

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09105

研究課題名(和文)冠れん縮性狭心症の酸化ストレスに影響を及ぼす新たな危険因子の特定

研究課題名(英文) Identification of a new risk factor related to oxidative stress of vasospastic angina pectoris

研究代表者

河合 康幸 (KAWAI, Yasuyuki)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40324157

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： グルタミン酸が、冠攣縮性狭心症の危険因子となり得るかを検証した。冠攣縮性狭心症が疑われた92人の患者を対象とした。冠攣縮が誘発された55人を冠攣縮群、誘発されなかった37人をコントロール群とした。血漿グルタミン酸濃度は両群で有意差を認めなかったが、非喫煙者においては、コントロール群(n=25)に比べ、冠攣縮群(n=31)で有意に高値であった。これらの結果からグルタミン酸は、非喫煙者において抗酸化作用減弱による間接的な酸化ストレスにより血管内皮機能障害を惹起し、冠攣縮性狭心症に進展させる危険因子であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)： We investigated whether glutamic acid could be a risk of vasospastic angina pectoris (VSAP). Ninety-two consecutive patients suspected of having VSAP. All patients were performed diagnostic coronary angiography and the intracoronary acetylcholine provocation test. Fifty-five patients were provocation test positive (VSAP group), and 37 patients were negative (Control group).

There were no significant differences between the two groups in the levels of glutamic acid. As it has been well known that smoking is one of the major risk factor of VSAP, we compared the levels of plasma glutamic acid in the non-smokers. In non-smoker patients, the levels of plasma glutamic acid in the VSAP group were significant higher than those in the control group.

Plasma glutamic acid was significantly higher in non-smoker patients with VSAP than in non-smoker control patients, suggesting that plasma glutamic acid could be a risk factor of VSAP in non-smokers and contribute to the development of VSAP.

研究分野：循環器内科学

キーワード：冠攣縮 グルタミン酸 シスチン 内皮機能障害 抗酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

冠攣縮性狭心症 (VSMC) は、安静時、特に夜間や早朝に胸痛を自覚することが特徴で、有意な器質的狭窄が異常に収縮すること (冠攣縮により、一過性に心筋虚血を生じ、しばしば青壮年に急性心筋梗塞や突然死を引き起こす、社会的にも極めて重要な疾患である。

これまで冠攣縮は、高血圧、高脂血症、糖尿病、喫煙などの動脈硬化促進因子により発生した酸化ストレスによって、冠動脈の血管内皮が障害されることがその一因と考えられている。しかしながら動脈硬化促進因子以外にも酸化ストレスを惹起する疾患危険因子が存在する。これまで我々は、心房細動患者においてアミノ酸の一つであるグルタミン酸が血漿中で高値であることを見出し、初めて心疾患とグルタミン酸の関連を臨床的に明らかにした。通常グルタミン酸は、グルタミン酸受容体 (NMDA-R) に結合すると NO が発生し血管は拡張するが、虚血時には、血管内皮細胞において活性酸素が増加し、グルタミン酸による NO が、活性酸素と反応することで強力な酸化作用を持つ peroxynitrite が増加し、血管内皮機能障害を引き起こす可能性があり、グルタミン酸が、VSAP の危険因子になり得ることが想定された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、VSAP 患者において血漿グルタミン酸濃度と peroxynitrite によって産生される酸化ストレスマーカーの一つである nitrotyrosine (NT) 濃度の関連を検討し、グルタミン酸が NT に関与する VSAP の栄養学的危険因子であることを明らかにすることである。

3. 研究の方法

92 人の VSAP が疑われた患者を対象とした。すべての患者に対して冠動脈造影を行い、冠動脈に器質的有意狭窄を認めないことを確認後、アセチルコリン負荷試験 (冠攣縮誘発試験) を行った。55 人の患者で冠攣縮が誘発され Spasm 群とした。37 人の患者では冠攣縮は誘発されず Control 群とした。すべての患者で血漿グルタミン酸濃度および NT 濃度が測定された。血漿グルタミン酸は、Liquid Chromatography / Mass Spectrometry 法で、NT は、高感度の時間-分解蛍光イムノアッセイで測定した。本研究は、本学倫理委員会で承認され、患者に十分な説明後、文章で同意を得た。

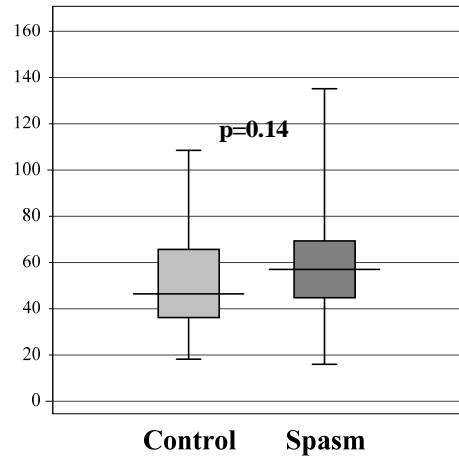
4. 研究成果

患者背景では、年齢、性別、高血圧、糖尿病などの冠危険因子罹患、コレステロール値、腎機能において両群間で有意差は認められなかった。

次に血漿グルタミン酸濃度を測定したと

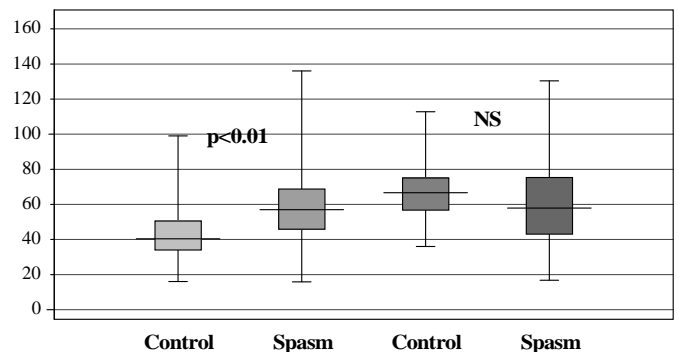
ころ、血漿グルタミン酸濃度は、両群間で有意差を認めなかった。(図 1)

血漿グルタミン酸濃度 (nmol/ml) 図 1



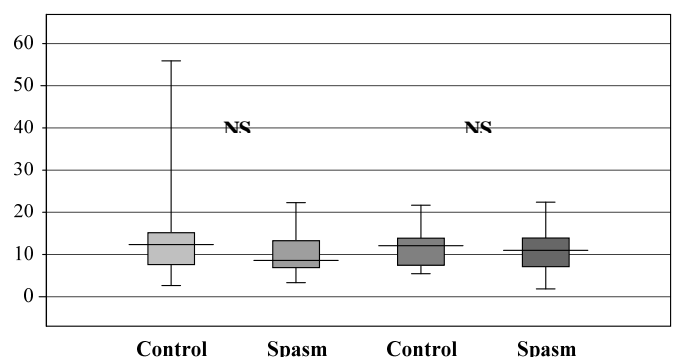
喫煙が VSAP の主要な危険因子の一つであるため、非喫煙者において血漿グルタミン酸濃度を比較したところ、Spasm 群が Control 群に比べ有意に高値であった (n=31 58.0 ± 25.5 mol/ml vs n=25 44.0 ± 17.8 P<0.01)。(図 2)

血漿グルタミン酸濃度 (nmol/ml) 非喫煙者 喫煙者 図 2



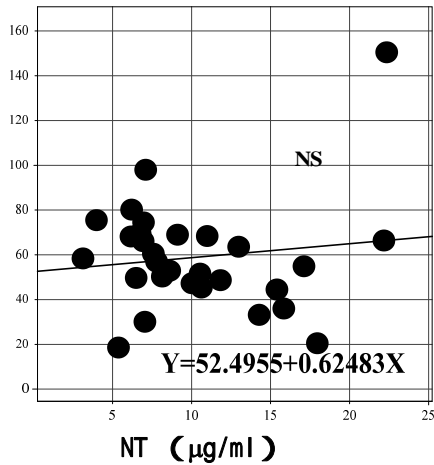
次に、非喫煙者において NT 濃度を比較したところ 2 群間で有意差を認めなかった。(図 3)

血漿 NT 濃度 (µg/ml) 非喫煙者 喫煙者 図 3



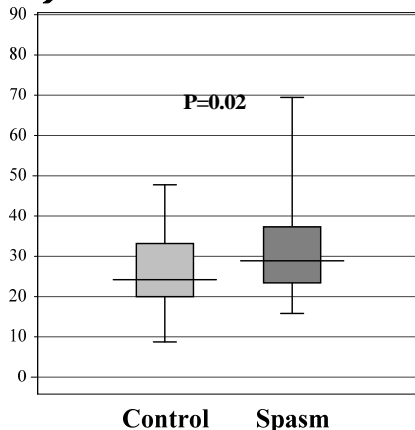
さらに、非喫煙者の Spasm 群において血漿グルタミン酸濃度と NT 濃度の相関を調べたところやはり有意な相関を認めなかった。(図 4)

血漿グルタミン酸濃度 (nmol/ml) **図 4**



そこでグルタミン酸は、酸化ストレスではなく、抗酸化作用を介して冠攣縮の進展に関与していると仮説をたてた。システインは、抗酸化作用を発揮するグルタチオン合成に必要なアミノ酸である。血管内皮細胞において酸化型システインであるシスチンがグルタミン酸と競合して Xc-transport を介して細胞内に取り込まれるため、血漿シスチン濃度を測定したところすべての患者において Spasm 群がコントロール群に比べ有意に高値であった (32 ± 20 nmol/ml vs 24 ± 21 nmol/ml, $P=0.02$)。(図 5)

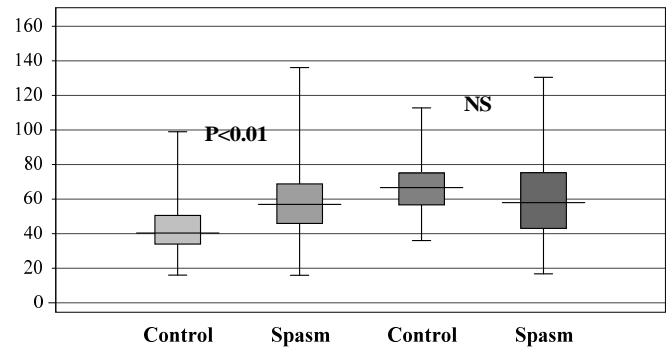
血漿シスチン濃度 (nmol/ml) **図 5**



さらに全患者を非喫煙者 (N=56) と喫煙者 (N=36) にわけて検討したところ、喫煙者では、Spasm 群と Control 群で血漿シスチン濃度に有意差を認めなかったが、非喫煙者においては、血漿シスチン濃度は Spasm 群 (N=31) が Control 群 (N=25) に比べて有意に高値で

あった。(図 6)

血漿シスチン濃度 (nmol/ml) **非喫煙者** **喫煙者** **図 6**



これらの結果から、グルタミン酸は、非喫煙者において、NMDA-R を介する直接的な酸化ストレス亢進ではなく、シスチン増加が引き起こした抗酸化作用減弱によって間接的な酸化ストレス効果増強により血管内皮機能障害を惹起し、冠攣縮性狭心症に進展させる危険因子であることが示唆された。(図 7)

図 7

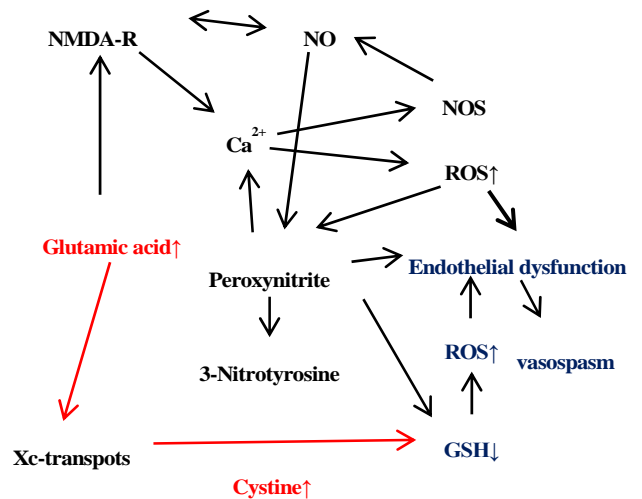


図 7: NMDA-R (グルタミン酸受容体) NO (一酸化窒素)、ROS (活性酸素) NOS (NO 合成酵素) Xc-transport (シスチン/グルタミン酸輸送系)、GSH (グルタチオン) 赤字は今回の結果、青字は仮説。

今後の課題として、GSH の低下と NT 以外の ROS の増加を明らかにする。また外因性のグルタミン酸が血中グルタミン酸濃度を上昇させるかは不明だが、東洋人のグルタミン酸ナトリウム過剰摂取が、欧米人に比して冠攣縮性狭心症の罹患率が高い一因かもしれず、疫学的な研究が必要である。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

Minako Oda, Kousuke Fujibayashi, Minoru Wakasa, Yasuyuki Kawai, Kouji Kajinami. Glutamic acid as a risk factor of vasospasm in non-smoker. The 82th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 2018.

Yuushi Yasuda, Wataru Fujita, Kousuke Fujibayashi, Minoru Wakasa, Yasuyuki Kawai, Katuaki Sato, Masayoshi Takeuchi, Hiroaki Nakanishi, Kouji Kajinami. Glycer-AGEs is associated with the severity of cardiac function of diabetic cardiomyopathy. ESC congress 2017.

6. 研究組織

(1)研究代表者

河合 康幸 (KAWAI, Yasuyuki)
金沢医科大学・医学部・准教授
研究者番号：40324157

(2)研究分担者

藤林 幸輔 (FUJIBAYASHI, Kousuke)
金沢医科大学・医学部・助教
研究者番号：10633323

中西 宏明 (NAKANISHI, Hiroaki)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：90392274