

令和元年6月10日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09426

研究課題名(和文)末梢血単核球膜型マトリックス分解酵素発現を用いた冠動脈イベントリスクの層別化

研究課題名(英文) Stratification of coronary event risk using membrane type matrix metalloproteinase expression on peripheral blood mononuclear cell

研究代表者

宇隨 弘泰 (UZUI, HIROYASU)

福井大学・学術研究院医学系部門・准教授

研究者番号：50313763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：冠動脈病変の異なる病態におけるMT1-MMP発現を評価するため、急性心筋梗塞、不安定狭心症、陳旧性心筋梗塞、安定した労作性狭心症のそれぞれの患者において計測を行った。病態の違いにおける、MT1-MMP発現の違いも見られ、特に急性冠症候群とされる急性心筋梗塞、不安定狭心症の患者群では他の冠動脈疾患群と比較して有意に高い発現となっている。また、CTより得られるLow-HU値とMT1-MMP発現の間に急性冠症候群においては相関の傾向がみられている。イベント発症の誘因となる冠動脈プラークの不安定化とMT1-MMP発現の関与が強いことが導き出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心血管疾患発症メカニズムや、何をその発症のマーカーにするかは不明な点が多い。動脈硬化巣における細胞外マトリックス分解亢進が、直接プラークの脆弱化を生み、心血管イベント発症の要因の一つとされている。今回の研究において、細胞外マトリックスを分解する酵素(マトリックスメタロプロテアーゼ：MMPs)制御に関わる膜型MMP(MT-MMPs)発現に着目し、MT1-MMPの計測法を新しく見出し、動脈硬化病変との関連性を検討した。冠動脈イベント高リスクである食後高血糖患者に対しMT1-MMP発現と、不安定プラークの存在を評価し、MT1-MMP計測が冠動脈病変発症の予見予測に対し有用であることが明確になった。

研究成果の概要(英文)：Patients with type 2 diabetes were enrolled in this study. All subjects underwent computed tomography to analyze the plaque characteristics. Serum and circulating peripheral blood mononuclear cells (PBMNCs) were prepared from fasting blood sample. The prevalence of vulnerable plaque was 43% of subjects. MT1-MMP expression on PBMNCs in all patients with PPH was significantly elevated in cases compared to controls. In patients with vulnerable plaque, MT1-MMP expression was higher than that in without vulnerable plaque. Furthermore, in multivariate analysis, increase of MT1-MMP expression on PBMNCs was independently related to the incidence of vulnerable plaque. The elevated MT1-MMP expression on PBMNCs is associated the existence of vulnerable plaque in type 2 diabetic patients with postprandial hyperglycemia. These finding suggested that the measurement of MT1-MMP on PBMNCs may become a new predictor of vulnerable plaque in postprandial hyperglycemia state.

研究分野：動脈硬化

キーワード：プラーク破綻 細胞外マトリックス分解酵素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性冠症候群発症の70~80%は、動脈硬化巣の線維性被膜(fibrous cap)損傷による冠動脈プラーク破綻により発症する。破綻しやすい動脈硬化プラークは、通常主として平滑筋細胞で構成されている fibrous cap が薄く、脂質コアおよびマクロファージに富むプラークである。血管壁や血管内の流血中に炎症が存在すると破綻が促進される。さらに、プラークでも特に易破綻部位とされるシオルダー領域にはマクロファージが多く存在しており、線維性被膜などの細胞外マトリックスを選択的に分解する酵素、細胞外マトリックス分解酵素 Matrix Metalloproteinases (MMPs) の局所産生、および活性化を引き起こし、これらがコラーゲン被膜の脆弱化をより促進させる。

MMPs の制御が冠動脈疾患発症抑制に大きく関与すると考えられ、その特異的阻害因子(MMP inhibitor)の薬剤開発がなされたが、健康組織、特に腱への悪影響のため臨床利用ができない状況である(Uzui et al. Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2002)。そこで、内因性の制御因子のひとつである膜型細胞外マトリックス分解酵素(MT-MMPs)が注目された。この酵素発現が冠動脈プラークに見られることが多く報告され、申請者たちも MT1-MMP がヒト冠動脈プラークに強く発現していることを報告した(Uzui et al. Circulation. 2002)。この酵素のノックアウトにより動脈硬化の進展予防も動物モデルにおいて報告されている。しかし、この酵素は、細胞膜表面に発現しているため生体サンプルにおいて測定することが困難とされ、核医学標識法が動物モデルにおいて報告されている。これらも解像度が低く病態の把握には難があった。申請者は、ヒト流血中の単核球を採取しその細胞表面に MT1-MMP の発現状態をフローサイトメトリー法を用いて評価することを見いだした(Uzui et al. J Diabetes Invest. 2011)。

2. 研究の目的

上記の背景およびこれまでの研究成果をもとに、本研究はヒト流血単核球表面 MT1-MMP 発現と動脈硬化巣のプラーク状況との関連を解明し、MT1-MMP 発現を利用した動脈硬化疾患の病態層別診断方法や、治療によるプラーク安定化の示標に有用かを検討する。研究期間内には以下のことを明らかにする。

- (1) 冠動脈疾患患者、特に不安定プラーク破綻がその主な成因である急性冠症候群(不安定狭心症)患者における流血中単核球表面 MT1-MMP 発現を計測する。安定狭心症や陳旧性心筋梗塞患者と比較する。
- (2) 冠動脈の高いリスクとされる糖尿病、高脂血症、高血圧症を持つ患者における MT1-MMP 計測する。特にリスクの高いとされる食後高血糖タイプの糖尿病においては炎症や酸化マーカーなど他のサロゲートマーカーとの関連を解明する。
- (3) 冠動脈動脈硬化巣プラークの形態を多列検出器コンピュータ断層撮影(MDCT)を用い、プラークの性状を詳細に観察し、MT1-MMP 発現との関連性を明確にする。
- (4) 冠動脈発症高リスク患者に対する薬剤介入による MT1-MMP 変動とプラーク形態の変化を比較検討する。
- (5) MT1-MMP の計測値、他のサロゲートマーカーの値を用いることにより、動脈硬化プラークの“不安定度”の層別化確立と、さらには末梢血単核球における選択的に発現される MT1-MMP の検出による動脈硬化不安定化血清診断マーカーとなりうるかを検討することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 冠動脈疾患患者における MT-MMP 計測。

冠動脈疾患患者から末梢流血を全血フローサイトメトリー法で単核球表面 MT1-MMP 発現(Uzui et al. J Diabetes Invest. 2011)を評価する。

文書同意を取得後に冠動脈疾患患者、特に不安定プラーク破綻がその主な成因である急性冠症候群(不安定狭心症)と、プラーク安定が予想される安定狭心症や陳旧性心筋梗塞患者を対象に単核球表面 MT1-MMP 発現を計測し、冠疾患別における発現とプラークの不安定性との関連があるかを検討する。

冠疾患を持たない患者においても発現を測定し、冠動脈疾患患者の発現程度と比較し、計測のサロゲートマーカーとしての妥当性があるかを評価する。

急性冠症候群患者は、冠動脈形成術施行時には冠動脈内超音波検査あるいは光干渉断層法(Optical Coherence Tomography; OCT)を同時に施行するため、冠動脈内プラークの線維性被膜の厚さや内部が詳細に観察可能となる。そのデータと MT1-MMP 発現とに有意な関連がないかを評価する。

- (2) 冠動脈リスクの高い患者における MT-MMP 計測。

上記同様に文書同意を得た、冠動脈リスクが高いとされる糖尿病、高脂血症、高血圧症を持つ患者における MT-MMP を計測し、疾患の別、リスクの数による発現に違いがあるかを検討する。

さらにリスクが高いとされる食後高血糖タイプの糖尿病においては炎症や酸化マーカーなど他のサロゲートマーカーとの関連を評価する。測定項目としては従来からサロゲートマーカーとして指摘されている血清中の高感度 CRP、pentraxin3、MMP-9、MMP-2 の測定を ELISA 法を用いて行い、従来の糖尿病コントロール指標である HbA1c、食後高血糖状態を反映する検査値 1,5-アンヒドロ-D-グルシト(1,5AG)と流血中単核球 MT1-MMP 発現との関連を評価する。また糖尿病罹患期間などの患者背景、他のリスクファクターの程度についても調査を行う。

- (3)MT-MMP 発現と冠動脈動脈硬化巣プラークの形態の関連を、特に高リスク患者とされる食後高血糖状態を呈する糖尿病患者にて冠動脈 CT を用い解析。

上記 MT1-MMP 発現を計測した時期に、冠動脈動脈硬化巣プラークの形態を多列検出器コンピュータ断層撮影(MDCT)を用い、プラークの性状を詳細に観察し、MT1-MMP 発現との関連性を明確にする。

MDCT における不安定プラーク陽性基準は過去の報告より()冠動脈血管病変部の血管径拡大(positive remodeling)()プラークの中の低いCT値(low HU)()プラーク内の小さな石灰化(spotty calcification)としてスコア化する。

患者に同時期に被験者背景因子(性別、年齢、身長、体重、BMI、合併症、喫煙の有無)血清 MMP-2、MMP-9、HbA1c、血清インスリン、血清脂質、血圧値、脈拍、クレアチニン、尿中マイクロアルブミン、高感度 CRP、ペントラキシン(PTX3)の計測を行う。

- (4)高リスク患者における薬剤介入による MT-MMP 変動を評価。

MT1-MMP の高発現がみられる患者群に対する薬剤介入により、その発現が変動するかを確認し治療効果の判定に利用可能かを検討する。

対象患者群における薬剤介入、特に食後高血糖改善薬(グルコシダーゼ阻害薬、速効型インスリン分泌促進薬、ジペプチジルペプチターゼ(DPP)IV 阻害薬)の投与、食事療法、運動リハビリの有無による末梢血流血中単核球表面の MT1-MMP の発現の変化を観察し、さらには、上記(3)で計測した各種計測項目との関連を評価する。

薬剤介入による MT1-MMP 発現の長期的な影響に関してや、薬剤の効果判定に利用可能かについて検討する。

上記薬剤介入前後における MDCT による冠動脈不安定プラークの画像の変化を観察し、形態学的変化も同時に評価する。

- (5)冠動脈リスクの層別化のためのスコアリング。

本研究から得られるデータを用いて、冠動脈イベントリスクを層別化するためのスコア化が可能かを、多変量解析手法を用いた評価により検討を行う。さらに、薬剤介入の種類や期間によりスコアの改善が可能かも検討する。

急性冠症候群患者来院時に、このスコアリングを行い、冠動脈内超音波検査あるいは光干渉断層法による冠動脈性状との比較により、今回のスコア化が妥当かを検討していく。

4. 研究成果

冠動脈病変の異なる病態における MT1-MMP 発現を評価するため、急性心筋梗塞、不安定狭心症、陳旧性心筋梗塞、安定した労作性狭心症のそれぞれの患者において計測を行った。病態の違いにおける、MT1-MMP 発現の違いも見られ、特に急性冠症候群とされる急性心筋梗塞、不安定狭心症の患者群では他の冠動脈疾患群と比較して有意に高い発現となっている。また、CT より得られる Low-HU 値と MT1-MMP 発現の間に急性冠症候群においては相関の傾向がみられている。イベント発症の誘因となる冠動脈プラークの不安定化と MT1-MMP 発現の関与が強いことが導き出された。

心血管疾患発症メカニズムや、何をその発症のマーカーにするかは不明な点が多い。動脈硬化巣における細胞外マトリックス分解亢進が、直接プラークの脆弱化を生み、心血管イベント発症の要因の一つとされている。今回の研究において、細胞外マトリックスを分解する酵素(マトリックスメタロプロテアーゼ:MMPs)制御に関わる膜型 MMP(MT-MMPs)発現に着目し、MT1-MMP の計測法を新しく見出し、動脈硬化病変との関連性を検討した。冠動脈イベント高リスクである食後高血糖患者に対し MT1-MMP 発現と、不安定プラークの存在を評価し、MT1-MMP 計測が冠動脈病変発症の予見予測に対し有用であることが明確になった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 清水智弘、宇隨弘泰 Usefulness of Flash Glucose Monitoring System in Patients with Acute Myocardial Infarction 日本循環器学会学術集会 2019 年

2. 宇隨弘泰 Glucose Variability in Morning and Evening Blood Pressure 日本循環器学会学術集会 2019 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。