

令和元年6月13日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19421

研究課題名(和文)大動脈解離の新規バイオマーカー開発とその治療応用

研究課題名(英文)Development of novel biomarkers for aortic dissection and their therapeutic application.

研究代表者

藤田 大司(FUJITA, Daishi)

自治医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20741200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈解離の診断と定期検査は主にCT検査を行うが、それに代わる血液検査項目の開発・実証を目指した。本研究では慢性炎症に注目し、大動脈解離のヒト症例において血中インターロイキン6(IL-6)や単球走化性促進因子(MCP-1)を測定した。MCP-1に関しては、大動脈解離の状態や大動脈の直径とはあまり関連がなかった。大動脈解離の慢性期に大動脈拡大をきたした症例でのIL-6の上昇は軽度ではあるものの、IL-6は解離した大動脈部分の直径と緩やかに正相関する傾向があった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈解離は、全身を回る血液が通る一番太い血管である大動脈に突然傷が出来る病気であり、命に係わる重大な疾患の一つである。その診断や発症後の定期検査にはCTが行われるが、血液検査でそれを補うあるいは代替することは、放射線被曝や医療費負担の観点からも大変に理想的なことである。またその血液検査項目が見つければ、治療薬の開発にもつながる。本研究では、インターロイキン-6がある程度大動脈の大きさに関係していることは示せたが、実際の医療現場での実用化にはさらなる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：Computed tomography is mainly used to diagnose and examine aortic dissection. This study focused on inflammation and aimed to develop novel blood biomarkers that would be useful in diagnosis and management of aortic dissection. Blood samples from patients with aortic dissection were used to measure Interleukin-6 (IL-6) and Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1). MCP-1 did not exhibit association with aortic dissection status nor aortic diameter. Although IL-6 did not show significant elevation despite enlargement of aortic diameter in patients with chronic aortic dissection, IL-6 was slightly associated with aortic diameter.

研究分野：循環器内科

キーワード：大動脈解離 バイオマーカー 慢性炎症

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大動脈解離は大動脈の血管壁に突然亀裂が生じる病態であり、現代においてもなお時には致死となる重篤な疾患である。喫煙や高血圧が発症危険因子であることは知られているものの、その発症メカニズムは完全には解明されておらず、事前に発症を予測することは不可能である。治療の原則としては、上行大動脈に解離のある Stanford A 型解離の場合には可及的速やかに人工血管へ置き換える手術が選択され、弓部大動脈以遠に解離のある Stanford B 型の場合にはまずは安静と降圧治療を選択される。ただし、解離を生じたことにより血流障害を生じた場合や解離した大動脈が急速に瘤化した場合には、同部分の人工血管置換術が選択される。残念ながら、解離した大動脈血管壁を修復するような薬物治療は存在しない。

大動脈解離の診療には CT 検査が欠かせない。急性期の診断のみならず、残存した解離部の状態変化・瘤化の有無を確認するために、発症後長期にわたり定期的に検査を受ける必要がある。頻回かつ長期にわたる CT 検査による被曝量や医療費負担は決して無視できない。そのため、CT 検査に代わって大動脈の状態把握を可能にするような血液バイオマーカーの開発が精力的に進められてきた。これらのバイオマーカーは大動脈解離の診断やその後の瘤化のフォローアップに有用となるだけでなく、大動脈壁を直接的に修復するような治療薬のターゲットとなることが期待される。

近年、大動脈疾患の発症に慢性炎症が関与していることがマウスを用いた実験や、ヒト大動脈壁を用いた研究で示されている。インターロイキン-6 は炎症性サイトカインの一種であり、これをノックアウトすると大動脈瘤のモデルマウスで大動脈瘤の発生が抑制されたり、ヒトの組織での解析において胸部大動脈瘤の発生に関与したりしていることが報告されている^{1,2}。また、筆者らは大動脈解離のモデルマウスにおいても、解離の発症の過程にインターロイキン-6 が関与していることを報告した³。インターロイキン-6 は関節リウマチやキャッスルマン病の病態に関与していることが示されており、抗インターロイキン-6 受容体阻害薬はこれらの疾患の治療薬として既に実用化されている。大動脈解離の発症や病態にインターロイキン-6 が関与していることがより明らかになれば、すでに実用化されている抗インターロイキン-6 受容体阻害薬を治療として応用することも期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、実際のヒトの大動脈解離・大動脈瘤症例において、病態にインターロイキン-6 およびその関連系が関与していることを実証することを目的とした。また、研究が進めば抗インターロイキン-6 受容体阻害薬の治療実用化に向けての臨床研究を目指した。

3. 研究の方法

(1) 自治医科大学附属病院に入院した急性大動脈解離の症例を対象に、血中インターロイキン-6 (IL-6) とその関連因子、顆粒球単球コロニー刺激因子 (GM-CSF) を測定し、大動脈解離の状態や予後との相関を検討した。

バイオマーカーの測定には AlphaLISA (PerkinElmer 社、USA) を用いた。本測定法では、従来の ELISA 法に比べて少量のサンプル量での測定が可能になる。IL-6 は Human IL-6 immunoassay kit (AL223C)、GM-CSF は Human GM-CSF immunoassay kit (AL216C) を用いた。

(2) 先行研究(慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの開発と臨床導入の実現-慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発-)、研究代表:鈴木亨、AMED 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化事業 H25-29) で得られた知見を基に、さらなる新規候補バイオマーカーとして、IL-6 の関連因子である単球走化性促進因子 Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) を測定し、大動脈瘤や解離の状態との関連を検討した。

MCP-1 は症例の残余血清を用いて測定した。測定には、Quantikine ELISA Human CCL2/MCP-1 Immunoassay (DCP00, R&D systems) を使用した。

いずれの研究も、自治医科大学の倫理委員会の承認を得て実施した。研究参加者には事前に研究目的を説明し、インフォームドコンセントを得た。

統計解析には Dr.SPSS を用いた。予備検討で多くのパラメーターが正規分布に従わなかったため、ノンパラメトリック検定を実施した。群間の比較には、対応のない場合には Mann-Whitney 検定を、対応のある場合には Friedman 検定を用いた。相関関係には、Spearman の順位相関分析を用い、カテゴリー変数の検定には 二乗検定を行った。P<0.05 を統計的有意水準とした。

4. 研究成果

(1) 急性大動脈解離で入院加療を行った 26 例につき解析した。血中 IL-6 値は入院から翌日にかけて上昇し、その後退院に向けて低下した。入院時の IL-6 値は最大大動脈短径と正相関の関係にあるようであったが、統計的有意には達しなかった。GM-CSF に関しては、むしろ測定感度以下であった。

(2) 胸部あるいは腹部大動脈瘤術前の 103 症例につき解析した。年齢は中央値 71.0 歳 (13-90 歳) であり、男性 78 例、女性 25 例であった。非解離性大動脈瘤 68 例、A 型大動脈解離 7 例、B 型大動脈解離 28 例であった。血中 MCP-1 値は、中央値 280.1 pg/ml (117.4-2106.8 pg/ml) であった。測定キット製造元の仕様書では、健常人の平均測定値 370 pg/ml (200-722 pg/ml) と報告されているため、症例群での測定値は想定していたほどには高くなかったと言える。MCP-1 値は女性より男性で高値であったが (P=0.016)、年齢や解離の有無との相関は認めなかった (図 1)。

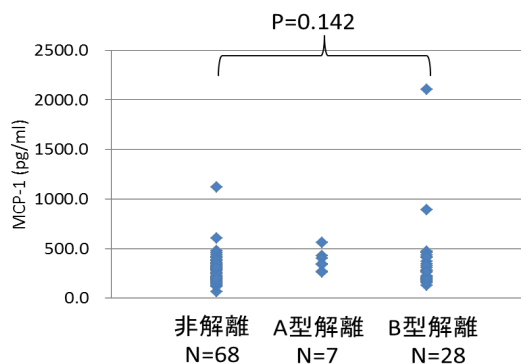


図 1 解離の有無と MCP-1 測定値

我々の先行研究の結果では、大動脈最大短径と血中 IL-6 はゆるやかな正相関を示していたが、今回の MCP-1 に関してはむしろ逆相関を示した (図 2)。

マウスの大動脈瘤のモデルでは、高血圧が IL-6 および MCP-1 の上昇を誘発し、それが動脈瘤発生のメカニズムに関与すると示されている⁴。今回の我々のヒト血液検体での検討では、MCP-1 と大動脈瘤 (解離性・非解離性) の診断や状態との明確な相関は得られず、臨床応用には未だ大きな隔たりがあることが判明した。

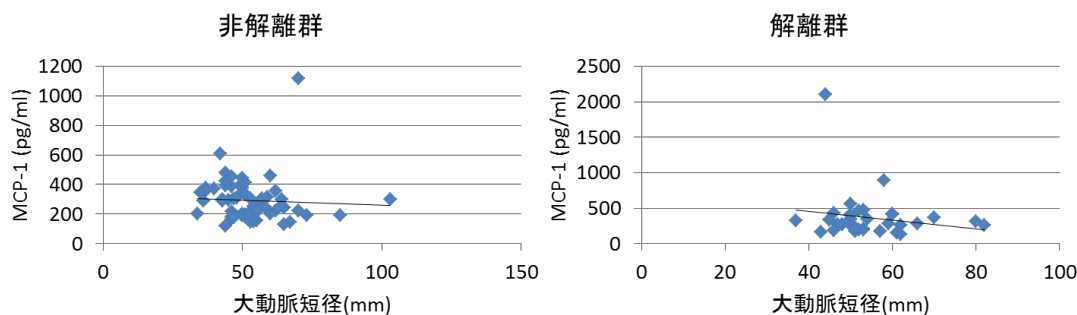


図 2 大動脈短径と MCP-1 との相関

(3) 異なるコホートではあるものの、血中 IL-6 の経時的変化を考察するため、(1)の急性大動脈解離の症例でのデータと、(2)のうち慢性大動脈解離の症例でのデータをまとめて図 3 に示す。慢性解離の症例はいずれも大動脈瘤の拡大を生じ手術前の症例であるが、急性大動脈解離の退院時の症例に比べても IL-6 値が小さいという結果であった (P<0.001)。この点からは、退院後に血中 IL-6 を測定しても、大動脈の拡大を事前に把握することは難しい可能性がある。一方、IL-6 と大動脈の最大短径との相関に関しては、(1)急性期症例の退院時で相関係数 -0.004 (P=0.988)、(2)の慢性期症例で相関係数 0.289 (P=0.092) と後者の方が良かった。大動脈解離後一度低下していた IL-6 値が再上昇した際には、大動脈径の拡大に注意が必要と思われる。

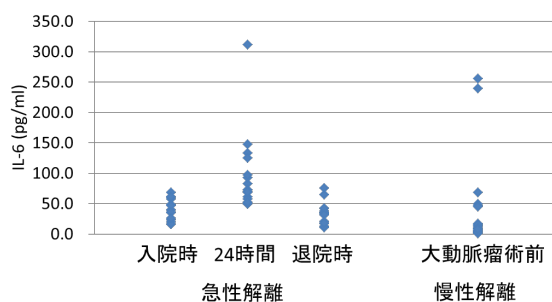


図 3 IL-6 の時系列変化

大動脈解離や瘤の発生メカニズムに関して、基礎研究や動物実験で関与が示されつつある慢性炎症因子 (IL-6、GM-CSF、MCP-1) などの実用化に向けて、実際のヒト血液検体で測定を行ったが、今回の研究では決定的な結果を示すに至らなかった。大動脈壁の局所で生じていることと、全身血流で検出できることに差異があることが一因と思われる。ただし、臨床的実用化を念頭にした場合、簡単に反復して測定できることが重要であり、やはり血液 (あるいは、尿、唾液など) での測定が望ましい。今回得られた大変貴重なデータや試料を元に、今後も有望な候補物質を探索し実証していきたいと考えている。

また今回の研究実施期間内には、IL-6 その他慢性炎症物質が大動脈解離の病態と精緻に連動

するという結果は得られず、そのため IL-6 を標的とした治療の検証にまでは到達することが出来なかった。さらなる検討を加えることで、今後の展開につなげていきたい。

<引用文献>

Ju X, Ijaz T, Sun H, et al. IL-6 regulates extracellular matrix remodeling associated with aortic dilation in a fibrillin-1 hypomorphic mgR/mgR mouse model of severe Marfan syndrome. *J Am Heart Assoc.* Jan 21 2014;3(1):e000476.

Pope NH, Salmon M, Johnston WF, et al. Interleukin-6 Receptor Inhibition Prevents Descending Thoracic Aortic Aneurysm Formation. *Ann Thorac Surg.* Nov 2015;100(5):1620-1626.

Son BK, Sawaki D, Tomida S, et al. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor is required for aortic dissection/intramural haematoma. *Nat Commun.* Apr 29 2015;6:6994.

Akerman AW, Stroud RE, Barrs RW, et al. Elevated Wall Tension Initiates Interleukin-6 Expression and Abdominal Aortic Dilation. *Ann Vasc Surg.* Jan 2018;46:193-204.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Fujita D, Preiss L, Aizawa K, Asch F, Eagle K, Suzuki T; GenTAC registry investigators. Circulating Interleukin-6 (IL-6) levels are associated with aortic dimensions in genetic aortic conditions. *PLOS ONE.* 2019 Mar 18; 14(3):e0214084. 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0214084

Fujita D. Utilizing Next-Generation Sequencing for the Diagnosis and Clinical Management of Vascular Ehlers-Danlos Syndrome. *International Heart Journal.* 2018;59(5):911-913. 査読無
DOI: 10.1536/ihj.18-452

6 . 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：相澤 健一

ローマ字氏名：(AIZAWA, kenichi)

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。