

機関番号：32666
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20590842
 研究課題名 (和文) ヒトにおける虚血プレコンディショニングの心筋保護効果の機序に関する検討
 研究課題名 (英文) Investigation of the mechanisms of myocardial protection afforded by ischemic preconditioning in human
 研究代表者
 高野 仁司 (TAKANO HITOSHI)
 日本医科大学・医学部・講師
 研究者番号：90277533

研究成果の概要 (和文)：

虚血性心疾患患者を経皮的冠動脈インターベンション中にプレコンディショニング (PC) 効果により耐性を獲得した PC 陽性群と獲得できなかった PC 陰性群の二群に分類した結果、以下の差異を確認した。1) PC 陽性群で見られる虚血後の冠静脈洞中の活性酸素種傷害マーカー濃度の有意な上昇が PC 陰性群では見られない。2) 肥満遺伝子異常を有する率が陰性群で陽性群に比し有意に高い。よって、PC 効果出現には活性酸素種産生が寄与し、肥満遺伝子異常に関連した因子が阻害因子となっている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

Ischemic preconditioning (PC) is the phenomenon whereby brief episodes of ischemia render the heart more resistant to the subsequent ischemia. To determine the mechanisms of PC in human, we sought the differences between the PC positive group and the PC negative group during percutaneous coronary intervention. We found the following findings. 1) The marker reflecting reactive oxygen species injury increased in coronary sinus after the brief myocardial ischemia only in the PC positive group, but not in the PC negative group. 2) Patients with obesity related-genes abnormality were more frequent in PC negative group. Thus, reactive oxygen species and a factor related with obesity related-gene abnormality may involve the mechanisms of PC in human.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：虚血再灌流傷害・心筋保護・活性酸素種・肥満遺伝子

1. 研究開始当初の背景

虚血プレコンディショニング現象は、短時間の虚血発作に曝されることにより、続発して起こる虚血再灌流障害に対する自己防衛機構として最も強力な心筋保護効果を惹起する現象である。動物実験の分野ではこの保護効果の機序が克明に解明されつつあり、先行虚血再灌流時に産生されるアデノシン、活性酸素、ブラヂキニン等が protein kinase C や MAP キナーゼなどが関与したカスケードを刺激し KATP チャンネル開口を促進することが主な機序であると考えられている。その一方で、ヒトにおける虚血プレコンディショニングの機序は解明されていない。

冠動脈疾患を有する患者では多種多様な要素が関与し、中には心筋保護効果が十分に発揮されない状況におかれている患者が存在する。2003年に、Laskey FKらは経皮的冠動脈インターベンション治療中のプレコンディショニング効果を検討し、多くの患者ではプレコンディショニング効果により二回目虚血時の心電図変化が一回目虚血時の心電図変化より小さいが、3割の患者で二回目の心電図変化が一回目と同等でプレコンディショニング効果が発揮されていなかったと報告している。そして一年間の予後追跡調査の結果、プレコンディショニング効果が発揮されなかった患者では退院後の心事故発生率が有意に高かったことを確認している。よって、プレコンディショニングの心筋保護効果を臨床応用する以前に、ヒトにおけるプレコンディショニング効果の出現機序を解明すること、また予後規定因子ともなっているプレコンディショニング効果が発揮できない特殊な患者のその原因を追究することが、より重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究計画では、経皮的冠動脈インターベンション中のプレコンディショニングによる心筋保護効果の獲得状況を検討し、その効果が発揮されなかった患者の特徴を分析を行い、その結果より、予後規定因子とされるプレコンディショニング効果減弱の要因を究明されることに加え、ヒトにおけるプレコンディショニング現象の出現の機序を解き明かすことを最終目標とした。

3. 研究の方法

平成20～22年度に本施設で左前下行枝に対し待機的に経皮的冠動脈インターベンション(PCI)を施行した虚血性心疾患患者93例を対象とした。対象書類にてインフォームド・コンセントを得た。

測定項目は、冠動脈内心電図、十二誘導心電図、冠動脈内圧、胸痛スコア、冠静脈洞血乳酸値、冠静脈洞血中インターロイキン-6、TNF- α 、TGA- β 1、NOx、8-OHdG濃度とし、PCIのバルーン拡張前後で計測し手順は、カテーテル検査時に、各血中マーカーの経時的測定のために冠静脈洞用のカテーテルを用い冠静脈洞にカテーテルを留置、また冠動脈内圧および心電図をモニターリングするために標的血管である左前下行枝に冠動脈内圧測定可能なプレッシャーワイヤーを通過させその体外側先端に心電図のリードを接続。バルーン拡張前にベースラインの各項目を測定した後に、通常のover the wire型バルーンを用い標的部位を2分間拡張、拡張中の心電図、冠内圧、胸痛を30秒毎に記録。2分経過後速やかにバルーンに陰圧をかけ再灌流し、直後、1分、3分、4分30秒後に冠静脈洞内採血を行い各マーカーの測定。5分間のインターバル後再度バルーンを拡張し同様

の手順で各項目を測定。また、プレコンディショニング陰性群全例と陽性群の一部を対象に、Gene analysis by Fluorescence Correlation Spectroscopy 法を用いベータ3 アドレナリン受容体遺伝子と脱共役タンパク質1 遺伝子の異常を検出。

4. 研究成果

上記のプロトコールで得られた結果より、二回目のバルーン拡張中あるいは拡張後の冠動脈内心電図変化および乳酸産生が一回目に比し軽度であった症例をプレコンディショニング陽性群、二回目も一回目と同等であったものをプレコンディショニング陰性群とし二群に分類した結果、プレコンディショニング陽性患者は68例、陰性群は25例であった。

患者背景の内訳は以下の通り。

	PC 陽性群	PC 陰性群
Age	61 ± 6	63 ± 8
Gender (M/F)	56/13	14/11
BMI	24.6 ± 3.1	26.6 ± 4.1
Hypertension	52%	60%
Diabetes	34%	48%
Dyslipidemia	48%	60%
Smoking	43%	60%
AMI	12%	28%
Heart Failure	4%	16%

PCI 中バルーン拡張前後の冠静脈洞内のマーカーの推移は次項の表の通りで、インターロイキン-6 は PC の出現の有無に関わらず拡張後に一過性の上昇を示していたが、8-OHdG に関しては PC 陽性群にのみ上昇が観察され、PC 陰性群での変化は有意ではなかった。NOx, TGF-α, TGF-β に関しては PC の有無に関わ

らずバルーン拡張前後では有意な変化は見られなかった。

以上の結果から次のことが推察された。

1. 短時間の冠動脈血流遮断および再灌流により冠静脈洞内のインターロイキン-6 と 8-OHdG が上昇していたことは、血管内皮あるいは心筋細胞においてこれらが生成されたあるいはプールされていたものが放出された可能性がある。
2. 8-OHdG が上昇してない場合には、虚血プレコンディショニング効果が獲得できていない。
3. 8-OHdG は活性酸素種の核酸傷害のマーカーであり、活性酸素種の傷害の程度とプレコンディショニング効果出現が関連している可能性が推察される

冠静脈洞内血中各マーカー濃度の推移

		BSL	Post 1 st Occl	Pre 2 nd Occl	Post 2 nd Occl
8-OHdG ng/ml	PC	0.23 ± 0.05	0.27 ± 0.08	0.23 ± 0.05	0.27 ± 0.09
	No PC	0.25 ± 0.06	0.24 ± 0.08	0.24 ± 0.07	0.25 ± 0.06
NOx ng/ml	PC	24.6 ± 4.2	24.5 ± 4.6	24.5 ± 4.8	24.9 ± 4.5
	No PC	25.8 ± 5.0	25.9 ± 5.1	25.5 ± 5.8	25.9 ± 5.7
IL-6 pg/ml	PC	2.2 ± 0.6	2.6 ± 0.8*	2.2 ± 0.6	2.6 ± 0.8*
	No PC	2.3 ± 0.7	2.5 ± 0.7*	2.3 ± 0.5	2.5 ± 0.6*
TNF-α pg/ml	PC	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2
	No PC	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.2
TNF-β pg/ml	PC	< 157	< 157	< 157	< 157
	No PC	< 157	< 157	< 157	< 157

次に、左前下行枝以外にも PCI を施行した症例を追加し、計 168 例において遺伝子に関する検討を行った。

当初網羅的に SNP 解析を行ったが、プレコンディショニング効果の有無により統計学的な有意差を持って関連した SNP は同定されなかった。そこで、プレコンディショニング効果が出現しない率が女性患者・肥満患者に多いことから、肥満関連遺伝子とされるベータ 3 アドレナリン受容体遺伝子と脱共役タンパク質 1 遺伝子の異常に関して検討を行った。全患者を対象にした場合には、いずれかの遺伝子異常を保有する頻度に有意差は認めなかったが (17.2% vs. 21.6%, n. s.)、女性の非糖尿病患者のみを対象にしてこの差を検討したところ、遺伝子異常保有患者がプレコンディショニング陰性群において陽性群に比し有意に高いことを確認した (57.1% vs. 22.2%, p=0.040)。以上より、肥満関連遺伝子とプレコンディショニング効果出現には関連がある可能性が示された。

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 10 件)

- ① Aoki A, Ozaki K, Takano H, Yasutake M, Tanaka T. SNPs on chromosome 5p15.3 associated with myocardial infarction in Japanese population. *J Hum Genet.*, 査読有, 56 巻, 2011 年, 47 - 51
- ② Kiriya T, Fukushima Y, Takano H, Mizuno K, Kumita SI. *Circ. J.*, 査読有 2011 年
- ③ Takano M, Takano H, Yasutake M, Mizuno K. Optical coherence

tomography after new scoring balloon angioplasty for in-stent restenosis and de novo coronary lesions. *Int J Cardiol.*, 査読有, 141 巻, 2010 年, 51 - 53

[学会発表] (計 10 件)

- ① Takano H, Kusama Y, Yamamoto E, Yasutake M, Mizuno K. Possible Role of Reactive Oxygen Species during the Development of Ischemic Preconditioning in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. International Society for Heart Research 2010.
- ② Takano H, Yamamoto E, Takagi G, Aoki S, Asai K, Yasutake M, Mizuno K. Low dose aspirin may ameliorate long term clinical outcome in patients with coronary spastic angina. American College of Cardiology 59th Annual Scientific Session. 2010.
- ③ Takano H, Yamamoto E, Takano M, Takagi G, Asai K, Yasutake M, Mizuno K. Economical benefit of the prevention of contrast-induced nephropathy in patients with chronic kidney disease. European Society of Cardiology 2009

[図書] (計 3 件)

- ① 坂本長逸, 高野仁司, 他、薬剤性消化管傷害, 2009, 122 (分担)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高野 仁司 (TAKANO HITOSHI)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号 : 90277533

(2) 研究分担者

安武 正弘 (YASUTAKE MASAHIRO)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70281433

(3) 連携研究者

()

研究者番号：