

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17378

研究課題名(和文) 地域住民のコレステロール代謝関連因子PCSK9と潜在性動脈硬化・脳萎縮の関連

研究課題名(英文) The association of serum PCSK9 levels with subclinical atherosclerosis in general Japanese men

研究代表者

国村 彩子(Kunimura, Ayako)

滋賀医科大学・医学部・客員助教

研究者番号：30803952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、プロタン転換酵素サブチリシン/ケキシン9型(PCSK9)を標的とした薬剤が開発され、大規模臨床試験により、強力なLDL低下作用や心血管イベント抑制効果が報告されている。一方で、PCSK9に関しては、一般地域住民における実態や動脈硬化関連メカニズムについて未だ不明な点が多い。本研究は、一般地域住民を対象に多彩な潜在性動脈硬化指標について調査を行ってきた既存の前向きコホート研究に、新たに血清PCSK9値の測定を追加し、日本人における血清PCSK9値の分布やその関連要因、冠動脈石灰化や脳小血管病変/頭蓋内動脈狭窄、脂肪肝等の潜在性動脈硬化指標との関連について明らかにするものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血清PCSK9値は、弱い相関ではあるものの、年齢と負の相関を示し、LDLコレステロールや中性脂肪、アルコール摂取量と正の相関を示した。

血清PCSK9値は、LDLコレステロールを含む他の動脈硬化危険因子と独立して、60歳未満の群において冠動脈石灰化と有意に関連した。また、全ての年齢層において頭蓋内動脈狭窄と有意な関連を示した。一方で、脳小血管病変とは関連を示さなかった。また、全ての年齢層において、血清PCSK9値は脂肪肝の代替指標であるFLI値と有意な関連を示した。

血清PCSK9値は直接動脈硬化形成に関わる因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a promising new target for reducing low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and cardiovascular events in high-risk patients. However, the influence of circulating PCSK9 concentration on atherosclerotic plaque formation in the general population is unknown. We assessed the relationship between serum PCSK9 concentration and the prevalence of coronary artery calcium, subclinical cerebrovascular disease, and fatty liver index in the general population.

研究分野：循環器内科学

キーワード：PCSK9 潜在性動脈硬化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、プロタンチン転換酵素サブチリシン/ケキシン9型(PCSK9)を標的とした薬剤が開発され、大規模臨床試験により、その強力なLDL低下作用、さらには冠動脈プラーク退縮や心血管イベント抑制に対する効果が次々と報告されている。現在、PCSK9は動脈硬化の新たな治療ターゲットとして急激に注目されている。一方で、PCSK9に関しては、歴史的に治療薬開発が先行し、一般地域住民における実態や心血管イベント予測能について未だ不明な点が多い。本研究は、一般地域住民を対象に多彩かつ詳細な危険因子測定や潜在性動脈硬化指標、脳萎縮について調査を行ってきた既存の前向きコホート研究SESSAに、新たに血清PCSK9値の測定を追加し、日本人における血清PCSK9値の分布やその関連要因およびLDLコレステロール値との関連の強さ、さらには潜在性動脈硬化や脳萎縮との関連について明らかにし、動脈硬化性疾患や認知症の新しい予防策開発を目的とする。

### 2. 研究の目的

本研究は下記を目的とする。

- (1) 血清PCSK9値の一般地域住民における分布の実態解明
- (2) 血清PCSK9値と生活習慣、LDLコレステロールを含む古典的動脈硬化危険因子の関連解明
- (3) 血清PCSK9値と胸部CTにより計測した冠動脈石灰化、頭部MRIにより診断したラクナ梗塞・微小出血・白質病変・頭蓋内血管狭窄などの潜在性脳血管障害、などの多様な潜在性動脈硬化指標との関連解明
- (4) 血清PCSK9値と頭部MRIを使用し評価した脳萎縮、認知機能検査との関連解明

### 3. 研究の方法

#### (1) 血清PCSK9値の測定

2006年から2008年にベースライン調査を実施した対象者1094人のうち、2010年から実施した追跡調査に参加した848人に対して、その保存血液検体を用いて血清PCSK9値測定を計画した。測定値に影響を与える脂質異常症治療薬内服中である189人、心血管疾患既往のある28人、測定可能な血液サンプルがない5例、中性脂肪値が400mg/dL以上である4例(LDL値をFriedewald法により計算するため)を除外し、最終的に622例に対して測定、解析を行った。血液検体を用いた血清PCSK9値の測定にはELISA法や質量分析法などの方法が存在するが、ELISA法が一般的である。これまでPCSK9について、LDL受容体分解活性をもつ成熟型PCSK9と細胞内酵素であるfurinにより切断され、分解活性の低いfurin-cleaved PCSK9と2つのサブタイプが同定されているが、両者を区別して測定することが困難であった。2014年にBML社と国立循環器病研究センター(斯波真理子先生)の共同開発により両者を区別して測定する新たなELISA法が開発された。本研究では、この新たなELISA法により両者を区別して測定および解析を行った。

#### (2) 統合データベースの構築

生活習慣、その他の血液・尿検査結果、冠動脈石灰化、頭部MRIによる潜在性脳血管障害指標、などの多様な潜在性動脈硬化指標や脳体積、認知機能評価についての情報を有している、既に構築されているSESSAの既存のデータベースに、本研究による血清PCSK9値の結果を突合する。

#### (3) データ解析および研究成果報告

多変量解析により適宜交絡因子を補正し横断的解析を行う。解析による研究成果は、国内外の学会での発表や国際専門誌での公表を行う。また、アジア疫学研究センターのホームページ等で、マスコミ担当者や一般市民にもわかりやすい形で解説していく(URL <http://cera.shiga-med.ac.jp/> 参照)

### 4. 研究成果

#### (1) 血清PCSK9値の一般地域住民における分布の実態解明

解析対象となった622人の平均年齢(標準偏差)、平均LDL値(標準偏差)、血清PCSK9値の中央値(第一四分位 - 第三四分位[IQR])はそれぞれ68(9)歳、122(32)mg/dL、240(205 - 291)ng/mlであった。

(2) 血清PCSK9値と生活習慣、LDLコレステロールを含む古典的動脈硬化危険因子との関連  
表1に示すように、Spearman's correlation analysisでは、いずれも弱い相関ではあるが年齢と負の相関を示し、アルコール摂取量、血清中性脂肪値、血清LDL値と正の相関を示した。一方で、喫煙、糖代謝関連因子、血圧とは有意な相関を認めなかった。

### (3) 血清 PCSK9 値と潜在性動脈硬化指標との関連

①血清 PCSK9 値と冠動脈石灰化との関連  
3 mmスライス胸部 CT の結果より冠動脈の Agatston スコアを計算した。Agatston スコア > 10 を冠動脈石灰化と定義し、その有病率と血清 PCSK9 値との関連を検討した。冠動脈石灰化の有病率は 55.6%と高く、解析は Poisson regression with robust error variance により行った。  
全年齢層では、血清 PCSK9 値 (1 標準偏差 [SD]あたり) は冠動脈石灰化の有無と関連を認めなかった (relative risk [RR] 1.04, 95% confidence interval [CI] 0.97-1.11)。  
しかしながら、年齢による層別解析を行ったところ、60 歳未満の対象においては、有意な関連を認め (RR 1.35, 95% CI 1.04-1.77)、年齢、body mass index (BMI)、喫煙、Pack-year、アルコール摂取量、糖尿病や高血圧の有無、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪で調整後も有意な関連が認められた (RR 1.38, 95% CI 1.01 - 1.88)。また、この関連は成熟型 PCSK9 (RR 1.36, 95%CI 1.01 - 1.83) furin-cleaved PCSK9 (RR 1.66, 95%CI 1.01 - 2.71) のどちらのサブタイプでも認められた。一方で、60 歳以上の対象においては、冠動脈石灰化と有意な関連を認めなかった。これらの結果は現在論文投稿中であり、ISH2022 での発表を目指し抄録提出中である。

表 1. 血清 PCSK9 値と他の動脈硬化因子との関連

		p-value
年齢, years	-0.22	<0.001
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	0.11	0.008
喫煙量, Pack-year	0.06	0.137
アルコール摂取量, g/week	0.16	<0.001
空腹時血糖, mg/dL	0.05	0.226
HbA1c, %	0.04	0.384
収縮期血圧, mmHg	0.08	0.038
拡張期血圧, mmHg	0.14	<0.001
LDL コレステロール, mg/dL	0.16	<0.001
HDL コレステロール, mg/dL	0.04	0.275
中性脂肪, mg/	0.25	<0.001

#### 血清 PCSK9 値と潜在性脳小血管病変、潜在性頭蓋内血管狭窄との関連

本研究の解析対象者のうち、頭部 MRI を施行しているのは 526 例であり、採血から頭部 MRI 測定まで日数の中央値 (IQR) は 713 (482 - 763) 日であった。  
潜在性脳小血管病変について、ラクナ梗塞、深部皮質下白質病変、脳室周囲白質病変、脳微小出血の有無により検討した。潜在性頭蓋内血管狭窄について、脳底動脈および左右の内頸動脈、椎骨動脈、前大脳動脈、中大脳動脈、後大脳動脈の 11 か所について、狭窄なし (0%)、軽度狭窄 (<50%)、中 - 高度狭窄 (≥50%) により判定した。ラクナ梗塞、深部皮質下白質病変、脳室周囲白質病変、脳微小出血、潜在性頭蓋内血管狭窄は各々、95、115、133、71、136 例に認められた。血清 PCSK9 値は、潜在性頭蓋内血管狭窄と有意に関連し (RR 1.16, 95%CI 1.01 - 1.33)、年齢、BMI、喫煙、Pack-year、アルコール摂取量、糖尿病や高血圧の有無、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪で調整後も有意な関連が認められた (RR 1.18, 95%CI 1.02 - 1.37)。一方で、潜在性脳小血管病変の指標であるラクナ梗塞 (RR 0.87, 95%CI 0.71 - 1.07)、深部皮質下白質病変 (RR 0.99, 95%CI 0.83 - 1.18)、脳室周囲白質病変 (RR 0.98, 95%CI 0.84 - 1.14)、脳微小出血 (RR 1.00, 95%CI 0.75 - 1.34) との関連は認められなかった。この結果は、近日中に論文投稿予定であり、ISH2022 での発表を目指し抄録提出中である。

#### 血清 PCSK9 値と脂肪肝指標との関連

BMI、腹囲、血清 GTP 値、血清中性脂肪値から算出することのできる Fatty Liver Index (FLI) が脂肪肝の代替指標とされている。本研究対象 622 人に対して FLI 値を計算し、血清 PCSK9 値との関連を検討した。  
FLI 値の中央値は 25.3 (11.8 - 41.4) であった。血清 PCSK9 値は、FLI ≥60 と有意な関連を示し (Odds ratio [OR] 1.45, 95%CI 1.14 - 1.84)、年齢、喫煙、Pack-year、アルコール摂取量、糖尿病や高血圧の有無、LDL コレステロール、HDL コレステロール、で調整後も有意な関連が認められた (OR 1.47, 95%CI 1.09 - 1.99)。この結果は、現在論文投稿準備中である。

### (4) 血清 PCSK9 値と脳萎縮、認知機能との関連

脳体積、認知機能検査結果のデータベースとの突合が遅れており、解析できていないが、今後解析を進める予定である。しかしながら、血清 PCSK9 値が若年者ほど高いこと、潜在性脳小血管病変と関連しないことより、年齢と強い関連のある脳萎縮や認知機能との関連は認められない可能性が高いと推察している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Md Maruf Haque Khan, Akira Fujiyoshi, Akihiko Shiino, Takashi Hisamatsu, Sayuki Torii, Sentaro Suzuki, Ayako Kunimura, Hiroyoshi Segawa, Aya Kadota, Takayoshi Ohkubo, Kazuhiko Nozaki, Katsuyuki Miura, Hirotsugu Ueshima.	4. 巻 Jan 22
2. 論文標題 The Association Between Coronary Artery Calcification and Subclinical Cerebrovascular Diseases in Men: An Observational Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Atheroscler Thromb	6. 最初と最後の頁 995-1009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.51284.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Pham Tai, Fujiyoshi Akira, Hisamatsu Takahashi, Kadowaki Sayaka, Kadota Aya, Zaid Maryam, Kunimura Ayako, Torii Sayuki, Segawa Hiroyoshi, Kondo Keiko, Horie Minoru, Miura Katsuyuki, Ueshima Hirotsugu	4. 巻 314
2. 論文標題 Smoking habits and progression of coronary and aortic artery calcification: A 5-year follow-up of community-dwelling Japanese men	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 89 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2020.05.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunimura A, Himuro N, Fujiyoshi A, Segawa H, Ohnishi H, Saitoh S.	4. 巻 42(5)
2. 論文標題 The effects of renin-angiotensin system inhibitors on mortality, cardiovascular events, and renal events in hypertensive patients with diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 669-680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-019-0234-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Harumitsu, Davis-Plourde Kendra, Beiser Alexa, Kunimura Ayako, Miura Katsuyuki, DeCarli Charles, Maillard Pauline, Mitchell Gary F., Vasan Ramachandran S., Seshadri Sudha, Fujiyoshi Akira	4. 巻 14
2. 論文標題 Coronary Artery Calcium Assessed Years Before Was Positively Associated With Subtle White Matter Injury of the Brain in Asymptomatic Middle-Aged Men: The Framingham Heart Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Circulation: Cardiovascular Imaging	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCIMAGING.120.011753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hisamatsu Takashi, Miura Katsuyuki, Arima Hisatomi, Fujiyoshi Akira, Kadota Aya, Kadowaki Sayaka, Zaid Maryam, Miyagawa Naoko, Satoh Atsushi, Kunimura Ayako, Horie Minoru, Ueshima Hirotsugu	4. 巻 267
2. 論文標題 Relationship of serum irisin levels to prevalence and progression of coronary artery calcification: A prospective, population-based study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 177 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2018.05.075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計2件

1. 著者名 国村彩子、樋室伸顕、藤吉朗、瀬川裕佳、大西浩文、斎藤重幸	4. 発行年 2020年
2. 出版社 株式会社医学出版	5. 総ページ数 6ページ
3. 書名 月刊糖尿病 糖尿病患者の血圧管理	

1. 著者名 国村彩子、樋室伸顕、藤吉朗、瀬川裕佳、大西浩文、斎藤重幸	4. 発行年 2020年
2. 出版社 株式会社医学出版	5. 総ページ数 7ページの予定
3. 書名 月刊糖尿病	

〔産業財産権〕

〔その他〕

動脈硬化と認知症に関する疫学研究 滋賀  
動脈硬化疫学研究 SESSA セッサ  
<https://hs-web.shiga-med.ac.jp/sessa/>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------