

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591064

研究課題名(和文)バイオマーカーを用いた急性冠症候群の病態解明と早期診断確立に向けた研究

研究課題名(英文)Elucidation of the pathogenesis of acute coronary syndrome and its early diagnosis by useful biomarkers

研究代表者

中里 和彦(Nakazato, Kazuhiko)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90363762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：急性冠症候群の早期診断に役立つ可能性のあるバイオマーカーとして、ネオプテリン、レクチン様酸化LDL受容体-1(LOX-1)、テネイシンC、COヘモグロビン、アクロレイン、RAGE(receptor for AGE: advanced glycation end products)およびHMGB-1(high mobility group box 1)について、その血中濃度を急性冠症候群患者の採血サンプルと安定狭心症患者のものを比較することで検討した。このうち、LOX-1およびテネイシンCの血中濃度は急性冠症候群患者で有意に上昇しており、その早期診断に役立つ可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：As novel and useful biomarkers that may help in early diagnosis of acute coronary syndrome, neopterin, lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1), tenascin C, CO hemoglobin, acrolein, RAGE (receptor for AGE: advanced glycation end products), and HMGB-1 (high mobility group box 1) were investigated.

The blood concentration of each substance, it was compared in acute coronary syndrome (acute myocardial infarction and unstable angina) and stable angina patients. Among them, blood levels of LOX-1 and tenascin C are significantly elevated in acute coronary syndrome patients, suggesting that they can help in early diagnosis of acute coronary syndrome.

研究分野：循環器内科学

キーワード：急性冠症候群 早期診断 バイオマーカー 不安定プラーク

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病やメタボリックシンドロームの罹患数の増加を背景として、動脈硬化性の循環器疾患患者が増加している。命に関わる可能性が高い急性心筋梗塞や不安定狭心症は近年、急性冠症候群として一元的に扱われ、救急医療のなかでも重要な病態の一つとして広く認識されるようになった。急性冠症候群を引き起こす冠動脈病変は狭窄度がそれほど高くない場合も多く、現在では病理学的に「動脈硬化性プラークの破裂とそれに続く血栓形成による急速な冠動脈内腔の閉塞」が共通したメカニズムと考えられている。臨床的には急激に発症し重症化することが多く、他の慢性疾患のように事前に予測して対処することが難しい。さらに発症後は可及的速やかに治療を開始する必要があるが、教科書的な身体所見や検査結果が超急性期にそうすることはまれであるため、その診断は医師の経験や勘に左右される側面がある。そこで、循環器専門医でなくても精度高く診断できる検査法の開発が切望されてきた。近年、急性心筋梗塞を含む心血管病におけるバイオマーカーについての研究が進んでおり、診断および治療への応用が期待されている。例えば、心筋トロポニンTは古典的なマーカーであるCK-MBに比べて心筋特異性に優れ、急性冠症候群のリスク層別化や予後予測に有用であることが大規模臨床試験で報告された。我々も急性冠症候群の患者において高感度トロポニンT値を測定したが、全身の循環血液(大動脈採血)よりも冠静脈洞(CS)からの血液サンプルにおいて高値であり、冠循環においてトロポニンTが上昇していることを証明し、日本循環器学会等で報告した。しかし、トロポニンはあくまで心筋障害を反映するマーカーであるため、急性冠症候群の引金である動脈硬化プラークの不安定化や破裂を早期に検知することは出来ない。従来バイオマーカーのみでは急性冠症候群における超急性期の診断やリスク評価を行なうには限界があるため、心筋壊死に陥る前段階であるプラークの不安定化や破裂を鋭敏に検出可能なマーカーの発見が望まれる。一方、プラーク不安定化のメカニズムとしては局所の炎症の関与が明らかになりつつあり、急性冠症候群と高感度CRPに関する報告が相次いでいる。しかし、CRPは肝臓で生産される非特異的炎症マーカーであり、軽微な感染症等でも有意に増加するため、不安定化プラークの検出を目的とした場合には特異度の低下を招く恐れがある。そこで、我々は新規炎症

マーカーとして測定が可能となったpentraxin 3 (PTX3)と活性化マクロファージから分泌される炎症マーカーであるneopterinに着目した。PTX3はpentraxin familyに属する急性炎症蛋白で、内皮細胞におけるインターロイキン1刺激にて誘導される蛋白として同定された。CRPもpentraxin familyに属するが、生産場所が肝臓であるのに対して、PTX3は主として血管内皮細胞、平滑筋細胞、マクロファージ等の血管構成細胞で産生され、肝臓での発現は弱い。このため血管特異的な炎症マーカーとして期待される。実際、研究分担者の竹石らはPTX3の心不全発症と進展における役割について検討し、心不全患者においてPTX3濃度が高いほど心血管イベント発生の相対リスクが増大することを見出している。さらに、他施設からは不安定狭心症患者の血漿中のPTX3濃度が有意に上昇していたという報告がある。一方、neopterinはインターフェロンの刺激により活性化されたマクロファージから分泌されるが、急性冠症候群患者の血中neopterin値が安定狭心症患者や健常人のそれに比べて高値であることが示されている。さらに冠動脈アテレクトミーの組織標本を免疫染色により検討した結果、不安定狭心症の動脈硬化病変にneopterinの高発現がみられたという報告があり、急性冠症候群の発症基盤である不安定プラークの存在と関連している可能性が高い。

2. 研究の目的

初期対処の遅れが予後の悪化に直結する急性冠症候群に対しては、感度と特異度がともに高く、さらに発症直後から陽性所見を示す有用な診断用マーカーが切望されている。不安定な動脈硬化性プラークを反映し、急性冠症候群の早期診断に活用可能なバイオマーカーを探索する。

3. 研究の方法

対象患者の登録

A. 急性冠症候群

当学附属病院で急性冠症候群と診断され、同意の上で緊急冠動脈造影検査を受けた症例。急性冠症候群の定義や冠動脈造影の適応については日本循環器学会の「急性冠症候群の診療に関するガイドライン2007年改訂版」に従った。また、経過中にショックや致死性不整脈を生じた場合には、本邦でも広く普及しているアメリカ心臓協会(AHA)の「心肺蘇生と救急心血管治療のためのガイドライン2005」に沿

って患者の救命を最優先に治療にあたった。

B. 安定狭心症群

当学附属病院で狭心症を疑われ、同意の上で待機的冠動脈造影検査を受けた症例。

* A 群、B 群ともに冠動脈造影検査および研究用採血に同意が得られなかった症例は除外する方針であったが、研究期間中には対象全例から同意の取得が可能であった。患者の臨床データ(病歴、各種検査成績、予後を含む経過、治療内容、服薬内容等)を収集しデータベースに登録した。

-1 血液サンプルの採取方法

血液サンプルは心臓カテーテル検査・治療の際に a)冠静脈洞と b)上行大動脈から採取した。

a. 冠静脈洞からの採血

採血に関わる手技の安全性の確保と時間の短縮を図るため、専用の採血用カテーテル(CS 採血用カテーテル GCS5-CSF5、グッドマン)を用いた。採取量は全血として 17 ml とした。

b. 上行大動脈からの採血

冠動脈造影用カテーテルあるいは冠動脈形成術用ガイディングカテーテルを用いる。採血場所は動脈弁より約 3 cm 上方とする。採血量は A と同様に、全血として 17 ml とした。

-2 血漿分離とサンプルの保存

心血管カテーテル室で血漿分離用の試験管に採血後、サンプルは氷中に置き、カテーテル検査・治療終了後可及的速やかに当講座研究室の遠心分離機で血漿成分を分離した。得られた血漿は滅菌されたマイクロチューブに分注し、直ちに-20 の冷凍庫に保存した。

各種バイオマーカー濃度測定

ストックされた血漿サンプルが一定数に達したら、ELISA 法によって各種バイオマーカー濃度を測定した。計画段階で測定を予定した PTX-3 については他施設から類似の研究結果が報告されたため、探索対象から除外した。最終的にネオプテリン(neopterin)、レクチン様酸化 LDL 受容体-1(LOX-1)、テネイシン C (tenascin C)、一酸化炭素(CO)ヘモグロビンおよびアクロレイン(acrolein)について検討した。

4. 研究成果

急性冠症候群の早期診断に役立つ可能性のあるバイオマーカーとして、検索した上記

物質のうち、LOX-1 と tenascin C は急性冠症候群患者で早期から血中濃度が有意に上昇していた(論文投稿あり)。また、CO ヘモグロビンに関しても興味深い治験を得ている(論文投稿準備中)。一方、neopterin は急性冠症候群と安定狭心症群で有意な差を示さなかった。また、acrolein については急性冠症候群で血中濃度の上昇傾向が確認されたが、鋭敏なマーカーとして使用可能かどうかは現在検討中である。

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 3 件)

1. Nakazato K, Yamaki T, Kijima M, Komatsu N, Sugi M, Seita H, Kanke M, Saito T, Ohwada T, Ono M, Kanazawa M, Abe Y, Sato M, Watanabe M, Suzuki S, Tsuda A, Chiba K, Honda T, Tamagawa K, Watanabe T, Abe W, Maeyama T, Sagawa K, Takahira H, Sodenaga Y, Ohara N, Kobayashi T, Hisa S, Suzuki S, Saito Y, Shineha R, Suzuki F, Matsui J, Tsuboi M, Yui T, Abe S, Nagasawa S, Takaya Y, Maehara K, Maruyama Y, Takeishi Y: Start and initial results of the Fukushima prefecture acute myocardial infarction registration survey. Fukushima J Med Sci 59 (1), 27-34, 2013
2. Sakamoto N, Hoshino Y, Misaka T, Mizukami H, Suzuki S, Sugimoto K, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh S, Takeishi Y: Serum tenascin-C level is associated with coronary plaque rupture in patients with acute coronary syndrome. Heart Vessels 29 (2), 165-170, 2014
3. Misaka T, Suzuki S, Sakamoto N, Yamaki T, Sugimoto K, Kunii H, Nakazato K, Saitoh S, Sawamura T, Ishibashi T, Takeishi Y: Significance of soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 levels in systemic and coronary circulation in acute coronary syndrome. Biomed Res Int 2014, 649185, 2014

[学会発表](計 7 件)

1. 小林 淳, 水上浩行, 坂本信雄, 八巻尚洋, 國井浩行, 中里和彦, 竹石恭知: 急性冠症候群患者における虚血再灌流障害と血中一酸化炭素濃度の関連性の検討. 第 60 回 日本心臓病学会学術集会(2012.9.14-9.16, 金沢)
2. 三浦俊輔, 水上浩行, 坂本信雄, 八巻尚洋, 國井浩行, 中里和彦, 鈴木 均, 齋藤修一, 竹石恭知: 急性冠症候群発

症直前に責任病変を IVUS にて観察することができた一例. 第 26 回 日本心臓血管内視鏡学会 (2012.10.6, 松山)

3. Sakamoto N, Misaka T, Mizukami H, Suzuki S, Sugimoto K, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh S, Takeishi Y: High serum level of tenascin-C is related to coronary plaque rupture in patients with acute coronary syndrome. Scientific Sessions of American Heart Association 2012(2012.11.3-11.7, Los Angeles, California, USA)
4. Yamaki T, Yoshihisa A, Miyata M, Suzuki S, Oikawa M, Sugimoto K, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh S, Kitazume S, Takeishi Y: Soluble amyloid precursor protein 770 is a novel marker for diagnosis of acute coronary syndrome. Scientific Sessions of American Heart Association 2012(2012.11.3-11.7, Los Angeles, California, USA)
5. Kobayashi A, Mizukami H, Sakamoto N, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Takeishi Y: Endogenous carbon monoxide protects against cardiac ischemia/reperfusion injury in nonsmoker patients with acute coronary syndrome. 第 77 回 日本循環器学会学術集会 (The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society) (2013.3.15-3.17, 横浜)
6. Kobayashi A, Mizukami H, Sakamoto N, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Takeishi Y: Endogenous carbon monoxide is helpful to develop collateral flow in acute myocardial infarction. 第 78 回 日本循環器学会学術集会 (The 78th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society) (2014.3.21-3.23, 東京)
7. Kobayashi A, Mizukami H, Sakamoto N, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Takeishi Y: Endogenous carbon monoxide protects against cardiac injury by collateral circulation development with acute myocardial infarction. Congress of the European Society of Cardiology 2014 (2014.8.30-9.3, Barcelona, Spain)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中里和彦 (NAKAZATO Kazuhiko)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号 : 90363762

(2) 研究分担者

竹石恭知 (TAKEISHI Yasuchika)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 40272067

國井浩行 (KUNII Hiroyuki)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 20443856

坂本信雄 (SAKAMOTO Nobuo)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 80448638

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :