

< Minireview >

原因遺伝子発見後の肺高血圧研究の展望 疾患概念と治療戦略の新しいパラダイム

（平成 13 年 10 月 15 日受付）

（平成 13 年 12 月 3 日受理）

三重大学医学部小児科

三谷 義英

key words : 肺高血圧, BMP, BMPR 2 遺伝子治療, 細胞移植

要 旨

2000 年は肺高血圧の研究上、画期的な年であり、家族性原発性肺高血圧の原因遺伝子として bone morphogenetic protein 受容体 2 型 (BMPR 2) の遺伝子異常が報告された。この発見とその後の一連の研究により、本疾患の臨床分子遺伝学的側面から理解が進み、多くの散発性 PPH が家族性と考えられるなど疾患概念の転換が生じた。さらにこの発見は将来の発症前診断、予防医学の道を開くと共に、従来の肺高血圧の病態形成の理解に遺伝子異常の側面からのアプローチが可能となり、分子機序に基づく治療法開発に向けた病態研究に拍車をかけた。

原因遺伝子発見後の肺高血圧研究において、臨床分子遺伝学的研究の一層の進歩と共に病態解析が重要となる。肺高血圧研究に BMPR 2 の血管生物学は従来無かった領域であり、そのために遺伝子改変マウスを用いた解析、分子細胞生物学的研究が必須である。これまでの病態/臨床研究から構築された内皮機能異常仮説、プロテアーゼ活性異常仮説とのクロストークも重要な研究分野である。

1990 年代の肺高血圧領域においてなされた内皮機能を初めとした血管作動物質関連の血管機能研究が現在臨床応用され、PGI 2 持続静注に続き、PGI 2 皮下注、エンドセリン受容体拮抗薬が FDA により認可されている。肺高血圧研究も収縮、弛緩の生物学から、genotype-phenotype 関連ないし関連疾患、疫学的危険因子と病態形成の関連の研究が今後重要となり、それにより次世代型分子標的治療の候補が明らかになるかもしれない。

はじめに

いわゆる原発性肺高血圧症 (PPH) は、従来から稀で原因不明の予後不良な疾患と考えられてきた。しかし、最近の食欲抑制薬、HIV (human immunodeficiency virus) 感染に伴う病態不明の肺高血圧の流行が医学的、社会的にも問題となり、肺高血圧は必ずしも稀な疾患ではなくなった。またこれらは二次的に発症する肺高血圧であるが、臨床像、病理組織像がいわゆる PPH と類似する為、臨床的にも研究的にも疾患概念の

整理が必要となった。そこで PPH は従来の膠原病、門脈圧亢進症、先天性心疾患と関連して理解されていた肺高血圧も含めて共通の特徴的な病理組織像である叢状病変 (plexiform lesion) の存在でまとめられ、1998 年に WHO 新分類として pulmonary arterial hypertension (PAH) という一つのカテゴリーに分類された。上記の食欲抑制薬など薬物、HIV、膠原病、門脈圧亢進症、先天性心疾患などに関連した肺高血圧は、PAH の中でも従来の PPH である primary PAH と区別され、他の疾患に関連する PAH と分類され、この分類により多様な PAH の共通の病理、病態に基づいたアプローチが容易になった (図 1)。

- | | |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | 肺動脈肺高血圧 (pulmonary arterial hypertension) |
| 1.1 | 原発性肺高血圧 (primary pulmonary hypertension) |
| | a) 散発性, b) 家族性 |
| 1.2 | 他の疾患に関連する肺高血圧 |
| | a) 膠原病, b) 左右短絡を伴う先天性心疾患, c) 門脈圧亢進症, d) HIV 感染症, e) 薬物ないし毒素 1) 食欲抑制剤, 2) その他の薬剤, f) 新生児持続性肺高血圧, g) その他 |
| 2 | 肺静脈肺高血圧 |
| 3 | 気道系肺疾患ないし低酸素に伴う肺高血圧 |
| 4 | 慢性血栓塞栓性肺高血圧 |
| 5 | 肺血管障害による肺高血圧 |

図1 肺高血圧の WHO 新分類

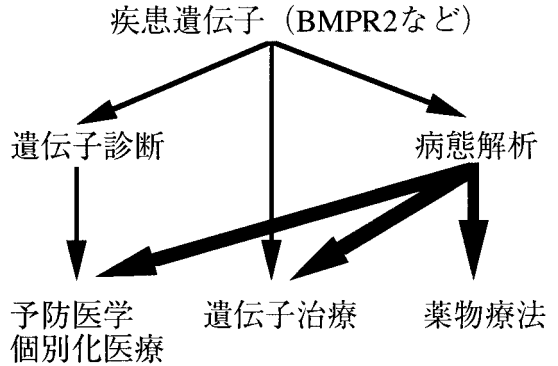


図2 家族性 PPH 原因遺伝子 BMPR2 とその臨床応用

2000 年は肺高血圧の研究上、画期的な年であり、家族性 PPH の原因遺伝子として bone morphogenetic protein 受容体 2 型の遺伝子異常が報告された^{2,3)}。この発見により、本疾患の臨床分子遺伝学的側面からの理解が可能となり、将来の発症前診断、予防医学の道を開いた。また従来の肺高血圧の病態形成の理解に遺伝子異常の側面からのアプローチが可能となり、分子機序に基づく治療法開発に向けた病態研究に拍車をかけた(図2)。

プロスタサイクリン製剤の持続静注療法、一酸化窒素 (NO) 吸入療法を初めとする 1990 年代の内皮機能研究の成果に基づき、肺高血圧の有効な治療法が最近普及した(図3)⁵⁾。さらに BMPR2 経路などの新しい分子機序に基づく治療研究の発展により、新しい分子標的治療の候補が明らかになるかもしれない。(図4)。

1. 原発性肺高血圧 (原発性の PAH) の新しい理解

2000 年秋に、2つの独立したグループが家族性 PPH の原因遺伝子の一つとして染色体 2q33 に存在する bone morphogenetic protein (BMP) 受容体 2 型 (BMPR2) の遺伝子異常を報告した^{2,3)}。BMP は TGFβ superfamily に属し、当初骨、軟骨組織の誘導能を持つタンパクとして発見されたが、様々な細胞の増殖、分化、遊走、アポトーシスなど多彩な生命現象に作用する⁶⁾。BMPR2 のノックアウトマウスは、発生初期に致死となり、原腸形成異常が認められ、肺を含めた臓器の初期発生から器官形態形成に関与するモルフォゲンと考えられている⁷⁾。現在までに 46 の異なった BMPR2 遺伝子異常が報告され、その多くは BMPR2 の機能低下を来し、ハプロ不全がその機序と考えられた^{2,3,8)}。BMPR2 遺伝子の異常は家族性 PPH 患者の 56%、散

- | | |
|---|------------------------------------------------|
| 1 | 大規模臨床研究で効果が確認されている治療法 |
| | 1. PGI2 持続静注, 皮下注 |
| | 2. カルシウム拮抗剤(約 20% の例に有効, 大量投与を要する) |
| | 3. エンドセリン受容体 ETA/ETB 受容体拮抗剤 |
| 2 | 小規模臨床研究で効果が認められる治療法 |
| | 1. PGI2 吸入, 経口 |
| | 2. 抗凝固療法 |
| | 3. phosphodiesterase V 阻害剤 |
| | 4. 長期 / 間欠的 NO 吸入 |
| | 5. L-アルギニン内服 |
| 3 | 動物実験で効果が確認された治療法 |
| | 1. プロテアーゼ阻害剤 (エラスターゼ, MMP) |
| | 2. ACE 阻害剤 |
| | 3. 遺伝子導入 (eNOS, iNOS, PGIS, VEGF, prepro CGRF) |

図3 肺高血圧に対する長期薬物療法

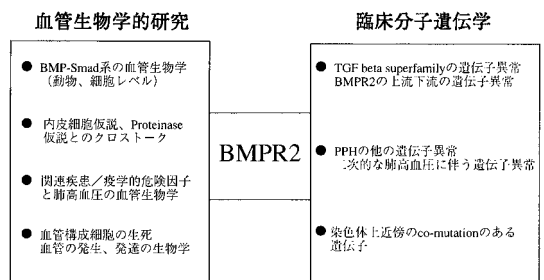


図4 原因遺伝子発見後の肺高血圧の分子医学研究

発性 PPH 患者の 26% の患者に認められ、散発例にも予想以上に多く認められた⁹⁾。最近の PPH の大家系

の詳細な検討では、当初散発例と考えられた例の多くは家族例である事が明らかとなり、家族例は従来考えられてきたより多く、疾患概念が変わると共に早期診断、発症前治療の重要性が増すと考えられる¹⁰⁾。

これらの発見はPPHの臨床分子遺伝学的理解を深め、今後発症前診断、予後判断、個別化治療、予防医学への可能性を示唆する一方、血管構成細胞の分子機序に基づく治療法開発を目指した病態研究の進展が期待される(図2)。従来のモデル研究では、叢状病変、新生内膜肥厚を伴ったヒトPAH類似の肺高血圧の再現が困難で、適当な動物モデルの無いことが病態研究上の大きな壁であった。宮園らは、BMPR2ノックアウトマウスを作製し(-/-)は胎児死亡を来すが(+/-)は生存しておりこれらを用いた動物モデルは一つの可能性である⁷⁾。またCre-loxシステムを用い胎児死亡を来さないBMPR2ノックアウトマウスの作成に基づくモデル作成も同様に今後重要である。さらに最近、遺伝性出血性毛細血管拡張症と肺高血圧の合併例で、同じTGFβ superfamilyの受容体であるactivin-receptor-like kinase 1 (ALK1)の遺伝子異常が報告され、今後BMPR2以外の肺高血圧に関わる新たな原因遺伝子追求も重要である¹¹⁾。

高い散発性PPHでの遺伝子異常の頻度とPPH患者家系の遺伝子異常保有者の10~20%のみに発症する事から、BMPR2系に関わるsecond somatic mutation、ないし細胞増殖、生存、細胞死に関わる刺激因子などのトリガーが疾患の発症に必要と推測される。これらの肺血管病変形成に関わる病態についての最近の話題として、Rabinovitchらは、実験的肺高血圧において、serine elastase 阻害剤、Matrix metalloproteinase (MMP) 阻害剤がモノクロタリンによる実験的肺高血圧を完全に回復させ、これは病変に伴う肥大増殖した血管平滑筋にアポトーシスを誘導することによると報告した¹²⁾。またSerine elastaseの転写因子として、AML1が報告され、これはBMPR2の下流で働く転写因子であるsmadと協調して作用する事が知られ、そのクロストークも注目される¹³⁾¹⁴⁾。VoelkelはPAHに見られる叢状病変は、clonalな内皮細胞の増殖であり、TGFβの2型受容体の遺伝子異常(somatic mutations)を同部位に認め、内皮細胞が腫瘍細胞類似の増殖性を有すると報告した^{15)~17)}。さらに同グループは、慢性低酸素暴露ラットモデルにおいて、vascular endothelial growth factor (VEGF)の発現亢進が認められるが、VEGF受容体阻害剤の慢性投与により内皮細胞の

アポトーシスが亢進することにより肺高血圧が進行すると報告し、組織学的にはアポトーシス抵抗性内皮細胞の選択的増殖による肺小動脈の閉塞性病変の進行がその機序として示唆され、ヒトPAHに見られる叢状病変との類似性から注目される¹⁸⁾。

RabinovitchないしVoelkelらの報告する肺高血圧性血管病変における肺血管構成細胞の増殖、細胞死の重要性を示す報告は、本症の治療、遺伝子異常の保因者の発症予防に向けて、BMPが肺血管構成細胞の増殖ないしアポトーシスの調節因子として知られる事と関連した今後の病態研究の新しい道を示唆する。

1990年代に肺高血圧の領域で盛んに研究されてきた血管作動物質の分野で、プロスタサイクリン製剤、エンドセリン受容体阻害薬、NO吸入、NO前駆物質(L-アルギニン)などの内皮由来血管弛緩、収縮物質関連薬剤は臨床応用され、特にプロスタサイクリン持続静注療法が、新生内膜の肥厚、叢状病変に特徴づけられるヒトのPAHの生命予後を改善することが広く認められ、逆にその機序が注目される⁴⁾⁵⁾¹⁹⁾²⁰⁾。この作用機序に関連した最近の話題として、これらの薬剤は血管作動作用以外に、先に述べたエラスターゼの発現、内皮細胞の生存、細胞死と密接に関連することが報告され、それらは血管拡張作用のみならず肺高血圧に伴うリモデリングに直接的に影響を及ぼす点から興味深い¹³⁾²¹⁾。これから2~3年のこの分野の研究の方向性として、内皮機能障害など臨床応用されている治療法を裏付ける仮説と、BMP-BMPR2系の異常、肺血管構成細胞の生死ないしプロテアーゼとの関わりの解明も重要である。

2. 他の疾患に関連して発症するPAH

上述のWHO新分類に示される左右短絡を伴う先天性心疾患、膠原病、門脈圧亢進症、食欲抑制剤など薬物、HIV感染などに関連して発症する肺高血圧は、叢状病変を伴うなど共通の病理学的特徴を伴う「病態の明らかで無い」肺高血圧であり、PPHに類似した臨床像を呈し、プロスタサイクリン製剤などへの治療反応性も類似で、PPHの病態を研究する上でも興味深い¹⁾²²⁾(図1)。

左右短絡を伴う先天性心疾患は、短絡率、血行動態により肺血管病変の進行する年齢は異なる。一般に、完全大血管転位、総動脈幹症では、乳児期早期から進行性肺血管病変の進行が見られ乳児期早期の外科治療を要する。大きい心室中隔欠損、心内膜床欠損でも、乳児期に進行性肺血管病変が見られ、乳児期手術がな

される。二次孔型心房中隔欠損では、成人期までに肺高血圧を伴う例は1%程度であるが、加齢と共に増加し50歳以上で50%を超える。これらの肺高血圧性血管病変の機序は、動物モデル作成が困難であるため、研究業績が少ないが、ヒトでの研究から高肺血流に伴うずり応力増加、高血圧に伴い、NO産生低下、エンドセリン産生亢進の関与が推測される^{23,24)}。さらに、上述のBMPR2の下流の転写因子であるsmadの抑制系としてsmad6が知られ、これはずり応力で活性化され、左右短絡による肺血管病変の病態を考える上で興味深い²⁵⁾。これまで肺高血圧モデルとして、肺血管内皮細胞障害作用を持つモノクロタリン(MCT)投与のラットが知られるが、その肺動脈病変は肺動脈の中膜肥厚、肺小動脈の筋性化のみでヒトのPAHとは異なる。BotneyらはMCTラットで片肺切除ないし左鎖骨下左肺動脈短絡術により対側の肺血流を増加させることによりneointimal lesionを形成することに成功し、MCTによる内皮障害に加え血行力学的変化が重要であると報告し、今後のこの分野の発展も期待される²⁶⁾。

心室中隔欠損、心内膜床欠損、心房中隔欠損の症例の一部は、乳児期早期から進行性肺血管病変を伴い、何らかの遺伝素因が推測され、今後の臨床遺伝学的検討が重要である。現在、ダウン症候群と早期の進行性肺高血圧の合併が知られ、ダウン症候群では、上述のエラスターゼの転写因子AML1を含む第21番染色体上の遺伝子の中で遺伝子容量効果で発現が増強する遺伝子も知られ、今後の検討を要する^{27,28)}。

薬剤に関連するPAHとして、1960年から1970年にかけて欧州で、食欲抑制剤アミノレクス内服に伴い、PPH症例が約10倍に増加し、また1990年代に食欲抑制剤デキシフェンフルラミンの3カ月以上の内服で23倍のPPHの発症率の増加を認めた²⁹⁾。しかし、PPH有病率は1~2/100万人程度であり何らかの遺伝素因の関与も推測された。両者ともセロトニン再取り込み阻害作用を持つことによる局所的セロトニン濃度増加、またカリウムチャネル抑制作用を持つことも知られ、当初直接的な肺高血圧誘発作用を伴うことが疑われた²⁹⁾。我々の検討でもモノクロタリン肺高血圧ラットで、肺高血圧増悪因子であるエラスターゼの活性化作用を認めたが、デキシフェンフルラミン投与はこのモデルラットの肺高血圧と血管病変を逆に抑制した。デキシフェンフルラミンが肺高血圧に抑制的に働く場合、エラスターゼの下流で働く可能性が考えられ、そ

の抑制効果の発現障害がデキシフェンフルラミンに伴うPAHの遺伝的背景である可能性を考えた³⁰⁾。この結果は、上述のBMPR2が細胞増殖抑制系であり、デキシフェンフルラミンによる肺高血圧抑制系として働く可能性があり、デキシフェンフルラミンの作用とBMPR2系の関連性の解明は今後の課題である。

膠原病に合併する肺高血圧の疫学は、日本で1998年に報告され、PAHの発症率は混合性結合組織病(MCTD)で5.02%、全身性エリテマトーデス(SLE)0.9%、強皮症(SSc)2.64%、多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)0.56%で、PPHの有病率が上述の1~2/100万人であり、膠原病患者で合併肺高血圧の頻度は高い³¹⁾。また、門脈圧亢進を伴う肝硬変での肺高血圧の合併率は0.25~0.73%と高く、HIV合併肺高血圧の合併率は0.5%である^{32,33)}。これらの肺高血圧はいずれも、叢状病変を伴いPAHと分類され病態は不明であるが、肺血管の慢性炎症、門脈体静脈短絡による肝網内皮系での循環物質のクリアランス低下、HIV感染による炎症細胞からのサイトカイン、成長因子の産生異常の関与が推測される。しかし、上述の様にこれらの実際の発症率は限られており、何らかの遺伝素因の関与が推定される。従ってこれらの二次的に発症するPAHの研究においても、各々の病態における原因遺伝子の研究の進展が期待され、それに基づき遺伝子改変マウスを用いた病態研究が今後重要と考えられる。

3. 新しい薬物治療、遺伝子治療、細胞治療の可能性

臨床応用の面から、1990年代に肺高血圧の領域で盛んに研究された血管作動物質の研究が最近臨床応用され、いくつかは臨床治験中である。静注用プロスタサイクリン製剤epoprostenolは原発性、二次性PAHに有効性が確認され、1995年FDAから承認され、日本でも1999年に承認された^{4,32)}。経口用プロスタサイクリン製剤beraprostは日本でのuncontrolled studyで臨床指標と予後因子の改善を見ており、現在欧米でphase III治験中である³⁴⁾。吸入用プロスタサイクリン製剤iloprostは、uncontrolled studyで臨床指標に改善を認めており、現在欧米でphase III治験中である³⁵⁾。皮下注製剤プロスタサイクリンuniprost製剤は現在、臨床治験が米国で終了し、その臨床指標の改善が認められ最近FDAで認可された³⁶⁾。またエンドセリンA,B受容体非選択的阻害剤bosentanが、米国でphase IIIが終了しており有効性が確認され、最近FDAで承認された¹⁹⁾。他に一酸化窒素(NO)関連でNO長期吸入、NO前駆物質L-アルギニン、エラスター

ゼ阻害剤が今後の臨床検討が待たれ、前2者に関して preliminary な報告では PAH 患者の臨床指標の改善をみている^{12, 20, 37, 38)}。現在注目されている BMPR 2 の血管生物学、肺循環での血管構成細胞の生と死の細胞生物学が次世代の薬物療法へと結びつく事が予想される(図3)。

さらに、近年動物モデルの研究で、eNOS, iNOS, プロスタサイクリン合成酵素, VEGF, prepro-CGRF 遺伝子導入が実験的肺高血圧の圧と血管病変を抑制したとする報告が相次いでおり、より特異的な治療法となる可能性がある³⁹⁾。また近年血管前駆細胞、間葉系幹細胞移植(遺伝子導入も含めた)が種々の医学領域での治療応用の可能性が示されつつあり、次世代型治療法として今後の発展が期待される⁴⁰⁾⁻⁴²⁾。

まとめ

ポストゲノムの時代のゲノム科学の急速な進歩と臨床側のニーズに基づくトランスレーショナルリサーチの時代と言われる中で、肺高血圧の臨床にも発症前診断、遺伝子異常ないし遺伝子多型に基づく予後診断、個別化医療、予防医学の可能性、分子機序に基づく薬物治療、遺伝子治療、細胞治療の開発が今後重要と考えられる。そのためには、あらたな遺伝子異常の発見など臨床分子遺伝学の一層の進歩と共に「病態解析」が重要である。BMPR 2/ALK 1 の血管生物学は従来なかった領域であり、その発展は肺高血圧研究を進めると共に、成人領域の血管病の理解にも敷衍される可能性がある。その為に遺伝子改変マウスを用いた解析、分子細胞生物学的研究が必須であり、これまでの基礎的、臨床的研究から構築された仮説とのクロストークも重要な研究分野である(図4)。

1990年代の肺高血圧領域においてなされた内皮機能を初めとした血管作動物質関連の血管機能研究が臨床応用が成されつつある現在、肺高血圧研究も収縮、弛緩の生物学から、genotype-phenotype 関連ないし関連疾患、疫学的危険因子と病態形成の関連の研究が今後重要になると考える(図4)。

文献

- 1) Rich S : Primary pulmonary hypertension : executive summary from the world symposium-primary pulmonary hypertension 1998. 1998, World Health Organization : <http://www.who.int/ncd/cvd/pph.html>
- 2) Deng Z, Morse JH, Slager SL, Cuervo N, Moore KJ, Venetos G, Kalachikov S, Cayanis E, Fischer SG, Barst RJ, Hodge SE, Knowles JA : Familial

- primary pulmonary hypertension (gene PPH 1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet* 2000 ; 67 (3) : p 737 744
- 3) Lane KB, Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR, Phillips JA 3rd, Loyd JE, Nichols WC, Trembath RC : Heterozygous germline mutations in BMPR 2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. The International PPH Consortium. *Nat Genet* 2000 ; 26 (1) : p 81 84
 - 4) Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB, Groves BM, Tapson VF, Bourge RC, Brundage BH : A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med* 1996 ; 334 (5) : p 296 302
 - 5) Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapal WM : Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991 ; 83 (6) : p 2038 2047
 - 6) Miyazono K, Kusanagi K, Inoue H : Divergence and convergence of TGF-beta/BMP signaling. *J Cell Physiol* 2001 ; 187 (3) : p 265 276
 - 7) Beppu H, Kawabata M, Hamamoto T, Chytil A, Minowa O, Noda T, Miyazono K : BMP type II receptor is required for gastrulation and early development of mouse embryos. *Dev Biol* 2000 ; 221 (1) : p 249 258
 - 8) Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR, Lane KB, Morgan NV, Wheeler L, Phillips JA 3rd, Newman J, Williams D, Galie N, Manes A, McNeil K, Yacoub M, Mikhail G, Rogers P, Corris P, Humbert M, Donnai D, Martensson G, Tranebjaerg L, Loyd JE, Trembath RC, Nichols WC : BMPR 2 haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension. *Am J Hum Genet* 2001 ; 68 (1) : p 92 102
 - 9) Thomson JR, Machado RD, Pauciulo MW, Morgan NV, Humbert M, Elliott GC, Ward K, Yacoub M, Mikhail G, Rogers P, Newman J, Wheeler L, Higenbottam T, Gibbs JS, Egan J, Crozier A, Peacock A, Allcock R, Corris P, Loyd JE, Trembath RC, Nichols WC : 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 (10) : p 741 745

- 10) Newman JH, Wheeler L, Lane KB, Loyd E, Gaddipati R, Phillips JA 3rd, Loyd JE : 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 (5) : p 319 324
- 11) Trembath RC, Thomson JR, Machado RD, Morgan NV, Atkinson C, Winship I, Simonneau G, Galie N, Loyd JE, Humbert M, Nichols WC, Morrell NW, Berg J, Manes A, McLaughlin J, Pauculo M, Wheeler L : Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med* 2001 ; 345 (5) : p 325 334
- 12) Cowan KN, Heilbut A, Humpl T, Lam C, Ito S, Rabinovitch M : Complete reversal of fatal pulmonary hypertension in rats by a serine elastase inhibitor. *Nat Med* 2000 ; 6 (6) : p 698 702
- 13) Mitani Y, Zaidi SH, Dufourcq P, Thompson K, Rabinovitch M : Nitric oxide reduces vascular smooth muscle cell elastase activity through cGMP-mediated suppression of ERK phosphorylation and AML 1 B nuclear partitioning. *FASEB J* 2000 ; 14 (5) : p 805 814
- 14) Leboy P, Grasso-Knight G, D'Angelo M, Volk SW, Lian JV, Drissi H, Stein GS, Adams SL : Smad-Runx interactions during chondrocyte maturation. *J Bone Joint Surg Am* 2001 ; 1 (Pt 1) : p S 15 S 22
- 15) Lee SD, Shroyer KR, Markham NE, Cool CD, Voelkel NF, Tudor RM : Monoclonal endothelial cell proliferation is present in primary but not secondary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 1998 ; 101 (5) : p 927 934
- 16) Yeager ME, Halley GR, Golpon HA, Voelkel NF, Tudor RM : Microsatellite instability of endothelial cell growth and apoptosis genes within plexiform lesions in primary pulmonary hypertension. *Circ Res* 2001 ; 88 (1) : p E 2 E 11
- 17) Geraci MW, Moore M, Gesell T, Yeager ME, Alger L, Golpon H, Gao B, Loyd JE, Tudor RM, Voelkel NF : Gene expression patterns in the lungs of patients with primary pulmonary hypertension : a gene microarray analysis. *Circ Res* 2001 ; 88 (6) : p 555 562
- 18) Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Alger L, Hirth P, Mc Mahon G, Waltenberger J, Voelkel NF, Tudor RM : Inhibition of the VEGF receptor 2 combined with chronic hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension. *FASEB J* 2001 ; 15 (2) : p 427 438
- 19) Channick RN, Simonneau G, Robbins I, Tapson V, Frost A, Badesch DB, Bodin F, Roux SP : Bosentan, a dual endothelin receptor antagonist, improves exercise capacity and hemodynamics in patients with pulmonary arterial hypertension : Results of a double blind, randomized, placebo-controlled trial. *Circulation (Suppl II)* 2000 ; 102 (18) : p 100
- 20) Nagaya N, Oya H, Sakamaki F, Kyotani S, Nakanishi N, Miyatake K : Effects of oral L-arginine on hemodynamics and exercise capacity in patients with pulmonary hypertension. *Circulation (Suppl II)* 2000 ; 102 (18) : p 273
- 21) Zachary I : Signaling mechanisms mediating vascular protective actions of vascular endothelial growth factor. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001 ; 280 (6) : p C 1375 1386
- 22) Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD, Brundage BH, Rubin LJ, Wigley FM, Rich S, Barst RJ, Barrett PS, Kral KM, Jobsis MM, Loyd JE, Murali S, Frost A, Girgis R, Bourge RC, Ralph DD, Elliott CG, Hill NS, Langleben D, Schilz RJ, McLaughlin VV, Robbins IM, Groves BM, Shapiro S, Medsger TA Jr : Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary hypertension due to the scleroderma spectrum of disease. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2000 ; 132 (6) : p 425 434
- 23) Celermajer DS, Cullen S, Deanfield JE : Impairment of endothelium-dependent pulmonary artery relaxation in children with congenital heart disease and abnormal pulmonary hemodynamics. *Circulation* 1993 ; 87 (2) : p 440 446
- 24) Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, Saito Y, Matsumura M, Ueda T, Temma S, Shirakami G, Imura H, Mikawa H : Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. Evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation. *Circulation* 1991 ; 84 (6) : p 2280 2285
- 25) Topper JN, Cai J, Qiu Y, Anderson KR, Xu YY, Deeds JD, Feeley R, Gimeno CJ, Woolf EA, Tayber O, Mays GG, Sampson BA, Schoen FJ, Gimbrone MA Jr, Falb D : Vascular MADs : two novel MAD-related genes selectively inducible by flow in human vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 (17) : p 9314 9319
- 26) Botney MD : Role of hemodynamics in pulmonary vascular remodeling : implications for primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit*

- Care Med 1999 ; 159 (2) : p 361 364
- 27) Suzuki K, Yamaki S, Mimori S, Murakami Y, Mori K, Takahashi Y, Kikuchi T : Pulmonary vascular disease in Down 's syndrome with complete atrio-ventricular septal defect. *Am J Cardiol* 200 ; 86 (4) : p 434 437
- 28) Groner Y : Transgenic models for chromosome 21 gene dosage effects. *Prog Clin Biol Res* 1995 ; 393 : p 193 212
- 29) Voelkel NF, Clarke WR, Higenbottam T : Obesity, dexfenfluramine, and pulmonary hypertension. A lesson not learned? *Am J Respir Crit Care Med* 1997 ; 155 (3) : p 786 788
- 30) Mitani Y, Rabinovitch M : Influence of nitric oxide and dexfenfluramine on vascular elastase in experimental pulmonary hypertension. *Circulation* 1998 ; 98 (17) : p 341
- 31) 東条 毅 : 膠原病四疾患における肺高血圧の頻度に関する全国疫学調査 . 厚生省特定疾患皮膚結合組織疾患調査研究班混合性結合組織病分科会 , 平成 10 年度研究報告書 , 1999, p 3 6
- 32) Hadengue A, Benhayoun MK, Lebrec D, Benhamou JP : Pulmonary hypertension complicating portal hypertension : prevalence and relation to splanchnic hemodynamics. *Gastroenterology* 1991 ; 100 (2) : p 520 p 528
- 33) Mesa RA, Edell ES, Dunn WF, Edwards WD : Human immunodeficiency virus infection and pulmonary hypertension : two new cases and a review of 86 reported cases. *Mayo Clin Proc* 1998 ; 73 (1) : p 37 34
- 34) Nagaya N, Uematsu M, Okano Y, Satoh T, Koytani S, Sakamaki F, Nakanishi N, Miyatake K, Kunieda T : Effect of orally active prostacyclin analogue on survival of outpatients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1999 ; 34 (4) : p 1188 1192
- 35) Olschewski H, Ghofrani HA, Schmehl T, Winkler J, Wilkens H, Hoper MM, Behr J, Kleber FX, Seeger W : Inhaled iloprost to treat severe pulmonary hypertension. An uncontrolled trial. German PPH Study Group. *Ann Intern Med* 2000 ; 132 (6) : p 435 443
- 36) Barst RJ, SG, Rich S, Blacjburn SD, Naeije R, Rubin LJ : Efficacy and safety of chronic subcutaneous infusion of UT-15 in pulmonary arterial hypertension (PAH) *Circulation* 2000 ; 102 (11) : p 100 101
- 37) Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, Williams PJ, Auger WR, Fedullo PF, Moser KM : Pulsed delivery of inhaled nitric oxide to patients with primary pulmonary hypertension : an ambulatory delivery system and initial clinical tests. *Chest* 1996 ; 109 (6) : p 1545 1549
- 38) Mitani Y, Maruyama K, Sakurai M : Prolonged administration of L-arginine ameliorates chronic pulmonary hypertension and pulmonary vascular remodeling in rats. *Circulation* 1997 ; 96 (2) : p 689 697
- 39) Setoguchi Y, Fukuchi Y : [Gene therapy for pulmonary hypertension]. *Nippon Rinsho* 1996 ; 59 (6) : p 1151 1158
- 40) Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, Ogawa M, Nishikawa S, Yurugi T, Naito M, Nakao K, Nishikawa S : Flk 1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature* 2000 ; 408 (6808) : p 92 96
- 41) Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI : The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs* 2001 ; 169 (1) : p 12 20
- 42) Gojo S, Gojo N, Fukuda K, Hata J, Kyo S, Umezawa A : Bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation into the pulmonary vasculature after gene modification. *Circulation (Suppl II)* 2000 ; 102 (18) : p 101

The outlook for pulmonary hypertension research after the gene discovery
A new paradigm of the understanding and treatment

Yoshihide Mitani

Department of Pediatrics, Mie University School of Medicine,
2-174 Edobashi Tsu city, Mie pref, 514-8507, Japan

Identification of germline mutations of bone morphogenetic protein receptor type 2 in familial primary pulmonary hypertension in 2000 is a historic landmark in the scientific research works of pulmonary hypertension. This discovery correlates the clinics of pulmonary hypertension to the molecular genetics, and thereby heralds the avenue toward preclinical diagnosis and preventive medicine. In addition, research work related to molecular mechanisms underlying pulmonary hypertension is accelerated for more appropriate target identification.

To the end, research work related to pathobiology is essential, in addition to further progress of clinical molecular genetic approaches. Vascular biology of BMPR 2 is a new field in the research of pulmonary hypertension, in which approaches using mutant mice and cellular and molecular biology are required. The crosstalk between BMPR 2 gene defect, endothelial dysfunction and proteinase abnormalities is a promising field of future research.

As the research works performed in 1990's, related to pulmonary endothelial dysfunction, have been applied into clinical trials, subcutaneous infusion of PGI₂ and oral endothelin receptor antagonist, followed by intravenous infusion of PGI₂, are in fact approved by FDA for clinical use. Paradigm of research strategy in pulmonary hypertension may shift from vasomotor function related with constriction/dilatation imbalance, to the genotype/phenotype association and pathobiology related with epidemiological risk factors/diseases predisposing to pulmonary hypertension. This shift of the paradigm may contribute to more appropriate target identification toward novel therapeutics of pulmonary hypertension.
