

図1 MCTD および健常人(HC)の血中エンドセリン-1 (ET-1)と一酸化窒素(NO)
 *: $p < 0.01$ HC と比較しての有意差

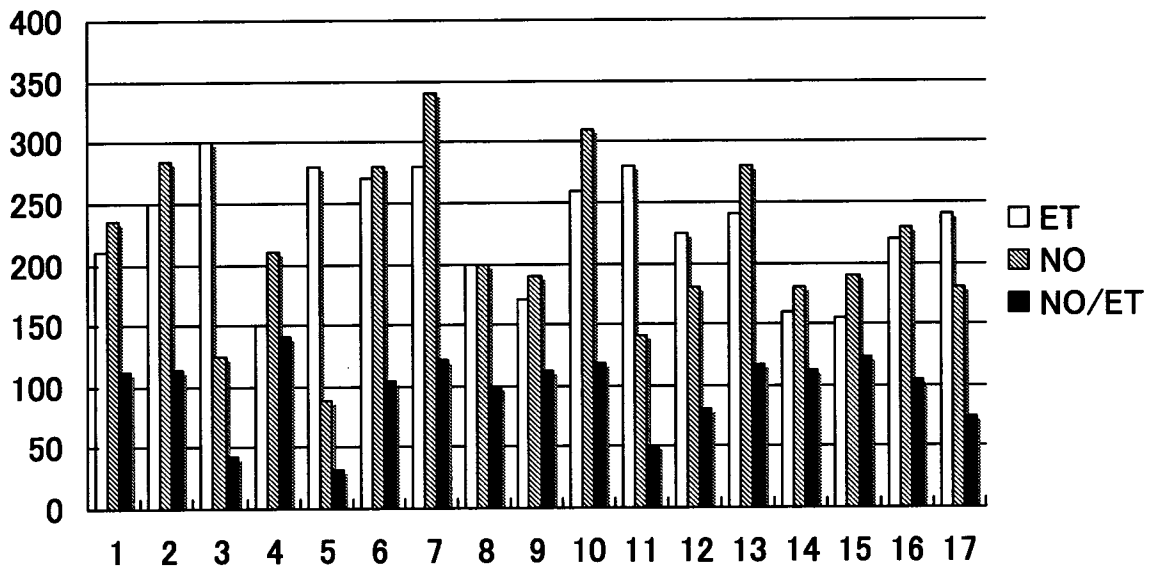


図2 17例のMCTDそれぞれのエンドセリン-1(ET-1)と一酸化窒素(NO)およびその比
 症例3、5、11は肺動脈性肺高血圧症を合併

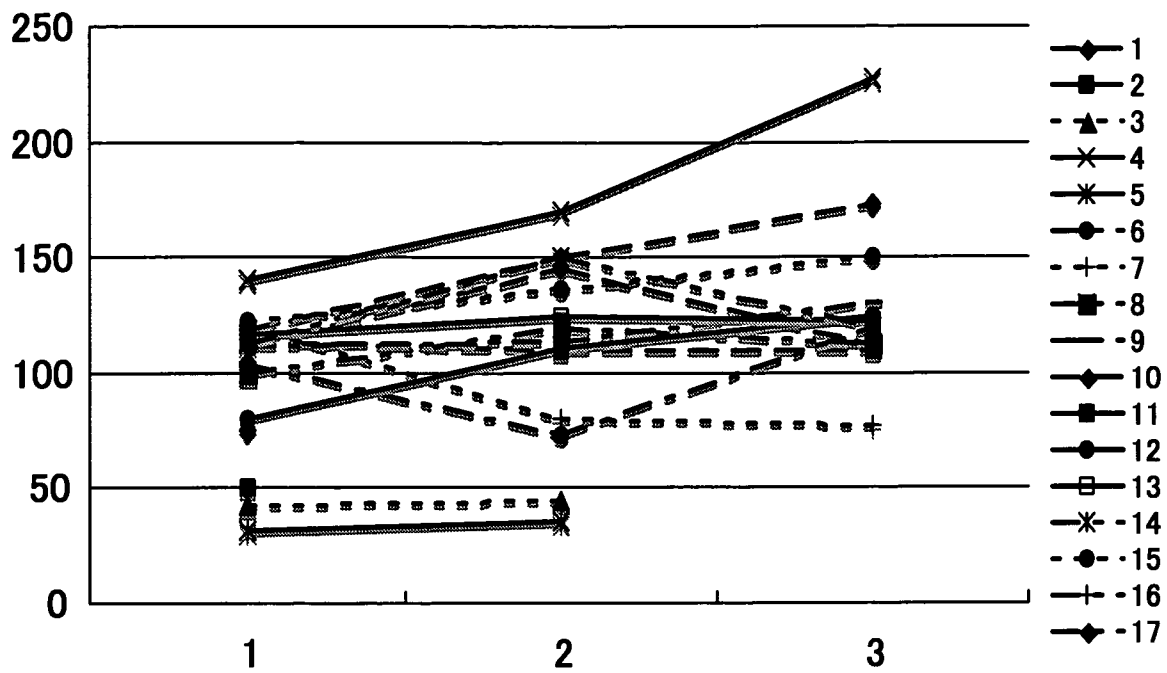


図3 17例のMCTDにおける継時的な一酸化窒素(NO)/エンドセリン-1(ET-1)比

Angiotensin/PDGF の膠原病の PH に対する関与の検討

分担研究者： 岡田 純 北里大学健康管理センター・準教授
研究協力者： 石川 章 北里大学医学部膠原病感染内科・講師

研究要旨

肺高血圧症にも PDGF 受容体の発現の増加、PDGF の産生の増加が肺動脈の remodeling に影響し、肺高血圧症の発症に寄与していることが推測されている。そこで、Ang-1/Ang-2, 及び PDGF に関する検討を行った。

方法：抗 U1RNP 抗体陽性の膠原病患者、MCTD、PAH 合併 (UCG で PAPs>40mmHg) のその他の膠原病を対象とした。これらの血中の Ang-1 (ELISA), Ang-2 (ELISA), PDGF (R&D 社製 ELISA) にて測定した。それぞれの臨床症状と Ang-1/Ang-2, PDGF との関連を検討した。

結果：MCTD の PAH 例では Ang-1 が低値を示す傾向が得られているため、Ang-1 に相補的に作用する Ang-2 も同時に測定し両者の関係を検討した。抗 U1-RNP 陽性 CTD 群では、Ang-1 と Ang-2 は軽度の正の相関関係が見られたが有意差は見られなかった。この中で、PAH 群は Ang-2 は 4.1 ± 2.2 pg/ml と非 PAH 群 5.8 ± 5.9 に比べ、やや低値であった。膠原病の PAH 群に関しても、Ang-1/Ang-2 の関係を検討したが、両者の間に相関関係は見られなかった。次に、同じ血清を用いて Ang-1/Ang-2、PDGF と PAH との関係を検討した。抗 U1-RNP 陽性 CTD における PAH 群では PDGF は 2.7 ± 1.8 ng/ml と非 PAH 群 3.4 ± 1.8 と有意差はなかった。U1-RNP 陽性 CTD では PAH 軽症例が多く含まれる為、診断が確定している膠原病 PAH 群で、PDGF 値を検討した。PAP と相関がみられ、NIHA が増加すると、PDGF 値も増加する傾向が見られた。また、PDGF と Ang-1 は負の相関がみられた。

結論：MCTD の PAH では、Ang-1 が低値を示し、Ang-1 の低下により EC の保護が低下していることが考えられた。一方、PDGF は血管の増殖に関与することが報告され一部 PAH でも増加していることが確認できたことは、今後の PDGF 阻害薬による PAH の治療の選択枝として検討する価値があるものと考えられた。

A. 研究目的

Angiotensin-1 (Ang-1) は Tie2 受容体を介して血管平滑筋の増殖を誘導する因子であり、強力な血管増殖因子であるとともに、血管の保護作用を有することも明らかになった蛋白である [1, 2]。Du [3] は、Ang-1 が肺動脈性肺高血圧症 (PAH) での病態形成に関与することを報告し注目された。しかし、低酸素をモデルとする PAH でも、Ang-1 の関与を示唆する報告 [4] がある。iPAH では、Ang-1 で前処理した肺動脈は血管平滑筋の増殖が誘導されことも報告されている。一方、Ang-1 はより血管内皮細胞に防御的に働

き、むしろ PAH には保護的に作用することを示唆する報告 [5] もあり、Ang-1 の PAH 発症への関与は、いまだ明確ではない。一方、Ang-2 は Ang-1 に対して相補的に作用することが報告されている [6]。

PDGF の PAH への関与が最近注目されている。すなわち、PDGF の肺血管局所における発現の増加がみられ、肺高血圧症にも PDGF 受容体の発現の増加、PDGF の産生の増加が肺動脈の remodeling に影響し、肺高血圧症の発症に寄与していることが推測 [7] され、PDGF の阻害薬の PAH の治療にも有効とする報告もある [8]。そ

こで、本研究では、各種膠原病における肺高血圧症における血清 Ang-1/PDGF を測定し、検討したので報告する。

B. 研究方法

対象は SSc (46 例), MCTD (46), 抗 U1RNP 抗体陽性例 (82)、PH with CTD (42)、健常人 (50) の血清を用いた。抗 U1RNP 抗体陽性の膠原病患者、MCTD、PAH 合併 (UCG で PAPs > 40 mmHg) のその他の膠原病を対象とした。これらの血中の Ang-1 (Home made ELISA), Ang-2 (Home made ELISA), PDGF (R&D 社製 ELISA) にて測定した。それぞれの臨床症状と Ang-1/Ang-2, PDGF との関連を検討した。

C. 研究結果

MCTD の PAH 例では Ang-1 が低値を示す傾向が得られているため、Ang-1 に相補的に作用する Ang-2 も同時に測定し両者の関係を検討した。抗 U1-RNP 陽性 CTD 群では、Ang-1 と Ang-2 は軽度の正の相関関係が見られたが有意差は見られなかった (図 1)。この中で、PAH 群は Ang-2 は 4.1 ± 2.2 pg/ml と非 PAH 群 5.8 ± 5.9 に比べ、やや低値であったが、やはり有意さはなかった。膠原病の PAH 群に関しても、Ang-1/Ang-2 の関係を検討したが、相関関係は見られなかった。また、心臓超音波検査による肺動脈圧 (PAP) と Ang-1 との間には、負の関係が見られたが有意差は見いだせなかった (図 2)。次に、同じ血清を用いて PDGF と Ang-1/Ang-2 および PAH との関係を検討した。同時期の血小板数との相関は見られなく、血中の血小板の影響はなかった。PDGF と Ang-1/Ang-2 の関係は、抗 U1-RNP 陽性 CTD における PAH 群において、負の相関関係の傾向が見られたが有意差はなかった (図 3, 4)。抗 U1-RNP 陽性 CTD における PAH 群では PDGF は 2.7 ± 1.8 ng/ml と非 PAH 群 3.4 ± 1.8 と有意差はなかったが、U1-RNP 陽性 CTD では PAH 軽症例が多く含まれる為、診断が確定している膠原病 PAH 群で、PDGF 値を検討すると、PAP との有意の相関がみられた (図 5)。

D. 考察

MCTD の PAH では、Ang-1 が低値を示すことを報告してきたが、Ang-1 は血管内皮細胞の apoptosis を抑制し、Ang-2 は逆に促進する作用を有 [6]。PAH で、Ang-2 の上昇が予想されたが、PAH では Ang-2 の有意な上昇はみられず、このシステムにおいては、Ang-1 の低下により血管内皮細胞の保護が低下していることが肺高血圧症の発症に寄与する可能性が考えられた。

iPAH では、Ang-1 の血管増殖が、平滑筋増殖を呈し悪化させる因子との報告と [9]、逆に、血管内皮細胞上の Tie2 受容体の発現が低下し、平滑筋からの Ang-1、Ang-2 の産生も低下し、血管内皮細胞の apoptosis の抑制効果が低下することもいわれたいる。幾つかの低酸素誘発の PAH モデルでも、Ang-1 の産生が促進され、PAH がみられることが報告されており、PAH 発症の因子の一つであることは確認されている [10]。一方、Ang-1 が、Ang-2 との相関が見られなかったことは、膠原病の PAH では Ang-1/Ang-2 システムが正常に機能していないことが、PAH の発症に寄与している可能性もあり、実際の PAH 症例の血管内皮や平滑筋細胞における、分子レベルの発現状況を確認することが必要と考えられる。

PDGF の肺血管局所における発現の増加がみられ、肺高血圧症にも PDGF 受容体の発現の増加、PDGF の産生の増加が肺動脈の remodeling に影響し、肺高血圧症の発症に寄与していることが推測されている [8]。肺高血圧症でも肺血管における PDGF 受容体の発現の増加、PDGF の産生の増加が肺動脈の remodeling に影響し、肺高血圧症の発症に寄与していることが推測されている [7, 11]。Imatinib は PDGF 阻害薬であり、CML に有効であるが、PAH 動物実験モデルでも、Imatinib の有効性が報告されている [8]。Sildenafil は PDG を介した、肺動脈由来平滑筋細胞の増殖を抑制することも証明されている [12]。PDGF の産生を抑制する治療の検討が必要と考えられる。

E. 結論

膠原病における PH の鑑別に血清 Ang-1/Ang-2

の測定の有用性が明らかにされた。抗U1RNP抗体陽性例のPAH例においてPDGFの関与も推測され、Ang-1/PDGFがPAHの発症に関与するかを更に明確にする必要がある。

文献

1. Brindle NP, Saharinen P, Alitalo K: Signaling and functions of angiotensin-1 in vascular protection. *Circ Res* 2006; 98(8): 1014-23.
2. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, et al.: Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(12 Suppl S): 13S-24S.
3. Du L, Sullivan CC, Chu D, et al.: Signaling molecules in nonfamilial pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 500-9.
4. Kugathasan L, Dutly AE, Zhao YD, et al.: Role of angiotensin-1 in experimental and human pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2005; 128(6 Suppl): 633S-642S.
5. Zhao YD, Campbell AI, Robb M, Ng D, Stewart DJ: Protective role of angiotensin-1 in experimental pulmonary hypertension. *Circ Res* 2003; 92(9): 984-91.
6. Imhof BA, Aurrand-Lions M: Angiogenesis and inflammation face off. *Nat Med* 2006; 12(2): 171-2.
7. Jones R, Capen D, Jacobson M, Munn L: PDGF and microvessel wall remodeling in adult rat lung: imaging PDGF-AA and PDGF-Ralpha molecules in progenitor smooth muscle cells developing in experimental pulmonary hypertension. *Cell Tissue Res* 2006; 326(3): 759-69.
8. Schermuly RT, Dony E, Ghofrani HA, et al.: Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2811-21.
9. Dewachter L, Adnot S, Fadel E, et al.: Angiotensin/Tie2 pathway influences smooth muscle hyperplasia in idiopathic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174(9): 1025-33.
10. Sullivan CC, Du L, Chu D, et al.: Induction of

pulmonary hypertension by an angiotensin 1/TIE2/serotonin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(21): 12331-6.

11. Barst RJ: PDGF signaling in pulmonary arterial hypertension. *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2691-4.

12. Tantini B, Manes A, Fiumana E, et al.: Antiproliferative effect of sildenafil on human pulmonary artery smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2005; 100(2): 131-8.

F. 研究危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 岡田 純 : ユニキャップエリアによる抗Sm抗体測定の有効性の検討. *医学と薬学* 2007 ; 58: 559-564.
2. Nakayamada, S. Saito, K. Umehara, H. Ogawa, N. Sumida, T. Ito, S. Minota, S. Nara, H. Kondo, H. Okada, J. Mimori, T. Yoshifuji, H. Sano, H. Hashimoto, N. Sugai, S. Tanaka, Y. : Efficacy and safety of mizoribine for the treatment of Sjogren's syndrome: a multicenter open-label clinical trial. *Mod Rheumatol* 2007 ; 17: 464-9.

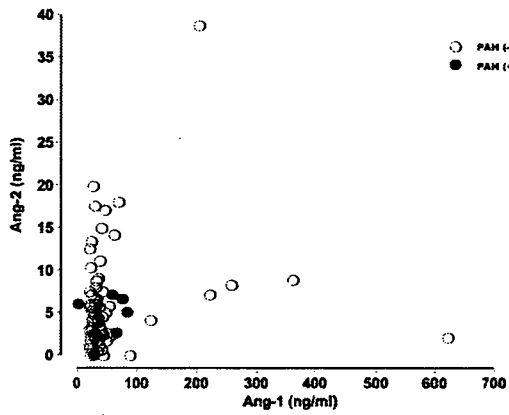


Fig 1. Relation between Ang-1 and Ang-2 in Patients with Anti-U1RNP Ab

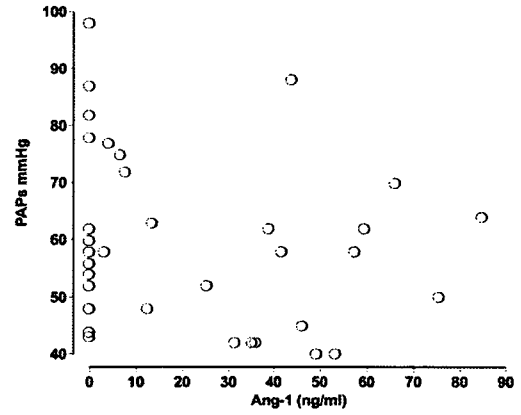


Fig 2. Relation between PAPs and Ang-1 in CTD Patients with PAH

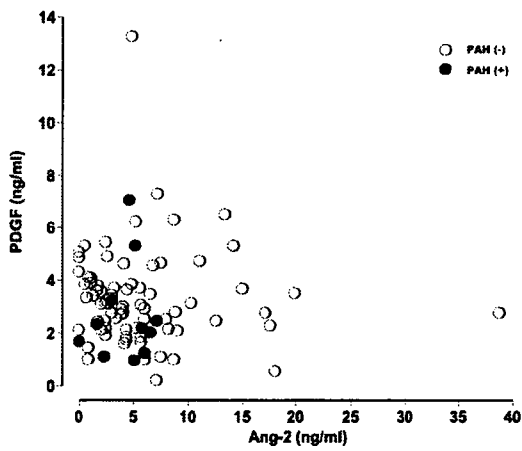


Fig 3. Relation between PDGF and Ang-2 in Patients with Anti-U1RNP Ab

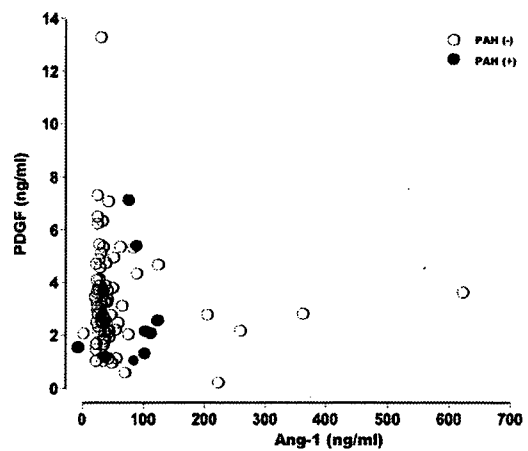


Fig 4. Relation between PDGF and Ang-1 in Patients with Anti-U1RNP Ab

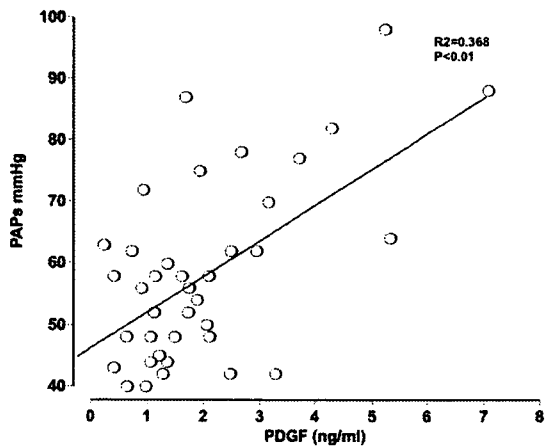


Fig 5. Relation between PAPs and PDGF in CTD Patients with PAH

肺動脈高血圧症発症機転の解析に関する研究

分担研究者： 桑名 正隆 慶應義塾大学医学部内科・准教授
研究協力者： 佐藤 隆司 慶應義塾大学医学部内科・特別研究助教

研究要旨

低酸素暴露により誘導される肺動脈高血圧症 (PAH) の発症機転を追究するため、低酸素により培養肺動脈内皮細胞に固有の発現変化を示す分子の同定を試みた。ヒト正常肺動脈、大動脈、臍帯静脈由来内皮細胞を通常 (21%O₂) または低酸素 (1%O₂) 条件下で培養し、TGF-β/BMP、血管新生関連遺伝子アレイ (179 遺伝子) を用いて、低酸素暴露により肺動脈内皮細胞に固有の発現変化を示す分子をスクリーニングした。その結果、27 の候補遺伝子が抽出され、複数のロットを用いた半定量的 PCR、定量的 PCR、免疫ブロット法によるこれら遺伝子・蛋白発現解析の結果、最終的に BMP 受容体である BMPR-IA と BMPR-II が同定された。低酸素暴露による BMP 受容体の発現低下は肺動脈内皮細胞に特異的であった。また、肺動脈内皮細胞は低酸素暴露後に BMP の下流遺伝子 ID3 の発現も低下したことから、BMP 受容体の発現抑制は細胞機能に影響を与えることが示された。さらに、HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるシンバスタチンの添加は、低酸素暴露による培養肺動脈内皮細胞の BMP 受容体の発現低下を抑制した。以上より、低酸素暴露により PAH が誘導される機序のひとつとして、BMP 受容体の発現低下による血管内皮細胞の増殖抑制障害が考えられた。シンバスタチンは低酸素による BMP シグナル不全を是正することで、PAH の発症予防に有用な可能性が考えられた。

A. 研究目的

肺動脈高血圧症 (PAH) は MCTD 患者の予後を規定する主要な臓器病変の一つであるが、その発症機序はいまだ明らかでない。肺が慢性的に低酸素状態に暴露されると PAH が惹起されることは臨床観察、動物実験から明らかである。そのため、低酸素暴露が肺動脈内皮細胞に PAH の発症に関わる器質的变化をもたらす可能性が高い。PAH における細胞増殖性の変化は肺動脈に選択的で他の動脈や静脈にみられない点に注目し、本研究では異なる組織由来の培養ヒト血管内皮細胞を低酸素に暴露し、肺動脈内皮細胞に固有の発現変化を示す分子の同定を試みた。

B. 研究方法

(1) 低酸素暴露により誘導される培養血管内皮細胞の遺伝子発現変化の検討

培養ヒト正常肺動脈、大動脈、臍帯静脈由来内皮細胞を通常 (21%O₂) および低酸素 (1%O₂) に

24 時間暴露し、total RNA を抽出し、DNA アレイ (SuperArray 社) を用いて、血管新生関連および TGF-β/BMP 関連の計 179 遺伝子の発現変化をスクリーニングした。低酸素と通常培養の遺伝子発現が 1.5 倍以上異なるものを有意な発現変化と定義した。低酸素暴露により肺動脈内皮細胞での発現が変化し、その発現変化が大動脈および臍帯静脈内皮細胞と異なる、2 つの条件を満たした遺伝子を肺動脈内皮細胞に固有の発現変化を示す候補遺伝子として抽出した。

DNA アレイの結果の確認および再現性を検討するため、さらに異なるロットの各種血管内皮細胞 (肺動脈:3, 大動脈:2, 臍帯静脈:2) を用いた。DNA アレイの結果から抽出された遺伝子群に特異的なプライマーを用いて PCR を行ない、PCR 産物を 1.5%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色後、GelDoc XR (BIO-RAD Laboratories) で可視化をした。個々のバンドの発現強度を NIH Image を用いた

デンシトメトリーにより半定量的に解析した。複数のロットで再現性の得られた遺伝子については、さらに TaqMan PCR による定量的解析を行った。通常酸度条件で培養した肺動脈内皮細胞由来の cDNA の希釈系列を用いて各遺伝子の発現強度を標準化し、さらに β -actin の発現レベルにより補正した。最終的に、統計学的な検討を行い、肺動脈内皮細胞に固有の発現変化を示す遺伝子を同定した。

(2) 培養血管内皮細胞における蛋白発現解析

遺伝子発現解析により同定された肺動脈内皮細胞に固有の発現変化を示す分子について、肺動脈、大動脈、臍帯静脈血管内皮細胞を 12、24、48、72 時間低酸素に暴露し、それらの蛋白発現変化を検討した。各種細胞は RIPA lysis buffer (50mM Tris-HCl pH7.4、150mM NaCl、0.25% deoxycholic acid、1% Nonidet P-40、1mM PMSF、1mM sodium orthovanadate、1mM sodium fluoride、1 μ g/ml aprotinin、1 μ g/ml leupeptin) で溶解し、8.5%ポリアクリルアミド-SDS ゲル電気泳動で分画し、ニトロセルロース膜に電氣的に転写した。免疫ブロット法は、ヤギポリクローナル抗 BMPR-IA 抗体 (R&D Systems)、マウスモノクローナル抗 BMPR-II 抗体 (Becton Dickinson) またはウサギポリクローナル抗 β -actin 抗体 (Sigma) を用い、ペルオキシダーゼ標識二次抗体を反応後、化学的に発色することで検出した。分子量をもとに目的分子バンドを同定し、その強度をデンシトメトリーにより半定量的に求め、 β -actin 発現量との比を計算することで標準化した。

(3) BMP 下流遺伝子の発現変化の検討

BMP/TGF- β シグナルにより特異的に誘導される下流遺伝子として ID3、PAI-1 が知られている。低酸素に 24 時間暴露後の肺動脈、大動脈、臍帯静脈由来血管内皮細胞における ID3、PAI-1 遺伝子の発現変化をデンシトメトリーによる半定量 PCR、TaqMan PCR による定量 PCR を用いて検討した。

(4) シンバスタチンが BMPR-IA、BMPR-II 遺伝子発現変化に及ぼす影響の検討

低酸素培養開始時にシンバスタチン

(CALBIOCHEM) もしくは溶解液を添加し (最終濃度; 1 μ M、10 μ M)、BMPR-IA、BMPR-II 遺伝子発現の変化をデンシトメトリーによる半定量 PCR、TaqMan PCR による定量 PCR を用いて検討した。

(5) 統計学的検討

2 群間の比較には Mann-Whitney U test を使用した。

(倫理面への配慮)

本研究では購入した培養ヒト血管内皮細胞を用い、ヒト検体の採取は行なわなかった。

C. 研究結果

(1) 低酸素暴露により肺動脈血管内皮細胞で特異的な発現変化を示す遺伝子の同定

DNA アレイによるスクリーニングの結果、低酸素暴露後に発現が低下した遺伝子は、肺動脈内皮細胞で 20、大動脈内皮細胞で 14、臍帯静脈内皮細胞で 10 検出された。一方、低酸素暴露後に発現が増加した遺伝子は、肺動脈内皮細胞で 10、大動脈内皮細胞で 10、臍帯静脈内皮細胞で 17 検出された。そのうち、27 遺伝子が肺動脈血管内皮細胞に固有の発現変化を示した。これら候補遺伝子について半定量的 PCR で再現性を確認したところ、5 遺伝子 (BMPR-IA、BMPR-II、Flt-1、Tie-1、CD31) に絞られた。さらに、定量的 PCR により、BMP 受容体である BMPR-IA、BMPR-II の 2 つが同定された。BMPR-IA 遺伝子発現は低酸素培養により肺動脈内皮細胞で 0.5 倍と有意に低下し、大動脈内皮細胞では 1.0 倍と変化せず、臍帯静脈内皮細胞では 1.7 倍に増加した (図 1A)。一方、BMPR-II 遺伝子発現は低酸素培養により、肺動脈内皮細胞で 0.6 倍と有意に低下し、大動脈内皮細胞では 0.8 倍、臍帯静脈内皮細胞では 1.4 倍と変化した (図 1B)。

(2) 低酸素暴露による BMPR-IA、BMPR-II の蛋白レベルでの発現変化

デンシトメトリーによる半定量的検討では、BMPR-IA 蛋白発現は肺動脈内皮細胞では低酸素暴露 48 時間より経時的に低下し、72 時間後では通常培養と比べ 0.5 倍となった。一方、72 時間後の発現は大動脈内皮細胞では 1.8 倍、臍帯静脈内皮細胞は 0.7 倍であった。BMPR-II 蛋白

発現は肺動脈内皮細胞では低酸素暴露 48 時間より経時的に低下し、72 時間後では通常培養と比べ 0.5 倍となった。大動脈内皮細胞、臍帯静脈内皮細胞はそれぞれ 1.0 倍と変化しなかった。(3) 低酸素暴露による BMP 下流遺伝子の発現変化

低酸素暴露による BMP 受容体の発現変化が ID3 発現に及ぼす影響を検討した。低酸素暴露 24 時間後に肺動脈内皮細胞における ID3 遺伝子発現は通常培養の 0.2 倍と減少した。一方、大動脈内皮細胞では 2.9 倍、臍帯静脈内皮細胞では 0.5 倍と変化した。また、肺動脈内皮細胞は低酸素暴露に TGF- β 受容体の下流遺伝子 PAI-1 の発現変化を認めなかった(肺動脈 0.7 倍、大動脈 2.0 倍、臍帯静脈、1.4 倍)。

(4) シンバスタチンの BMP 受容体発現に及ぼす影響

シンバスタチン存在下で肺動脈内皮細胞を低酸素に暴露し、BMPR-IA、BMPR-II 遺伝子の発現を検討した(図 2)。シンバスタチンは低酸素暴露による肺動脈内皮細胞における遺伝子発現の低下を容量依存的に抑制した。

D. 考察

本研究により、低酸素暴露により肺動脈内皮細胞において BMPR-IA および BMPR-II の発現が低下し、その変化は肺動脈血管内皮に固有であることが示された。さらに、肺動脈内皮細胞を低酸素に暴露すると BMP 下流遺伝子 ID3 発現が抑制されたことから、BMP 受容体発現低下が BMP シグナル不全を誘導すると考えられた。BMP は血管内皮細胞の増殖を強力に抑制することから、低酸素暴露による BMP シグナル不全が肺動脈血管内皮細胞の増殖を介して PAH 病態を誘導する可能性が考えられた。この点は、原発性 PAH で報告されている BMPR-II 遺伝子変異および肺組織における BMPR-IA、BMPR-II の発現低下が PAH 病態誘導に関わるという知見を支持する。

スタチン系薬剤が PAH 病態を改善することが報告されている。原発性および二次性 PAH 患者を対象としたシンバスタチン (20-80mg/日) のオープン試験では、6 分間歩行距離と心拍出量の

改善と右室収縮期圧低下を認めた。低酸素で誘導される PAH モデル動物にスタチン系薬剤を投与すると肺動脈壁肥厚の抑制、右室収縮期圧の低下を認めることが示されている。また、培養肺微小血管内皮細胞にシンバスタチンを添加することで、BMPR-II 遺伝子の発現が増加することも報告されている。本研究でも、シンバスタチン添加により、低酸素暴露により誘導される肺動脈内皮細胞における BMP 受容体の発現低下が抑制できることが示された。したがって、スタチン系薬剤が低酸素暴露による BMP シグナル不全を是正することで PAH の進展予防に有効な可能性が示された。

E. 結論

低酸素暴露が PAH の病態を誘導する機序のひとつとして、肺動脈内皮細胞における BMPR-IA、BMPR-II の発現低下が明らかとなった。また、スタチン系薬剤が MCTD に伴う PAH の進展を抑制しえる可能性が示された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

Kuwana M: Deficient vascular repair as a mechanism for scleroderma vascular disease. Professor E. Carwile LeRoy Memorial International Workshop on Scleroderma (Tokyo). 2007. 5.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

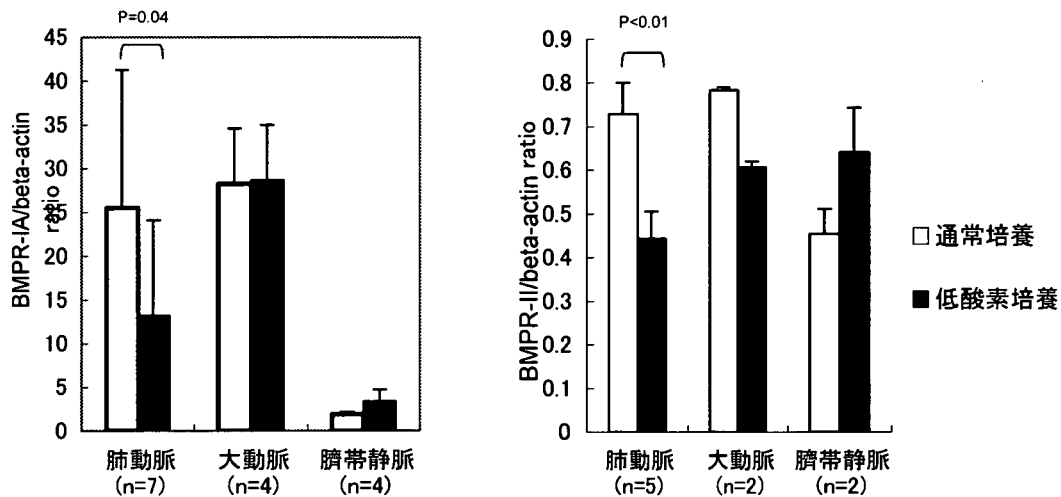


図 1: 通常培養および低酸素培養における肺動脈、大動脈、臍帯静脈由来の培養血管内皮細胞の BMPR-IA (A) と BMPR-II (B) 遺伝子発現の TaqMan PCR による定量的解析。BMPR-IA、BMPR-II の発現は β -actin 発現に対する比として表した。

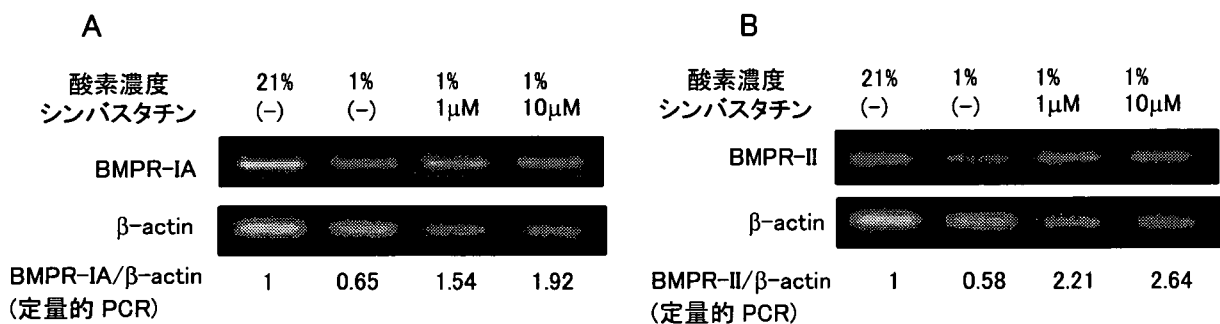


図 2: シンバスタチン存在下の低酸素暴露が肺動脈内皮細胞における BMPR-IA (A) と BMPR-II (B) 遺伝子発現に与える影響の検討。BMPR-IA、BMPR-II 発現は β -actin 発現量で標準化し、通常培養時の BMP 受容体発現量を 1 とした時の比として表記した。

肺動脈性肺高血圧症における脳性 Na 利尿ペプチド前駆体 N 末端断片
(NT-proBNP)の臨床的意義に関する研究

分担研究者： 諏訪 昭 東海大学医学部内科学系リウマチ内科学・准教授
研究協力者： 佐藤 徹 慶應義塾大学医学部内科・准教授
金子祐子 慶應義塾大学医学部内科・特別研究助教
佐藤慎二 慶應義塾大学医学部内科・助教
桑名正隆 慶應義塾大学医学部内科・准教授
平形道人 慶應義塾大学医学部内科・講師
鈴木康夫 東海大学医学部内科学系リウマチ内科学・教授

研究要旨

【目的】心房性および脳性 Na 利尿性ペプチド (ANP, BNP) は、心不全において代償的に分泌・産生され、肺高血圧症 (PH) の診断、病態把握上有用である。BNP 前駆体は心筋細胞内で分解され、BNP とともに血中へ分泌されるが、BNP 前駆体 N 末端断片 (NT-proBNP) は、慢性および急性心不全では著明に増加し、PH の診断や予後因子としての有用性が示されている。昨年度の研究において、膠原病性 PH (CPH) において血漿 BNP, NT-proBNP, ANP, およびサイクリック GMP (cGMP) が高値を示すことを明らかとしたが、本研究において NT-proBNP の PH の診断および病態把握における意義の追究を目的とした。【対象および方法】1) 対象は膠原病患者 100 例および特発性肺動脈性 PH (IPH) 患者 63 例の計 163 例 (男性 23, 女性 140 例) とした。2) PH の診断は、心ドップラーエコー法による推定平均肺動脈圧 (PAm) ≥ 35 mmHg または心臓カテーテル検査により PAm ≥ 30 mmHg を示すものとした。3) 血漿 ANP, BNP, CNP は IRMA 法, ET-1 は RIA2 抗体法, cGMP は RIA 法, NT-proBNP は競合 ELISA 法 (BIOMEDICA 社; B) または電気化学免疫発光法 (Roche 社; R) を用いて測定した。4) 二群間の比較はマン・ホイットニ検定; 相関の程度は Spearman の順位相関を用い検定した。各因子の特性は ROC 曲線より曲線下面積 (AUC) を求め、ウィルコクソン符号付順位和検定の変法を用いて決定した。【結果】1) 膠原病患者 79 例の検討において、PH 例 (N=16) では非 PH 例 (心不全, 腎不全, 高血圧を除く) (N=63) に比して、NT-proBNP (R) (317.2 ± 932.5 VS 74.4 ± 91.8 , pg/ml, $p < 0.01$), NT-proBNP (B) (772.0 ± 237.9 VS 498.1 ± 335.3 pg/ml, $p < 0.01$), BNP (50.1 ± 86.3 vs 18.3 ± 45.4 pg/ml, $P < 0.01$), ANP (199.7 ± 166.9 VS 17.7 ± 22.0 pg/ml, $P < 0.01$), cGMP (7.5 ± 3.3 VS 3.8 ± 1.6 pmol/ml, $p < 0.01$), ET-1 (2.2 ± 0.7 VS 1.8 ± 0.4 , $p < 0.05$) が高値を示した。2) NT-proBNP (R) と BNP, ANP, cGMP ($p < 0.01$), NT-proBNP (B) と BNP ($p < 0.05$), BNP と ANP, BNP と cGMP, ANP と cGMP の間に相関が認められた ($p < 0.01$)。3) AUC は、ANP 0.90 (95%CI; 0.83-0.98), NT-proBNP (R) 0.84 (0.74-0.95), BNP 0.80 (0.67-0.92), cGMP 0.79 (0.67-0.91), NT-proBNP (B) 0.75 (0.62-0.88) であり、これらの ROC 曲線が有意であった。PH 診断特性は、NT-proBNP (R) (≥ 78 pg/ml): 感度 95%, 特異度 57%, NT-proBNP (B) (≥ 722 pg/ml): 感度 79%, 特異度 61%, BNP (≥ 18 mg/dl): 感度 79%, 特異度 50%, ANP (≥ 40 mg/dl): 感度 74%, 特異度 89%, cGMP (≥ 4.1 mg/dl): 感度 79%, 特異度 57%であった。4) CPH (N=38) と IPH (N=62) の比較では、NT-proBNP (R) は 2119.8 ± 12553.0 pg/ml, BNP は 207.3 ± 502.1 pg/ml であり、両者に相関が認められた (0.942, $p < 0.01$)。PAm で層別化し、各群の平均測定値をそれ

ぞれのカットオフ値で除した INDEX を比較したところ、重症 ($PAm \geq 55\text{mmHg}$) : NT-proBNP (R) 14.8 vs BNP 8.9, 中等症 (40-54mmHg) : 13.0 vs 12.5, 軽症 ($<40\text{mmHg}$) : 2.4 vs 4.6 と NT-proBNP (R) は重症度を反映した。【考察】 NT-proBNP (R) が CPH および IPH の診断および病態把握に有用なことが証明された。さらに、本研究では PH 診断に適した ANP および cGMP の境界値を見出した。これらの成績は PH の診断指針への応用が可能と思われる。【結論】 PH における NT-proBNP の臨床的意義を確立した。

A. 研究目的

心房性および脳性 Na 利尿性ペプチド (ANP, BNP) は、心不全において代償的に分泌・産生され、肺高血圧症 (PH) の診断、病態把握上有用である。心筋細胞内で BNP 前駆体の解離により、BNP とともに血中へ分泌される BNP 前駆体 N 末端断片 (NT-proBNP) は、左心機能障害や心不全の、PH の診断、心不全や心血管イベント、PH の予後因子としての有用性が示されている。昨年度までの研究において、膠原病性 PH (CPH) において血漿 NT-proBNP, BNP, ANP, およびサイクリック GMP (cGMP) が高値を示すことを明らかとしたが、本研究においては PH における NT-proBNP の診断および病態把握における意義の追究を目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

膠原病患者 100 例および特発性肺動脈性 PH (IPAH) 患者 63 例の計 163 例 (男性 23, 女性 140 例) を対象とした。

2. 方法

1) 心ドップラーエコー法による推定平均肺動脈圧 (PAm) $\geq 35\text{ mmHg}$ を示す例または心臓カテーテル検査により $PAm \geq 30\text{ mmHg}$ を示すものを PH と診断した。

2) 血漿 ANP, BNP, CNP は IRMA 法, ET-1 は RIA2 抗体法, cGMP は RIA 法, NT-proBNP は競合 ELISA 法 (BIOMEDICA 社; B) または電気化学免疫発光法 (Roche 社; R) を用いて測定した。

3) 統計学的解析では、二群間の比較はマン・ホイットニ検定、相関の程度は Spearman の順位相関を用い検定した。各液性因子の特性は ROC 曲線 (受信者動作特性曲線) より曲線下面

積 (AUC) を求め、ウィルコクソン符号付順位和検定の変法を用いて決定した。

(倫理面への配慮)

患者への説明の上同意を得た。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. 患者背景

性別は、男性 23 例、女性 140 例であった。年齢は、平均 49.9 ± 15.7 歳であった。

これらの診断は、全身性エリテマトーデス (SLE) (N=34), 全身性硬化症 (SSc) (N=33), 混合性結合組織病/膠原病重複症候群 (MCTD/OL) (N=11), シェーグレン症候群 (SiS) (N=6), ベーチェット病 (N=4), 関節リウマチ (RA) (N=4), 多発性筋炎/皮膚筋炎 (PM/DM) (N=2), 高安動脈炎 (N=2), 原発性リン脂質症候群 (APS) (N=1), 未分類膠原病 (UCTD) (N=3), IPAH (N=63) であった。

膠原病性 PH (CPH) と診断された例は 16 例であった。

2. CPH における NT-proBNP の意義

1) CPH と各液性因子

膠原病患者 79 例を PH の有無で二群に分け、NT-proBNP, ANP, BNP, CNP, ET-1, cGMP 値を比較した。

PH 例 (N=16) では非 PH 例 (心不全, 腎不全, 高血圧を除く) (N=63) に比して、NT-proBNP (R) (中央値 317.2 ± 932.5 VS 74.4 ± 91.8 , pg/ml, $p < 0.01$), NT-proBNP (B) (772.0 ± 237.9 VS 498.1 ± 335.3 pg/ml, $p < 0.01$), BNP (50.1 ± 86.3 vs 18.3 ± 45.4 pg/ml, $P < 0.01$), ANP (199.7

±166.9 VS 17.7±22.0 pg/ml, P<0.01), cGMP (7.5 ±3.3 VS. 3.8±1.6 pmol/ml, p<0.01), ET-1 (2.2 ±0.7 VS.1.8±0.4, p<0.05) が高値を示した (図 1).

2) 各液性因子間の相関

NT-proBNP(R)と BNP, ANP, cGMP (p<0.01), NT-proBNP (B)と BNP (p<0.05), BNPと ANP, cGMP, ANPと cGMPの間に相関が認められた (p<0.01) (表 1).

3) 各液性因子の特性

ROC 曲線から求めた AUC は, ANP 0.90 (95%CI;0.83-0.98), NT-proBNP(R) 0.84 (0.74-0.95), BNP 0.80 (0.67-0.92), cGMP 0.79 (0.67-0.91), NT-proBNP(B) 0.75 (0.62-0.88) であり, とこれらの ROC 曲線が有意であった (図 2).

PH 診断における特性は, NT-proBNP (R) (≥ 78 pg/ml): 感度 95%, 特異度 57%, NT-proBNP (B) (≥722 pg/ml): 感度 79%, 特異度 61%, BNP (≥18 mg/dl): 感度 79%, 特異度 50%, ANP (≥40 mg/dl): 感度 74%, 特異度 89%, cGMP (≥4.1 mg/dl): 感度 79%, 特異度 57%であった (表 2).

4) 各液性因子のカットオフ Index

各郡平均値をそれぞれのカットオフ値で除したカットオフ Index は, NT-proBNP (R) が 8.21, BNP が 7.80, ANP が 2.18, cGMP が 1.86 と, PH において NT-proBNP (R) の上昇が最も顕著であった (表 3).

3. PH における NT-proBNP の意義

1) PH 患者背景

PH 100 例の内訳は, CPH が 37 例 (SSc (N=15), SLE (N=8), MCTD/OL (N=5), SiS (N=3), RA (N=2), ベーチェット病 (N=1), UCTD (N=3) と, IPAH 63 例であった. 性別は, 男性 17 例, 女性 83 例であった. 年齢は, 平均 48.4±15.6 歳であった.

PAm は 30-91mmHg, 平均 46.1±17.1 mmHg であった.

2) CPH と IPAH における NT-proBNP (R) と BNP

CPH と IPAH の二群に分け, NT-proBNP お

よび BNP を比較したところ, 両者ともに差はみられなかった (図 3).

3) NT-proBNP と BNP の相関

NT-proBNP (R) は 2119.8±12553.0 pg/ml, BNP は 207.3±502.1 pg/ml であり, 両者に相関が認められた (0.942, p<0.01) (図 4).

4) NT-proBNP と BNP のカットオフ Index

PAm で層別化し, カットオフ INDEX を比較したところ, 重症 (PAm ≥55mmHg): NT-proBNP (R) 14.8 vs BNP 8.9, 中等症 (40-54mmHg): 13.0 vs 12.5, 軽症 (<40mmHg): 2.4 vs 4.6 と NT-proBNP (R) は重症度を反映した (図 5).

D. 考察

ANP は, 1984 年に松尾らにより, 単離, 同定されたホルモンであり, 血圧・体液調節に関わる心臓ホルモン, 神経ペプチドであることが明らかとされた 1988 年には, 第二の Na 利尿性ペプチドである BNP が脳と心臓から発見され, さらに 1990 年には, 第三の Na 利尿性ペプチドである CNP が脳から発見された. Na 利尿性ペプチドの受容体には, グアニルシクラーゼ (GC)-A (Na 利尿性ペプチド A 受容体; NPR-A), GC-B (Na 利尿性ペプチド B 受容体; NPR-B), クリアランス受容体 (Na 利尿性ペプチド C 受容体; NPR-C) があるが, NPR-B には CNP が特異的に結合し, NPR-A には, ANP, BNP が高い親和性を示し, NPR-C には, ANP>CNP>BNP の順に高い親和性を示す. ANP と BNP は, 心不全では重症度に比例して, 血中濃度が上昇することから, PH の診断の指標となることが指摘されてきた. BNP は不活性プロホルモンとして合成され, 活性型の BNP と不活性 N 末端断片 (NT-pro-BNP) に切断されるが, NT-proBNP は BNP に比して血中半減期が長く, 検体の保存安定性も高く, 軽度心機能障害の検出能に優れ, 重症度をよく反映することから, PH の早期診断および病態把握に有用な可能性が示されていた.

昨年度までの研究において, これまで BNP に比して, 感度が低いとされてきた ANP について, ROC 曲線を用い, PH 診断に適した境界値を見

出し、NT-proBNP と cGMP が BNP, ANP と同様に CPH において高値を示し、NT-proBNP の診断精度は、BNP より優れていることを明かとしてきた。昨年度の研究で用いた抗体は NT-proBNP (8-29) を認識するが、NT-proBNP (1-21) および (39-50) を認識する抗体を用いた ELISA 法が無症候性心不全の診断精度に優れるとの報告もあることから、後者を用いた検討を行ったところ NT-proBNP の診断的価値が上昇することが示された。

CPH と IPAH における NT-proBNP および BNP の比較では、両者に差は認められなかった。肺動脈圧高値の重症例において、NT-proBNP は BNP に比してより上昇することから、NT-proBNP は重症度を反映し、病態把握上有用なマーカーとなることが明らかとなった。

cGMP は、GTP を基質として合成酵素 GC により生成され、cGMP ホスホジエステラーゼにより分解される細胞内情報伝達物質である。GC は、ANP, 副甲状腺ホルモンやカテコラミン、大腸菌毒素などで活性化される。排泄分泌された血中の cGMP は、組織内の cGMP の変化を反映し、心不全において上昇するとされていた。PH においては、右室への容量および圧負荷が NT-proBNP および BNP の上昇をもたらし、重症例で右房がへの容量および圧負荷が ANP 上昇をもたらし、結果として cGMP が上昇する可能性が示された。

各液性因子の特性をふまえ、診断、病態把握および予後推定マーカーとして応用することが今後の課題で

E. 結論

PH における NT-proBNP の臨床的意義を確立した。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Michito Hirakata, Akira Suwa, Tetsuya Takada,

Shinji Sato, Sonoko Nagai, Ekkehard Genth, Yeong W. Song, Tsuneyo Mimori, Ira N. Targoff. Clinical immunological features of patients with autoantibodies to asparaginyl-transfer RNA synthetase. *Arthritis and Rheumatism* 56(4): 1295-1303, 2007.

2. Shinji Sato, Tetsuya Takada, Yumiko Katsuki, Yuko Kaneko, Akira Suwa, Michito Hirakata, Masataka Kuwana. Longterm effect of intermittent cyclical etidronate therapy on corticosteroid-induced osteoporosis in Japanese patients with connective tissue disease: 7-year followup. *The Journal of Rheumatology* 35(1): 142-146, 2008.

3. 鈴木康夫, 斉藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭. メトトレキサート使用時における葉酸の使用法. *リウマチ科* 37(2): 176-183, 2007.

4. 諏訪 昭, 長谷川直樹, 平形道人, 斉藤栄子, 若林孝幸, 鈴木康夫. 結核診断の新しい診断法: 全血インターフェロングamma 応答測定法のリウマチ性疾患への応用. *リウマチ科* 37(2): 191-196, 2007.

5. 鈴木康夫, 諏訪 昭, 若林孝幸, 斉藤栄子. 抗リウマチ薬の使い方. *痛みと臨床* 7(2): 94-100, 2007.

6. 鈴木康夫, 若林孝幸, 斉藤栄子, 諏訪 昭. 抗リウマチ薬の関節破壊抑制効果. *CLINICAL CALCIUM* 17(4): 110-116, 2007.

7. 諏訪 昭, 若林孝幸, 斉藤栄子, 鈴木康夫. CNS ループスの診断に有用な検査法は? : SPECT の意義. *診断と治療* 99(5): 905-908, 2007.

8. 鈴木康夫, 諏訪 昭, 若林孝幸, 斉藤栄子. 抗リウマチ薬による薬剤性肺障害. *リウマチ科* 37(4): 333-340, 2007.

9. 鈴木康夫, 諏訪 昭, 若林孝幸, 斉藤栄子. 抗リウマチ薬 (DMARDs) はいつ, どのように使用すべきか. *内科* 99(4): 598-602, 2007.

10. 諏訪 昭, 斉藤栄子, 若林孝幸, 鈴木康夫. 関節リウマチに伴う骨粗鬆症 (1) : 病態. *CLINICAL CALCIUM* 17(8): 106-110, 2007.

11. 鈴木康夫, 斉藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭, 医薬品副作用学一薬剤の安全使用アップデート

一 薬効群別副作用：抗リウマチ薬. 日本臨床 65(増刊号 8) : 209-217, 2007.

12. 鈴木康夫, 齋藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭, 生物学的製剤とその注意点. 呼吸器科 12(3): 268-277, 2007.

13. 鈴木康夫, 齋藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭, 特集: NSAID 潰瘍: PG 製剤. 日本臨床 65(10) : 1843-1849, 2007.

14. 鈴木康夫, 齋藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭, MTX をどのように使っていますか? 5(2) : 55(131)-58(134), 2007.

15. 諏訪 昭. 膠原病に伴う肺動脈性肺高血圧症の診断と最新の治療. 日本内科学会雑誌 96(12):2804-2811, 2007.

16. 若林孝幸, 齋藤栄子, 諏訪 昭, 鈴木康夫. 早期診断と DMARDs 治療. 総合リハビリテーション 36(1) : 49-55, 2007.

17. 諏訪 昭. ステロイドのよくある副作用. 臨床研修プラクティス 5(2) : 68-74, 2008.

18. 諏訪 昭. 膠原病に伴う肺障害. 山口 徹 総監修「今日の治療指針 2008 年版—私はこう治療している」. 医学書院, p642-643, 2008.

2. 学会発表

1. 諏訪 昭, 平形道人, 金子祐子, 佐藤慎二, 桑名正隆, 齋藤栄子, 若林孝幸, 鈴木康夫. 膠原病に伴う肺動脈性肺高血圧症 (CPH) における Na 利尿ペプチドの意義に関する研究. 第 51 回日本リウマチ学会総会, 横浜市, 平成 19 年 4 月.

2. 若林孝幸, 齋藤栄子, 諏訪 昭, 鈴木康夫. 高齢関節リウマチに対する低用量タクロリムスの有効性と安全性の検討. 第 51 回日本リウマチ学会総会, 横浜市, 平成 19 年 4 月.

3. 佐藤慎二, 平形道人, 金子祐子, 諏訪 昭, 桑名正隆. 筋炎特異および関連自己抗体を用いた皮膚筋炎の病型分類の検討. 第 51 回日本リウマチ学会総会, 横浜市, 平成 19 年 4 月.

4. 金子祐子, 平形道人, 花岡洋成, 古屋善章, 高田哲也, 香月有美子, 木村納子, 佐藤慎二, 諏訪 昭, 桑名正隆. 多発性筋炎に対するタクロリムスの効果. 第 51 回日本リウマチ学会総会,

横浜市, 平成 19 年 4 月.

5. 齋藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭, 鈴木康夫. SLE 治療経過中に発症し, ステロイドが著効した蛋白漏出性胃腸症 (PLGE) の一例. 第 51 回日本リウマチ学会総会, 横浜市, 平成 19 年 4 月.

6. Akira Suwa, Michito Hirakata, Naoki Hasegawa, Yuko Kaneko, Shinji Sato, Eiko Saito, Takayuki Wakabayashi, Yasuo Suzuki. Whole blood interferon-gamma assay is useful to assess the risk of latent tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology 71st Annual Meeting, Boston, November, 2007.

7. Akira Suwa, Michito Hirakata, Tohru Sato, Yuko Kaneko, Shinji Sato, Masataka Kuwana, Eiko Saito, Takayuki Wakabayashi, Yasuo Suzuki. N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of pulmonary arterial hypertension in connective tissue disease. American College of Rheumatology 71st Annual Meeting, Boston, November, 2007.

8. Shinji Sato, Kana Hoshino, Takashi Sato, Yukie Yamaguchi, Akira Suwa, Michito Hirakata, Masataka Kuwana. Clinical classification of dermatomyositis using myositis-specific autoantibodies and newly found autoantibodies in patients with dermatomyositis. American College of Rheumatology 71st Annual Meeting, Boston, November 7-11, 2007.

9. Tetauya Takada, Michito Hirakata, Yumiko Katsuki, Yuko Kaneko, Shinji Sato, Masataka Kuwana, Akira Suwa, Tadayuki Ishihara. Myositis-specific autoantibodies are associated with specific histopathological features on muscle biopsies. American College of Rheumatology 71st Annual Meeting, Boston, November, 2007.

10. Michito Hirakata, Akira Suwa, Tetauya Takada, Yuko Kaneko, Shinji Sato, Masataka Kuwana, Tadayuki Ishihara. Clinical features of Japanese patients with anti-asparaginyl tRNA synthetase autoantibodies. American College of

Rheumatology 71st Annual Meeting, Boston, November, 2007.

11. 齋藤栄子, 諏訪 昭, 若林孝幸, 鈴木康夫.
 サラゾスルファピリジン (SASP), メトトレキサート (MTX) が無効でインフリキシマブが奏功した強直性脊椎炎の一例. 第 22 回日本臨床リウマチ学会, 鹿児島市, 平成 19 年 11 月.
 (発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得 該当なし.
 実用新案登録 該当なし.
 その他 該当なし.

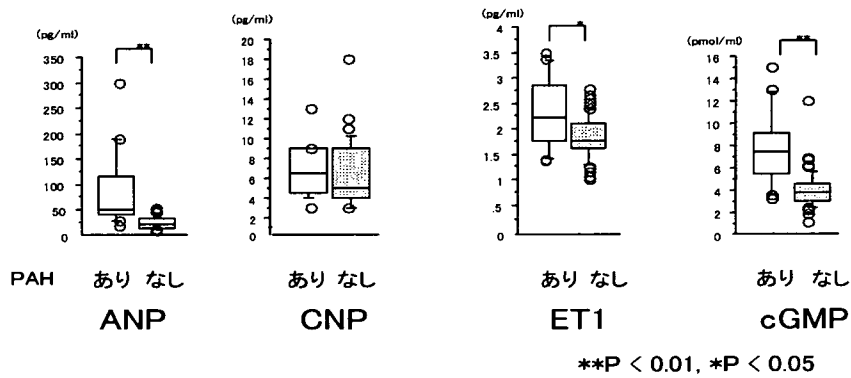


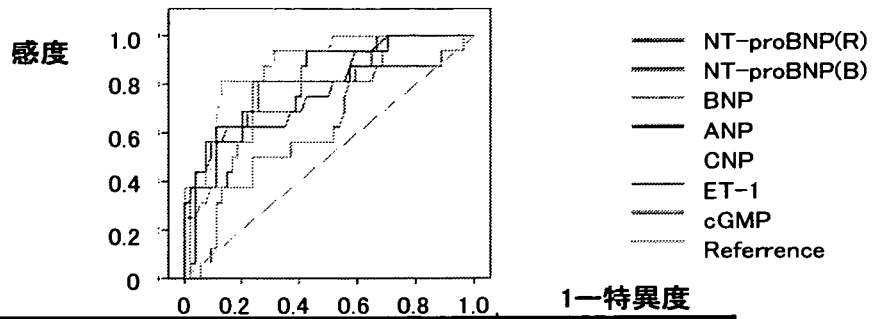
図1 (B)肺動脈性高血圧症とANP,CNP,ET-1,cGMP

Spearmanの順位相関順位調整p値

	NT-proBNP(R)	NT-proBNP(B)	BNP	ANP	CNP	ET1	cGMP
NT-proBNP(R)	1.000	0.270 *	0.875 **	0.769 **	0.106	0.267 *	0.544 **
NT-proBNP(B)	0.270	1.000	0.293 *	0.221	-0.036	0.133	0.097
BNP	0.875	0.293	1.000	0.762 **	0.076	0.176	0.532 **
ANP	0.769	0.221	0.762	1.000	0.059	0.229 *	0.629 **
CNP	0.106	-0.036	0.076	0.059	1.000	0.076	0.062
ET1	0.267	0.133	0.176	0.229	0.076	1.000	0.209
cGMP	0.544	0.097	0.532	0.629	0.062	0.209	1.000

P<0.05*, p<0.01**

表1 Na利尿ペプチドファミリー, cGMPとET1の相関



検定結果変数	面積	a		漸近 95% 信頼区間	
		標準誤差	漸近有意確率	下限	上限
NT-proBNP(R)	.841	.053	.000	.737	.945
NT-proBNP(B)	.749	.064	.003	.623	.875
BNP	.799	.064	.000	.674	.924
ANP	.901	.038	.000	.674	.924
CNP	.560	.071	.439	.420	.700
ET1	.607	.0083	.167	.445	.770
cGMP	.787	.083	.167	.670	.770

a.ノンパラメトリックの
仮定のもとで
b.帰無仮説:
真の面積 = 0.5

図2 ROC曲線を用いた各マーカーの検定

NT-proBNP						BNP			ANP			cGMP		
ROCHE			BIOMEDICA											
境界値 pg/ml	感度 (%)	特異度 (%)	境界値 pg/ml	感度 (%)	特異度 (%)	境界値 pg/ml	感度 (%)	特異度 (%)	境界値 pg/ml	感度 (%)	特異度 (%)	境界値 pmol/ml	感度 (%)	特異度 (%)
8	100	0	67	100	0	3	100	0	9	100	0	0.1	100	0
...
51	95	30	445	88	59	13	84	43	29	95	68	3.6	95	41
78	95	57	598	81	74	18	79	50	40	79	89	4.1	79	57
89	74	61	638	63	76	33	69	76	50	42	99	4.7	68	70
124	63	80	680	56	81
...
541	0	100	1806	0	100	518	0	100	191	0	100	128	0	100

表2 各マーカーの感度と特異度

	平均値		カットオフ Index
NT-proBNP (R)	707.5 ± 932.5	(pg/ml)	8.21
BNP	142.2 ± 41.7	(pg/ml)	7.80
ANP	87.2 ± 19.3	(pg/ml)	2.18
cGMP	2.3 ± 0.2	(pmol/ml)	1.86

* カットオフ Index = 各群平均値 / カットオフ値

表3 各マーカーのカットオフ Index

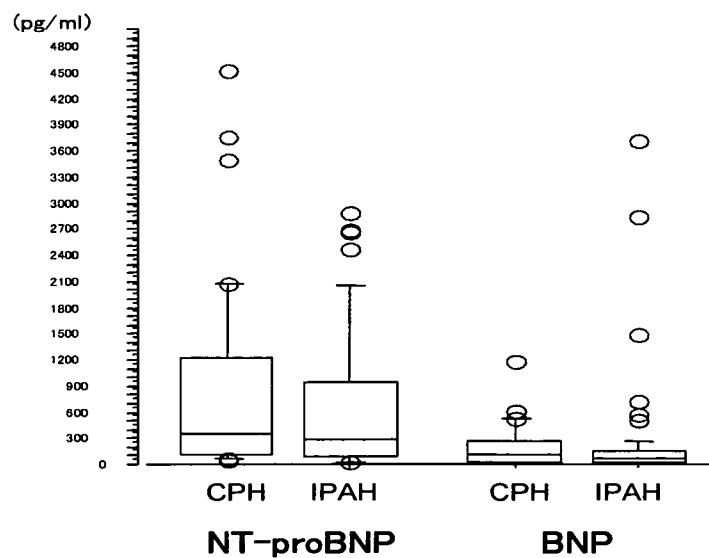
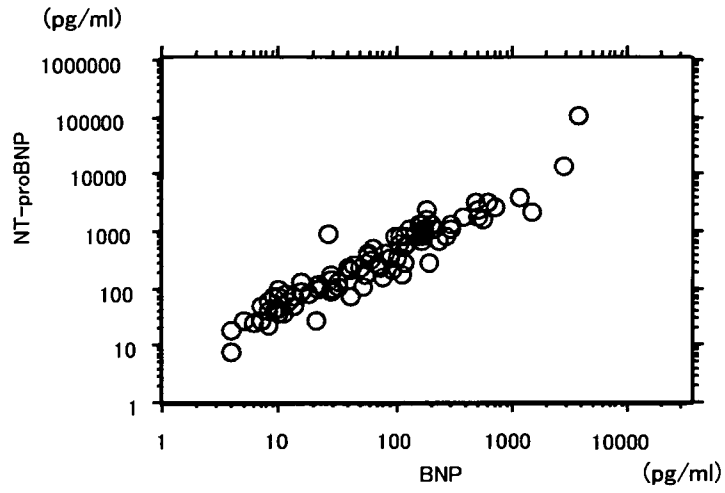


図3 肺動脈性肺高血圧症におけるNT-proBNP, BNP



Spearmanの順位相関順位調整 p 値 0.942 (P<0.01)

図4 BNPとNT-proBNPの相関性

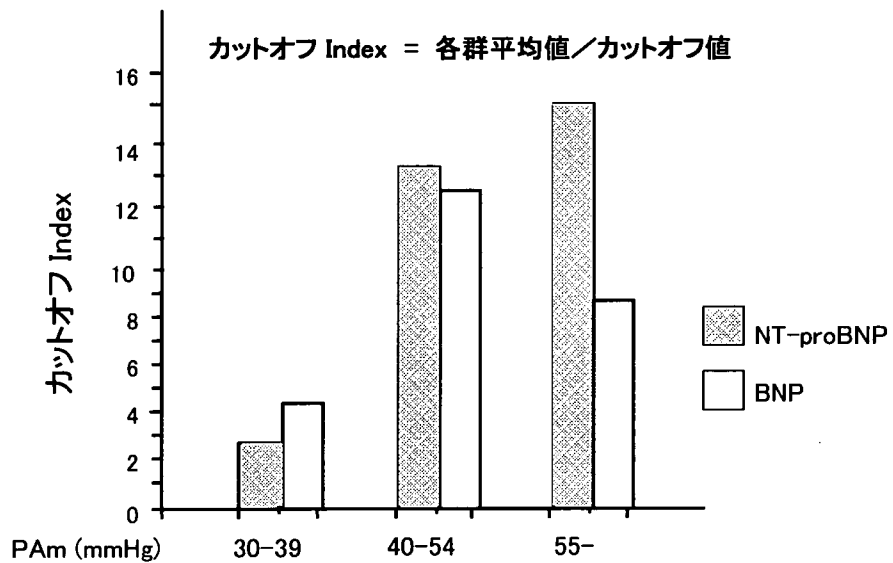


図5 重症度別カットオフ Indexの比較

混合性結合組織病の肺高血圧症の病態解明と治療法の確立に関する研究

分担研究者： 高崎 芳成 順天堂大学医学部膠原病内科科・教授

研究要旨

MCTDの診断基準を満たす142例の自験例よりMCTD研究班肺高血圧症診断の手引きを満たす症例を抽出し、我々の教室でこの10年間に経験した強皮症(SSc)、全身性エリテマトーデス(SLE)、シェーグレン症候群(SjS) およびその他の膠原病患者に併発したPH例と、その臨床像および治療への反応性および予後を比較検討した。MCTDでは他の疾患に比較して肺高血圧症(PH)が高率に出現し、MCTDのPH症例は他の疾患に比較して予後良好な傾向があった。しかし、MCTDではPH自体が直接の死因となり、他疾患では感染症などの他の要因で死亡している傾向があった。ステロイドパルスをはじめとする既存の治療法はMCTD-PHの予後に影響を与える力は希薄で、今後シルデナフィル、エポプロステノール、ボセンタンなどの治療効果の検討を要すると思われた。

A. 研究目的

混合性結合組織病(MCTD)は比較的予後良好な疾患とされているが、肺高血圧症(PH)は種々の治療に抵抗し、その予後を悪化させる因子として知られている¹⁾。

本研究ではMCTDとその他の膠原病患者におけるPHの病態や、各種治療への反応性を比較検討し、MCTDにおけるPHの特徴や治療に対する反応性の相違を明らかにし、本症におけるPHの治療法について検討を加える。

B. 研究方法

MCTDの診断基準を満たす142例の自験例よりMCTD研究班肺高血圧症診断の手引きを満たす症例を抽出し、我々の教室でこの10年間に経験した強皮症(SSc)、全身性エリテマトーデス(SLE)、シェーグレン症候群(SjS) およびその他の膠原病患者に併発したPH例と、その臨床像および治療への反応性および予後を比較検討した。

(倫理面への配慮)

検体および患者の資料に関する匿名性について配慮がなされている。

C. 研究結果

1) 教室でこの10年間に入院したPH患者におい

て、MCTDは41.8%と最も高率で、それについてSScが18.6%、SLEが18.6%、その他としてSLEとSScの重複症候群および関節リウマチ(RA)を各2例、多発性筋炎、高安病、悪性RAおよび結節生多発動脈炎の患者を各一例認めていた(表1)。

2) MCTD以外の疾患における抗U1 RNP抗体の陽性例は認めなかったが、SScでは抗Top Iが50%、ACAが25%で陽性で、SLEでは全例で抗dsDNA抗体、さらに抗リン脂質抗体が25%で陽性となっていた(表2)。

3) 診断から発症までの期間はMCTDでは5.6年でSLEの13.7年やSScの9.3年に比較して短い傾向があった。しかし、PA圧に関しては各疾患全体の平均が57.4mmHgで、特に疾患間で相違はなかった。

4) 死亡症例は43人中11例(25.6%)で、MCTDの症例はPHを発症した症例中11.1%とSLEやSScに比較して少ない傾向があったが、MCTD以外の症例では感染症などPH以外の原因で死亡することが多かった(表3)。

5) 各疾患の生存率に有意の相関はなく、治療には種々の薬剤が用いられていたが(表4)、ステロイド薬のパルス療法も含め、特に治療法による生存率の相違は認めなかった。