

20030204

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 15 年度総括・分担研究報告書

主任研究者 北 徹

平成 16 年 3 月

目次

I	研究者構成	
II	総括研究報告書	1
III	分担研究報告書	9
1.	粥状動脈硬化ならびに血管再構築における骨髄由来細胞の関与に関する研究	9
	京都大学医学部附属病院探索医療センター	横出正之
2.	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	11
	京都大学大学院医学研究科循環病態学	木村 剛
3.	急性冠症候群の早期診断における血中可溶性 LOX-1 濃度測定の意義	16
	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、脳梗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	18
	京都大学大学院医学研究科循環病態学	堀内久徳
5.	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	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、脳梗塞の予知因子の同定と予知法の開発に関する研究	27
	京都大学医学部附属病院地域ネットワーク医療部	田中 誠
7.	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	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.	心筋梗塞における凝固第 VII 因子遺伝子多型の重要性に関する研究	30
	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科循環器・呼吸器・代謝内科学講座	鄭 忠和
9.	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	31
	長崎大学医学部	近藤宇史
10.	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	33
	長崎大学医学部	井原義人

11. 腹部大動脈瘤の破裂予測因子として sLOX-1 に関する研究 34
 腹部大動脈瘤の破裂予測因子として sLOX-1 に関する研究 35
 大動脈瘤の発生部位、形態、性状が sLOX-1 に及ぼす影響 36
 閉塞性動脈硬化症 (ASO) の病態進行予測因子としての sLOX-1 37
 鹿児島大学医学部第二外科 坂田隆造
12. 左冠動脈主幹部病変及び三枝病変における負荷 ²⁰¹Tl 心筋シンチの心機能指標に関する研究 38
 静岡県立総合病院循環器科 土井修
13. 急性心筋梗塞に対する再疎通療法に関する研究 39
 社会保険小倉記念病院 野坂秀行
14. 急性心筋梗塞に対する PCI での血栓吸引療法および末梢保護法の効果についての検討 41
 倉敷中央病院循環器内科 光藤和明
15. ピオグリタゾンの冠動脈ステント留置後の再狭窄予防効果に関する研究 . . . 42
 大阪赤十字病院 循環器科 田中昌
16. 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 44
 京都通信病院 第二内科 吉岡秀幸
17. 顆粒球除去カラムを用いた新しい心筋梗塞再灌流療法の開発に関する研究 . . 46
 近畿大学医学部奈良病院循環器科 服部隆一
18. 大動脈拡大性病変の破裂予測因子としての sLOX-1 の検討 48
 近畿大学心臓血管外科学 佐賀俊彦

IV 研究成果の刊行に関する一覧表

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 循環病態学	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 循環病態学	助教授
分担研究者	久米典昭	京都大学大学院医学研究科 循環病態学	講師
分担研究者	堀内久徳	京都大学大学院医学研究科 循環病態学	助手
分担研究者	荒井秀典	京都大学大学院医学研究科 加齢医学	講師
分担研究者	田中 誠	京都大学医学部附属病院 地域ネットワーク医療部	助教授
分担研究者	福山秀直	京都大学大学院医学研究科附属附属 高次脳機能総合研究センター	教授
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 原爆後遺障害医療研究施設	助教授
分担研究者	坂田隆造	鹿児島大学医学部第二外科	教授
分担研究者	土井 修	静岡県立総合病院循環器科	部長
分担研究者	野坂秀行	社会保険小倉記念病院	主任部長
分担研究者	光藤和明	倉敷中央病院循環器内科	部長
分担研究者	田中 昌	大阪赤十字病院循環器科	部長
分担研究者	吉岡秀幸	京都逋信病院内科	部長
分担研究者	服部隆一	近畿大学医学部奈良病院循環器内科	教授
分担研究者	佐賀俊彦	近畿大学医学部心臓外科学	教授

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の相関が示された。しかし、それらは非特異的な急性期蛋白質などであり、臨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、動脈硬化巣に発現する誘導されること、さらに、LOX-1には可溶型が存在することを報告してきた。平成14年度は、その可溶型LOX-1が多数の症例で測定可能となり、多くの患者で測定した結果、可溶型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（論文投稿中）。平成14年度は、臨床データを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。平成15年度は、このネットワークおよび分担研究者により種々の症例において可溶型LOX-1の測定を開始した。その中で、閉塞性動脈硬化症において可溶型LOX-1レベルが上昇していることを見だし、現在、重症度との相関や治療による変化を解析している。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15年度には、安定かつ信頼性の高い血小板凝集指標の測定法を確立した。平成16年度には、多くの症例で測定し、予知因子となるか検証していく計画である。また、その指標が、抗血小板療法の効果判定指標となるかも検討していく計画である。

分担研究者名：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）、野坂秀行（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）、坂田隆造（鹿児島大学医学部）、土井修（静岡県立総合病院）、田中昌（大阪赤十字病院）、吉岡秀幸（京都通信病院）、服部隆一（近畿大学医学部奈良病院）、佐賀俊彦（近畿大学医学部）

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、心臓内にてきた血栓が脳血管を閉塞させる脳血栓、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で

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、検証しようとしている血小板活性化指標は、予知因子としてばかりでなく、抗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、急冠症候群を中心に多くの症例において測定している。SR-PSOX に関しては現在、血中濃度測定法を開発中である。共同申請者、堀内等とともに安定かつ簡便な血小板指標を平成 15 年度に確立し得た。すでに京都大学医の倫理委員会の承認も得ており、平成 16 年度には、多くの症例で測定し、予知因子となるか検証していく計画である。また、その指標が、抗血小板療法の効果判定指標となるかも検討していく計画である。また、血小板活性化の分子メカニズムには不明な点が多く、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でいる。

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。LOX-1 には可溶型が存在し、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 (投稿中)。さらに、種々の疾患においての可溶型 LOX-1 の測定を開始しており、閉塞性動脈硬化症において上昇していることを見いだした。一方、酸化 LDL 受容体 SR-PSOX は、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を見いだした (ATVB, 2004)。

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 がその標的タンパク質 Munc13-4 を介し、濃染顆粒放出を制御していること (JBC, 2004) を見いだした。また、PKC α が凝集を制御していること (JBC, 2003) を直接的に証明した。平成 15 年度には、安定かつ信頼性の高い血小板凝集指

標の測定法を確立した。ADP およびコラーゲンを種々の濃度で血小板を刺激し、光透過度を測定する従来法と、より簡便な全血血小板凝集計を用いて解析する方法である。京都大学医の倫理委員会の承認も受けることができ、平成16年度には、多くの症例で測定し、予知因子となるか検証していく計画である。また、その指標が、抗血小板療法の効果判定指標となるかも検討していく計画である。

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、可溶型 LOX-1 は急性期より最高値に達していた。以上より、可溶型 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。

可溶型 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平成15年度の班会議にて結論された。本年度は閉塞性動脈硬化症において、上昇していることを確認した（論文執筆中）。今後、閉塞性動脈硬化症の重症度との相関、治療前後の変化等を解析し、閉塞性動脈硬化症診療における

参考となる血清指標として確立していきたい。さらに、腹部大動脈瘤、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、解析して行く計画である。可溶型 SR-PSOX の測定法の確立を試みているが、有効な抗体がいまだ得られず、完成していない。平成16年度には完成させたいと考えている。

血小板活性化指標としては、血小板特異的タンパク質である血清 β TG 等が用いられているが、その値は採血法の影響を強く受けるため、広く臨床の場で用いられているとはいえない。しかし、脳梗塞等では、血小板活性化との相関を示すデータが蓄積されつつある。本年度に我々が確立した血小板活性化の測定法では、採血の影響はほとんど受けない。そのため、上昇している患者において、心血管イベントの発症率が高いと、臨床の場で広く使われる予知因子となる可能性が高い。

アスピリンを中心とする抗血小板療法は、心血管イベントに対する予防効果が明らかにされている。しかしながら、最近、一部の患者にはアスピリンの効果が弱く、そのような患者にイベントが多発するというデータが発表され、アスピリン抵抗性として临床上、問題となっている。我々の開発した測定法を用い、日本人における

アスピリン抵抗性患者を明らかにし、さらに、抗血小板療法の効果モニター法として発展させられればと考えている。

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も繋げていきたいと考えている。

E. 結論：本年度は、可溶型 LOX-1 の解析で、可溶型 LOX-1 が心筋梗塞予知因子である可能性が高まった。また、血小板活性化指標測定法を確立することができた。

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表：

1. Kataoka, K., Hasegawa, K., Sawamura, T., Fujita, M.,

Yanazume, T., Iwai-Kanai, E., Kawamura, T., Hirai, T., Kita, T., Nohara, R.

LOX-1 Pathway affects the extent of myocardial ischemia-reperfusion injury
Biochem. Biophys. Res. Commun. 300: 656-660, 2003

2. Ashida N, Takechi H, Kita T, Arai H.

Vortex-mediated mechanical stress induces integrin-dependent cell adhesion mediated by inositol-1,4,5 triphosphate-sensitive Ca²⁺ release in THP-1 cells.

J Biol Chem 278: 9327-9331, 2003.

3. Matsuzawa, Y., Kita, T., Mabuchi, H., Matsuzaki, M., Nakaya, N., Oikawa, S., Saito, Y., Sasaki, J., Shimamoto, K., Itakura, H., and the J-LIT Study Group
Sustained Reduction

of Serum Cholesterol in Low-Dose 6-Year Simvastatin Treatment With Minimum Side Effects in 51,

321 Japanese Hypercholesterolemic Patients.-Implication

of the J-LIT Study, a Large Scale Nationwide Cohort Study- *Circ. J.* 67: 287-294, 2003.

4. Nagai, K., Arai, H., Yanagita, M., Matsubara, T., Kanamori, H.,

- Nakano, T., Iehara, N., Fukatsu, A., Kita, T., Doi, T. Growth arrest-specific gene 6 is involved in glomerular hypertrophy in the early stage of diabetic nephropathy. *J. Biol. Chem.* 278: 18229-18234, 2003.
5. Tanaka, M., Matsubayashi, K., Yokode, M., Kita, T. Donepezil and athetosis in an elderly patient with Alzheimer's disease. *J. Am. Geriatr. Soc.* 51: 889-890, 2003.
6. Tabuchi A, Yoshioka A, Higashi T, Shirakawa R, Nishioka H, Kita T, Horiuchi H. Direct demonstration of involvement of protein kinase Calpha in the Ca²⁺-induced platelet aggregation. *J. Biol. Chem.* 278: 26374-26379, 2003.
7. Abe M, Hasegawa K, Wada H, Morimoto T, Yanazume T, Kawamura T, Hirai M, Furukawa Y, Kita T. GATA-6 is involved in PPARgamma-mediated activation of differentiated phenotype in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23: 404-410, 2003
8. Yanazume T, Hasegawa K, Morimoto T, Kawamura T, Wada H, Matsumori A, Kawase Y, Hirai M, Kita T. Cardiac p300 is involved in myocyte growth with decompensated heart failure. *Mol Cell Biol.* 23: 3593-3606, 2003.
9. Iwai-Kanai E, Hasegawa K, Adachi S, Fujita M, Akao M, Kawamura T, Kita T. Effects of endothelin-1 on mitochondrial function during the protection against myocardial cell apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 305: 898-903, 2003
10. Shimaoka T, Nakayama T, Kume N, Takahashi S, Yamaguchi J, Minami M, Hayashida K, Kita T, Ohsumi J, Yoshie O, Yonehara S. Cutting edge: SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates bacterial phagocytosis by APCs through its chemokine domain. *J Immunol.* 171: 1647-51, 2003.
11. Izumi T, Kihara Y, Sarai N, Yoneda T, Iwanaga Y, Inagaki K, Onozawa Y, Takenaka H, Kita T, Noma A. Reinduction of T-type calcium channels by endothelin-1 in failing hearts in vivo and

- in adult rat ventricular myocytes in vitro. *Circulation*. 108: 2530-2535, 2003.
12. Yamada SI, Takechi H, Kanchiku I, Kita T, Kato N. Small conductance Ca²⁺-dependent K⁺ channels are the target of spike-induced Ca²⁺ release in a feedback regulation of pyramidal cell excitability. *J Neurophysiol*. 2003.
13. Yamauchi R, Tanaka M, Kume N, Minami M, Kawamoto T, Togi K, Shimaoka T, Takahashi S, Yamaguchi J, Nishina T, Kitaichi M, Komeda M, Manabe T, Yonehara S, Kita T. Upregulation of SR-PSOX/CXCL16 and recruitment of CD8⁺ T cells in cardiac valves during inflammatory valvular heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 24: 282-287.2004.
14. Shirakawa R, Higashi T, Tabuchi A, Yoshioka A, Nishioka H, Fukuda M, Kita T, Horiuchi H. Munc13-4 is a GTP-Rab27 binding protein regulating dense-core granule secretion in platelets. *J Biol Chem*. 2004 in press.
15. Xu Y, Arai H, Zhuge X, Sano H, Murayama T, Yoshimoto M, Heike T, Nakahata T, Nishikawa SI, Kita T, Yokode M. Role of Bone Marrow-Derived Progenitor Cells in Cuff-Induced Vascular Injury in Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 24: 477-484, 2004.
16. Shimaoka T, Nakayama T, Fukumoto N, Kume N, Takahashi S, Yamaguchi J, Minami M, Hayashida K, Kita T, Ohsumi J, Yoshie O, Yonehara S. Cell surface-anchored SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates firm adhesion of CXC chemokine receptor 6-expressing cells. *J Leukoc Biol*. 75:267-74, 2004
17. Kume N, Kita T. Apoptosis of vascular cells by oxidized LDL: involvement of caspases and LOX-1, and its implication in atherosclerotic plaque rupture. *Circ. Res*. 94: 269-270, 2004
18. H. Horiuchi, Y, Matsuzawa, H, Mabuchi, H. Itakura, J. Sasaki, M. Yokoyama, Y. Ishikawa, S. Yokoyama, S. Mori, T. Ohrui, M. Akishita, T. Hayashi, K. Yamane, G. Egusa, and T. Kita Strategy for treating elderly Japanese with hypercholesterolemia: From

the report of the Research Group for
'Long-term prognosis of
elderly Japanese with hypercholeste
rolemia' in the Comprehensive
Research on Aging and Health.

Geriat. Gerontol. Int. 2004,
in press

H. 知的財産権の出願・登録状況：
なし

Ⅲ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

粥状動脈硬化ならびに血管再構築における
骨髄由来細胞の関与に関する研究

横出正之

研究要旨

動脈硬化ならびに血管再構築巣での骨髄由来細胞の分化様式の解析のために、GFP発現トランスジェニックマウスの骨髄細胞をC57/B16マウスに対して移植した。4週後血球細胞のFACS解析でドナー由来骨髄細胞の定着を確認し、大腿動脈周囲にポリエチレンカフ（長径2mm）を装着し血管再構築病巣を形成させたところ、術後2週目には血管再構築病変部は内膜、中膜、外膜の全層にわたりGFP陽性細胞で占められ、血管内腔の狭小化を伴った。カフ装着部位の細胞構成はM-CSFシグナル遮断によりマクロファージ系細胞の集簇は抑えられた一方、平滑筋細胞は増加した。反対にPDGF受容体 β のシグナル遮断では平滑筋細胞が減少する一方でマクロファージ系細胞の絶対数が増加した。これより血管再構築課程では骨髄細胞の動員と関与が顕著であること、さらにその細胞階層は自然発生粥状動脈硬化とことなり、マクロファージが平滑筋細胞に先行するのではなく、互いの細胞系統が干渉しながら進行することを示した。

A 研究目的

粥状動脈硬化（アテローム硬化）は虚血性心疾患、脳血管障害の基礎病態でありその成因の解明と治療・予防法の開発は社会公共的にも重要な課題である。近年、粥状動脈硬化は血管の形態再構築課程であることが明らかになってきた。このメカニズムを解析する目的で申請者はこれまでに粥状動脈硬化モデルマウスであるアポEノックアウトマウスにおいて単球・マクロファージ分化誘導因子であるM-CSF、平滑筋細胞増殖因子であるPDGF受容体 β 各々のシグナル遮断をおこない、粥状動脈硬化病変ではマクロファージが他の細胞系に先行して関与する細胞階層の存在を示してきた。本申請ではさらに血管再構築巣での骨髄由来細胞の分化様式の解析を試みた。

B. 研究方法

骨髄細胞のドナーとしてGFP発現トランスジェニックマウスを用い、その骨髄細胞をレシピエントとなるC57/B16マウスに亜致死線量のガンマ線照射後に移植した。4週後血球細胞のFACS解析でドナー由来骨髄細胞の定着を確認し、右大腿動脈周囲にポリエ

チレンカフ（長径2mm）を装着し、血管再構築病巣を形成させた。術後1, 2週目に動脈組織を採取し免疫組織学的解析に供した。左大腿動脈はシャム手術を行い対照とした。

C. 研究結果

①術後2週後に採取したカフによる血管再構築病変部では内膜、中膜、外膜の全層にわたりGFP陽性細胞で占められ、血管内腔の狭小化を伴った。また集簇した細胞の多くはマクロファージであったが、カフ装着後2週目からは平滑筋細胞の集簇を認めた。このような変化は対照では認めなかった
②M-CSFシグナル遮断モノクローナル抗体投与マウスでは病変へのマクロファージ系細胞の集簇は抑えられたが平滑筋細胞は増加した。他方PDGF受容体 β のシグナル遮断では血管再構築部位の平滑筋細胞が減少する一方でマクロファージ系細胞の絶対数が増加した。

D. 考察

以上より血管再構築課程では骨髄細胞の動員と関与が顕著であること、さらにその細胞階層は自然発生粥状動脈硬化とことなり、マクロファージが平滑筋細胞に先行するの

ではなく、互いの細胞系統が干渉しながら進行することが示された。

E. 結論

血管再構築巣では骨髄由来細胞が深く関与し、マクロファージと平滑筋細胞への分化運命をたどる細胞群が相互に干渉する。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsuji Y, Kanamori H, Murakami G, Yokode M, Mezaki T, Doh-ura K, Taniguchi K, Matsubayashi K, Fukuyama H, Kita T, Tanaka M. Heidenhain variant of Creutzfeldt-Jakob disease: diffusion-weighted MRI and PET characteristics. *J Neuroimaging*. 2004 Jan;14(1):63-6.
2. Xu Y, Arai H, Zhuge X, Sano H, Murayama T, Yoshimoto M, Heike T, Nakahata T, Nishikawa S, Kita T, Yokode M. Role of bone marrow-derived progenitor cells in cuff-induced vascular injury in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Mar;24(3):477-82. Epub 2004 Jan 22.
3. Yuan Z, Kishimoto C, Sano H, Shioji K, Xu Y, Yokode M. Immunoglobulin treatment suppresses atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice via the Fc portion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Aug;285(2):H899-906.
4. Tanaka M, Yokode M, Kita T, Matsubayashi K. Donepezil and atetosis in an elderly patient

with Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc*. 2003 Jun;51(6):889-90.

2. 学会発表

1. 横出正之

加齢に伴う動脈硬化の進展とその管理
第23回日本老年学会総会・第45回
日本老年医学会学術集会
2003年6月19日(木), 名古屋

2. Murayama T., Iwakura A., Kawamoto A., Yokode M., Losordo D. W.

A combo-therapy with angiogenic cytokine gene and bone marrow mobilization for ischemic heart diseases. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto September 28-October 2, 2003.

3. Xu Y, Arai H., Sano H., Kataoka H., Murayama, T., Zhuge X., Kita T., Yokode M.

Functional analysis of bone marrow-derived progenitor cells in an animal model for vascular remodeling

The XIIIth ISA satellite symposium in Kobe Oct. 3-4, 2003

4. Xin Zhuge, Hidenori Arai, Yang Xu, Toshinori Murayama, Tour Kita, Tayuya Kobayashi, Shuh Narumiya and Masayuki Yokode

Role of monocyte-macrophage in atherosclerosis in Thromboxane A2 receptor-deficient mice
Symposium on Atherosclerosis, Kyoto September 28-October 2, 2003.

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

虚血性心疾患の臨床像を把握するため、臨床研究のための環境整備を行った。その一方で、われわれは虚血性心疾患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引き続き行なっている。特に左冠動脈主幹部に対する経皮的冠動脈形成術の長期成績を明らかにするための国際的な多施設レジストリー研究にも参加し、この特殊な対象患者での同治療法の長期成績を明らかにすることに寄与した。また、現在計画中の急性心筋梗塞に対する再生治療としての骨髄単核球冠動脈内投与の第 I、II 相臨床試験の被験者である急性心筋梗塞患者を対象に、血管新生等に関する予知因子候補の血中レベルの測定も行う。これら成果は今後、心筋梗塞の予知因子の同定を行なう上での貴重な背景になるものと思われる。

A. 研究目的

心筋梗塞の予知因子の同定と予知法の開発のために、心筋梗塞を含む虚血性心疾患の臨床像や診断・治療法を評価し、現行の標準的診断・治療法の問題点を明らかにする。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の診断・治療法を再評価することにある。また、予知因子研究を行う基盤となる臨床研究実施組織の構築も行う。

B. 研究方法

1995年から2000年に日本と韓国の4施設での、左室機能正常例での非保護左冠動脈主幹部病変へのステント留置術施行例計270症例を、後ろ向きに解析する国際共同研究へ参加した。また、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を構築した。現在、参加施設数は42施設で、後ろ向きに3年間の血行再建術施行例を登録し、予後等を追跡調査する多施設共同研究を開始した。

さらに、京都大学循環器内科の入院患者を対象にした虚血性心疾患患者の血中バイオマーカースクリーニングのための患者の登録（試料の収集）を開始した。

C. 研究結果

左室機能正常例での非保護左冠動脈主幹部病変へのステント留置術に関する国際共同研究の解析結果では、手技成功率は98.9%で平均32ヶ月間の追跡期間での全死亡は20例、うち心臓死が8例であった。再狭窄は約21%に認められ、標的病変再血行再建術は16.7%、新規病変再血行再建術は11.5%に施行された。この研究では、正常左室機能例における非保護左冠動脈主幹部病変へのステント留置術の長期成績は良好であることが示された。

虚血性心疾患患者のレジストリーに関しては、データ入力・管理のためのデータベースを作成するとともに、全施設で倫理委員会への申請は済んでおり、その多くの施設で既に承認済みである。うち京都大学医学部附属病院を始め、9施設でベースラインのデータの入力を終了または開始しており、一部施設では1年後の追跡データの入力も行っている。

また、急性心筋梗塞に対する再生治療としての骨髄単核球冠動脈内投与の第I、II相臨床試験のプロトコールを作成し、当院の倫理委員会へ申請した。本研究では、対象となる心筋梗塞患者から採取する血清・血漿試料を用いて、血管および心筋の再生に関わる血中液性因子の解析を行うことになっている。

D. 考察

待機的な左冠動脈主幹部病変に対する血行再建術では、冠動脈バイパス術が標準的な治療法と考えられているが、年齢・合併症などの患者背景によって全身麻酔下での冠動脈バイパス術のリスクが高いと判断される症例などでは経皮的冠動脈内ステント留置術が選択されることもしばしばである。今回の国際共同研究の結果から、少なくとも正常左室機能例では、左冠動脈主幹部病変に対するステント留置術の長期成績は良好であることが示された。

ステント留置術に残された問題は、やはり再狭窄ということになるが、今後、わが国でも、再狭窄率を著明に低下させる薬剤放出性ステントが保険償還の対象となり普及すれば、経皮的冠動脈内ステント留置術の適応も拡大する方向へ向かうと予想される。しかしながら、薬剤放出性ステントは従来ステントに比べより高価であり、長期成績についてのデータが不足しているという問題もある。従って、ステント留置術の際に、薬剤放出性ステントの適応とすべき症例と従来ステントで良い症例との鑑別が必要となるであろう。本研究で検索している心筋梗塞の予知因子の中には、再狭窄のリスクの予知などに応用可能なものも含まれると考えられ、現在採取中のスクリーニング用の試料を用いた検討から候補をしぼった上でこのような予知因子の同定も行いたいと考えている。

また、心筋梗塞患者を対象とする心筋・血管再生治療の臨床試験でも、採取した心筋梗塞患者の血清・血漿を用いて、心筋梗塞に対する再生治療の治療効果予知因子の同定が期待される。

E. 結論

虚血性心疾患の治療法として経皮的冠動脈内ステント留置術の適応が拡大してゆくなか、心筋梗塞の予防も考慮した上での薬物治療・冠動脈血行再建術を併せた冠動脈疾患の集学的治療の規準が確立されるべきである。この点からも、心筋梗塞発症の予知法の開発が必要であり、われわれが構築した大規模の虚血性心疾患の治療法に関するレジストリーでの研究成果は、わが国における虚血性心疾患治療の現状の認識、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。