

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16015

研究課題名（和文）心不全患者におけるNeprilysin濃度決定因子および予後への影響に関する研究

研究課題名（英文）Evaluation of determinants and prognostic significance of Neprilysin in patients with heart failure

研究代表者

高潮 征爾 (Takashio, Seiji)

熊本大学・病院・助教

研究者番号：50573599

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：心保護作用を持つナトリウム利尿ペプチドの分解を防ぐneprilysin(NEP)の血中濃度を測定し、心不全症例を対象に1.血中NEP濃度に影響を与える因子 2.血中NEP濃度と予後との相関 3.心臓から放出されるNEPと血行動態の関係を検討した。左室駆出率や脳性ナトリウム利尿ペプチドなど心不全の重症度を示すサロゲートマーカーと相関はみられず、予後予測因子とはならなかった。冠循環中に放出されるNEPを評価したが、値のばらつきが大きく冠循環中のNEP濃度の定量的評価は困難であった。本研究からNEP濃度測定の臨床的な意義や有用性を示すことはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ネプリライシンは心不全に対して保護的に働くナトリウム利尿ペプチド分解を抑制する。今後上市される心不全治療薬：アンジオテンシン受容体ネプリライシン阻害薬（ARNI）はネプリライシンを阻害し、ナトリウム利尿ペプチドを上昇させることで心不全改善をもたらすが、どのような患者においてより効果が得られるかを検討することは重要であると考えている。ネプリライシン濃度測定は心不全の重症度や既存の重症度と相関するバイオマーカーと関連は確認されず、どのような患者群においてネプリライシンが上昇しているかを明らかにすることはできなかった。今後さらなる臨床研究が進み、心不全治療に個別化診療が浸透していくことを期待したい。

研究成果の概要（英文）：The concentration of neprilysin (NEP), which prevents the degradation of natriuretic peptide with cardioprotective effect, was measured in patients with heart failure cases. We evaluated 1. Factors affecting NEP level, 2. prognostic significance of NEP levels, and 3. the relationship between NEP release in the coronary circulation and hemodynamics. There was no correlation with left ventricular ejection fraction or brain natriuretic peptide which are surrogate markers indicating the severity of heart failure. NEP levels was not a prognostic factor. The quantitative analysis of NEP released in the coronary circulation was difficult to evaluate the NEP concentration in the coronary circulation due to the large variation in the values. This study could not show the clinical utility and usefulness of NEP concentration measurement in patients with heart failure.

研究分野：心不全

キーワード：ネプリライシン 心不全 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナトリウム利尿ペプチドには心房で合成される ANP(atrial natriuretic peptide)、心室で合成される BNP(B-type natriuretic peptide)、血管内皮で合成される CNP(C-type natriuretic peptide)が存在する。ナトリウム利尿ペプチドにはナトリウム利尿作用やレニン - アンジオテンシン - アルドステロン系抑制作用、交感神経抑制作用など神経体液性因子亢進を抑制し、心筋肥大抑制や線維化抑制などの抗心不全作用を発揮することが知られており、ANP と BNP は今や心不全の診断や治療薬として広く日常臨床において使用される。

BNP はナトリウム利尿ペプチド受容体に結合し細胞内に取り込まれて分解されほか、BNP₁₋₃₂ は neprilysin(NEP)というペプチダーゼによって分解される。NEP 阻害薬はナトリウム利尿ペプチドの分解を抑制し、心不全の治療薬になり得ると期待されていた。2014 年にアンジオテンシン II 受容体拮抗薬(valsartan)と NEP 阻害薬(sacubitril)の合剤である LCZ696(angiotensin-receptor/neprilysin inhibitor: ARNI)が、左室収縮力の低下した心不全に対して ACE 阻害薬(enalapril)と比較して有意に死亡および心不全による入院のリスクを有意に低下する結果が報告され(PARADISE-HF, *N Engl J Med.* 2014; 371: 993-1004)、海外では ARNI が心不全の標準的治療薬として使用されており、本邦でも上市予定である。

慢性心不全患者における NEP 濃度と生命予後に関してはいくつか報告があり、左室収縮力の低下した心不全患者では NEP 濃度の上昇は予後不良であるとする報告(*J Am Coll Cardiol.* 2015;65:657-665)がある一方で、収縮力が維持されている心不全では予後に影響は与えないとする報告(*Eur J Heart Fail.* 2016;18:89-93)もあり、病態によって差異があることが予想される。また心不全の基礎心疾患ごとの検討や心不全を有さない対照群との比較、急性心不全症例において非代償期と代償期での NEP 濃度の検討はなされおらず、未解決な部分が多い。

そこで我々は慢性心不全患者を対象として、血清 NEP 濃度の決定因子や臨床転機への影響を検討し、急性心不全患者では NEP 濃度の経時的な評価、および心臓から放出される NEP を定量評価し、血行動態、BNP 放出量や末梢血の BNP との関係性を解明する研究を立案した

2. 研究の目的

本研究の目的は

1. 心不全患者および非心不全患者(対照群)における血清 NEP 濃度の比較、血清 NEP 濃度の決定因子や臨床転機への影響
2. 急性心不全の治療過程における血清 NEP 濃度と BNP、およびその変化に影響を与える因子の検討
3. 心臓から放出される NEP の定量評価と血行動態、BNP 放出量との相関

以上3点を明らかにすることを目的としている。

本研究から心不全患者における血清 NEP 濃度測定の意義を明らかにし、将来 NEP 阻害薬が使用可能となった際に、NEP 阻害薬のレスポンスを選択する指標となり得るか検証したい。

3. 研究の方法

- 1) 慢性心不全患者における血清 NEP 濃度の測定について。

熊本大学病院循環器内科に入院または外来通院中の心不全患者の基礎心疾患や併存疾患、心エコーによる心機能評価、心臓カテテル検査による血行動態評価結果および採血結果などの臨床データをデータベース化し血液サンプルを収集する。集めたサンプルを用いて血清 NEP 濃度や BNP を測定する。血清 NEP 濃度の測定には心不全患者において血清 NEP 濃度が予後予測因子であると報告した論文(*J Am Coll Cardiol* 2015;65:657-665)で使用された Avisaera Bioscience 社の ELISA キットを使用する。得られた結果から心不全群と対照群における血清 NEP 濃度の比較検討を行う。また心不全群において血清 NEP 濃度に対して関連する因子を横断的に検討する。

- 2) 急性心不全患者における経時的な血清 NEP 濃度の評価

急性心不全患者においても入院時(非代償期)および退院時(代償期)の臨床データおよび血液サンプルの収集を行いデータベースを作成する。集めたサンプルを用いて経時的な血清 NEP 濃度や BNP の評価を行い、心不全が代償される課程における血清 NEP 濃度の変化や、変化に影響を与える因子を検索していく。

3. 心臓から放出される血清 NEP 濃度と血行動態評価

心臓カテテル検査による血行動態評価を行った心不全患者を対象に冠静脈洞および大動脈基部の血液サンプルを同時に採取する。このサンプルの血清 NEP 濃度および血漿 BNP 濃度を測定し、冠静脈洞の値から大動脈基部の値を引くことで心臓から放出される NEP および BNP が定量可能である。この結果から NEP 放出量と血行動態および BNP の放出量や末梢血の BNP との相関を検討する。

4. 心不全患者における予後予測因子としての血清 NEP 濃度の有用性検討

上記の研究対象患者において心不全による再入院など心血管イベントによる入院、心血管死亡および総死亡を前向きに調査を行い血清 NEP 濃度が生命予後に与える影響を前向きに検討する。また基礎心疾患ごとの解析や、左室駆出率が保たれている症例と低下している症例において血清 NEP 濃度が予後に影響を与えるのかそれぞれ検討する。

4. 研究成果

1) 血清 NEP 濃度の測定について

まず心不全患者の臨床データベースの作成、末梢血血液サンプルおよび冠静脈洞および大動脈、大腿静脈の血液サンプルを収集した。当初ネプリライシンの濃度は Aviscera Bioscience 社の ELISA キットを使用して “可溶性ネプリライシン(soluble-nepilysin:s-NEP)” の測定を行った。しかし測定感度以下の症例も多く、同一検体を複数回測定しても測定結果が安定せず正確な濃度測定が困難であった。2016 年に Antonio らの NEP に関する総説(文献 1)によると市販されている sNEP 測定キットにおいて検査結果にかなりばらつきがあり、正確な sNEP 濃度を評価する測定系が確立していないとされた。そのため、まずは別のメーカーの信頼性のある測定キットの使用を再検討するため新たに報告された NEP 濃度に関する論文を検証することにした。

本邦から肺高血圧における NEP 濃度が予後に与える影響を検証した Yoshihisa らの論文(文献 2)では Ray bio 社の測定キットが使用されており、急性心筋梗塞症例における予後や拘束サイズと血清 NEP 濃度の相関を評価した Zelniker らの論文(文献 3)や一般集団を対象に NEP 濃度を測定した Reddy らの論文(文献 4)では R and D 社のキットが使用されていた。

最終的に我々は R and D 社の ELISA キットを使用して、137 名の心不全患者を対象に sNEP を測定した。結果 24 名は測定限界以下もしくは上限以上であり、測定可能症例 (n=113) において sNEP 濃度の中央値は 928.8pg/ml であり(図 1) これは一般集団を対象とした Reddy YNV らの研究結果と比較(中央値 3900pg/ml)して低値であった。sNEP と年齢や左室駆出率や BNP、BMI、腎機能、Cardiac index との相関は認めなかった(図 2) が PCWP とは弱い相関を認めた($r = -0.246$)。

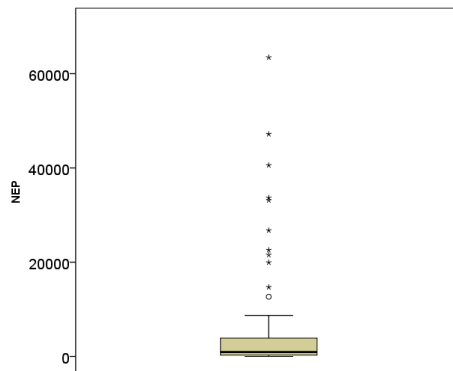
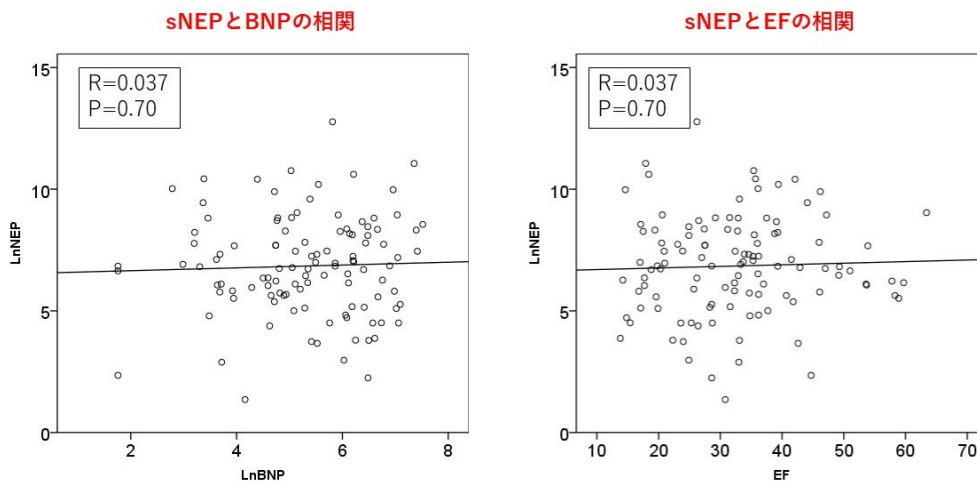


図 1 心不全患者における sNEP 値

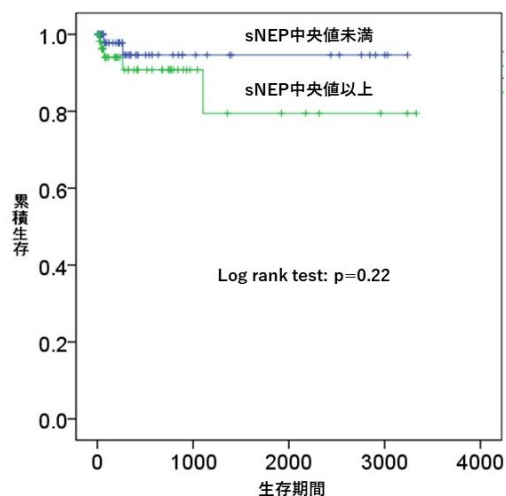
図 2 sNEP と BNP や左室駆出率の相関



sNEP の中央値によって 2 群に分けて死亡および心不全による再入院について検討したが、sNEP 値は予後予測因子ならなかった(図 3)。

拡張型心筋症症例 (n=100) のみで同様な検討を行ったが sNEP の中央値は 1053.25pg/ml で sNEP と相関がある因子はなく、中央値で 2 群に分けて生命予後を検討したが、sNEP は総死亡を予測する因子にはならなかった。

図3 sNEP を中央値で分けた心不全患者の生存曲線



2) 心臓から放出される血清 NEP 濃度と血行動態評価について

30名の心不全を対象に大動脈基部と冠静脈洞から同時にsNEPを測定し、冠循環中に放出されるsNEPを検討したが、CS-Aoの中央値は-5pg/ml、同一検体でも各採取部分におけるsNEP値のばらつきも大きく冠循環中へのsNEPの正確な定量的評価は困難であった。

3) 急性心不全症例における経時的なNEP濃度の評価について

NEP濃度測定の精度に問題があり、既報ではNEP濃度とBNPとの相関がないとする報告が多数見受けられたため測定は行わなかった。

以上の結果から心不全患者においてsNEPを測定した結果、中央値は928.8pg/mlであり、既報の一般集団と比べてその値は低値だったsNEPと年齢やBNP、EFにおいて相関はみられなかった。心不全患者においてsNEPの値は予後予測因子にはならないことが示された。

<引用文献>

1. Bayes-Genis A, Barallat J, Richards AM. A Test in Context: Neprilysin: Function, Inhibition, and Biomarker. J Am Coll Cardiol. 2016;68:639-53.
2. Yoshihisa, Yokokawa, Misaka et al. Soluble neprilysin does not correlate with prognosis in pulmonary hypertension. ESC Heart Fail. 2019;6:291-296.
3. Zelniker TA, Spaich S, Stiepak J et al. Serum neprilysin and the risk of death in patients with out-of-hospital cardiac arrest of non-traumatic origin. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care. 2018: 2048872618815062.
4. Reddy YNV, Iyer SR, Scott CG et al. Soluble Neprilysin in the General Population: Clinical Determinants and Its Relationship to Cardiovascular Disease. J Am Heart Assoc. 2019 ;8:e012943.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](なし)

[学会発表](なし)

6. 研究組織

(1)研究代表者

高潮 征爾

ローマ字氏名: TAKASHIO, Seiji

熊本大学・循環器内科・助教

研究者番号 50573599

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----