

令和元年6月11日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09450

研究課題名(和文) OCT及びMRIを用いた急性冠症候群(ACS)におけるエクソソームの関与の検討

研究課題名(英文) The role of exosome on the acute coronary syndrome using by OCT and MRI

研究代表者

葭山 稔 (YOSHIYAMA, MINORU)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：30240956

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：急性冠症候群の原因としてはプラーク破裂とびらん以外にcalcified noduleが認められた。今回の我々の検討ではその程度は少なかった。心筋梗塞後の心機能、心臓リモデリングや心筋救済率が急性心筋梗塞患者の予後を規定すると考えられた。しかし来院から再灌流までに要する時間が心筋救済率とは必ずしもはっきりした関係は認められなかった。今回測定したエクソソームは細胞間コミュニケーションの重要な役割を担っていると考えることで焦点を当てた解析を行ったが、心筋救済率が高い群と低い群ではエクソソームに関してはその群間では特に優位な変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性冠症候群に関しては早期に治療を始めることが重要であるが、時間以外において心筋障害を少なくする因子はあると思われる。特に都会以外では早期に再灌流療法ができない地区もある。この心筋保護因子を見つけることは、社会的には極めて意義があると思われる。細胞から分泌されるエクソソームがその因子になる可能性があると思われるので、ぜひこの研究を続けていくことは重要であると考えている。

研究成果の概要(英文)：We examined the plaque rupture, erosion and calcified nodule in acute coronary syndrome patients using by the OCT. The calcified nodule is concerned to the one of the cause in acute coronary syndrome. Cardiac function, cardiac remodeling affected the prognosis after acute cardiac myocardial infarction. The salvage rate of myocardium was related to the prognosis after acute myocardial infarction. However, the salvage rate of myocardium, and the amount of the exosome were not related to the door to balloon time. Cardiac protection to the ischemic myocardium is very important to improve the prognosis. The door to balloon time is considered to be the key factor for improving the prognosis due to protect the ischemic myocardium. However, we could not show the relationship between the time and the cardiac protection. In this study, we also could not find out for the exosome to be a new factor to protect the ischemic myocardium. We have to have a further study about cardiac protection.

研究分野：循環器内科、急性冠症候群、心不全、分子生物学、心血管イメージング

キーワード：急性冠症候群 心筋保護 マイRNA

1. 研究開始当初の背景

近年、急性心筋梗塞は冠動脈内のプラークの形成および破綻やびらんを中心とする「急性冠症候群」の枠組みで捉えられている。「不安定な」プラークが破裂することやびらんにより、血栓が形成され、冠動脈の内腔が塞がれて不安定狭心症、急性心筋梗塞が発症する。急性心筋梗塞の治療としては、薬物療法もあるが、主流は再灌流療法である。再灌流療法は、血栓によって血流が途絶えたために生じる心筋の壊死を、なるべく小範囲にとどめることが目的であり、「来院から再灌流までに要する時間」が鍵となる。再灌流療法は、虚血の早期解除による心筋梗塞サイズの縮小を臨床的有効性の機序とするが、同時に再灌流により心筋組織内に活性酸素が生じ再灌流傷害が惹起され、梗塞サイズの縮小効果が減弱されるという欠点を併せ持っている。基礎研究では、preconditioning や postconditioning などや種々の薬剤が、虚血心筋保護効果があることは証明されている。

エクソソームは、ほとんどの細胞で分泌される直径 50nm ~ 150nm 程度の膜小胞である。生体では唾液、血液、尿、羊水、悪性腹水等の体液中で観察され、培養細胞からも分泌されている。近年、エクソソームは、離れた細胞や組織に情報を伝達するための役割を担っている可能性が指摘されている。

2. 研究の目的

OCT (Optical Coherence Tomography : 光干渉断層撮影) とは、近赤外線と光干渉計を用いて微小な組織を観察する高画質の断層画像技術である。画像診断カテーテルを用いて血管内の断層撮影を行う。そしてその高い解像度により、65 μ m 未満の薄い線維性被膜や線維性被膜下の大きな脂質コアを観察することができるため急性冠症候群の発症原因となりえる不安定プラーク検出の可能性がある。また心臓 MRI により心臓形態、心機能、心筋性状さらに T2 強調画像で虚血部位を、遅延造影 MRI で梗塞部位を求めることができる。虚血部においてどれだけ梗塞になったかという心筋救済率の定量評価も行うことができる。今回、OCT と心臓 MRI を用いて急性冠症候群における画像解析を行い、同時に、急性冠症候群におけるエクソソームの病態関与と虚血心筋保護効果への関与を検討することが研究の目的である。

3. 研究の方法

当院に入院中した冠動脈疾患患者である安定狭心症、急性冠症候群に対して OCT を行う。急性心筋梗塞患者においては、入院後 7 日目と退院後 6 か月目に心臓 MRI で心臓の形態、心機能および心筋救済率を測定する。また、超音波検査法により心機能を計測する。血中エクソソームを採取しその機能解析も試みる。

対象は、大阪市立大学循環器内科に入院する冠動脈患者である、安定狭心症、急性冠症候群の患者である。入院された冠動脈疾患患者に関しては、退院後も、主要な心血管イベント (MACE) の発生率を比較する。MACE の定義は、(1) 心血管死、(2) 非致死的心筋梗塞、(3) 入院を要する不安定狭心症、(4) 入院を要する心不全、(5) 入院を要する脳卒中、(6) 入院を要する他の心血管イベントとする。

冠動脈検査と OCT

今回の対象患者全員に心臓カテーテル検査を行い、必要な症例にはインターベンション治療も行う。OCT に関しては、画像診断カテーテルを用いて血管内の断層撮影を行う。線維性被膜や線維性被膜下の大きな脂質コアを観察する。プラークの破裂の有無や血栓の存在も確かめる。OCT による観察は 0.2mg のニトログリセリンを冠動脈に動注したのちに行う。OCT 画像は time-domain (TD) OCT (M2CV OCT Imaging System; LightLab Imaging, Westford, MA, USA) を用いるか、frequency-domain (FD) OCT (C7-XR OCT Intravascular Imaging System; St Jude Medical, St Paul, MN, USA) もしくは、optical frequency-domain imaging (OFDI) device (Terumo OFDI system; Terumo Corporation, Tokyo, Japan) を用いて観察を行う。以下、M2 システム、C7 システム、OFDI システムと称する。冠動脈内 OCT 画像取得は、以前から報告されているように定型的に行う。つまり、M2 システムでは、0.016 インチの OCT カテーテルを観察関心領域まで持っていき、3 フレンチの occlusion balloon カテーテルで血流を遮断する。

その際、関心領域の近位部で 0.6 気圧の圧力で occlusion balloon の拡張を行い、硫酸リンゲル液を 0.5 mL/s の流速で冠動脈を還流することにより血球成分の除去を行う。そうした上で、OCT カテーテルを 1 mm/s の速さでプルバックを行うことで関心領域の観察を行う。C7 システムでは、2.7 フレンチの OCT カテーテル (Dragonfly; LightLab Imaging, Westford, MA, USA) を関心領域の遠位部に持っていき、造影剤もしくはデキストランの速やかなる冠動脈への還流を以って血球成分を除去し、自動プルバックにより関心領域の観察を行う。OFDI システムでは、C7 システムと同様に関心領域の遠位部に OFDI カテーテルを持っていき、デキストランもしくは造影剤の冠動脈動注により血球成分を除去し、20 mm/s の速さで自動プルバックを行うことにより観察を行う。

心血管画像診断法 (超音波検査、心臓 MRI) による心血管機能評価、心筋救済率の測定 3 次元心エコーを含めた心エコーにより、収縮機能およびリモデリングの指標として左室拡張末期容量、収縮末期容量、駆出率、拡張機能として左室流入速血流波形、組織ドブラ

波形を計測する。また、心臓 MRI により心機能、心臓の形態心筋救済率の測定評価を行う。心筋救済率とは梗塞後 7 日目 MRI により T2 強調画像で虚血領域を測定して、ガドミニウムの取り込みで梗塞領域を評価する。虚血領域の範囲で梗塞領域の範囲を測定して梗塞領域を評価する。梗塞領域/虚血領域で心筋救済率を算出する。以下に詳細に心臓 MRI について述べる。

心臓 MRI 画像は 1.5-T 装置(Achieva, Philips Medical Systems, Best, the Netherlands) および 32ch コイルを使用し、以下のごとくシネ MRI・T2 強調 Black-Blood (T2-BB)画像・遅延造影画像の撮像を行う。最初に位置決め撮像を行う。次に位置決め画像をもとに、左室形態・機能の評価するシネ MRI を steady-state free-precession sequence 法を用いて、スライス厚 10mm、ギャップなしで 4 方向撮像する。まず体軸水平断像を撮像し、続いて僧帽弁の中心と心尖部を結ぶラインに角度をあわせた垂直長軸像の撮像を行う。次に垂直長軸像を用いてプランを行う。僧帽弁の中心と心尖部を結ぶラインに角度をあわせた水平長軸像の撮像を行う。次に水平長軸像を用いてプランを行い、水平長軸像に対して垂直となる角度にあわせた左室短軸像の撮像を行う。最後に左室短軸像を用いてプランを行う。心基部よりの左室短軸像にて、左室中心と右室角を結ぶラインに角度をあわせ四腔長軸像の撮像を行う。

続いて、心筋の浮腫を評価する T2-BB 画像の撮像を inversion recovery fast-spin echo sequence 法を用いて、先のシネ MRI と同様の断面での撮影を行う。最後に心筋のバイアピリティを評価する遅延造影画像の撮像を、呼吸停止下 inversion recovery-segmented gradient-echo 法を用いてスライス厚 10mm、ギャップなし、ボクセルサイズ 1.6 x 1.6 x 10 mm で撮像する。まず、ガドリニウム造影剤を体重あたり 0.10 mmol/kg の用量で投与し、5-10 分後に正常心筋の Null Point を調べるための Look Locker の撮像を行う。造影剤投与 10 分後より、Look-Locker 法にて得られた inversion time を用いて、先のシネ MRI と同様の断面での撮影を行う。

細胞間コミュニケーションの重要な役割を担っているエクソソームに焦点を当てた解析を行う。血中からエクソソームを抽出して、そこに含まれる microRNA を網羅的に解析し、病態に関与する microRNA を同定する。血清中エクソソームの抽出・精製法は確立できており、エクソソームに含まれるマイクロ RNA の発現解析を行う。

4. 研究成果

我々は、急性冠症候群において、OCT によりプラーク破裂は 55%であることを確認した。急性冠症候群の原因としてはプラーク破裂とびらん以外に calcified nodule が認められた、OCT での " Calcified nodule " の定義は、" 内腔に突出したカルシウムで、多くは sharp angle で突出するもの " とされている。今回の我々の検討では、その程度は 5 %程度であった。calcified nodule は急性冠症候群の原因としては決して多くはないと思われる。また、心臓 MRI では、心機能、心臓の形態が正確に評価でき、ガドミニウムの造影により心筋組織の線維化を正確に判定できた。そして、T2 強調画像で虚血部位を、遅延造影 MRI で梗塞部位を求めることができるので、虚血部においてどれだけ梗塞になったかという心筋救済率の定量評価も行うことができた。ただ、この方法を用いて、3 人の専門家にその心筋救済率を、計測者間のばらつきをなくすために、それを計測するソフトを用いて検討した、結果はそのソフトを用いることにより心筋救済率の測定者間の誤差を小さくすることができた。来院から再灌流までに要する時間が、心筋の壊死を、なるべく小範囲にとどめることの鍵となると考えられている。今回は、心筋梗塞後の心機能、心臓リモデリングや心筋救済率が急性心筋梗塞患者の予後を規定することが証明できました。しかし、来院から再灌流までに要する時間が心筋救済率とは必ずしもはっきりした関係は認められなかった。その原因としては、来院から再灌流までに要する時間よりも急性心筋梗塞発症から再灌流までの時間が重要である可能性がある。しかし、我々の経験では、その時間が短くても大きな梗塞サイズの心筋梗塞が存在することから考えると時間以外に関与する因子があると思われる、ただ、今回測定したエクソソームは細胞間コミュニケーションの重要な役割を担っていると考えると焦点を当てた解析を行ったが、心筋救済率が高い群と低い群では、エクソソームに関しては、その群間では特に優位な変化は認められなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 18 件)

1. Tamura S, Iwata S, Ito A, Ishikawa S, Mizutani K, Izumiya Y, Yamada T, Murakami T, Shibata T, Yoshiyama M. Greater Nocturnal Blood Pressure Is Associated With Natriuretic Peptide Level in Aortic Stenosis With Preserved Ejection Fraction. *Circ J*. 査読有、2019 Jan 25;83(2):447-451. doi: 10.1253/circj.CJ-18-0818.
2. Ito A, Iwata S, Ehara S, Izumiya Y, Yoshiyama M. Clinical usefulness of dobutamine stress echocardiography for the assessment of double-chambered right ventricle. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 査読有、2019 Jan 1;20(1):120. doi: 10.1093/ehjci/iej158.

3. Ehara S, Matsumoto K, Kitada R, Nishimura S, Shimada K, Yoshiyama M. Clinical significance of discrepant mid-wall late gadolinium enhancement in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *Heart Vessels*. 査読有 2018 Dec;33(12):1482-1489. doi: 10.1007/s00380-018-1196-3.
4. Doi A, Takagi M, Katayama H, Yoshiyama T, Hayashi Y, Tatsumi H, Yoshiyama M. Diagnostic value of electrocardiographic P-wave characteristics in atrial fibrillation recurrence and tachycardia-induced cardiomyopathy after catheter ablation. *Heart Vessels*. 査読有、 2018 Nov;33(11):1381-1389.
5. Shibata A, Hanatani A, Izumi Y, Kitada R, Iwata S, Yoshiyama M. Serum brain-derived neurotrophic factor level and exercise tolerance complement each other in predicting the prognosis of patients with heart failure. *Heart Vessels*. 査読有、 2018Nov;33(11):1325-1333. doi: 10.1007/s00380-018-1174-9.
6. Yoshiyama T, Sugioka K, Naruko T, Nakagawa M, Shirai N, Ohsawa M, Yoshiyama M, Ueda M. Neopterin and Cardiovascular Events Following Coronary Stent Implantation in Patients with Stable Angina Pectoris. *J Atheroscler Thromb*. 査読有、 2018 Nov 1;25(11):1105-1117.
7. Nonin S, Iwata S, Ito A, Tamura S, Kitada R, Kawai Y, Ishikawa S, Doi A, Hanatani A, Yoshiyama M. Right ventricular enlargement predicts responsiveness to tolvaptan in congestive heart failure patients with reduced ejection fraction. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 査読有、 2018 Oct 10;21:69-73. doi: 10.1016/j.ijcha.2018.09.008.
8. Doi A, Takagi M, Yoshiyama M. Conversion of wide QRS tachycardia with a long RP interval in pre-excitation syndrome: What is the mechanism? *J Cardiovasc Electrophysiol*. 査読有、 2018 Oct;29(10):1450-1453. doi: 10.1111/jce.13667.
9. Norioka N, Iwata S, Ito A, Tamura S, Kawai Y, Nonin S, Ishikawa S, Doi A, Hanatani A, Yoshiyama M. Greater nighttime blood pressure variability is associated with left atrial enlargement in atrial fibrillation patients with preserved ejection fraction. *Hypertens Res*. 査読有、 2018 Aug.41(8):614-621. doi: 10.1038/s41440-018-0060-2.
10. Ito A, Iwata S, Mizutani K, Nonin S, Nishimura S, Takahashi Y, Yamada T, Murakami T, Shibata T, Yoshiyama M. Echocardiographic parameters predicting acute hemodynamically significant mitral regurgitation during transfemoral transcatheter aortic valve replacement. *Echocardiography*. 査読有、 2018 Mar;35(3):353-360. doi: 10.1111/echo.13792.
11. Hayashi Y, Takagi M, Kakahara J, Sakamoto S, Tatsumi H, Doi A, Iwata S, Sugioka K, Yoshiyama M. Impact of simple electrocardiographic markers as predictors for deterioration of left ventricular function in patients with frequent right ventricular apical pacing. *Heart Vessels*. 査読有、 2018 Mar;33(3):299-308. doi: 10.1007/s00380-017-1052-x
12. Sano S, Oshima K, Wang Y, MacLauchlan S, Katanasaka Y, Sano M, Zuriaga MA, Yoshiyama M, Goukassian D, Cooper MA, Fuster JJ, Walsh K. Tet2-Mediated Clonal Hematopoiesis Accelerates Heart Failure Through a Mechanism Involving the IL-1 /NLRP3 Inflammasome. *J Am Coll Cardiol*. 査読有、 2018 Feb 27;71(8):875-886. doi: 10.1016/j.jacc.2017.12.037.
13. Sakamoto S, Kataoka T, Kanai M, Tamura K, Iguchi T, Tatsumi H, Doi A, Yoshiyama M. Multiple coronary artery spasms triggering life-threatening ventricular arrhythmia associated with the radiofrequency ablation of ganglionated plexuses of the left atrium. *J Cardiol Cases*. 査読有、 2018 Jan 17;17(4):133-136. doi: 10.1016/j.jccase.2017.12.004.
14. Ishikawa S, Sugioka K, Sakamoto S, Fujita S, Ito A, Norioka N, Iwata S, Nakagawa M, Takagi M, Miki Y, Ueda M, Yoshiyama M. Relationship between tissue Doppler measurements of left ventricular diastolic function and silent brain infarction in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 査読有、 2017 Nov 1;18(11):1245-1252. doi: 10.1093/ehjci/jew220.
15. Doi A, Takagi M, Kakahara J, Hayashi Y, Tatsumi H, Fujimoto K, Sugioka K, Yoshiyama M. Incidence and predictors of silent cerebral thromboembolic lesions after catheter ablation for atrial fibrillation in patients treated with direct oral anticoagulants. *Heart Vessels*. 査読有、 2017 Oct;32(10):1227-1235. doi: 10.1007/s00380-017-0985-4.
16. Hanatani A, Shibata A, Kitada R, Iwata S, Matsumura Y, Doi A, Sugioka K, Takagi M,

- Yoshiyama M. Administration of tolvaptan with reduction of loop diuretics ameliorates congestion with improving renal dysfunction in patients with congestive heart failure and renal dysfunction. *Heart Vessels*. 査読有、 2017 Mar;32(3):287-294.
doi: 10.1007/s00380-016-0872-4.
17. Nonin S, Iwata S, Sugioka K, Fujita S, Norioka N, Ito A, Nakagawa M, Yoshiyama M. Plaque surface irregularity and calcification length within carotid plaque predict secondary events in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 査読有、 2017 Jan;256:29-34.
doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.008.
18. Norioka N, Takemoto Y, Kobayashi M, Makuuchi A, Yoshikawa J, Yamazaki Y, Kamiyama Y, Shuto T, Yoshiyama M. Low-flow mediated constriction incorporated indices as indicators of cardiovascular risk in smokers. *Atherosclerosis*. 査読有、 2016 Aug;251:132-138.
doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.06.022.

〔学会発表〕(計7件)

1. 石川世良、岩田真一、伊藤朝広、田村聡一郎、河相優、吉山智貴、辰巳裕亮、土井淳史、泉家康宏、葭山稔. Differences in Prevalence and Risk Factors of Silent Brain Infarction between Patients with Paroxysmal and Persistent nonvalvular Atrial Fibrillation. 日本循環器学会学術集会. 2018
2. Asahiro Ito、Shinichi Iwata、Kazuki Mizutani、Shinichi Nonin、Shinsuke Nishimura、Yosuke Takahashi、Tokuhiko Yamada、Takashi Murakami、Toshihiko Shibata、Minoru Yoshiyama. Echocardiographic Parameters Predicting Acute Hemodynamically Significant Mitral Regurgitation during Transfemoral Transcatheter Aortic Valve Replacement. 日本循環器学会学術集会. 2017
3. Masashi Nakagawa、Ryo Matsumoto、Nanaka Nomura、Kenichi Nakatsuji、Shunsuke Kagawa、Tsukasa Matsushita、Masanori Matsuo、Kenji Shimeno、Yoshiki Matsumura、Yukio Abe、Kazuo Haze、Takahiko Naruko、Masahiko Ohsawa、Minoru Yoshiyama、Makiko Ueda. Enhanced Expression of Natriuretic Peptide Receptor-A and B in Neutrophils of Culprit Lesions in Patients with Acute Coronary Syndromes. 日本循環器学会学術集会. 2017
4. Masashi Nakagawa、Ryo Matsumoto、Nanaka Nomura、Kenichi Nakatsuji、Shunsuke Kagawa、Tsukasa Matsushita、Masanori Matsuo、Kenji Shimeno、Yoshiki Matsumura、Yukio Abe、Kazuo Haze、Takahiko Naruko、Minoru Yoshiyama、Makiko Ueda. Elevated Plasma Neopterin Levels in Patients with Takotsubo Cardiomyopathy. 日本循環器学会学術集会. 2017
5. Shinichi Nonin、Shinichi Iwata、Asahiro Ito、Soichiro Tamura、Ryoko Kitada、Yu Kawai、Sera Ishikawa、Atsushi Doi、Akihisa Hanatani、Minoru Yoshiyama. Right Ventricular Enlargement Predicts Responsiveness to Tolvaptan in Congestive Heart Failure Patients with Reduced Ejection Fraction. 日本循環器学会学術集会. 2017
6. Soichiro Tamura、Shinichi Iwata、Asahiro Ito、Shinsuke Nishimura、Kazuki Mizutani、Yosuke Takahashi、Tokuhiko Yamada、Takashi Murakami、Toshihiko Shibata、Minoru Yoshiyama. Higher Central Pulse Pressure Variability is Associated with Aortic Valve Calcium Volume in Patients with Severe Aortic Stenosis. 日本循環器学会学術集会. 2017
7. 藤田 澄吾子、杉岡 憲一、岩田 真一、河相 優、能仁 信一、石川 世良、則岡 直樹、伊藤朝広、仲川 将志、上田 真喜子、葭山 稔. 重症大動脈弁狭窄症における近位胸部大動脈の動脈硬化についての検討 三尖弁と二尖弁大動脈弁狭窄症の比較. 日本心臓病学会. 2016

〔図書〕(計1件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。