

upon activation, normal T-cell expressed and secreted) predominantly in plexiform lesions associated with CD45-positive cell infiltrates¹⁶ emphasize a role of inflammatory cell recruitment in this disorder.

CD44 is a member of the hyaluronate (HA) receptor family of cell adhesion molecules involved in leukocyte trafficking.^{17,18} This molecule can mediate the adhesion of lymphocytes to vascular endothelial cells via binding of HA and the extravasation of activated T cells into sites of inflammation in mice¹⁹ and in human autoimmune disease.²⁰ In addition, CD44 is involved in endothelial cell proliferation, migration and angiogenesis^{21,22} that are the characteristic features of plexiform lesions in IPAH.

In light of these functions, we hypothesized that CD44 might be involved in the progressive vascular remodeling, particularly in plexiform lesions of patients with IPAH. The purpose of the present study was to begin an exploration of the potential roles of CD44 in the pathogenesis of IPAH by determining the immunohistochemical expression and localization of CD44 in the plexiform lesions and associated T cell recruitment.

MATERIALS AND METHODS

Case materials

Formalin-fixed, paraffin-embedded blocks of lung tissue displaying plexogenic pulmonary arteriopathy were retrieved from the archival collection of the Department of Pathology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan, apart from two cases provided by the Department of Cardiovascular Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Science, Okayama, Japan. Seven cases of IPAH (6 women, 1 man, mean age

31 ± 5 years old, mean pulmonary arterial pressure (PAP) 64 ± 4 mmHg) were entered into the study.

To compare CD44 expression between idiopathic and non-idiopathic cases, four cases of PAH associated with atrial septal defect (ASD-PAH) (3 women, 1 man, mean age 28 ± 9 years old, mean PAP 63 ± 4 mmHg) were also included. Clinical classification of PAH patients was according to Dana Point Classification²³ and the patients' clinical information is presented in Table 1. The patients were all nonsmokers, and were without known risk factors or associated conditions of PAH²³ such as appetite suppressants, connective tissue diseases, human immunodeficiency virus infection, portal hypertension, congenital heart disease (except ASD-PAH cases), schistosomiasis, chronic hemolytic anemia or chronic parenchymal lung disease. All cases originated from autopsy material, except two lung specimens from Okayama University (one with IPAH and the other with ASD-PAH) obtained at the time of lung transplantation. Two blocks for each lobe of bilateral lungs were prepared randomly in each case. Plexiform lesions were identified and counted on hematoxylin and eosin stained sections. Normal lung tissues from three autopsy cases (1 woman, 2 men, mean age 52 ± 20 years old) with no cardiac or pulmonary disease were used as controls.

Immunohistochemistry

Each paraffin-embedded block including plexiform lesions was serially cut into three-micrometer thick sections. The sections were pre-incubated with blocking reagent to quench endogenous peroxidase activity, followed by incubation with the primary antibodies at room temperature, except when otherwise noted. The antibody for CD44 (1:25, Dako, Glostrup, Denmark) was incubated at 4°C overnight. The antibodies for CD31 (1:50, Dako) for endothelial cells, CD68 (1:50,

Table 1 Clinical classification and information of the PAH patients

Patients	Sex	Age	mPAP (mmHg)	CI (L/min/m ²)	Risk factors* for PAH	ANA	Iv PGI ₂	Cause of death	Lung specimen
IPAH1	F	18	58	1.7	None	Negative	–	Right heart failure	Autopsy
IPAH2	F	32	62	1.6	None	Negative	+	Right heart failure	Autopsy
IPAH3	F	43	72	2.6	None	Negative	+	Alive (LTx)	LTx
IPAH4	F	26	78	1.6	None	Negative	–	Right heart failure	Autopsy
IPAH5	M	54	71	1.9	None	Negative	–	Right heart failure	Autopsy
IPAH6	F	12	45	3.0	None	Negative	–	Right heart failure	Autopsy
IPAH7	F	34	63	0.8	None	Negative	+	Right heart failure	Autopsy
ASD-PAH1	F	51	54	NA	CHD	NA	–	Sudden arrest	Autopsy
ASD-PAH2	M	13	71	NA	CHD	NA	–	Right heart failure	Autopsy
ASD-PAH3	F	32	61	2.3	CHD	NA	–	Infective endocarditis	Autopsy
ASD-PAH4	F	16	65	2.5	CHD	Negative	+	Alive (LTx)	LTx

*Known risk factors and associated conditions of PAH such as appetite suppressants, connective tissue diseases, human immunodeficiency virus infection, portal hypertension, congenital heart diseases, schistosomiasis, and chronic hemolytic anemia.²³

ANA, indicates anti-nuclear antibody; ASD-PAH, pulmonary arterial hypertension associated with atrial septal defect; CHD, congenital heart diseases; CI, cardiac index; IPAH idiopathic pulmonary arterial hypertension; iv PGI₂, intravenous prostacyclin treatment; LTx, lung transplantation; mPAP, mean pulmonary arterial pressure; NA, not available.

Dako) for macrophages, CD45RO (1:100, Dako) for T lymphocytes, α -smooth muscle actin (α -SMA, 1:100, Dako) for smooth muscle cells, and Ki-67 (1:150, Dako) for evaluation of proliferation activity were incubated for 60 min. The EnVision+ System (Dako) was employed for visualization. Immunohistochemistry for CD44 was evaluated as the ratio of the number of plexiform lesions including CD44-positive cells per total number of lesions in each case. To identify cell types corresponding to CD44-positive elements, we proceeded with a sequence of immunohistochemical reactions using the combination of CD44 antibody and one of the following antibodies; CD31, CD68, CD45RO, or α -SMA, in the same section.

Statistical analysis

Fisher's protected least significant difference (PLSD) test and Mann-Whitney *U*-test were used to compare the IPAH, ASD-PAH, and control groups. Mean values (\pm SEM) are presented in the text.

RESULTS

Detection of plexiform lesions in lung tissue

The histology of lung tissue from the IPAH and ASD-PAH patients showed similar pulmonary artery remodeling, consisting of medial hypertrophy, intimal fibrosis, and plexiform lesions. We found 83 plexiform lesions, which were composed of 52 lesions from the IPAH group and 31 lesions from the ASD-PAH group (Table 2). From three to 12 plexiform lesions in the lung sections were detected per patient. On the other hand, control lung sections were confirmed to show no evidence of either pulmonary artery remodeling or interstitial inflammation.

Table 2 Distribution of CD44-positive plexiform lesions in the lung specimens of IPAH and ASD-PAH patients

Patients	Number of plexiform lesions studied (A)	Number of CD44 positive lesions (B)	B/A (%)
IPAH1	6	5	83.3
IPAH2	6	6	100
IPAH3	6	6	100
IPAH4	7	5	71.4
IPAH5	8	8	100
IPAH6	12	12	100
IPAH7	7	7	100
ASD-PAH1	12	0	0
ASD-PAH2	5	0	0
ASD-PAH3	11	0	0
ASD-PAH4	3	0	0

ASD-PAH, indicates pulmonary arterial hypertension associated with atrial septal defect; IPAH, idiopathic pulmonary arterial hypertension.

Immunohistochemical expression and localization of CD44 protein in plexiform lesions

Immunohistochemistry was performed with lung tissue from IPAH and ASD-PAH patients to determine the presence of CD44 in plexiform lesions. Staining for CD44 was detected in 49 out of 52 plexiform lesions (93%) from all patients with IPAH, ranging from 71.4 to 100% of lesions per patient, whereas plexiform lesions from ASD-PAH group did not show CD44 positivity (Table 2). In the IPAH group, the CD44-positive cells were apparently localized along the surface of thin-walled microvessels within plexiform lesions and infiltrating mononuclear cells in and around the lesions (Fig. 1a,b). Alpha-SMA-positive smooth muscle cells did not show CD44 positivity in the plexiform lesions (Data not shown). Some endothelial cells of constrictive lesions giving rise to plexiform lesions also showed CD44 positivity. Otherwise, CD44 was not expressed in vascular lesions apart from plexiform lesions, in spite of their constrictive vascular lesions (Fig. 1c,d). Immunohistochemistry was also performed with control lungs to examine whether CD44 was expressed in normal pulmonary arteries without remodeling. CD44 immunostaining was not observed in any vascular cell components of normal pulmonary arteries although a small number of alveolar macrophages were stained. Double-labeling immunohistochemistry revealed CD44-positive cells mainly corresponded to CD31-positive cells and CD45RO-positive cells, indicating that they were endothelial cells and activated T-cells, respectively (Fig. 2a,b). Serial sections of the plexiform lesions from IPAH and ASD-PAH revealed that a vast majority of CD44-positive cells (Fig. 3a) in IPAH plexiform lesion were CD45RO-positive T cells (Fig. 3b), not CD68-positive macrophages (Fig. 3c). Macrophages were also infiltrated in ASD-PAH (Fig. 3f) plexiform lesions. However, lack of immune-reaction against CD44 was apparent (Fig. 3d) and few T cells were identified (Fig. 3e) in the ASD-PAH plexiform lesion.

Inflammatory cell infiltration surrounding plexiform lesions in IPAH

In order to evaluate CD44 expression in IPAH but not in ASD-PAH, the numbers of CD45RO-positive T cell and CD68-positive macrophage inflammation per plexiform lesion for IPAH and ASD-PAH group and per normal small pulmonary artery for control group were counted. Consecutive sections showed that CD45RO-positive cells surrounding plexiform lesions were significantly increased in IPAH group compared to those in ASD-PAH (20.6 ± 1.8 versus 4.3 ± 1.3 per lesion, $P < 0.05$, Fig. 4). Plexiform lesions in ASD-PAH group included a small number of CD45RO-positive cells as

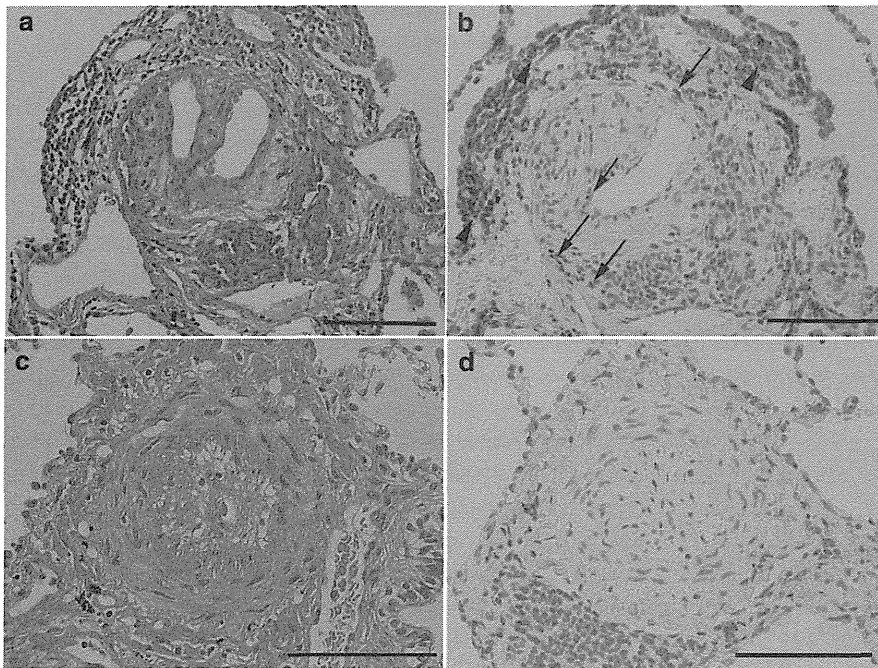


Figure 1 Hematoxylin and eosin and immunohistochemistry of CD44 in (a, b) a plexiform lesion and (c, d) a constrictive pulmonary arterial hypertension lesion were shown. CD44 was clearly positive on the surface of thin-walled microvessels within the plexiform lesion (b; arrows) and perivascular infiltrating round cells (b; arrowheads). CD44 was not expressed in a constrictive lesion apart from plexiform lesions (d). (a-d; Scale bar 50 μ m)

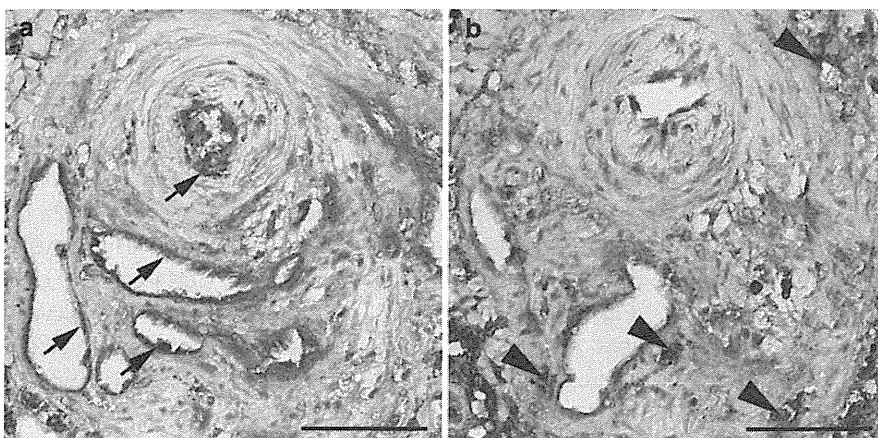


Figure 2 Double-labeling immunohistochemistry demonstrated presence of both CD44 (brown) and CD31 (red) positive cells (a; arrows) in a plexiform lesion obtained from a patient with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Double-labeling cells of CD44 (brown) and CD45RO (red) were also evident in the same lesion (b; arrowheads). (a, b; Scale bar 50 μ m)

little as control group (4.9 ± 2.4 per artery, NS). In contrast, the number of CD68-positive macrophage was similar in the IPAH group compared to those in the ASD-PAH group (10.9 ± 2.0 versus 17.5 ± 2.6 per lesion, $P = 0.50$). A few CD68-positive macrophages were observed in small pulmonary arteries obtained from normal lung tissue (0.8 ± 2.0 per artery).

Proliferation activity of endothelial cell in plexiform lesions

In order to evaluate the proliferative activity for endothelial cell of plexiform lesions in IPAH group and ASD-PAH group, immunohistochemistry for Ki-67 was examined. The number of Ki-67-positive cells in the plexiform lesions of IPAH patients

was significantly higher, compared to those of the ASD-PAH group (4.2 ± 1.0 versus 0.8 ± 0.5 per lesion, $P < 0.05$, Fig. 5).

DISCUSSION

The present study demonstrated for the first time that CD44 protein was frequently expressed in plexiform lesions in the lungs from patients with IPAH and mainly localized in the endothelial cells composing microvessels of the lesions and surrounding T cells. In addition, the plexiform lesions of the IPAH group were accompanied by significant T cell infiltration. In contrast, the plexiform lesions in patients with ASD-PAH did not show detectable CD44 nor significant T cell infiltrates. These findings suggest that CD44 plays some role in the development of plexiform lesions, particularly in IPAH, presumably associated with persistent T cell inflammation.

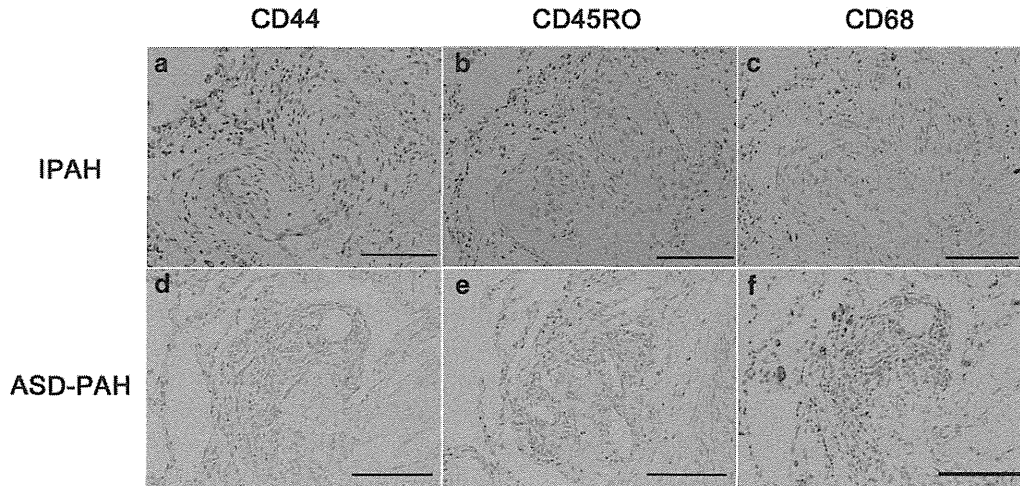


Figure 3 Immunohistochemistry of CD44, CD45RO and CD68 in the serial sections of plexiform lesion from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH) and pulmonary artery hypertension associated with atrial septal defect (ASD-PAH) were shown. A vast majority of (a) CD44-positive cells in IPAH plexiform lesion were (b) T cells, not (c) CD68-positive macrophages. Macrophages were also infiltrated in (f) ASD-PAH plexiform lesions, whereas (d) lack of immune-reaction against CD44 was apparent and few T cells were identified (e) in the ASD-PAH plexiform lesion. (a-f; Scale bar 50 μ m)

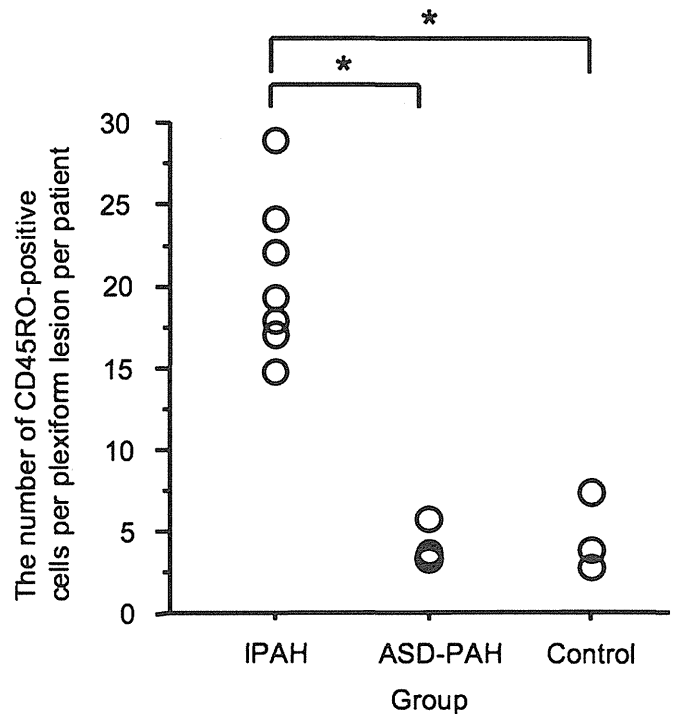
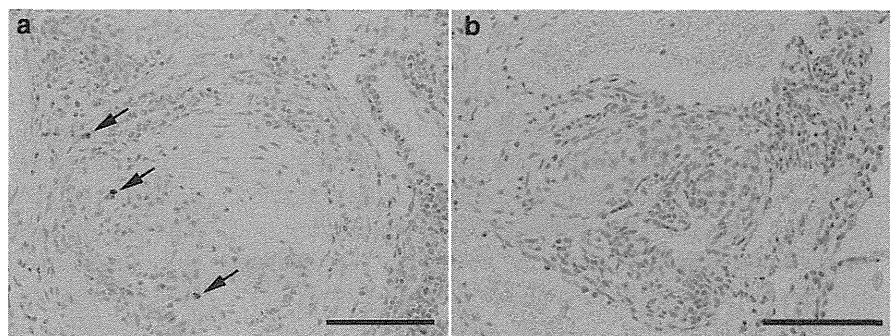


Figure 4 The chart showed the mean number of CD45RO-positive T cells per plexiform lesion in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH), pulmonary artery hypertension associated with atrial septal defect (ASD-PAH), and per normal small pulmonary artery in control group. Number of CD45RO-positive T cells was significantly higher in and around plexiform lesions of patients with IPAH, compared to that of ASD-PAH and normal small pulmonary arteries. (* $P < 0.01$)

Figure 5 Immunohistochemistry of Ki-67 in plexiform lesions of a patient with idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH) and pulmonary arterial hypertension associated with atrial septal defect (ASD-PAH) was shown. A certain subset of endothelial cells of IPAH plexiform lesion was apparently positive for Ki-67 immunohistochemistry (a; arrows), whereas most of the endothelial cells in the ASD-PAH plexiform lesions lacked immunoreactivity against Ki-67 (b). (a, b; Scale bar 50 μ m)



CD44 is involved in cell-cell and cell-matrix interaction, and presumably maintains organ and tissue structures under normal conditions.¹⁸ On the other hand, CD44 is shown to contribute to many pathological conditions including inflammation and autoimmune diseases, angiogenesis, atherosclerosis,²⁴ and malignancies and tumor metastases, via its multiple functions.

Our data implies CD44 involvement in the mechanism of persistent local inflammation observed in plexiform lesions in IPAH. Inflammatory mechanisms including inflammatory cell recruitment have become increasingly important in IPAH.^{7,13–16} In the current study, CD44 expression was shown to localize in endothelial cells and T cells in IPAH plexiform lesions. This was accompanied by significant T cell infiltration that was consistent with previous observation by other researchers.^{7,16} CD44 is a homing receptor for leukocytes and required for activated T cell extravasation into an inflammatory site.¹⁹ Increased surface levels of CD44 proteins are characteristic of T cell activation after encounter with its cognate antigen.²⁵ On the other hand, chronic inflammation increases CD44 expression on T cells²⁶ and endothelial cells express CD44 after exposure to proinflammatory cytokines such as IL-1 β and TNF- α .²⁴ Thus, CD44 may be involved in ongoing local inflammatory processes in IPAH through T cell and endothelial cell activation and inflammatory cell recruitment.

Our data also suggests that a subset of the endothelial cells in plexiform lesions in IPAH are activated and involved in angiogenesis. CD44 is an activation marker of endothelial cells because normal endothelial cells were shown to express no or low levels of CD44, but expression is up-regulated in growing cells by activation, for example, with cytokines,²⁴ and by isolating and culturing of these cells or in tumor associated endothelial cells responsible for tumor angiogenesis.²² One possible explanation for this activation is stimulation by angiogenic factors, because basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor (VEGF) are shown to upregulate CD44 expression on cultured human endothelial cells,²² on the other hand, there is evidence of increased expression of angiogenesis-related molecules including VEGF and its receptors in endothelial cells within plexiform lesions in severe PAH.^{10,12} However, other mechanisms may exist. In addition, the presence of proliferating endothelial cells by Ki-67 labeling in plexiform lesions in IPAH is in keeping with previous observation showing Ki-67-positive endothelial cells in plexiform lesions accompanied by inflammatory cells in pulmonary hypertension associated with scleroderma and human immunodeficiency virus infection.²⁷ Our findings support the view that endothelial cells of IPAH plexiform lesion may be prone to proliferation and these results suggest the activated stage of disease in IPAH patients.

The principle ligand of CD44 is HA.¹⁷ Recently, two groups independently reported data suggesting an involvement of HA in the pathogenesis of IPAH. Aytekin *et al.* showed

patients with IPAH had higher circulating levels of HA²⁸ and Papakonstantinou *et al.* showed a significant increase in HA content in IPAH lungs compared with donor.²⁹ Both groups showed intense HA staining in and around remodeled vessels and indicated increased HA production in pulmonary artery smooth muscle cells (PASMC) derived from IPAH lungs. In addition, PASMCs from IPAH had increased binding of mononuclear cells compared with controls.²⁸ These data suggests a role for HA in remodeling and inflammation via enhanced HA production in PASMC in IPAH. Because CD44 is the principle receptor for HA and its interaction regulates important processes such as cell migration, proliferation, leukocyte trafficking and activation, it is plausible that HA effects on remodeling and inflammation are mediated, at least in part, by CD44. Interestingly, data by the latter group also included significantly increased CD44 mRNA expression measured by quantitative RT-PCR in IPAH lungs compared with donor lungs,²⁹ in keeping with our data of increased immunohistochemical expression of CD44 in IPAH.

The intriguing finding in this study was that the plexiform lesions from the patients with ASD-PAH lacked immunohistochemical CD44 expression and were less inflamed with regard to T cells despite the similarity of morphological and hemodynamic features to IPAH. Although a relatively large number of plexiform lesions was examined, because of the limited number of patients with ASD-PAH available, the further investigation is needed to confirm the lack of CD44 in this group. However, the finding implies the difference in CD44 expression may result from different underlying pathogenesis. In fact, researchers have pointed out some distinctions between plexiform lesions in IPAH and those in congenital left-to-right shunts including ASD-PAH.⁵ Importantly, in IPAH, the endothelial cell proliferation in plexiform lesions was found to be mainly monoclonal, whereas in secondary PH associated with congenital heart disease with left-to-right shunts and CREST syndrome, it was polyclonal, suggesting underlying pathogenetic mechanisms are distinct.¹¹ That is, monoclonal endothelial cell proliferation in IPAH is autonomous growth, more closely related to cancer cells, on the other hand, polyclonal proliferation in secondary PH is as a response to exogenous stimuli like high shear stress.¹¹ CD44 may be associated with abnormalities causing monoclonal expansion in IPAH, though the mechanism is yet to be determined. It will be of interest to expand our investigation to plexiform lesions in other PAH associated with underlying diseases.

Lastly, whether the IPAH patients in this study carried the BMPR2 mutation was not determined since the genetic test was not available. However the presence of inflammation would not be necessarily inconsistent with the mutation with regard to the development of the disease, because inflammatory mechanisms are now thought to be an important factor in subjects with the mutations. Heterozygous BMPR2 mutant mice develop pulmonary hypertension not spontaneously but

under inflammatory stress.³⁰ In addition, a complete negative feedback loop between IL-6 and BMP both *in vitro* and *in vivo* have been shown, suggesting that an important consequence of BMPR2 mutations may be poor regulation of cytokines and thus vulnerability to an inflammatory second hit.³¹

In conclusion, this study provides novel observation on the expression of CD44 predominantly in endothelial cells composing plexiform lesions and surrounding T cells in patients with IPAH, not in ASD-PAH, accompanied by significant T cell infiltration. These data suggest involvement of CD44 in the pathogenesis of IPAH, presumably associated with endothelial cell activation and persistent local inflammation.

REFERENCES

- Rubin LJ. Primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1997; **336**: 111–7.
- Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR *et al*. BMPR2 haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension. *Am J Hum Genet* 2001; **68**: 92–102.
- Newman JH, Wheeler L, Lane KB *et al*. Mutation in the gene for bone morphogenetic protein receptor II as a cause of primary pulmonary hypertension in a large kindred. *N Engl J Med* 2001; **345**: 319–24.
- Thomson JR, Machado RD, Pauciulo MW *et al*. Sporadic primary pulmonary hypertension is associated with germline mutations of the gene encoding BMPR-II, a receptor member of the TGF-beta family. *J Med Genet* 2000; **37**: 741–5.
- Pietra GG, Capron F, Stewart S *et al*. Pathologic assessment of vasculopathies in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; **43**: 25S–32S.
- Pietra GG, Edwards WD, Kay JM *et al*. Histopathology of primary pulmonary hypertension. A qualitative and quantitative study of pulmonary blood vessels from 58 patients in the National Heart, Lung, and Blood Institute, Primary Pulmonary Hypertension Registry. *Circulation* 1989; **80**: 1198–206.
- Tuder RM, Groves B, Badesch DB, Voelkel NF. Exuberant endothelial cell growth and elements of inflammation are present in plexiform lesions of pulmonary hypertension. *Am J Pathol* 1994; **144**: 275–85.
- Tuder RM, Cool CD, Geraci MW *et al*. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; **159**: 1925–32.
- Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D *et al*. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993; **328**: 1732–9.
- Cool CD, Stewart JS, Werahera P *et al*. Three-dimensional reconstruction of pulmonary arteries in plexiform pulmonary hypertension using cell-specific markers. Evidence for a dynamic and heterogeneous process of pulmonary endothelial cell growth. *Am J Pathol* 1999; **155**: 411–9.
- Lee SD, Shroyer KR, Markham NE, Cool CD, Voelkel NF, Tuder RM. Monoclonal endothelial cell proliferation is present in primary but not secondary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 1998; **101**: 927–34.
- Tuder RM, Chacon M, Alger L *et al*. Expression of angiogenesis-related molecules in plexiform lesions in severe pulmonary hypertension: Evidence for a process of disordered angiogenesis. *J Pathol* 2001; **195**: 367–74.
- Humbert M, Monti G, Brenot F *et al*. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; **151**: 1628–31.
- Itoh T, Nagaya N, Ishibashi-Ueda H *et al*. Increased plasma monocyte chemoattractant protein-1 level in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Respirology* 2006; **11**: 158–63.
- Balabanian K, Foussat A, Dorfmueller P *et al*. CX(3)C chemokine fractalkine in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; **165**: 1419–25.
- Dorfmueller P, Zarka V, Durand-Gasselin I *et al*. Chemokine RANTES in severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; **165**: 534–9.
- Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990; **61**: 1303–13.
- Goodison S, Urquidi V, Tarin D. CD44 cell adhesion molecules. *Mol Pathol* 1999; **52**: 189–96.
- DeGrendele HC, Estess P, Siegelman MH. Requirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science* 1997; **278**: 672–5.
- Estess P, DeGrendele HC, Pascual V, Siegelman MH. Functional activation of lymphocyte CD44 in peripheral blood is a marker of autoimmune disease activity. *J Clin Invest* 1998; **102**: 1173–82.
- Trochon V, Mabilat C, Bertrand P *et al*. Evidence of involvement of CD44 in endothelial cell proliferation, migration and angiogenesis *in vitro*. *Int J Cancer* 1996; **66**: 664–8.
- Griffioen AW, Coenen MJ, Damen CA *et al*. CD44 is involved in tumor angiogenesis; an activation antigen on human endothelial cells. *Blood* 1997; **90**: 1150–59.
- Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M *et al*. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; **54**: S43–54.
- Krettek A, Sukhova GK, Schonbeck U, Libby P. Enhanced expression of CD44 variants in human atheroma and abdominal aortic aneurysm: Possible role for a feedback loop in endothelial cells. *Am J Pathol* 2004; **165**: 1571–81.
- DeGrendele HC, Kosfiszter M, Estess P, Siegelman MH. CD44 activation and associated primary adhesion is inducible via T cell receptor stimulation. *J Immunol* 1997; **159**: 2549–53.
- Siegelman MH, DeGrendele HC, Estess P. Activation and interaction of CD44 and hyaluronan in immunological systems. *J Leukoc Biol* 1999; **66**: 315–21.
- Cool CD, Kennedy D, Voelkel NF, Tuder RM. Pathogenesis and evolution of plexiform lesions in pulmonary hypertension associated with scleroderma and human immunodeficiency virus infection. *Hum Pathol* 1997; **28**: 434–42.
- Aytekini M, Cornhair SA, de la Motte C *et al*. High levels of hyaluronan in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; **295**: L789–99.
- Papakonstantinou E, Kouri FM, Karakiulakis G, Klagas I, Eickelberg O. Increased hyaluronic acid content in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2008; **32**: 1504–12.
- Song Y, Jones JE, Beppu H, Keaney JF Jr, Loscalzo J, Zhang YY. Increased susceptibility to pulmonary hypertension in heterozygous BMPR2-mutant mice. *Circulation* 2005; **112**: 553–62.
- Hagen M, Fagan K, Steudel W *et al*. Interaction of interleukin-6 and the BMP pathway in pulmonary smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; **292**: L1473–9.

●一般演題 9 (Session 5)

結合組織病性肺動脈性肺高血圧症の剖検肺における
病理組織学的検討

—特に肺静脈閉塞性病変合併の有無に関して—

大郷 恵子¹⁾・大郷 剛²⁾・池田 善彦¹⁾・松山 高明¹⁾
橋村 宏美¹⁾・米本由美子¹⁾・武藤 清佳¹⁾・高木 弥栄美²⁾
中西 宣文²⁾・植田 初江¹⁾

はじめに

結合組織病に伴う肺動脈性肺高血圧症 (pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease : CTD-PAH) は、特発性 PAH と比較しても予後が悪いことが知られている¹⁾。また PAH 特異的治療に対し抵抗性を示す症例があり、CT 上小葉間隔壁肥厚や運動時の著明な低酸素など肺静脈閉塞性疾患 (pulmonary veno-occlusive disease : PVOD) 様病態の存在を疑う例が存在する。PVOD は原因不明の肺静脈・細静脈閉塞から進行性の肺高血圧症をきたす治療抵抗性で非常に予後不良のまれな疾患であり、特発性、家族性などのほか、CTD 合併例の症例報告もある²⁾。従来、CTD-PAH の肺血管病変は動脈病変を特徴とする特発性 PAH と同様と考えられてきたが、自己免疫・炎症機序により、肺動脈のみならず肺静脈も血管炎や内皮傷害から閉塞をきたした結果 PVOD 様病態を併発し、治療抵抗性・予後不良の一因となっている可能性がある。

そこで本研究の目的は、CTD-PAH の剖検肺において肺動脈病変に加え特に肺静脈閉塞性病変の合併の有無について組織学的検討を行うこととした。

1 対象と方法

当院の過去の剖検例 (1982 年 1 月～2011 年 6 月の 2900 例) 中、CTD を合併した PAH の 10 剖検例を抽出し対象とした。ホルマリン固定パラフィン包埋された肺組織 (各肺葉より少なくとも 2 ブロックずつ切り出し) を薄切し、ヘマトキシリンエオジン染色、マッソントリクローム染色、エラスティカワンギーソン染色を施して、肺動脈および肺静脈病変の組織学的評価を行った。

2 結 果

CTD-PAH 10 例の臨床的背景と肺血管病変の組織学的所見を表 1 に示す。10 例の平均年齢は 48±13 歳で全例女性であった。基礎疾患の内訳は強皮症 (systemic sclerosis : SSc) 1 例、SSc と混合性結合組織病 (mixed connective tissue disease : MCTD) の合併 1 例、MCTD 3 例、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE) 2 例、Sjögren 症候群 2 例、関節リウマチ 1 例であった。右心カテーテル検査による肺高血圧確定診断時の血行動態の平均値は、平均肺動脈圧 49±13 mmHg、肺血管抵抗 1507±809 dyn・s・cm⁻⁵、心係数 2.1±0.9 L/min/m²であった。肺動脈楔入圧は全例正常範囲

Keiko Ohta-Ogo, et al. : Coexisting pulmonary venous occlusive lesions in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease : a histopathologic study of autopsy lungs

¹⁾国立循環器病研究センター臨床検査部臨床病理科

²⁾国立循環器病研究センター心臓血管内科部門肺循環科

表 1 CTD-PAH 10 例の臨床的背景と肺血管病変の組織学的所見

症例	年齢(歳)/性	結合組織病	PH 診断時の血行動態			%DLCO (%)	PaO ₂ (mmHg)	PAH-特異的治療	経口ステロイド	ワルファリン	肺動脈病変		肺静脈閉塞性病変			
			平均肺動脈圧 (mmHg)	心係数 (L/min/m ²)	肺血管抵抗 (dynes · sec · cm ⁻⁵)						Heath-Edwards Grade	新旧血栓	隔壁内静脈	隔壁前細静脈	再疎通像	静脈炎
1	67/女	SSc	50	2.7	1305	ND	41	2 剤 (経口 PGI ₂ +ERA)	-	-	3	+	+	+	+	-
2	58/女	SSc/MCTD	44	1.6	1600	62	75	1 剤 (Epo)	-	+	3	+	+	+	-	+
3	35/女	MCTD	30	4.3	309	46	83	-	+	-	3	+	+	+	+	-
4	33/女	MCTD	57	2.8	907	41	71	1 剤 (経口 PGI ₂)	+	+	3	+	+	+	-	+
5	36/女	MCTD	50	1.9	1200	64	81	1 剤 (経口 PGI ₂)	-	+	5	+	-	+	+	-
6	41/女	SLE	52	0.9	3072	ND	52	1 剤 (Epo)	+	+	5	+	+	+	+	+
7	40/女	SLE	34	2.3	510	79	78	3 剤 (Epo+ERA+PDE5I)	+	+	5	-	-	-	-	-
8	60/女	Sjögren	50	1.2	2089	71	51	3 剤 (Epo+ERA+PDE5I)	+	-	5	+	+	+	+	+
9	66/女	Sjögren	45	1.6	1680	39	55	1 剤 (経口 PGI ₂)	+	+	3	+	+	+	+	+
10	41/女	RA	79	1.8	2400	ND	53	3 剤 (Epo+ERA+PDE5I)	+	-	5	+	+	+	-	+

DLCO ; diffusing lung capacity to carbon monoxide, Epo ; epoprostenol, ERA ; endothelin receptor antagonist, ND ; not done, PDE5I ; phosphodiesterase type V inhibitor

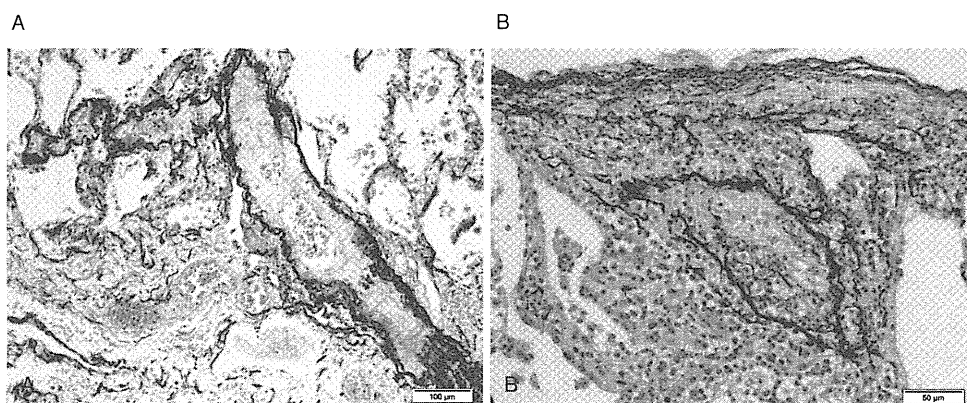


図1 A：隔壁内静脈へと続く細静脈。線維性内膜肥厚による内腔の狭窄～閉塞がみられる。周囲には、慢性のうっ血・出血を示唆するヘモジデリン貪食マクロファージもみられる（SSc 症例 (No.1), EVG 染色）。
B：隔壁前細静脈にみられた静脈炎。細静脈壁内および周囲に炎症細胞浸潤があり、内腔はほぼ閉塞している（MCTD 症例 (No.4), EVG 染色）。

内（3～10 mmHg）であった。また肺機能（%肺活量，一秒率）は，限局的な間質性肺疾患を認めた1例を含め全例で正常範囲であったが，肺拡散能（% DLCO，7例で施行）は平均57±14%で，症例により軽度から高度の低下がみられた。治療に関しては，9例で何らかのPAH特異的治療薬が使用され，うち5例でエボプロステノール持続静注療法が行われていた。また7例に経口ステロイドが投与されていたがその他の免疫抑制剤の使用はなかった。なおワルファリンによる抗凝固療法は6例に行われていた。

肺動脈の組織学的検討では，半数は内膜線維化および中膜肥厚からなる狭窄性病変（Heath-Edwards Grading 3度までに相当）であったが，残りの5例は叢状病変と拡張病変（同4～5度に相当）を含む高度の肺動脈リモデリングを呈していた。フィブリノイド壊死を伴う血管炎（同6度相当）は認めなかったものの，しばしば血管周囲の炎症細胞浸潤がみられた。また新旧の血栓も9例にみられた。静脈系の検索ではSLEの1例を除く全例（9/10例；90%）に隔壁内静脈や小葉内細静脈に線維性内膜肥厚を主とする閉塞性病変を認めた（図1A）。血栓を示唆する再疎通像は6例にみられ，局所的な静脈炎の所

見は6例にみられた（図1B）。

3 考 察

今回CTD-PAHでPVOD様病態を併発している可能性を考え10剖検肺を評価した結果，ほとんどの症例（90%）に肺静脈閉塞性病変があり，従来知られる血栓再疎通像のほか，半数以上に静脈炎の所見を認めるという結果を得た。文献的にCTDに合併するPVODの症例報告も散見されるが，まとまった組織学的検討である2007年のフランスからの報告³⁾を中心に考察を進める。

それによればCTD-PAHで肺静脈閉塞性病変がみられたのは8例（うち4例がSSc）中6例（75%）と，特発性PAH（5/29例：17%）に比し高率で，さらにCTD-PAHのうち6例に血管周囲性炎症細胞浸潤を認めたという。われわれの所見はこの結果を支持しており，CTD-PAHではより静脈が侵されやすいことを示唆している。剖検例は一般的に予後不良群と考えられるが，今後肺静脈病変を定量化し，PH特異的治療の期間や反応，臨床・画像所見などとの関連を検討していきたい。またSScと異なり，SLEやMCTDなど炎症の関与の大きいCTDでは免

疫抑制剤により肺高血圧が劇的に改善する場合があることが知られ⁴⁾, 原疾患のコントロールが肺静脈を含む血管病変の抑制に重要である可能性を示唆している。今回肺静脈病変はステロイド使用の有無にかかわらずみられたが, 今後, 病変や炎症の程度と CTD の罹患期間やステロイド投与の量・期間との関係も検討していきたい。また血栓を示唆する再疎通像の所見からやはり抗凝固療法も重要であろう。

フランスの報告との相違点として肺動脈リモデリングの程度が挙げられる。彼らは CTD-PAH 例に叢状病変や拡張病変は認めなかったとしているが, われわれの症例の約半数には特発性 PAH 同様の高度の肺動脈病変がみられた。われわれの症例には, 叢状病変はまれとされる SSc 例が少ない一方, 高頻度とされる MCTD, SLE などの症例が多いこと, 遺伝性 PAH の疑われる 2 例が含まれることなどが影響している

可能性がある。いずれにせよ肺動脈病変のみの場合に比べ, より重篤で治療抵抗性を示すと推測される。

文 献

- 1) McLaughlin VV, McGoon MD. Pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2006;114:1417-31.
- 2) Montani D, O'Callaghan DS, Savale L, et al. Pulmonary veno-occlusive disease : recent progress and current challenges. *Respir Med* 2010;104:S23-32.
- 3) Dorfmueller P, Humbert M, Perros F, et al. Fibrous remodeling of the pulmonary venous system in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue diseases. *Hum Pathol* 2007;38:893-902.
- 4) Sanchez O, Sitbon O, Jais X, et al. Immunosuppressive therapy in connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2006; 130:182-9.

8) 土谷健, 矢吹恭子, 江口亜弥:腎疾患に伴う貧血の鑑別診断—腎性貧血の定義も含め. 腎と透析 71: 213-218, 2011

9) Macdougall IC, Malyszko J, Hider RC, et al: Current status of the measurement of blood hepcidin levels in chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol 5: 1681-1689, 2010

10) Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, et al: Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. Blood 108: 1381-1387, 2006

11) 友杉直久:ヘプシジンの発見とその後の発展. 日内会誌 99: 1180-1187, 2010

12) Fishbane S, Galgano C, Langley RC, et al: Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. Kidney Int 52: 217-222, 1997

13) 岡野裕子, 土谷健, 安藤稔, 他:慢性透析患者における網赤血球ヘモグロビン含量(CHr)測定の意義. 透析会誌 34: 1079-1087, 2001

14) 三和奈穂子, 土谷健, 木全直樹, 他:透析患者における reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He)測定の臨床的有用性. 透析会誌 41: 437-444, 2008

15) 森潔, 向山政志, 中尾一和:多様な生命現象に関わる鉄結合性小化合物シデロフォアの意義. 細胞工学 27: 226-230, 2008

(*東京女子医科大学第四内科
 ㊚162-8666 東京都新宿区河田町8-1)

最近の肺高血圧治療法

おがわあいこ まつばらひろみ
 小川愛子*・松原広己*

肺高血圧症とは

肺高血圧症は, 肺小細動脈の壁肥厚や狭窄により肺動脈圧が上昇し, 右心不全となり労作時息切れや呼吸困難を呈する原因不明の疾患である. 心臓カテーテル検査で, 安静時平均肺動脈圧が 25 mmHg 以上であれば確定診断となる. ダナポイント分類では病因により五つに大別されており, 原因疾患により治療方針が異なるため鑑別診断が重要である(表)¹⁾.

最新の肺高血圧症治療

1. 肺高血圧症治療薬

肺高血圧症では, 分類ごとに推奨される治療法が大きく異なる. 以前は酸素療法や抗凝固療法による治療しかなかったが, ①血管収縮作用をもつエンドセリンの増加, ②血管拡張作用をもつ NO 産生系の障害, ③プロスタグランジン I₂ の低下, の三つの要因が明

表 ダナポイント分類

1. 肺動脈性肺高血圧症(pulmonary arterial hypertension, PAH)
1.1 特発性
1.2 遺伝性
1.3 薬剤性
1.4 各種疾患に伴う PAH(膠原病, 門脈圧亢進症, 先天性シャント性心疾患など)
1.5 新生児遷延性肺高血圧症
1'. 肺静脈閉塞症/肺毛細血管腫症
2. 左心疾患に伴う肺高血圧症
3. 呼吸器疾患・低酸素血症に伴う肺高血圧症
4. 慢性血栓塞栓性肺高血圧症
5. その他の疾患に伴う肺高血圧症(血液疾患, 全身性疾患など)

らかとなり, それぞれに介入する治療薬が開発され, わが国でも現在 6 剤が使用可能である. 1 群ではこれらの肺高血圧症治療薬により予後が改善してきたが²⁾, 他の群ではその有効性は確立されておらず, 2, 3 群では原疾患の治療が主体となる. 図 1 に, 当院で加療した特発性肺動脈性肺高血圧症の一例を示す. 治療前は心エコー図で, 拡大した右室による左室圧排像が認められたが, 肺高血圧症治療薬投与により軽快し, 心電図所見なども改善した.

2. 慢性血栓塞栓性肺高血圧症に対するカテーテル治療

4 群の慢性血栓塞栓性肺高血圧症については, 現在のガイドラインでは血栓内膜摘除術あるいは肺移植のみが推奨されている³⁾. 当院では, 肺動脈末梢に器質化血栓が存在する手術適応のない症例に対してバルーン肺動脈形成術を行っている. 図 2 に一例を示す. 治療前は心エコー図, 心臓カテーテル検査にて高度の肺高血圧を認め, 肺血流シンチグラフィで亜区域性の血流欠損像を, 肺動脈造影で閉塞像を認めた. バルーン肺動脈形成術により血流が改善し末梢動脈が描出され, 肺動脈圧も著明に改善した.

3. 新たな治療

現在の治療では改善効果が不十分な症例も存在しており, 本来抗癌剤である imatinib など, 新たな治療薬の臨床応用が試みられつつある.

肺高血圧症の臨床検査所見とその意義の変化

過去 10 年あまりの間に, 肺高血圧症治療は大きく進歩してきた. それに伴い, 臨床検査所見の変化も以前とは異なってきた.

肺高血圧症の診療における心電図の有用性はこれまであまり注目されてこなかったが, 治前療後で肺高血圧症例の心電図所見を比較したところ, 推定肺動脈圧の改善に伴って胸部誘導の陰性 T 波が改善し, また,

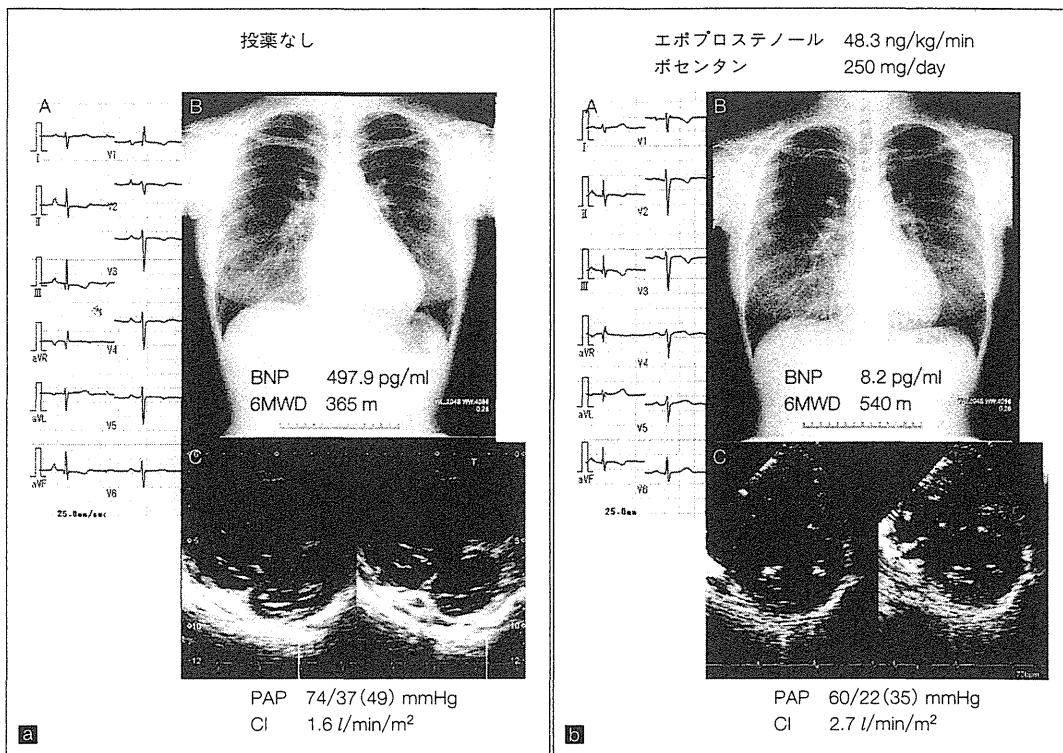


図1 特発性肺動脈性肺高血圧症の一例

a: 初診時, b: 9か月後(A: 心電図, B: 胸部X線写真, C: 心エコー図).

PAP: pulmonary arterial pressure(肺動脈圧), CI: cardiac index(心係数).

心電図では, 右軸偏位, V1誘導の高いR波が減高し, 心エコー図では左室圧排所見が消失した.

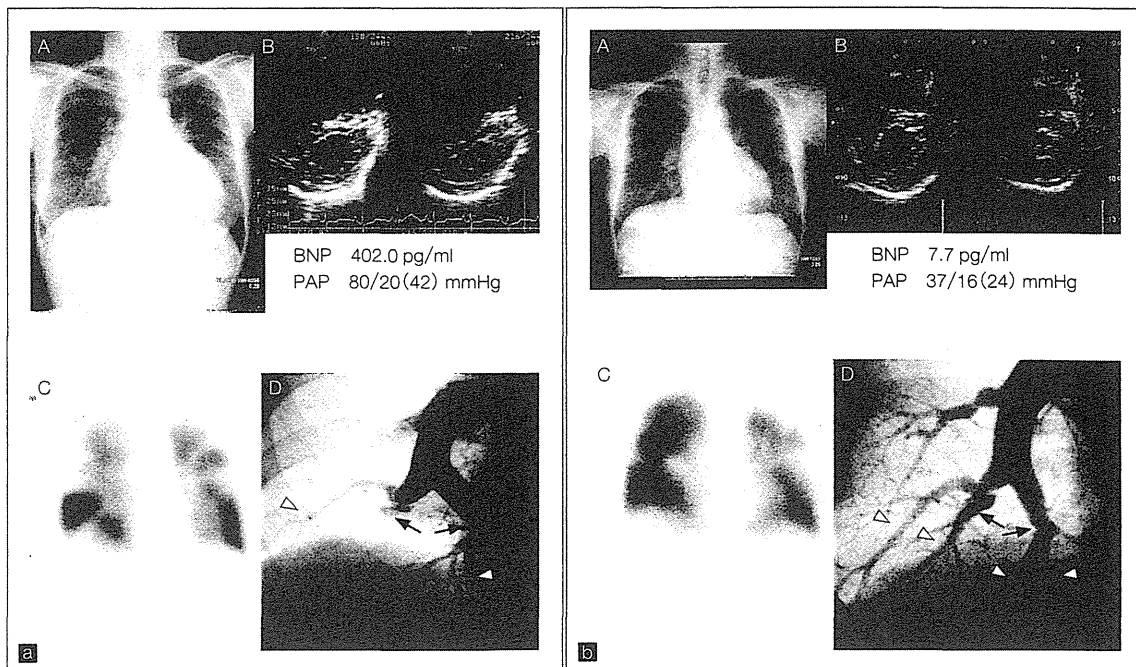


図2 バルーン肺動脈形成術により著明に改善した慢性血栓塞栓性肺高血圧症の一例

a: 初診時, b: 治療後(A: 胸部X線写真, B: 心エコー図, C: 肺血流シンチグラフィ, D: 肺動脈造影). 治療前の肺動脈造影では閉塞像(矢印)を認めたが, バルーン肺動脈形成術により血流が改善し末梢動脈(矢頭)が描出された.

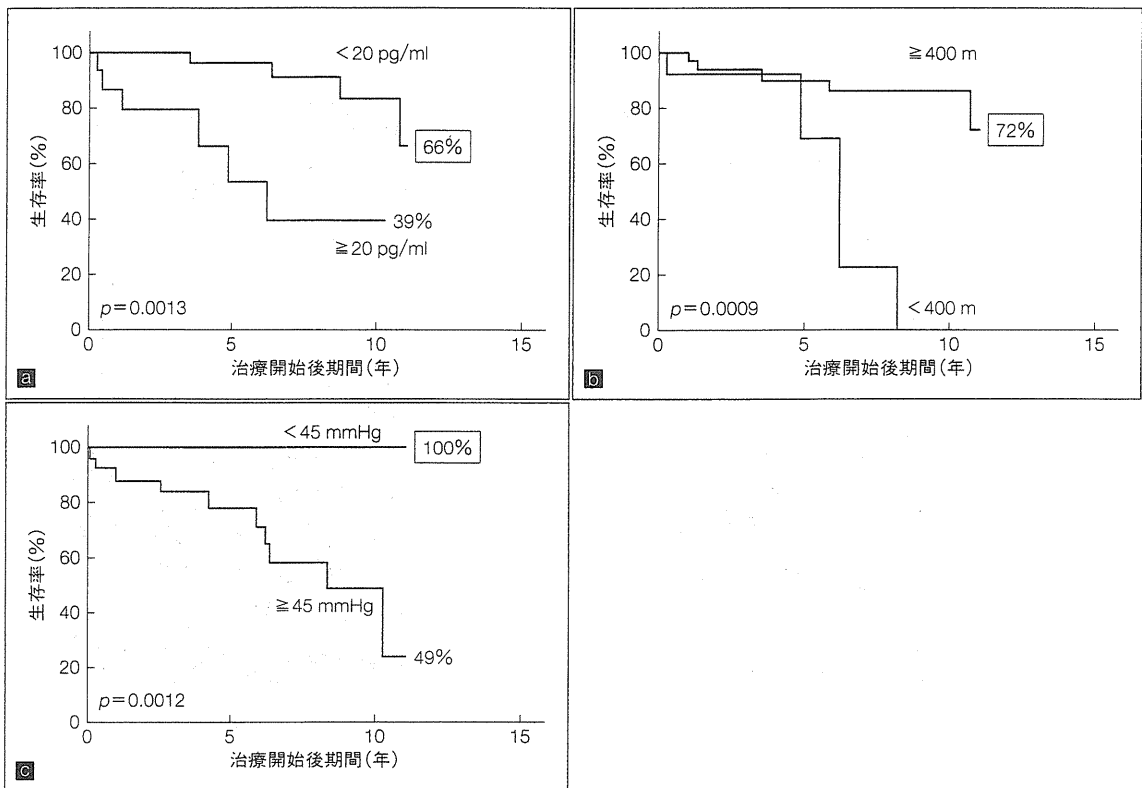


図3 治療後検査データからみた10年生存率

〔第75回日本循環器学会学術集会にて発表(一部改変)〕

a: 血中BNP濃度, b: 6分間歩行距離, c: 平均肺動脈圧. 当院で加療を行った特発性肺動脈性肺高血圧症47症例において, 治療後に達成できた各種検査データの値により生存率を比較検討した.

V1誘導の高いR波が減高してくるなど, 心電図所見が治療経過の評価に役立つ可能性が示唆された³⁾.

また従来, 血中BNP(brain natriuretic peptide)濃度や6分間歩行距離は, 血行動態の悪化・改善に伴って変動するためフォローに有用であるとされてきたが, これらがいったん正常値となっても良好な長期予後には直結しない(図3). 当院においては, 平均肺動脈圧が45 mmHg未満に達した症例では10年生存率100%を達成しており, BNP濃度や6分間歩行距離ではなく肺動脈圧の低下こそが長期予後改善につながると考えられる.

おわりに

肺高血圧症症例の各種検査所見は, 原疾患や重症度により異なる. また, 病態の進展・改善に伴う血行動態の変化を反映し, 検査所見も大きく変動する. 早期に正確な診断を行い, 原疾患の違いにより適切な治療法を選択し, 検査所見により経過を判断しながら治療を進めていくことが重要である.

文献

- Galie N, Hoeser MM, Humbert M, et al : Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension : The task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the european society of cardiology (ESC) and the european respiratory society (ERS), endorsed by the international society of heart and lung transplantation (ISHLT). Eur Heart J 30 : 2493-2537, 2009
- Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, et al : Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. Circulation 122 : 156-163, 2010
- 佐藤慎二, 小川愛子, 更科俊洋, 他 : 肺高血圧症の心電図変化. Therapeutic Research 32 : 3, 2011
 (* 独立行政法人国立病院機構岡山医療センター臨床研究部)
 ☎701-1192 岡山市北区田益 1711-1

●シンポジウム：各種の肺高血圧症治療における診断のポイント 4

Pulmonary Veno-Occlusive Disease と
Pulmonary Capillary Hemangiomatosis の診断のポイント独立行政法人国立病院機構岡山医療センター臨床研究部
小川愛子・松原広己

はじめに

pulmonary veno-occlusive disease (PVOD) と pulmonary capillary hemangiomatosis (PCH) は Dana Point 分類の I' 群である¹⁾。PVOD は肺静脈の狭窄・閉塞を、PCH は多層性の毛細血管の浸潤性増殖を特徴的な組織所見とし、これが確定診断の根拠となる²⁾。Dana Point 分類 1 群である肺動脈性肺高血圧症 (pulmonary arterial hypertension : PAH) とは治療方針や予後が全く異なるため、特徴的な臨床症状や検査・画像所見などにより、早期に臨床診断をつけることが重要である。

PVOD/PCH は肺静脈や毛細血管に狭窄・閉塞が存在するため、上流の肺動脈を拡張する PAH 治療薬により肺水腫が惹起される危険性があり、現状では肺移植しか治療法がない。PVOD/PCH の臨床的な特徴に関する報告はあるが^{3,4)}、見過ごされるケースも多いため、早期に臨床診断を行う方法を確立する必要がある。

1 対象・方法

2012 年 5 月までに当院で加療を行った肺高血圧症例のうち、PVOD/PCH 16 例 (病理診断確定例 5 例を含む) と 1 群 122 例とを対象として、それぞれの群のさまざまな臨床指標を比較検討し、PVOD/PCH の臨床診断のための評価法を作成した。

表 1 PVOD/PCH と特発性/遺伝性 PAH の臨床的特徴の比較

項目	PVOD/PCH	I/HPAH
男性 (%)	81.3*	23.2
喫煙歴 (%)	73.3*	29.1
6MWD (m)	226.0±36.7 [#]	354.3±13.8
Pre SpO ₂ (%)	95.8±0.5 [#]	97.8±0.3
ΔSpO ₂ (%)	10.1±0.8*	3.6±0.5
DLco' (%)	25.0±2.5 [#]	56.7±2.4
GGO (%)	100.0*	39.3
小葉間隔壁肥厚 (%)	75.0*	23.2
粒状影 (%)	56.3*	10.7
血流シンチ上葉欠損 (%)	56.3*	12.5
血管拡張薬で肺水腫 (%)	31.3*	1.8

I/HPAH : 特発性/遺伝性 PAH, 6MWD : 6 分間歩行距離, Pre SpO₂ : 安静時酸素飽和度, ΔSpO₂ : 安静時 SpO₂ - 最低 SpO₂, DLco' : 肺拡散能, GGO : ground glass opacity
* PVOD/PCH で有意に高値, [#]低値 (p<0.05)

2* 結果

各指標について ROC 曲線を描いて得られた AUC 値から、各群の鑑別に役立つと考えられたものを表 1 に示す。PVOD/PCH には男性、喫煙者が多く、平均年齢 47.0±4.6 歳であった。特発性/遺伝性 PAH と比較して PVOD/PCH 例では 6 分間歩行距離が短く、安静時酸素飽和度 (SpO₂) が 95.8±0.5% と低下しており、歩行試験によりさらに 10.1±0.8% 低下した。呼吸機能

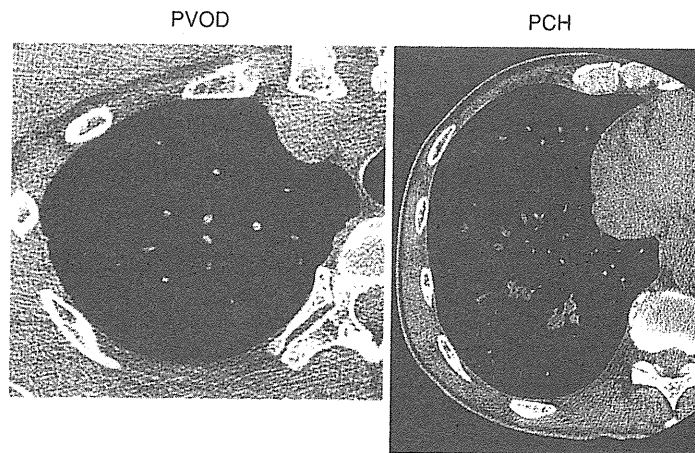


図1 特徴的なPVOD/PCH症例のHRCT画像
PVODでは小葉間隔壁の肥厚や小葉中心性GGOを、PCHでは粒状影を認める。

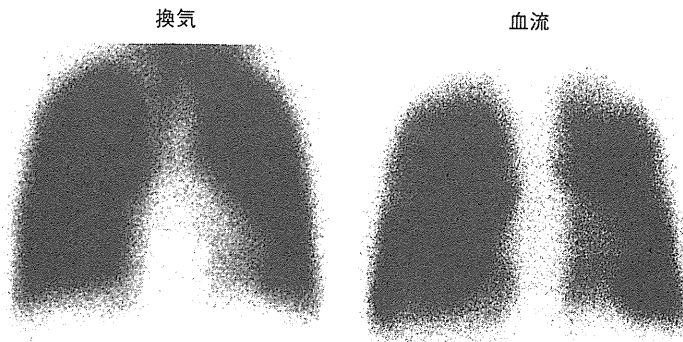


図2 特徴的なPVOD症例のシンチグラフィ画像
肺換気血流シンチグラフィで、上葉を中心とした血流欠損が認められる。

検査では肺拡散能(DLco')が有意に低く、画像所見では胸部HRCTでの小葉中心性ground glass opacity(GGO)、小葉間隔壁肥厚、粒状影といった特徴的な所見(図1)や肺血流シンチグラフィでの上葉欠損(図2)が多く認められた。また、血管拡張薬による肺水腫の既往は特に疾患特異性が高かった。

以上の結果をふまえてPVOD/PCH臨床診断スコアを作成した(表2)。肺水腫の既往は2点、その他の項目は1点で合計10点とすると、PVOD/PCHでは平均 6.6 ± 0.5 点、1群では 1.5 ± 0.1 点と有意に異なっていた。4点以上で

表2 PVOD/PCH臨床診断スコア

①性別：男性	1点
②喫煙歴：あり	1点
③6分間歩行中の酸素低下：9%以上	1点
④DLco'%：34%未満	1点
⑤HRCT：GGO	1点
小葉間隔壁肥厚	1点
粒状影	1点
⑥血流シンチ：上葉欠損	1点
⑦血管拡張薬による肺水腫	2点
	⇒合計10点

あれば感度 94%, 特異度 91% で PVOD/PCH 疑い例を診断することが可能であった。

3 考 察

PVOD/PCH と 1 群の臨床的特徴を比較し, 鑑別に有用な臨床指標を抽出して作成した PVOD/PCH 臨床診断スコアが, PVOD/PCH の早期診断に有用である可能性が示唆された。

文 献

1) McLaughlin VV, et al. ACCF/AHA 2009 expert

consensus document on pulmonary hypertension. *Circulation* 2009;119:2250-94.

2) Pietra GG, et al. Pathologic assessment of vasculopathies in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:25S-32S.

3) Montani D, et al. Pulmonary veno-occlusive disease: Clinical, functional, radiologic, and hemodynamic characteristics and outcome of 24 cases confirmed by histology. *Medicine (Baltimore)* 2008; 87:220-33.

4) 小川愛子. 肺静脈閉塞性疾患/肺毛細血管腫症. 肺高血圧症診療マニュアル: 2012. p.152-9.

肺静脈閉塞症(PVOD)

おがわあいこ まつばらひろみ
小川愛子*・松原広己*

* 独立行政法人国立病院機構岡山医療センター臨床研究部
〒701-1192 岡山市北区田益 1711-1

疾患・病態の概説

1. 肺静脈閉塞症とは

肺静脈閉塞症 (pulmonary veno-occlusive disease, PVOD) は、肺高血圧症の原因疾患のなかでも稀なものである。臨床的には PVOD との鑑別診断が困難である肺毛細血管腫症 (pulmonary capillary hemangiomatosis, PCH) とともに、最新の肺高血圧症の臨床分類 (Dana Point 分類) で 1' 群に分類されている¹⁾。心臓カテーテル検査による肺高血圧の診断 (平均肺動脈圧 25 mmHg 以上、肺動脈楔入圧 15 mmHg 未満) に加えて、病理組織所見で肺静脈の狭窄や閉塞を認めることで確定診断となる²⁾。さまざまな治療薬の登場により肺動脈性肺高血圧症 (pulmonary arterial hypertension, PAH) の予後は改善してきているが、本疾患ではむしろそういった薬剤の使用により状態が悪化する場合もあり、根本的な治療は肺移植しかない。進行の早いケースもあり予後は極めて不良で、症状発現から 2 年以内にほぼ全例死亡するとされる。特徴的な臨床症状や検査所見などにより、早期に臨床診断をつけることが重要である (表)。

2. 疫学

文献で報告されているのは 200 例程度、人口 100 万人当たり約 0.2 人程度発症するとされ、男女差はなく全年齢で発症の可能性がある³⁾。非常に稀な疾患であると考えられてきたが、特発性 PAH と臨床診断された症例のうち、約 10% が剖

表 PVOD 症例の特徴

年齢, 性別	全年齢, 男女比=1:1
喫煙歴	あり
酸素飽和度	低値
運動時	酸素飽和度の著明な低下
呼吸機能検査	DL _{CO} 低値
胸部 X 線	Kerley B line, 粒状影
胸部 HRCT	小葉間隔壁の肥厚, 小葉中心性 GGO, リンパ節腫大
肺血流シンチグラフィ	亜区域性の血流欠損
血管拡張薬の使用	肺水腫の危険性
予後	約 2 年

検で PVOD と診断されたとする報告もある。PCH は PVOD よりもさらに頻度が低く、これまでの報告は 100 例足らずである。当院での PVOD/PCH 例は PAH の約 1 割程度の症例数で、男性が 81.3%、平均年齢 47.0±18.5 歳である。

3. 病 因

PVOD 発症の原因は不明である。喫煙、ウイルス感染、毒物、抗癌剤や骨髄移植との関連が報告されている³⁾。また、特発性 PAH と関連のある bone morphogenetic protein receptor 2 の遺伝子異常の報告や家族内発症があることから、なんらかの遺伝子異常が背景にある可能性もある⁴⁾。膠原病関連 PAH のなかで PAH 治療薬への反応不良例に肺静脈病変を認めた報告もあり、注目されている⁵⁾。

4. 臨床症状

労作時息切れ、呼吸困難が多いが、一般的に肺高血圧症で認められる症状である胸部不快感、胸痛、失神などを訴える例もある。安静時低酸素血症のない例でも、日常の軽労作で著明な酸素飽和度(SpO₂)の低下を認めることが多い。当院のPVOD/PCH例での安静時SpO₂は平均95.8±1.8%で、6分間歩行時には10.1±2.6%の低下を認めた。

5. 治療

有効性の確立された治療法は肺移植以外にない。肺移植の待機期間が平均2年程度であることを考慮し、PVODが疑われ、本人が希望する場合には早期に肺移植登録を行う。

1) 薬物療法など

低酸素血症を呈するため通常酸素投与が必要である。PVODでは特に肺胞出血が起こりやすいため、PAHで推奨される抗凝固療法は、行うとしても軽めにする。肺水腫にもなりやすい傾向があるため、利尿薬を適宜使用する。

PAHに対する治療薬としては以下の3系統6薬剤がわが国でも使用可能となっている。

①エンドセリン受容体拮抗薬：ボセンタン、アンブリセンタン。

②ホスホジエステラーゼ5阻害薬：シルデナフィル、タダラフィル。

③プロスタグランジンI₂製剤：ベラプロスト・エポプロステノール。

PVODでは、肺動脈より下流の肺静脈に狭窄・閉塞が存在するため、肺動脈を拡張させるPAH治療薬を使用すると肺水腫が惹起される危険性があるため禁忌とされてきた。一方でPVOD例でボセンタンやシルデナフィルが有効であったという症例報告もある。筆者らの施設では、PVOD/PCH計8例に対して、慎重にエポプロステノールによる治療を行った⁹⁾。387.3±116.3日間にわたり平均55.3±10.7 ng/kg/min投与した結果、6分間歩行距離、BNP(brain natriuretic peptide)値、心拍出量は一時的に改善したが、肺動脈圧は低下しなかった。さらに、投与量の増加とともに間質影が増強し高流量の酸素投与が必要となった。エポプロステノールは、慎重に低用量で使用するならば移植までのブリッ

ジ治療としては有用であるが、根本的な治療とはなりえない。

2) 新規治療薬の可能性

過剰な血管/血管壁構成細胞の増殖を抑制する作用をもつ分子標的治療薬の有効性が期待されている。なかでもイマチニブはPDGF(platelet-derived growth factor)受容体のリン酸化を阻害する薬剤で、PAHに対する有効性が報告されており、PVOD症例における使用も報告されている⁷⁾。当院でも、これまで10例のPVOD/PCH例に対して自主臨床治験としてイマチニブを使用した。平均肺動脈圧が有意に低下し、生存期間も3.4±0.6年と有意に延長した。副作用や無効例、至適投与量の設定など課題もあるが、PVODにおける新たな治療薬となる可能性がある。

疾患・病態における 臨床検査値の変動, 推移

1. 病理組織所見の特徴

確定診断の根拠となるのは膠原線維に富んだ線維性組織による肺細静脈の狭窄と閉塞である(図1)²⁾。また、PCHに類似した毛細血管の多層性増殖や、繰り返す肺胞出血に伴うヘモジデリンの沈着を認める。

2. 心電図・心エコー図

心電図上は、肺高血圧を反映して右軸偏位、右室肥大などを認めるが、軽度の場合もある。心エコー図では、PAHと同様に右室拡大、右室肥大などの所見を呈する。

3. 呼吸機能検査

拡散能(DL_{CO})の低下が診断に有用である⁸⁾。軽度の拘束性障害を示す症例が多く、閉塞性障害を呈することもある。

4. 画像所見

1) 胸部X線・CT

胸部X線・CTの所見では肺動脈の拡大以外に特徴的な所見が認められ、PAHとの鑑別に役立つ^{9,10)}。胸部X線でKerley B line, 粒状影, 胸部単純CT(high-resolution CT, HRCT)で小葉間隔壁の肥厚, 小葉中心性ground glass opacity(GGO), リンパ節腫大を認める(図2 a)。

2) 肺換気血流シンチグラフィ

肺血流シンチグラフィでは、主に上葉を中心と

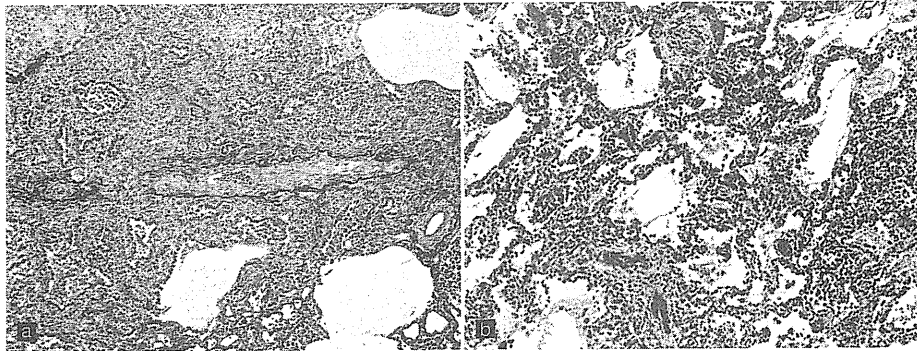


図1 PVODの病理組織所見

a: 主に線維成分により高度狭窄を呈した肺静脈(エラスチカマッソン染色), b: 多層性に増殖した毛細血管腫様病変(HE染色).

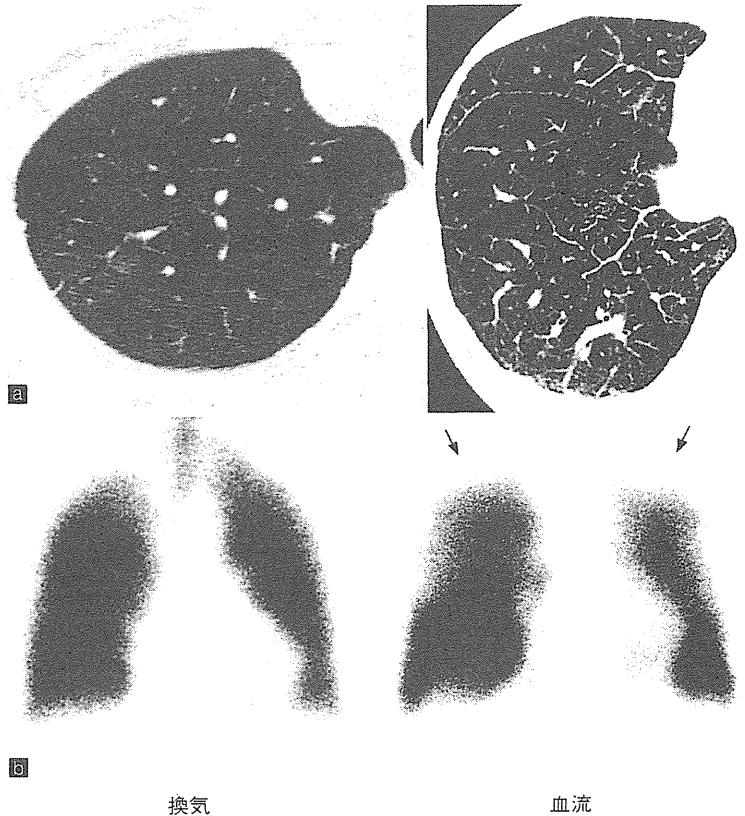


図2 PVODの画像所見

a: HRCT 画像. GGO, 粒状影, 小葉間隔壁の肥厚, 胸水貯留を認める. b: 肺換気血流シンチグラフィ. 両側上葉の血流欠損(矢印)を認める.

した亜区域性の血流欠損を認め, 換気血流ミスマッチを呈することが多い(図2b)¹¹⁾.

実際の症例でみられた検査値の変動

1. 症例1: 29歳男性

1か月前より徐々に増悪する呼吸困難を主訴に近医を受診し, 肺高血圧症が疑われ当院を紹介さ

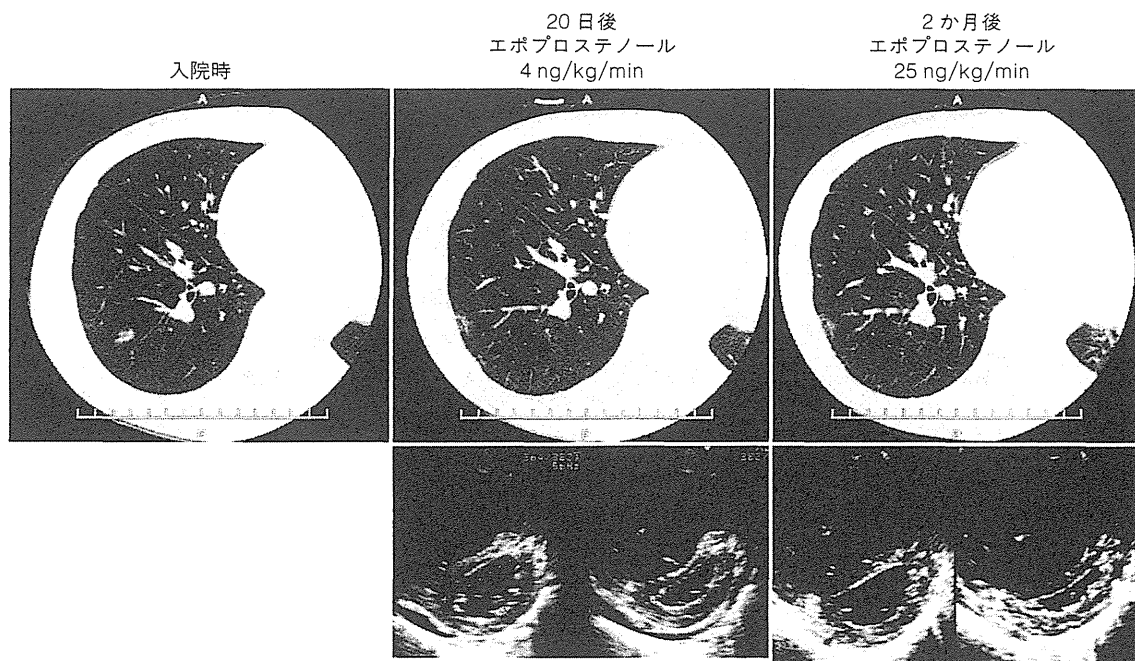


図3 エポプロステノールで加療したPVODの1例

上段：HRCT画像，下段：心エコー図。入院時よりHRCTでGGOを認めていたが，エポプロステノール投与に伴い小葉間隔壁の肥厚も目立つようになった。治療により心嚢水の減少は認められたが，著明な右室拡大とそれによる左室圧排像は不変であった。

れ入院となった。入院時，頸静脈怒張，肝腫大，下腿浮腫を認め，胸部X線では左第2弓の著明な突出と心胸比の拡大(63%)を認めた。BNPは1,039.7 pg/mlと上昇し，心エコーでは右心の著明な拡大，心嚢液貯留を認めた。心臓カテーテル検査では平均肺動脈圧114 mmHg，心係数2.3 l/min/m²であった。

強心薬を使用しながらシルデナフィルとエポプロステノールの投与を開始した。HRCTでGGOを認めたためPVODを疑い(図3)，エポプロステノールの増量は慎重に行ったが，酸素化の低下により一時的に非侵襲的陽圧換気療法を要した。4.0 ng/kg/minのエポプロステノールを投与した時点で平均肺動脈圧93 mmHg，心係数2.6 l/min/m²となり，2か月後にはBNP129.8 pg/ml，6分間歩行距離385 mと改善し退院した。しかしその後肺胞出血を起こし，集中治療を行ったが改善せず，当院紹介から9か月後に死亡した。

2. 症例2：51歳男性

他院で特発性PAHと診断され，ボセンタンとシルデナフィルを使用した状態改善せず，エポ

プロステノール導入目的で当院紹介となった。入院時，酸素4 l/min投与下でSpO₂97%，6分間歩行時には85%まで低下し，歩行距離は280 mであった。BNPは179.2 pg/ml，心臓カテーテル検査では平均肺動脈圧58 mmHg，心係数2.0 l/min/m²と肺高血圧を認めた。また，呼吸機能検査でDL_{CO}6.9%と著明な低下を認め，HRCTでは粒状影，GGO，小葉間隔壁の肥厚(図4)がありPVODが疑われたため，慎重にエポプロステノールを開始した。

2.5 ng/kg/minまで増量したところで呼吸状態が悪化し，10 l/min酸素投与下でSpO₂92%と低下した。エポプロステノールを中止したところ軽快し，イマチニブ開始後は平均肺動脈圧50 mmHg，BNP6.8 pg/mlと肺高血圧の改善を認めた。以後良好な状態を維持していたが，約3年後に心不全が悪化し死亡した。

おわりに

治療の進歩に伴い注目を集めたことで，多くのPAH症例が新たに診断・治療を受けるようになってきているが，一部にPVODが存在する可能性があるため注意が必要である。生前の確定診断は