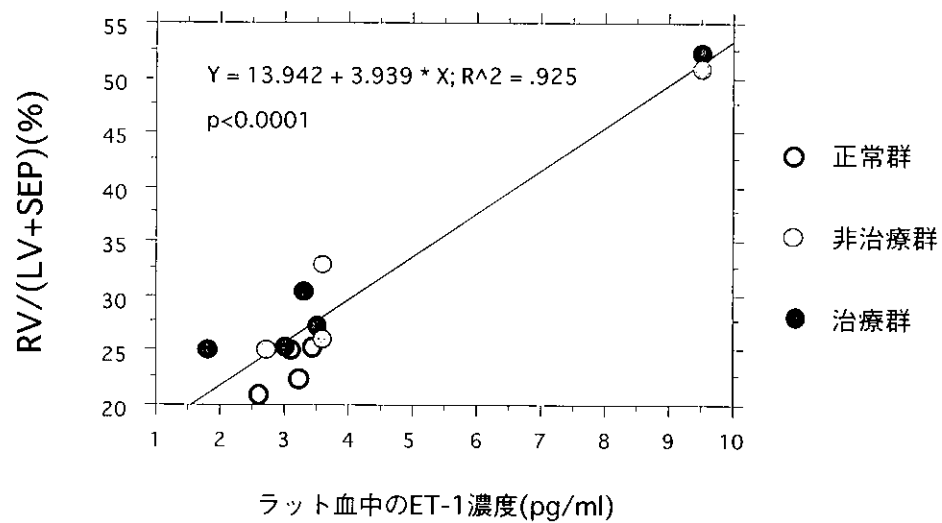
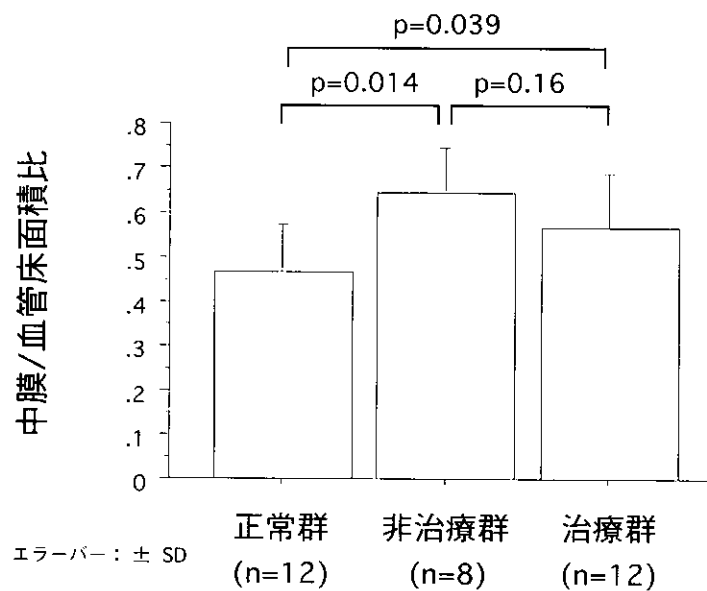


図3 各群における中膜 / 全血管床面積比の比較 (第2週)



評価をするため、文献的に膠原病合併PHに対する免疫療法について検索した。過去5年間でわが国ではステロイドによる有効例が32例報告されていた。また海外でも少なからず報告されていた。しかしながら Sanchez¹らも述べているように、多くの無効症例が報告されていない、血管拡張薬など併用薬があるため免疫療法単独の効果が評価困難、免疫療法のプロトコルがさまざまなため比較が困難、プラシーボを用いた対照研究が皆無である、などの問題点があり、高いレベルのエビデンスは未だないといえる。

本実験では肺組織学的検討でMCT投与ラットでは第2週にはすでに肺動脈中膜の肥厚が著明に出現していた。ステロイド治療の効果については未だpreliminaryな実験であるためラット数が少なく有意な差はみられなかったが、中膜面積比が低値である傾向がみられ、ステロイド治療がMCT誘発の平滑筋細胞増殖に何らかの抑制作用のある可能性が考えられた。

抗ET-1抗体を用いて肺の免疫組織染色を行なったが詳細は検討中である。

E. 結論

膠原病には合併するPHについて、膠原病治療に頻用される免疫療法の有用性を検討した。当教室での症例では、ステロイド剤大量投与群でPA圧の改善度や日常生活動作の改善により傾向がみられた。文献的には、本邦でも海外でもステロイド剤や免疫抑制剤の有用な報告が散見されたが、種々のバイアスや併用薬などのため評価は困難である。MCT投与ラットにステロイド剤を投与すると、右室肥大の程度および全血管床に占める中膜の割合が治療群で軽減している傾向がみられた。以上より、免疫療法で改善する膠原病合併PHは確かに存在し、動物実験でもステロイド大量投与によりMCTによるPHの進行を抑制できる可能性が示唆された。

文 献

1. Sanchez O, Humbert M, Sitborn O, Simonneau G. Treatment of pulmonary hypertension secondary to connective tissue diseases. *Thorax* 1999;54: 273-277.

EFFECT OF CORTICOSTEROID HORMONE ON THE PULMONARY HYPERTENSION SECONDARY TO CONNECTIVE TISSUE DISEASES

Shunji Yoshida, Masao Katayama, Shusaku Fukaya, Akiei Mizutani, Hitomi Miyama, Hisaji Oshima, and Katsutaka Torikai

Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine

For the pulmonary hypertension (PH) secondary to connective tissue diseases (CTD), we examined the usefulness of immunosuppressive therapy, which is frequently used for the treatment of CTD, clinically and experimentally. Japanese literature is surveyed for the last five years on primary and CTD associated PH by *Japana Centra Revuo Medicina*. Fifty-nine cases were found to have immunosuppressive therapy. Of these, steroid therapy was found to be effective in 32 patients out of 52, and immunosuppressant therapy in 6 out of 9. Similar reports were found abroad, but it is difficult to evaluate their effectiveness because of many biases and the frequent use of oral vasodilator therapy.

The effect of corticosteroid administration on the monocrotaline induced PH with rats were studied. Monocrotaline induced increase of right ventricular hypertrophy tended to be inhibited in the rats with steroid compared with those without on the fifth week. On the second week, monocrotaline induced increase of the ratio of medial layer to the total vascular bed tended to be decreased in the rats with steroid. These results confirmed that some reported an improvement in patients with PH secondary to CTD following immunosuppressive therapy, and suggested the inhibitory effects on the PH experimentally.

5. 抗U1RNP抗体陽性例の肺高血圧症の治療反応性の検討

分担研究者 : 岡田 純
研究協力者 : 是洞 桂子、近藤 啓文
所属施設 : 北里大学医学部内科

研究要旨

MCTDの予後に影響する内臓病変としては、肺高血圧症が最も重要である。しかし、他の膠原病に伴う肺高血圧症との異同、早期診断と治療にかんしても不明な点が多い。そこで、本研究では、自験例の膠原病に伴う肺高血圧症を用いて、抗U1RNP抗体陽性(RNP群)のPHと、陰性のPHの差異を明らかにし、その治療反応性を検討した。

当科を受診した症例の中で、肺高血圧症を伴った症例について、臨床症状、自己抗体、治療反応性を検討した。肺高血圧症は、ドップラー心エコー図または右心カテーテルにてPHを確認した。臨床症状がなく、心エコーでのみPHと診断されたものは、疑診PHとして扱った。治療は右心カテーテルを施行し、薬物、酸素の治療反応性を検討し、有効性の高いものを選択し治療に用いた。また、免疫学的活動性の高い症例に 대해서는 ステロイドおよび免疫抑制薬を用いた。

PH症例は54例抽出され、その疾患別内訳は、MCTD 13例、SLE 7例、SSc 20例、RA 3例、SJS 2例、Raynaud症候群 4例、APS 2例、Still病 1例、UCTD 2例であった。この中で、確診例PHは42例で、そのうち28例(64%)が抗U1RNP抗体陽性例であった。RNP群ではPH発症からの観察期間が 5.7 ± 6.7 年と、RNP陰性群の 3.7 ± 3.1 と比べ長かった。その理由として、進行が遅いもの、血管拡張薬、酸素療法が有効であったもの、早期診断が可能であった症例の存在が挙げられた。

RNP陽性群のPHは他の膠原病のPHとも治療反応性が異なる可能性が考えられ、その適切な治療法の確立が必要と考えられた。

A. 目的

MCTDの予後に影響する内臓病変としては、肺高血圧症(PH)が最も重要である¹⁾。本邦での厚生省MCTD班の予後調査でも、MCTDの10年生存率は10%とSLEよりは不良であることが明らかになった²⁾。しかも、死因の大部分がPHに起因しているため、本症における治療の最大の目的はPHの早期発見と適切な治療と考えられる。しかし、他の膠原病に伴うPHとのMCTDのPHとの病態の相違、治療の反応性の異動に関しては不明な点が多い^{3,4)}。

近年、原発性肺高血圧症(PPH)の治療では、対症療法ではあるが、プロスタサイクリン製剤の導入で、予後の改善が報告されている⁵⁾。しかし、膠原病PHに対する治療は、ステロイド薬、免疫抑制薬の有効性は報

告はあるもののEMBとなる成績はない^{6,8)}。一方、対症療法に関しても、十分な検証がされていない、本研究では、自験例を用いて、抗U1RNP抗体陽性のPHにおける、病態と治療反応性を、本抗体陰性PHと比較検討した。

B. 方法・患者

当科を受診した膠原病および類縁疾患の症例の中で、肺高血圧症を伴った症例について、臨床症状、自己抗体、治療反応性を検討した。肺高血圧症は、ドップラー心エコー図(最大肺動脈圧PAP>30mmHg)または右心カテーテル(平均PAP>25mmHg)にてPHを認めた症例を用いた。肺高血圧症の診断はMCTD研究班肺高血圧症の診断基準に基づいたが、心エコーで

のみPHと診断され、臨床症状を伴わないものは、疑診 PHとしてあつかった。治療薬の選択は、右心カテーテルを施行し、各種血管拡張薬 (Ca拮抗薬、ACE阻害薬、PG製剤)、酸素の治療の反応性を検討し、有効性の高いものを選択し治療に用いた。また、免疫学的活動性の高い症例に対してはステロイド、免疫抑制薬を用いた。

C. 結果

PH症例は54例抽出され、その疾患別内訳は、MCTD 13例、SSc 19例、SLE 7例、UCTD 2例、RA 3例、SJS 2例、APS 2例、Still病 1例であった (表1)。この中で、確診 PHは42例で、抗U1RNP抗体陽性が22例 (58%) 多かった。以後は、確診PHを対象に解析した。

抗U1RNP抗体陽性群 (RNP群) 22例と抗U1RNP抗体陰性群 (非RNP群) 20例とでその臨床像につい

て比較した。PH診断時、初診時、膠原病発症よりPH診断までの経過年数では、RNP群の方が長かったが、両群間に有意差はなかった。最大PAPはRNP群の方が低値であった。抗核抗体の出現頻度では、抗SSA抗体はRNP群に多く、抗セントロメア抗体は逆に非RNP群に多く見られたが、症例数が少なく有意差はなかった。ステロイド治療に対する有効性は、PAPが10mmHg以上の低下を認めたものを有効と判定すると、RNP群では、38.5%、一方、非RNP群では43%で両群に差がなく、MCTDにおいてもステロイド有効例があることが確認された。死亡率では、両群ともに50%であった。

右心カテーテルを施行し得た症例で、薬剤反応性を検討した (図1)。酸素投与 (O₂ 100%) では、両群とも良好な反応を示した。一方、PG製剤 (経口、静注) では、酸素ほどの低下は見られなかったが、RNP

表1 肺高血圧症合併膠原病の分類

疾患名	症例数	初診時年齢
混合性結合組織病(MCTD)	13	41.8 ± 10.8
全身性強皮症(SSc)	19	47.9 ± 12.5
全身性エリテマトーデス(SLE)	7	30.5 ± 10.9
分類不能結合組織病(UCTD)	6	39.9 ± 15.7
シェーグレン症候群(SJS)	2	61.8 ± 13.3
慢性関節リウマチ(RA)	3	36.1 ± 5.8
抗リン脂質抗体症候群(APS)	2	45.4 ± 14.8
成人 Still 病	1	17.7

表3 抗U1RNP抗体と死亡例との関連

	抗U1RNP抗体陽性 症例数	死亡例	抗U1RNP抗体陰性 症例数	死亡例
MCTD	11	27%(3)		
SLE	5	60 (3)	2	50(1)
SSc	3	100 (3)	12	58(7)
UCTD	3	67 (2)		
その他			6	33(2)
SJS			2	0
RA			2	0
APS			2	0
Still病			1	0

表2 膠原病における抗U1RNP抗体と肺高血圧症との関連

	抗U1RNP抗体陽性 (22)		抗U1RNP抗体陰性 (20)	
経過年数				
肺高血圧症診断より	5.4	± 6.4	4.1	± 3.3
初診時より	10.1	± 7.5	7.9	± 5.7
膠原病発症より	15.1	± 8.9	14.7	± 9.2
PAP>50mmHg	7	46.7%	11	68%
PAP mmHg	54.5	± 16.5	69.7	± 24.1
抗S m抗体陽性	3	13.6%	0	0%
抗SSA抗体陽性	13	59.1	7	36.8
抗セントロメア抗体	1	4.5	5	25.0
抗DNA抗体	8	36.4	5	25.0
副腎皮質ステロイド有効	5/13	38.5	3/7	42.9
死亡	11	50	10	50

PAP:Pulmonary Artery Pressure (最大)

図 1

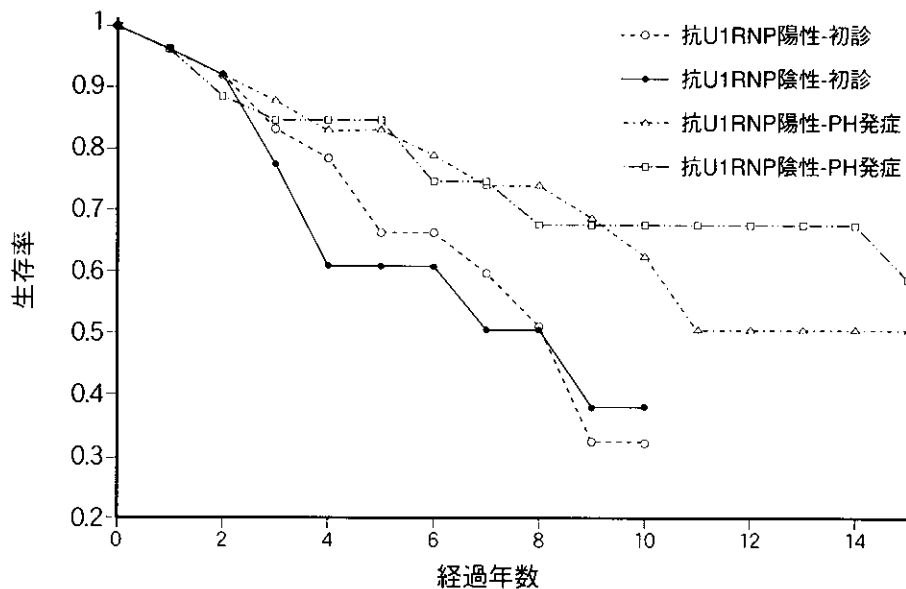
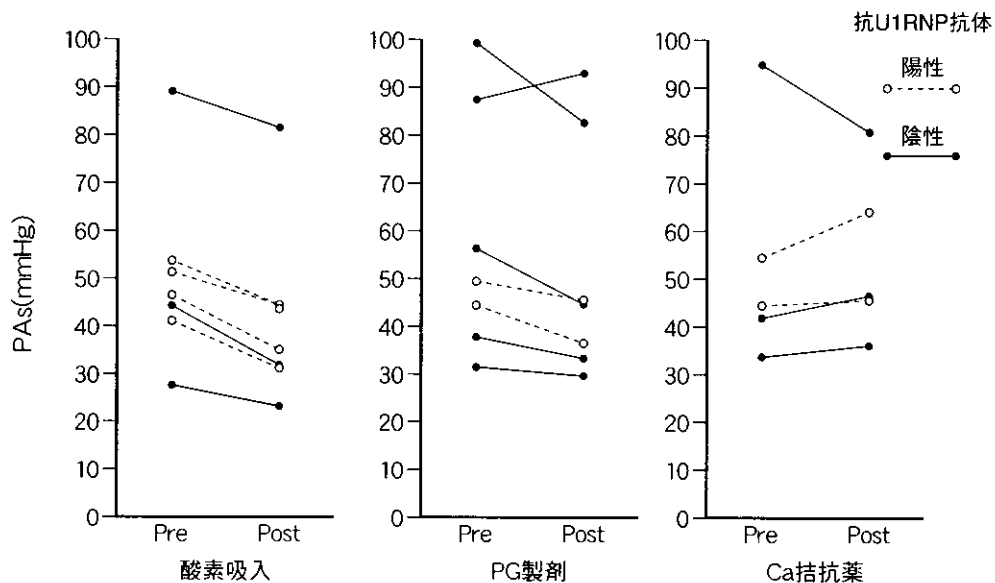


図 2



群の2例は低下を認めたが、非RNP群の1例では効果がみられなかった。Ca拮抗薬では、1例を除いて4例が無効であった。

生命表分析にて、RNP群と非RNP群との予後を検討した。PH診断からと膠原病診断から生存率を見ると、両群間では有意差はなく、時間の経過とともに徐々に生存率は低下した(図2)。死亡例の基礎疾患を検討すると、MCTDでは27%(3)が死亡していたが、SScは100%(3)と全例死亡していた。しかし、RNP群のUCTDでも、3例中2例が死亡した(表3)。

D. 考案

膠原病PHにおいて、その約60%が抗U1RNP抗体陽性で、その多くはMCTDまたはUCTDであった。非RNP群に比べ、予後では差がなかったが、治療反応性が異なる可能性が示唆された。しかし、症例数が少ないため、統計的な裏付けは得られなかったが、今後多数例において、抗U1RNP抗体陽性PH例の治療法の検討が必要であると考えられた。

PPHでは、PGI₂製剤の持続静注療法により予後の著しい改善がみられることが最近報告されている⁵⁾。しかし、この治療法が膠原病PHに有効か不明である。

今回の我々の薬物反応性に関する検討では、酸素吸入について有効であった。酸素投与は、その血管拡張作用から、有効性が報告されていたが、PPH群では、低酸素がない例での有効性は否定的である。しかし、SSc例では、有効とする報告もあり、膠原病PHにおいては、検討すべき治療法と考えられる⁹⁾。

MCTDなどの膠原病は免疫異常がPHその病態形成に重要である³⁾。SLEでは、PHに血管炎の関与の報告もあるが、MCTDにおけるPHは、病理学的にはPPH類似しているため、ステロイドなどの治療法は否定的と考えられてきた。PPHでは、随伴する臨床症状がつよいいため、PHの症状が出現してからの進行例のみに治療が行われる。一方、膠原病PHでは、早期診断が可能である。早期例に対する、ステロイド薬の反応性に関しては十分検討されていないが、自験例でも早期診断しえた症例では、長期生存例も見られ、また、MCTD例における、ステロイド治療の有効性の報告もあり⁸⁾、早期例におけるステロイド治療は今後検討すべき治療法と考えられる。

E. 結論

膠原病PHではRNP陽性例が半数以上を占め、RNP陰性群のPHとは、治療反応性が異なる可能性が考えられた。PHの早期診断と適切な治療法の確立が必要と考えられる。

文 献

1. Burdt MA, Hoffman RW, Deutscher SL, et al. Long-term outcome in mixed connective tissue disease: longitudinal clinical and serologic findings. *Arthritis Rheum*, 1999; 42: 899-909.
2. 近藤哲文, 岡田 純, 東条毅. 混合性結合組織病の予後調査報告. 厚生省混合性結合組織病研究報告書, 2000: 平成11年度: (in press).
3. Nishimaki T, Aotsuka S, Kondo H, et al. Immunological analysis of pulmonary hypertension in connective tissue diseases. *J Rheumatol*, 1999; 26:2357-62.
4. Dahl M, Chalmers A, Wade J, et al. Ten year survival of a patient with advanced pulmonary hypertension and mixed connective tissue disease treated with immunosuppressive therapy. *J Rheumatol*, 1992; 19: 1807-9.
5. McLaughlin VV, Genthner DE, Panella MM, et al. Reduction in pulmonary vascular resistance with long-term epoprostenol (prostacyclin) therapy in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med*, 1998; 338:273-7.
6. Tam LS, Li EK. Successful treatment with immunosuppression, anticoagulation and vasodilator therapy of pulmonary hypertension in SLE associated with secondary antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 1998; 7:495-

7. Morelli S, Giordano M, De MP, et al. Pulmonary arterial hypertension responsive to immunosuppressive therapy in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 1993; 2:367-9.
8. Li EK, Tam LS. Pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus: clinical association and survival in 18 patients. *J Rheumatol*, 1999; 26:1923-9.
9. Morgan JM, Griffiths M, du BR, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in systemic sclerosis and primary pulmonary hypertension. *Chest*, 1991; 99:551-6.

PULMONARY HYPERTENSION WITH ANTI-U1RNP ANTIBODY AND THERAPEUTIC RESPONSES

Jun Okada, Keiko Koreda and Hirobumi Kondo
Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine

Pulmonary hypertensions (PH) in MCTD appear to be important with respect to poor prognosis. The difference of PH between MCTD and other connective tissue diseases has not been well described. In this study, we have analyzed clinical characteristics and responses to various treatments in PH patients with anti-U1RNP antibody and without anti-U1RNP antibody.

Patients with PH who visited to our clinic, were studied. Diagnosis of PH was based on the criteria proposed by Research Committee of MCTD of the Japanese Ministry of Health and Welfare. We performed Doppler echocardiogram and Swan-Ganz catheter to measure pulmonary artery pressure (PAP). Patients have been examined for drug responses on PAP. When patients have high immunological activity, corticosteroids therapy were administrated.

Fifty four cases of PH were studied. The diagnosis of CTD was MCTD 12 cases, SLE 7, SSc 20, RA 3, SJS 2, Raynaud disease 4, APS 2, Still disease 1, and UCTD 2. Among these patients, definite PH was 42 cases and probable PH was 8 cases. Twenty-eight (64%) cases were positive for anti-U1RNP antibody. Observation period (5.7 ± 6.7 years.) after diagnosis of PH in RNP group was longer than that (3.7 ± 3.1) in RNP negative group. Some patients who showed slow progressive course or good response to corticosteroid therapy were found in RNP group.

It is suggested that the patients with anti-U1RNP antibody have good responses to therapies. The development of proper therapeutic protocol should be evaluated.

6. MCTD、特に肺高血圧症におけるクラミジアニューモニエ感染の検討

分担研究者 : 北里 英郎¹
研究協力者 : 近藤 啓文², 岡田 純²
所属施設 : ¹北里大学医学部微生物
²北里大学医学部内科

研究要旨

混合性結合組織病 (MCTD) は、肺高血圧症を特徴的臓器病変とする疾患である (1,2)。一方、虚血性心疾患さらに、脳卒中、高血圧症などにおいて *Chlamydia pneumoniae* 感染が関連していることが報告されている (3,4)。そこで我々は MCTD 患者血清中における *Chlamydia pneumoniae* 抗体の有無を ELISA 法により測定した。*Chlamydia pneumoniae* 感染と MCTD、とくに肺高血圧症合併との関連が示唆された。

A. 研究目的

MCTDにおける肺高血圧症合併は、呼吸不全などの重篤な状態をもたらす。我々は、肺高血圧症合併と *Chlamydia pneumoniae* 感染との関連を明らかにすることにより、将来的な治療に繋がることを目的としている。

B. 研究方法

MCTD (肺高血圧症合併例 9 例を含む)、慢性関節リウマチ (RA)、自己免疫性疾患 (SLE)、他の膠原病 (Others, PSS:強皮症等) 患者及び健常人からの血清を材料として用いた (Table 1)。血清中の抗 *Chlamydia pneumoniae* 抗体の測定には、ELISA 法であるヒタザイム C. ニューモニエ (日立化成、文献 5) を用いた。又、測定結果は、添付文書に従って吸光度から算出したインデックスで表示した。有意差については、t test を用いて計算し、 $p < 0.05$ を有意差のあるものとした。

C. 研究結果

ELISA 法による検定の結果を Fig.1 に示した。その結果、MCTD における IgG 型抗 *Chlamydia pneumoniae* 抗体は、RA, SLE, 他の膠原病、健常人と比較して有意に高かった。一方、IgA 型抗 *Chlamydia pneumoniae* 抗体は、MCTD において、健常人、他の膠原病と比較して有意に高かったが、SLE, RA と比較すると高い傾向を示す程度であった。同様に、MCTD

において肺高血圧症合併例及び非合併例において比較したが、IgA 型抗 *Chlamydia pneumoniae* 抗体が肺高血圧症合併例において高い傾向が見られたが、IgG 型に差は見られなかった。

D. 考察

MCTD における *Chlamydia pneumoniae* 感染は、慢性感染と考えられるので、Fig.2 (文献 5 より引用) に示すよう IgG 型の抗体が長期にわたり IgA 型と比較して高い抗体価を維持することが考えられる。したがって、IgG 型抗 *Chlamydia pneumoniae* 抗体が、RA, SLE, 他の膠原病、健常人と比較して、MCTD において有意に高かったことは、MCTD における *Chlamydia pneumoniae* 感染率は、高いと考えられる。今後、検体数を増やし、IgG, IgA 型についてさらなる検討を行うと同時に IgM 型抗体 (5) を測定することにより、慢性感染あるいは急性感染であるかを決定し、*Chlamydia pneumoniae* 感染と MCTD における肺高血圧症合併に関する検討を続ける。また、近年、PCR 法を用い、単核球、腹腔大動脈瘤組織 DNA より *Chlamydia pneumoniae* DNA を検出、比較した報告 (6) があり、患者からの同意を得た上で、検討してみたい。

E. 結論

Chlamydia pneumoniae 感染と、MCTD における肺高血圧症合併の関連性が示唆された。

Table 1.

Materials in the study				
	Number	Male/Female	Age (AV $\pm$ SD)	Anti-RNP (%)
MCTD	28	1/27	44.29 $\pm$ 8.55	100.00
MCTD+PH	9	0/9	46.11 $\pm$ 16.21	100.00
RA	30	4/26	59.0 $\pm$ 10.70	3.33
SLE	8	0/8	36.38 $\pm$ 10.50	12.50
Others	5	0/5	35.40 $\pm$ 10.88	60.00
Normal	28	17/11	43.60 $\pm$ 14.58	0.00

Fig.1

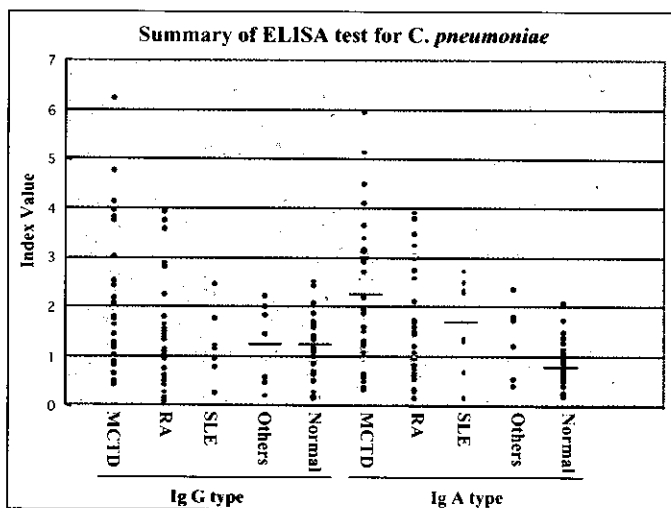
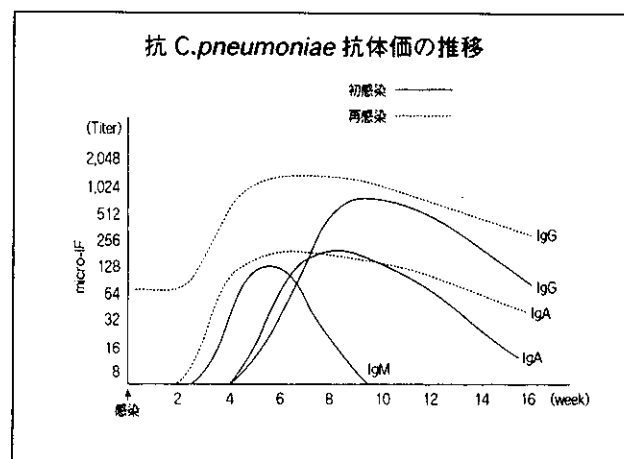


Fig. 2



文 献

1. Nishimaki T, Aotuska S, Kondo H, et al. Immunological analysis of pulmonary hypertension in connective tissue diseases. J Rheumatol 1999; 26:2357-62.
2. Mikami Y, Sawai T. Pulmonary hypertension in autopsy cases of mixed connective tissue disease. Ryumachi 1993;33:117-24.
3. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, et al. Serological evidences of an association of a novel chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. Lancet 1988;2:983-6.
4. 尾内 一信、臨床一動脈硬化病変との関連性、化学療法の領域。1996;12:2292-97.
5. 岸本 寿男、診断一血清診断、化学療法の領域。1996; 2250-56.
6. Blasi, F, Boman, J, Esposito, G, et al. Chlamydia pneumoniae DNA detection in peripheral blood mononuclear cells is predictive of vasculature infection. J Infect Dis. 1999;180:2074-6.

DETECTION OF ANTI-CHLAMYDIA *PNEUMONIAE* ANTIBODY IN THE SERUM DERIVED FROM MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASE (MCTD) PATIENTS

Hidero Kitasato¹, Hirobumi Kondo², Jun Okada²

Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine¹

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine²

To evaluate in relation to *Chlamydia pneumoniae* infection and MCTD, especially accompanied with pulmonary hypertension (PH), we have examined serum derived from 28 cases of MCTD including MCTD with PH, 30 cases of rheumatoid arthritis (RA), 8 cases of systemic lupus erythematosus (SLE), 5 cases of other collagen diseases and 28 cases of normal control, using Hitazyme ELISA test (Hitachi Kasei, Japan). Results indicated that IgG type of anti-*Chlamydia pneumoniae* antibody in MCTD was significantly higher in comparison with RA, SLE, other collagen diseases, and normal control ($p<0.05$). In addition, IgA type of anti-*Chlamydia pneumoniae* antibody in MCTD was also significantly higher than those of other collagen disease and normal control ($p<0.05$), but not significantly higher than those of RA and SLE. No significant difference was found for IgG and IgA types of anti-*Chlamydia pneumoniae* antibody between MCTD with and without PH. More studies will be necessary to indicate *Chlamydia pneumoniae* infection as risk factor in MCTD.

7. MCTD における肺高血圧症の研究

分担研究者 : 原 まさ子

研究協力者 : 川口 鎮司、高木 香恵

所属施設 : 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター

研究要旨

抗 U1-RNP 抗体陽性の MCTD は、他の膠原病に比較し肺高血圧症(PH)が高頻度に合併すると報告されている。PHは、MCTDの予後を決定する重要な臓器病変であるが、その病態形成の機序は明らかにされていない。近年、血管の収縮、拡張に作用するエンドセリン(ET) および一酸化窒素(NO) の産生異常が、PHの病態に関与しているとする報告がなされた。これらの研究は、患者血漿中のET濃度の測定および患者肺組織におけるNO合成酵素の発現量を検討している。そこで、本研究では、肺動脈由来血管内皮細胞を用いて、種々のサイトカイン・成長因子が、ET、NOの発現に影響を与えるか検討した。肺動脈由来血管内皮細胞に対し、IL-1 α 、IL-18、TGF- β は、ET-1の産生量が無刺激下と比し有意に増加させた。IL-1 α は、NO産生も増加させたが、IL-18、TGF- β は、NO産生に影響を与えなかった。単核球由来のサイトカインがET-1、NO産生に影響をあたえることが明らかとなり、血漿中にてET-1が上昇している病態に病変局所のサイトカイン産生が関与している可能性が推定された。

A. 研究目的

MCTDでは、肺高血圧症(PH)が他の膠原病に比べ高頻度に合併し、予後を決定する重要な因子と考えられている。MCTD以外の膠原病においても、抗U1-RNP抗体陽性の患者群では陰性の患者群に比較し、高頻度にPHを合併するとされている。そのため、抗U1-RNP抗体を誘導する機序がPH発症に関与しているか、抗U1-RNP抗体自身がPH発症に関与している可能性が種々検討されている。しかし、抗U1-RNP抗体陽性患者にてPH発症頻度が高くなる免疫学的機序は分かっていない。そこで、我々は、MCTDに合併したPHの病態を免疫学的異常の側面から解析し、その結果明かとなるであろう自己免疫異常と抗U1-RNP抗体の関係を検討する。

MCTDに合併するPHは、病理学的には、肺動脈、細小動脈の内膜、中膜の肥厚により、血管内腔の狭小化が生じている。内膜、中膜の肥厚には種々のサイトカイン、成長因子の関与が考えられている。また、近年、血管の収縮・拡張に作用するエンドセリン(ET)・一酸化窒素(NO)の産生異常が、PHの病態に関与し

ているとする複数の報告がなされている¹⁾²⁾。これらの研究をふまえ、PH合併MCTD患者血漿中のET-1濃度が測定され、健常人と比較し有意に高値であると報告されている。一方、ET-1が高値を示すにもかかわらず、NOの産生は健常人と比較してかわらない、または、低下していると報告されている。ET-1産生が亢進すれば、血管のトーンス維持のため血管拡張因子であるNOの合成が行われ産生亢進するはずであるが、PH患者ではその反応が生じていない。この原因として、患者の肺組織でNOの合成酵素である一酸化窒素合成酵素(NOS)の産生が低下していることが報告された。しかし、MCTDの病態において、どの細胞が、どのような機序でET-1およびNOの産生に関与しているかは不明である。ET-1は、主に血管内皮細胞から、NOSは、血管内皮細胞、線維芽細胞などから産生されると考えられている。そこで、今回、我々は、肺動脈由来の血管内皮細胞を用い、種々のサイトカイン、成長因子が、ET-1およびNO産生にどのような影響を与えるかを検討した。

B. 方法

正常ヒト肺動脈由来血管内皮細胞および血管内皮細胞用無血清培地を用いた (Biowhittakar)。細胞を 24 穴の culture plate にて無血清培地を用いて培養した。

サイトカイン (IL-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-18)、成長因子 (PDGF, TGF- β , HGF, IGF) を、種々の濃度にて添加し、培養上清中の ET-1、NO 濃度を ELISA 法、比色法にて測定した。

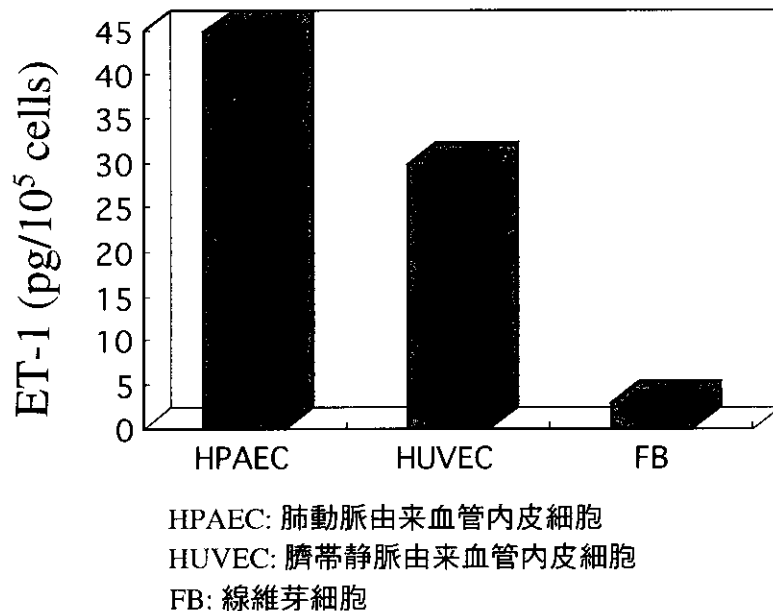


図 1. ET-1 production of endothelial cells and fibroblasts. Cells were cultured in 24-well culture plates supplemented by serum-free media. After 24 h, culture media were harvested and the levels of ET-1 were measured using an ELISA kit.
HPAEC: human endothelial cells derived from pulmonary artery
HUVEC: human endothelial cells derived from umbilical vein
FB: human skin fibroblasts

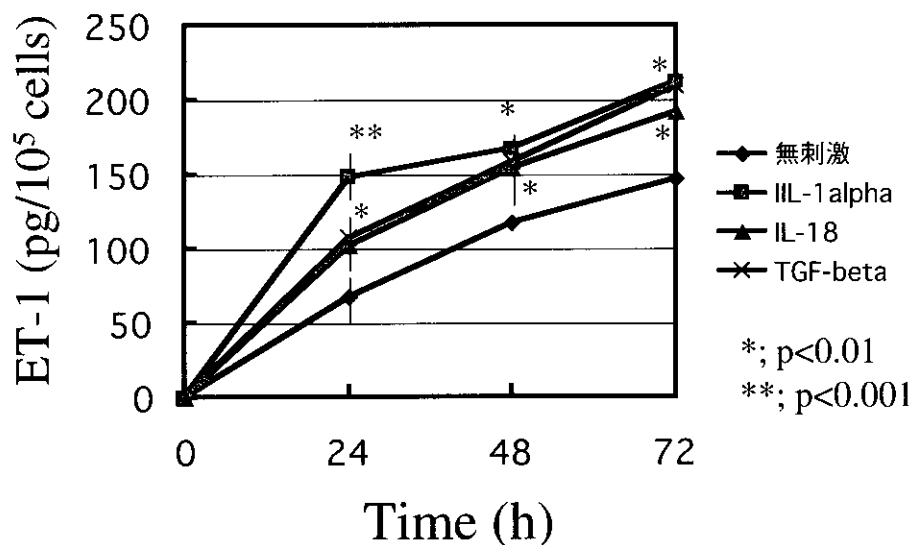


図 2. Effects of cytokines and growth factors on ET-1 production by endothelial cells. Pulmonary artery-derived endothelial cells were cultured in 24-well culture plates with several kinds of cytokines or growth factors. The levels of ET-1 in the supernatants cultured for various times were measured by an ELISA kit.

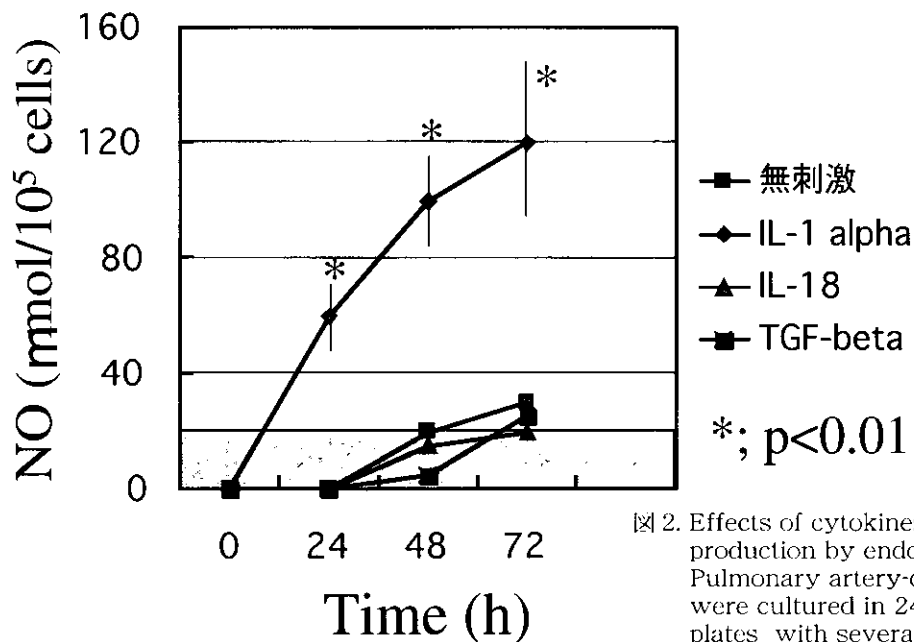


図2. Effects of cytokines and growth factors on NO production by endothelial cells. Pulmonary artery-derived endothelial cells were cultured in 24-well culture plates with several kinds of cytokines or growth factors. The levels of NO in the supernatants cultured for various times were measured by a chemiluminescence method.

C. 結果成果

肺動脈由来血管内皮細胞のET-1産生能を検討する目的で、はじめに、無刺激下でのET-1産生量を臍帯静脈由来血管内皮細胞および皮膚正常線維芽細胞と比較検討した。肺動脈由来血管内皮細胞は、無刺激にてET-1を産生していた（図1）。また、その産生量は、線維芽細胞に比し10倍以上の高値であった。

サイトカイン、成長因子の影響を検討した。ET-1の産生は、IL-1 α (1 ng/ml), IL-18 (10 ng/ml), TGF- β (10 ng/ml) の添加により有意に増加した（図2）。NO産生は、無刺激下では測定感度以下であったが、IL-1 α の刺激により有意に増加した（図3）。これらの因子以外では、ET-1, NOの産生に関し有意な変化を示すサイトカイン／成長因子は認めなかった。

D. 考察

MCTDに合併するPHは、予後不良な疾患と考えられており、有効な治療法の確立が待たれている。発症早期には、副腎皮質ステロイド剤あるいは免疫抑制剤が有用であったとする報告^{3) 4)}がみられるが、その作用機序に関しては不明である。また、最近の研究にて、一酸化窒素の吸入およびプロスタサイクリンの静脈内投与が有効とする報告がある^{5) 6)}。本研究では、肺動脈由来の血管内皮細胞を用い、ET-1およびNOの産

生に関与するサイトカイン、成長因子を明らかにした。ET-1は、血管収縮因子であると同時に、血管内皮細胞、線維芽細胞、血管平滑筋細胞に対する増殖因子の作用も有している。さらに、ET-1は、PH患者で増加していることが知られている。ET-1の産生増加の作用を有していたIL-1 α 、IL-18、TGF- β は、ともに単核球由来の因子であり、単核球の活性化に伴い産生される。そこで、我々は、PH発症早期あるいは増悪期に、肺動脈血管周囲に単核球の浸潤があり、そこから産生される因子により、ET-1の産生が亢進し、血管内膜、中膜の増殖が生じ、また、収縮がおこるため、肺動脈圧の上昇が生じると考えた。そのため、発症早期には、単核球の活性化を抑制できる副腎皮質ステロイド剤あるいは免疫抑制剤が有効であることが推察できる。しかし、我々の仮説を証明するには、PH患者の肺動脈内にてサイトカインや成長因子が増加していること、また、早期の肺組織にて単核球の浸潤がみられることを明らかにする必要がある。今後、右心臓カテーテル検査を試行する時に患者の同意のもと血液をサンプリングし、サイトカインおよび成長因子の測定を行っていく方針である。

NOに関しては、ET-1が上昇している状態では高値を示すはずであるが、患者血清中では、低値を示していると報告されている。また、PHの予後に関する研

究では、血清中NO値が負の相関を示すことを論じている⁷⁾。ET-1は、その受容体 (type A) に結合するとNOの産生を誘導することがわかっている。この事実より、ET-1が正常より高値を示している環境で、NOの産生が亢進していないとすれば、ET-1の受容体 (type A) 発現の低下、あるいはNOS (一酸化窒素合成酵素) の産生低下が考えられる。すでに、原発性肺高血圧症では、肺組織にてNOSの産生低下が生じていることが示されているが、MCTDに合併したPHでは検討されていない。今後、MCTDのPH合併例にてNOSの産生量の検討が必要と考える。

E. 結論

肺動脈由来血管内皮細胞を用い、in vitro にて種々のサイトカイン／成長因子のET-1、NOの産生における効果を検討した。IL-1 α 、IL-18、TGF- β がET-1の産生亢進に関与している可能性が示唆された。NO産生を低下させる因子は発見できず、PH患者にてNO産生が低下している機序の推定はできなかった。

文 献

1. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease. *Ann Intern Med* 1991; 114: 464-9.
2. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995; 333: 214-21.
3. Lahaye IE, Rogiers PE, Nagler JM, Chappel R. Vanishing pulmonary hypertension in mixed connective tissue disease. *Clin Rheumatol* 1999; 18: 45-7.
4. Bellotto F, Chiavacci P, Laveder F, Angelini A, Thiene G, Marcolongo R. Effective immunosuppressive therapy in a patient with primary pulmonary hypertension. *Thorax* 1999; 54: 372-4.
5. Wax D, Garofano R, Barst RJ. Effects of long-term infusion of prostacyclin on exercise performance in patients with primary pulmonary hypertension. *Chest* 1999; 116: 914-20.
6. Max M, Rossaint R. Nitric oxide inhalation in pulmonary hypertension and severe respiratory failure. *Curr Opin Cardiol* 1999; 14: 432-6.
7. Kaneko FT, Arroliga AC, Dweik RA, et al. Biochemical reaction products of nitric oxide as quantitative markers of primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 917-23.

STUDIES ON VASOACTIVE FACTORS INVOLVED IN PH ACCOMPANIED WITH MCTD

Masako Hara, Yasushi Kawaguchi, and Kae Takagi
Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University

To clarify the immunopathogenesis of pulmonary hypertension (PH) complicated with MCTD, we studied the effect of cytokines and growth factors on endothelin (ET)-1 and nitric oxide (NO) production in human endothelial cells derived from pulmonary artery (HPAEC). ET-1 is a strong vasoconstrictor and growth factor of endothelial cells, fibroblasts, and endothelial smooth muscle cells. It was reported that ET-1 was elevated in plasma of the patients with PH with MCTD. In contrast, NO was a strong vasodilator and was induced by the autocrine effect of ET-1. Recently, it was revealed that NO production was not argued in serum of the patients with PH. In this study, we found that IL-1 α , IL-18 and TGF- β increased the production of ET-1 significantly in the dose-dependent manner and that NO production was induced by IL-1 α alone in HPAEC.

ET-1 was overexpressed in HPAEC by the addition of IL-1 α , IL-18 and TGF- β which were produced from activated mononuclear cells, suggesting that several cytokines and growth factor might be involved in the immunopathogenesis of PH through the production of ET-1.

8. 抗U1-RNP抗体による血管内皮細胞接着分子・MHC分子の発現亢進

分担研究者：青塚 新一

研究協力者：大川 雅子，木下 牧子，隅谷 護人

所属施設：国立国際医療センター研究所臨床免疫研究室

研究要旨

抗U1-RNP抗体による肺動脈血管内皮細胞(HPAEC)の接着分子およびMHC分子発現誘導について検討した。MCTD患者血清から、抗U1-RNP抗体陽性IgGを得た。抗U1-RNP抗体陽性IgGは、さらにアフィニティカラムにかけ、精製抗U1-RNP抗体を得、すり抜けを抗U1-RNP抗体除去IgGとした。HPAECの培養中に抗体陽性IgGや精製抗体を添加し、接着分子(ICAM-1, ELAM-1)、MHC分子(Class I, Class II)の発現をCell-ELISAで測定した。予備実験で、rIL-1 α 添加はHPAEC上の接着分子やMHC分子の発現を濃度依存的に増加させることを確認した。抗U1-RNP抗体陽性IgGおよび精製抗U1-RNP抗体は、HPAEC上のICAM-1, ELAM-1, Class IIの発現を濃度依存的に増加させ、健常人IgG、抗U1-RNP抗体除去IgGによる発現は低レベルであった。F(ab')₂精製抗U1-RNP抗体は、intactの抗体と同レベルにHPAECのICAM-1の発現を誘導し、FcR以外の機序でHPAECと反応していることが示唆された。抗U1-RNP抗体により媒介される血管内皮細胞接着分子およびMHC分子発現誘導の発現誘導は、MCTDにおいて病因的な意義を有する可能性が示唆された。

A. 研究目的

抗U1-RNP抗体による肺動脈血管内皮細胞上の接着分子(ICAM-1, ELAM-1)の発現と、MHC分子(Class I, Class II)の発現をin vitroの系で検討した。

B. 研究方法

1. 抗U1-RNP抗体陽性患者血清から、Protein GカラムによりIgG分画を精製した。対照として、抗dsDNA抗体陽性患者と健常人血清からも、同様にIgG分画を得た。
2. 抗U1-RNP抗体陽性患者血清のIgG分画は、さらに、精製U1-RNPを付着したアフィニティカラムを用いて、特異的抗U1-RNP抗体を精製するとともに、カラムのすり抜け分画である抗U1-RNP抗体除去IgGを得た。
3. このようにして得たIgG分画、精製抗RNP抗体を内皮細胞に添加し、細胞上の接着分子およびMHC分子の検出を、Cell-ELISAで行った。コンフルエントになった内皮細胞に、レコンビナントIL-1 α 、IgG分画、精製自己抗体等を添加しCO₂インキュベーターで20時間培養した。プレートを取り出し、固定、ブロッキングの後、一次抗体として、マウスモノクロー

ナル抗体、二次抗体として、ペルオキシダーゼ標識抗マウスIgG抗体を反応させ、後は通常のELISAの方法で測定した。

C. 研究結果

1. 予備実験：内皮細胞の接着分子およびMHC分子の発現をレコンビナントIL-1 α を用いて検討した。ICAM-1, ELAM-1, Class I, Class IIの発現とも、濃度依存的に増加した(図1)。
2. 内皮細胞へのIgG分画添加のICAM-1, ELAM-1, Class I, Class II発現に対する影響：抗U1-RNP抗体陽性IgG分画、抗dsDNA抗体陽性IgG分画の添加量に依存して、ICAM-1, ELAM-1, Class IIの発現が認められ、そのレベルは健常人IgGの添加に比べ有意に高値であった。一方、IgG添加でClass Iの発現は増加する傾向を認めなかった(図2)。
3. 精製抗U1-RNP抗体による接着分子およびMHC分子発現に対する影響：IgG分画の添加で内皮細胞の接着分子やMHC分子の発現が認められたので、特異