

## 混合性結合組織病合併肺高血圧症の自然経過に関する研究

分担研究者：吉田俊治 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科教授  
研究協力者：深谷修作 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科  
研究協力者：岡田 純、近藤啓文 北里大学医学部内科

### 研究要旨

【目的】昨年度の調査で混合性結合組織病（MCTD）患者全例に心エコー検査を行うと22.5%と高率に肺高血圧症（PH）の合併が見られた。また、その約半数にはPHに特徴的な臨床症状や心電図所見、胸部X線所見を認めなかった。そこで、これらの症例を追跡調査し、MCTD合併PHの自然経過を明らかにすることを第1の目的とした。また、これらの結果と併せて、昨年度得られたデータを再検討し、治療対象とすべきPH患者を明らかにすることを第2の目的とした。【方法】昨年度の調査でPHの合併が明らかとなった班内のMCTD患者39例を対象とした。平成16年12月に本研究班の臨床系班員に調査票と該当症例のリストを郵送し、その回答を求めた。調査項目は、PHに特徴的な臨床症状の有無、心電図、胸部X線写真、心エコー検査、肺機能検査、肺血流シンチグラム、右心カテーテル検査とした。また、昨年度抽出されたPH合併患者のデータより分割表法にてPHに特徴的な臨床症状や心電図所見、胸部X線所見を呈するPA圧のカットオフ値の設定を試みた。【結果】該当症例39例に調査を求め、16例の解析可能な回答を得た。PHに特徴的な臨床症状や心電図所見、胸部X線所見の陽性項目数はほとんど変化がなく、変動を認めた症例においてもその変動と肺動脈（PA）圧の変動とは関連がなかった。また、PA圧が40mmHg以上の患者においてはPA圧に変動を認めたが、40mmHg未満の患者においてはその変動を認めなかった。カットオフ値についてはPA圧40mmHgが感度73%、特異度88%、正確度82%と最も良好であった。【結語】1. PA圧が比較的低値（軽症）のPH患者において、1年間の観察期間ではPHに特徴的な臨床所見やPA圧にほとんど変化を認めなかった。しかし、観察期間が十分とは言えず、さらなる経過観察が必要である。2. PA圧40mmHg以上の患者ではPA圧に変動を認め、40mmHg未満では変動を認めなかったこと、PHに特徴的な臨床所見の有無に関するPA圧の最適なカットオフ値が40mmHgであったことより、PA圧40mmHg以上が治療対象のPH患者と考えられた。

### A. 研究目的

昨年度、混合性結合組織病（MCTD）患者において肺高血圧症（PH）に特徴的な臨床症状や胸部X線所見、心電図所見だけでなく、心エコー検査まで行ってPHの合併について判断し、正確なPH合併率を調査した。その結果、MCTD患者では22.5%にPHの合併を認め、従来の報告より高率であった（表1）。また、肺動脈（PA）圧が比較的低く、PHに特徴的な臨床所見などを認めない症例（軽症例）が約半数を占めた<sup>1)</sup>。そこで、これらの症例、特に軽症例の自然経過を明らかにすることを第1の目的とした。

また、昨年度の調査で抽出されたPH合併例においてPHに特徴的な臨床所見などを生じるPA圧のカットオフ値の設定を行い、今回の解析と併せて治療対象とすべきPH患者を明らかにすることを第2の目的とした。

### B. 研究方法

昨年度抽出されたPH合併MCTD患者を対象として、平成16年12月に下記の項目に関し調査を行った。MCTD PH診断の手引き<sup>2)</sup>に記載されている①労作時の息切れ、②胸骨左縁収縮期性拍動、③第ⅡPA音の亢進、④胸部X線写真でのPA本幹部の拡大または左第2弓突

出、⑤心電図での右室肥大または右室負荷所見、の5項目を必須の調査項目とした。⑥心臓超音波検査での推定PA圧と⑦右心カテーテルでの平均PA圧はどちらかまたは両方を求めた。①から⑦の何れかに陽性所見を認める場合は、⑧肺機能検査(%DLCO、%1秒率、TLC、%VC)と⑨肺血流シンチグラムを調査項目に加えた。陽性所見を認めなかった場合でも⑧、⑨の回答は妨げないこととした。また、MCTD以外に診断可能な膠原病についても回答を求めた。

得られた回答よりPA圧やPHに特徴的な臨床所見などの推移を検討した。

また、昨年度抽出されたPH合併患者のデータを再検討し、PHに特徴的な臨床所見を呈しうるPA圧のカットオフ値を分割表法を用いて検討した。

### C. 結果

今回の調査該当症例39例中解析可能な回答を得たのは16例であった。

まず、PA圧の変動であるが、PA圧が40mmHg以上の症例と未満の症例で異なっていた。すなわち、PA圧40mmHg未満の症例ではPA圧はほとんど変動していなかった。一方、PA圧40mmHg以上の症例では比較的大きな変動を認めた(図1)。

次にPHに特徴的な臨床所見(研究方法で述べたMCTD PH診断の手引きに記載されている①から⑤の項目)は、基本的にほとんど変動を認めなかった。認める所見数が増加した症例は2例で、減少した症例は1例であった。具体的な項目、PA圧の推移は表2に示した。

肺機能検査や肺血流シンチグラムは回答症例数が少なく検討できなかった。

最後にPHに特徴的な臨床所見を呈するPA圧のカットオフ値は、40mmHgで感度73%、特異度88%、正確度82%( $p=0.0004$ )と最も良好であった(表3)。

### D. 考察

昨年度の調査でPA圧が比較的低く、PHに特徴的な臨床所見などを認めない症例(軽症例)が多数見出された。それ以前の調査<sup>3)</sup>ではこれら軽症例の存在は今まで認識されていなかったため、その自然経過などは全く不明であり、治療の必要性については判断する材料すらない。そこで、観察期間は1年と短い、その経過を把握するためPH合併症例を対象に追跡調査を行った。

昨年度PA圧が40mmHg未満であった症例ではほとんどPA圧に変動を認めず、40mmHg以上の症例では改善や増悪を認めた。治療内容が不明であるため、改善理由が治療にあるのか自然経過なのか判断できないが、PA圧40mmHg以上では悪化症例の存することが確認された。

PHに特徴的な臨床所見は1年間の観察期間ではほとんど変化を認めなかった。これはPA圧が比較的低く、PHに特徴的な臨床所見を認めない症例(軽症例)が多数含まれており、これらの症例でPA圧の変動がほとんど見られなかったことに由来する可能性がある。一方、PA圧40mmHg以上でPA圧が改善した症例、増悪した症例いずれにおいても同様にこれらの臨床所見にほとんど変動を認めず、1年間の比較的短い観察期間ではPA圧が変動したとしても、PHに特徴的な臨床所見の陽性項目数はほとんど変化しないと判断された。しかし、昨年度の研究でPA圧とこれらの臨床所見の陽性項目数が正相関を認めたことを考えると、観察期間を十分に取れば、PA圧の変化とこれらの臨床所見の陽性項目数の変化が相関する可能性も考えられ、さらなる経過観察が必要と考えられた。

①労作時の息切れ、②胸骨左縁収縮期性拍動、③第II PA音の亢進、④胸部X線写真でのPA本幹部の拡大または左第2弓突出、⑤心電図での右室肥大または右室負荷所見は、PHに対する代償機転であったり、代償しきれなくなって出現してくる所見と考えられる。したがって、これらの臨床所見を伴ったPHが治療対象とも考えられる。しかし、MCTDには間質性肺炎や心膜炎などPH以外の要因でこれらの臨床所見を呈することもあり、PA圧も加えて治療の必要性を判断すべきであろう。そこで、これらの臨床所見を呈するPA圧のカットオフ値の設定を試みた。その結果、カットオフ値をPA圧40mmHgに設定すると臨床所見の有無に対し、感度73%、特異度88%、正確度82%( $p=0.0004$ )で最も良好であった(表3)。

1年間の観察期間ではPA圧40mmHg以上の症例でPA圧の悪化が認められること、PHに特徴的な臨床所見を呈するPA圧のカットオフ値が40mmHgに設定しうることより、さらなる検討が必要ではあるが、PA圧40mmHg以上の症例が治療対象と考えられた。

### E. 結論

1. 1年間の観察期間ではPA圧の悪化がPA圧40mmHg以上の症例で認められた。2. 1年間の観

察期間ではPHに特徴的な臨床所見にほとんど変化を認めなかった。3. PHに特徴的な臨床所見を呈するPA圧は40mmHg以上であった。4. 以上のことより、治療対象とすべきPHはPA圧40mmHg以上の症例と考えられた。

### 文献

1. 吉田俊治, 深谷修作, 岡田純ほか: 混合性結合組織病における肺高血圧症の合併頻度調査. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業平成16年度総括・分担研究報告書: 43-46, 2004
2. 厚生省結合組織病調査研究班: 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, 岡枝武義ほか: 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: 24-27, 1999

表1. 臨床症状・胸部X-p・ECGと肺高血圧症

(UCG施行例)

臨床症状などを認める症例の方が肺高血圧症を合併しやすい  
肺高血圧症を有する症例の2/3以上が臨床症状などを認めない

		臨床症状などの有無		
		あり	なし	計
肺高血圧症の有無	あり	7	18	25 (22.5%)
	なし	9	77	86

p=0.03

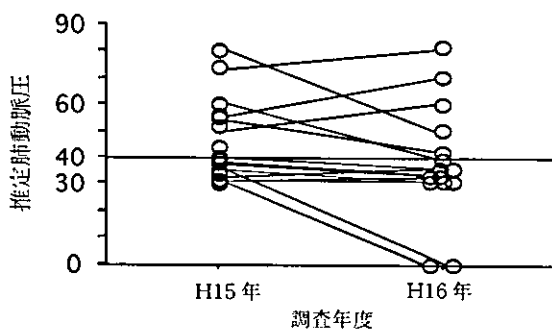


図1. 推定肺動脈圧の推移

表2. 臨床症状・所見の陽性項目数の推移と推定肺動脈圧

臨床症状・所見陽性項目数の推移とPA圧					
		不変例		増減例	
陽性項目数	PA圧 (mmHg)	陽性項目数	PA圧 (mmHg)	陽性項目数	PA圧 (mmHg)
0→0	39→33	1→1	31→31	0→1	35→31 (息切れ)
(9例)	30→31	(1例)		(2例)	38→33 (拍動)
	35→測定不能				
	44→40	4→4	55→42	5→4	56→71 (心電図)
	60→39	(1例)		(1例)	
	34→?				
	31→?	5→5	40→36		
	30→?	(2例)	80→50		
	?→?				

表3. 臨床症状・所見を呈する肺動脈圧のカットオフ値の設定

		推定肺動脈圧	
		40mmHg以上	40mmHg以下
あり	11	4	
なし	3	21	

感度: 73%  
特異度: 88%  
正確度: 82%  
p=0.0004

## **STUDY ON THE NATURAL COURSE OF PULMONARY HYPERTENSION COMPLICATED WITH MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASE**

Shunji Yoshida<sup>1)</sup>, Shusaku Fukaya<sup>1)</sup>, Jun Okada<sup>2)</sup>, Hirobumi Kondo<sup>2)</sup>

Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine<sup>1)</sup>

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine<sup>2)</sup>

[Objectives] It was discovered last year that performing echocardiogram on patients with mixed connective tissue disease (MCTD) resulted in 22.5% of them developing a pulmonary hypertension (PH) complication. Moreover, approximately half of them did not possess the PH's characteristic clinical symptoms, or findings from electrocardiogram and chest X-ray scans. Therefore, follow-ups were made on these cases to reveal the natural course of PH with a MCTD complication. Furthermore, data from last year study was re-evaluated in addition to the results of the follow-ups to clarify the type of PH patients who should be subjected to the treatment. [Method] MCTD patients who were found to have PH last year were subjected to this study. The variables for the current investigation were the existence or otherwise of the PH's characteristic clinical symptoms, electrocardiogram, chest X-ray images, echocardiogram, pulmonary functions tests, pulmonary blood flow scintigrams, and right heart catheter tests. In addition, using the data of patients with a PH complication extracted last year, setting the cut-off value of the PA pressure presenting the PH's characteristic clinical symptoms, and findings from electrocardiogram and chest X-ray scans was attempted using the contingency table method. [Result] Analyzable responses were obtained from 16 cases out of 39 corresponding cases. The number of positive variables of the PH's characteristic clinical symptoms, findings from electrocardiogram and chest X-ray scans hardly changed and even though a fluctuation was observed in some cases, such a fluctuation was not related to a fluctuation of the pulmonary artery (PA) pressure. Furthermore, a relatively large fluctuation of the PA pressure was observed in patients with a PA pressure of 40 mmHg and over whereas such a fluctuation was not observed in patients with a PA pressure less than 40 mmHg. The cut-off value was the most satisfactory, i.e., sensitivity 73%, specificity 88% and accuracy 82%, with a PA value of 40 mmHg. [Conclusion] 1. In patients with a relatively low PA pressure (mild PH patients), the PH's characteristic clinical findings or PA pressure hardly changed within one year of the observation period. However, this observation period is not long enough and further follow-ups are required. 2. Because the PA pressure fluctuated only in patients with a PA pressure of 40 mmHg and over, and the optimal cut-off value of the PA pressure related to the existence of the PH's characteristic clinical findings was 40 mmHg, it was considered that PH patients with a PA pressure of 40 mmHg and over should receive treatment.

## 肺高血圧症合併混合性結合組織病（MCTD）における NOS2 遺伝子多型の関与

分担研究者：原 まさ子 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター教授  
研究協力者：川口 鎮司 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター  
研究協力者：岡田 純、近藤啓文 北里大学医学部内科  
研究協力者：大久保光夫 埼玉医科大総合医療センター輸血細胞治療部

### 研究要旨

肺高血圧症(PH)は、混合性結合組織病(MCTD)の合併症の一つであり、生命予後を決定する非常に重要な病態である。しかし、その発症の機序は、明かではない。血管拡張因子である一酸化窒素(NO)は、MCTDあるいは強皮症(SSc)患者において血清中で増加している。これらの疾患では、レイノー現象などの末梢循環不全が高頻度に認められる。しかし、肺高血圧症を合併した症例では、NOの増加が認められない。このNO産生の違いが、NO合成酵素であるinducible NO synthase (NOS-2)の遺伝子多型によるかどうかを検討した。その結果、転写調節領域に2ヶ所の遺伝子多型が存在し、肺高血圧症患者群(N = 22)と肺高血圧症非合併MCTD群(N = 26)および健常人(N = 89)にて発現頻度に偏りが見られた。この2ヶ所の遺伝子多型はNOS-2の転写活性に関与していた。以上よりNOS-2の遺伝子多型が、NOS-2の転写調節を介して、PHの発症に関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

肺高血圧症(PH)は、混合性結合組織病(MCTD)の生命予後を決定する重要な病態である。我々は、レイノー現象を有するMCTDで、血管の異常収縮・攣縮が生じており、その病態にエンドセリン-1が重要な働きをしていることを報告した<sup>1)</sup>。近年、エンドセリン受容体拮抗薬がこの病態に有効であることがわかってきており、エンドセリン-1の病態形成におよぼす重要性が再確認されている<sup>2)</sup>。同様に、PH合併MCTD患者でも、血漿中エンドセリン-1濃度が著明に高値であった。一方、血管拡張因子である一酸化窒素(NO)は、エンドセリン-1により誘導されることがわかっている。つまり、エンドセリン-1により血管収縮が生じるとその刺激がNO合成酵素(NOS-2)の誘導を介してNO産生を増加させる。この結果に一致して、レイノー現象を有するMCTD患者では、NOの血清中での上昇が認められた<sup>1)</sup>。しかし、我々の結果では、PHを併発した症例においては、エンドセリン-1の亢進にもかかわらず、血清中NO濃度は、健常人と差が認められなかった<sup>3)</sup>。この結果は、PH患者ではエンドセリン-1によ

るNOS-2を介したNO合成過程に異常がある可能性を示唆していると我々は考えた。そこで、昨年の本研究班にてNOS-2の遺伝子多型がこの異常に関与していると仮説をたて、NOS-2の転写調節領域の遺伝子配列を検討した。その結果、転写調節に関与する2ヶ所の遺伝子多型を同定した。再現性と普遍性を検討するため、本年度の研究では、症例数を増やし遺伝子多型を解析した。

### B. 研究方法

#### 1) 対象患者

MCTD患者17例と強皮症(SSc)患者31例および健常人89例を対象とした(表1)。東京女子医大、北里大学、埼玉医大の倫理委員会の承認を経て、informed consentを行い、患者より末梢血を採血し、genomic DNAを抽出した。

#### 2) 肺高血圧症患者の診断

心臓超音波検査にて、RVSP (right ventricular systolic pressure)が、35 mmHg以上で、重度の肺線

維症や心疾患による2次性のPHが否定された症例とした。

### 3) 塩基配列決定

NOS2遺伝子の転写開始部位を+1とし、-1000から-1200の塩基配列を決定するため、-1000から-1200までの部位をPCR法にて増幅し、直接シーケンス法にて塩基配列を決定した。

### 4) VNTR (variable numbers of repeat)の同定

NOS2遺伝子の-2600近傍に存在する-CCTTT-の繰り返し配列の回数に多型が存在するため、その繰り返し回数を決定した。まず、その遺伝子領域の両端にプライマーを設定し、PCRにて増幅し、ポリアクリルアミドゲルにて泳動する。同時に、PCR産物をTA cloning vectorに組み込み、少なくとも2種類のクローンのシーケンスを行い、VNTRの繰り返し回数を確認する。電気泳動で2本のバンドであれば、2種類の繰り返し回数を確認できるまで、違うクローンのシーケンスを行う。

### 5) NOS2遺伝子の転写活性の測定

-1030に1塩基遺伝子多型(SNP)を見いだしたので、-1030 SNP G/Tを含む、-1557から+58をPCRで増幅しルシフェラーゼ発現ベクターpGL3 (Promega)に組み込んだ。また、NOS2遺伝子の-2400近傍に、-CCTTT-繰り返しが見られ、その繰り返し回数に違いが認められた(VNTR)。そのため、CCTTT配列を8, 12, 16回繰り返す配列を有するDNAを鋳型としPCRでその前後の配列を増幅して、pGL3ベクターの上流に組み込んだ(図1)。6種類のpGL3ベクターとインサートなしのpGL3ベクターを正常皮膚線維芽細胞にTransFast (Promega)を用いて遺伝子導入し、40時間後に1 ng/mlのIL-1 $\beta$  (R & D)を培養上清に添加し、48時間後のルシフェラーゼ活性をキットで測定した(Promega)。遺伝子導入の効率を、同時にRenillaのルシフェラーゼ発現ベクターphRL-TK (Promega)を遺伝子導入し、そのルシフェラーゼ活性にて評価した。

## C. 研究結果

### 1) -1030 single nucleotide polymorphism (SNP)の検討

表2に示すように、-1030のSNPには、PH合併例と

健常人との比較で、allele Gの頻度に有意な差がみられた。PH非合併例では、この差は認められなかった。この結果から、NOS2遺伝子の-1030 SNPは、PHの発症に関連していることが示唆された。さらに、肺高血圧症患者をMCTD群とSSc群に分けて検討した。表3に示すように、MCTD単独では、PHの合併と-1030 SNPとの関連はなかった。一方、SSc単独では、PHの合併と-1030 SNPとの関連があった。SSc群で、表1に示したように、肺高血圧症の合併群と非合併群にそれぞれ同頻度に抗RNP抗体陽性患者が存在していた。そこで、抗RNP抗体陽性群と陰性群にて-1030 SNPの頻度を検討した。その結果、表3に示すように、SScにおいて抗RNP抗体の陽性群と陰性群においてこのSNPとの関連は認められなかった。

### 2) -2600近傍の-CCTTT-の繰り返し配列の遺伝子多型(VNTR)の検討

表4に示すように、PH合併群と健常人において、VNTRに有意な差が認められた( $p = 3.7 \times 10^{-10}$ )。この差は、非合併群と健常人では、認められなかった。また、PH合併例と非合併例においても、VNTRの有意な差が認められた( $p = 0.0003$ )。PH合併症例をMCTDとSScに分けて検討した。表5に示すように、VNTRの繰り返し回数にMCTDおよびSScともに、健常人と比較し、有意な違いが認められた(MCTD:  $p = 4.7 \times 10^{-5}$ , SSc:  $p = 5.8 \times 10^{-7}$ )。この回数の違いは、抗RNP抗体の有無では、差が見られなかった。

### 3) NOS2遺伝子の転写活性の検討

作成した6種類のルシフェラーゼベクターとコントロールのpGL3を線維芽細胞に遺伝子導入し、IL-1 $\beta$ によるNOS2の転写活性を測定した。図2に示すように、CCTTT repeatの回数が多いほうが転写活性は高く、さらに、-1030のSNPは、T alleleにて転写活性が高い傾向を示した。

## D. 考察

今回我々は、NOS2遺伝子の転写活性に関わる遺伝子多型において、MCTDあるいはSScに合併する肺高血圧症(PH)患者では、特異な多型を有することを明かとした。NOS2の遺伝子多型とPHの合併との関連を明かにしたのは世界で初めてである。この結果が、再現性を持ち、多くの症例で確認されれば、膠原病の発症時に、肺高血圧症を併発する可能性を把握することが

可能である。

我々は、これまで、MCTDとSScに合併したPH症例では、NOの血清中での上昇がみられないことを報告してきた<sup>3)</sup>。MCTDやSScの症例では、病初期には、血清NO代謝産物が上昇することが認められている<sup>4)</sup>。この反応は、炎症性のサイトカインによるNOS-2の誘導も考えられるが、多くの部分は、エンドセリン-1の過剰産生に対する生体の負のフィードバックと我々は考えてきた。つまり、血管収縮にかかわるエンドセリン-1の作用に拮抗するためにNO合成が促進されていると考えている。しかし、PH合併例では、PH発症早期から、NO産生の亢進が認められない。このことより、我々は、PH合併例では、血管拡張因子の誘導に異常があり、それが、病態に重要であると推定してきた。今回の遺伝子多型の検討の結果、PH合併症例は、NOS-2の転写活性が低下する遺伝子型を有していた。この事実は、我々の仮説を裏付けると考える。

今回明らかにした2種類の遺伝子多型は、ともに、抗RNP抗体の発現とは関連していない。抗RNP抗体とPHの関連は、多くの報告があり、日本人の症例においても示されている。しかしながら、抗RNP抗体陽性例でもPHを合併する症例は、20%程度である。NOS2遺伝子の多型は、抗RNP抗体とは独立した危険因子であり、二つの因子を組み合わせれば、さらに、PH発症の予測は確かとなると考える。早期での予測が可能となれば、NOS2遺伝子多型の機能から考えて、早期より、NOな

どの血管拡張薬を投与するか、エンドセリンの拮抗薬を用いれば、PHの発症を抑制することが可能となることが推定される。

今後、PHの発症前予測とPH発症の抑止を大規模な臨床研究として行なうことが、発症後の予後不良なPHの治療法として重要と考える。

## E. 結論

PHの発症には、NOS-2の転写活性が低下するNOS2遺伝子多型が関与していることが明かとなった。MCTDに伴うPHには、エンドセリンに拮抗する働きがあるNOの産生低下が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 文献

1. 原まさ子, 高木香恵, 川口鎮司. MCTDの血管病変におけるET-1, NOの関与. 厚生省特定疾患 皮膚・結合組織疾患調査研究 混性結合組織病分科会 平成10年度 研究報告書36-37, 1999
2. Humbert M, Cabane J. Successful treatment of systemic sclerosis digital ulcers and pulmonary arterial hypertension with endothelin receptor antagonist bosentan. *Rheumatology*. 42:191-193, 2003
3. 原まさ子, 川口鎮司. 混性結合組織病に併発する肺高血圧症発症機序の検討. 血管作動因子発現の解析. 厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業 混性結合組織病に関する研究 平成13年度 研究報告書 56-59, 2002
4. Takagi T, Kawaguchi Y, Hara M, Sugiura T, Harigai M, Kamatani N. Serum nitric oxide (NO) levels in systemic sclerosis patients: correlation between NO levels and clinical features. *Clin Exp Immunol* 134:538-544, 2003

表1. 対象症例

混合性結合組織病 (MCTD)	17例	(抗U1-RNP抗体陽性)
肺高血圧症合併例	11例	
肺高血圧症非合併例	6例	
強皮症 (SSc)	31例	
肺高血圧症合併例	11例	
抗U1-RNP抗体陽性	2例	
肺高血圧症非合併例	20例	
抗U1-RNP抗体陽性	5例	
健常人	89例	

表2. -1030 NOS2 遺伝子の1塩基多型(SNP)の発現頻度

	G	T	P*
PH (N=22)	43	1	0.01
SSc (N=11)	22	0	0.03
MCTD (N=11)	21	1	0.2
PH非合併 (N=26)	45	7	0.7
SSc (N=20)	35	5	0.6
MCTD (N=6)	10	2	0.9
健常人 (N=89)	147	31	

PH: 肺高血圧症, SSc: 強皮症, MCTD: 混合性結合組織病  
\*P: Fisher's exact test による健常人との比較

表3. -1030 NOS2 遺伝子の1塩基多型(SNP)の  
発現頻度

	G	T	P*
MCTD (N=17)	31	3	0.3
with PH (N=11)	21	1	0.2
without PH (N=6)	10	2	0.9
SSc (N=31)	57	5	0.07
with PH (N=11)	22	0	0.03
without PH (N=20)	35	5	0.4
+RNPab (N=7)	13	1	0.3
-RNPab (N=24)	44	4	0.1
健常人 (N=89)	147	31	

PH: 肺高血圧症, SSc: 強皮症, MCTD: 混合性結合組織病

RNPab: 抗U1-snRNP抗体

\*P: Fisher's exact test による健常人との比較

表4. VNTR(CCTTT)nの遺伝子多型

variable numbers	PH(+)	PH(-)	健常人
6	2	0	0
7	2	0	0
8	10	0	3
9	6	2	6
10	9	7	20
11	6	8	27
12	6	15	48
13	1	7	25
14	2	8	23
15	0	3	14
16	0	2	11
17	0	0	1

PH: 肺高血圧症

表5. VNTR (CCTTT)nの遺伝子多型

variable numbers	MCTD		SSc		RNPab		健常人
	PH +	PH -	PH +	PH -	+	-	
6	1	0	1	0	0	1	0
7	1	0	1	0	1	0	0
8	5	0	5	0	1	4	3
9	1	1	5	1	1	5	6
10	5	1	4	6	1	9	20
11	5	2	1	6	2	5	27
12	2	3	4	12	5	11	48
13	1	2	0	5	0	5	25
14	1	2	1	6	3	4	23
15	0	1	0	2	0	2	14
16	0	0	0	2	0	2	11
17	0	0	0	0	0	0	1

MCTD: 混合性結合組織病, SSc: 強皮症, PH: 肺高血圧症

RNPab: 抗U1-snRNP抗体



図1. ルシフェラーゼ・レポーター・ベクター  
 ルシフェラーゼ遺伝子の upstream に NOS2 遺伝子の  
 -1557 から +58 までを初めに組み込み、その後、  
 CCTTT 繰り返し配列を、さらに upstream に組み込む

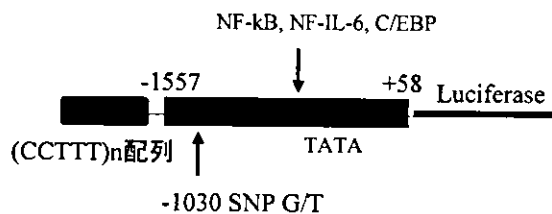
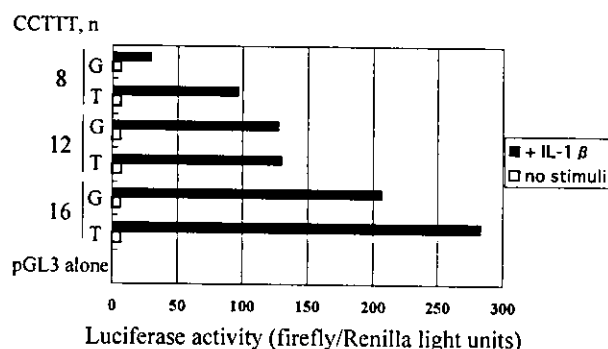


図2. 転写活性におよぼす NOS2 の遺伝子多型の影響



## Association of *NOS2* gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary arterial hypertension with collagen diseases

Masako Hara<sup>1)</sup>, Yasushi Kawaguchi<sup>1)</sup>,  
 Jun Okada<sup>2)</sup>, Hirobumi Kondo<sup>2)</sup>, Mitsuo Okubo<sup>3)</sup>

Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University<sup>1)</sup>  
 Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine<sup>2)</sup>  
 Transfusion Medicine and Cell Therapy, Saitama Medical School<sup>3)</sup>

To determine the gene polymorphisms of *NOS2* in patients with pulmonary arterial hypertension (PH) complicated with collagen diseases including MCTD and systemic sclerosis (SSc), we determined two gene polymorphisms at -1030 and at around -2600 from the transcription start site; one was single nucleotide polymorphism at -1030 bp, and another was variable numbers of tandem repeat (CCTTT) around -2.6 kb. There was a significant difference in the frequency of allele G between PH and healthy donors, however, no significant difference was detected in patients with collagen diseases in the presence and absence of PH. The numbers of repeat (CCTTT) were significantly smaller in PH than those in non-PH. Luciferase assay revealed that those gene polymorphisms might be associated with the transcription activity of *NOS2* gene. Our findings suggest that *NOS2* gene polymorphisms may be involved in the pathogenesis of PH complicated with MCTD or SSc.

混合性結合組織病（MCTD）における抗 phosphatidylserine-prothrombin  
複合体（PS/PT）抗体の検討

分担研究者：吉田俊治 藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科教授

研究協力者：片山雅夫、玉熊桂子 藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科

研究要旨

目的；これまでに抗リン脂質抗体（aPL）が膠原病性肺高血圧症（CTD-PH）に関連するとの報告がある。そこで新しいaPLである抗phosphatidylserine-prothrombin複合体（PS/PT）抗体の測定を行い、同抗体のMCTDやCTDにおける臨床的意義、特にPHとの関連について検討を行うことを目的とした。

対象及び方法；対象は平成15年9月中旬から2ヵ月間PH調査を行ったMCTD32例で、PHと診断されたPH群12例および非PH群20例について比較検討した。また、同時期に当院でPH調査を行ったCTD患者67例（CTD患者5例中1例を無作為に抽出）についても検討を行った。抗PS/PT抗体の測定はMBL社の試薬を用いた。

結果および考察；当院におけるMCTD全例の検討で抗PS/PT抗体は29例中13例（44.8%）に陽性であったが、PHの有無で抗PS/PT抗体の陽性頻度、抗体価に差は認められなかった。抗PS/PT抗体陽性例では推定最大PA圧が高い傾向を認め、抗PS/PT抗体 $>20\text{U/ml}$ と $\leq 20\text{U/ml}$ の症例の比較検討では推定最大PA圧に有意の差を認め、MCTDのPHに抗PS/PT抗体が関与している可能性が示唆された。当院におけるCTD（全例の5分の1）症例の検討でPHの有無で抗PS/PT抗体の陽性頻度に差はなかったが、同抗体価は非PH群に比しPH群で高い傾向が認められた。抗PS/PT抗体は非SLEに比しSLEで高頻度（ $P<0.05$ ）に認められ、抗体価も非SLEに比しSLEで有意に高値（ $P<0.05$ ）であった。肺血流シンチを施行した11例の検討（PH7例、非PH4例）で抗PS/PT抗体は肺血流低下に関連する可能性が示唆された。

結語；MCTD患者で抗PS/PT抗体陽性例では推定最大PA圧が高い傾向を認め、抗PS/PT抗体高値（ $>20\text{U/ml}$ ）の症例では低値（ $\leq 20\text{U/ml}$ ）の症例に比しPA圧が有意に高く、MCTDのPHに抗PS/PT抗体が関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

肺高血圧症（PH）は混合性結合組織病（MCTD）の予後を左右する重要な合併症であるが、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、中膜の肥厚にはサイトカインや補体など種々の血管内皮細胞傷害因子の関与が考えられている。CTDやMCTDにおけるPHには自己抗体も有力な候補の一つである。実際、PPHにおいてもいくつかの自己抗体が検出されている。

これまでに抗リン脂質抗体（aPL）が原発性肺高血

症（PPH）や膠原病性肺高血圧症（CTD-PH）で高率にみられ、同抗体がPHに関与するという報告がある<sup>1)</sup>。また、IgG aCL抗体価がPH合併MCTD患者でPH合併MCTD患者に比して高値であること、PH合併CTD患者において抗U1-RNP抗体とIgG aCL抗体価、IgG抗内皮細胞抗体とIgG aCL抗体価の間にそれぞれ相関がみられ、これら抗体のPHへの関連を示唆する報告がある<sup>2)</sup>。

そこで、本研究では新しいaPLである抗phosphatidylserine-prothrombin複合体（PS/PT）抗体の測定を行い、MCTDやCTDにおける臨床的意義、特にPHとの関連について検討を行うことを目的とした。

## B. 研究方法

対象は平成15年9月中旬から2ヵ月間当院でPH調査を行ったMCTD32例で、PHと診断されたPH群12例(年齢 $45.8 \pm 13.8$ 歳、男性2、女性10)および非PH群20例( $51.3 \pm 13.3$ 歳、男性1、女性19)について比較検討した。

また、同時期に当院でPH調査を行ったCTD患者67例(CTD患者5例中1例を無作為に抽出)についても検討を行った。そのうちPH群は10例、内訳はMCTD3例、全身性エリテマトーデス(SLE)4例、強皮症(SSc)3例であり、非PH群57例、MCTD5例、SLE23例、SSc11例、重複症候群(OL)4例、多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)2例、その他12例であった。

抗体の測定は抗リン脂質抗体症候群(APS)の診断用試薬として開発された抗PS/PT抗体測定試薬(MBL社)を用いた。

## C. 結果

当院におけるMCTD全例の検討で抗PS/PT抗体は29例中13例(44.8%)に陽性であった。PH群と非PH群における抗PS/PT抗体の頻度はそれぞれ10例中4例(40.0%)、19例中9例(47.4%)、抗体価はそれぞれ $16.1 \pm 16.3$  U/ml、 $12.1 \pm 8.0$  U/mlでPHの有無で抗PS/PT抗体の陽性頻度、抗体価に差は認められなかった。抗PS/PT抗体の陽性基準をキットの基準値(12 U/ml以上を陽性)とすると陽性例では推定最大PA圧が高い傾向を認めた(表1)。抗PS/PT抗体 $>20$  U/mlと $\leq 20$  U/mlの症例の比較検討では前者(n=5)の推定最大PA圧は $41.1 \pm 27.0$  mmHgで後者(n=19)は $19.9 \pm 12.4$  mmHg(心エコーで推定PA圧が測定不能の症例においてはPA圧を便宜上10mmHgに設定した)で前者で有意に( $p=0.016$ )高値であった。

当院におけるCTD(全例の5分の1)症例の検討で抗PS/PT抗体は57例中20例(35.1%)に陽性であった。PH群と非PH群における抗PS/PT抗体の陽性頻度はそれぞれ8例中3例(37.5%)、49例中17例(34.7%)、抗体価はそれぞれ $35.2 \pm 68.4$  U/ml、 $15.3 \pm 23.4$  U/mlでPHの有無で抗PS/PT抗体の陽性頻度に差は認められなかったが、同抗体価は非PH群に比しPH群で高い傾向が認められた( $p=0.116$ )。

CTD(全例の5分の1)症例の検討で抗PS/PT抗体は表2に示すように非SLEに比しSLEで高頻度に陽性( $p<0.05$ )で抗体価もSLEで非SLEに比し有意に高値( $P<0.05$ )であった。肺血流シンチを施行した11例の検

討(PH7例、非PH4例)で抗PS/PT抗体は肺血流低下に関連する可能性が示唆された。抗PS/PT抗体と抗U1-RNP抗体の間には関連は認められなかった。

## D. 考察

膠原病におけるPHの発症機序は未だ不明であるが、機序の一つとして血管内皮細胞の傷害、微小血栓形成が関与していると考えられる。内皮細胞傷害因子として、活性化マクロファージが産生する各種サイトカインなどがあげられる。さらには、補体や種々の血清因子、自己抗体なども候補にあげられる。実際、これまでにaPLがPPHや二次性PHで高率にみられ、同抗体がPHに関与するという報告がある<sup>1)</sup>。また、Nishimakiらの報告<sup>2)</sup>でもMCTD患者においてIgG aCL抗体のPHへの関与が示唆されている。特にPH合併CTD患者においてIgG aCL抗体価が抗U1-RNP抗体やIgG抗内皮細胞抗体価とそれぞれ相関がみられたという報告はMCTDにおけるPHの発症機序を考える上で興味深い。

しかし、aPLの特異性は多様であることがいわれており、未だ、膠原病性PHにおける臨床的意義については不明である。新しく開発された抗PS/PT抗体測定用試薬はAPSの診断に有用である同時にAPSの新しい分類予備基準(Sapporo criteria)に取り上げられている $\beta_2$ -GPI依存性抗カルジオリピン抗体陰性の症例においても高率に陽性となることが示され、これまでのaPLと特異性、臨床的意義が異なることが報告されている<sup>3)</sup>。そこで、本研究ではこの新しいaPLである抗PS/PT抗体の測定を行い、MCTDやCTDにおける臨床的意義、特にPHとの関連について検討を行った。

抗PS/PT抗体はMCTD患者で高率に(44.8%)に陽性であったが、これは同抗体キットの基準値の12 U/mlが低すぎる可能性もあり、独自に健常人血清を測定し、その平均値の2SD以上を陽性とするなどの工夫が必要であった可能性がある。

MCTD患者で抗PS/PT抗体陽性例では推定最大PA圧が高い傾向を認め、MCTDにおいて同抗体がPHに関与する可能性が考えられた。さらに、抗PS/PT抗体高値( $>20$  U/ml)を呈した症例では低値陽性あるいは陰性( $\leq 20$  U/ml)の症例に比しPA圧が有意に高い値を呈した。このことはMCTDのPHに抗PS/PT抗体が関与している可能性を示唆し、MCTDのPHの成因あるいは病態に抗PS/PT抗体が関わっている可能性が考えられた。

CTD-PHの原因は未だ明らかでないが、今回の研究

において抗PS/PT抗体とMCTDのPHの関連が示唆されたことから血管内皮細胞傷害因子の一つとして抗PL抗体が関与している可能性が考えられ、抗PS/PT抗体のさらなる研究がPHの発症機序の解明につながる可能性が期待できる。

## E. 結論

MCTD患者で抗PS/PT抗体陽性例では推定最大PA圧が高い傾向を認め、抗PS/PT抗体高値(>20U/ml)の症例では低値(≤20U/ml)の症例の比しPA圧が有意に高く、MCTDのPHに抗PS/PT抗体が関与している可能性が示唆された。

## 文献

1. Karmochkine M, Cacoub P, Dorent R, et al: High prevalence of antiphospholipid antibodies in precapillary pulmonary hypertension. J Rheumatol 23(2):286-90, 1996
2. Nishimaki T, Aotsuka S, Kondo H, et al. Immunological analysis of pulmonary hypertension in connective tissue diseases. J Rheumatol 26(11):2357-62, 1999
3. 錦木淳一、桑名正隆、亀田秀人、他：抗リン脂質抗体症候群の診断における抗ホスファチジルセリン・プロトロンビン複合体抗体測定の臨床的意義-多施設間成績-。臨床血液 46(1):19-21, 2005

表1. MCTD/PH調査患者におけるPA圧と抗PS/PT抗体の関連について

推定最大PA圧 ≥ 25mmHgの患者(14例)の検討		
推定最大PA圧(mmHg)		
抗PS/PT抗体陽性(n=5)	45.5±22.0	(p=0.200)
抗PS/PT抗体陰性(n=7)	33.7±6.1	
推定最大PA圧 ≥ 30mmHg(PH)患者(12例)の検討		
推定最大PA圧(mmHg)		
抗PS/PT抗体陽性(n=4)	49.5±23.2	(p=0.171)
抗PS/PT抗体陰性(n=6)	35.2±5.2	
推定最大PA圧 ≥ 40mmHg(PH)患者(3例)の検討		
推定最大PA圧(mmHg)		
抗PS/PT抗体陽性(n=2)	67.5±17.7	
抗PS/PT抗体陰性(n=1)	44.0	

抗PS/PT抗体陽性例では推定最大PA圧が高い傾向を認めた。

表2. 当院におけるCTD/PH調査(CTD5例に1例を無作為抽出)患者における抗PS/PT抗体の疾患別陽性率および抗体価

疾患	抗PS/PT抗体	
	陽性率	抗体価(U/ml)
SLE(n=26)*	14(53.8%)	29.6±46.6
MCTD(n=8)	3(37.5%)	10.1±7.0
SSc(n=11)	2(18.1%)	7.3±4.6
Others(n=11)	1(9.1%)	8.7±6.4

抗PS/PT抗体はSLEで非SLEに比し高率(P<0.05)に認められ、抗体価もSLEで非SLEに比し有意に高値(P<0.05)であった。

## STUDY ON ANTI-PHOSPHATIDYLSERINE-PROTHROMBIN COMPLEX ANTIBODIES IN MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASES.

Shunji Yoshida, Masao Katayama and Keiko Tamakuma

Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine

**Objective;** It has been reported that anti-phospholipid antibodies (anti-PL) may be associated with pulmonary hypertension (PH) in patients with connective tissue diseases (CTD). We aimed to examine the clinical significance of a newly discovered anti-PL, anti-phosphatidylserine-prothrombin complex (PS-PT) antibodies, in mixed connective tissue diseases (MCTD) and other CTD.

**Methods;** We investigated 32 MCTD patients, 12 patients with PH and 20 without PH, that were all of MCTD patients examined in our hospital for 2 months from September to November, 2003. We also investigated 67 CTD patients, which were extracted at random for the CTD-PH investigation from all the CTD patients in our hospital at the rate of one per 5 patients for the same time. We used anti-PS-PT EIA kit (MBL Co.) to measure anti-PS-PT antibodies.

**Results;** Anti-PS-PT antibodies were positive in 13 of 29 (44.8%) patients with MCTD, but no relationship was seen between the presence of PH and frequency and titers of anti-PS-PT antibodies. It was recognized that estimated maximum PA pressure (PAm<sub>ax</sub>) by echocardiogram tend to be higher in anti-PS-PT antibody positive patients than in negative ones. And PAm<sub>ax</sub> in patients with high titer of anti-PS-PT antibodies (>20U/ml) was significantly higher than that in patients with lower titer of anti-PS-PT antibodies ( $\leq$  20U/ml). It is suggested that anti-PS/PT antibodies may be associated with PH of MCTD. As for the CTD-PH investigation, no relationship was seen between the presence of PH and frequency of anti-PS-PT antibodies, but titers of anti-PS-PT antibodies tend to be higher in CTD patients with PH than those in patients without. The frequency and titers of anti-PS-PT antibodies were significantly higher in patients with SLE compared with non-SLE patients ( $p < 0.05$ ). On the study of pulmonary blood flow scintigraphm of 11 CTD patients (7 with PH, 4 without), it is suggested that anti-PS-PT antibodies might be associated with the reduction of pulmonary blood flow.

**Conclusion;** The estimated PAm<sub>ax</sub> tended to be higher with an anti-PS-PT antibody positive patients, and PAm<sub>ax</sub> in patients with high titer of anti-PS-PT antibodies (>20U/ml) was significantly higher than that in patients with lower titer of anti-PS-PT antibodies ( $\leq$  20U/ml). It is suggested that anti-PS-PT antibodies may be associated with PH of MCTD.

## 膠原病性肺高血圧（CPH）に対するエポプレステノール（EPO）療法の 有効性と安全性に関する研究

分担研究者：諏訪 昭 慶應義塾大学医学部内科助手

研究協力者：佐藤慎二、野島崇樹、金子祐子、平形道人、佐藤 徹  
慶應義塾大学医学部内科

### 研究要旨

肺高血圧症（PH）は混合性結合組織病（MCTD）において重要な予後決定因子として知られている。本研究では、膠原病性PH（CPH）におけるエポプレステノール（EPO）療法の有効性と安全性を検討した。EPO療法が導入されたCPH 12例を対象とし解析を行った。対象は全例女性で（年齢41.5歳、膠原病罹病11.0年、CPH罹病14.3月）、診断はSSc 4例、MCTD 3例、SLE 2例、Overlap 2例、SjS 1例で、二次性SjSを6例に合併した。全例NYHAⅢ度以上で、血清UA、BNPが高値を示した。抗核抗体は高力価で、抗U1RNP抗体が5例で陽性であった。平均肺動脈圧（PAm）55.3 mmHg、心拍出量（CO）2.6 L/min、肺血管抵抗（PVR）21.5 unitsを示した。前治療としてベラプロストナトリウム（N=8）、シルデナフィル（N=2）などの血管拡張薬、抗凝固薬（N=8）、利尿薬（N=8）、酸素投与（N=8）とともに、ステロイド薬（N=8）が投与されていた。有効性評価症例（N=7）では、PAm低下（29.3%）、CO上昇（55.8%）、PVR低下（41.7%）など心行動態と、BNP値、NYHA分類が改善し、6例が有効と考えられた。導入直後死亡例（N=3）のうち2例の死因は心不全で、重篤な副作用はなかった。以上より、CPHにおけるEPO療法の有効性、安全性が示された。

### A. 研究目的

混合性結合組織病（MCTD）における肺高血圧症（PH）の合併率は他の膠原病に比して高く、重要な予後決定因子として知られている<sup>1-5)</sup>。昨年度までの研究において、膠原病に合併するPHの頻度、臨床免疫学的特徴、治療、予後について検討し、重複症状を示すMCTD、重複症候群（OL）例では、他疾患に比してPH合併率が高いこと、膠原病性PH（CPH）では前毛細血管性PHが、後毛細血管性PHに比して高頻度であること、重症PH例は、非PH例に比して、前腕を越える皮膚硬化、開口障害、舌小帯短縮、指尖部陥凹性癬痕、食道蠕動運動低下など、強皮症（SSc）に特徴的な所見が高頻度であることを明らかとした<sup>6, 7)</sup>。しかし、PHの病因はなお不明で、予後は不良である。プロスタサイクリン（PGI<sub>2</sub>）製剤であるエポプレステノール（EPO）は、その強力な血管

拡張作用と血小板凝集抑制作用によって原発性PH（PPH）に有用性が示され<sup>8, 9)</sup>、1995年に米国で治療薬として承認された。本邦においても、1999年にPPH治療薬として承認され、2004年6月にはCPHにも適応拡大された<sup>10)</sup>。本研究では、CPHに対するEPO療法の有効性と安全性の検討を目的とした。

### B. 研究方法

#### 1. 対象

対象は、2001年9月より2004年11月に当院内科においてEPO療法を導入した年齢20歳以上70歳未満の前毛細血管性PH患者とした。EPO導入は、原則として下記の基準のいずれかによった。

- (1) 血管拡張療法無効の右心不全例
- (2) 肺血管抵抗（PVR）10 units以上の重症例

(3) 急速進行例(症状出現後1年以内にPH機能分類がⅡ度以上悪化)

(4) 運動耐容能向上を必要とする例

## 2. 方法

PHの機能分類は、下記の修正NYHAの心機能分類を用いた。

(1) Class I : 身体活動に制限のないPH患者(普通の身体活動では過度の呼吸困難や疲労、胸痛や失神などを生じない。)

(2) Class II : 身体活動に軽度の制限のあるPH患者(安静時には自覚症状がない。普通の身体活動で過度の呼吸困難や疲労、胸痛や失神などが起こる。)

(3) Class III : 身体活動に著しい制限のあるPH患者(安静時には自覚症状がない。普通以下の軽度の身体活動で過度の呼吸困難や疲労、胸痛や失神などが起こる。)

(4) Class IV : どんな身体活動もすべて苦痛となるPH患者(これらの患者は右心不全の症状を表している。安静時にも呼吸困難および/または疲労がみられる。どんな身体活動でも自覚症状の増悪がある。)

EPOの投与速度は、原則として下記の基準によった。

(1)1ヶ月まで : 3-4日毎 - 1ヶ月で10 ng/kg/min

(2)3ヶ月まで : 1週毎 - 3ヶ月で20 ng/kg/min

(3)3ヶ月以降 : 効果あり(2週毎) - 1年で40 ng/kg/min

効果不十分(1週毎) - 1年で75 ng/kg/min

(4)その後 : 効果が不変 - 増量中止

EPO療法導入前後の臨床症状、検査所見、血行動態、有害事象につき解析した。有効性は、以下の二項目を原則導入1年以上経過後に、ともに満たすものとした。

(1)臨床症状 : PH機能分類がⅠ度以上改善、またはPH機能分類がⅡ度以下

(2)心血行動態 : PAm < 40 mmHg、または PVR < 10 units

## 3. 倫理面への配慮

主治医によるretrospective studyのため研究対象者に対する不利益や危険性はない。また、得られた調査票の管理を厳重にし、プライバシーの保護に留意した。

## C. 研究結果

### 1. EPO療法導入患者の背景

EPO療法を導入したCPH患者は12例であった。全例女性で、診断はSSc 4例、MCTD 3例、全身性エリ

テマトーデス(SLE) 2例、OL 2例(SLE+SSc 1例、SSc+多発性筋炎(PM) 1例)、原発性シェーグレン症候群(SJS) 1例で、二次性SJSを6例に合併した。年齢は、 $41.5 \pm 16.8$ 歳(中央値42.5歳)で、 $11.0 \pm 6.8$ 年(中央値12.5年)、CPH罹病 $14.3 \pm 13.8$ 月(中央値10カ年)であった。PH機能分類では、全例PH機能分類Ⅲ度以上で、血清UA、BNPが高値を示していた。抗核抗体は全例高力価陽性であり、抗U1RNP抗体が5例で陽性であった。血行動態では、肺動脈圧(収縮期; PAs、拡張期; PAd、平均; PAm)、PVRは著明高値で、一方心拍出量(CO)は低下し、いずれも重症PHと考えられた(表1)。ペルジピン負荷試験は9例で施行され、全例が無効であった。

前治療としてベラプロストナトリウム(N=8)、シルデナフィル(N=2)などの血管拡張薬、抗凝固薬(N=8)、利尿薬(N=8)、酸素投与(N=8)が行われていた。ステロイド薬は8例で、 $12.9 \pm 11.1$  mg/日(7-40 mg/日)が投与されていた。免疫抑制薬(N=3)も一部の例で投与されていた。

## 2. 有効性の評価

EPO療法導入12例のうち、2例は導入後期間が1ヶ月であることから(2004年12月現在)、以後の検討対象から除外した。10例のうち、導入直後の死亡例3例を除く7例では観察期間が20.0ヶ月で、心臓カテーテル検査による血行動態の評価が行われており、これを有効性評価症例とした。EPOの最終投与量は $27.6 \pm 7.4$  ng/Kg/minで、7例中4例では安定維持量(22-43 ng/Kg/min)で治療が可能であった(図1)。導入1年経過後の右心カテーテル検査で、PAmは7例中6例で改善し(55 mmHg → 39 mmHg、改善率41.7%)、4例ではPAm 40 mmHg以下となった。COは全例改善し(改善率28.2%)、うち6例は4.0 L/min以上と正常化した。PVRは全例改善し(改善率69.6%)、7例中6例は10 units以下となった(図2)。これらの結果から、EPOによる心血行動態の著明な改善作用が示された。

PH機能分類は、投与前7例中6例がⅢ度以上の重症例であったが、投与後Ⅳ度からⅢ度への改善が2例、Ⅲ度からⅡ度への改善が3例と計5例でⅠ度の改善を認めた。不変は2例であったが、悪化は認めなかった(図3)。

血清BNP(ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド)値は、導入前後で $1,216 \pm 2,020$  pg/mlから $611 \pm 1,140$  pg/mlまで(65.9%)改善した。血清UA値も導入前後で $6.1 \pm 2.0$  mg/dlから $5.2 \pm 2.6$  mg/dlまで改善した。

有効性判定基準に従い効果判定を行ったところ、

EPO療法は7例中6例(85.7%)で有効と考えられた。

### 3. 安全性の評価

有効性評価症例(N=7、観察期間17.3±7.1月、観察回数121回)では、5例(71.4%)において、17件の有害事象を認めた。内訳は、カテーテル関連事象(N=10)、しびれ(N=3)、胸痛(N=2)、下痢(N=2)、悪心(N=2)などであり、重篤なものはなかった。

### 4. 死亡例の解析

EPO療法導入12例のうち、導入直後死亡例は3例で、右心不全による低心拍出(N=2)および血管迷走神経反射(N=1)が死因と考えられた。これら3例を他の9例と比較すると、CPH診断後期間が長く、血行動態ではPAmに差はないものの全肺血管抵抗(TPR)、PVRが高かった。COも低く、PH機能分類でも全例IV度であった(表2)。また、長期観察例(観察期間30カ月)でも免疫抑制薬投与と関連した白血球減少による感染症での死亡が1例でみられた。

## D. 考察

膠原病の生命予後が改善されつつある中で、PHはいまだ有効な治療法が確立されておらず問題であった。近年、PPHに対して極めて高い臨床効果を示すEPO持続静注療法が注目されるようになった<sup>8-10)</sup>。PPHでは、1)約40%でANA陽性を示す、2)レイノー現象が高頻度である、3)IL-1上昇を認める、4)病理組織学的にplexiform lesionを認める、ことなどより、CPHはPPHと類似の病態を呈し、PPHに準じた治療が選択される<sup>4)</sup>。本邦でも臨床試験においてCPHに対するEPO療法の有用性が示されたが<sup>11)</sup>、単一施設での臨床効果の詳細な検討はこれまでなかった。そこで、本研究では、当院においてEPO療法を導入したCPH 12例をretrospectiveに解析した。

EPO療法導入1年経過後の右心カテーテル検査で、PAm低下(改善率41.7%)、CO上昇(改善率28.2%)、PVR低下(改善率69.6%)など心行動態の著明な改善が認められた。PHの重症度を示すPH機能分類は7例中6例でI度の改善を認めた。また、BNP値はEPO療法後著明に低下した(改善率65.9%)。BNP値は右室後負荷を反映し、右心不全の指標とされるが<sup>10)</sup>、2例では導入前5,000 pg/ml以上の著明高値を示した。CPHにおいて、BNPの意義について今後検討の必要がある。臨床症状、血行動態に基づいた評価では、CPHにおけるEPO療法の有効性は85.7%であった。これは、同様の基準を用いた当院のPPHにおけるEPO療法の有効

性(約70%)に比して高かった。なお、6分間歩行距離検査は、重症例で導入前に施行し得ない例が多かったこと、過度の運動による心負荷リスクが高いことより、今回は検討しなかった。運動耐容能力の改善効果は課題である。

有効性評価症例における有害事象の検討では、発現症例率は71.4%と高かったが、国内でのEPOの使用成績調査で報告された頻度と変わりなく、重篤なものはみられなかった<sup>10)</sup>。有効性評価症例での死亡例は1例で(観察期間30カ月)、生存率は1年100%、3年86%であった。EPO療法導入PPHにおける生存率は1年68%、3年66%、既存治療によるPPHにおける生存率は1年68%、3年48%であり、EPOがCPHの生命予後を改善することが期待された。また、EPO療法導入12例のうち、導入直後死亡例が3例みられたが、CPH診断後期間が長く、TPR、PVRが高く、COが低い重症PHで、PH機能分類もIV度であった。EPO開始前にPHの病態が高度に進行し、不可逆的であった症例では十分な改善効果がみられず死の転帰に至ることが示唆され<sup>10)</sup>、導入時期の選択が重要と考えられた。また、右心不全増悪時には、カテコラミン、ジギタリスなどの強心剤、利尿剤を用い、病態の安定を優先すべきであり注意を要する<sup>10)</sup>。

## E. 結論

本研究では、CPHにおけるEPO療法の有効性と安全性が示された。今後は、EPO療法の導入時期や増量法、ステロイド薬や免疫抑制薬、エンドセリン受容体拮抗薬、クエン酸シルデナフィルなどの新たな血管拡張療法との併用効果を検討し、CPHの治療ガイドラインを確立することが望まれる。

## 文 献

1. Sullivan WD, Hurst DJ, Harmon CE et al. :A prospective evaluation emphasizing pulmonary involvement in patients with mixed connective tissue disease. *Medicine (Baltimore)* 63:92-107, 1984.
2. Burdt MA, Hoffman RW, Deutscher SL, et al. :Long-term outcome in mixed connective tissue disease: longitudinal clinical and serologic findings. *Arthritis Rheum* 42:899-909, 1999.
3. 鳥飼勝隆、深谷修作、国枝武義、他. :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 24-7, 1999.



4. Magliano M, Isenberg DA, and Hillson J. :Pulmonary hypertension in autoimmune rheumatic diseases. Arthritis Rheum 46:1997-2009, 2002.
5. Yamane K, Ihn H, Asano Y, et al. :Clinical and laboratory features of scleroderma patients with pulmonary hypertension. Rheumatology (Oxford) 39:1269-71, 2000.
6. 諏訪 昭, 野島崇樹, 平形道人. :肺高血圧症を合併した混合性結合組織病患者の臨床免疫学的特徴. 厚生労働省特定疾患疾患対策研究事業 混合性結合組織病に関する研究班平成14年度総括・分担研究報告書 67-72, 2003.
7. 諏訪 昭, 野島崇樹, 金子祐子, 他. :肺高血圧症を合併した混合性結合組織病患者の臨床免疫学的特徴 (第二報). 厚生労働省難治性疾患克服研究事業 混合性結合組織病に関する研究班平成15年度総括・分担研究報告書 70-4, 2004.
8. Barst BJ, Rubin LJ, McGoon MD, et al. :Survival in primary pulmonary hypertension with long-term continuous intravenous prostacyclin. Ann Intern Med 121: 409-15, 1994.
9. McLaughlin VV, Genthner DF, Panella MM, et al. : Reduction in pulmonary vascular resistance with long-term epoprostenol therapy in pulmonary hypertension. N Engl J Med 338:272-7, 1998.
10. 佐藤 徹, 京谷晋吾, 松原広巳, 他. :エポプレステノールナトリウム使用による原発性肺高血圧症の予後の改善 (第一報). 診断と医薬 41:19-28, 2004.
11. 国枝武義, 近藤啓文. 膠原病に伴う肺高血圧症に対するエポプレステノールの有効性と安全性の検討. Progress in Medicine 23:169-80 2003.

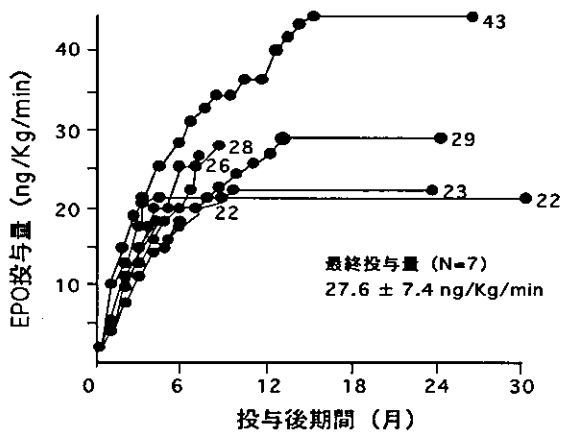


図 1. EPO 投与量の推移

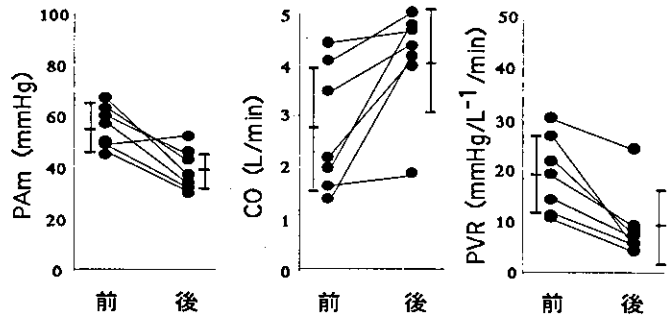


図 2. EPO 投与後の血行動態の推移

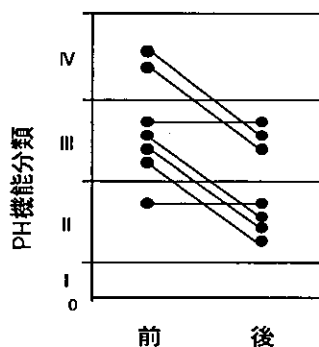


図 3. EPO 導入後の PH 機能分類の推移

表 1. EPO 導入時の血行動態

心拍数 (HR;/min)	87.6 ± 13.6	( 71 - 104 )
肺動脈収縮期圧 (PAs;mmHg)	90.5 ± 19.7	( 63 - 133 )
肺動脈拡張期圧 (PAd;mmHg)	34.6 ± 10.3	( 22 - 60 )
肺動脈平均圧 (PAm;mmHg)	5.3 ± 10.5	( 40 - 76 )
心拍出量 (CO;L/min)	2.6 ± 1.1	( 1.1- 4.4 )
肺動脈楔入圧 (PCW;mmHg)	6.8 ± 1.5	( 4 - 9 )
全肺血管抵抗 (TPR;mmHg/L-1/min)	24.6 ± 11.2	( 12 - 49 )
肺血管抵抗 (PVR;mmHg/L-1/min)	21.5 ± 9.7	( 11 - 42 )
右心房圧 (RA;mmHg)	7.9 ± 5.1	( 0 - 20 )
右室拡張末期圧 (RVED;mmHg)	12.9 ± 7.8	( 2 - 25 )

表 2. EPO 導入直後死亡例と生存例における患者背景

	死亡例 (N=3)	生存例 (N=9)
年齢 (歳)	25.3	32.6
膠原病発症後期間 (年)	12.3	13.2
CPH 診断後期間 (月)	19.0 ± 7.0	12.7 ± 15.4
PH 機能分類	IV 3 例	III 7 例, IV 2 例
PAm (mmHg)	93.7 ± 35.8	89.4 ± 14.3
CO (L/min)	1.9 ± 0.7	2.9 ± 1.1
PCW (mmHg)	8.0 ± 1.0	6.4 ± 1.5
TPR (mmHg/L-1/min)	33.9 ± 16.3	21.5 ± 8.0
PVR (mmHg/L-1/min)	29.3 ± 14.3	18.9 ± 6.8
RA (mmHg)	7.0 ± 6.7	8.3 ± 5.8
RVED (mmHg)	13.7 ± 5.9	12.7 ± 8.7

## **EPOPROSTENOL THERAPY ON PULMONARY HYPERTENSION SECONDARY TO CONNECTIVE TISSUE DISEASES**

Akira Suwa, Shinji Satoh, Takaki Nojima,  
Yuko Kaneko, Michito Hirakata and Toru Satoh

Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Pulmonary hypertension (PH) is one of the important manifestations in patients with connective tissue diseases (CTD). To clarify the efficacy and safety of epoprostenol therapy on PH secondary to CTD (CPH), we have analyzed 12 patients with CPH treated with epoprostenol since September in 2001.

The 12 female CPH patients (SSc 4; MCTD 3; SLE2 Overlap 2; SjS 1) were enrolled in epoprostenol therapy. The efficacy and safety were assessed in 7 patients who were performed right-heart catheterization using standard techniques at baseline and month 12. The time since diagnosis of CTD was 11.0 years and the time since diagnosis of PH was 14.3 months, respectively. These patients were considered as having severe PH based on the baseline NYHA functional class, serum level of BNP and uric acid, and hemodynamic measures (mean pulmonary artery pressure 55.3 mmHg; pulmonary vascular resistance 21.5 units; cardiac output 2.6 L/min). Hemodynamics improved at 12 months with epoprostenol. The epoprostenol treated patients had significant improvement in mean pulmonary artery pressure (29.3%), pulmonary vascular resistance (41.7%), and cardiac output (55.8%). At the end of observation period, 5 of seven patients showed one degree improvement of NYHA functional class. The serum level of BNP and UA were decreased. One patient with MCTD were died of infection due to leukopenia caused by immunosuppressants 30 months after the treatment. There were no severe adverse drug effects during epoprostenol therapy. However, three patients with severe PH were died soon after the initiation of epoprostenol, suggesting that epoprostenol might be no longer affect on the end-stage advanced PH.

These results suggest that epoprostenol therapy was effective and safe therapeutic tools for CPH as well as PPH.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

膠原病合併肺高血圧症治療ガイドライン（案）

分担研究者：近藤啓文 北里大学医学部内科 診療教授  
研究協力者：岡田 純 北里大学医学部内科、  
研究協力者：吉田俊治 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科

研究要旨

肺高血圧症(PH)の治療ガイドラインは、WHOや本邦では原発性肺高血圧症研究班で検討され提唱されている。膠原病に伴うPHは原発性PHとことなり、膠原病の免疫異常が関連して発症している可能性があり、本研究班の調査でも、ステロイド使用例でより降圧効果が見られている。そこで、は厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業混合性結合組織研究班（主任研究者近藤啓文）、免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業全身性自己免疫疾患における難治性病態の診断と治療法に関する研究班（主任研究者三森経世）と免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業免疫疾患の合併症とその治療法に関する研究班（主任研究者橋本博史）が協議のもと合同で検討され結論が得られたので報告する。

(1)病態の概念と頻度

膠原病に肺高血圧症(PH)を合併することが従来から知られてきた。我が国の調査では、各種膠原病の中でも、特にMCTDでPHが最も合併しやすいことが1998年わが国で厚生省特定疾患調査研究班（混合性結合組織病班、疫学班）により混合性結合組織病（MCTD）、全身性エリテマトーデス（SLE）、強皮症（SSc）、多発性筋炎/皮膚筋炎（PM/DM）を対象疾患として行われた全国調査で明らかにされた<sup>1)</sup>。結果を表1に示す。

表1. 各種膠原病におけるPHの頻度(1998年)<sup>1)</sup>

疾患	全患者数	PH患者数	PH頻度(%)
MCTD	1651	83	5.02 %
SLE	9015	82	0.90
SSc	3778	100	2.64
PM/DM	3349	19	0.56

(2)病態の分類

a. MCTDに合併するPHの病態

膠原病合併PHの病態は表2に示すように、PPHと同

様のPH (PAH) の病態を示す例が多いが、他に間質性肺病変、肺血栓塞栓症など二次性のPHも認められる。一人の症例に2つ以上の病態が存在することもある。

膠原病の中で頻度が高いMCTDでは高度の間質性肺病変が少ないことから、その主な病態はPAHとされる。PHの病態に高度の間質性肺病変の関与がどの程度あるかを評価することは困難である。呼吸機能検査で%VCに比べ%DLcoの著しい低下がPAHの存在を示す。SLE要素が高い症例では肺動脈末梢の血管炎によるPHと抗リン脂質抗体症候群による慢性肺血栓塞栓症によるPHの可能性がある。

表2. 膠原病合併PHの病態からみた分類

- ① 肺動脈性PH (PAH) :  
肺動脈の末梢での内腔の狭窄、  
閉塞によるもの。  
膠原病性PHの主要病態。
- ② 間質性肺病変によるPH: SScで見られる。
- ③ 慢性肺血栓塞栓症によるPH  
慢性マクロ肺血栓塞栓症: 区域肺動脈以上を閉塞  
慢性ミクロ肺血栓閉塞症: 筋性肺動脈以下を閉塞
- ④ 肺動脈末梢の血管炎によるPH