

令和元年5月20日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09413

研究課題名(和文) 難治性冠攣縮性狭心症患者における冠微小循環障害バイオマーカーに関する検討

研究課題名(英文) Explorative research of biomarkers for coronary microvascular dysfunction in the patients with vasospastic angina

研究代表者

高橋 潤 (Takahashi, Jun)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：00375081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の成果は以下の2点が挙げられる。一つ目はこれまで長期予後を判断する指標が確立されていなかった冠攣縮性狭心症においてのRhoキナーゼ活性が長期予後新規バイオマーカーであることを同定したことである。二つ目は強力な血管収縮作用と血小板凝集作用を有する血管作動物質として古くから知られているセロトニンの血漿内濃度が、治療抵抗性を示すことが報告されている微小血管型狭心症の診断バイオマーカーであることを世界に先駆けて明らかにしたことである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前述したバイオマーカーの発見は両者とも世界で初めてのことであり、それらバイオマーカーを利用することによって、冠攣縮性狭心症患者の中でも長期予後が不良であったり、微小血管障害を合併するなどのハイリスク患者を層別化することが可能となり、それら難治性冠攣縮における新たな治療戦略の確立につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：We had two major findings in the present study. At first, we demonstrated that Rho-kinase activity in circulating leucocytes is a useful biomarker for not only diagnosis and disease activity assessment but also prognostic stratification of the patients with vasospastic angina (VSA). Second, we showed that plasma concentration of serotonin may be a novel biomarker for coronary microvascular dysfunction in patients with angina and unobstructive coronary arteries.

研究分野：循環器内科、虚血性心疾患

キーワード：冠攣縮性狭心症 微小血管型狭心症 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

狭心症が疑われ冠動脈造影を実施した患者のうち約 40%程度の症例で有意な狭窄病変が認められないことが近年報告されている(Patel et al. *N Engl J Med.* 2010;362: 886-895)。また、米国の WISE study では、有意な狭窄病変がないにもかかわらず虚血所見又は胸痛発作を訴える患者が全米に 300 ~ 400 万人程度存在するとされ、閉塞性冠動脈患者とほぼ同等にクオリティオブライフ (QOL) が阻害され、精神的ストレスの増加や医療費の増大に寄与していることが指摘されている。

冠攣縮性狭心症の発作は、通常、硝酸薬や Ca 拮抗薬などの冠血管拡張薬により抑制することが可能であるが、これらの薬剤に抵抗性を示す、いわゆる難治性冠攣縮性狭心症例が存在する。Sueda らによるとは、長時間作用型 Ca 拮抗薬が処方され退院した症例のうち 63%において発作が再発し、硝酸薬やニコランジルの追加投与が必要であり、それらの症例では冠攣縮誘発試験でびまん性冠攣縮が誘発された。一方、Mohri らは器質狭窄のない狭心症患者の約 25%は微小循環障害に伴うものであり (Mohri et al. *Lancet* 1998;35:1165-1169)、冠攣縮性狭心症患者の約 1/4 は冠微小循環障害を合併したと報告している。さらに重要なことは、冠微小循環障害の合併は冠動脈疾患患者における心血管イベント発生を有意増加させ、特に女性において顕著である点である (Pepine et al. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:2825-2832)。このように、近年、古典的な心筋虚血のメカニズム (動脈硬化性、冠攣縮性) に加えて、微小血管型狭心症を含めた冠微小循環障害が、冠動脈疾患や心筋症、又はたこつぼ型心筋症のような急性循環不全を呈する疾患に関連する第 3 の機序として認識されるようになってきている。

以上から冠微小循環障害を合併する冠攣縮性狭心症患者は長時間作用型 Ca 拮抗薬を中心とした通常治療に抵抗性を示し、胸痛発作のため QOL が低下し、長期予後も不良であることが考えられ、冠攣縮性狭心症患者のリスク層別化のため、微小循環障害合併についてのスクリーニングを可能とするバイオマーカーの確立の意義は大きいものと考えられる。

### 2. 研究の目的

冠攣縮性狭心症の発作は、通常カルシウム拮抗薬や硝酸薬などの冠拡張薬により抑制することが可能であるが、これらの薬剤に抵抗性を示す、いわゆる難治性冠攣縮性狭心症の患者が存在する。近年、冠攣縮性狭心症患者の相当数が冠微小循環障害を合併することが示唆されている。しかしながら冠攣縮性狭心症患者の治療抵抗性と微小循環障害の関連についていまだ不明な点が多く、特にその存在をスクリーニングするバイオマーカーは不明であった。そこで本研究の目的は冠攣縮に関わる重要な分子スイッチである「Rho キナーゼ」と強力な血管収縮作用を有する「セロトニン」が冠攣縮性狭心症患者における微小循環障害合併のバイオマーカーとして有用であるか評価し、さらに予後予測への応用が可能かを検討するものであった。

### 3. 研究の方法

冠攣縮性狭心症 (VSA) 診断のためアセチルコリン負荷試験を施行する症例を、冠動脈造影所見、心電図変化、症状、心筋内乳酸産生によって微小血管障害の有無を診断した。アセチルコリン負荷前後で末梢静脈血、冠動脈、冠静脈洞より採血を行い、血漿セロトニン濃度および末梢白血球 Rho キナーゼ活性を測定し、両者と微小循環障害の有無、冠微小循環機能を反映する諸パラメーター (TIMI フレームカウント、IMR 等) との相関を検討した。さらに冠攣縮性狭心症と診断された症例群は第一選択薬である長時間作用型カルシウム拮抗薬の投与を開始し、全例で胸痛の頻度とクオリティオブライフを評価するためのシアトル狭心症質問票に回答してもらい、死亡・心筋梗塞の発症・心不全や狭心症の増悪による入院といった主要心血管イベントの有無を追跡した。

### 4. 研究成果

(1) アセチルコリン冠動脈内注入による冠攣縮誘発試験中に、心表面の冠動脈に有意な攣縮が認められないにも関わらず、自然発作と同様の胸部症状、虚血性心電図変化、もしくは心筋内乳酸産生などの心筋虚血の直接・間接的所見が認められた際に、微小血管狭心症と定義すると、本研究の対象となった患者 198 名のうち、66 名 (33%) の患者が微小血管狭心症と診断された。本研究で着目したセロトニンは、強力な血管収縮作用と血小板凝集作用を有する血管作用物質として古くから知られている。我々は本研究において、微小血管狭心症患者では、血漿セロトニン濃度が上昇することを世界で初めて明らかにした (図 1A-C)。さらに、微小血管障害の指標の一つとして知られている冠動脈造影時の TIMI frame count とも有意な正の相関関係が認められた。加えて、血漿セロトニン濃度が 9.55nmol/L 以上である事が、微小血管狭心症の診断の基準値になる事を明らかにした。本研究成果は、血漿セロトニン濃度が微小血管狭心症の新たなバイオマーカーになることを世界で初めて明らかにした重要な報告と考えられる。微小血管狭心症は見逃されることもある診断が難しい疾患であるが、血漿セロトニン濃度という新たなバイオマーカーの発見によって診断能が向上し、さらなる病態の解明、至適な治療薬の開発につながる事が期待される。

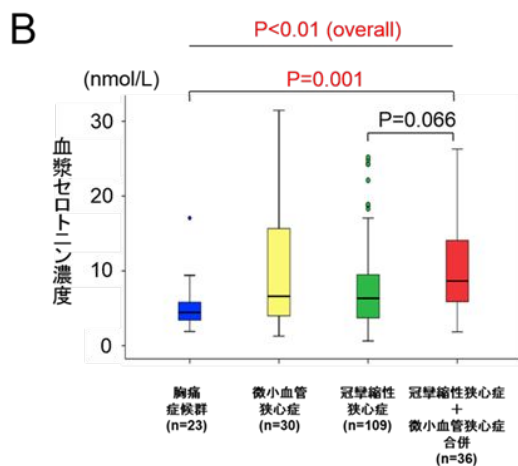
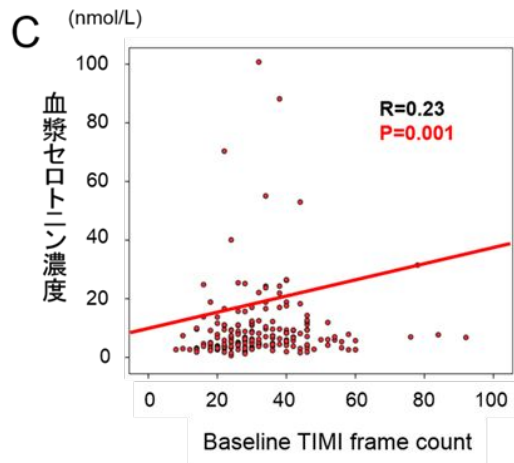
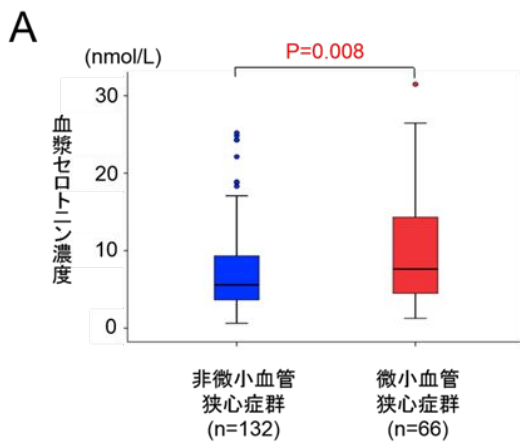


図 1

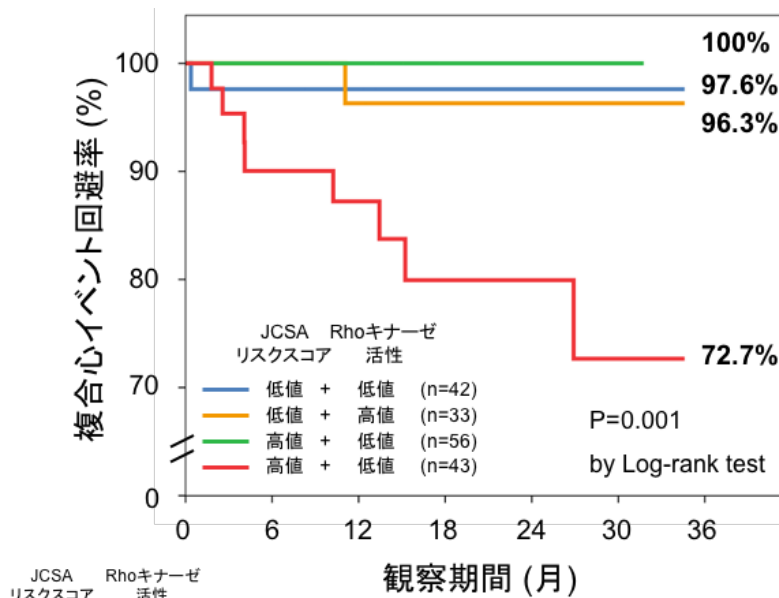
**A:**対象患者を微小血管狭心症の有無別に分類して比較した。微小血管狭心症群が有意に高い血中セロトニン濃度であることが明らかとなった。

**B:**対象患者を冠攣縮性狭心症、微小血管狭心症の有無別に4群に分類して比較した。微小血管狭心症を合併している症例で、血中セロトニン濃度が高値となる事が明らかとなった。

**C:**微小血管狭心症の指標の一つであるTIMI frame countと血漿セロトニン濃度には正の相関関係を認めた。

(2) 我々は、東北大学病院循環器内科において、アセチルコリン冠動脈内注入による冠攣縮誘発試験に基づいて診断したVSA患者の末梢血白血球 Rho キナーゼ活性を測定し、長期予後との関連を検討した。VSA と診断され、末梢血白血球 Rho キナーゼ活性が測定された 174 例において診断時 Rho キナーゼ活性は非 VSA 患者と比較し有意に高く、診断時の Rho キナーゼ活性が高値の VSA 患者群では、Rho キナーゼ活性が低値の VSA 群や非 VSA 群と比較し、経過観察中に冠攣縮発作による不安定狭心症や、心臓死がより高率に発生していた(追跡期間中央値 16 ヶ月)。

さらに、近年報告された VSA の包括的なリスクスコア(JCSA リスクスコア)に末梢血白血球 Rho キナーゼ活性値を組み合わせることで、VSA 患者の予後がより詳細に層別化できることを見出した(図 2)。本研究成果は、末梢血白血球 Rho キナーゼ活性が VSA 患者の長期予後のバイオマーカーになることを世界で初めて明らかにした重要な報告であり、新たな長期予後指標の発見によって診断時点で長期予後不良患者を選別することが可能となり、それらハイリスク患者における治療戦略の改善につながる事が期待される。



JCSA リスクスコア	Rhoキナーゼ活性	42	33	56	43	
低値 + 低値	42	36	27	20	15	7
低値 + 高値	33	29	25	17	13	5
高値 + 低値	56	44	34	20	7	3
高値 + 高値	43	34	27	17	12	7

図 2

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Nihei T, Takahashi J, Hao K, Kikuchi Y, Odaka Y, Tsuburaya R, Nishimiya K, Matsumoto Y, Ito K, Miyata S, Sakata Y, Shimokawa H. Prognostic impacts of Rho-kinase activity in circulating leucocytes in patients with vasospastic angina. Eur Heart J. 2018;39:952-959. doi: 10.1093/eurheartj/ehx657. (査読有)
2. Odaka Y, Takahashi J, Tsuburaya R, Nishimiya K, Hao K, Matsumoto Y, Ito K, Sakata Y, Miyata S, Manita D, Hirowatari Y, Shimokawa H. Plasma concentration of serotonin is a novel biomarker for coronary microvascular dysfunction in patients with suspected angina and unobstructive coronary arteries. Eur Heart J. 2017;38:489-496. doi: 10.1093/eurheartj/ehw448. (査読有)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Suda A, Takahashi J, Hao K, Kikuchi Y, Shindo T, Komatsu M, Odaka Y, Matsumoto Y, Miyata S, Sakata Y, Shimokawa H. Important prognostic impact of comorbid coronary microvascular dysfunction in patients with vasospastic angina. 2017 年 8 月 26 ~ 8 月 30 日, ESC Congress 2017 (Barcelona, Spain)
2. Odaka Y, Takahashi J, Suda A, Komatsu M, Kikuchi Y, Hao K, Matsumoto Y, Sakata Y, Miyata S, Shimokawa H. Plasma Concentration of Serotonin is a Novel Biomarker for Coronary Microvascular Dysfunction in Patients with Suspected Angina and Unobstructive Coronary Arteries. 第 81 回日本循環器学会学術集会 (3 月 17 日 ~ 19 日、2017 年、金沢市)

3.

〔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 :

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 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 下川 宏明

ローマ字氏名 : Hiroaki Shimokawa

所属研究機関名 : 東北大学医学研究科

部局名 : 循環器内科

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 00235681

(2)研究協力者

研究協力者氏名：小鷹 悠二

ローマ字氏名：Yuji Odaka

研究協力者氏名：二瓶 太郎

ローマ字氏名：Taro Nihei

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。