総説

抗血管内皮細胞抗体と膠原病に伴う肺高血圧症との関連性について

吉 尾 卓

Jpn. J. Clin. Immun., 24 (4) : 133~141, 2001.

Antiendothelial cell antibodies and their relation to pulmonary hypertension in connective tissue diseases

Taku Yoshio

Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Jichi Medical School

Key words : antiendothelial cell antibodies,
human umbilical vein endothelial cells,
connective tissue diseases,
vascular injury,
pulmonary hypertension

I. はじめに

抗血管内皮細胞抗体 (anti-endothelial cell antibodies; AECA) の存在は Lindqvist ら¹⁾, そして Tan ら²⁾ によって初めてマウス腎臓凍結切片を用いた免疫蛍光染色にて明らかにされた。AECA は全身性エリテマトーデス (SLE)³⁾, 強皮症 (PSS)⁴⁾, 皮膚筋炎 (DM)⁵⁾, 慢性関節リウマチに伴う血管炎⁶⁾, Wegener 肉芽腫症⁶⁾, 顕微鏡的多発動脈炎⁶⁾などの膠原病・リウマチ性疾患で検出されている。膠原病・リウマチ性疾患以外では HLA の一致した臓器移植⁷⁻¹⁰⁾, 血栓性血小板減少性紫斑病¹¹⁾, 多発性硬化症¹²⁾, 自己免疫性副甲状腺機能低下症¹³⁾, 溶血性尿毒症症候群¹⁴⁾, 川崎病¹⁵⁾, 悪性腫瘍に伴う paraneoplastic neuropathy¹⁶⁾で検出されている。AECA は主に IgG と IgM クラスから成っているといわれていたが⁴⁾, その後 IgA クラスの AECA も報告されている¹⁷⁾。AECA は Fc 部分ではなく, F (ab')₂ 部分を

介して血管内皮細胞に結合することが示されている³⁾。AECA は線維芽細胞や末梢血単核球によっても吸収されることが報告されており, AECA は血管内皮細胞 (EC) に特異的に反応しないと考えられている¹⁸⁾。しかし AECA は HLA 抗原や ABO 抗原には反応しないともいわれている³⁾。

AECA の作用としては Cines らがはじめて in vitro で SLE 症例由来の精製 IgG が補体結合作用, EC 傷害作用, 血小板粘着作用を引き起こすことを明らかにし, これらの作用が SLE に出現する血管炎, あるいは血管傷害の発症, 進展に関与していると推測した³⁾。その後 PSS, SLE, 全身性血管炎や Wegener 肉芽腫症症例由来の精製 IgG が in vitro にて EC からの IL-6, IL-8 などのサイトカイン分泌増強, 接着分子発現増強や白血球接着増強を引き起こすことが報告され¹⁹⁻²¹⁾, EC に対して活性化作用を有することが明らかとなり, 血管炎, 血管傷害を引き起こすことが充分推測されるようになった。更に PSS 症例由来の精製 IgG が EC の apoptosis を引き起こすことも報告されている²²⁾。

しかし *in vitro* にて AECA が EC に結合し、いろいろな作用をすることは判ったが、EC 表面上の何れの抗原に反応するかは今のところ判っていない。以前より AECA の対応抗原を見いだそうとして EC の膜成分を用いた Western blot が行われているが、多数のバンドが検出されており^{18,23)}、ループス腎炎では数本のバンドとの関連性が示唆されているものの、その抗原を特定するには至っていない¹⁸⁾。Hills らは CREST 症候群症例血清を用いた Western blot で、AECA の一部が抗セントロメア抗体活性を有し、セントロメア抗原が EC の細胞膜に表出している可能性を報告している²⁴⁾。最近では抗 U1-RNP 抗体がヒト肺動脈由来 EC の接着分子発現を増強することが報告され、その機序として U1-RNP 抗原の EC の膜への表出あるいは交叉反応性が推測されている²⁵⁾。実際に抗核抗体がこの様に AECA であるのか、AECA としての活性を持っているのか、今後更に検討する必要があると思われる。抗好中球細胞質抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies; ANCA) のように対応抗原が判明し、病因的意義がはっきりするまでには至っておらず、ANCA に比べて認知度が低くマイナーな存在となっている。動物モデルに関しては、実際にその動物の EC 表面抗原に反応する AECA が存在し、その AECA がその動物の EC に結合し、血管炎、血管傷害を引き起こすか否かは確認されていない。ただし AECA 陽性の Wegener 肉芽腫症例由来の精製 IgG から ANCA 成分 (抗 proteinase-3 抗体) を除き、AECA 活性を残したものを BALB/c マウスの皮内に注射することによりマウス由来の AECA 産生を認め、腎臓と肺に血管炎様所見の出現を認め、この AECA 出現がイディオタイプネットワークに基づくものであることが報告されている²⁶⁾。しかしこのマウス由来の AECA はヒトの臍帯静脈由来 EC に対する抗体であり、マウス由来 EC に対する抗体であることが確認されておらず、AECA 陽性マウス腎組織の血管壁外側に IgG 沈着を認めているがこの IgG が実際に AECA であるかも確認されていない²⁶⁾。

1994 年 Meroni と Khamashta らが中心となって、第 1 回 AECA 国際会議が開かれ、AECA の測定方法、病因的意義、臨床との関連などが議論され、世界的に AECA の関心が高まるような努力がなされている²⁷⁾。

ここでは AECA の測定方法、膠原病疾患での抗体価、膠原病疾患に伴う肺高血圧症と AECA との関連

性を我々が得たデータを元に述べていきたい。

II. AECA の測定方法

測定方法としてはヒト臍帯静脈由来の血管内皮細胞を 96 穴の plate に付着させた cellular ELISA が広く行われている。EC としてはほとんどヒト臍帯静脈由来の EC が用いられている。その理由としてヒト臍帯が容易に入手しやすいことがあげられよう。実験方法としては 96 穴の plate 底面に付着させた EC を末固定のままで、最後まで行うか²⁸⁾、EC を paraformaldehyde²⁹⁾ や glutaraldehyde^{19,30)} で固定した上で行うかに大きく分けられる。又、EC の膜成分だけを取り出し、その取り出した可溶性の膜成分を 96 穴の ELISA 用 plate に固相化し、AECA の測定を行っているものもある²⁴⁾。他に先程述べたように EC の膜成分を用いた Western blot によって AECA の存在が検討されている^{18,23,24)}。

cellular ELISA では、2~3 継代のヒト臍帯静脈由来 EC を用いて行っていたが、第 1 回 AECA 国際会議でヒト臍帯静脈由来 EC では 3 継代以上になると、表面抗原や反応性の変化が起こるので注意が必要であることが指摘されるようになったため²⁷⁾、現在は 2 継代のみのヒト臍帯静脈由来 EC を用いて行っている。以前は被験血清を添加する前に 1% paraformaldehyde で EC を固定していたが²⁹⁾、現在は EC を播種してから 2 日後に monolayer で confluent となった段階で、培養液を除き、固定せずに生きたままの細胞に 1% fetal calf serum (FCS) を含む M 199 で 100 倍希釈の被験血清 100 μ l/well の添加を行っている。被験血清添加後 37°C 120 分間培養する。培養終了後、被験血清を捨て、1% FCS を含む M 199 で静かに 2 回洗浄する。その後に室温で 10 分間 1% paraformaldehyde で EC の固定を行っている。先程述べたように最後まで EC を固定せずに cellular ELISA を行っているものがある²⁸⁾。我々も最後まで EC を固定せずに cellular ELISA を何回か行ったが、途中の洗浄操作で EC が plate 底面から結構剥がれ落ちてしまい、良好な結果を得ることが出来なかった。固定後 1% paraformaldehyde 溶液を捨て、phosphate-buffered saline (PBS) で 2 回洗浄し、3% bovine serum albumin (BSA)・PBS で well 内面を室温で 60 分間ブロックする。ブロック終了後、3% BSA・PBS を捨て、peroxidase 結合ヤギ抗ヒト IgG 抗体 (1% BSA・PBS で 1000 倍希釈) 100 μ l/well を添加し、

図1 IgG-AECAの標準曲線

室温で90分間放置する。終了後、peroxidase結合ヤギ抗ヒトIgG抗体溶液を捨て、1% BSA・PBSで5回洗浄する。洗浄後well内面の液を出来るだけ捨て、風乾にて乾かす。発色反応は市販のTBM soluble reagent 100 μ l/wellを添加し、3分間室温で放置する。反応停止液(TMB stop buffer) 100 μ l/wellを添加し、発色反応を中止する。ELISA readerを用いて450 nmの波長にて吸光度を測定する。同時にIgG-AECA値が高値である血清を標準血清として100倍、200倍、400倍、800倍、1600倍、3200倍、6400倍、12800倍の希釈系列を作成し、各々の吸光度も測定する。これらの実験はtriplicateで行い、その平均値を各々の吸光度とする。標準血清100倍希釈の吸光度を100 U/mlとし、図1の如く片対数グラフに標準曲線を描き、被験血清の吸光度をその標準曲線に当てはめて、被験血清のIgG-AECA値を求める。常にplate毎にIgG-AECA値陽性血清、陰性血清を各々少なくとも2検体ずつ加え、陰性血清に関しては正常範囲にあり、陽性血清に関しては初回のIgG-AECA値の10%以内に入っている場合を有効と判定する。これらの測定条件を満たさない場合は再度測定し直すことにしている。

III. 各膠原病疾患のIgG-AECA値(図2)

正常人28例のIgG-AECA値の平均 $\pm$ 標準偏差

(SD)は 1.75 ± 1.80 U/mlで、正常範囲(平均 $+3$ SD)を7.14 U/ml以下とした(図2の破線より下の部分)。SLE症例35例、PSS症例27例、多発性筋炎(PM)/DM症例22例、混合性結合組織病(MCTD)症例24例、原発性シェーグレン症候群(primary SjS)症例12例、重複症候群(overlap; SLE+PM 2症例、PSS+PM 3症例、各々の疾患の診断基準を満たす)症例5例、血管炎(vasculitis; 顕微鏡的多発動脈炎あるいはANCA関連血管炎)症例11例のIgG-AECA値を測定した。各症例は各々の疾患の診断基準を満たしていた。ただし肺高血圧症合併症例は含まれていない。図2の如く各々の疾患のIgG-AECA値の平均 $\pm$ SD U/ml、陽性率はSLE症例 17.8 ± 17.9 U/ml, 65.6%, PSS症例 9.16 ± 7.17 U/ml, 50.0%, PM/DM症例 9.33 ± 6.66 U/ml, 59.1%, MCTD症例 18.8 ± 17.4 U/ml, 75.0%, primary SjS症例 9.52 ± 13.1 U/ml, 25.0%, overlap症例 28.8 ± 17.7 U/ml, 80.0%, vasculitis症例 1.89 ± 1.52 U/ml, 0%であった。

SLE症例で抗 β_2 -glycoprotein I依存性カルジオリピン(β_2 -GPI-CL)抗体陽性の抗リン脂質抗体症候群合併例(図2で○で示している)5例中IgG-AECA高値を示した症例は1例のみであった。抗 β_2 -GPI-CL抗体が β_2 -GPIを反応させたECに結合することがDel Papaらにより報告されている³¹⁾。我々の

図 2 各膠原病疾患の IgG-AECA 値。波線は正常上限を示している。○は抗 β_2 -GPI-CL 抗体陽性の抗リン脂質抗体症候群合併例である。

以前の検討でも SLE 症例において IgG-AECA 値と IgG 抗 β_2 -GPI-CL 抗体との有意な関連性を示すことが出来なかった²⁹⁾。EC を plate に播種し、monolayer で confluent とする際には培養液として FCS およびプールされたヒト血清を含む M 199 を用いているので、この段階で EC 表面上には β_2 -GPI が結合していると思われる。Del Papa らの結果³¹⁾と我々の結果が異なる理由ははっきりしない。

血管炎症例は 11 例と少なかったが、何れの症例も IgG-AECA は陰性であった。これらの症例は何れも活動性の高い時期の血清を用いている。AECA が血管炎発症に関与している可能性あるいは血管炎出現時期に AECA が産生される可能性が少ないことが示唆された。この結果は Carvalho らの報告¹⁹⁾と異なっている。彼等は ANCA 陽性全身性血管炎症例 4 例中 3 例に IgG-AECA を認めている。我々の ANCA 関連血管炎症例の何れも IgG-AECA 陰性であった。この異なる理由として測定した症例数が少ないので陽性例を見いだすことが出来なかったのかもしれない。

IV. 膠原病に伴う肺高血圧症例の IgG-AECA 値

我々は以前 SLE 症例において肺高血圧症 (PH)、指端潰瘍の各々の陽性例の IgG-AECA 値および IgM-AECA 値が各々の陰性例に比べて有意に高く、更に、レイノー症状陽性例の IgG-AECA 値、漿膜炎

陽性例の IgM-AECA 値が各々の陰性例に比べて有意に高いことを報告している²⁹⁾。PH ではレイノー症状、指端潰瘍、心膜炎などの漿膜炎を伴っていることが多く、特に指端潰瘍、心膜炎出現例では PH の予後が悪く、死亡することが多い³²⁾。これらの症状に小動脈閉塞性病変などの同一の発症機序が存在する可能性が推測されている³²⁾。PSS においても PH と指端潰瘍症例で有意に IgG-AECA 値が高いことが報告されている³⁰⁾。その後、我々は IL-1 β で前もって刺激された EC からの IL-6 分泌を PH を合併し、IgG-AECA 値高値の SLE 症例由来の精製 IgG が増強することを報告している³³⁾。更に IgG-AECA 値高値の SLE 症例由来の精製 IgG が未刺激の EC からの IL-6 および IL-8 分泌と EC 表面上の ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1 などの接着分子発現を増強することも報告している³⁴⁾。これらの増強作用は白血球の EC 下への浸潤を促し、血管炎あるいは血管傷害を引き起こす。更に IL-6 には平滑筋細胞増殖作用があり、それが内膜肥厚を促す。PH 症例の肺動脈血管壁には IgG 沈着の存在が報告されており³⁵⁾、これらの症状のきっかけとなる血管傷害の発症・進展に AECA が関与している可能性は充分考えられ、肺動脈においては PH として発症・進展することが推測される。

今回、膠原病に伴う PH 症例を予後不良例 13 例 (上昇した肺動脈圧がステロイド治療等に反応せずに変化のままで酸素吸入療法等を必要とするものあるい

はPHが原因で死亡した症例；SLE 4例，MCTD 6例，overlap 3例 [SLE+PSS+PM 2例，SLE+PSS 1例]，軽快例9例（PHと診断されるもののステロイド治療等に反応して肺動脈圧が正常化する症例；SLE 5例，PSS 3例，overlap [PSS+PM] 1例），肺線維症に伴う2次性PH症例3例（SLE 1

例，PSS 1例，MCTD 1例）の3群に分けて未固定のECを用いたIgG-AECA値で比較検討したところ，予後不良例が他の2群に比べて有意に高値を示した（図3）。予後不良例と軽快例で臨床症状，検査所見の有無に関して有意差があるか否かを検討したところ（表1），レイノー症状，指端潰瘍，心膜炎に関し

図3 肺高血圧症例のIgG-AECA値。dead or not improved：予後不良例，improved：軽快例，secondary：肺線維症に伴う2次性肺高血圧症例。各群の有意差検定はクラスカル・ワリス検定で行われた。予後不良例は他の2群の各々に比べて危険率1%以下で有意に高値を示した。

表1 予後不良例，改善例の臨床症状と検査所見

		予後不良例 (13例)	改善例 (9例)	危険率
臨床症状	レイノー症状	84.6% (11)	77.8% (7)	NS
	指端潰瘍	30.8% (4)	33.3% (3)	NS
	心膜炎	46.2% (6)	66.7% (6)	NS
検査所見	抗RNP抗体	100% (13)	44.4% (4)	p<0.01
	抗CL抗体	15.4% (2)	0% (0)	NS

臨床症状・検査所見 %：陽性率，()内の数字：陽性例数，NS：有意差なし

抗CL抗体：IgG抗 β_2 -GPI-CL抗体の略

有意差は2×2クロス集計表・フィッシャーの直接確率計算法により算出された

ては両群で特に有意差を認めなかった。これらの存在がPHの予後とは余り関連していないのかもしれない。IgG抗 β_2 -GPI-CL抗体に関しても両群で特に有意差を認めなかったが、Nishimakiらは膠原病に伴うPHとIgG-AECA、IgG抗 β_2 -GPI-CL抗体との有意な相関を報告している³⁶⁾。我々の検討では予後不良例で2例の陽性例を認めたが、軽快例では全例が陰性であったことから、膠原病に伴うPHの組織学的所見では血栓の存在は稀といわれているものの³⁵⁾、IgG抗 β_2 -GPI-CL抗体の存在がPHの予後に何かしらの影響を及ぼしている可能性は否定できないかもしれない。抗RNP抗体の有無に関しては予後不良例が全例陽性で、PHの予後と抗RNP抗体との間には有意な関連性が認められた。MCTD症例では全例が抗RNP抗体陽性となるが、PHを発症するのは一部である。抗U1-RNP抗体によるヒト肺動脈由来ECの接着分子発現増強も報告されており²⁵⁾、抗RNP抗体がAECAの一部としてあるいはAECAのコファクターとして働いている可能性が考えられる。2次性以外のPH症例ではMCTD全例が予後不良例に入った。MCTDに伴うPH合併例では以前予後不良と報告されているが³⁷⁾、我々の検討でも裏付けされた。これも抗RNP抗体の存在と関連性があるのかもしれない。

予後不良例で、IgG-AECA値100 U/mlを呈した症例から精製したIgGはECからのサイトカイン分

泌とEC表面上の接着分子発現を増強した³⁴⁾。IgG-AECA値が高値であることが、肺動脈での血管傷害が強く起こり、強力なステロイド治療にも反応せず、不可逆的となる可能性が推測される。IgG-AECA値と抗RNP抗体の測定は膠原病に伴うPHの予後を推測する上で、良い指標となりうるかもしれない。

V. PH症例の経過

次にIV.で述べたPH予後不良例でPH診断時の精製IgGがECからのサイトカイン分泌とEC接着分子発現を増強したSLE症例の経過を追ってIgG-AECA値の変動を検討した。

SLE症例(PH診断時28歳、女性)(図4):1984年にSLEと診断された。労作時呼吸困難、レイノー症状、指端潰瘍を主訴に1989年2月に当科第1回目の入院をしたところ、心電図、心エコー等にてPHの存在が判明し、プレドニゾロン30mg/日、抗凝固療法、プロスタグランディンE₁製剤の投与を受け、労作時呼吸困難などの自覚症状は軽快し、退院した。退院後、再び労作時息切れが増強し、胸痛も出現したために1989年6月第2回目の入院をし、ステロイドパルス療法を行い、労作時呼吸困難と胸痛は軽快し、退院となった。しかしまた労作時呼吸困難が増悪し1989年10月第3回目の入院をした。この経過中、心エコー上では肺動脈圧は変化がなく、PHは持続して

図4 肺高血圧症により死亡したSLE症例の経過

いた。入院時低酸素血症を認めたため、酸素吸入を開始した。alprostadil (Lipo PGE₁) 静注や選択的 β_1 agonist (denopamine) を併用するもやはり肺動脈圧は変化がなく、呼吸困難も改善しなかった。その後 PH による右心不全が増悪し 1990 年 3 月に死亡した。PH 診断時の IgG-AECA 値は 100 U/ml と著明に増加し、その後 2 カ月間は 100 U/ml を示し、第 3 回目の入院時でも IgG-AECA 値は 68.0 U/ml とまだ高値を示していた。この様に経過中 IgG-AECA 値は高値を持続していた。剖検所見では筋性肺小動脈の内膜肥厚・中膜肥大、plexiform lesion を認め、血栓を認めなかった。

先程も述べたように IgG-AECA が肺小動脈 EC に作用して、PH の発症・進展、更には不可逆的な変化にも関与している可能性が示唆された。

VI. おわりに

ここでは主に AECA と膠原病に伴う PH との関連性について述べてきたが、AECA の対応抗原がいまだにはっきりしていない。EC 表面上には抗血栓性に働く thrombomodulin (TM) が表出しており、それに対する抗体が SLE 症例で存在することが報告されている³⁹⁾。我々もリコンビナント TM を抗原として

用いた ELISA にて膠原病症例血清中に抗 TM 抗体が存在し、PH 症例では高値であることを報告した³⁹⁾。抗 TM 抗体が AECA の一部であるとの仮定のもとにマウスモノクローナル抗 TM 抗体を用いて EC に及ぼす作用を検討したところ、EC からの IL-6、IL-8 産生と EC の接着分子発現増強、白血球接着増強を認めた⁴⁰⁾。肺動脈 EC 表面上には豊富に TM が存在しており、抗 TM 抗体が AECA の一部として膠原病に伴う PH の発症・進展に関与していることが充分考えられる。今後は動物モデルを用いて抗 TM 抗体により PH が再現出来るか否か、膠原病症例血清から抗 TM 抗体を精製し、マウスモノクローナル抗 TM 抗体と同様に EC 機能を変化させるか否かを検討する必要がある。

謝辞：本稿に記載されたデータの実験は厚生省特定疾患対策研究事業混合性結合組織病に関する研究班、東京都三宅島三宅村よりの補助に基づいて行われたものである。本稿をまとめるにあたり多大なる御協力を下さいました当科奈良浩之先生、岡本宗子氏、西海康子氏、仙波眞美子氏（順不同）に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Lindqvist, K.J., Osterland, C.K. : Human antibodies to vascular endothelium. Clin. Exp. Immunol. 9 : 753~760, 1971.
- 2) Tan, E.M., Pearson, C.M. : Rheumatic disease sera reactive with capillaries in the mouse kidney. Arthritis Rheum. 15 : 23~28, 1972.
- 3) Cines, D.B., et al. : Presence of complement fixing anti-endothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus. J. Clin. Invest. 73 : 611~625, 1984.
- 4) Salojin, K.V., et al. : Antiendothelial cell antibodies : useful markers of systemic sclerosis. Am. J. Med. 102 : 178~185, 1997.
- 5) Heurkens, A.H.M., et al. : Anti-endothelial cell antibodies in patients with rheumatoid arthritis complicated by vasculitis. Clin. Exp. Immunol. 78 : 7~12, 1989.
- 6) Savage, C.O.S., et al. : Vascular damage in Wegener's granulomatosis and microscopic polyarteritis : presence of anti-endothelial cell antibodies and their relation to anti-neutrophil cytoplasm antibodies. Clin. Exp. Immunol. 85 : 14~19, 1991.
- 7) Cerilli, J., et al. : Antivascular endothelial cell antibody : its role in transplantation. Surgery 81 : 132~138, 1977.
- 8) Claas, F.H.J., et al. : Antibodies against donor antigens on endothelial cells and monocytes in eluates of rejected kidney allografts. Tissue Antigens 15 : 19~24, 1980.
- 9) Gluckman, J.C., et al. : Monocytotoxic antibodies after bone marrow transplantation in aplastic anemia. Transplantation 33 : 599~602, 1982.
- 10) Brasile, L., et al. : Identification of the anti-

- body to vascular endothelial cells in patients undergoing cardiac transplantation. *Transplantation* 40 : 672~675, 1985.
- 11) Burns, E.R., Zucker-Franklin, D. : Pathologic effects of plasma from patients with thrombotic thrombocytopenia purpura on platelets and cultured vascular endothelial cells. *Blood* 60 : 1030~1037, 1982.
 - 12) Tanaka, N., et al. : Anti-endothelial cell antibodies and circulating immune complexes in sera of patients with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 17 : 49~59, 1987.
 - 13) Fattorossi, A., et al. : Anti-endothelial cell antibodies : detection and characterization in sera from patients with autoimmune hypoparathyroidism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 : 4015~4019, 1988.
 - 14) Leung, D.Y.M., et al. : Lytic anti-endothelial cell antibodies in haemolytic-uraemic syndrome. *Lancet* 2 : 183~186, 1988.
 - 15) Leung, D.Y.M., et al. : Immunoglobulin M antibodies present in the acute phase of Kawasaki syndrome lyse cultured vascular endothelial cells by gamma interferon. *J. Clin. Invest.* 77 : 1428~1435, 1986.
 - 16) Nara, T. : A case of paraneoplastic neuropathy with necrotizing arteritis localized in the peripheral nervous system. *Rinsho Shinkeigaku* 31 : 427~432, 1991.
 - 17) Fornasieri, A., et al. : Anti-mesangial and anti-endothelial cell antibodies in IgA mesangial nephropathy. *Clin. Nephrol.* 44 : 71~79, 1995.
 - 18) Van der Zee, J.M., et al. : Characterization of antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin. Exp. Immunol.* 84 : 238~244, 1981.
 - 19) Carvalho, D., et al. : IgG antiendothelial cell autoantibodies from scleroderma patients induce leukocyte adhesion to human vascular endothelial cells in vitro. *J. Clin. Invest.* 97 : 111~119, 1996.
 - 20) Carvalho, D., et al. : IgG anti-endothelial cell autoantibodies from patients with systemic lupus erythematosus or systemic vasculitis stimulate the release of two endothelial cell-derived mediators, which enhance adhesion molecule expression and leukocyte adhesion in an autocrine manner. *Arthritis Rheum.* 42 : 631~640, 1999.
 - 21) Del Papa, N., et al. : Anti-endothelial cell IgG antibodies from patients with Wegener's granulomatosis bind to human endothelial cells in vitro and induce adhesion molecule expression and cytokine secretion. *Arthritis Rheum.* 39 : 758~766, 1996.
 - 22) Bordron, A., et al. : The binding of some human antiendothelial cell antibodies induces endothelial cell apoptosis. *J. Clin. Invest.* 101 : 2029~2035, 1998.
 - 23) Youinou, P., et al. : A need for standardization of the antiendothelial cell antibody test. *Immunol. Today* 16 : 363~364, 1995.
 - 24) Hill, M.B., et al. : Antibodies to membranes of endothelial cells and fibroblasts in scleroderma. *Clin. Exp. Immunol.* 106 : 491~497, 1996.
 - 25) Okawa-Takatsuji, M., et al. : Up-regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and class II MHC molecules on pulmonary artery endothelial cells by antibodies against U1-ribonucleoprotein. *Clin. Exp. Immunol.* 116 : 174~180, 1999.
 - 26) Damianovich, M., et al. : Pathogenic role of anti-endothelial cell antibodies in vasculitis : an idiotypic experimental model. *J. Immunol.* 156 : 4946~4951, 1996.
 - 27) Meroni, P.L., et al. : Conference report mosaic of anti-endothelial antibodies review of the first international workshop on anti-endothelial antibodies : clinical and pathological significance Milan, 9 November 1994. *Lupus* 4 : 95~99, 1995.
 - 28) Hashemi, S., et al. : Anti-endothelial cell antibodies : detection and characterization using a cellular enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Lab. Clin. Med.* 109 : 434~440,

- 1987.
- 29) Yoshio, T., et al. : Antiendothelial cell antibodies and their relation to pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 21 : 2058~2063, 1994.
- 30) Negi, V.S., et al. : Antiendothelial cell antibodies in scleroderma correlate with severe digital ischemia and pulmonary arterial hypertension. *J. Rheumatol.* 25 : 461~465, 1998.
- 31) Del Papa, N., et al. : Endothelial cells as target for antiphospholipid antibodies : human polyclonal and monoclonal anti- β_2 -glycoprotein I antibodies react in vitro with endothelial cells through adherent β_2 -glycoprotein I and induce endothelial activation. *Arthritis Rheum.* 40 : 551~561, 1997.
- 32) Masuyama, J-I., et al. : Long-term prognosis of patients with connective tissue disease accompanied by pulmonary hypertension : a retrospective study. *Jpn. J. Rheumatol.* 5 : 261~270, 1994.
- 33) Yoshio, T., et al. : Association of interleukin 6 release from endothelial cells and pulmonary hypertension in SLE. *J. Rheumatol.* 24 : 489~495, 1997.
- 34) 奈良浩之, ほか : 抗血管内皮細胞抗体 (AECA) の全身性エリテマトーデス (SLE) に伴う肺高血圧症への関与. *リウマチ* 37 : S 270, 1997.
- 35) Quismorio, F.P. Jr., et al. : Immunopathologic and clinical studies in pulmonary hypertension associated with systemic lupus erythematosus. *Semin. Arthritis Rheum.* 13 : 349~359, 1984.
- 36) Nishimaki, T., et al. : Immunological analysis of pulmonary hypertension in connective tissue diseases. *J. Rheumatol.* 26 : 2357~2362, 1999.
- 37) Kasukawa, R., et al. : Pulmonary hypertension in connective tissue disease : clinical analysis of sixty patients in multi-institutional study. *Clin. Rheumatol.* 9 : 56~62, 1990.
- 38) Oosting, J.D., et al. : Autoantibodies directed against the epidermal growth factor-like domains of thrombomodulin inhibit protein C activation in vitro. *Br. J. Haematol.* 85 : 761~768, 1993.
- 39) 吉尾 卓, ほか : 膠原病に伴う肺高血圧症症例の抗トロンボモジュリン抗体, 抗アネキシン V 抗体の検討. 厚生省特定疾患対策研究事業混合性結合組織病に関する研究班平成 11 年度研究報告書, pp 40~44, 2000.
- 40) 吉尾 卓, ほか : モノクローナルマウス抗トロンボモジュリン抗体の血管内皮細胞に及ぼす影響. 厚生省特定疾患対策研究事業混合性結合組織病に関する研究班平成 12 年度研究報告書, 印刷中.
-