

20020192

厚生労働科学研究研究費補助金  
長寿科学総合研究事業

心筋梗塞、脳梗塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究

平成 14 年度総括・分担研究報告書

主任研究者 北 徹

平成 15 年 3 月

# 目 次

|     |   |      |
|-----|---|------|
| I   | 研究者構成                                       |      |
| II  | 総括研究報告                                      | 1    |
| III | 分担研究報告                                      | 7    |
|     | 1. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究            | 7    |
|     | 京都大学医学部附属病院探索医療センター臨床部                      | 横出正之 |
|     | 2. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究            | 8    |
|     | 京都大学大学院医学研究科循環病態学                           | 木村 剛 |
|     | 3. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究            | 12   |
|     | 京都大学大学院医学研究科循環病態学                           | 久米典昭 |
|     | 4. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子としての血小板活性化の評価法に関する研究        | 19   |
|     | 京都大学大学院医学研究科加齢医学                            | 堀内久徳 |
|     | 5. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究            | 24   |
|     | 京都大学大学院医学研究科加齢医学                            | 荒井秀典 |
|     | 6. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発                  | 27   |
|     | 京都大学大学院医学研究科加齢医学                            | 田中 誠 |
|     | 7. 虚血性大脳白質病変を有する痴呆患者の脳内ベンゾジアゼピン受容体結合能に関する研究 | 29   |
|     | 京都大学大学院医学研究科附属高次脳機能総合研究センター                 | 福山秀直 |
|     | 8. 急性心筋梗塞に対する再疎通療法に関する研究                    | 30   |
|     | 社会保険小倉記念病院                                  | 延吉正清 |
|     | 9. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究            | 32   |
|     | 倉敷中央病院循環器科                                  | 光藤和明 |
|     | 10. 心筋梗塞の危険因子としてのホモシステインの重要性に関する研究          | 33   |
|     | 鹿児島大学医学部第一内科                                | 鄭 忠和 |
|     | 11. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究           | 34   |
|     | 長崎大学医学部                                     | 近藤宇史 |
|     | 12. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究           | 35   |
|     | 長崎大学医学部                                     | 井原義人 |
|     | 13. 心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究           | 37   |
|     | 京都通信病院第二内科                                  | 吉岡秀幸 |
| IV  | 研究成果の刊行に関する一覧表                              | 38   |

# I . 研究者構成

長寿科学総合研究事業  
心筋梗塞、脳梗塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究

| 区分    | 氏名    | 所属                              | 職名   |
|-------|-------|---------------------------------|------|
| 主任研究者 | 北 徹   | 京都大学大学院医学研究科<br>臨床器官病態学講座       | 教授   |
| 分担研究者 | 横出 正之 | 京都大学医学部附属病院探索医療セン<br>ター臨床部      | 教授   |
| 分担研究者 | 木村 剛  | 京都大学大学院医学研究科<br>臨床器官病態学講座       | 助教授  |
| 分担研究者 | 久米 典昭 | 京都大学大学院医学研究科<br>臨床器官病態学講座       | 講師   |
| 分担研究者 | 堀内 久徳 | 京都大学大学院医学研究科<br>臨床生体統御医学講座      | 助手   |
| 分担研究者 | 荒井 秀典 | 京都大学大学院医学研究科<br>臨床生体統御医学講座      | 助手   |
| 分担研究者 | 田中 誠  | 京都大学大学院医学研究科<br>臨床生体統御医学講座      | 助手   |
| 分担研究者 | 福山 秀直 | 京都大学大学院医学研究科附属高次脳<br>機能総合研究センター | 教授   |
| 分担研究者 | 延吉 正清 | 社会保険小倉記念病院                      | 副院長  |
| 分担研究者 | 光藤 和明 | 倉敷中央病院循環器内科                     | 主任部長 |
| 分担研究者 | 鄭 忠和  | 鹿児島大学医学部第一内科                    | 教授   |
| 分担研究者 | 近藤 宇史 | 長崎大学医学部附属原爆後遺障害医療<br>研究施設       | 教授   |
| 分担研究者 | 井原 義人 | 長崎大学医学部附属原爆後遺障害医療<br>研究施設       | 助教授  |
| 分担研究者 | 吉岡 秀幸 | 京都通信病院第二内科                      | 部長   |

## Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

心筋梗塞、脳梗塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究

主任研究者 北 徹 京都大学大学院医学研究科循環病態学教授

（要旨） 年齢を重ねる程にその発症頻度は増し、高齢者の生命予後・QOL を規定する疾患である心筋梗塞や脳梗塞は動脈硬化をきたした動脈の閉塞により発症する。もし、その発症が予知できれば、種々の治療により回避できる場合もあるであろう。近年血中 CRP、IL6 や可溶性 ICAM-1 等の上昇が急性冠症候群や脳梗塞の発症と相関することが示された。しかし、それらは非特異的な急性期蛋白質などであり、临床上広く実用化されるには至っていない。このように本研究の目的である心筋梗塞・脳梗塞予知因子の確立は急務であるが、平成14年度には2-3の大きな進展があった。我々は、酸化LDL受容体 LOX-1 を見出し（1997, Nature）、それが、動脈硬化巣に発現が誘導されること、さらに、LOX-1 には可溶性が存在することを報告してきた。平成14年度は、その可溶性 LOX-1 が多数の症例で測定可能となり、予備調査として約300検体の血清 LOX-1 値を測定した。その結果、可溶性 LOX-1 は、安定型狭心症での上昇はわずかであるが、急性心筋梗塞症ではほとんどの症例で著明に上昇していた。一方、CRP 等が上昇していた肺炎等の炎症性疾患では、LOX-1 は上昇しておらず、LOX-1 が心筋梗塞等の理想的な予知因子になる可能性があることが判明した。さらに、平成14年度は、臨床データの取得に協力していただける病院ネットワークを組織することができた。循環器科中心であるが、約40病院、年間心臓カテーテル検査総数約20,000例に及ぶ規模である。血小板活性化は動脈血栓症の引き金であり、血小板活性化指標が予知因子となる可能性があるが、測定法が不安定なため広く臨床応用されていない。平成14年度には、安定かつ信頼性の高い血小板活性化指標の測定法を開発する目的にて、京都大学工学部の研究グループと血小板凝集を促進する素材の開発を開始した。

分担研究者：横出正之（京都大学医学研究科）、木村 剛（京都大学医学研究科）、久米典昭（京都大学医学研究科）、堀内久徳（京都大学医学研究科）、荒井秀典（京都大学医学研究科）、田中 誠（京都大学医学研究科）、福山秀直（京都大学医学研究科）、延吉正清（社会保険小倉記念病院）、光藤和明（倉敷中央病院）、鄭 忠和（鹿児島大学医学部）、近藤宇史（長崎大学医学部）、井原義人（長崎大学医学部）、吉岡秀幸（京都通信病院）

A. 研究目的： 本研究の目的は心筋梗塞と脳梗塞の臨床応用可能な予知法の開発である。日本人の死因は、心疾患15%、脳血管障害15%であり、高齢になるに従い増加する。これらの疾患は高齢者の生命予後を規定するとともに、回復後も後遺症を残すため高齢者のQOLを損なう。もし、その発症が予知できれば、バイパス手術やカテーテル治療等の侵襲的治療法や、強力な抗血小板療法、脂質低下療法等の内科的治療によりその発症は回避可能であろう。そのため、国民医療・高齢者医療の向上のためには、心筋梗塞・脳梗塞発症予知法の確立は急務である。心筋梗塞発症は粥腫の破裂に引き続く血栓形成が原因とされる。心筋梗塞は必ずしも冠動脈の高度狭窄部位で発症するものではなく、前兆なく発症することがしばしばである。一般に、冠動脈造影では予知は困難であると考えられている。そのため、特に危険因子が重複する高齢者などでは、その

ような指標があれば定期的に測定することで、治療のタイミングや治療強度を決定することが可能となる。脳梗塞は、心臓内にできた血栓が脳血管を閉塞させる脳塞栓、粥状動脈硬化が基盤となった脳血栓症、および、高血圧との相関が強いラクナ梗塞に分類されるが、特に後2者に関してはその発症メカニズムについていまだ不明な点が多い。脳梗塞予知法が開発されれば、より質の高い医療を実施することが可能となるであろう。

なお、抗血小板療法の心筋梗塞・脳梗塞予防に対する有効性が確立され、多くの患者が治療されているが、同時に副作用として脳出血の頻度を増加させる。現在、広く臨床の場で、その効果をモニターする方法がないが、もし、そのような方法が確立できれば、効果をモニターしながらより有効かつ安全な抗血小板療法を施行できるであろう。本研究で確立しようとしている血小板活性化指標は抗血

血小板療法の効果モニターに広く応用される可能性がある。

B. 研究方法：

北は共同申請者、久米等とともに、酸化 LDL 受容体である LOX-1、SR-PSOX を発見し、両者とも動脈硬化巣に発現し、可溶型があることを見出した。ELIZA 法を用いて、LOX-1 の血中濃度測定系を確立できたので、本年度は、急冠症候群を中心に多くの症例において測定した。SR-PSOX に関しては現在、血中濃度測定法を開発中である。血小板活性化指標がない理由のひとつは、血小板活性化機構に不明な点が多いためである。共同申請者、堀内等とともに独自の、形質膜を透過型にした血小板を用いた血小板顆粒放出および凝集解析系を確立し、血小板活性化の分子機構の解明に取り組んだ。そして、その解析を通じ新たな血小板活性化指標の測定系を開発中である。

- C. 研究結果：動脈硬化発症には酸化低比重リポ蛋白質 (LDL) が重要な働きをしているが、我々は2つの酸化 LDL 受容体、LOX-1 (Nature, 1997) および SR-PSOX (JBC, 2000) を見出している。本年度は LOX-1 が単球の遊走を促進すること (FEBS Lett, 2002)、LOX-1 が fibronectin 受容体として機能すること (FEBS Lett., 2002) を見出した

。さらに、LOX-1 は可溶型が存在し、測定法を確立し得た。ヒト血清において測定可能なことを確認し、急性心筋梗塞等を含む急性冠症候群の患者では高値となることを見出した (投稿準備中)。

もう一つの我々が見出した酸化 LDL 受容体 SR-PSOX は酸化 LDL により発現誘導されること (投稿準備中)、心臓の弁をおおう内皮細胞に特異的に発現しており、感染性心内膜炎など急性の炎症性弁疾患で発現が上昇することが判明した。

動脈硬化の最終段階は血栓形成による動脈の閉塞であるが、透過型血小板を用いた凝集 (BBRC, 2001)・顆粒放出 (JBC, 2000) 解析系を確立し、血小板活性化の分子機構を解析している。本年度は、small GTPase Rab27 が濃染顆粒放出を制御していること (投稿中)、PKC $\alpha$  が凝集を制御していること (投稿中) を直接的に証明した。平成14年度には、安定かつ信頼性の高い血小板活性化指標の測定法の開発する目的にて、京都大学工学部の研究グループと血小板凝集を促進する素材の開発を通じ、抗血小板療法モニタリングシステムの開発を進めた。

D. 考察：急性冠症候群における可溶型 LOX-1 の上昇は、非特異的な炎症の指標である CRP 等とは相関せず、さら



に、急性心筋梗塞発症の指標とされるトロポニンTは発症後数時間を経ないと上昇しないが、可溶性 LOX-1 は急性期より最高値に達していた。以上より、可溶性 LOX-1 は、急性心筋梗塞症の予知因子となる可能性が強く示唆された。

そのため、平成15年3月に本研究班の班会議を持った。そこで、可溶性 LOX-1 測定の臨床的意義を解明すべく、種々の疾患において、系統的に測定すべきであるとの結論に達した。すでに、分担研究者である、近藤等のグループでは、冠動脈バイパス手術や腹部大動脈瘤などを含み、約200症例分の血管障害例のサンプルを蓄積している。また、今後、脳血管障害や播種性血管内凝固症候群、膠原病等に対象症例を広げ、解析して行くべきであると話し合われた。

形質膜透過型血小板を用いた極めて安定な顆粒放出アッセイ系、凝集アッセイ系を確立することができた。血小板活性化の分子メカニズムは、不明な点が多い。それは、血小板に蛋白合成能がないために分子生物学をこの分野に用いることができなく、主として、薬理学的研究に留まっていたことが大きな理由である。我々のアッセイ系では、ドミナントネガティブに作用するリコンビナント蛋白質の影響を我々の系を用いて解析できる

ので、今後、多くの知見を得ることができるであろう。血小板活性化の理解の深まりとともに、鍵分子を見出し、創薬、および検査法の開発に繋げていきたいと考えている。

E. 結論：本年度は、可溶性 LOX-1 の解析で、可溶性 LOX-1 が心筋梗塞予知因子である可能性が高まった。

F. 健康危険情報：なし

G. 平成14年度業績：

1. K. Kataoka, K. Hasegawa, T. Sawamura, M. Fujita, T. Yanazume, Eri Iwai-Kanai, T. Kawamura, T. Hirai, T. Kita, and R. Nohara (2003) LOX-1 Pathway affects the extent of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 300:656-660
2. Ashida N, Takechi H, Kita T, Arai H. (2003) Vortex-mediated mechanical stress induces integrin-dependent cell adhesion mediated by inositol-1,4,5 triphosphate-sensitive  $Ca^{2+}$  release in THP-1 cells. *J Biol Chem* 278:9327-9331.
3. Watanabe, T., Yoshida, M., Shirai, Y., Yamori, M.,

- Yagita, H., Itoh, T., Chiba, T., Kita, T. and Wakatsuki, Y. (2002) Administration of an antigen at a high dose generates regulatory CD4<sup>+</sup> T cells expressing CD95 ligand and secreting IL-4 in the liver. *J Immunol.* 168: 2188-2199.
4. Hayashida, K., Kume, N., Minami, M., Kita, T. (2002) Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocyte-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions. *FEBS Lett.* 511: 133-138.
5. Ho, H. K., Matsubayashi, K., Lim, F. S., Sahadevan, S., Kita, T., Saijoh, K. (2002) Hypertension in Japanese old-old. *Lancet* 359: 804.
6. Yanagita, M., Ishimoto, Y., Arai, H., Nagai, K., Ito, T., Nakao, T., Salant, D.J., Fukatsu, A., Doi, T., Kita, T. (2002) Essential role of Gas6 for glomerular injury in nephrotoxic nephritis. *J. Clin. Invest.* 110: 239-246.
7. Sano, H., Ueda, Y., Takakura, N., Takemura, G., Doi, T., Kataoka, H., Murayama, T., Yang, X., Sudo, T., Nishikawa, S., Nishikawa, S-I., Fujiwara, H., Kita, T., Yokode, M. (2002) Blockade of Platelet-Derived Growth Factor Receptor- $\beta$  Pathway Induces Apoptosis of Vascular Endothelial Cells and Disrupts Glomerular Capillary Formation in Neonatal Mice. *Am. J. Pathol.* 161: 135-143.
8. Tanaka, M., Fukuyama, H., Yamauchi, H., Narita, M., Nabatame, H., Yokode, M., Fujimoto, N., Kita, T., Murakami, M. (2002) Regional cerebral blood flow abnormalities in non-demented patients with memory impairment. *J. Neuroimaging.* 12(2):112-8.
9. Morimoto, M., Miyamoto, S., Mizoguchi, A., Kume, N., Kita, T., Hashimoto, N. (2002) A mouse model of cerebral aneurysm-experimental induction by renal hypertension and local hemodynamic changes. *Stroke* 33:1911-1915
10. Fukuhara, A., Irie, K., Nakanishi, H., Takekuni, K., Kawakatsu, T., Ikeda, W., Yamada, A., Katata, T. Honda, T., Sato, T., Shimizu, K. Ozaki, H. Horiuchi, H.,

Kita T. and Takai Y. (2002) Involvement of Nectin in the Localization of Junctional of Adhesion Molecule at Tight Junctions. *Oncogene* 21: 7642-7655.

11. M. Matsuzaki, T. Kita, H. Mabuchi, Y. Matsuzawa, N. Nakaya, S. Oikawa, Y. Saito, J. Sasaki, K. Shimamoto, H. Itakura and the J-LIT Study Group (2002) Large Scale Cohort Study of the Relationship Between Serum Cholesterol Concentration and Coronary Events With Low-Dose Simvastatin Therapy in Japanese Patients With Hypercholesterolemia.- Primary Prevention Cohort Study of the Japan Lipid Intervention Trial (J-LIT) - *Circulation J.* 66 : 1087-1095.

12. T. Wada, K. Matsubayashi, K. Okumiya, E. Garcia Del Saz, T. Kita (2002) Health Status And Subjective Economic Papua. *Lancet* 360: 951.

H. 知的財産権の出願・登録状況：なし

# Ⅲ. 分担研究報告

## 研究要旨

### 腎糸球体形成におけるメサンジウム細胞の構築の役割の解析

#### 分担研究者

横出正之 京都大学医学部附属病院  
探索医療センター探索医療臨床部 教授

#### A 研究目的

臓器としての血管の形成機構は胎生期における血管形成に加えて、成人個体における血管新生、粥状動脈硬化、血管再構築(リモデリング)、腫瘍増殖過程に深くかかわることが明らかになってきている。この過程における血管平滑筋細胞と血管内皮細胞の関わりにつき、腎糸球体形成に焦点をあて、血管平滑筋系細胞と考えられるメサンジウム細胞と糸球体形成における役割につき解析した。

#### B 研究方法

ICR新生児マウスに対して生後1日から13日まで血小板由来増殖因子受容体 $\beta$  (PDGFR $\beta$ )からのシグナルを遮断するラットモノクローナル抗体APB5 100 $\mu$ gを連日投与し、第1, 3, 9, 13日に犠牲死させ、腎糸球体の形成をPAM染色、PAS染色、免疫組織学的解析、電顕にて観測した。一方、成獣に対するAPB5の影響を解析する目的で雌ICRマウス(8週齢)に対してAPB5 1mgを連日3週間投与し、犠牲死ののち腎を同様に解析した。

(倫理面への配慮)

マウスに対する実験手技による苦痛は最少に留めるように配慮し、科学的成果をおさめる上でも適切な範囲内と判断された。

#### C 研究結果

APB5を投与した新生児マウスの腎所見は第1日目には対照ラットIgGを投与したマウスと大差を示さなかったが、第3日では対照に比べ糸球体内細胞数の減少を認め、第9日には糸球体の破綻などの著しい変形を観測した。この異常形態を示す糸球体の全体の糸球体に対する比率は腎髄質にくらべ皮質側ほど高い傾向を示した。他方、成獣に3週間APB5を投与しても、対照マウスと差を認めなかった。APB5による新生児マウスの糸球体破綻の分子機構を解析する目的で、TUNEL法による解析を行なったところ、血管内皮細胞のアポトーシスとそれとともに血管内皮細胞の著しい減少を認めた。さらに電顕下で解析を行なったところ、APB5を投与したマウスの腎糸球体においては、血管内皮細胞の核の分断

などアポトーシスに合致する所見が得られた。また形成異常を示した糸球体はメサンジウム細胞の著減を認めた。

#### D. 考察

腎糸球体形成において、平滑筋細胞類似細胞と考えられるメサンジウム細胞はPDGFR $\beta$ 由来シグナル遮断により糸球体への遊走と増殖が障害される。マウスにおいて腎糸球体は生後約2週間で髄質から皮質へ形成過程が進むとされる。したがって皮質に存在する糸球体の多くは形成過程にあるため、メサンジウム細胞の遊走・増殖阻止により一旦形成過程に入った糸球体内皮細胞がアポトーシス過程に入ると考えられる。

#### E 結論

以上の成績は、従来血管内皮細胞に焦点があてられてきた血管新生において、血管平滑筋細胞と血管内皮細胞間のクロストークが重要な役割をもちうることを示すものと考えられる。

#### G 研究発表

##### 1. 論文発表

Sano H, Ueda Y, Takakura N, Takemura G, Doi T, Kataoka H, Murayama T, Xu Y, Sudo T, Nishikawa S, Nishikawa S, Fujiwara H, Kita T, Yokode M.

Blockade of platelet-derived growth factor receptor-beta pathway induces apoptosis of vascular endothelial cells and disrupts glomerular capillary formation in neonatal mice. *Am J Pathol.* 2002 161:135-43.

##### 2. 学会発表

佐野秀人、横出正之 他 生後マウスの腎糸球体血管形成におけるPDGF受容体の機能的役割第5回Vascular Medicine学会 2000. 7. 8. (東京)

#### H 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究

分担研究者 木村 剛 京都大学大学院医学研究科循環病態学助教授

#### 研究要旨

本研究課題の一つである「心筋梗塞の予知法の開発」のためには、わが国における心筋梗塞など虚血性心疾患の臨床像を十分把握する必要がある。そのため、その治療法である経皮的冠動脈形成術/ステント留置術を施行した患者および病変の長期追跡を行なった。特に高齢者での急性心筋梗塞に対する経皮的冠動脈形成術による再疎通療法の成績・効果の特徴を年齢区分による比較によって明らかにした。これらの成果は今後、心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定を行なう上で貴重な背景になるものと思われる。

また、少人数を対象とし血清中可溶性 LOX-1 などの予知因子候補を測定したパイロット スタディの結果から、有望な分子を決定し多数の患者で検証することを可能とする多施設間の病院ネットワークを構築した。

#### A. 研究目的

本総合研究の目的は心筋梗塞、脳硬塞の予知法の開発である。心筋梗塞の予知因子の同定と予知法の開発のためには、心筋梗塞の臨床像や現時点でのその診断・治療法の評価がまず必要となる。以前、われわれは分担研究者の延吉正清らと共同で、虚血性心疾患の治療に広く用いられているステント留置による経皮的冠動脈形成術を受けた患者の3年間の重大冠動脈イベント（心筋梗塞、バイパス手術、当該病変での再血管形成術、その他の病変に対する経皮的冠動脈形

成術）非発生率と施行部での血管内径の変化を追跡した。その結果、同術施行部では再狭窄は術後6ヶ月の間に完了し、1年後までは内径の変化見られず、3年には逆に内径が拡大し狭窄度は改善するとの結果が得られた。ステント留置部に対する再血管形成術を含む重大冠動脈イベントも比較的早期の1年以内に多く、その後、発生頻度が減少することがわかった。今回、われわれの分担研究の目的は、わが国における心筋梗塞をはじめとする虚血性心疾患患者の臨床像

を掌握し、その治療法の現状、治療効果の評価を行なって、虚血性心疾患の病態とその従来診断・治療法を再評価することにある。また、高齢者（75歳以上）の心筋梗塞患者に対しての治療法についても比較的若年者の場合との比較により、その成績を評価する。これらによって、心筋梗塞の現診断・治療法の妥当性と問題点、新しい心筋梗塞予知法としてどういう点で優れた方法が必要とされているのかを検討する。

## B. 研究方法

ステント留置術の長期治療効果を検討するため、術後7-11年まで追跡し得たステント留置術施行後患者405症例を対象とし同術施行部位での血管内腔の変化と臨床経過の解析を行なった。定量的冠動脈造影を行なった179病変に関しては、ステント留置術施行後6ヶ月、1年、3年、4年目以降での冠動脈内径の推移を解析した。

また、急性期に経皮的冠動脈形成術を行った高齢者（75歳以上）の急性心筋梗塞患者261例について、その成績・予後等を75歳未満の患者群（802例）と比較した。尚、これらの研究は本研究班の分担研究者でもある延吉正清らと共同で行なった。

さらに、わが国固有の虚血性心疾患の治療に関するエビデンスを得るために、

より大規模での臨床データの集積を可能にするレジストリーの構築を計画した。

## C. 研究結果

ステント留置術施行部位への再冠動脈形成術の施行率は、施行後14ヶ月以降、施行8年後まで横ばいとなり、虚血性心疾患に対するステント留置の治療効果は長期間持続することが確認された。一方、ステント留置術施行部位の血管内径の変化に関しては、同術施行後6ヶ月までの早期再狭窄が見られる期間の後、1年後から3年後にかけて狭窄度の軽減が認められるが、4年目以降、再び狭窄が進行するという結果が得られた。

75歳以上の高齢急性心筋梗塞患者に対する経皮的冠動脈形成術による治療では、75歳以下の場合（95%）と同等の成功率（93%）が得られ、梗塞責任病変の再疎通に成功した場合には、入院中の心臓死も同等であった。高齢者では、再疎通に失敗した場合の入院中死亡率（33%）が比較的若年者（18%）よりも高く、これらは全例心臓死であった。

虚血性心疾患の治療法に関するレジストリーの構築については、現在の時点で全国30施設から共同研究への参加の同意が得られ、プロトコールが完成、症例登録・データ入力を行なうためのソフ

トウェアもほぼ完成し、現在京都大学医  
の倫理委員会に承認申請中である。

#### D. 考察

急性心筋梗塞などの虚血性心疾患に  
対する経皮的冠動脈形成術は、対象患者  
の年齢を問わず高い成功率と良好な治  
療成績を示し、同術は正しい適応基準に  
従って熟練した術者により行なわれる  
限り、これら疾患の標準的な治療法で  
あるといえる。また、ステント留置術後  
7-11 年に渡る長期的な治療効果の持続  
が示されたことは同術の位置付けを考  
えたとき非常に意義深いものと思われ  
る。しかしながら、これらの成績は限ら  
れた施設で得られたものであり、わが国  
全体での動向を知る必要がある。そのた  
めには、われわれが構築しつつある虚血  
性心疾患の治療法に関するレジストリ  
ーの役割が極めて重要となる。

また、経皮的冠動脈形成術は高齢急性  
心筋梗塞患者に対しても有効であるこ  
とが示されたが、同術が成功しなかった  
場合の予後は高齢者で特に不良な傾向  
にある。今後さらなる高齢化社会を迎  
えるわが国の状況や、救急病院への搬入  
までに死亡する心筋梗塞症例の存在も  
考えると、心筋梗塞を未然に予防する  
ことがより重要であり、その予知法の  
開発はやはり急務である。

虚血性心疾患の治療法に関するレジ

ストリーの構築は、その共同研究病院  
ネットワークを利用することにより、ス  
クリーニングで決定した予知因子候補  
の多数症例での有用性の検討にも大い  
に役立つものと思われる。

#### E. 結論

心筋梗塞など虚血性心疾患の治療法  
として経皮的冠動脈形成術の有効性が  
改めて示されたが、その限界も明らか  
になりつつある。今後の高齢化社会で  
の医療において心筋梗塞の予防は極め  
て重要な課題であり、その予知法の開  
発は急務である。われわれが構築しつ  
つある全国的な虚血性心疾患の治療法  
に関するレジストリーは、わが国にお  
ける虚血性心疾患治療の現況の認識  
、ひいては心筋梗塞など急性冠症候群  
の予知法の開発に大きく貢献するもの  
と思われる。

#### F. 研究発表

論文(過去の関連するもの及び直接の研  
究成果)

Kimura T, Yokoi H, Nakagawa Y, Tamura  
T, Kaburagi S, Sawada Y, Sato Y, Yokoi H,  
Hamasaki N, Nosaka H, Nobuyoshi M.  
Three-year follow-up after implantation of  
metallic coronary-artery stents. N Engl J  
Med 1996;334(9):561-566.

Mintz GS, Kimura T, Nobuyoshi M, Leon



MB. Intravascular ultrasound assessment of the relation between early and late changes in arterial area and neointimal hyperplasia after percutaneous transluminal coronary angioplasty and directional coronary atherectomy. *Am J Cardiol.* 1999;83(11):1518-1523.

von Birgelen C, Mintz GS, de Vrey EA, Serruys PW, Kimura T, Nobuyoshi M, Popma JJ, Leon MB, Erbel R, de Feyter PJ. Preintervention lesion remodelling affects operative mechanisms of balloon optimised directional coronary atherectomy procedures: a volumetric study with three dimensional intravascular ultrasound. *Heart.* 2000;83(2):192-197.

Nakagawa Y, Yufu K, Nakamori S, Kimura T, Yokoi H, Tamura T, Hamasaki N, Nosaka H, Nobuyoshi M. Clinical and angiographic follow-up after single long GFX coronary stent implantation. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2000;50(1):40-47.

Mintz GS, Kimura T, Nobuyoshi M, Dangas G, Leon MB. Relation between preintervention remodeling and late arterial responses to coronary angioplasty or atherectomy. *Am J Cardiol.* 2001;87(4):392-396.

Sakai K, Nakagawa Y, Kimura T, Doi T, Yokoi H, Iwabuchi M, Hamasaki N, Inoue K, Nosaka H, Nobuyoshi M. Comparison of results of coronary angioplasty for acute myocardial infarction in patients > or =75 years of age versus patients <75 years of age. *Am J Cardiol* 2002;89(7):797-800.

Kimura T, Abe K, Shizuta S, Odashiro K, Yoshida Y, Sakai K, Kaitani K, Inoue K, Nakagawa Y, Yokoi H, Iwabuchi M, Hamasaki N, Nosaka H, Nobuyoshi M. Long-term clinical and angiographic follow-up after coronary stent placement in native coronary arteries. *Circulation* 2002;105(25):2986-2991.

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

心筋梗塞、脳硬塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究

分担研究者 久米典昭 京都大学大学院医学研究科循環器内科学講師

#### 研究要旨

冠動脈疾患ならびに脳血管障害の発症をその発症直前に高い精度で予知できるような因子が同定されれば、そのような症例を予め集中的に治療することが可能となり、臨床上極めて有用なものとなろう。LOX-1は粥状動脈硬化の病変部位に限局して発現される酸化LDL受容体であり、酸化LDLによって惹起されるアポトーシスやマトリックスメタロプロテアーゼの誘導に関わるなど、プラーク破綻に関与する鍵分子の一つと考えられる。また、その発現された一部がプロテアーゼ活性により、膜貫通領域の近傍の細胞外ドメインで切断され、可溶性蛋白として遊離されることが知られている。そこで、ヒト可溶性LOX-1の血中濃度を測定しうる高感度かつ高選択的なELISA法を開発し、冠動脈疾患患者およびその対照者を中心にその血中濃度を測定した。冠動脈疾患患者では、正常対照者に比べ有意に血中の可溶性LOX-1濃度が有意に高かった。冠動脈疾患の中でも、急性冠症候群急性期にて有意に血中の可溶性LOX-1濃度は高値を示した。またその経時変化は発症早期数時間後から高値を示し、それはトロポニンT値が上昇する以前よりみられた。以上より、可溶性LOX-1の血中濃度が急性冠症候群の早期の診断マーカーとなることが示され、また、それが発症を予知する因子ともなりうる可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

冠動脈疾患ならびに脳血管障害の発症及びそれによる死亡が我が国においても急激に増加してきている。近年の血管カテーテルや手術手技の進歩に伴い、これらイベントの発症後の救命率や予後の改善にはめざましいものがあるが、それでも発症直後に医療施設に収容される以前に死亡する例などもあり、必ずしもすべて

の症例がこれらの恩恵を受けられるわけではない。したがって、もしこれらの疾患を発症前に高い精度で予知できるような因子が同定されれば、そのような症例を前もって治療することが可能となり、臨床上極めて有用なものとなると考えられる。本研究の目的はこれらの因子を包括的に同定することであるが、その一つの候補として可溶性LOX-1の血中濃度を探索し

た。

## B. 研究方法

2種類の異なる抗ヒト LOX-1 抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法を確立した。この方法でのヒト血清での検出限界は 0.5ng/ml であった。大阪赤十字病院心臓センターとの共同研究により、急性冠症候群の急性期の経時変化も含め、冠動脈疾患およびその対照患者（冠動脈造影を施行された連続症例、非心臓疾患の救急患者、および心血管疾患以外の慢性疾患の外来通院患者）の末梢血から血清を分離し、サンドイッチ ELISA 法にて可溶型 LOX-1 濃度を測定した。

## C. 研究結果

冠動脈疾患患者では、心血管病をもたない対照者に比べ有意に可溶型 LOX-1 の血中濃度は高かった。また、冠動脈疾患の中でもとりわけ急性冠症候群（急性心筋梗塞および不安定狭心症）で有意に可溶型 LOX-1 の血中濃度は高かった。急性冠症候群での可溶型 LOX-1 の血中濃度の経時変化をみると、来院時あるいは緊急 PCI 直後にその血中濃度は最高値を示し、1日後には低下した。これは、1日後に最高値を示すトロポニン T の血中濃度の経時変化とは明らかに異なり、トロポニン T 値がまだ上昇しない発症の極めて早期から高値を示すことが明らか

となった。また、可溶型 LOX-1 の血中濃度は、HDL コレステロール値と緩い逆相関を示す以外には、血中の脂質、リポ蛋白濃度とは有意な相関を示さなかった。また、高感度 CRP 値とも有意な相関を示さず、そのピーク値は、トロポニン T および CPK のピーク値とも相関はなかった。また、1枝病変、2枝病変など、冠動脈病変の数とも有意な相関を示さなかったことから、病変の質（破綻および不安定化）を反映するものと思われた。このように、可溶型 LOX-1 は、単なる炎症のマーカーとも、心筋障害のマーカーとも異なる、新たな動脈硬化プラークの破綻および不安定化の指標であり、急性冠症候群の早期の診断マーカーとなることが示された。

## D. 考察

可溶型 LOX-1 の血中濃度は、急性冠症候群の急性期に特に上昇することが示された。その機序として、動脈硬化病変に豊富に発現されている LOX-1 が、プラークの不安定化によりさらに発現が亢進していること、急性冠症候群の急性期にプラーク内で高まるプロテアーゼ活性により可溶型の遊離が増加すること、などが考えられた。いずれにしても、プラークの破綻および不安定化の指標としては合理的なものと考えられた。また、当然ながら、閉塞性動脈硬化症、脳梗塞、大動脈瘤など、冠動脈以外の動脈硬化

を基盤とする疾患、あるいは血管炎などの病態でのその血中濃度とその診断的意義なども今後検討すべき課題と思われた。

#### E. 結論

急性冠症候群の発症直前に高い精度で予知できるような因子が同定されれば、そのような症例を予め集中的に治療することが可能となり、臨床上極めて有用なものとなろう。今回の結果より、可溶型 LOX-1 は、これまでは不可能であった極めて早期から急性冠症候群を診断できる血中マーカーとなることが示され、その臨床応用が期待される。可溶型 LOX-1 の血中濃度が発症前後のどの時期から上昇し始めるかを明らかにすることは今後の課題であり、高リスク患者を多数例、経時的に測定することにより今後明らかにしていきたい。

#### F. 研究発表

論文（過去の関連するもの及び直接の研究成果）

1) Tatsuya Sawamura, Noriaki Kume, Takuma Aoyama, Hideaki Moriwaki, Hajime Hoshikawa, Yuichi Aiba, Takeshi Tanaka, Soichi Miwa, Yoshimoto Katsura, Toru Kita, Tomoh Masaki

An endothelial receptor for oxidized

low-density lipoprotein.

Nature. vol. 386, 73-77, 1997

2) Kozo Oka, Tatsuya Sawamura, Ken-ichiro Kikuta, Shigekazu Itokawa, Noriaki Kume, Toru Kita, Tomoh Masaki

LOX-1 mediates phagocytosis of aged/apoptotic cells in endothelial cells.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. vol. 95, 9535-9540, 1998

3) Noriaki Kume, Takatoshi Murase, Hideaki Moriwaki, Takuma Aoyama, Tatsuya Sawamura, Tomoh Masaki, Toru Kita

Inducible expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells.

Circ. Res. vol. 83, 322-327, 1998

4) Takatoshi Murase, Noriaki Kume, Risa Korenaga, Joji Ando, Tatsuya Sawamura, Tomoh Masaki, Toru Kita

Fluid shear stress transcriptionally induces lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells.

Circ. Res. vol. 83, 328-333, 1998