

- 目のp型症例. 日本輸血学会雑誌, 2001, 47 (277)
- 5) 藤井由紀子, 阿南昌弘, 今井厚子, 渡辺敬依子, 大木浩子, 鈴木宏昌, 穴倉祐子, 大久保光夫, 前田平生: ABO血液型判定のpotential errorとその対策. 日本輸血学会雑誌, 2001, 47 (299)
- 6) 大久保光夫, 鈴木康文, 阿南昌弘, 平田蘭子, 前田平生: 自己末梢血幹細胞動員時のFlt-3リガンド (FL) およびサイトカイ

- ンの変動. 日本輸血学会雑誌, 2001, 47(244)
- 7) 大久保光夫, 井奥宏樹, 齊藤麻紀, 平田蘭子, 竹田 省, 前田平生: 子宮癌患者CD4陽性T細胞が認識するヒトパピローマウイルス抗原上のエピトープ. MHC, 2001, 8 (118)
- 8) 鈴木康文, 阿南昌弘, 木村昌行, 大久保光夫, 前田平生: 末梢血幹細胞採取装置の比較・検討. 自己血輸血, 2002, 15, (23)

表1 RNP A 遺伝子上のSNP数

報告者	SNP数	対象	人数
本研究班	3箇所	日本人患者	20
NCBIのSNP data base	1箇所	Caucasian?	4?
医科研 (Yusuke IMS)	3箇所	健常日本人?	1?
Sanger Lab	3箇所	Caucasian	不明
Celera co.	8箇所	Caucasian African American 各45	

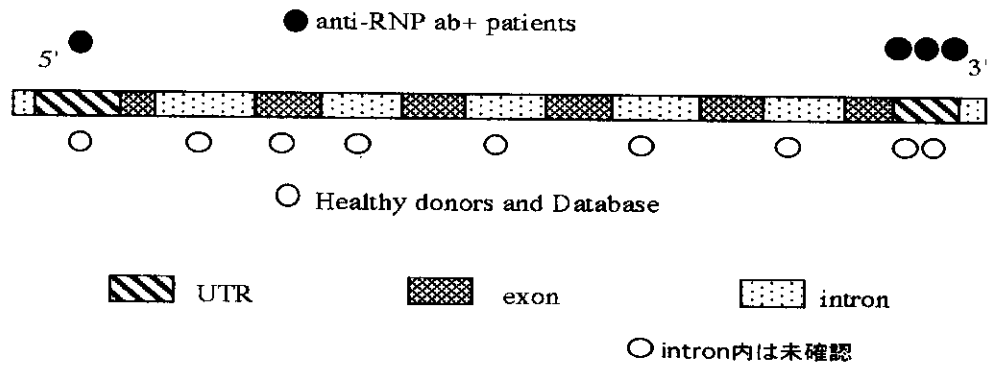


図1.RNP-AのSNP存在位置の概要

表2 Frequency of SNA on RNP-A

exon	allele	frequency	
		in healthy donors	vs in patient
1	C deletion	0	0.05
1	C/G	0.05	0
2	A/G	0.05	0
6	T/C	0.05	0.2
6	A/G	0	0.05
6	C/T	0.05	0.15

Patients; 20, Healthy donors: 5~20

ANALYSIS OF U1-snRNP-A GENE SNP IN PATIENTS WITH ANTI-RNP-A AUTOANTIBODY COMPARED WITH JAPANESE HEALTHY DONOR DNA BANK

Mitsuo Okubo

Transfusion Medicine and Cell Therapy,
Saitama Medical Center, Saitama Medical School

A possible mechanism of anti-RNP-A autoantibody production might be depending on RNP-A gene variation. We analyzed SNP within RNP-A gene from patients with anti RNP antibody. Twenty patients' DNA samples with informed consent were analyzed by Taqman PCR or DNA fragment sequence. It was confirmed SNPs in 5'-UTR and in 3'-UTR which we had shown in recent study. It is necessary to compare SNP allele frequency of the patients with that of Japanese local controls. However, there are no healthy Japanese DNA banks for this study. We start to prepare Japanese healthy donor's (RF negative, ANA negative, GOT, CK, Crea, WBC, Hb, Plt are within normal range and HbsAg, HCV Ab are negative) DNA with informed consent, which is benefit to various SNP studies in the collagen diseases.

8. 抗 RNP 抗体陽性患者におけるマンノース結合レクチン遺伝子多型

分担研究者 : 堤明人¹
研究協力者 : 高橋令子¹、大谷克城²、若宮伸隆²、後藤大輔¹、
松本功¹、村田秀行¹、住田孝之¹
所属施設 : 筑波大学臨床医学系¹、旭川医科大学医学部微生物学講座²

研究要旨

目的：抗 RNP 抗体陽性自己免疫疾患患者の MBL 遺伝子多型を検討した。
方法・対象：患者血液よりゲノム DNA を調整し、PCR-RFLP 法により MBL 遺伝子のコドン 54 多型の判定を行った。
結果：解析終了患者 54 名のうち正常型ホモ(AA)は 29 名、ヘテロ(AB)は 16 名、少数型ホモ(BB)は 3 名であり、B アリールの頻度は 20.4%であった。AB 患者では AA 患者に比し血中 MBL 濃度は有意に低値であり、BB 患者ではさらに低値であった。B アリールを持つ患者 18 名のうち経過中に入院を要する感染症が認められたのは 6 名であり、B アリールを持たない 33 名中 7 名よりやや多い傾向であった。肺高血圧症等内臓病変と MBL 遺伝子多型との間には現時点では明らかな関連は見られていない。
結論：MBL 遺伝子多型と血中 MBL 濃度の間に明らかな関連が見られたが病態との関連の解析にはさらなる症例の蓄積が必要と思われた。

A. 研究目的

マンノース結合レクチン(MBL)は補体 C1q 類似の構造をもち、その欠損により幼少期に反復する感染を繰り返すなど、自然免疫で重要な役割を果たすことが知られている。日本人では MBL 遺伝子の第 1 エクソンのコドン 54 に遺伝子多型が存在し、多数型ホモ (AA) に対し、ヘテロ (AB) では血中 MBL 濃度は著明に低下、少数型ホモ (BB) ではさらに低下することが知られている。反復感染、慢性ウイルス感染症¹のほか、最近血中濃度の低下と自己免疫疾患²との関連も指摘されてきている。本研究では混合性結合組織病 (MCTD) の特徴である抗 RNP 抗体の存在と MBL 遺伝子多型、患者の病態との関連を検討し、MBL 遺伝子多型もしくは血中濃度の測定が MCTD 診療に有用であるかを検討することを目的とした。

B. 研究方法

研究は筑波大学倫理委員会にて遺伝子解析の承認を

うけた試料にておこない、試料の採取に当たってはすべて文書による遺伝子解析に対する同意を得た。患者もしくは健康人末梢血リンパ球よりゲノム DNA を調整し、多型性存在部分を挟むプライマーを用いて PCR 反応により多型性存在部分を増幅した。多型のうち少数型(B)アリールのみを切断する制限酵素 *BanI* にて PCR 産物を処理し、アガロース電気泳動にてパターンを確認すること (PCR-RFLP 法) により遺伝子型を決定した。血中 MBL 濃度はラビット抗ヒト MBL 抗体を用いた固相酵素抗体法により測定した。これらのデータを患者・健康人間で比較するとともに、患者の臨床所見との関連を検討した。今回は患者 54 名 (SLE37、MCTD9、強皮症 8)、健康人 134 名の試料を使用した。

C. 研究結果

MBL 遺伝子のアリール頻度は抗 RNP 抗体陽性者で A が 86 (79.6%)、B が 22 (20.4%) であり、健康人の 214 (79.8%) と 54 (20.2%) と比較して有意な差を認めな

かった。遺伝子型は抗RNP抗体陽性者でAA35、AB16、BB3に対し健常人ではAA82、AB50、BB2であり、患者群でややBBが多かったが有意差はなかった(表)。各遺伝子型と血中MBL濃度との間には明らかな関連が見られたが、血中濃度の高い遺伝子型であるAAであっても血中MBLの低い場合があり、プロモーター領域多型性等他の要素の関与が考えられた(図1)。抗RNP抗体陽性者の間ではABもしくはBBである場合に抗体価がやや高い傾向が見られたが有意差はなかった(図2)。自己免疫疾患を発症した年齢との関係を検討したところAA、AB、BBの順に発症年齢が低くなる傾向が見られた。肺高血圧症等MCTDに関連した諸症状とMBL遺伝子多型との関連は現時点では明らかになっていない。経過中の入院を要する感染症の合併とMBL遺伝子型との関係を検討したところ、Bアリールを持つ患者では18名中6名、持たない患者では33名中7名であり、血中MBL濃度が低下するBアリールを持つ患者で感染症の合併がやや多い傾向が見られた。

D. 考案

MBLは自然免疫による感染防御に深く関わるほか、自己免疫疾患の発症や進行に関与が指摘されている。自己免疫疾患に関わるメカニズムは明らかではないが、何らかの環境因子の排除に役立っている可能性や、アポトーシス細胞の処理にMBLが有用でその減少や欠損が自己抗原の増加から自己抗体産生につながる可能性が考えられる。従ってMBLの遺伝子多型や血中濃度と抗RNP抗体をはじめとする自己抗体の産生、また病態との関連を検討していくことは重要と思われる。また、自己免疫疾患の治療に当たってはステロイドをはじめとした免疫抑制剤が使用されるため、通常成人では問題とならないMBL減少や欠損による感染症の増加が問題になる可能性もある。実際、骨髄移植にともなう感染症の増加とMBL遺伝子多型の関連が報告されており、自己免疫疾患における免疫抑制療法とMBLとの関連をさらに多くの症例により解明していくことは重要であると思われる。今回、これまでの報告と同様、抗RNP抗体陽性者においてもMBL遺伝子多型と血中MBL濃度との強い関連が確認できたが、病態との関連は明らかではなかった。今後さらに症例を増やし、関連の有無を明らかにする予定である。

1. Sasaki K, Tsutsumi A, Wakamiya N et al. Mannose binding lectin polymorphisms in patients with hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol* 35:960-5,2000.
2. Tsutsumi A, Sasaki K, Wakamiya N et al. Mannose binding lectin gene: polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. *Genes Immun* 2:99-104,2001.

表1. 抗RNP抗体陽性者におけるMBL遺伝子多型

	SLE	MCTD	SSc	計	健常人
AA	25	5	5	35	82
AB	9	4	3	16	50
BB	3	0	0	3	2
計	37	9	8	54	134

A:コドン54多数型アリール

B:コドン54少数型アリール

文献

9. MCTDにおける肺高血圧症(PH)の合併頻度および治療指針案の検証

分担研究者：吉田俊治¹

研究協力者：岡田 純²、近藤啓文²、深谷修作¹

所属施設：¹藤田保健衛生大学リウマチ感染症内科

²北里大学医学部内科

研究要旨

PHには前毛細血管性、後毛細血管性、さらに手術の適応となりうるマクロ血栓性のものがあり、治療や病態のうえからこれらの鑑別は重要である。そこでMCTDにおけるPHの正確な合併頻度とその病態を知るために、班内で調査を行うことにした。すなわちMCTD患者全例に心臓超音波検査を実施し、「PH診断の手引き」にある所見の有無を検討する。さらにPA圧>30mmHg群に関しては、肺機能検査と肺血流シンチを実施する。上記の調査票を作成し、臨床系分担研究者の施設で行えるよう準備中である。

また前年度の研究班で策定したMCTD合併PHの治療指針を検証するために、班内のPH合併MCTD患者について、prospectiveに治療指針に合致する例もしない例も登録して追跡解析する体制を事務局に整えた。

A. 研究目的

PHには前毛細血管性、後毛細血管性、さらに手術の適応となりうるマクロ血栓性のものがあり、治療や病態のうえからこれらの鑑別は重要である。そこでMCTDにおけるPHの正確な合併頻度とその病態を知ることが目的とした。

また前年度の研究班で策定したMCTD合併PHの治療指針¹⁾を検証することも目的とした。

B. 研究方法

1.MCTDにおけるPHの合併頻度の調査

(1)対照群として、SGカテにて平均肺動脈圧(PA圧)が25mmHg以上のMCTDをdefinite PHとし、「PH診断の手引き」²⁾にある所見の有無を検討し、肺機能検査(%DLCO、TLCを含む)と肺血流シンチを行う。

(2)他のMCTDに関しては、全例に心臓超音波検査を実施し(1年以内に行っていればその結果を利用)、「PH診断の手引き」にある所見の有無を検討する。さらにPA圧>30mmHg群に関しては、肺機能検査と肺血流

シンチを実施する。

倫理面においては、いずれも診断に必要な項目であり、問題ないと思われるが、各施設の状況に応じて、必要な施設では、倫理委員会などに申請していただくことにした。

2.MCTD合併PHの治療指針の検証

班内のPH合併MCTD患者について、prospectiveに治療指針にしたがって治療を行うと共に、事務局に登録することとする。また症例によっては、治療指針に従えないものもあろうが、これも登録する。

倫理面においては、この治療指針に必ずしもしたがう必要はなく、主治医のもっともよいと考える治療法が選択されるため、問題ないと思われる。ただ事務局に症例を登録するときには、個人情報の漏洩を防ぐため、名前の代わりに各施設毎の番号で登録することにした。

C. 研究結果

1.MCTDにおけるPHの合併頻度の調査

「MCTD肺高血圧症診断の手引き」に基づいて、患者調

査を行う。

各分担研究者の施設でSGカテを行っていないMCTD患者全例に心臓超音波検査を行う。さらに

(日)「労作時の息切れ」

(用)「胸骨左縁収縮期性拍動」

(火)「第Ⅳ肺動脈音の亢進」

について調べると共に、

(水)胸部X線写真で「肺動脈本幹部の拡大あるいは左第2弓突出」

(木)心電図検査で「右室肥大あるいは右室負荷」

の有無を調べる。

これらの検索でPHの確定あるいは疑いの場合には、さらに肺機能検査(%DLCOとTLCを含む)、肺血流シンチを行う。現在、本調査用の調査票がほぼ完成しており、近日中に各臨床系分担研究者の施設で調査予定である。

2.MCTD合併PHの治療指針を検証

2月1日より登録する体制を整えている。

D. 考察

これまでのMCTD班で、班内の膠原病患者におけるPH合併頻度を検討³⁾し、また全国疫学調査においても同様に膠原病患者におけるPH合併頻度を検討⁴⁾し、いずれもかなり高率であることが判明してきた。ただしこれらの調査では、PHの診断はMCTD患者全例に検索を行ったものではなく、主治医の判断のみに基づくものであり、正確性に欠けるきらいがある。さらに今回の検討により前毛細血管性、後毛細血管性の区別や外科的治療の可能なマクロ血栓性PHの頻度や予後がわかれば、膠原病性PHの実態と治療成績の向上が期待される。

治療指針に関しては、前期研究班で、文献的考察、実験的考察などにより1996年に作成された治療指針⁵⁾を改訂した。なるべくevidenceに基づくよう努力したが、evidenceのない部分もあり、改訂治療指針は検証が必要である。これを班内で行えば、治療指針に合わない症例もcontrolとして使用することができ、有用な情報の得られる可能性が高い。

E. 結論

MCTDにおけるPH合併の正確な頻度を求め、治療指針の検証を行う準備が整った。

文献

1. 吉田俊治、岡田 純、近藤啓文、深谷修作：MCTD合併肺高血圧症の治療指針(案)。厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業 混合性結合組織病に関する研究班平成13年度研究報告書 .18-19, 2000.
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, 31:159-166, 1991.
3. 鳥飼勝隆、深谷修作、国枝武義、ほか：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、p.24-27, 1999.
4. 東条毅、秋谷久美子、鳥飼勝隆、ほか：膠原病四疾患における肺高血圧症の頻度に関する全国疫学調査。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、p.3-6, 1999
5. 国枝武義：MCTDの病態別治療指針 肺高血圧症。混合性結合組織病の治療指針。(鳥飼勝隆、柏木平八郎、東條 毅編集)厚生省特定疾患混合性結合組織病調査研究班 1996, pp26-31.

CLINICAL RESEARCH PROJECT ON A SURVEY OF THE OCCURRENCE OF PULMONARY HYPERTENSION (PH) IN PATIENTS WITH MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASE (MCTD) AND VERIFICATION OF THE VALIDITY OF PRELIMINARY REVISED THERAPEUTIC GUIDELINE FOR PH IN PATIENTS WITH MCTD

Shunji Yoshida¹⁾, Jun Okada²⁾, Hirobumi Kondo²⁾, and Shusaku Fukaya¹⁾

Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine¹⁾
Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine²⁾

PH is classified into three groups: precapillary, postcapillary, and macro-thrombotic, the latter can be sometimes surgically treated. This classification is useful for proper treatment and etiological investigation. So we intend to survey the precise occurrence of PH in patients with MCTD in the Research Committee for MCTD. Echocardiography is done in all patients with MCTD, and check the presence of the items of “diagnostic criteria for PH in patients with MCTD” developed by the former Research Committee for MCTD. If the calculated pulmonary artery pressure is more than 30 mmHg, the pulmonary function test and pulmonary flow scintigraphy will be carried out. At present we have made the questionnaire, and are going to send them to the members of the Research Committee for MCTD in the near future.

To verify the validity of 2002 preliminary revised therapeutic guideline for PH in patients with MCTD, all the in-patients with PH in MCTD in the hospitals of the members of the Research Committee for MCTD will be enrolled at the office of the Committee. Each patient is expected to follow the preliminary guideline, but the doctor in charge will make final decision for the therapy. This enrollment will be expected to verify the guideline in several years.

10. 抗U1RNP抗体陽性例におけるBMPR2遺伝子の変異と抗BMPR2抗体に関する検討

分担研究者 : 岡田 純
研究協力者 : 石川 章¹⁾、近藤啓文¹⁾、北里英郎²⁾
所属施設 : 北里大学医学部内科¹⁾、北里大学医学部微生物学²⁾

研究要旨

目的：膠原病のPHとも多くの共通点を有する原発性肺高血圧症ではBMPR2遺伝子の変異が家族性のPPHだけでなく、散発性のPPHにも存在することが報告され注目されている。そこで、抗U1RNP抗体陽性PH例を対象にBMPR2遺伝子の変異およびBMPR2蛋白に対する自己抗体について検討した。

対象・方法：抗U1RNP抗体陽性例PH患者のサンプルDNA収集し、BMPR2遺伝子の変異の有無を検討。対照として、抗U1RNP抗体陽性PH非合併患者を用いた。また、BMPR2の合成ペプチド抗原に対する自己抗体を測定した。

結果：BMPR2の変異はシークエンサーにて解析したが、PH合併例7例、非合併例12例のいずれにおいても認められなかった。一方、BMPR2の合成ペプチド抗原に対する自己抗体では、MCTD 20例では 47 ± 11 unitとRA 5.1 ± 2.7 に較べ有意に高値であった。また、SLE40例でも 13 ± 19 とMCTDよりは陽性率が低い、SLEのなかで抗U1RNP抗体陽性例に限ると12例で 23 ± 24 と高い傾向がみられた。PH例のみでは、平均 96 ± 22 と、最も高い値を示した。

結語：抗U1RNP抗体陽性PH例では、BMPR2の変異はみられず、むしろ、BMPR2に対する自己抗体によりPHが生じる可能性が推測された。

A. 研究目的

MCTDのpulmonary hypertension(PH)の発症に関しては、不明であるが、primary pulmonary hypertension (PPH)との類似点も指摘されている。家族性PPHの発症に、BMPR2(bone morphogenetic protein receptor 2)遺伝子異常が存在することが報告¹⁾され、BMPR2の機能障害がPHに関連することが注目された。さらに、BMPR2遺伝子異常は、家族性のPPHだけではなく、散発性のPPH患者にもBMPR2分子の変異がみとめられることが報告された²⁾。BMPR2を介した細胞内伝達機能が働かず、その結果、肺血管の平滑筋細胞の増殖を来すことが想定されている^{2,3)}。一方、非家族性の肺高血圧症においても、angiotensin-1, BMPR1A, BMPR2等かからのシグナル伝達機構の障害が存在することが指摘されている⁴⁾。

一方、MCTDでは膠原病の中では、最も高率にPHを合併することが知られているが、その発症機序は不明である。そこで、MCTDの肺高血圧症におけるBMPR2の関与を明らかにすることは重要である。本研究では、BMPR2遺伝子の変異の有無、またBMPR2分子に対する自己抗体の存在について検討した。

B. 研究方法

対象：BMPR2の遺伝子解析には、当院通院中の抗U1RNP抗体陽性の患者で、遺伝子研究に関する同意が得られた患者19名を対象とした。一方、抗BMPR2抗体は、当院を受診した抗U1RNP抗体陽性の患者および対照として、関節リウマチ(RA)、全身性強皮症(SSc)、全身性エリテマトーデス(SLE) および健康人に血清を用いた。

方法: BMPR2の遺伝子解析には、患者より得た全血よりゲノムDNAをDNA抽出キット(QIAampDNA Blood Kit, QIAGEN社)にて採取し、定量後保存。Genomic DNAは、Deng¹⁾らの方法に従い、exon 6,8,11,12のプライマーを作成し、これを用いてPCR処理し、電気泳動にてPCR産物を確認後、PCR産物は直接シーケンサーにかけ解析した。

抗BMPR2ペプチド抗体は、C末(MTSSLQRPRVPLP)およびN末(TATTMVSKDIGMNCL)よりそれぞれ作成したペプチドをbiotinに結合させたものを作成した(Sigma社)。抗体の測定はGeerligtsら⁵⁾の方法に準じたAvidin-Biotin法にて測定した。すなわち、この抗原を5ug/mlの濃度で、ELISAプレート(Nunc Maxsorp)に吸着させ、IgG/IgM抗BMPR2ペプチド抗体を測定した。結果は、陽性コントロールを用いて、標準単位に変換し表示した。

C. 研究結果

BMPR2遺伝子解析は、変異の報告が多かった、exon 6,8,11,12を、抗U1RNP抗体陽性PH合併例7例、非合併例12例の計19例について検討したが、いずれにおいても変異は認められなかった。一方、BMPR2の合成ペプチド抗原に対する自己抗体では、N末の抗原に対する抗体は、健常人と膠原病患者血清との間に差が見られなかった。一方、C末の12ペプチドを抗原とした場合は、PH例で高値を示す症例がみられた。そこで、高値例の血清を標準として、抗体価を単位に変換し表示した。健常人12人の平均値プラス2SD以上である9unit以上を陽性と判定した。図1のごとく、MCTD 20例では 47 ± 11 unitとRA 5.1 ± 2.7 unitに較べ有意に高値であった。また、SLE 41例でも 13 ± 19 unitとMCTDよりは陽性率が低い、SLEのなかで抗U1RNP抗体陽性例に限ると12例で 23 ± 24 unitと高い傾向がみられた。PH例のみでは、平均 96 ± 22 unitと、最も高い価を示した。以上より、抗BMPR2抗体は抗U1RNP抗体陽性例に高い傾向が見られ、中でも抗U1RNP抗体陽性PHが最も高値を示した。そこで、MCTD以外のPHとの関係を検討した。膠原病に基づくPH症例では、抗BMPR2抗体は、抗U1RNP抗体陰性のSLEやSScに比べると抗U1RNP抗体陽性のPH群で有意に高値を示す傾向がみられた。

D. 考察

PHにBMPR2遺伝子の変異の関与が報告されているが、日本人におけるPH症例にBMPR2遺伝子の変異の有無がみられるか不明であるため、抗U1RNP抗体陽性患者を対象に、BMPR2ゲノムの検索を行った。今までに変異の報告が多かったexon 6,8,11,12ではMCTD患者でPHの有無にかかわらず変異は見られなかった。しかし、白人で変異の報告のあったexon 12は今回は十分に検索はできていないため、この部位に変異が存在する可能性は否定できない。しかし、日本人の家族性PPH症例では、BMPR2遺伝子の変異の存在が報告されたが⁶⁾、白人では、SSc関連患者のPH例では23例全例で変異が見られなかったことが報告された⁷⁾。これらの結果を考慮すると、MCTDなどの膠原病では、PHにBMPR2分子の変異によりPHが発症する可能性は低いものと考えられた。

そこで、MCTDにおけるBMPR2を阻害する自己抗体の存在の有無の可能性を検討した。BMPR2のC末を12AA抗原とする合成ペプチドに対する抗体の測定では、抗U1RNP抗体陽性例に有意に多く本抗体がみられ、その中でもPH症例が最も高値を示した。しかし、本抗体はC末を認識する抗体であり、C末は細胞内に存在することが指摘されている。したがって、本抗体が、BMPR2の機能を阻害するかは、さらに検討を要する。また、BMPR2の別の部位と反応する抗体が存在する可能性も考えられ、さらにBMPR2の受容体機能に関与するドメインを認識する自己抗体が存在するかを検討する必要がある。一方、BMPR2等からのシグナル伝達が、非家族性のPH例で存在することが報告されている⁸⁾ことから、PHの発症にBMPR2の重要性はさらに高くなっている。

抗U1RNP抗体陽性PH例では、BMPR2遺伝子の変異は現時点ではみられなかったが、BMPR2に対する自己抗体が高率に見られたことから、PHの発症に本抗体が関与している可能性が推測された。

文献

1. Deng, Z, JH Morse, SL Slager, N Cuervo, KJ Moore, et al. Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet* 67:737-44, 2000.
2. Thomson, JR, RD Machado, MW Pauciulo, NV Morgan, M Humbert, et al. Sporadic primary pulmonary hypertension is associated with germline mutations of the gene encoding BMPR-II, a receptor member of the TGF-beta family. *J Med Genet* 37:741-5, 2000.
3. Atkinson, C, S Stewart, T Imamura, RC Trembath, and NW Morrell. Immunolocalisation of BMPR-II and TGF-ss type I and II receptors in primary plexogenic pulmonary hypertension. *J Heart Lung*

Transplant 20:149, 2001.

4. Du, L, CC Sullivan, D Chu, AJ Cho, M Kido, et al. Signaling Molecules in Nonfamilial Pulmonary Hypertension. *N Engl J Med* 348:500-9, 2003.
5. Geerligs, HJ, WJ Weijer, W Bloemhoff, GW Welling, and S Welling-Wester. The influence of pH and ionic strength on the coating of peptides of herpes simplex virus type 1 in an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Immunol Meth* 106:239-44, 1988.
6. Uehara, R, H Suzuki, N Kurokawa, T Urashima, M Fujiwara, M Matoba, and Y Eto. Novel nonsense mutation of the BMPR-II gene in a Japanese

patient with familial primary pulmonary hypertension. *Pediatr Int* 44: 433-5, 2002.

7. Morse, J, R Barst, E Horn, N Cuervo, Z Deng, and J Knowles. Pulmonary hypertension in scleroderma spectrum of disease: lack of bone morphogenetic protein receptor 2 mutations. *J Rheumatol* 29: 2379-81, 2002.

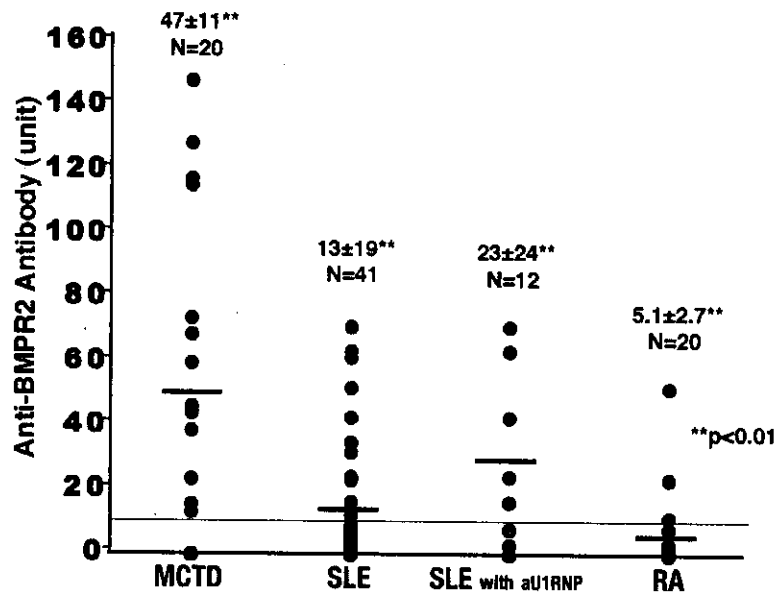


図1. 各種膠原病における抗 BMPR2 抗体

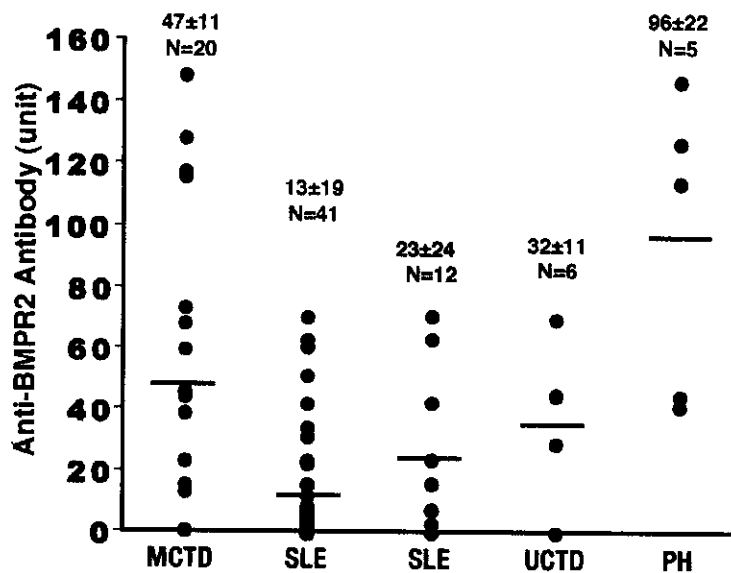


図2. 各種膠原病における抗 BMPR2 抗体と肺高血圧症

Case	Diagnosis	Exon (BMPR2)			
		Ex 6	Ex 8	Ex 11	Ex 12
1	PH	no	no	no	no
2	PH	no	no	no	no
3	PH	no	no	no	no
4	PH	no	no	no	no
5	PH	no	no	no	n.d.
6	PH	no	no	no	n.d.
7	PH	no	no	no	n.d.
8	no PH	no	no	no	no
9	no PH	no	no	no	no
10	no PH	no	no	no	no
11	no PH	no	no	no	no
12	no PH	no	no	no	no
13	no PH	no	no	no	n.d.
14	no PH	no	no	no	n.d.
15	no PH	no	no	no	n.d.
16	no PH	no	no	no	n.d.
17	no PH	no	no	no	n.d.
18	no PH	no	no	no	n.d.
19	no PH	no	no	no	n.d.

n.d.: not done, PH: Pulmonary Hypertension

表 1 . BMPR2 遺伝子の変異と抗 U1RNP 抗体陽性患者 - 肺高血圧症との関係

STUDY OF BMPR2 GENE AND ANTI-BMPR2 ANTIBODY IN PATIENTS WITH ANTI-U1RNP ANTIBODY

Okada J, Ishikawa A, Kondo H, and Kitasato H*

Department of Internal Medicine, Department of Microbiology* Kitasato University School of Medicine
1-15-1, Kitasato, Sagami-hara 228-8555 JAPAN

To determine the significance of the bone morphogenetic protein receptor 2 (BMPR2) in development of pulmonary hypertension (PH) in patients with anti-U1RNP antibody. We examined the gene mutations of BMPR2 and antibody to BMPR2 synthetic peptide antibody.

METHODS: BMPR2 gene mutations were determined using nucleic acid sequencing in 7 MCTD patients with PH and 12 patients without PH. Anti-BMPR2 synthetic peptide antibody was examined in serum from patients with connective tissue diseases, using ELISA.

RESULTS: No BMPR2 gene mutations in exon 6,8,11,12 were found in patients with MCTD. Anti-BMPR2 antibody was frequently found in 95% of 20 cases of MCTD (47±11 unit) comparison with 10% of 20 cases of RA (5.1±2.7 unit). In SLE (40 cases), anti-BMPR2 antibody level was 13±19 unit. Patients with PH (7 cases) showed significantly high level of anti-BMPR2 antibody (96±22 unit).

CONCLUSION: Pulmonary arterial hypertension in patients with anti-U1RNP antibody was not associated with germline mutations of BMPR2, however there was an association between anti-BMPR2 synthetic peptide antibody level and PH in those patients.

11. 肺高血圧症 (PH) 肺における骨形成因子 II 型レセプター (BMPR-II) の発現についての組織化学的検討

分担研究者：吉田俊治¹

研究協力者：片山雅夫¹、玉熊桂子¹、高橋久英²

所属施設：¹藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科

²藤田保健衛生大学衛生学部衛生技術学科

研究要旨

目的；原発性肺高血圧症 (primary pulmonary hypertension; PPH) 患者で骨形成因子 (bone morphogenetic protein; BMP) II 型レセプター (BMPR-II) の高率な遺伝子変異と同患者の肺での BMPR-II の発現低下が報告されている。そこで、PPH モデルであるモノクロタリン (MCT) 誘発 PH ラットを用い、BMPR-II の発現およびステロイド治療の影響について、免疫組織化学的に検討した。方法；正常ラットおよび MCT 誘発 PH ラット肺における BMPR-II、BMP の発現について抗 BMPR-II 抗体、抗 BMP 抗体を用いて免疫組織染色を行い比較検討した。また、ステロイド薬投与の影響についても検討した。結果；組織化学的検討で正常ラット肺組織において BMPR-II は主に肺動脈血管内皮細胞に発現がみられた。その他にマクロファージにもみられた。MCT 誘発 PH ラットにおいても BMPR-II は肺動脈血管内皮細胞に発現がみられたが正常ラット肺に比して低下していた。MCT 誘発 PH ラット肺の肺動脈血管内皮細胞における BMPR-II の発現はステロイド治療群では低下が軽度であった。結語；MCT 誘発 PH ラットの PH 発症に肺動脈血管内皮細胞における BMPR-II の発現低下が関与している可能性が示唆された。また、低下した BMPR-II 発現のステロイド薬による回復が PH の改善に関与している可能性が考えられた。

A. 研究目的

混合性結合組織病 (MCTD) では肺高血圧症 (PH) が予後を左右する重要な合併症である。しかし、その発症機序は未だ不明である。MCTD や他の膠原病に合併する PH の多くは、原発性 PH (PPH) と同様に肺動脈血管病変に基づくものであることが知られている。病理学的には、肺動脈、細小動脈の内膜、中膜の肥厚と内腔の狭小化が特徴である。この内膜、中膜の肥厚には種々のサイトカインや増殖因子の関与が考えられているが、未だ不明である。

最近、家族性 (familial) あるいは散発性 (sporadic) PPH 患者で骨形成因子 (bone morphogenetic protein; BMP) II 型レセプター (BMPR-II) の遺伝子変異が高率にみられることが報告された¹⁻³⁾。これにより BMP のシグナルに異常が起きることによって疾患が

生じてくることが考えられる。

また、移植のため摘除された PPH 患者の肺を用いた組織化学的検討で BMPR-II が肺血管 (主に血管内皮細胞) に発現していることが示されている。そして PPH 患者の肺での BMPR-II の発現は健常肺組織での発現に比して低下がみられた。また、続発性 PH 患者の肺組織においても、軽度だが、BMPR-II の発現の低下がみられた³⁾。

しかし、BMPR-II の膠原病性 PH への関与は明らかでない。そこで今回我々は、PPH 類似の PH モデルであるモノクロタリン (MCT) 誘発 PH ラット (MCT/PH ラット) を用い、BMPR-II と PH の関連について検討した。また、ステロイド療法の治療効果について免疫組織学的に検討した。

B. 研究方法

MCT/PHラットは、10週齢のWistar系雄性ラット(280～300g)にMCT(60 mg/kg)を皮下投与して作製し、MCTを投与しない正常ラットと比較検討した。また、MCT投与後にメチルプレドニゾン(30mg/kg、腹腔内)を週3回投与した治療群と非治療群で検討を行った。PHの指標である右室重量比(右室/左室+中隔)は別記のとおり求めた⁹⁾。

肺は左右上葉、下葉を2分にし、各々ホルマリン固定と凍結保存し、病理組織学的検討に用いた。エラスチカ・ファンギーソン染色した肺組織標本を用い、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、中膜肥厚の指標とし、治療の影響について比較検討を行った。

免疫組織化学は一次抗体としてSanta Cruz Biotechnology社製Goat抗BMPR-II抗体、Rabbit抗BMP抗体を用い、二次抗体や染色システムはニチレイ社製ヒストファイブ免疫組織化学染色用キットを使用した。

C. 結果

肺の病理組織学的変化は、MCT投与後14日目のHE染色の検討でPHに特徴的な変化である著明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の程度が非治療群に比し軽度であった。

各群3匹ずつ、1ラットにつき外径50～150 μmの筋性肺動脈をランダムに4血管ずつ選択して行った中膜面積比の検討において、第2週では、正常群 0.468 ± 0.103 (n=12)、非治療群 0.645 ± 0.102 (n=8)、治療群 0.569 ± 0.122 (n=12)で、ラット数が少ないため有意差はみられなかったが、治療群では、非治療群に比し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。

正常ラット肺組織においてBMPR-IIは主に肺動脈血管内皮細胞に発現がみられた。正常Goat血清を用いたコントロールでは染色がみられなかった(図1)。BMPR-IIの発現はその他にマクロファージにもみられた。MCT/PHラットにおいてもBMPR-IIは肺動脈血管内皮細胞に発現がみられたが正常ラット肺に比して低下していた。ステロイド投与による影響ではMCT/PHラット肺組織の肺動脈血管内皮細胞における

BMPR-IIの発現はステロイド治療群では低下が軽度であった(図2)。

抗BMP抗体での免疫染色ではBMPは肺動脈血管周囲に染色がみられたが、正常肺とMCT/PH肺の間で明らかな差はみられなかった(データは示さず)。

D. 考察

PPH患者でBMPR-II遺伝子変異が高率にみられるものの、BMPR-II遺伝子異常がないPPH患者もおり、PPHの原因としてBMPR-II遺伝子だけでは説明がつかない。また、PPH患者で肺でのBMPの受容体であるBMPR-IIの発現が健常肺組織での発現に比して低下しているとの報告がある。このこともBMPとその受容体であるBMPR-IIの結合とそれに続くシグナル異常がPPHの発生に関与している可能性を示すものである。しかし、PPHで高率にみられるBMPR-II遺伝子変異が膠原病性PH患者に高率にみられるかどうかについては未だ明らかにされていない。もし、みられた場合はPPHと同様にBMPR-IIの発現、あるいはBMPのBMPR-IIへの結合やそれ以降のシグナル異常がPHの発生に関与している可能性が考えられる。一方、みられない場合には、別の原因、例えばPH合併MCTD患者の自己抗体、特にMCTDに特徴的である抗RNP抗体、あるいは他の血清因子がBMPのBMPR-IIへの結合を阻害するなどの拮抗作用などが関与している可能性も推測され、今後検討すべき課題と考えられる。

最近の報告でBMPシグナル異常がPH発生に関与している可能性が示唆されているが、未だ解明されていない⁶⁾。BMPはTGF- β (transforming growth factor β)スーパーファミリーに属する因子である。TGF- β は細胞増殖抑制作用を持つことが知られている。BMPはBMPR-IIに結合すると、BMPR-IIとBMPR-Iの複合体が形成され、BMPR-Iの活性化が起こり、シグナル伝達が行われる。PPHでBMPR-IIの遺伝子変異が高率にみられたことから、この遺伝子異常がBMP・BMPR-II系のシグナル異常を来し、肺動脈構成細胞である血管内皮細胞や平滑筋細胞の増殖制御の破綻につながり、PHの発生に関与している可能性が考えられる。

今回、PPHの動物モデルとされるMCT/PHラットを用いてPHの発症とBMPR-IIの関連について検討した。免疫組織化学的検討で正常ラット肺の肺動脈血管内皮細胞にBMPR-IIの発現がみられたが、MCT/PHラット肺ではBMPR-IIの血管内皮細胞での発現が正常肺に比し低下していた。BMPR-IIの発現低下がPHの

発生に関与している可能性が示唆された。

また、ステロイド薬のMCT/PHラット肺におけるBMPR-IIの低下に対する影響については、ステロイド薬投与によって、MCT/PHラット肺のBMPR-II発現に改善がみられた。ステロイド薬投与によって、組織学的に肺動脈血管の中膜肥厚の改善傾向がみられたことと合わせて考えると、BMPR-IIの発現の低下の回復に、ステロイド薬の投与が関与したと推測でき、このことより、BMPR-IIの低下を抑制することがPHの改善に関与し、PHの治療につながる可能性が示唆された。

E. 結論

本研究では、下記のことが結論として得られた。

1. MCT/PHラットのPHに肺動脈血管内皮細胞におけるBMPR-IIの発現低下が関与している可能性が示唆された。
2. 低下したBMPR-II発現のステロイド薬による回復がPHの改善に関与している可能性が考えられた。

文 献

1. The International PPH Consortium, Lane KB, Machado RD, et al. Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF- β_2 receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nat Genet* 26: 81-84, 2000
2. Deng Z, Morse JH, Slager SL, et al. Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet* 67: 737-44, 2000
3. Atkinson C, Stewart S, Upton PD, et al. Primary pulmonary hypertension is associated with reduced pulmonary vascular expression of type II bone morphogenetic protein receptor. *Circulation* 105: 1672-78, 2002
4. Thomson JR, Machado RD, Pauciuolo MW, et al. Sporadic primary pulmonary hypertension is associated with germline mutations of the gene encoding BMPR-II, a receptor member of the TGF- β_2 family. *J Med Genet* 37: 741-45, 2000
5. 吉田俊治, 片山雅夫, 竹田洋祐, 鳥飼勝隆, 笠原正男. 肺高血圧症に及ぼすステロイド剤の影響に関する組織化学的検討. 厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業混合性結合組織病に関する研究班平成12年度研究報告書. 23-26, 2001
6. Du L, Sullivan CC, Chu D et al. Signaling molecules in nonfamilial pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 348: 500-9, 2003

抗BMPR-II抗体 (Goat)



コントロール/正常Goat血清



図1 正常ラットにおけるBMPR-IIの発現

ステロイド非治療群



ステロイド治療群



図2 MCT/PHラット肺におけるBMPR-IIの発現に対するステロイド治療の影響

HISTOCHEMICAL STUDY ON THE EXPRESSION OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN RECEPTOR ON THE LUNG OF PULMONARY HYPERTENSION.

Shunji Yoshida¹⁾, Masao Katayama¹⁾, Keiko Tamakuma¹⁾, and Hisahide Takahashi²⁾

Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine¹⁾,
Faculty of Medical Technology, Fujita Health University School of Health Sciences²⁾

Heterozygous germline mutations of the gene encoding type II bone morphogenetic protein receptor (BMPR-II) and marked reduction of BMPR-II expression in the lungs have been found in many patients of primary pulmonary hypertension (PPH). To clarify a role of BMPR-II in the development of PH, we investigated the expression of BMPR-II and the effect of administering glucocorticoid in the lungs of rats with monocrotaline (MCT)-induced PH by immunohistochemical staining.

The predominantly endothelial localization of BMPR-II protein was found in normal rat lungs. BMPR-II immunostaining was also demonstrated in macrophages. In rats treated with MCT, BMPR-II expression was observed on endothelial cells of pulmonary arteries but much less than that in normal rats. A less marked reduction was observed in rats with glucocorticoid treatment.

These results suggested that reduced BMPR-II expression might have an important role on the development of PH in MCT-induced PH rat. It is suggested that glucocorticoid therapy might be effective on the improvement of PH through the restoration of reduced BMPR-II expression.

12. 膠原病合併肺高血圧症患者における一酸化窒素合成酵素の遺伝子多型

分担研究者： 原 まさ子

研究協力者： 川口 鎮司

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

肺高血圧症(PH)は、基礎疾患の同定できない本態性の疾患と、混合性結合組織病を含む膠原病疾患に併発する2次性の病態が想定されている。近年、本態性肺高血圧症患者では、血管作動性因子の遺伝子異常が報告されている。そこで、膠原病に合併するPH症例に関し、血管拡張因子である一酸化窒素(NO)の合成酵素の遺伝子多型を検討した。5'非翻訳領域に一塩基の遺伝子多型が存在し、PHを合併する膠原病患者と、健常人にて有意な違いがみられた。このことより、NO合成酵素産生能の違いが、PH患者血清中NO濃度の低下に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

混合性結合組織病(MCTD)は、抗U1-RNP抗体の産生を特徴とする病因不明の自己免疫疾患であり、他の膠原病に比し、肺高血圧症(PH)の合併が高頻度にみられる。PHは、生命予後に大きな影響をあたえており、その病態の解明および治療方針の確立は大きな課題である。現在、種々の血管拡張薬が投与され、治療がすすめられているが、根治療法とは言えず、欧米では移植術の適応と考えられている。病理学的検討において、MCTDに併発する肺高血圧症は、肺動脈の内膜・中膜の肥厚、血管の収縮などに伴う血管内腔の狭窄により病態が形成されていると考えられている。MCTD以外の膠原病に伴うPHでも同様の病理組織所見がみられ、また、抗U1-RNP抗体が陽性の症例で頻度が高いことより、抗U1-RNP抗体と血管内皮傷害の関与が推定されている。一方、血管内皮傷害の原因として、血管収縮因子および血管拡張因子の病変局所での産生異常の可能性がある。我々のこれまでの検討では、血管収縮因子として、エンドセリン-1(ET-1)、血管拡張因子として一酸化窒素(NO)の産生異常が病態形成に関与していることが示唆されたり、PHとの関係としては、PHの合併がなければ、ET-1とNOは、ともに血中で増加しているが、PH合併例では、ET-1が上昇するにもかかわらず、NOの上昇は認められなかった。このことより、

PHの発症には、NO産生異常が関与している可能性を考えている。そこで、NO産生異常と遺伝子異常との関与を検討する目的で、NOの合成酵素(NO synthase, NOS)の遺伝子解析を行った。NOSには、3種類のisoformが存在し、構成的に産生されているNOS-1、NOS-3と、炎症性サイトカインやET-1によって誘導されるinducible NOS(NOS-2)がある。今回の検討では、NOS-2の遺伝子多型について解析した。

B. 研究方法

1) 対象はMCTD患者5例(PH合併例1例)、強皮症(SSc)患者13例(PH合併例5例)、全身性エリテマトーデス(SLE)4例(PH合併例4例)、健常人30例。東京女子医大倫理委員会の方針に従い、対象者に対し、説明と理解を得て文書にて同意をとり、末梢血リンパ球を採取しDNAを分離。

2) inducible NOSのexon 1を直接シークエンス法にて解析した。

C. 研究結果

iNOS遺伝子は、Exon 27から構成され、すでに10以上のsingle nucleotide polymorphisms (SNPs)の報告がみられる。転写調節に関与する可能性のある遺伝子多型を検討する目的で、5'-非翻訳領域(5'-UTR)

の部位にみられる、Exon 1の+669 (C/G)のSNPの発現を検討した。Genotypeを図1に示す。PH合併例では、C/Cが高頻度に見られるのが、PH非合併例では、C/Gあるいは、G/Gが高頻度に見られた。症例数が少なく、今回の検討では、有意な差は、みられなかった。また、遺伝子上に、Cまたは、Gを有している頻度を検討した。表1に示すように、PH合併例では、全体で、70%が、Cを有しているにもかかわらず、PH非合併例では、41%であった(p<0.05, by Fisher's exact test)。また、自己免疫疾患を有しない健常人では、40%とPH非合併例のMCTD、SSc症例と差が見られなかった。

D. 考察

今回の検討より、PH合併例では、健常人あるいは、PH非合併例に比し、iNOSの遺伝子多型に有意な差がみられた。このことは、iNOSの遺伝子多型が、PH症例のNOS産生に影響を与えている可能性を示唆していると考えた。炎症性サイトカインあるいは、ET-1により誘導されるNOは、その大部分がiNOSにより制御さ

れており、iNOSの産生異常は、NOの産生増加あるいは低下を惹起する可能性が考えられている。近年、iNOSの遺伝子多型が、糖尿病の発症に関与するとする報告²⁾や、糖尿病性網膜症の発症に関与しているとする報告³⁾がみられるが、遺伝子多型がiNOS産生に直接関与していることを明らかにした報告はない。今回の我々の検討でも、直接的なiNOS遺伝子の転写活性におよぼすSNPの関与に関しては明らかにしていない。今後、この5' -UTRのSNPと転写活性の検討が必要と考えられた。また、遺伝子多型が、iNOS遺伝子上に複数存在することより、ハプロタイプとしての頻度の検討が必要であり、今後、症例を増やし、検討する予定である。

文献

- 1.原まさ子、川口鎮司: 厚生労働省特定疾患 混合性結合組織病に関する研究班、平成13年度研究報告書、56-59.
- 2.Linkage of human inducible nitric oxide synthase gene to type 1 diabetes. J Clin Endocrinol Metab 86:2792-2796, 2001
- 3.Inducible nitric oxide synthase gene and diabetic retinopathy in Asian Indian patients. Clin Genet 61:344-348, 2002

表1. iNOS 遺伝子多型の発現頻度、n (%)

	C	G	
PH 合併例 (n = 10)	14 (70)	6 (30)	* *
MCTD (n = 1)	2 (100)	0 (0)	
SSc (n = 5)	6 (60)	4 (40)	
SLE (n = 4)	6 (75)	2 (25)	
PH 非合併例 (n = 42)	34 (41)	50 (59)	
健常人 (n = 30)	24 (40)	36 (60)	
MCTD (n = 4)	3 (38)	5 (62)	
SSc (n = 8)	7 (44)	9 (56)	

* P < 0.05 by chi-square analysis

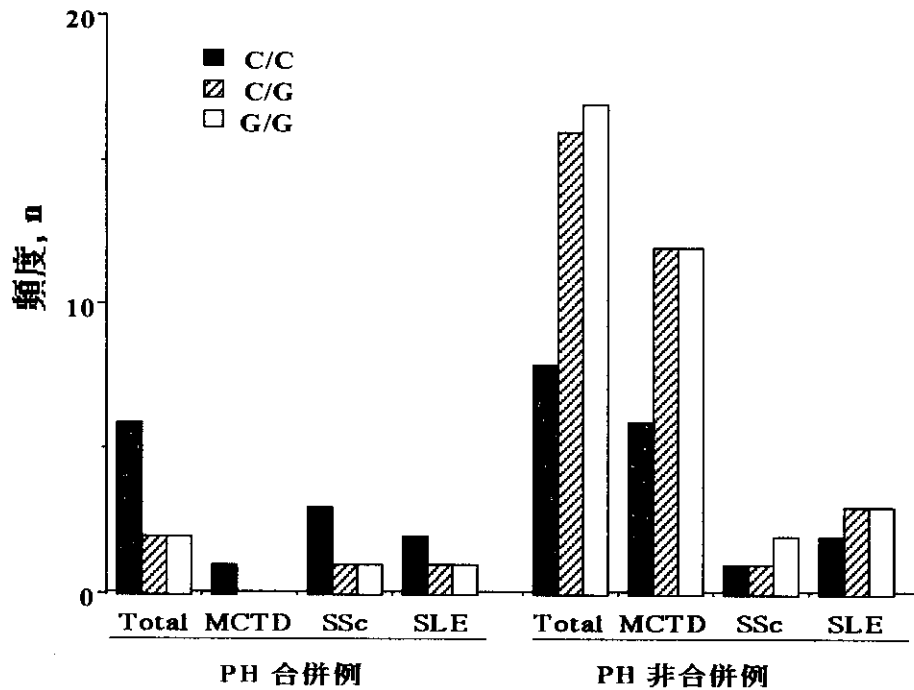


図1 . Inducible NOS 遺伝子の exon 1 にみられる遺伝子多型の頻度

Correlation of the human inducible nitric oxide synthase gene to pulmonary hypertension complicated with collagen diseases

Masako Hara, and Yasushi Kawaguchi

Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University

MCTD is a connective tissue disease characterized by the presence of anti-U1-RNP antibody in patients' sera. Vascular involvements including Raynaud's phenomenon and pulmonary hypertension are one of a major clinical feature of MCTD. Recently, it was reported that several vasoactive peptides might be involved in vascular involvements of MCTD. In the previous study, we demonstrated that nitric oxide (NO) was down-regulated in patients with PH complicated with MCTD. In this study, we investigate the single nucleotide polymorphism (SNP) of inducible NO synthase (iNOS). Ten patients with PH and 30 healthy normal controls were enrolled and the genomic DNA was collected with informed consent according to the approval by the institutional Genome-Ethics Committee of Tokyo Women's Medical University. A SNP (C/G) was located in exon 1 of the iNOS gene. The genotype of C/C was higher frequency in patients with PH than that in healthy donors. It suggests that a SNP of iNOS may be involved in the regulation of iNOS synthesis.

13. 膠原病に伴う肺高血圧症症例における肺動脈血管内皮細胞表面上のプロスタサイクリン合成酵素発現の検討

分担研究者：吉尾 卓¹

研究協力者：奈良 浩之¹、簗田 清次¹、佐久間 裕司²、齋藤 建²

所属施設：¹自治医科大学アレルギーリウマチ科

²自治医科大学病理診断部

研究要旨

目的：膠原病合併肺高血圧症(PH)におけるEC表面上のプロスタサイクリン合成酵素(PGI₂-S)発現について免疫組織化学的に検討した。方法：症例は混合性結合組織病(MCTD) 2例、全身性エリテマトーデス(SLE) 2例、強皮症(SSc) 1例、多発性筋炎(PM) 1例のホルマリン固定肺組織を用い、ポリクロナール抗PGI₂-S抗体を作成し、肺動脈血管内皮細胞(EC)表面上のPGI₂-S発現率を正常肺組織(原発性肺癌症例3例)を対照とし比較検討した。研究結果：SLEの1例でPGI₂-S発現の著しい低下を認めたが、膠原病全体としては正常例と比較して有意なPGI₂-S発現低下を認めず、むしろ小動脈レベルの血管ではPGI₂-S発現が亢進している傾向がみられた。特にMCTD症例においては小動脈レベルで統計学的有意差は認めなかったもののPGI₂-S発現が増強している傾向を認めた。結論：膠原病各疾患でPGI₂-S発現に若干ばらつきがみられたが、全体としてはEC表面上の有意なPGI₂-S発現の低下は認めなかった。膠原病合併PH発症誘因が、PPHとは組織学・病態生理学的に異なる可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、原発性肺高血圧症(PPH)の発症・進展に肺動脈血管内皮細胞(EC)表面上のプロスタサイクリン合成酵素(PGI₂-S)発現の低下、PGI₂-S産生低下が関連している可能性が報告されている¹⁾。

膠原病合併肺高血圧症(PH)におけるプロスタサイクリンの治療効果は、PPHに比べて若干劣っていた²⁾。また、膠原病合併PHにおいては免疫抑制療法の有効性が報告されており^{3,4)}、PH発症に何らかの免疫学的関与も想定されている。今回、我々は膠原病に伴うPHの発症・進展にPPH同様に肺動脈EC表面上のPGI₂-S発現低下が関連しているか否かを検討した。

B. 対象・方法

(1) 症例 (Table 1)：症例は混合性結合組織病(MCTD) 2例、全身性エリテマトーデス(SLE) 2例、強皮症(SSc) 1例、多発性筋炎(PM) 1例で1985年2月～

2000年9月の剖検例を対象とした。年齢分布は29～63歳(平均45.7±14.6歳)で女性4例、男性2例で膠原病診断からPH診断までの期間9ヶ月～25年(平均110.5±105.8ヶ月)、PH診断時から死亡に至るまでの期間2ヶ月～3年3ヶ月(平均19.0±12.4ヶ月)であった。PH診断は右心カテーテル、心エコー、心電図変化等、臨床的に診断された。肺動脈圧はPH診断後の最高値であり、心エコーによる収縮期肺動脈圧はベルヌーイの簡易式より算定したものである。MCTD 1例で肺動脈圧測定を行っていないが、心電図変化、心不全にいたる経過でPHの合併と診断した。

対照は、正常肺組織(原発性肺癌症例3例)を用い比較検討した。

(2) 抗PGI₂-S抗体作成：ポリクロナール抗PGI₂-S抗体はヒトPGI₂-Sの114-123番目のアミノ酸配列[[C]HYSPSDEKAR]に一致する合成ペプチドをウサギに免疫して作成した。抗PGI₂-S抗体の特異性は合