

機関番号：24402

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20590833

研究課題名 (和文) 血液酸化ストレスマーカーと画像診断による心筋梗塞・脳梗塞発症
予知に関する研究研究課題名 (英文) Predictors for onset of acute myocardial infarction and cerebral
infarction using biomarkers and imaging modalities

研究代表者

江原 省一 (EHARA SHOICHI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：90382150

研究成果の概要 (和文)：近年、急性心筋梗塞、脳梗塞は増加傾向にあり、それらは突然に発症するため予知は極めて困難である。われわれはこれまで、酸化 LDL を中心に様々なバイオマーカーの動脈硬化性疾患における意義を検討してきており、酸化ストレスマーカーが急性冠症候群で上昇していることを報告してきた。さらに近年進歩の著しい新たな非侵襲的画像診断を導入し、その臨床的有用性はもちろんのこと、いまだ研究段階である不安定プラークの検出・同定に関する臨床データを蓄積しつつある。

研究成果の概要 (英文)：Acute myocardial infarction (AMI) and cerebral infarction (CI) are the leading causes of death in the individuals with atherosclerotic risk factors. As AMI or CI frequently occurs as the first symptom, screening of the patients with unstable plaque is important for prevention of the onset of AMI or CI. We suggested that combined assessment of biomarkers and cardiovascular imaging may be useful for screening patients with unstable plaques.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：酸化 LDL・ミエロペルオキシダーゼ・パラオキシナーゼ・プラーク・マルチスライス CT・頸動脈エコー・MRI・急性冠症候群

1. 研究開始当初の背景

近年、メタボリックシンドローム、生活習慣病が原因と考えられる心血管病や脳血管障害が急激に増加してきている。なかでも、急性心筋梗塞 (AMI)、脳梗塞は突然に発症するため、その予知は極めて困難であり、ひとたび発症すれば緊急の対応を迫られ、今日でもなお死亡率のきわめて高い重篤な疾患群であるため、より確実な予知因子の解明は、

わが国のみならず世界的に重要な課題である。

ヒト冠動脈には、経年的にプラークと呼ばれる内膜の肥厚性病巣が形成されるが、冠動脈プラークは、時に「不安定状態」へと変貌することが知られている。この不安定プラークにみられる破裂・びらんと、それに伴う内腔の血栓形成は、急性冠症候群 (ACS) の主たる原因であると考えられている。一方、動脈

硬化の進展する原因の一つとして、近年酸化ストレスの関与が挙げられている。酸化ストレスの亢進により、その生成が増加すると考えられている酸化 LDL は動脈硬化の形成・進展およびプラークの不安定性に関連している。これまで、われわれはヒト血液中、および組織中の酸化 LDL の役割を研究し、多くの新知見を明らかにしている。

従来の実験的研究により、酸化 LDL は血液中の単球を遊走させて血管壁に引き込むとともに、一旦血管壁内に侵入した単球がマクロファージに変化した後には、その遊走を抑制して血中に戻るのを阻止することが報告されている。また、酸化 LDL はマクロファージの泡沫化や T リンパ球の活性化に関与し、強い内皮細胞傷害を引き起こすことが明らかにされている。これらの実験的データは、酸化 LDL がヒト動脈硬化の進展、特に動脈硬化病変における炎症性プロセスの進展に関して重要な役割を担っていることを強く示唆している。

われわれは、酸化 phosphatidylcholine 抗体 (DLH3) を用いて、安定狭心症 (SAP) 例と不安定狭心症 (UAP) 例より得られた冠動脈アテレクトミー組織標本における酸化 LDL の局在について免疫組織化学的に検索し、SAP 例の責任病変部位では一部の散在する泡沫化マクロファージに酸化 LDL が局在しているのみであったが、UAP 例の責任病変部位では、集積する多数の泡沫化マクロファージに酸化 LDL が高度に陽性であることを明らかにしている (Ehara S, et al, *Circulation* 103:1955-1960, 2001)。

また、AMI 患者の退院時の酸化 LDL 値が慢性期ステント内再狭窄を予知できることも報告しており (Naruko T, Ehara S, et al, *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 26:877-883, 2006)、酸化 LDL がプラーク不安定化における炎症性プロセスに密接に関与していることが示唆される。

しかしながら、ヒトの生体内における酸化 LDL 生成メカニズム、および酸化-抗酸化バランスが存在するのかについては不明な点が多い。生体内酸化酵素として炎症性刺激によって好中球や一部の単球から細胞外に放出される myeloperoxidase (MPO) が注目されている。一方、paraoxonase (PON) はグリコプロテインで、肝臓で合成され、血中では HDL 粒子状でアポ蛋白 A-I やアポ蛋白 J と結合して存在しており、LDL の酸化を抑制することが明らかにされている。われわれはすでに血中酸化 LDL、MPO、および PON 値と急性冠イベントの関連性についての検討し、UAP 群では SAP 群、健常者群に比し、血漿中酸化 LDL 値、MPO 値が有意に高値であり、また UAP 群、SAP 群では健常者群に比し、血中 PON 値が有意に低値であること

をはじめ明かにしている。さらに血漿中 MPO 値と酸化 LDL 値は強い正の相関を示し、一方、MPO 値と PON 値は弱い逆相関を示していた。さらに、血中 PON 値は HDL コレステロールと正の相関が認められた。多変量解析にて MPO 値上昇と関連している因子は、酸化 LDL、HDL コレステロール、および UAP であることが判明した。このことより、酸化-抗酸化ストレスマーカーが ACS 発症に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

一方、もうひとつの心血管イベント予知へのアプローチとして、頸動脈エコー法を用いた頸動脈プラーク評価を組み合わせる。われわれは頸動脈プラーク評価についても数多くの論文を発表してきており、その方法論は確立している (Sugioka K, et al, *Stroke* 33:2077-2081, 2002, Sugioka K, Ehara S, et al, *Stroke in press*, 2007)。本施設では早くより 64 マルチスライス CT も導入されており、冠動脈、大動脈プラーク評価についても精通している。

2. 研究の目的

酸化ストレスマーカーである酸化 LDL、MPO、PON などの血液バイオマーカーに加え、頸動脈、冠動脈、大動脈を頸動脈エコーやマルチスライス CT などの非侵襲的画像診断法を用いて同時評価することにより、心筋梗塞、脳梗塞発症を予知できるかどうか、イベント発症前の冠危険因子を有する対象を前向きに追跡することである。

3. 研究の方法

冠動脈プラーク、大動脈プラーク、及び頸動脈プラークと酸化ストレスマーカー

臨床上冠動脈疾患のスクリーニングのため 64 マルチスライス CT による冠動脈造影が必要な患者に同意を頂き、CT での冠動脈プラーク、大動脈プラークの解析に使用させていただく。CT による大動脈プラーク解析法は既に確立されているプラークスコアを用いる。また、頸動脈プラークに関しては、頸動脈エコーにて血管の狭窄の程度、血管壁性状を評価する。血液分子マーカーの解析では、超微量血漿中酸化 LDL、MPO、PON を含む酸化ストレスマーカーを測定する。酸化 LDL、MPO、PON の測定法に関しては数多くの論文で認められている (酸化 LDL; Ehara S, et al, *Circulation* 103:1955-1960, 2001, MPO; Brennan ML, et al, *N Engl J Med* 349:1595-1604, 2003, PON; Kujiraoka T, et al, *J Lipid Res* 41:1358-1363, 2000)。エントリー時のプラークと血液マーカーを評

価し、酸化ストレスマーカーと動脈硬化の関連性、その意義を検討する。前向きコホート研究では、心筋梗塞・脳梗塞のエンドポイントはCoxの比例ハザードモデルで解析する。

画像診断をエントリー時と1年後に施行することにより、プラークの進展・退縮、プラーク性状変化を評価し、その間の患者の高血圧、糖尿病、脂質異常のコントロール状況、禁煙の有無、ダイエット状況、服薬状況などの関係を検討する。今後の生活習慣改善への介入を見据えた意義あるデータが得られるものと確信する。

さらにサブ解析として、CTでは左室の大きさ(volume)、機能(function)、心重量(mass)も求めることができるので、特に高血圧患者群では血圧コントロール状況によるこれらのパラメーターの変化を詳細に解析する。

4. 研究成果

(1)急性心筋梗塞(AMI)患者における冠動脈石灰化スコアと血中酸化LDLの意義について

われわれは、AMI患者、および安定狭心症患者において冠動脈石灰化スコアと血中酸化LDL測定を同時にしえた症例を検討し、AMI患者では安定狭心症患者に比し、有意に冠動脈石灰化スコアが小さく、酸化LDLが高値であることを示した。このことは、画像診断と血中バイオマーカーを併用することにより、不安定プラークをもつ患者のスクリーニングに有用である可能性が示された。

(2)マルチスライスCTによる左室容量・機能、および左房要領計測の妥当性の検証

われわれは、非侵襲的に冠動脈狭窄評価ができるため、臨床的に普及しつつあるマルチスライスCTの心容量、心機能解析機能について、検証作業を行った。その結果、マルチスライスCTは、冠動脈狭窄評価のために得た同一データから、付加的な心容量、心重量、心機能を正確に測定できることを発表し、このことは後の様々な研究の基礎データとなっている。

(3)マルチスライスCT、および頸動脈エコーを用いた、大動脈、頸動脈のstiffness、およびプラークの評価は冠動脈疾患の重症度診断に役立つ

われわれは、非侵襲的な画像診断法としてマルチスライスCTと頸動脈エコーを用いて、それぞれ大動脈、および頸動脈の硬さ(stiffness)とプラークを評価し、それぞれ冠動脈疾患重症度との関連性を示した。このことは冠動脈疾患を全身の動脈硬化性疾患としてとらえ、その関連性を示す意味で大きな意義をもっている。

(4)マルチスライスCTを用いた心尖拍動、および心電図の左室肥大検出能の詳細解析

われわれは、これまで蓄積したマルチスライスCTの研究により、冠動脈情報だけでなく、左室・左房の容積、重量、機能に関することも正確に評価できることを報告してきた。そのことを踏まえ、左室肥大の検出法として古くから臨床的に経験則として用いられてきた診察法である心尖拍動と心電図のそれぞれの左室肥大診断能を、マルチスライスCTで様々な因子を解析することにより、科学的意義について報告した。このことは、臨床的有用性のみならず、循環器診察法の教育領域にexperienceからevidenceを提示できたと自負している。

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21件)

1. Sugioka K, Naruko T, Hozumi T, Nakagawa M, Kitabayashi C, Ikura Y, Shirai N, Matsumura Y, Ehara S, Ujino K, Itoh A, Haze K, Becker AE, Yoshiyama M, Ueda M. Elevated levels of neopterin are associated with carotid plaques with complex morphology in patients with stable angina pectoris. *Atherosclerosis*. 査読有. 2010;208:524-30.
2. Ehara S, Okuyama T, Shirai N, Sugioka K, Oe H, Itoh T, Matsuoka T, Ikura Y, Ueda M, Naruko T, Hozumi T, Yoshiyama M. Inadequate increase in the volume of major epicardial coronary arteries compared with that in left ventricular mass. Novel concept for characterization of coronary arteries using 64-slice computed tomography. *Circ J*. 査読有. 2009;73:1448-53.
3. Yunoki K, Naruko T, Komatsu R, Ehara S, Shirai N, Sugioka K, Nakagawa M, Kitabayashi C, Ikura Y, Itoh A, Kusano K, Ohe T, Haze K, Becker AE, Ueda M. Enhanced expression of haemoglobin scavenger receptor in accumulated macrophages of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 査読有. 2009;30:1844-52.
4. Takagi Y, Ehara S, Okuyama T, Shirai N, Yamashita H, Sugioka K, Kitamura H, Ujino K, Hozumi T, Yoshiyama M. Comparison of determinations of left atrial volume by the biplane area-length and Simpson's methods using 64-slice computed tomography. *J Cardiol*. 査読有. 2009;53:257-264.

5. Okuyama T, **Ehara S**, Shirai N, Sugioka K, Ogawa K, Oe H, Kitamura H, Itoh T, Otani K, Matsuoka T, Inoue Y, Ueda M, Hozumi T, Yoshiyama M. *J Cardiol*. 査読有. 2008;52:276-84.
 6. Okuyama T, **Ehara S**, Shirai N, Sugioka K, Yamashita H, Kataoka T, Naruko T, Itoh T, Otani K, Matsuoka T, Inoue Y, Ueda M, Yoshikawa J, Hozumi T, Yoshiyama M. Assessment of aortic atheromatous plaque and stiffness by 64-slice computed tomography is useful for identifying patients with coronary artery disease. *Circ J*. 査読有. 2008;72:2021-7.
 7. **Ehara S**, Naruko T, Shirai N, Itoh A, Hai E, Sugama Y, Ikura Y, Ohsawa M, Okuyama T, Shirai N, Yamashita H, Itabe H, Haze K, Yoshiyama M, Ueda M. Small coronary calcium deposits and elevated plasma levels of oxidized low density lipoprotein are characteristic of acute myocardial infarction. *J Atheroscler Thromb*. 査読有. 2008;15:75-81.
 8. Sugioka K, Hozumi T, Iwata S, Oe H, Okuyama T, Shirai N, Yamashita H, **Ehara S**, Kataoka T, Yoshikawa J, Ueda M, Yoshiyama M. Morphological but not functional changes of the carotid artery are associated with the extent of coronary artery disease in patients with preserved left ventricular function. *Stroke*. 査読有. 2008;39:1597-9.
 9. **江原省一**, 葭山稔. 血管石灰化の臨床的画像診断と定量的評価法. *Clinical Calcium*. 査読無. 2010; Vol.20. No.11, 84-90.
 10. **江原省一**, 葭山稔. MDCT によるプラークの評価. *Heart View*. 査読無. 2010; Vol.14. No.7, 80-7.
 11. **江原省一**. プラーク石灰化研究への誘い. *Coronary Intervention*. 査読無. 2009; Vol.5. No.5, 66-71.
 12. **江原省一**. 問診と身体所見からリスクファクターを識る. *新・心臓病プラクティス*. 査読無. 2009, 138-42.
 13. **江原省一**. メタボリックシンドロームと冠動脈リモデリング. *分子心血管病*. 査読無. 2009; Vol.10. No.3, 27-32.
 14. **江原省一**, 上田真喜子. コレステロールと動脈硬化の発症メカニズム. *ライフサイエンス出版*. 査読無. 2009, 66-9.
 15. **江原省一**, 吉川純一. 拡張型心筋症 画像診断: (2)CT, MRI. *最新医学別冊*. 査読無. 2008, 118-27.
 16. **江原省一**, 葭山稔, 上田真喜子. 酸化 LDL と冠動脈プラークの病理. *Angiology Frontier*. 査読無. 2008; Vol.7. NO.4, 19-24.
 17. **江原省一**. どのような病態・冠動脈プラークが心血管系事故を起こすか? *新・心臓病プラクティス*. 査読無. 2008, 7-13.
 18. **江原省一**. プラーク不安定因子. *MEDICAL TECHNOLOGY*. 査読無. 2008; Vol.36. No.4, 372-7.
 19. **江原省一**, 上田真喜子. プラーク不安定性における neopterin の役割. *医学のあゆみ*. 査読無. 2008; Vol.224. No.5, 380-4.
 20. **江原省一**, 葭山稔, 上田真喜子. 冠動脈硬化症の成因. *総合臨床*. 査読無. 2008; Vol.57. No.2, 204-10.
 21. **江原省一**, 葭山稔, 上田真喜子. 心血管イベント発症と脂質異常症. *Current Therapy*. 査読無. 2008; Vol.26. No.1, 23-7.
- [学会発表] (計 5 件)
1. **江原省一**, 白井伸幸, 葭山稔, 仲川将志, 北林千津子, 上田真喜子, 成子隆彦, 土師一夫, 板部洋之. プラーク不安定化における炎症・酸化-抗酸化バランスとバイオマーカー: MPO, 酸化 LDL, パラオキソネース, およびネオプテリン. 第 56 回日本循環器学会(東京). 2008/9/9.
 2. Nakagawa M, Ikura Y, Arimoto J, Kitabayashi C, Ueda M, **Ehara S**, Shirai N, Yoshiyama M, Naruko T, Haze K. Retardation of neointima tissue responses and thrombosis at the site of drug-eluting stents in human coronary arteries. 第 40 回日本動脈硬化学会(つくば). 2008/7/11.
 3. **Ehara S**, Shirai N, Sugioka K, Yoshiyama M, Nakagawa M, Kitabayashi C, Ikura Y, Ueda M, Naruko T, Haze K. Obesity and dyslipidemia are characteristic of young patients with acute myocardial infarction in Japan. 第 40 回日本動脈硬化学会(つくば). 2008/7/11.
 4. Hozumi T, Fukuda S, Oe H, Sugioka K, Otsuka R, **Ehara S**, Ueda M, Yoshikawa J, Yoshiyama M. New echocardiographic approach using real-time three-dimensional echocardiography in the clinical practice. 第 72 回日本循環器学会(福岡). 2008/3/28.
 5. **Ehara S**, Naruko T, Nakagawa M, Kitabayashi C, Shirai N, Sugioka K, Oe H, Okuyama T, Hozumi T, Haze K, Itabe H, Yoshiyama M, Ueda M. Myeloperoxidase are associated with low density lipoprotein oxidation and unstable coronary syndrome in human. 第 72 回日本循環器学会(福岡). 2008/3/28.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江原 省一 (EHARA SHOICHI)
大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：90382150

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし