

平成 29 年 8 月 21 日現在

機関番号：84404
研究種目：研究活動スタート支援
研究期間：2015～2016
課題番号：15H06914
研究課題名(和文)冠動脈硬化形成におけるPCSK9の役割の解明

研究課題名(英文)PCSK9 and coronary atherosclerosis

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) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：家族性高コレステロール血症症例において、PCSK9は冠動脈硬化と強い相関を有していた(論文・学会発表済み)。また、脳梗塞発症を予測する指標であることも確認した(未発表)。これらの知見は、冠動脈硬化症の機序解明につながるものである。また、新規治療開発にも有用であり、更なる心血管疾患予防において有益な研究結果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that PCSK9 level, especially mature PCSK9 form associated with the extent of coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. The association of PCSK9 with atherosclerotic cardiovascular events was also identified in the analysis of cohort study.

研究分野：動脈硬化

キーワード：動脈硬化症機序解明

1. 研究開始当初の背景

LDL-C 低下作用を有するスタチンを用いた薬物治療は、冠動脈硬化進展を抑制し、心血管イベントを減少させることが報告されてきた。しかし、スタチン内服下でも40-50%の症例において依然として心血管イベントが発生する。このようなスタチン治療の限界(スタチン残余リスク)は、冠動脈硬化進展予防に有効な新しい薬剤の必要性を示唆している。

研究代表者の片岡は、冠動脈血管内超音波を用いた解析により、スタチン内服に対する反応の不良な症例が20%存在し、そのような症例は急速な冠動脈硬化進行、ならびに高率に心血管イベントを発症することを報告している(*Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015;35:990-5)。このようなスタチン治療反応不良症例では、血液中の Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 (PCSK9)が上昇することが報告されており(*J Lipid Res.* 2008;49:394-8,2010;51:2714-21.)、動脈硬化形成ならびに心血管イベント発生において PCSK9 が関与している可能性が示唆されている。

近年、動脈硬化の進展に PCSK9 が関与していることを示した報告が増えている。基礎実験レベルの研究では、PCSK9 がマクロファージ内にコレステロールを蓄積させ脂質コアを形成することが報告された(*FEBS letters.* 2013;587:1271-4)。Ex vivoでの内頸動脈狭窄病変組織の解析では、動脈硬化性粥腫において PCSK9 の発現が確認されている(*Atherosclerosis.*2012;220:381-6)。これらの結果は、動脈硬化における PCSK9 の関与を示唆するものであり、薬物による PCSK9 への介入が動脈硬化抑制に有用である可能性が期待される。しかし、ヒトにおいて in vivo ならびに ex vivo で

の冠動脈脂質コア形成/進展における PCSK9 の役割を解明した研究はこれまで行なわれていなかった。更に、PCSK9 の上昇が動脈硬化性心血管イベント発生に寄与するかについても十分な検討は行われていない。これらの点を明らかにすることは、PCSK9 を標的とした予防、治療法の開発にもつながると考える。

2. 研究の目的

本研究は、冠動脈硬化形成ならびに心血管イベント発症における Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 (PCSK9) の役割について解明し、PCSK9 を標的とした新しい心血管疾患発症予防戦略ならびに新しい治療法の確立を目的とする。この目的を達成するために、1) in vivoでの PCSK9 と冠動脈効果の関係の解析、2) PCSK9 の役割の直接的な解明につながる ex vivo による解析を行なう。さらに、PCSK9 の臨床的意義を明らかにするために、PCSK9 と冠動脈硬化性心血管疾患発症との関連について、都市部一般住民でのコホート研究である吹田研究のデータと凍結保存検体を用いて、明らかにする。

3. 研究の方法

以下に示す多方面からの解析アプローチを用いた。

A) in vivo: NIRS/IVUS による冠動脈粥腫内脂質コア形成と血液中 PCSK9 の関係の解明

冠動脈粥腫形態、特に粥腫内脂質コア形成と血液中 PCSK9 の関係を明らかにすることを目的とする。当院において、冠動脈インターベンション(以下 PCI)の適応を有する冠動脈疾患症例 120 例を対象とする。PCI 標的冠動脈全体を冠動脈イメージング装置 NIRS/IVUS により観察し、PCI 標的病変前後 10mm (総観察長 20mm) を解析対象部位とする。本研究では、研究代表者 片岡がこれまでの発表論文(片岡業績参照)で用いた方法と同様の冠動脈粥腫容積指標(冠粥腫容積、冠粥腫容積率)ならびに粥腫内脂質コア指標(LCBI: lipid burden index)を計測する。

B) in vivo: 血液中 PCSK9 への介入が冠動脈粥腫内脂質コア進展に及ぼす効果の検討

本研究は血液中 PCSK9 への介入の効果を NIRS/IVUS を用いて冠動脈粥腫内脂質コア解析により評価することを目的とする。共同研究者である当センター研究所病態代謝部の斯波は、家族性高コレステロール血症症例に対して行われる LDL アフェレーシスは、血液中の PCSK9 を除去しうることを報告した(図 4, *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:E41-49)。この結果をもとに、本研究では PCI を施行する家族性高コレステロール血症症例で、LDL アフェレーシスを予定している 10 例を登録する。PCI 施行冠動脈内の非標的病変(血管造影上 50-75%の狭窄病変)前後 10mm(総病変長 20mm)を NIRS/IVUS により観察し、同部位を PCI 施行から 1 年後に再度 NIRS/IVUS により観察する。また血液中 PCSK9 値の測定も登録時ならびに 1 年後に行う。1 年間における冠動脈粥腫容積/脂質コア指標の変化と PCSK9 値変化の関係を解析する。

C) ex vivo: 冠動脈粥腫病理組織標本における PCSK9 発現の解析

本研究では剖検心を用いてヒトの冠動脈硬化粥腫における PCSK9 の発現を解析することを目的とする。当センターにて剖検を施行した 20 症例について、冠動脈病変組織標本の解析を行う。観察する粥腫は、50%以上の狭窄病変とする。粥腫組織を 10%ホルマリン固定後にパラフィン包埋し、5 μ m の薄切切片を作成する。抗 PCSK9 (abcam, Cambridge, UK)、抗 CD68 (abcam, Cambridge, UK)、血管平滑筋抗体 (SIGMA Aldrich, Milan, Italy)を用いて免疫染色を行い、各抗体陽性領域の割合を画像解析装置(Image Scope,

Aperio)により算出し定量的解析を行う。更に、組織切片内に観察される脂質コアの面積も計測し、脂質コアの大きさと PCSK9 抗体陽性領域の関係についても評価を行う。

D) コホート研究: 血液中 PCSK9 値と心血管イベント発症リスクとの関係についての解明

吹田研究では、1989年に吹田市住民基本台帳から無作為抽出した30~79歳の男女 12200

人を対象として、当センター予防健診部で経年的(約2年に1回)に追跡を行っているコホート研究であり、これまで心血管疾患発症とその危険因子との関連等について、古典的因子だけでなく新規因子についても数多くの報告がある

(Hypertension 2008; 52: 652-9, Clin Chem 2010; 56: 550-8,

Atherosclerosis 2011; 216: 477-83)。

今回は、吹田研究参加者のうち、1994年度に追跡のための健診を受診し血液検体が凍結保存されており、その後の心血管疾患発症(冠動脈疾患・脳卒中)について追跡調査されている男女約2500人を対象とする。

4. 研究成果

家族性高コレステロール血症症例において、PCSK9 は冠動脈硬化と強い相関を有していた(論文・学会発表済み)。また、脳梗塞発症を予測しうる指標であることも確認した(未発表)。

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 1件)

Kataoka Y, Harada-Shiba M, Nakao K, Nakashima T, Kawakami S, Fujino M, Kanaya T, Nagai T, Tahara Y, Asaumi Y, Hori M, Ogura M, Goto Y, Noguchi T, Yasuda S.

Mature proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, coronary

atheroma burden, and vessel remodeling in heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2017;11:413-421.

〔学会発表〕(計 2件)
2016年 日本循環器学会プレナリーセッション

「The association between PCSK9 subtypes and coronary Atherosclerosis in familial hypercholesterolemia: insights from intravascular ultrasound」

Yu Kataoka, Kazuhiro Nakao, Teruo Noguchi, Satoshi Yasuda, Mariko Harada-Shiba

2016年 日本動脈硬化学会総会シンポジウム

「家族性高コレステロール血症における、血液中 PCSK9 サブタイプ: matured PCSK9 と冠動脈硬化形成の関係: 冠動脈内超音波による解析」

片岡 有

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:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

片岡 有 カタオカ ユウ

Kataoka Yu

国立研究開発法人国立循環器病研究センター

部局: 病院

職: 医長

研究者番号: 70463271

(2)研究分担者
なし ()

研究者番号:

(3)連携研究者
なし ()

研究者番号:

(4)研究協力者
なし ()