

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590378

研究課題名（和文） 急性冠症候群の発症メカニズムにおける  
MPO と S100A8/A9 の分子病理学的研究研究課題名（英文） Molecular Pathologic Study on the Significance and Roles  
of Myeloperoxidase and S100A8/A9 Complex in the Pathogenesis  
of Acute Coronary Syndrome

研究代表者

上田 真喜子 (UEDA MAKIKO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10137193

研究成果の概要（和文）：本研究は、冠動脈プラークの進展・不安定化メカニズムに寄与する複数の因子として、①好中球が産生するMPO、②リンパ球のインターフェロン- $\gamma$ により活性化されたマクロファージが産生するネオプテリン、③活性化好中球/マクロファージから産生・放出される S100A8/A9 複合体の相互関連について明らかにすることを目的としている。結果として、冠動脈硬化症患者におけるネオプテリン高発現は、動脈硬化巣の複雑性病変への進展・不安定化と関連していること、S100A8/A9 複合体は急性心筋梗塞の病巣部位に集積するマクロファージや浸潤好中球に高度に発現していること、ヒト冠動脈の動脈硬化巣に集積した MPO 陽性細胞数は、不安定プラークで有意に高値であることなどが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The aim of the present study was to clarify the significance and roles of the expression of myeloperoxidase, neopterin, and S100A8/A9 complex in the pathogenesis of coronary plaque destabilization leading to the development of acute coronary syndrome.

In the present study, we clarified that increased expression of neopterin was closely related to the presence of complex lesion morphology, and also revealed distinct immunolocalization of S100A8/A9 complex in macrophages and neutrophils in lesions of patients with acute myocardial infarction. We also reported new information about the relationship between coronary lesion morphology and the magnitude of myeloperoxidase-positive cell infiltration in patients with unstable angina pectoris, based on the results of coronary atherectomy specimens.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：①バイオマーカー ②プラーク不安定性 ③急性冠症候群 ④プラーク炎症

## 1. 研究開始当初の背景

急性冠症候群の発症に、酸化ストレスは促進的因子として関与することが明らかにされている。酸化ストレスとは生体内での酸化と抗酸化のバランスが崩れ、酸化の方に傾い

た状態を指している。

近年、ヒトでの酸化ストレス亢進に寄与する候補物質として、好中球のミエロペルオキシダーゼ(MPO)がクローズアップされている。我々もこれまでに、プラーク不安定化に

における好中球 MPO の関与について明らかにし、報告してきている。好中球に加え、T リンパ球もプラーク炎症に関与することが知られているが、活性化 T リンパ球はインターフェロンの産生・放出を介してマクロファージを活性化し、プラーク不安定化を促進させることが明らかとなってきた。活性化マクロファージからは、炎症に関連するサイトカインなど種々の因子が産生される。ネオプテリンは、このような炎症関連因子の1つであり、冠動脈疾患患者の血液中で増加し、かつ、プラーク不安定性と密接に関連していることが判明しつつある。

さらに最近、プラーク炎症に関与する好中球/マクロファージから産生・放出される炎症関連分子として、S100A8/A9 複合体が急速に研究者たちの注目を集めている。好中球/単球の炎症病巣への遊走に関与すると考えられるこの分子は、C-反応性蛋白と同様、バイオマーカーとしての有用性が大いに期待される。我々は、ヒト血液および冠動脈組織材料を用いた研究により、S100A8/A9 複合体の血中レベルおよび組織発現レベルは安定狭心症よりも不安定狭心症において増加していることを世界ではじめて明らかにしている。ただしその病理学的意義の詳細や、MPO との相互関連などについては、未だ不明であり、急性冠症候群の病理メカニズムを解明するためには、この S100A8/A9 複合体研究はきわめて重要と考えられる。

## 2. 研究の目的

冠動脈プラーク病変の進展・不安定化に寄与する急性炎症細胞の代表である好中球が産生する MPO、慢性炎症細胞の代表であるリンパ球から産生されるインターフェロンによって活性化されたマクロファージが産出するネオプテリン、そして活性化好中球/マクロファージから産生・放出される S100A8/A9 複合体、これらの相互関連について研究する。

## 3. 研究の方法

平成 21-23 年度

### (1) 免疫組織化学的解析のための薄切凍結連続切片の作製

これまで収集した急性冠症候群の剖検例冠動脈凍結材料、冠動脈アテレクトミー凍結材料、および血栓吸引療法により得られた冠動脈血栓から薄切連続切片を作製した。さらに、研究年度内に新たに収集する凍結材料についても同様に凍結連続切片を作製した。また心臓血管疾患以外の死因による剖検例から得られた冠動脈凍結連続切片をコントロールとして用い、同様に検索した。

### (2) ヒト冠動脈の破裂・びらん性プラークにおける種々の細胞成分の免疫組織化学的解析

平滑筋細胞、マクロファージ (CD68)、T リンパ球 (CD3)、内皮細胞、好中球 (CD66b)、赤血球グリコフォリン A に対する各モノクローナル抗体を用いて、不安定プラークや血栓内の細胞成分を検索した。

### (3) ヒト冠動脈の破裂・びらん性プラークにおける MPO、ネオプテリン、S100A8/A9 複合体の局在、および発現細胞に関する免疫組織化学的解析

MPO、ネオプテリン、S100A8/A9 複合体それぞれに対する特異抗体を用いて、不安定プラークにおけるこれら酸化ストレス関連因子の局在について免疫組織化学的に解析した。また、CD66b、CD3、CD68 との免疫二重染色法を用いて、これらの発現細胞を同定した。

### (4) ヒト冠動脈の破裂・びらん性プラークにおける酸化 LDL の局在に関する免疫組織化学的解析

酸化 LDL に対する特異的抗体 (DLH3、板部博士より供与) を用いて、ヒト冠動脈プラークにおける酸化 LDL の局在の有無、および局在部位について解析した。さらに MPO、ネオプテリン、S100A8/A9 複合体について詳細に検索し、不安定プラークにおける酸化ストレス亢進との関連性の有無を検討した。

### (5) モルフォメトリー解析

コントロール例の冠動脈硬化病変についても(2)-(4)の免疫組織化学的解析を施行した。続いて、コンピューターを用いたモルフォメトリー解析により、ヒト冠動脈の破裂・びらん性プラーク、およびコントロールにおけるマクロファージ、T リンパ球、好中球の集積・浸潤、MPO、インターフェロン、ネオプテリン、S100A8/A9 複合体の発現、酸化 LDL の局在などについて定量的に解析し、不安定プラークと酸化ストレス関連因子の発現増加の意義および、これらの因子の相互の関連性について明らかにした。

## 4. 研究成果

①安定狭心症タイプの冠動脈硬化症患者におけるネオプテリン高発現は、頸動脈硬化の複雑性病変への進展・不安定化とも関連していた (Sugioka K, Ueda M, et al., *Atherosclerosis*, 2010)。

②S100A8/A9 複合体は急性心筋梗塞の病巣部位に集積するマクロファージや浸潤好中球に高発現を示し、梗塞後の炎症反応に対するバイオマーカーとしての応用が期待出来る (Katashima T, Ueda M, et al., *Circ J*, 2010)。

③冠動脈アテレクトミー凍結材料を用いた解析により、ヒト冠動脈の動脈硬化巣に集積した MPO は、不安定プラークで有意に高いことが明らかにされた。 (Naruko T, Ueda M, et al. *Heart*, 2010)。

④ヒト冠動脈のプラーク傷害部位には、血小

板血栓形成に続いて MPO 陽性好中球の集積がみられた (Nakagawa M, Ueda M, et al. JAT, 2010)。

⑤MPO 陽性細胞の発現増加は、急性心筋梗塞患者から得られた不安定プラーク上の赤色血栓に顕著に認められた (Yunoki K et al., Eur Heart J, in press, 2012)。

⑥S100A8/A9 複合体の発現増加は、安定狭心症例のステント後の心血管イベントに関与していた (Mizuani K et al., ACC, 2012)。

#### 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 12 件)

- (1) Yunoki K, Ueda M et al. Erythrocyte-rich thrombus aspirated from patients with ST-elevation myocardial infarction: association with oxidative stress and its impact on myocardial reperfusion. Eur Heart J 2012 in press (査読有)
- (2) Sugioka K, Ueda M, et al. Elevated levels of neopterin are associated with carotid plaques with complex morphology in patients with stable angina pectoris. Atherosclerosis 2010;208:524-530. (査読有)
- (3) Katashima T, Ueda M, et al. Enhanced expression of the S100A8/A9 complex in acute myocardial infarction patients. Circ J 2010;25:741-748. (査読有)
- (4) Yunoki K, Ueda M, et al. Relation of elevated levels of plasma myeloperoxidase to impaired myocardial microcirculation after reperfusion in patients with acute myocardial infarction. Am J Cardiol 2010;105:922-929. (査読有)
- (5) Naruko T, Ueda M, et al. Increased expression and plasma levels of myeloperoxidase are closely related to the presence of angiographically-detected complex lesion morphology in unstable angina. Heart 2010;96:1716-1722 (査読有)
- (6) Sugioka K, Ueda M, et al. Neopterin and atherosclerotic plaque instability in coronary and carotid arteries. J Atheroscler Thromb 2010;17: 1115-1121 (査読有)
- (7) Nakagawa M, Ueda M, et al. A decline in platelet activation and inflammatory cell infiltration is associated with the phenotypic redifferentiation of neointimal smooth muscle cells after bare-metal stent implantation in acute coronary syndrome J Atheroscler Thromb 2010;17: 675-687

(査読有)

- (8) 和田 諭子、上田 真喜子他 プラーク形成と破綻. カレントセラピー 2011;29: 8-12
- (9) 橘 真由美、上田 真喜子他 動脈硬化性病変. 病理と臨床 循環器病理II 2011;29: 214-220
- (10) 上田 真喜子、稲葉 真由美他 動脈硬化性疾患の発生機序. 日本医師会雑誌 特集 脂質異常症の管理—動脈硬化性疾患の予防のために 2011;140: 1198-1202
- (11) 稲葉 真由美、上田 真喜子他 動脈硬化の分類と病理. 総合臨牀 2011;60: 1972-1977
- (12) 成子 隆彦、上田 真喜子他 不安定プラークの病理学的知見を識る Heart View 2011;15: 60-65

[学会発表] (計 11 件)

- (1) Mizutani K, Ueda M et al. Persistent Elevated Levels of Myeloid-related Protein 8/14 and Cardiovascular Events After Drug-Eluting Stent Implantation in Patients with Stable Angina Pectoris ACC annual scientific session 2012 2012年3月26日シカゴ<sup>®</sup>(アメリカ) (査読有)
- (2) Mizutani K, Ueda M et al. Increased Expression and Plasma Levels of Neopterin are Related to Aortic Valve Stenosis in Patients with Hemodialysis ACC annual scientific session 2012 2012年 3月25日シカゴ<sup>®</sup>(アメリカ) (査読有)
- (3) Mizutani K, Ueda M et al. Increased Expression and Plasma Levels of Myeloperoxidase are Closely Related to Intracoronary Thrombi Type, Lesion Characteristics and Ventricular Remodeling in Patients with Acute Myocardial Infarction AHA scientific session 2011 2011 年 11月 15日オーラント<sup>®</sup> (アメリカ) (査読有)
- (4) Matsumi H, Ueda M et al. Erythrocyte-Rich Thrombus as a Predictor of Angiographic Visible Distal Embolization in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction Treated by Thrombus Aspiration AHA scientific session 2011 2011 年11月13日オーラント<sup>®</sup> (アメリカ) (査読有)
- (5) Matsumi H, Ueda M et al. Inverse Correlation between Plasma Myeloperoxidase Levels and Serum High-Density Lipoprotein-Associated Paraoxonase-1 Levels in Patients with Stable and Unstable Coronary Artery Disease AHA scientific session 2011 2011年11月14日オーラント<sup>®</sup> (アメリカ) (査読有)

- (6) Mizutani K, Ueda M, *et al.*  
Preprocedural Plasma Neopterin Levels and Cardiovascular Events After Primary Coronary Stent Implantation in Patients with Stable Angina Pectoris  
60<sup>th</sup> ACC Annual Scientific Session  
2011年4月2-5日ニューオリンズ (アメリカ)  
(査読有)
- (7) Yunoki K, Ueda M, *et al.*  
Erythrocyte-Rich Thrombi Aspirated from Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction Influence Oxidative Stress and Predict Long-Term Mortality  
AHA Scientific Session 2010  
2010年11月13-17日シカゴ (アメリカ)  
(査読有)
- (8) Matsumura Y, Ueda M, *et al.*  
Progression of Aortic Stenosis in Hemodialysis Patients: Echocardiographic and Immunohistochemical Studies  
59<sup>th</sup> ACC Annual Scientific Session  
2010年3月14-16日アトランタ (アメリカ)  
(査読有)
- (9) Yunoki K, Ueda M, *et al.*  
Red Blood Cell and Mixed Types of Aspirated Intracoronary Thrombi Obtained From Patients With Acute Myocardial Infarction Predict Long-Term Mortality  
AHA Scientific Session 2009  
2009年11月14-18日ホーランド (アメリカ)  
(査読有)
- (10) 上田 真喜子 病理から見た Vulnerable Plaque とステントの評価 第22回日本血管画像動態学会, 第7回日本血管内OC T研究会(招待講演) 2012年1月28日愛知
- (11) 上田 真喜子 冠動脈硬化と頸動脈硬化の病理病態 第10回日本頸部脳血管治療学会ランチョンセミナー(招待講演)  
2011年6月11日 大阪

[図書] (計3件)

- (1) 橘 真由美、上田 真喜子他「最新医学別冊 新しい診断と治療の ABC 69」最新医学社 2011;35-43
- (2) 橘 真由美、上田 真喜子他「低アディポネクチン血症と動脈硬化学～メタボリックシンドロームの病態～」診断と治療社 2011;108-111
- (3) 成子 隆彦、上田 真喜子他「冠動脈疾患・上―診断と治療の進歩―」日本臨牀社 2011;69(7):89-94

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上田 真喜子 (UEDA MAKIKO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号 : 10137193

- (2) 研究分担者  
なし
- (3) 連携研究者  
なし