

図3 22症例のCCTTT繰り返し配列の総和

表1 肺動脈性肺高血圧症の発症

	NO (mM)	ET-1 (pg/ml)	NO/ET-1
PAH発症群	117*	2.9**	41***
PAH非発症群	211	1.9	111

22症例中5症例(3, 5, 11, 19, 21)がPAHを併発

* P = 0.011, ** P = 0.0041, *** P = 0.0001 by Student's t-test

表2 CCTTT repeat とNO/ET-1 ratio との関連

CCTTT repeats	NO/ET-1 ratio										平均	
17-21	42	32	104	77	50	61	31					56.7
22-26	114	227	112	125	75	50					117.2	
27-	145	120	173	125	150	136	105	73	95	124.7		

$P = 0.036$
 $P = 0.0004$

表3 CCTTT総和 と PAH 発症との関連

	CCTTT ≤ 21	CCTTT ≥ 22
PAH合併	4例	1例
PAH非合併	3例	14例

$P = 0.02$ by Fisher's exact test. Odds ratio: 18.7. 95% CI 1.5-232

肺高血圧に合併する心血管系のリモデリングの病態解明と治療法開発に関する研究

研究分担者	田中廣壽	東京大学医科学研究所	准教授
研究協力者	吉川賢忠	東京大学医科学研究所	助教
研究協力者	清水宣明	東京大学医科学研究所	特任研究員
研究協力者	佐野元昭	慶応義塾大学医学部再生医学教室	講師
研究協力者	福田恵一	慶応義塾大学医学部再生医学教室	教授

研究要旨

混合性結合組織病（MCTD）をはじめとする膠原病患者における肺高血圧（PH）とそれに合併する右心肥大の発症や治療法開発におけるHEXIM1の意義を明らかにし、新規治療法開発の基盤をつくることを目的とした。HEXIM1とその変異体を心筋組織特異的に発現させるトランスジェニックマウスを作成した。かかるHEXIM1トランスジェニックマウス（Tg）における遺伝子発現プロファイルの解析により、HIF-1 α をはじめとした転写因子や増殖因子関連分子のmRNAが低下していることがわかった。病理組織学的検討では心筋を含めて現時点では異常所見は認めなかった。低酸素負荷によるPHモデルでは、野生型マウスでは正常酸素分圧下飼育に比し低酸素分圧下飼育において右室(左室+中隔)重量比が増加したが、HEXIM1Tgでは増加しなかった。また、心筋リモデリングに関わる遺伝子の発現もHEXIM1Tgでは抑制されていた。以上から、HEXIM1がPHによる右室のリモデリング抑制に関わる可能性が示された。

A. 研究目的

肺高血圧(PH)は混合性結合組織病(MCTD)の予後規定因子であるが、その病態はいまだに明らかではなく、根本的治療法もない。とくに、肺血管抵抗の増大と低酸素血症による右心負荷の増大は右心肥大、肺性心を招来し、予後をさらに悪化させる。一方、最近、血管平滑筋増殖や心肥大の新しい分子機構が発見され注目されている。すなわち、これらの病態において、RNA polymerase IIのリン酸化が亢進しており、それはcyclin T1とともにP-TEFb複合体を構成するCDK9によること、ET-1刺激はこの経路をも介して心肥大の形成に密接に関与していることが報告された(Sano, M., et al. Nat. Med. 2002)。また、血管平滑筋の分化誘導に伴って発現する遺伝子の一つとして発見されたHEXIM1はNF- κ B依存性の転写を抑制するとともに(Ouchida, et al. Genes Cells 2003)、P-TEFbを抑制して転写伸張反応を負に制御することも最近明らかにされた(Yik, J., et al., Mol Cell, 2004)。以上の背景をもとに、MCTDをはじめとする膠原病患者におけるPHと右心肥大の発症や治療法開発におけるHEXIM1の意義を明らかにし、新規治療法開発の基盤をつくることを目的とした。

B. 研究方法

- 1) 内因性HEXIM1発現量を操作するべく、Cre-loxPで制御可能なHEXIM1 siRNA発現アデノウイルスの系を樹立した。
- 2) 心筋特異的にHEXIM1を発現するトランスジェニックマウス(HEXIM1Tgマウス)を慶応義塾大学医学部再生医学教室 佐野元昭講師の協力によって作成した。
- 3) HEXIM1Tgマウスなどを用いて低酸素負荷PHモデルを構築し(野生型ならびにHEXIM1Tgマウス各3匹を正常もしくは低酸素分圧下で7週間飼育)、PHとそれに引き続く右室リモデリングにおけるHEXIM1の意義を、遺伝子発現プロファイリング解析、心臓超音波検査、屠殺後の心の解剖学的計測と病理組織学的解析などによって検討した。

C. 研究結果

- 1) loxPサイトを有するHEXIM1、HEXIM1 siRNA発現アデノウイルスを作成した。両者をCre発現アデノウイルスとともにCOS7細胞、ヒト冠状動脈由来血管平滑筋細胞、に感染させ、HEXIM1の発現量をウエスタンブロットで解析した結果、HEXIM1タンパク発現量は各々増加、減少していた。以上から、こ

これらのアデノウイルスは各組織特異的プロモーターでドライブされるCre recombinase発現アデノウイルスと共感染させることによりHEXIM1発現量とその下流の遺伝子発現ならびに生理機能との関連を探索する有用なツールとなりうることが確認された。ラット心筋細胞にこれらのアデノウイルスを感染させ、エンドセリン(ET)-1処理後のANPとBNPのmRNAをRT-PCRで測定したところ、HEXIM1TgでET-1による増加作用が消失していた(図1)。

2) loxP-HEXIM1(野生型、各種変異体)トランスジェニックマウスとMHC-Creトランスジェニックマウスを交配させ、心筋選択的にHEXIM1を内因性HEXIM1の4-5倍高発現するマウスの樹立に成功した。かかるTgマウスはいずれも正常に生まれ、通常の飼育環境下においては成長速度、体重、など、コントロールのマウスとの間には明らかな違いは認められなかった。16週で屠殺して病理組織学的に検討したが、心筋を含めて現時点では異常所見はなかった。

3) 野生型、cHEXIM1Tgマウスの心筋における遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイを用いて検討した。Tgマウスでは、Hif1a、Cebpd、Klf9、Thrb、Klf15、Ppargc1aなどの転写因子の遺伝子発現が低下していた(図2)。

4) 野生型マウスでは正常酸素分圧下飼育に比し低酸素分圧下飼育において右室(左室+中隔)重量比が増加したが、HEXIM1Tgマウスでは増加しなかった(図3)。心肥大マーカー遺伝子であるSgk1、Nppa(ANP)、低酸素応答性遺伝子であるVegfaのmRNA発現は、正常酸素分圧下飼育、低酸素分圧下飼育いずれにおいても、野生型マウスよりHEXIM1Tgマウスにおいて発現が低下していた(図4)。心臓超音波検査における野生型とHEXIM1Tgマウスの心機能の変化は個体間の変動も大きく現時点では一定の結論が得られなかった。

D. 考察

HEXIM1の生体機能解析のためsiRNA発現系、Tgマウスを開発した。当初、HEXIM1遺伝子破壊マウスが著明な左室肥大を伴って胎生期に死亡することから、HEXIM1トランスジェニックマウスでは心室壁はむしろ菲薄化することが予想されたが、実際の

マウスでは予想を覆す結果となった。かかる結果は生体内においてはRNA polymerase IIのリン酸化状態はHEXIM1の作用にカウンターする装置などによって巧妙に制御されている可能性を示唆する。したがって、今後、HEXIM1のみならずその機能を負に制御する生体装置を明らかにすることでMCTDなどにおけるPHや右心肥大の分子機構解明のみならず新規治療法開発の方向性も明確になる可能性がある。

マウスを低酸素分圧下飼育することにより、心重量解析、遺伝子発現解析の結果から、PHに引き続く右心肥大が誘導され、HEXIM1Tgマウスでは低酸素誘導性右心肥大の誘導が抑制される可能性が示された。心機能解析に関しては解析手技に問題がある可能性があり、解析条件設定の安定化、比較頭数の増加によりさらなる解析が必要と考えられた。

E. 結論

マウスにおけるHEXIM1の心筋特異的過剰発現は、低酸素誘導性PHに伴う右心肥大の進行を抑制する可能性が示唆された。MCTDにおけるPH発症、右室肥大過程を明確にした研究はなく、その抑制方法は確立されていないため、本研究は肺性心の進行に対して独自の位置づけを有する治療法確立に至る可能性がある。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamashita T, Ohneda O, Nagano M, Iemitsu M, Makino Y, Tanaka H, Miyauchi T, Goto K, Ohneda K, Fujii-Kuriyama Y, Poellinger L, Yamamoto M. Abnormal heart development and lung remodeling in mice lacking the hypoxia-inducible factor-related basic helix-loop-helix PAS protein NEPAS. *Mol Cell Biol.* 28(4):1285-1297, 2008.
- 2) Kagawa T, Watanabe N, Mochizuki K, Numari A, Ikeno Y, Itoh J, Tanaka H, Arias IM, Mine T. Phenotypic differences in PFIC2 and BRIC2 correlate with protein stability of mutant Bsep and impaired taurocholate secretion in MDCK II cells. *Am J Physiol Gastrointest*

Liver Physiol. 294(1):G58-67, 2008

3) Yoshikawa N, Shimizu N, Sano M, Ohnuma K, Iwata S, Hosono O, Fukuda K, Morimoto C, Tanaka H. Role of the hinge region of glucocorticoid receptor for

HEXIM1-mediated transcriptional repression. *Biochem Biophys Res Commun.* 371(1):44-49, 2008

4) Yamochi T, Ohnuma K, Hosono O, Tanaka H, Kanai Y, Morimoto C. SSA/Ro52 autoantigen interacts with Dcp2 to enhance its decapping activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 370(1):195-199, 2008

5) Shimizu N, Yoshikawa N, Wada T, Handa H, Sano M, Fukuda K, Suematsu M, Sawai T, Morimoto C, Tanaka H. Tissue- and context-dependent modulation of hormonal sensitivity of glucocorticoid-responsive genes by hexamethylene bisacetamide-inducible protein 1. *Mol Endocrinol.* 22(12):2609-2623, 2008.

6) Shibata S, Nagase M, Yoshida S, Kawarazaki W, Kurihara H, Tanaka H, Miyoshi J, Takai Y, Fujita T. Modification of mineralocorticoid receptor function by Rac1 GTPase: implication in proteinuric kidney disease. *Nat Med.* 14(12):1370-1376, 2008.

7) Hozawa S, Nakamura T, Nakano M, Adachi M, Tanaka H, Takahashi Y, Tetsuya M, Miyata N, Soma H, Hibi T. Induction of matrix metalloproteinase-1 gene transcription by tumour necrosis factor alpha via the

p50/p50 homodimer of nuclear factor-kappa B inactivated human hepatic stellate cells. *Liver Int.* 28(10):1418-1425, 2008

8) Ohnuma K, Hosono O, Kawasaki H, Yoshikawa N, Katayose T, Oyaizu N, Tanaka H, Morimoto C. An adult case of Henoch-Schonlein purpura complicating common peroneal nerve mononeuropathy. *Mod Rheumatol.* *in press*

9) Yoshikawa N, Nagasaki M, Sano M, Tokudome S, Ueno K, Shimizu N, Imoto S, Miyano S, Suematsu M, Fukuda K, Morimoto C, Tanaka H. Ligand-based gene expression profiling identifies critical role of glucocorticoid receptor in rat neonatal cardiomyocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* *in press*

2. 学会発表

吉川賢忠, 森本幾夫, 田中廣壽. 膠原病に合併する肺高血圧症に対する新規治療法開発の分子基盤構築. 第52回日本リウマチ学会総会・学術集会, 札幌, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

とくになし。

図1 HEXIM1の過剰発現は培養心筋細胞における心筋リモデリング関連遺伝子の発現を抑制する

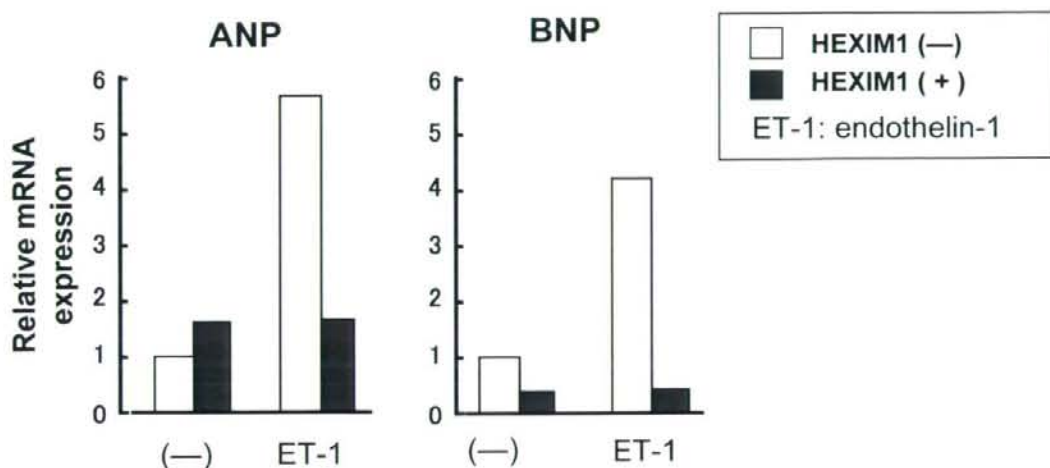


図2 心筋特異的HEXIM1トランスジェニックマウスの心筋における遺伝子発現プロファイルの解析—発現が抑制された遺伝子

DNA microarray analysis > 1.5 fold down-regulated 910 genes
 > 1.5 fold up-regulated 37 genes

Down-regulated genes			
Cell cycle Proliferation Apoptosis	MAPKs	Transcription factors Cofactors	Electron transporters
Egfr		Hif1a	
Foxo3		Cebpd	
Igf1r		Klf9	
Mt2	Mapk6	Thrb	Kcna5
Bcl2l1	Map3k6	Klf15	Kcna1
Fas	Map3k12	Fkbp5	Kcnip2
Vcam1	Mapkap1	Ncoa3	Cacna1h
Pdgfd		Ppargc1a	
Fbf1		Gmeb2	
Ptgds			

図3 低酸素負荷肺高血圧モデルにおける心筋リモデリングの検討

一 心筋特異的HEXIM1トランスジェニックマウスでは右室重量は増加しない

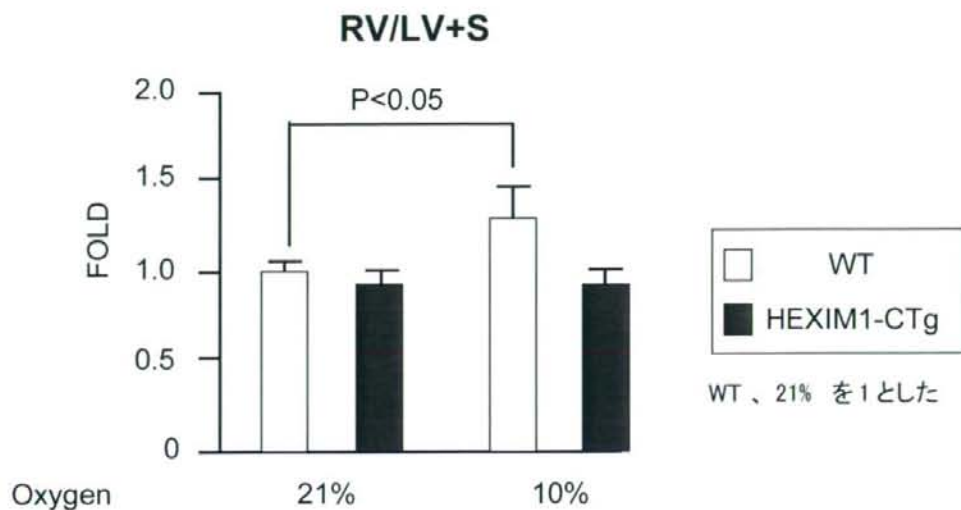
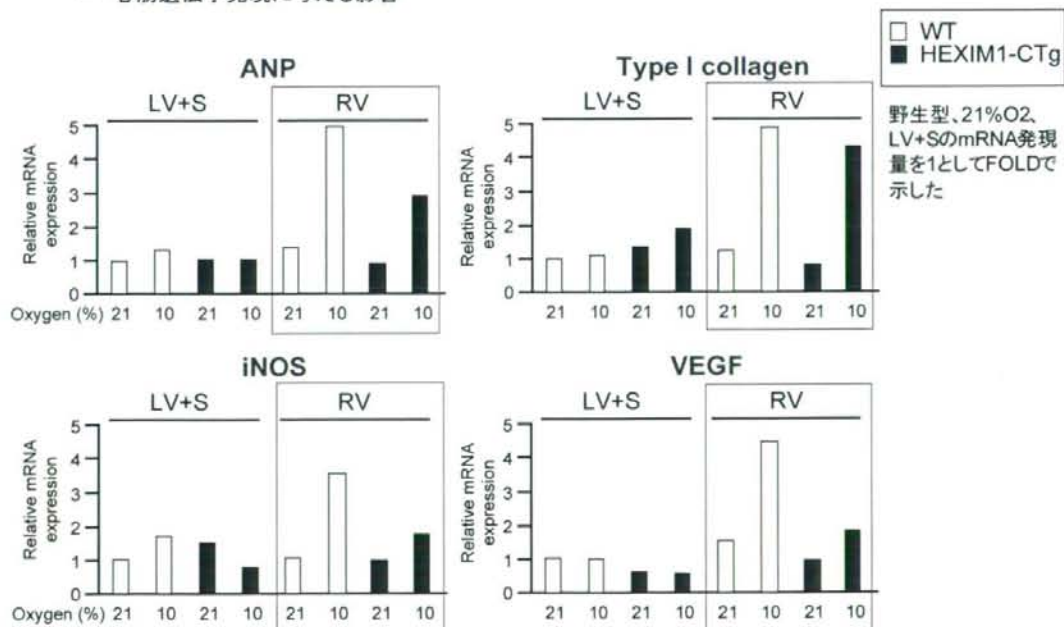


図4 低酸素負荷肺高血圧モデルにおけるHEXIM1の作用

一 心筋遺伝子発現に与える影響



MCTDの病態における血管内皮前駆細胞の役割に関する研究

研究分担者 桑名 正隆 慶應義塾大学医学部内科 准教授
研究協力者 岡崎 有佳 慶應義塾大学大学院医学研究科 大学院生

研究要旨

MCTDでは、強皮症と同様にレイノー現象をはじめとした末梢循環障害、肺動脈性肺高血圧症（PAH）などの血管病変を高率に認める。最近、我々は強皮症患者において循環血中に存在する血管内皮前駆細胞（EPC）の減少ならびに分化能障害を見出し、血管病変の新たな機序として脈管形成異常による血管修復不全を提唱した。そこで、本研究ではMCTDの病態形成におけるEPCの関与を追究することを目的とした。あわせて2008年にヨーロッパの強皮症研究グループEUSTARにより提唱されたEPC測定のRecommendationの妥当性を検討した。ACRの強皮症分類基準を満たす45例（うちMCTD 7例）および健康人20名を対象とし、MACSシステムにより末梢血単核球から分離したCD34+細胞を用いて、フロサイトメトリーによりCD34+VEGFR2+CD133+細胞を検出し、FlowCountマイクロビーズを用いて定量化することで末梢血1mlあたりのEPC数を求めた。その結果、強皮症45例のEPCは1mlあたり 10.6 ± 6.8 個で、健康人の 32.3 ± 13.6 個に比べて有意に少なかった（ $P < 0.001$ ）。強皮症におけるEPC数は罹病期間と負の相関を示した（ $r = 0.34, P = 0.01$ ）。MCTD基準の満足の有無でEPC数に差を認めなかったが、MCTD満足例でも健康人に比べて減少していた（ $P < 0.05$ ）。PAH、間質性肺疾患の有無で層別化したが、2群間でEPC数に差はなかったが、皮膚潰瘍の存在はEPC減少と相関した（ $P < 0.001$ ）。一方、健康人9名の末梢血を用いて上記方法（MACS法）とEUSTARにより提唱された方法（ロゼット法）を用いてEPCを同時測定し、その結果を比較した。MACS法とロゼット法で得られたEPC数はマイクロビーズによる定量化を組み合わせて1ml中の数として求めると相関を示したが（ $r = 0.41, P = 0.05$ ）、原著にしたがってロゼット法の結果を 10^6 個のLin⁻細胞における割合とすると両者に相関関係はなかった。その原因として、Lin⁻細胞の90%以上が赤血球や血小板であることが考えられた。以上より、MCTDでも強皮症と同様にEPC減少による脈管形成異常に伴う血管修復不全の機転が存在することが明らかとなった。また、EPC測定の標準化に向けたさらなる検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

MCTDではレイノー現象をはじめとした末梢循環障害、肺動脈性肺高血圧症（PAH）などの血管病変を高頻度に認める。虚血再還流、炎症や過凝固機転による血管内皮の傷害が主な要因とされるが、その詳細なメカニズムはいまだ明らかでない。これまで循環血中に存在する血管内皮前駆細胞（EPC）による血管内皮の新生・修復機構（脈管形成）は胎生期のみの現象とされてきたが、近年の血管生物学の進歩により成人の血管構築、機能の維持にも脈管形成が重要な役割を果たすことが明らかにされた。我々は強皮症患者においてEPCサブセットのひとつであるCD34+VEGFR2+CD133+細胞の減少ならびに分化能障害

を見出し、血管病変をきたす新たな機序として脈管形成異常による血管修復不全を提唱した（Kuwana M, et al. Lancet 2004;364:603）。そこで、本研究ではMCTDの病態形成におけるEPCの関与を追究することを目的とした。さらに、2008年にヨーロッパの強皮症研究グループEUSTARによりEPC測定のRecommendationが提唱されたが（Distler JHW, et al. Ann Rheum Dis 2009;68:163）、その妥当性を検討した。

B. 研究方法

(1) 対象

アメリカリウマチ学会（ACR）の分類基準を満たす

成人強皮症患者45例（男性13、女性32）を対象とした。発症年齢は45±17歳（18-70）、罹病期間は72±62ヶ月（4-233）であった。7例は厚労省研究班のMCTD診断基準を満たした。45例中7例は肺高血圧症（間質性肺疾患合併例を含む）、3例はPAH、14例は手指潰瘍、30例は間質性肺疾患を有していた。EPC測定の前には健康人9名の末梢血を用いた。

(2) EPCの定量

1. MACS法-末梢血20mlより単核球を分離し、MACSビーズ (Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Germany) を用いてCD34+細胞をenrichした。CD34、VEGFR2、CD133に対するモノクローナル抗体を用いてCD34+細胞分画を三重染色した。CD34+VEGFR2+CD133+細胞の割合をフローサイトメトリーにより求め、FlowCountマイクロビーズ (Beckman-Coulter, Hialeah, FL, USA) を用いて定量化した。CEP数は末梢血1 mlあたりの絶対数で表した。なお、一部の検討では死細胞を除くために7AADによる染色を行った。

2. ロゼット法-Avouacらの方法 (Ann Rheum Dis 2008;67:1455) に従って、臍帯血分離用ResetteSep (StemCell Technologies, Vancouver, Canada) を用いて末梢血10mlからLin-細胞分画を得た。CD34、VEGFR2、CD133に対するモノクローナル抗体を用いてLin-細胞分画を三重染色し、フローサイトメトリーにより7AAD-CD34+VEGFR2+CD133+細胞を同定し、その割合を10⁶個のLin-細胞あたりの数として表した。また、MACS法との比較のため、FlowCountマイクロビーズを用いた定量化も同時に行い、末梢血1 mlあたりの絶対数で表した。

Lin-細胞分画中の細胞成分を検討するため、ResetteSep処理後のLin-細胞分画をCD3、CD14、CD15、CD19、CD41、glycopholin Aに対する抗体を用いたフローサイトメトリーを行った。

(3) 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)

本研究プロトコールは学内の倫理委員会で承認されている。検体採取にあたっては全ての患者に対して研究内容を説明し、事前に文書による同意を得た。

C. 研究結果

(1) 強皮症におけるEPC数

従来のMACS法により強皮症分類基準を満たす症例45例のEPC数を測定した。その結果、1mlあたり10.6±6.8個で、健康人の32.3±13.6に比べて有意に少なかった ($P<0.001$)。EPC数は罹病期間と負の相関を示した ($r=0.34, P=0.01$)。MCTDの診断基準を満たす7例と満たさない38例に分けたところ、2群間でEPC数に差はなく、いずれの群も健康人より有意に少なかった (いずれも $P<0.05$) (図1)。また、強皮症患者を肺高血圧症、PAH、間質性肺疾患の有無で層別化したが、2群間でEPC数に有意差はなかった。採血時に皮膚潰瘍を有する14例は、皮膚潰瘍のなかった31例に比べて有意にEPCが少なかった (5.3 ± 3.5 vs $13.0\pm6.6, P<0.001$)。

(2) MACS法とロゼット法の比較

健康人9名を対象に、EPCをMACS法とロゼット法で同時に測定した。まず、従来のMACS法においてEUSTARのRecommendationに合致していなかった唯一の項目であった死細胞の除去を満たすため、7AAD染色を組み合わせた。7AAD処理なしと7AAD-細胞分画としてゲートをかけた測定結果を比較すると、7AAD処理をすることでEPC数は平均9.5%減少したが、7AAD処理の有無で得られたEPC数は強く相関した ($r=0.97, P<0.001$) (図2)。したがって、7AAD処理により死細胞混入をある程度防ぐことができたが、得られる結果は従来法と大差なかった。

一方、ロゼット法で原著に従って10⁶個のLin-細胞あたりの数として求めた結果と、マイクロビーズによる定量化により末梢血1mlあたりの数として求めた結果の間には全く相関をみられなかった (図2)。7AAD処理をしたMACS法とロゼット法により得られたEPC数を比べると、マイクロビーズによる定量化を組み合わせて1ml中の数として求めると相関を示したが ($r=0.41, P=0.05$)、原著にしたがって10⁶個のLin-細胞における割合とすると、両者に相関はなかった ($r=0.26$)。Lin-細胞における割合とするとMACS法の結果と相関しなかった原因を追究するため、Lin-細胞分画に含まれる細胞成分を検討した。その結果、Lin-細胞分画の90%以上はCD41+血小板とglycopholin A+赤血球であり、さらに少数のCD3+陽性T細胞、CD14+単球、CD19+B細胞を含み、真のLin-細胞は5%以下であった。

D. 考察

今回の検討では、MCTDと把握される症例でも強皮症と同様にEPCの減少がみられ、EPC減少は長い罹病期間と手指潰瘍と強い相関を示すことが明らかにされた。最近、IPAH患者ではEPC数の減少が報告されているが、外来EPCが減少している強皮症またはMCTD患者におけるPAHにおける検討はこれまでない。今回は症例数が少なかったため、PAH有無によるEPC数の差は見いだされなかったが、今後、標準化されたEPC測定法を用い、症例数を増やした検討が必要である。

最近ヨーロッパの研究グループからEPCが強皮症で増加している、あるいは病初期で増えているという報告がされた。これら研究間の不一致の原因としてEPCの定義、測定法に基準がないことが挙げられる。ヒト末梢血EPCとしてCD34+VEGFR2+CD133+細胞として同定可能とされているが、強皮症を対象とした報告の多くがこれら3つのマーカーのうち2つしか用いていない。また、循環血中のEPCがきわめて数が少ないことから、フローサイトメトリーによる直接解析が困難である。そのため、フローサイトメトリー解析を行う前にMACSやロゼットを用いてEPC分画をenrichする必要がある。ただし、この過程である程度の細胞のロスがあり、回収率が必ずしも100%ではない。また、回収率には個体差があることが定量性に影響を及ぼす。その他にEPC数に影響を与える要因として死細胞の混入があるが、7AAD処理を加えることで最小限にできることが明らかにされた。今回の検討でロゼット法における問題点が明らかにされた。EPC数の基準としていたLin⁻細胞には大量の赤血球と血小板が混入しており、しかも混入割合には検体間で大きな差があった。そのため、10⁶個のLin⁻細胞におけるEPC数として表すと正確な評価ができない。その点でマイクロビーズによる定量を組み合わせるとMACS法とロゼット法の結果に相関がみられたことから、数を算定する正確な基準の必要性が示された。以上より、ビーズによる定量化、7AADによる死細胞除去を組み合わせると非特異的の反応を抑えれば、MACS法とロゼット法のいずれを用いてもEPC数の正確な評価が可能と考えられた。この結果を踏まえ、EUSTARによるEPC測定のRecommendationを修正する必要がある、今後その働きかけを行う予定である。

E. 結論

MCTD患者でも強皮症と同様にEPC減少による脈管形成異常に伴う血管修復不全の機転が存在し、末梢循環障害との関連が示された。PAHとの関連については、今後症例数を増やして検討する必要がある。EPC測定法にはさらなる改善が必要で、その標準化が急務である。

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

1. Kawai M, Masuda A, Kuwana M. A CD40-CD154 interaction in tissue fibrosis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(11): 3562-3573.
2. 桑名正隆: 膠原病の難治性病態-新しい考え方と新規治療法への応用; 強皮症の血管病変における血管内皮前駆細胞の役割とスタチン. *リウマチ科* 39(5): 393-399, 2008.

2. 学会発表

1. Kuwana M: Circulating endothelial cell progenitors in scleroderma. The 10th International Workshop for Scleroderma Research (Cambridge). 2008. 8.
2. Kuwana M: Insufficient repair as a mechanism for scleroderma vasculopathy. 13th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (Yokohama). 2008. 9.

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。

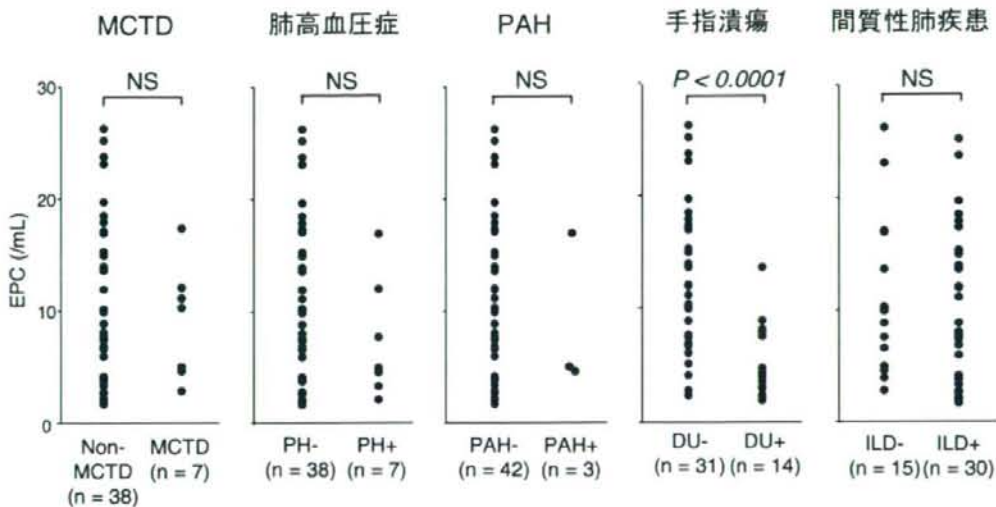


図1: 強皮症分類基準を満たす45例におけるMCTD診断基準の満足、肺高血圧症、PAH、手指潰瘍、間質性肺疾患の有無で層別化した末梢血EPC数の比較。NS=not significant ($P>0.05$)

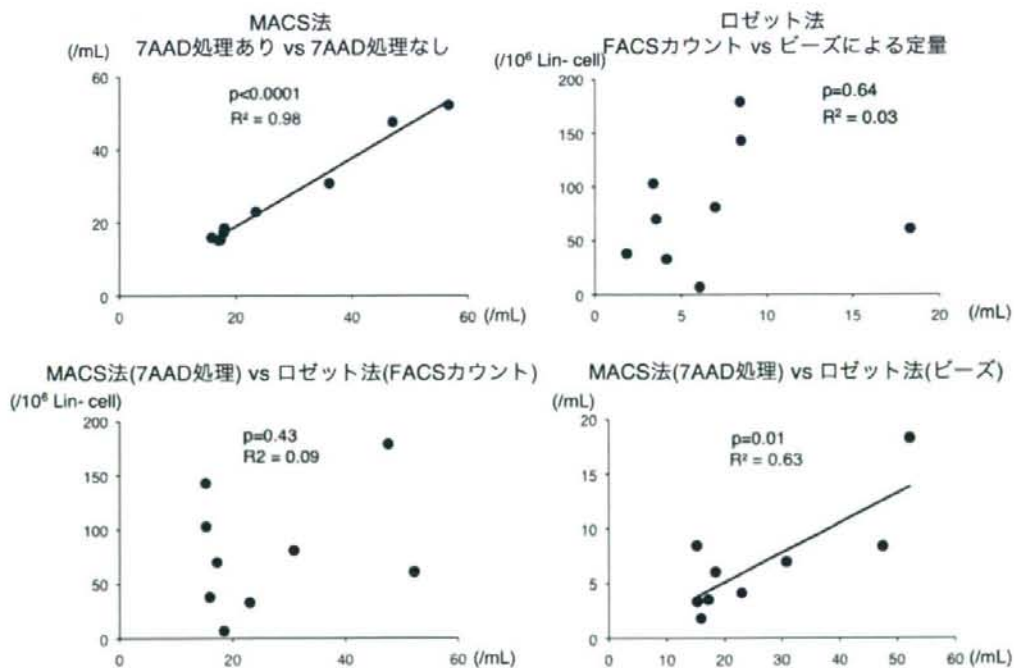


図2: MACS法とロゼット法で測定した末梢血EPC数の相関関係。MACS法では7AAD処理ありとなしで解析し、末梢血1mlあたり数として表した。ロゼット法ではFACSカウントによる 10^6 個のLin⁺細胞における数、マイクロビーズによる末梢血1mlあたりの数で表した。

膠原病肺高血圧症における血中D-Dimerに関する研究

研究分担者	岡田 純	北里大学健康管理センター 教授
研究協力者	和田達彦	北里大学医学部総合診療部 助教
	田中住明	北里大学医学部膠原病感染内科学 講師
	広畑竣成	北里大学医学部膠原病感染内科学 教授

研究要旨

目的： 膠原病における肺動脈性肺高血圧症でも、plexiform lesionと血栓形成は増悪の重要な因子である。これらの病態と的確にとらえ、治療することはPAHの治療管理上も重要である。そこで、膠原病性肺高血圧症患者での、血漿D-Dimerを測定し、その臨床的意義の検討を行った。

方法： 当院の外来を受診した膠原病患者で、心臓超音波検査および血漿D-ダイマーの測定を行った症例を対象にした。血漿D-Dimerのカットオフ値は $0.70\mu\text{g}/\text{dl}$ とした。臨床症状、BNP、各種自己抗体、治療内応等を調査し、D-DimerとPAHとの関連を解析した。

結果： 疾患別内訳は、MCTD11例、SLE 15例、SSc10例、UCTD3例、Sjögren症候群(SjS)1例、PM2例で、PAH合併例は13例であった。血漿D-Dimerのカットオフ値 $0.7\mu\text{g}/\text{ml}$ を超えた症例は12例であった。その内訳はMCTD 4例、SLE 3例、SSc 3例、PM 1例、UCTD 1例で、PAH合併は6例であった。心臓超音波検査時に肺動脈収縮期圧が 40mmHg 以上のPAHは10例であった。PAH確定診断例では、D-Dimerは $1.15\pm 1.23\mu\text{g}/\text{dl}$ に対して非PAH例では、 $0.52\pm 0.39\mu\text{g}/\text{dl}$ と低値であった。さらに、肺動脈圧(PAP)が 40mmHg 以上の症例ではD-Dimerは 1.41 ± 1.37 とPAPが 40mmHg 未満の 0.5 ± 0.4 に較べ高い傾向であった。また、PAPとD-Dimerとの間には $R^2 0.341$, $p < 0.01$ の正の相関がみられた。

結論： D-Dimerは、PAPと相関がみられ、治療の指標になる可能性が推測された。今後、治療との関連、経過等との関連をさらに検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

MCTDでは、pulmonary artery hypertension(PAH)が生命予後に影響する最も重要な内臓病変であるが、その発症機序は不明な点が多く、治療も確立していない。膠原病における肺動脈性肺高血圧症においても、plexiform lesionと血栓形成は増悪の重要な因子である。これらの病態と的確にとらえ、治療することはPAHの治療管理上も重要である(1, 2)。そこで、膠原病性肺高血圧症患者での、血漿D-Dimerを測定し、その臨床的意義を検討した。本研究では、PAHをはじめとする膠原病血管病変における、

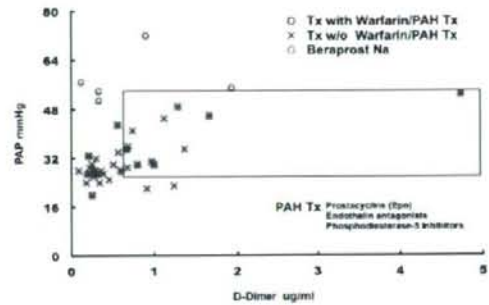
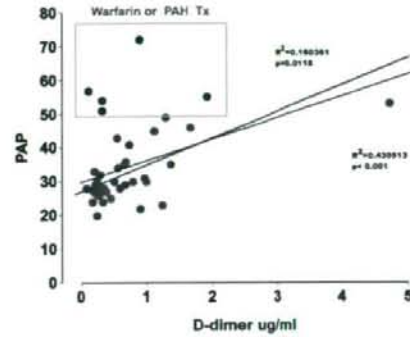
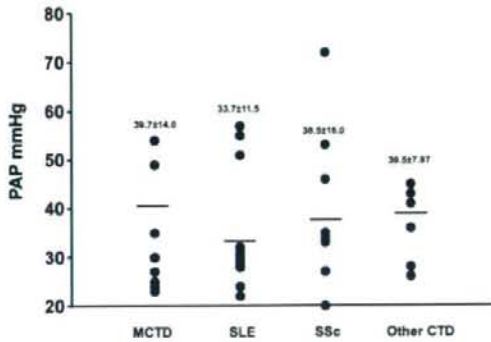
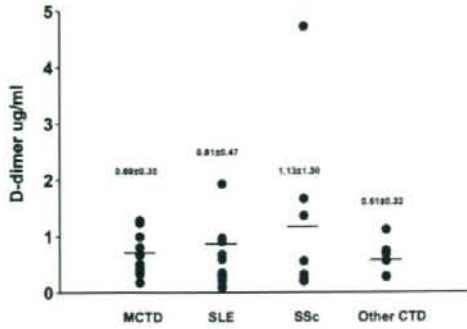
B. 研究方法

対象は、心臓超音波検査を施行した膠原病患者40例を対象とした。その内訳はMCTD 4例、SLE 3例、SSc 3例、PM 1例、UCTD 1例で、PAH合併は6例であった。UCGと同時に、血中のD-dimer、BNP、その他一般臨床検査を行い、

D-D-dimerと各種臨床検査値、PAHのデータとの関連を検討した。健常人の成績より $0.7\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を上昇と判定した。

C. 研究結果

各種膠原病でのD-Dimer値の成績を示す(図1)。MCTD $0.69\pm 0.35\text{ pg}/\text{ml}$ (上昇55.1%)、SLE 0.81 ± 0.47 (28.8)、SSc 1.13 ± 1.50 (54.5)、その他の膠原病 0.62 ± 0.32 (30.7)であった。各疾患間で有意差はなかったが、SScの1例を除けば、高度のD-Dimer高値例はなく、いずれも上昇は軽度であった。これらの症例における同時に測定した心臓超音波検査の結果を比較した(図2)。各疾患群で、心臓超音波検査の収縮期肺動脈圧は各群間で有意差はなかった。D-Dimerのカットオフ値 $0.7\mu\text{g}/\text{ml}$ を超えた症例は12例であった。その内訳はMCTD 4例、SLE 3例、SSc 3例、PM 1例、UCTD 1例で、PAH合併は6例であった。心臓超音波検査時に肺動脈収縮期圧が 40mmHg 以上のPAHは10例であった。PAH確



定診断例では、D-Dimerは $1.15 \pm 1.23 \mu\text{g}/\text{dl}$ に対して非PAH例では、 $0.52 \pm 0.39 \mu\text{g}/\text{dl}$ と低値であった。PAPが40 mmHgを超えた症例は、MCTD 2例、SLEで3例、SScで3例、その他の膠原病でも3例とほぼ同程度の分布を示した。PAH確定診断例では既に、warfarin治療を行っている症例もあり、次に、治療とD-DimerおよびPAPとの関係を検討した。

PAPとD-Dimerとの間には、40全例での軽度の正の相関が見られたが、warfarin治療中の3例と、PDE-5阻害薬とケアロード治療中の1例を除いて、両者の関係を検討すると、図のように $R^2=0.453$ ($p<0.001$)の正の相関がみられ、PAPが上昇するほど、D-dimerは上昇し、血栓の形成の可能性が高いことが示唆された。PAPが30-40mmHgの境界領域の症例では12例中7例のBeraprost Naが使用されていたが、使用量も30-60 $\mu\text{g}/\text{day}$ と少なく、有効性の評価はできなかった。

D. 考察

膠原病においてPAP値とD-dimerの間の正の相関が見られたことは、PAHにおける血栓形成やPAHの進行のモニターの指標になる可能性が推測された。D-Dimerは、下肢静脈血栓症のモニターの代表的な指標として定着しており、

PAHの血栓形成の指標なりうる可能性が示唆された。しかし、SLEにては、活動期に線溶系が活性化し、FDPやD-Dimerが上昇することも報告されている。今回は、SLE症例の多くは、外来通院中で、活動性も低下している症例も多く、SLEの影響は少ないと考えられる。

一方、当然のことながら、warfarin治療にてD-Dimerは低下する。40例中4例でwarfarinが使用されており、1例を除いて、3例は低下していた。上昇例は、PAHのコントロールが不良例またはSLEの活動性に伴う上昇が推測された症例である。

PAHの治療薬である、endothelin受容体拮抗薬、PDE-5阻害薬、warfarin治療例を除いて、PAPとD-Dimerとの相関を見ると、全例よりはより相関が高かったことは、PAH未治療例における、血栓の早期発見早期治療に有用な指標と考えられる。

D-Dimerは、下肢深部静脈血栓症をはじめ種々の血栓症でも上昇することから、PAHに特異的とは言えない。また、SLEの活動期には凝固系の亢進が報告されている^{4,5)}。今後は、D-Dimerの特異性や、その他の血栓マーカーとの比較検討も必要と考えられる。

PAHの治療例では、4例でwarfarinが使用され、D-Dimer

もある程度低下していたが、疑診例すなわち、PAP 30-40mmHgの症例でもD-Dimerの上昇がみられ、血栓の形成がおきている可能性は否定できない。これらの症例での抗凝固療法開始の妥当性に関して検討する必要がある。

一方、beraprost Naを使用している症例も半数以上に見られたが、D-Dimer上昇例があり、beraprost Naの使用量は30-60 μ gと比較的少なかった。beraprost Naは主としてレイノー現象に対して使用されていたため、使用量は少なかった。従って、これらの症例により高用量のCareload等を使用し、血栓形成を抑制しうるのかも、今後明らかにする必要はある。

膠原病に基づくPAHとD-Dimerに関して検討したが、この相関がMCTDに特徴的である結果は得られなかった。今後、症例数を増やし検討する必要がある。

E. 結論

D-Dimerは、PAPと相関がみられ、治療の指標になる可能性が推測された。今後、治療との関連、経過等との関連をさらに検討する必要と考えられた。

文献

1. Fuster, V., P. M. Steele, W. D. Edwards, B. J. Gersh, M. D. McGoon, and R. L. Frye. Primary pulmonary hypertension: natural history and the importance of thrombosis. *Circulation* 70:580-7, 1984.
2. Johnson, S. R., S. Mehta, and J. T. Granton. Anticoagulation in pulmonary arterial hypertension: a qualitative systematic review. *Eur Respir J* 28:999-1004, 2006.
3. Steiropoulos, P., G. Trakada, and D. Bouros. Current pharmacological treatment of pulmonary arterial hypertension. *Curr Clin Pharmacol* 3:11-9, 2008.
4. Kiatchoosakun, S., W. Ungkasekvinai, C. Wonvipapom, P.

Tatsanavivat, C. Foocharoen, S. Suwannaroj, and R. Nanagara.

D-dimer and pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *J Med Assoc Thai* 90:2024-9, 2007.

5. Mathai, S. C., L. K. Hummers, H. C. Champion, F. M. Wigley, A. Zaiman, P. M. Hassoun, and R. E. Girgis. Survival in pulmonary hypertension associated with the scleroderma spectrum of diseases: Impact of interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 60:569-77, 2009.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1.論文発表

- 1) 岡田 純, 和田達彦: ME S A C U P-3テストSmおよびME S A C U P-2テストSmの臨床的有用性の比較検討. *医学と薬学* 60, 349-353. 2008.

2.学会発表

- 1) 岡田 純, 石川 章, 廣畑俊成: APSの臨床症状と血清Angiopoietin-1との関係。第52回日本リウマチ学会総会: 2008. ワークショップ. 札幌
田中住明, 岡田 純, 廣畑俊成: 膠原病におけるPAHの治療戦略. 第70回日本アレルギー学会総会: 2008 シンポジウム, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

肺動脈性肺高血圧症(PAH)におけるトロポニン T(TnT)の臨床的意義に関する研究
—PAHにおけるマルチバイオマーカーストラテジー—

研究分担者	諏訪 昭	東海大学医学部内科学系 准教授
研究研究者	佐藤 徹	慶應義塾大学医学部医学教育統括センター 准教授
	金子祐子	慶應義塾大学医学部内科 特別研究助教
	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卒後臨床研究センター 准教授
	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）およびBNP前駆体N末端断片（NT-proBNP）は、肺動脈性肺高血圧症（PAH）の診断、病態把握上有用である。一方、トロポニンT（TnT）は、急性冠症候群の診断、予後予測、治療因子であるが、非虚血性の慢性心不全においても微小心筋障害を検出できることが報告されている。本研究においてTnTのPAHにおける意義の追究を目的とした。【対象および方法】1）対象は膠原病性PAH（CPH）患者43例および特発性PAH（IPH）患者59例の計102例（男性15，女性87例）とした。2）PAHの診断は、心ドプラーエコー法による推定平均肺動脈圧（PAm）または心臓カテーター検査によりPAm \geq 30 mmHgを示すものとした。3）血漿BNPはIRMA法（シオノギ社）、NT-proBNPとTnTは電気化学免疫発光法（Roche社）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の順位相関を用いて検定した。【結果】1）BNPは195.6 \pm 494.8 pg/ml，NT-proBNPは2041.5 \pm 12247.4 pg/mlであり，TnTは0.013 \pm 0.023 ng/mlであった。2）CPHとIPHの二群間で，TnT，NT-proBNP，BNPともに中央値に差はみられなかった。3）BNPとNT-proBNPの間に相関が認められた（ $p < 0.01$ ）。4）TnT陽性例（ ≥ 0.010 ng/ml）は6例であり，これらの症例では潜在性心筋障害が示唆された。5）TnT陽性例においてNT-proBNPは248 - 123,228 pg/mlで，5例で1,000 pg/ml以上の高値を示した。一方，BNPは26 - 3,707 pg/mlであり，1,000 pg/ml以上の高値は2例で，一方50 pg/mlの低値も2例みられ，TnTとの乖離を示した。【考察】BNPおよびNT-proBNPが心負荷の指標であるのに対して，TnT高値は潜在性の微小心筋障害の存在を示唆する。また，慢性心不全患者において，TnTとBNPまたはNT-proBNPは独立の予後規定因子であるが，PAHにおいても両者の高値例の存在が示された。今後長期予後の解析が必要と考えられる。【結論】PAHにおいて潜在性心筋障害患者の存在が示された。TnTはBNP，NT-proBNPとともにPAHの病態把握，予後推定の指標となる可能性が示唆され，マルチバイオマーカーアプローチの有用性が期待される。

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，肺動脈性肺高血圧症（PAH）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，心不全の診断や予後因子として

の有用性が示されている。一方，トロポニンT（TnT）は，急性冠症候群の診断，予後予測，治療因子であるが，非虚血性の慢性心不全において微小心筋障害を検出できることが報告されている。昨年度までの研究において，NT-proBNPが膠原病性PAH（CPH）および特発性PAH（IPH）の診断および病態把握に有用なことを明らかとしたが，本研究においてTnTのPAHにおける意義の追究を目的とした。

B. 研究方法

1) 対象はCPH患者43例およびIPH患者59例の計102例(男性15, 女性87例)とした。

2) PAH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)または心臓カテーテル検査によりPAm \geq 30 mmHgを示すものとした。

3) 血漿BNPはIRMA法(シオノギ社)、NT-proBNPとTnTは電気化学免疫発光法(Roche社)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。

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) PAHにおけるBNP, NT-proBNPとTnT

BNPは 195.6 ± 494.8 (平均 \pm 標準偏差) pg/ml, NT-proBNPは 2041.5 ± 12247.4 pg/mlであり、BNPに比してNT-proBNPは高値を示した。TnTは 0.013 ± 0.023 ng/mlであった。

2) CPHとIPHにおけるBNP, NT-proBNPとTnT

CPHとIPHの二群に分け比較検討したところ、BNP, NT-proBNP, TnTともに両群の中央値に差はみられなかった(図1)。

3) BNP, NT-proBNP, TnTの間の相関

BNP, NT-proBNP, TnTの間の相関の程度をSpearmanの順位相関を用い検定した。BNPとNT-proBNPの間の同順位調整P値は0.915, 同順位補正後のP値は <0.0001 , NT-proBNPとTnTの間の同順位調整P値は0.261, 同順位補正後のP値は0.0088, BNPとTnTの間の同順位調整P値は0.195, 同順位補正後のP値は0.0497であり、BNPとNT-proBNPとの間に相関が認められた($p<0.01$)。

BNPとNT-proBNPの相関性を散布図により示す(図2)。

4) TnT陽性例におけるNT-proBNP, BNP

TnTの基準範囲を0.01ng/ml未満としたところ、TnT陽性は6例であり、これらの臨床診断はIPH3例、CPH3例(混合性結合組織病1例、顕微鏡的多発動脈炎1例、強皮症1例)であった。これらの症例では潜在性心筋障害の存在が示唆された。つぎにTnT陽性6例にお

けるNa利尿ペプチドを調べた。NT-proBNP(基準範囲 <125 pg/ml)は248 - 123,228 pg/mlであり、1例を除き5例で1,000 pg/ml以上の高値を示した。一方、BNP(基準範囲 <18 pg/ml)は26 - 3,707 pg/mlであり、1,000 pg/ml以上の高値は2例である一方、50 pg/mlの低値も2例みられ、TnTとの乖離を示した(表1)。

D. 考察

トロポニンとは、トロポニンI, T, Cの3つのサブユニットからなる心筋フィラメント上の複合体蛋白であり、トロポミオシンとともに心筋と骨格筋の収縮機構の調節に重要な役割を果たしている。TnTは6%が細胞質可溶性成分に、94%が筋原繊維構造蛋白に存在する。TnTは健常者の血液中にはほとんど検出されず(<0.01 ng/ml)、血中に検出される場合には心筋細胞障害による漏出と考えられる。したがって、TnTは急性冠症候群の早期診断、リスク層別化における最も重要なバイオマーカーであるが、非虚血性の心不全においても微小心筋障害の検出も可能であることが明らかにされている。

PAHにおけるTnTの測定意義を検討した報告はこれまでなく、本研究においてPAH患者の一部においてTnT高値の微小心筋障害を呈することが示された。こうした心筋障害の原因として、wall stressの増加、レニン-アンジオテンシン系、交感神経系、サイトカイン系の亢進が推測されている。強皮症などの膠原病では原病により心筋障害をきたすこともある。検討症例においても、症例4の強皮症患者においては、PAHの程度に比して右心不全が重症であり、心筋障害が疑われたが、TnT高値はこうした病態を支持する検査結果であった。

本研究においてTnT高値例は、NT-proBNPがいずれも基準値の2倍以上で、TnTの上昇に比例して高値を示した。一方で、TnT高値症例は、BNPはいずれも基準値を超え、比例して上昇するものの、50 pg/ml以下にとどまる例も2例でみられた。これまでの慢性および急性心不全症例におけるこれらのバイオマーカーの意義の検討から、BNPまたはNT-proBNPが低下したにも関わらずTnT持続高値を示す現象が示され、遷延する心筋障害が心筋障害をさらに惹起する相互作用が推測されている。また、多くの報告の中で、慢性心不全患者において、TnTとBNPまたはNT-proBNP

は独立の予後規定因子であり、両者の高値例が最も予後不良となることが示されている。PAHの治療効果判定や長期予後とTnTの詳細な検討が今後必要と考えられるが、異なった病態を検出するバイオマーカーを組み合わせていくことで、PAHの病態解明と治療成績の向上に貢献することが期待される。

E. 結論

PAHにおいてTnT高値を示す潜在性心筋障害患者の存在が確認された。TnTは、BNP、NT-proBNPとともにPAHの病態把握、予後推定の指標となる可能性が示唆され、マルチバイオマーカーアプローチの有用性が期待される。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takahiro Matsudaira, Saki Tsuzuki, Akira Wada, Akira Suwa, Hitoshi Kohsaka, Maiko Tomida, Yoshihiro Ito. Automated microfluidic assay system for autoantibodies found in autoimmune disease using a photoimmobilized autoantigen microarray. *Biotechnology Progress* 24(6):1384-1392, 2008.
- 2) Akira Suwa, Michito Hirakata, Yuko Kaneko, Shinji Sato, Yasuo Suzuki, Masataka Kuwana. Successful treatment of refractory polymyositis with the immunosuppressant mizoribine: Case report. *Clinical Rheumatology* 28(2):227-229 2009.
- 3) Tetsuya Takada, Michito Hirakata, Akira Suwa, Yuko Kaneko, Masataka Kuwana, Tadayuki Ishihara, Yasuo Ikeda. Clinical and histopathological features of myopathies in Japanese patients with anti-SRP autoantibodies. *Modern Rheumatology* (in press)
- 4) 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.
- 5) 鈴木康夫, 齊藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 諏訪昭. 骨免疫学的視点からみたステロイド薬の関節リウマチに対する有用性- 抗炎症による骨破壊阻止効果か, ステロイド骨粗鬆症か?- *リウマチ科*42(2)増大号 : 155-161, 2008.
- 6) 鈴木康夫, 齊藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 諏訪昭. メトトレキサートの作用と適応. *細胞*40(9)増大号 : 363-366, 2008.
- 7) 鈴木康夫, 齊藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 諏訪昭. 関節リウマチ患者に対するメトトレキサートの経口vs.皮下投与の比較検討. *リウマチ科*40(4) : 415-421, 2008.
- 8) 諏訪 昭, 篠田拓真, 齊藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 鈴木康夫, 中村直哉. 考えてみよう. 問題編. 筋力低下がなく, 顔面の紅斑と間質性肺炎とを認めた一例. *日本内科学会雑誌*97(10): 2584-2586, 2008.
- 9) 諏訪 昭, 篠田拓真, 齊藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 鈴木康夫, 中村直哉. 考えてみよう. 解答編. 筋力低下がなく, 顔面の紅斑と間質性肺炎とを認めた一例. *日本内科学会雑誌*97(10): 2613-2614, 2008.
- 10) 諏訪 昭. 免疫抑制薬の臨床応用実践論『多発性筋炎, 皮膚筋炎』. *炎症と免疫*16(6):108-111, 2008.
- 11) 諏訪 昭, 齊藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 鈴木康夫. 膠原病に伴う肺動脈性肺高血圧症. 別冊日本臨床. 呼吸器症候群 (第2版) (II) - その他の呼吸器疾患を含めて- :261-264, 2009.
- 12) 諏訪 昭. 副腎皮質ステロイド薬. 星恵子編集責任「ポケット版臨床医薬品集2008」. 薬事日報社, p38-62, 2008.
- 13) 諏訪 昭, 齊藤栄子, 若林孝幸, 鈴木康夫. 関節リウマチに伴う骨粗鬆症 (1) : 病態. 鈴木康夫編集「続発性骨粗鬆症- ステロイド性骨粗鬆症と関節リウマチに伴う骨粗鬆症- 」, *医薬ジャーナル*, p65-70,2008.
- 14) 諏訪 昭. 副腎皮質ステロイド薬. 星恵子編集責任「ポケット版臨床医薬品集2009」. 薬事日報社, p36-60, 2009.
- 15) 諏訪 昭. ステロイドのよくある副作用. 川合眞一編集「研修医のためのステロイドの使い方のコツ」, (印刷中).

2. 学会発表

- 1) 平形道人, 諏訪 昭, 高田哲也, 香月有美子, 金子祐子, 佐藤慎二, 桑名正隆. 抗KS (asparaginyl tRNA 合成酵素: AsnRS) 抗体の臨床・免疫学的特徴に関する研究. 第52回日本リウマチ学会総会, 札幌市, 平成20年4月.

2) 若林孝幸, 齋藤栄子, 諏訪 昭, 鈴木康夫. メトトレキサート (MTX) 治療経過中に基質化肺炎を合併した関節リウマチ (RA) の1例. 第52回日本リウマチ学会総会, 札幌市, 平成20年4月.

3) 齋藤栄子, 若林孝幸, 諏訪 昭, 鈴木康夫. 多彩な強皮症関連自己抗体が陽性で肺高血圧, 腎障害, 皮膚血管炎を合併した全身性强皮症の一例. 第52回日本リウマチ学会総会, 札幌市, 平成20年4月.

4) 金子祐子, 諏訪 昭, 平形道人, 桑名正隆. U1RNP 構成成分に対する自己抗体の多様性と臨床症状. 第52回日本リウマチ学会総会, 札幌市, 平成20年4月.

5) Akira Suwa, Michito Hirakata, Toru Satoh, Yuko Kaneko, Shinji Sato, Masataka Kuwana, Eiko Saito, Takayuki Wakabayashi, Chiho Yamada, Yasuo Suzuki. Clinical Significance of N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide in Pulmonary Arterial Hypertension associated with Connective Tissue Disease. 13th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR2008), Yokohama, September, 2008.

6) Shinji Sato, Kana Hoshino, Takashi Sato, Akira Suwa, Michito Hirakata, Shinichi Inada, Masataka Kuwana. MDA5 (Melanoma-Differentiation-Associated Gene 5) as an autoantigen recognized by anti-ADM-140 antibody in patients with clinically amyopathic dermatomyositis. American College of Rheumatology 72nd Annual Meeting, San Francisco, October, 2008.

7) 篠田拓真, 齋藤栄子, 若林孝幸, 山田千穂, 諏訪昭, 鈴木康夫. 関節リウマチ (RA) 治療経過中に 血球貪食症候群 (HPS) と血栓性微血管症 (TMA) を併発した一例. 第23回臨床リウマチ学会, 横浜市, 平成20年11月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

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.

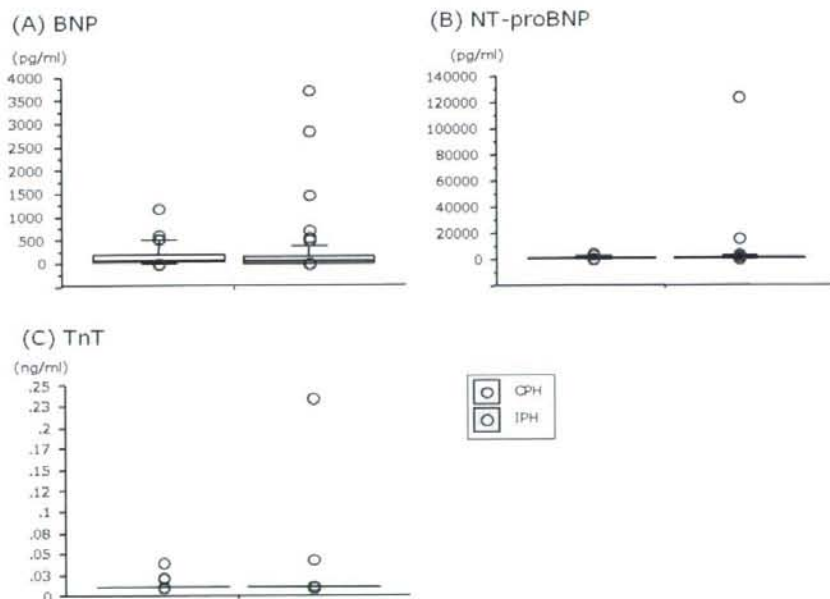


図1 CPHおよびIPHにおける, BNP, NT-proBNP, TnT

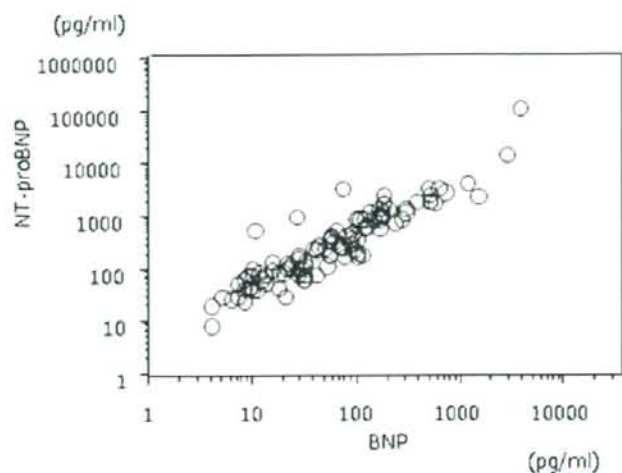


図2 BNPとNT-proBNPの分布

表1 TnT陽性例におけるBNPとNT-proBNP

症例	TnT(ng/ml) (基準<0.010)	NT-proBNP(pg/ml) (基準<125)	BNP(pg/ml) (基準<18.0)
1. IPH	0.013	1,054	26
2. CPH(MCTD)	0.021	248	49
3. CPH(MPA)	0.023	1,815	182
4. CPH(SSc)	0.040	1,044	174
5. IPH	0.043	2,468	1,474
6. IPH	0.235	123,228	3,707

膠原病における肺動脈圧の予測値に関する研究

研究分担者	吉田 俊治	藤田保健衛生大学医学部内科	教授
研究協力者	深谷 修作	藤田保健衛生大学医学部内科	准教授
研究協力者	加藤 靖周	藤田保健衛生大学医学部内科	講師
研究協力者	岩瀬 正嗣	藤田保健衛生大学短期大学医療情報技術科	教授

研究要旨

膠原病に合併する肺高血圧症の診断には混合性結合組織病の肺高血圧症診断の手引きが用いられる。その中には超音波心ドップラー法による右心系の圧が右心カテーテルの平均肺動脈圧の25mmHg以上に相当との項目が存在し、この項目のみで肺高血圧症の診断が可能である。しかし、これに該当する超音波心ドップラー法による推定収縮期肺動脈圧の具体的な数値は明示されていない。そこで、自験例においてこの数値を明らかにすることを試みた。平成16年から20年までの5年間に右心カテーテル検査を施行した膠原病患者15例、のべ23回の結果を解析した。超音波心ドップラー法の結果は、治療内容に変化がなく、右心カテーテル検査の前後1週間以内に施行されていた場合に採用した。右心カテーテル検査による平均肺動脈圧は収縮期肺動脈圧と有意な相関を認め、平均肺動脈圧25mmHgに相当する収縮期肺動脈圧は39mmHgと考えられた。右心カテーテル検査による収縮期肺動脈圧と超音波心ドップラー法による推定収縮期肺動脈圧も有意な相関を認めた。また、右心カテーテル検査による平均肺動脈圧は超音波心ドップラー法による推定収縮期肺動脈圧とも有意な相関を認め、平均肺動脈圧25mmHgに相当する推定収縮期肺動脈圧は43mmHgと考えられた。

A. 研究目的

膠原病には高率に肺高血圧症（PH）の合併を認め、その診断には混合性結合組織病（MCTD）のPH診断の手引き¹が用いられる。その中の1項目に「超音波心ドップラー法による右心系の圧が右心カテーテルの平均肺動脈圧（mPAP）25mmHg以上に相当」と記載されている。しかし、その具体的な数値に関しては言及されておらず、個々の施設あるいは医師がそれぞれに判断している。そこで、自験例を用いて右心カテーテルのmPAP 25mmHgに相当する超音波心ドップラー法による推定収縮期肺動脈圧（ePAP）を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象は平成16年1月1日から平成20年12月31日までの5年間に右心カテーテル検査を施行した当科にて診療中の膠原病患者15例とした。その内訳はMCTD 6例、全身性硬化症5例、全身性エリテマトーデス（SLE）1例、SLEとシェーグレン症候群の合併1

例、多発性筋炎1例、成人発症Still病1例であった。

右心カテーテル検査の収縮期肺動脈圧（PAP）、拡張期肺動脈圧（dPAP）、mPAPの値をカルテから抽出した。超音波心ドップラー法（心エコー検査）が右心カテーテル検査の前後1週間以内に施行されており、且つ治療内容に変化がなかった場合のePAPをカルテから抽出した。

推計学的解析には、2群間の相関を検討するため、回帰分析を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は履歴調査であり、患者に不利益を与えるものではない。また、患者個人が特定できるデータは公表していない。

C. 研究結果

右心カテーテル検査は15例の対象患者に対してのべ23回施行されていた。条件に合致する心エコー検査は21回施行されていた。表1に抽出できたそれぞれの値を示した。