

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591046

研究課題名(和文)ヘパリンコファクターを用いた心筋梗塞後心臓リモデリングに対する新規治療法の開発

研究課題名(英文)Development of new treatments for cardiac remodeling after myocardial infarction using heparin cofactor II

研究代表者

岩瀬 俊 (IWASE, Takashi)

徳島大学・大学病院・助教

研究者番号：10403718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：急性心筋梗塞に対する再灌流療法は急性期死亡率の劇的な減少をもたらす。しかしながら慢性期の心臓リモデリングは心機能の低下を来し心不全の発症を招く。ヘパリンコファクターは組織内のトロンビン作用を選択的に阻害することにより多面的作用を発揮する。今回、急性心筋梗塞後心臓リモデリングに対するヘパリンコファクターの果たす役割に関して検討した。再灌流療法を施行した急性心筋梗塞症例において血漿ヘパリンコファクター活性90%以上の症例は慢性期に有意に左室拡張末期容積は縮小した。今回の検討によりヘパリンコファクターは急性心筋梗塞に対して抗リモデリング作用を発揮する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Reperfusion therapy has been shown to reduce the acute phase mortality of patients with acute myocardial infarction (AMI). However, cardiac remodeling in chronic phase reduces cardiac function and results in heart failure. Heparin cofactor II (HCII), a serine protease inhibitor, exerts pleiotropic effects through inactivation of thrombin action in various tissue. We examined the effects of HCII against cardiac remodeling in patients with AMI. Left ventricular end-diastolic volume significantly decreased at chronic phase in patients with high plasma HCII activity, suggesting anti-remodeling effects of HCII.

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：心筋梗塞後心臓リモデリング

1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞は冠動脈における粥腫破裂とそれに引き続く血栓形成を基盤として心筋虚血・壊死を来す。近年、経皮的冠動脈形成術による再灌流療法の普及により、我が国における急性心筋梗塞症例の救命率は劇的に改善している。しかし、慢性期に心筋梗塞後心臓リモデリングを来し心不全を発症する症例が増加しており、心筋梗塞の長期予後改善を妨げている。近年の心臓MRIを用いた臨床例の検討により、微小循環障害や出血梗塞などの再灌流障害の病像が明らかとなった。心筋梗塞後心臓リモデリングの発症には再灌流障害を含めた梗塞サイズに加え、梗塞に続発する神経体液性因子（交感神経系、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系: RAS系）活性化とそれによる非梗塞心筋における心筋細胞肥大、線維化が関与する。そのため早期の再灌流療法の実施と再灌流障害防止による梗塞サイズの縮小並びにRAS系阻害薬や遮断薬の早期からの投与が行われているが、心筋梗塞後心臓リモデリングの発症を完全に抑制することはいまだ困難であり、全く新しい視点からアプローチした新規治療法の開発が急務である。

トロンピンは流血中においてはプロテアーゼとしてフィブリン生成などの凝固活性化と血栓形成に関与している。さらにトロンピンは、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、血小板、単球・マクロファージに存在するトロンピン受容体(PAR1)を活性化して、細胞遊走・増殖、活性酸素産生など多彩な作用を発揮し、動脈硬化病変や血管リモデリングの発症・進展に関与していることが知られている。最近では、心筋細胞や心筋線維芽細胞にもトロンピン受容体が存在し、心肥大・心リモデリングにおいても重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。加えてトロンピン受容体とアンジオ

テンシン受容体とはいずれも7回膜貫通型G蛋白共役型受容体で、共通の細胞内シグナル伝達系を活性化するため、組織トロンビン系は組織RAS系とクロストークしている可能性がある。

ヘパリンコファクターは組織内の細胞外マトリックスに存在するデルマトン硫酸と結合することで活性化し、トロンビン作用を阻害する。我々は組織内のトロンビン作用を選択的に阻害するヘパリンコファクターの作用に着目し、組織トロンビン系の循環器疾患に対する意義を検討してきた。この結果、我々が見出した先天性ヘパリンコファクター欠乏症例では多彩な動脈硬化病変を呈すること(Kanagawa Y. et al. *Thromb Haemost.* 2001;85:101-7)、血漿ヘパリンコファクター活性が高い患者では冠動脈ステント留置後のステント再狭窄や頸動脈硬化症の頸動脈プラーク形成が抑制されることを報告した(Takamori N. et al. *Circulation.* 2004;109:481-6, Aihara K. et al. *Circulation.* 2004;109:2761-5)。更にヘパリンコファクター欠損マウスを用いて血管障害モデルを作成し、ヘパリンコファクターが欠損した状態では組織トロンピンの作用が増強され、血管障害が増強するが、ヘパリンコファクターを補充することによりその血管障害が抑制されることを見出した(Aihara K. et al. *J Clin Invest.* 2007;117:1514-26)。最近ではRAS系活性化による心筋リモデリングにおける組織トロンビン系の関与についても同様の検討を行い、ヘパリンコファクターが組織内のトロンビン作用を抑制することで局所における活性酸素発生を抑制し、心筋肥大、線維化などの心筋リモデリングの過程を抑制することを報告している(Sumitomo-Ueda Y. et al. *Hypertension.* 2010;56:430-6)。

2. 研究の目的

本研究の目的は急性心筋梗塞後心臓リモデリングに対する組織トロンピン系、ヘパリンコファクターの果たす役割を明らかにし、心筋梗塞後心臓リモデリング予防のための新規治療法開発に結びつけることである。

3. 研究の方法

24 時間以内に再灌流療法を施行した急性心筋梗塞症例を対象にヘパリンコファクター活性の経時的変化を検討した。また同時に急性心筋梗塞急性期（発症後 1 週間以内）および慢性期にガドリニウム遅延造影や T2 強調画像を含めた心臓 MRI を実施し、各種心臓リモデリング指標と急性心筋梗塞発症時の血漿ヘパリンコファクター (HC II) 活性の関係について検討を行った。更には、前述した MVO や出血性梗塞等、心臓 MRI 上の梗塞パターンと血漿ヘパリンコファクター活性の関係も検討した。

4. 研究成果

(1) 対象症例

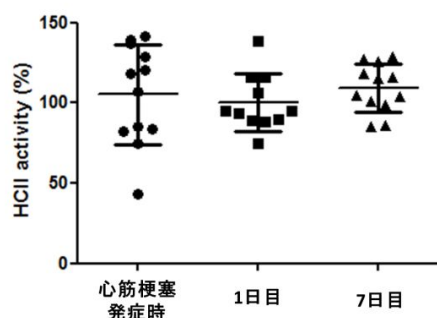
今回の検討の対象症例は計 23 例（男性 22 例）で、平均年齢は 58 ± 12 歳。冠危険因子として 13 例が高血圧、16 例が脂質異常症、9 例が糖尿病を有していた。喫煙歴は 19 例で認められた。再灌流時間は平均 5.5（1～19）時間で、最大クレアチニンキナーゼ (Peak CK) 値は 3585 ± 2567 U/L であった。全例、抗血小板薬ならびに ACE 阻害薬もしくはアンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) などの RAS 系阻害薬を内服しており、56% の症例が遮断薬を内服していた。

(2) 急性心筋梗塞における血漿 HC II 活性の経時変化

急性心筋梗塞発症 24 時間以内の急性期における血漿 HC II 活性は $102.58 \pm 25\%$ (43.8～147.2) で、6 例では HC II 活性は 85% 以下と低値を示した。心筋梗塞発症直後、1 日目、7 日目の HC II 活性の経時的変化を検討した（図 1）。発症直後と比較して 1 日

目、7 日目では HC II 活性は増加する症例が存在したが、全体での有意差は認めなかった。

図 1. 心筋梗塞後血漿 HC II 活性の推移
(3) 急性心筋梗塞急性期の心臓 MRI 所見と血漿 HC II 活性の比較



全症例に対して急性期に心臓 MRI 検査を施行した。急性期の左室拡張末期容積および左室駆出率はそれぞれ 136.6 ± 36 ml, $39.3 \pm 9.3\%$ であった。ガドリニウム遅延造影ならびに T2 強調画像による検討では 21 例がガドリニウム遅延造影陽性をしめし、MVO を 13 例において認めた。また 18 例で T2 強調画像における異常高信号領域を認め、出血性梗塞の所見を 8 例で認めた。MVO の有無および出血性梗塞の有無で二群間に分け、左室拡張末期容積 (LVEDV)、左室収縮末期容積 (LVESV)、左室駆出率 (LVEF)、Peak CK 値および血漿 HC II 活性を比較した（表 1, 2）。出血性梗塞症例を有する症例において Peak CK 値が有意に高値であったが、LVEDV, LVESV, LVEF, 血漿 HC II 活性には明らかな差は認めなかった。

表 1. 出血性梗塞の有無と心機能指標の比較

	出血性梗塞あり (n = 7)	出血性梗塞なし (n = 16)	P 値
LVEDV (ml)	136.2 ± 32.4	136.8 ± 38.6	ns
LVESV (ml)	80.1 ± 27.0	86.7 ± 31.2	ns
LVEF (%)	42.0 ± 9.0	37.7 ± 9.4	ns
HC II 活性 (%)	95.4 ± 23.9	106.3 ± 26.1	ns
Peak CK (U/L)	5037 ± 3216	2810 ± 1826	0.04

表 2. MVO の有無と心機能指標の比較

	MVOあり (n = 13)	MVOなし (n = 9)	P値
LVEDV (ml)	141.7 ± 31.7	124.2 ± 39.3	ns
LVESV (ml)	85.9 ± 27.2	79.0 ± 33.4	ns
LVEF (%)	40.2 ± 9.0	38.1 ± 10.5	ns
HC II 活性 (%)	103.0 ± 25.8	105.2 ± 25.2	ns
Peak CK (U/L)	3438 ± 2365	3385 ± 817	ns

(4)慢性期左室機能改善効果と血漿 HC 活性の関係について

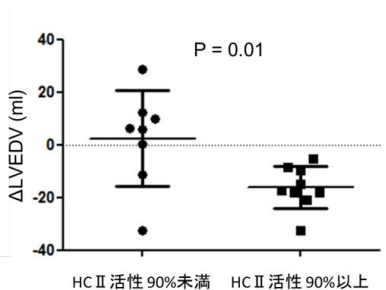
23 例中 17 症例は心筋梗塞後発症 6 ヶ月後(177 ± 44 日)の慢性期に再度心臓 MRI 検査による心機能解析を行った。LVEDV、LVESV は共に縮小傾向を認め、LVEF は有意に増加した(表 3)。

表 3. 急性期と慢性期の心機能指標

	急性期	慢性期	P値
LVEDV (ml)	130.0 ± 32.5	122.6 ± 37.8	0.08
LVESV (ml)	78.5 ± 27.6	70.8 ± 34.9	0.06
LVEF (%)	40.7 ± 9.8	44.6 ± 12.3	0.02

慢性期の左室機能改善効果におよぼす HC の影響を検討するため経時変化を観察した 17 症例における心筋梗塞発症時の血漿 HC 活性中央値 90%を基準にし、HC 活性 90%未満、HC 活性 90%以上の二群間で検討した。左室拡張末期容積の縮小度(LVEDV)は HC 活性 90%以上の症例では有意に高値であった(図 2)。一方、出血性梗塞の有無で LVEDV に有意差は認めなかった。

図 2. 血漿 HC 活性値と左室拡張末期容積(LVEDV)変化量の関係



(5)考察並びに今後の展望

今回の検討において以下のことが明らかになった。1)心筋梗塞急性期に血漿 HC 活性が低値をしめす症例が存在する。2)心臓 MRI で出血性梗塞を呈する症例は梗塞量が有意に多いが、梗塞量と血漿 HC 活性の間には明らかな相関関係は認めない。3)心筋梗塞発症 6 ヶ月後の慢性期において血漿 HC 活性が 90%未満の症例は効率に左室容積の拡大を認めた。一方、血漿 HC 活性が 90%以上の症例において有意に左室容積は縮小した。

今回の対象症例では発症後 24 時間以内の急性再灌流療法ならびに RAS 系阻害薬、遮断薬内服などの既存の治療をうけていた。症例全体での検討では左室容積は縮小傾向を示し、左室駆出率は有意に増加していた。一方、血漿 HC 活性が低値の症例においては高率に慢性期左室容積の増大を認めた。我々の検討では血漿 HC 活性が 80%未満と低い症例では冠動脈ステント留置後のステント再狭窄が高率に来すことを見いだしている(Takamori N. et al. *Circulation*. 2004;109:481-6)。また動物モデルを用いた検討において、HC が組織内のトロンビン作用を抑制することで局所における活性酸素発生を抑制し、心筋肥大、線維化などの心筋リモデリングの過程を抑制することを報告してきた(Sumitomo-Ueda Y. et al. *Hypertension*. 2010;56:430-6)。今回の結果を合わせると心筋梗塞急性期においても、HC が心筋リモデリングの過程を抑制する可能性が示唆された。

近年の心臓 MRI 検査を用いた検討において出血性梗塞の存在が慢性期における左室収縮能低下の規定因子であると報告されている(Ganame J. et al. *Eur Heart J* 2009;30:1440-1449)。今回の検討では急性期の心臓 MRI 検査において出血性梗塞を呈した症例は高い梗塞心筋量を呈したが、急性期の左室容積、左室駆出率は出血性梗塞の有無での違いはなく、慢性期の左室容積の変化とも明らかな関係は見いだせなかった。急性期心

臓 MRI 検査所見と左室リモデリングの関係については、より複数例での検討が必要と考えられた。

今後は症例を重ねることおよび作用機序に関する詳細な検討を加えることにより、心筋梗塞後左室リモデリングに対する HC の果たす役割ならびに創薬の可能性について検討できることが期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

1) Yoshida S, Aihara KI, Ikeda Y, Sumitomo-Ueda Y, Uemoto R, Ishikawa K, Ise T, Yagi S, Iwase T, Mouri Y, Sakari M, Matsumoto T, Takeyama KI, Akaike M, Matsumoto M, Sata M, Walsh K, Kato S, Matsumoto T. Androgen Receptor Promotes Sex-Independent Angiogenesis in Response to Ischemia and Is Required for Activation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Signaling. *Circulation*. 2013;128:60-71. 査読 有

2) Yamaguchi K, Wakatsuki T, Soeki T, Niki T, Taketani Y, Oeduka H, Kusunose K, Ise T, Iwase T, Yamada H, Sata M. Effects of Telmisartan on Inflammatory Cytokines and the Coronary Plaque Component as Assessed on Integrated Backscatter Intravascular Ultrasound in Hypertensive Patients. *Circ J*. 2013;78:240-247. 査読 有

3) Ise T, Fujioka K, Iwase T, Hotchi J, Akaike M, Sata M. Ulcer-like projection caused by a penetrating branch to the bronchial artery. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61:e147. 査読 有

4) Ikeda Y, Aihara KI, Yoshida S, Iwase T, Tajima S, Izawa-Ishizawa Y, Kihara Y, Ishizawa K, Tomita S, Tsuchiya K, Sata M, Akaike M, Kato S, Matsumoto T, Tamaki T. Heparin cofactor II, a serine

protease inhibitor, promotes angiogenesis via activation of the AMPK-eNOS signaling pathway. *J Biol Chem*. 2012;287:34256-34263. 査読 有

5) Yagi S, Akaike M, Aihara K, Iwase T, Yoshida S, Sumitomo-Ueda Y, Ikeda Y, Ishikawa K, Matsumoto T, Sata M. High plasma aldosterone concentration is a novel risk factor of cognitive impairment in patients with hypertension. *Hypertens Res*. 2011;34:74-78. 査読 有

6) Yagi S, Akaike M, Aihara KI, Iwase T, Ishikawa K, Yoshida S, Sumitomo-Ueda Y, Kusunose K, Niki T, Yamaguchi K, Koshihara K, Taketani Y, Tomita N, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Matsumoto T, Sata M. Effect of Low-Dose (1 mg/day) Pitavastatin on Left Ventricular Diastolic Function and Albuminuria in Patients With Hyperlipidemia. *Am J Cardiol*. 2011;107:1644-1649. 査読 有

7) Ise T, Aihara KI, Sumitomo-Ueda Y, Yoshida S, Ikeda Y, Yagi S, Iwase T, Yamada H, Akaike M, Sata M, Matsumoto T. Plasma Heparin Cofactor II Activity is Inversely Associated with Left Atrial Volume and Diastolic Dysfunction in Humans with Cardiovascular Risk Factors. *Hypertens Res*. 2011;34:225-231. 査読 有

8) Hashizume S, Akaike M, Azuma H, Ishikawa K, Yoshida S, Sumitomo-Ueda Y, Yagi S, Ikeda Y, Iwase T, Aihara KI, Abe M, Sata M, Matsumoto T. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor in megakaryocytes reduces platelet-derived growth factor-BB in

platelets. J Atheroscler Thromb.
2011;18:138-147. 査読 有

〔学会発表〕(計 4件)

1) Iwase T, Takao T, Akaike M, Ise T, Yagi S, Yamaguchi K, Yamada H, Nishioka Y, Harada M, Sata M. Differentiation of left ventricular systolic dysfunction related to cardiac sarcoidosis and other heart diseases using contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance. ESC Congress 2013, 31 Aug- 4 Sep, 2013, Amsterdam RAI (Amsterdam, Netherlands)

2) Iwase T, Takao S, Akaike M, Ise T, Niki T, Ueda Y, Yamaguchi K, Taketani Y, Yamada H, Soeki T, Aihara K, Wakatsuki T, Nishioka Y, Harada M, Sata M. Differentiation of Left Ventricular Systolic Dysfunction Related to Cardiac Sarcoidosis and Other Heart Diseases Using contrast-enhanced Cardiovascular Magnetic Resonance. 第77回日本循環器学会学術集会, 3月15-17日, 2013, パシフィコ横浜(神奈川県、横浜市)

3) Ise T, Yagi S, Iwase T, Akaike M, Kadota M, Hara T, Bando S, Niki T, Hotchi J, Tomita N, Yamaguchi K, Taketani Y, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M. Acute Hemodynamic Effects of Adaptive Servo-Ventilation in Patients with Chronic Left Heart Failure. AHA Scientific Sessions 2012, November 3-7, 2012, Los Angeles Convention Center (Los Angeles, America)

4) Iwase T, Takao S, Akaike M, Ise T, Niki T, Kusunose K, Sumitomo-Ueda Y, Tomita N, Yamaguchi K, Taketani Y,

Yamada H, Soeki T, Aihara K, Wakatsuki T, Harada M, Sata M. Detection of Cardiac Involvement in Patients with Sarcoidosis Using Cardiac Magnetic Resonance. AHA Scientific Sessions 2011, November 12-16, 2011, Orange County Convention Center (Orlando, America)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

岩瀬 俊 (IWASE, Takashi)

徳島大学・大学病院・助教

研究者番号: 10403718

(2)研究分担者

佐田 政隆 (SATA, Masataka)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号: 80345214

原田 雅史 (HARADA, Masafumi)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号: 20228654

粟飯原 賢一 (AIHARA, Kenichi)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・講師

研究者番号: 70372711

(3)連携研究者

なし