

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08415

研究課題名(和文) 治療抵抗性の冠動脈粥腫内石灰化形成におけるプロテアーゼ PCSK7の意義解明研究

研究課題名(英文) The association of PCSK7 with coronary calcification

研究代表者

片岡 有 (Kataoka, Yu)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医長

研究者番号：70463271

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：PCSK7の変化と石灰化指標の相関を解析した。58例を登録しOCTにより評価される石灰化角度を解析した。1年間の観察期間におけるPCSK7値の上昇は、石灰化角度の変化と正の相関を認めた($r=0.56$, $p=0.04$)。PCSK7値と冠動脈イベントの関係についても検証した。280例におけるPCSK7値を測定し、心血管イベントの発生率との関係を解析した。PCSK7値高値群はイベントの発生率が高い傾向を認めた(8.5% vs. 4.9%, $p=0.12$)。282例の健常人において、PCSK7を測定しその規定因子を解析した。肝機能障害、肥満、中性脂肪値がPCSK7に寄与する因子であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PCSK7は石灰化形成や将来の心血管イベント発生に関与する可能性が示唆された。さらなる大多数の症例で検証を要する。

研究成果の概要(英文)：The association of OCT-derived calcification with PCSK7 levels was analyzed in 58 patients with CAD. An increase in PCSK7 level was associated with a greater calcification ($r=0.56$, $p=0.04$). We investigated whether PCSK7 level could predict future cardiovascular events in 280 patients. There was a trend toward an increased risk of cardiovascular events in association with elevated levels of PCSK7. In 282 healthy subjects, we investigated factors associated with PCSK7. Liver function, obesity and triglyceride were associated with PCSK7 levels.

研究分野：動脈硬化症

キーワード：PCSK7 石灰化 冠動脈

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(a) 石灰化は冠動脈血行再建術の効果を減弱させ、将来の心筋梗塞発症リスクにも関与する

石灰化を伴う冠動脈粥腫は、病期の進行した動脈硬化症の特徴の 1 つであり、粥腫破綻リスクが少ない安定病変と考えられてきた。しかし、粗大な石灰化の存在は、冠動脈カテーテルインターベンションや冠動脈バイパス術の施行において、狭窄部の拡張やバイパス吻合が困難となり、成功率・長期成績を損なう。また、微細な石灰化沈着は、粥腫を不安定化させて心筋梗塞発症の原因となりうる。このように、粥腫内石灰化形成は、冠動脈疾患症例の予後に密接に関連しており、石灰化に対する有効な治療対策の必要性が示唆される。

(b) 石灰化に対する有効な介入治療は確立されていない

冠動脈疾患などの動脈硬化性心血管疾患予防に対する脂質介入療法の有効性が報告され、本邦におけるガイドラインでも、LDL コレステロール低下療法が推奨されている。しかし、申請者(片岡)は石灰化を含有する冠動脈硬化を有する症例において、脂質介入療法に対する反応性が低下することを報告してきた(Kataoka, et al. *J Am Coll Cardiol*.2012;59:1592-7, *Cardiovasc Diagn Ther*.2014;4:460-9)。また、LDL コレステロール・中性脂肪・HDL コレステロールなどの脂質因子は石灰化粥腫の形成には寄与しないことも確認している(2019 年アメリカ心臓病学会)。近年行われた大規模ランダム化研究でも、粥腫石灰化を顕著に有する維持透析施行慢性腎不全症例において、スタチンを用いた脂質管理療法による有益性は認められていず(*N Engl J Med*.2009;360:1395-407)、現時点で石灰化に対する有効な治療法は存在しない。これらの知見から、まず石灰化形成・進展を制御する他の治療標的因子を明らかにすることが、石灰化治療法開発を達成する上で必要不可欠と考える。

(c) 石灰化形成・進展における PCSK7 の関与の可能性

申請者は、これまで動脈硬化症における PCSK family の役割を解明する研究を行ってきた(研究活動スタート支援: 15H06914、基盤研究 C: 17K09547、Kataoka, et al. *J Clin Lipidol*.2017;11: 413-21)。PCSK7 は 7 番目に発見された PCSK family であり、生体内における糖代謝・インスリン抵抗性に作用するプロテアーゼである。申請者は健常人 282 例における血液中 PCSK7 濃度を測定し、中性脂肪($r=0.15$, $p=0.009$)や肥満指数(BMI: $r=0.14$, $p=0.01$)と有意に相関することを確認した。これまでに、高中性脂肪血症症例や肥満症例は重症冠動脈硬化症を呈することを報告しており(*JACC Cardiovasc Imaging*.2018;11:1721-3, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.2016;36:2220-8, *Eur J Prev Cardiol*.2015;22:1331-9)、PCSK7 と石灰化の関係についても検証を進めてきた。89 例の冠動脈疾患症例の解析では、PCSK7 値が粥腫石灰化スコアと正に相関することも確認した ($r=0.21$, $p=0.02$)。PCSK7 が石灰化形成を促進させる基準は十分に解明されていないが、これらの知見から、粥腫内石灰化形成・進展を制御における PCSK7 の関与の可能性を考えた。

2. 研究の目的

治療抵抗性の冠動脈粥腫内石灰化形成・進展におけるプロテアーゼ:PCSK7 の関

与を明らかにすること

3. 研究の方法

研究 1: マクロファージ内の石灰化沈着における PCSK7 の作用の解明研究 (基礎研究)

[方法] マウスマクロファージ細胞: RAW246.7 細胞を用いる。Recombinant PCSK7 (フナコシ株式会社) を投与し、qPCR 法を用いて RAW246.7 細胞内におけるオステオポンチン発現の mRNA 量を測定し、対照群と比較する。さらに、*lipopolysaccharide (LPS)* 投与による RAW246.7 細胞内カテプシン K の発現を、PCSK7 投与有無で比較する。

研究 2: 冠動脈粥腫内 PCSK7 産生と石灰化形成の関係の検証研究 (病理組織学的研究)

[対象] カテーテルインターベンションを要する冠動脈疾患症例 80 例

[方法] 方向性粥腫切除アテレクトミー装置を用いて冠動脈粥腫組織を切除する。採取した組織を抗 PCSK7 抗体(abcam, Cambridge, UK)を用いて免疫染色を行い、その陽性領域の面積を画像解析装置 (Image Scope, Aperio)により算出する。アリザリンレッド S 染色により同定しえた石灰化領域と PCSK7 染色領域の関連を解析する。

[サンプル計算] PCSK7 高値群は、低値群に比して石灰化面積が 14%大きいと仮定した場合、SD18.0、検出率 90%にて計 72 例を要する。

研究 3: 冠動脈粥腫内石灰化形成・進展と PCSK7 の関係の解析研究(前向き観察研究)

[対象] 冠動脈カテーテルインターベンションを要する冠動脈疾患症例 100 例

[方法] カテーテルインターベンション施行時に、プラークイメージング装置(光干渉断層計)を用いて粥腫内石灰化評価(石灰化スコア、微細石灰化/石灰化結節有無など)を行う。1 年後に、同部位の再評価を行う。カテーテルインターベンション施行時ならびに 1 年後に、PCSK7 を測定する(ELISA: Mybiosource 社)。1 年間における、PCSK7 の変化と石灰化指標の相関を解析する。冠動脈粥腫進展、不安定化に寄与する脂質・血糖・炎症指標も測定し、多変量解析により、冠動脈粥腫内石灰化形成・進展に最も寄与する因子を明らかにする。

[サンプル計算] PCSK7 高値群は、石灰化増加率が PCSK7 低値群に比して 1.1%大きいと仮定した場合、SD1.5、検出率 90%にて 82 例を要する。脱落率 20%と仮定し、計 98 例が必要と考えた。

研究 4: 心筋梗塞発症予知における PCSK7 の意義の解明研究 (コホート研究)

[対象] 申請者の所属施設が行なっているコホート研究: 吹田研究に登録された 1250 例

[方法] 登録時の血液検体を用いて、PCSK7 を測定 (ELISA: Mybiosource 社)。11 年間の観察期間における、心血管イベント(脳血管・冠動脈イベント)発症を調査。生存時間解析手法などを用いて、血液中 PCSK7 値と心血管イベントリスクとの関連について検討する。

[サンプルサイズ計算] PCSK7 値の上昇により、心血管イベント発症率が 5%増加すると過程した場合 (標準偏差 25.0、検出率 90%)、1054 例を要する。

4 . 研究成果

PCSK7 の変化と石灰化指標の相関を解析した。58 例を登録し OCT により評価される石灰化角度を解析した。1 年間の観察期間における PCSK7 値の上昇は、石灰化角度の変化と正の相関を認めた ($r=0.56$, $p=0.04$)。PCSK7 値と冠動脈イベントの関係についても検証した。280 例における PCSK7 値を測定し、心血管イベントの発生率との関係を解析した。PCSK7 値高値群はイベントの発生率が高い傾向を認めた (8.5% vs. 4.9%, $p=0.12$)。282 例の健常人において、PCSK7 を測定しその規定因子を解析した。肝機能障害、肥満、中性脂肪値が PCSK7 に寄与する因子であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Furuhashi M, Kataoka Y, Nishikawa R, Koyama M, Sakai A, Higashiura Y, Tanaka M, Saitoh S, Shimamoto K, Ohnishi H.	4. 巻 29
2. 論文標題 Circulating PCSK7 Level is Independently Associated with Obesity, Triglycerides Level and Fatty Liver Index in a General Population without Medication.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Atheroscler Thromb. 2022 Sep 1;29(9):1275-1284.	6. 最初と最後の頁 1275-1284.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.63159. Epub 2021 Sep 25.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwai T, Kataoka Y, Nicholls SJ, Puri R, Murata S, Nishimura K, Murai K, Kitahara S, Sawada K, Matama H, Honda S, Takagi K, Fujino M, Yoneda S, Otsuka F, Nishihira K, Asaumi Y, Miyamoto Y, Yasuda S, Noguchi T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Phenotypic Features of Coronary Atheroma in Diabetic and Nondiabetic Patients With Low-Density Lipoprotein Cholesterol <55 mg/dL.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JACC Cardiovasc Imaging. 2022 Jun;15(6):1166-1169.	6. 最初と最後の頁 1166-1169.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmg.2022.02.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sugane H, Kataoka Y, Otsuka F, Nakaoku Y, Nishimura K, Nakano H, Murai K, Honda S, Hosoda H, Matama H, Doi T, Nakashima T, Fujino M, Nakao K, Yoneda S, Tahara Y, Asaumi Y, Noguchi T, Kawai K, Yasuda S.	4. 巻 318
2. 論文標題 Cardiac outcomes in patients with acute coronary syndrome attributable to calcified nodule	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Atherosclerosis	6. 最初と最後の頁 70-75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.atherosclerosis.2020.11.005.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片岡 有
2. 発表標題 Apolipoprotein CIII and Coronary Atherosclerosis under LDL-C Control with a Statin:
3. 学会等名 日本循環器学会学術集会総会Topics Session (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	古橋 真人 (Furuhashi Masato) (20563852)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	
研究 分担者	小倉 正恒 (Ogura Masatsune) (30532486)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長 (84404)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------