

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臨床上、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るであろう。本アッセイ系を用いて必須因子を同定しつつある。さらに多くの必須因子を同定し、それらの時間的・空間的相互関係を見出し、血小板活性化反応の分子メカニズムを明らかにしていきたいと考えている。そして、それらの知見を基に、創薬にかかわる鍵分子を見出したいと考えている。

E. 結論

安定した血小板活性化の測定法を開発した。多くの症例で本血小板活性化指標を測定し、予知因子としての、また、抗血小板療法の効果判定法として有効かどうか検証する。血小板活性化の分子メカニズムを解明するための、強力なツールとして透過型血小板を用いた顆粒放出および凝集アッセイ系を確立し得た。本アッセイ系を用いて必須因子を同定しつつある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表 平成14年度業績

1. E. Ishii, I. Ueda, R. Shirakawa, K. Yamamoto, H. Horiuchi, S. Ohga, K. Furuno, A. Morimoto, M. Imayoshi, Y. Ogata, M. Sako, K. Koike, A. Sakata, H. Takada, T. Hara, S. Imashuku, T. Sasazuki and M. Yasukawa (2005) Genetic subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: correlations with clinical features and cytotoxic T lymphocyte/natural killer cell functions. *Blood* in press

2. T. Higashi, A. Yoshioka, R. Shirakawa, A. Tabuchi, H. Nishioka, T. Kita, and H. Horiuchi

(2004) Direct demonstration of involvement of the adaptor protein ShcA in the regulation of Ca²⁺-induced platelet aggregation. *Biochem Biophys. Res. Commun* 322, 700-704.

3. H. Horiuchi, Y. Matsuzawa, H. Mabuchi, H. Itakura, J. Sasaki, M. Yokoyama, Y. Ishikawa, S. Yokoyama, S. Mori, T. Ohru, M. Akishita, T. Hayashi, K. Yamane, G. Egusa, and T. Kita (2004) Strategy for treating elderly Japanese with hypercholesterolemia: From the report of the Research Group for 'Long-term prognosis of elderly Japanese with hypercholesterolemia' in the Comprehensive Research on Aging and Health. *Gerit. Geront. Int.* 4, 151-156

4. H. Horiuchi, T. Kita, H. Mabuchi, M. Matsuzaki, Y. Matsuzawa, N. Nakaya, S. Oikawa, Y. Saito, J. Sasaki, K. Shimamoto, H. Itakura, and the J-LIT Study Group (2004) Primary cardiovascular event and serum lipid levels in elderly Japanese with hypercholesterolemia under 6-Year simvastatin treatment: A sub-analysis of the J-LIT Study. *J Am Geriatr Soc* 52:1981-1987, 2004

5. R. Shirakawa, T. Higashi, A. Tabuchi, A. Yoshioka, H. Nishioka, M. Fukuda, T. Kita, and H. Horiuchi (2004) Munc13-4 is a GTP-Rab27 binding protein regulating dense core granule secretion in platelets. *J. Biol. Chem.*, 279, 10790-10737.

H. 知的財産権の出願・登録状況
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

糖尿病性腎症進展の予知因子としての Smad1 に関する研究

（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

研究要旨 糸球体硬化と共にアルブミン尿は、糖尿病性腎症初期病変の特徴であるが、両者の関係はいまだ明らかでない。そこで、今回は糖尿病性腎症初期病変における両者の関係を硬化責任分子 Smad1 の発現を検討することにより明らかにした。24 週のストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを硬化群（糸球体 PAM 領域が正常群 + 2SD 以上）及び、非硬化群（糸球体 PAM 領域が正常群 ± 2SD 以内）の 2 群に分類した。その結果、アルブミン尿は両群間で差を認めず、腎症初期のアルブミン尿は糸球体硬化の指標とならないことが示唆された。一方、糸球体中 Col4 は硬化群で非硬化群に比べ約 2 倍の発現亢進を認め、糸球体中 Smad1 も硬化群でのみ発現亢進が認められた。さらに Smad1 の ELISA 系を確立し各群の尿中 Smad1 を測定した結果、硬化群で有意な尿中 Smad1 の排泄増加を認めた。以上の結果は、Smad1 が糖尿病性腎症早期の糸球体硬化に強く関与することを示すとともに、腎症初期病変における糸球体硬化の優れた尿中マーカーになる可能性を示す。

A. 研究目的

糖尿病腎症の本態は糸球体硬化であり、治療には顕性腎症期に至る前の潜在性腎症期に糸球体硬化を来す患者群を同定することが重要である。腎症の進展過程でアルブミン尿はしばしば糸球体硬化に先行するため、これまではアルブミン尿が潜在性腎症の指標として利用されてきた。しかし近年、ヒト腎症初期病変の病理学的検討から、アルブミン尿が潜在腎症期の糸球体硬化を必ずしも反映していないことが示唆されたため、両者の関係は未だ不明のままであり、新たな診断のためのマーカーの開発が期待されている。

我々は、これまでの研究で Smad1 が糸球体硬化症の重要な分子である 4 型コラーゲン (Col4) を直接制御することを *in vitro* で証明した。そこで本研究では潜在性腎症期の糸球体硬化における Smad1 の役割とアルブミン尿との関係を *in vivo* で検討し、Smad1 が糸球体硬化の予知因子となりうるかについて検討した。

B. 研究方法

糖尿病潜在腎症期のモデルとして頻用されているストレプトゾトシン誘発 (STZ) 糖尿病ラットを作成し、24 週後に硬化部位を認識する PAM 染色を施行した後、糸球体中 PAM 領域を計測することで、糖尿病群をさらに 2 群 (硬化群: PAM 領域が正常群 + 2SD 以上、非硬化群: PAM 領域が正常群 ± 2SD 以内) に分類した。正常対照群を含めた 3 群について体重、血圧、血糖値、HbA1c などの生化学的なデータを測定するとともに Smad1 及びリン酸化 Smad1、Col4、 α -smooth muscle actin (α SMA) を免疫組織学的及びウエスタンブロット法により検出した。また、尿中に Smad1 がウエスタンブロット法により検出されたため、その ELISA 系を確立した。また培養メサン

ギウム細胞を用いた reporter assay により Col4 と α SMA の転写活性を検討した。

C. 研究結果

正常対照群と比べ、糖尿病群においては体重が減少し、血糖値、HbA1c は上昇したが、糖尿病の 2 群間で、体重、血圧、血糖値、HbA1c などの生化学的なデータに差異を認めなかった。さらに腎症の機能的変化の指標であるアルブミン尿、糸球体濾過値についても糖尿病群においては正常群に比べ増加を認めたが、硬化群、非硬化群間で差異を認めなかった。これらはヒト糖尿病性腎症の潜在腎症期の特徴に合致しており、潜在腎症期には生化学所見やアルブミン尿は糸球体硬化の指標にならないことを意味する。一方、染色領域の計測および、単離糸球体蛋白のウエスタンブロットにおいて、硬化群では非硬化群に比して約 2 倍 Col4 産生が増加し、糸球体硬化の進展に重要なメサンギウム細胞の形質変化の指標である α SMA の発現も約 3 倍増加していた。また糸球体での Smad1 は硬化群においてのみ発現亢進が確認され、非硬化群や正常群ではほとんど検出されなかった。さらに Smad1 の ELISA 測定系を確立し、各群の尿中 Smad1 を測定したところ、正常群においてはほとんど尿中 Smad1 が検出されなかったが、硬化群においては Smad1 排泄量の著明な増加を認め、その増加は非硬化群に比して有意に多かった。また、培養メサンギウム細胞を用いた reporter assay によりメサンギウム細胞に Smad1 を強発現すると、Col4 だけでなく α SMA の転写活性も増強することが確認された。

D. 考察

糖尿病潜在腎症期での糸球体硬化に Smad1 が強く

反映しないこと、尿中 Smad1 が糸球体硬化を起こした群において増加することが *in vivo* で示された。またメサンギウム細胞の形質変換において起こる細胞外基質産生および α SMA の発現増強という2つの異なった局面が Smad1 という共通の転写因子に起因する可能性が *in vitro* で示された。これらの結果は尿中 Smad1 がアルブミン尿に比べ、糸球体硬化を示す新たな診断マーカーとして使用できる可能性を示唆する。顕性糖尿病性腎症の患者においては心筋梗塞、脳梗塞を含めた心血管イベントが発生しやすいことが知られており、尿中 Smad1 が心血管イベントの予知因子の一つとして使える可能性を示唆する。

E. 結論

我々は転写因子である Smad1 が糖尿病性腎症における糸球体硬化と関連し、下流のコラーゲン4、 α SMA 等の遺伝子発現を制御することを明らかにし、しかも尿中に Smad1 が排泄されて、糸球体硬化の新たな診断マーカーとして利用できる可能性を示した。

F. 健康危険情報：なし

G. 平成16年度業績：

- 1) Zhuge X, Murayama T, Arai H, Yamauchi R, Tanaka M, Shimaoka T, Yonehara S, Kume N, Yokode M, and Kita T. CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, in press
- 2) Nagai K, Matsubara T, Mima A, Sumi E, Kanamori H, Iehara N, Fukatsu A, Yanagita M, Nakano T, Ishimoto Y, Kita T, Doi T, and Arai H. Gas6 induces Akt/mTOR-mediated mesangial hypertrophy in diabetic nephropathy. *Kidney International*, in press
- 3) Tanaka M, Arai H, Liu N, Nogaki F, Nomura K, Kasuno K, Oida E, Kita T, and Ono T. Role of coagulation factor Xa and protease-activated receptor 2 in human mesangial cell proliferation. *Kidney International*, in press
- 4) Takahashi T, Abe H, Arai H, Matsubara T, Nagai K, Matsuura M, Iehara N, Yokode M, Nishikawa S, Kita T, and Doi T. Activation of STAT3/Smad1 is a key signaling pathway for progression to glomerulosclerosis in experimental glomerulonephritis. *J Biol Chem* 280:7100-7106, 2005.
- 5) Arai H, Yamamoto A, Matsuzawa Y, Saito Y, Yamada N, Oikawa S, Mabuchi H, Teramoto T, Sasaki J, Nakaya N, Itakura H, Ishikawa Y, Ouchi Y, Horibe H, and Kita T. Serum Lipid Survey and its Recent Trend in the General Japanese Population in 2000, *J Arteriosclerosis Thrombosis*, in press
- 6) Ohashi H, Takagi H, Kovama S, Oh H, Watanabe

D, Antonetti DA, Matsubara T, Nagai K, Arai H, Kita T, Honda Y. Alterations in expression of angiopoietins and the Tie-2 receptor in the retina of streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Vis*. 10:608-617, 2004

7) Kobayashi T, Tahara Y, Matsumoto M, Iguchi M, Sano H, Murayama T, Arai H, Oida H, Yurugi-Kobayashi T, Yamashita JK, Katagiri H, Majima M, Yokode M, Kita T, Narumiya S. Roles of thromboxane A(2) and prostacyclin in the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J Clin Invest* 114:784-94, 2004

8) 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* 24:477-482, 2004

9) Ohashi S, Abe H, Takahashi T, Yamamoto Y, Takeuchi M, Arai H, Nagata K, Kita T, Okamoto H, Yamamoto H, Doi T. Advanced glycation end products increase collagen-specific chaperone protein in mouse diabetic nephropathy. *J Biol Chem*. 279:19816-19823, 2004

10) Abe H, Matsubara T, Iehara N, Nagai K, Takahashi T, Arai H, Kita T, Doi T. Type IV collagen is transcriptionally regulated by Smad1 under advanced glycation end product (AGE) stimulation. *J Biol Chem*. 279:14201-14206, 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況：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、脳梗塞の予知因子の同定と予知法の開発

（分担）研究者 田中 誠 京都大学大学院医学研究科助教授

研究要旨 SR-PSOX の弁膜疾患や動脈硬化巣における発現を調べ、その血管新生に対する機能について検討した。SR-PSOX は急性弁膜疾患において弁表面に発現しているのみならず、弁内の新生血管や動脈硬化巣内の新生血管、腫瘍の新生血管内皮細胞で顕著に発現が上昇していることを見いだした。in vitro の検討では、SR-PSOX はヒト臍帯静脈内皮細胞の増殖・遊走を促進し、マトリゲル内での血管腔形成 (tube formation) を増加させた。SR-PSOX が炎症性病変や動脈硬化巣、腫瘍組織における血管新生に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は SR-PSOX が心臓の炎症性弁疾患において弁内の新生血管内皮細胞に強く発現していることを見いだした。そこで、今回、SR-PSOX の動脈硬化巣や腫瘍組織の新生血管における発現を調べ、血管新生に対する効果について検討した。

B. 研究方法

弁置換手術・大腸癌手術後の切除組織での SR-PSOX の発現の変化を免疫組織化学法にて検討した。また、ヒト臍帯静脈内皮細胞を用いて SR-PSOX の血管新生に対する機能を解析した。

（倫理面への配慮）

術前に組織標本を作製する旨説明し承諾を得た。また、組織標本と個人がむすびつかないようにデータを管理した。

C. 研究結果

ヒトの動脈硬化巣や大腸癌組織内の新生血管内皮細胞において、SR-PSOX の発現は顕著に上昇していた。in vitro の検討では、SR-PSOX はヒト臍帯静脈内皮細胞の増殖・遊走を濃度依存的に促進した。さらに、マトリゲル内での臍帯静脈内皮細胞の血管腔形成 (tube formation) を有意に増加させた。

D. 考察

SR-PSOX は炎症性弁疾患において CD8 陽性 T 細胞を炎症部位にリクルートするだけでなく、さらに広く動脈硬化巣や腫瘍組織における血管新生に関与している可能性が示唆された。SR-PSOX は炎症疾患、動脈硬化性疾患、腫瘍における治療ターゲットになる可能性がある。また、可溶性 SR-PSOX はこれらの疾患の診断や経過をみるうえで、有用なマーカーになる可能性があると考えられた。

E. 結論

SR-PSOX の発現は炎症疾患、動脈硬化性疾患、腫瘍において顕著に上昇していた。SR-PSOX は in vitro において血管新生作用を示した。SR-PSOX はこれら疾患の治療ターゲットや活動性を示すマーカーになる可能性がある。

F. 研究発表

論文発表

1. Zhuge X, Murayama T, Arai H, Yamauchi R, Tanaka M, Shimaoka T, Yonehara S, Kume N, Yokode M and Kita T CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun. in press.*
2. Togi K, Kawamoto T, Yamauchi R, Yoshida Y, Kita T and Tanaka M A role of HAND1/eHAND in

the dorso-ventral patterning and interventricular septum formation in the embryonic heart. *Mol. Cell. Biol.* 2004;24:4627-4635.

3. Fukumoto N, Shimaoka T, Fujimura H, Sakoda S, Tanaka M, Kita T and Yonehara S Critical roles of CXC chemokine ligand 16/ SR-PSOX in the pathogenesis of both acute and adoptive transfer experimental autoimmune encephalomyelitis. *J.Immunol.* 2004;173:1620-1627.

4. Jay PY, Harris BS, Maguire CT, Buerger A, Wakimoto H, Tanaka M, Kupersmidt S, Roden DM, Schultheiss TM, O'Brien TX, Gourdie RG, Berul CI and Izumo S. Nkx2.5 mutation causes anatomic hypoplasia of the cardiac conduction system. *J.Clin.Invest.* 2004;113:1130-1137.

5. 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 and Kita T. Up-regulation of SR-PSOX/CXCL16 and recruitment of CD8⁺ T cells in cardiac valves during inflammatory valvular heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24: 282-287.

学会発表

1. 山内亮子、田中 誠、久米典昭、川元隆弘、東儀圭則、島岡 猛、米原 伸、北 徹 炎症性弁膜疾患における SR-PSOX/CXCL16 の発現とその役割 第 68 回日本循環器学会、東京 2004.

2. 田中 誠 吉田善紀、北 徹 Role of Embryonic Epicardial Cells in Cardiomyocyte Proliferation and Coronary Vessel Formation during Cardiac Development. 第 69 回日本循環器学会 横浜 2005

3. 東儀圭則、田中 誠、北 徹 Role of the Hand genes in interventricular septum formation. 第 69 回日本循環器学会 横浜 2005

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

虚血性大脳白質病変による脳血管性パーキンソニズム発症機序 -PET による検討-

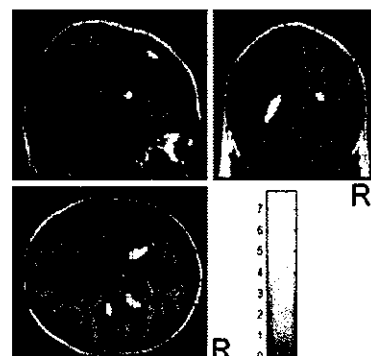
（分担）研究者 福山秀直 京都大学医学研究科教授

研究要旨 大脳白質病変患者にはしばしば脳血管性パーキンソニズム(VaP)が観察される。本研究では ^{11}C flumazenil-PET を用い、VaP 患者における neuronal integrity の定量的かつ機能的な検討を行い、VaP の責任病巣についての考察を加える。頭部 MRI 上 Schmidt III 度の広範大脳白質病変を認めた VaP 患者群 7 名(平均 73.7 歳)と非 VaP 患者群 5 名(平均 77.0 歳)を対象に、 ^{11}C flumazenil を用いベンゾジアゼピン受容体の分布容積を定量した。2 群の比較は SPM を用いて検討した。VaP 群の両側線条体と右側運動前野にベンゾジアゼピン受容体分布容積の有意な低下すなわち neuronal integrity の障害が観察された。線条体や運動前野は前頭葉白質を介し大脳基底核運動ループの一角をなす。この運動ループの機能的障害が虚血性大脳白質病変に伴う VaP の発症に関与している可能性がある。

A. 研究目的：脳梗塞、特に虚血性大脳白質病変により脳血管障害性パーキンソン症候群（VaP）を来たす機序を、PET を用いて機能的に解析することを目的とする。CT、MRI などの画像診断法が普及し、虚血性大脳白質病変が検出される頻度が高くなった一方で、虚血性大脳白質病変による VaP の発症機序は十分に解明されていない。頭部 CT、MRI 上で観察される大脳白質病変やラクナ梗塞の分布が VaP の発症と相関するとの報告があるが、こうしたパラメーターは解剖学的情報のみをもとにしており必ずしも脳機能を正確に反映していない。そのため、PET で観察される脳機能異常と VaP など実際の神経症候との相関関係を検討する。

B. 研究方法：パーキンソン徴候の有無と PET 所見との相関に関する検討：頭部 MRI にて広範な虚血性大脳白質病変 (Schmidt III) を有する 12 名の患者を対象とした。この 12 名の患者をパーキンソン徴候あり群 (P 群)となし群(NP 群)に分類し、 ^{11}C フルマゼニル-PET を用いて定量化したベンゾジアゼピン受容体の分布容積を P 群と NP 群で比較した。比較は statistical parametric mapping (SPM) を用いて統計的に行い、有意差を検出した部位 ($P_{\text{uncorr}} < 0.0005$) を 3 次元的に再構築して可視化した。患者背景因子の 2 群比較は、連続変数については Mann-Whitney U test、カテゴリー変数については Fisher's exact test を用いた。

C. 研究結果：12 名の虚血性大脳白質病変を有する患者は、P 群 7 名(平均 73.7 歳)と NP 群 5 名(平均 77.0 歳)に分類された (下表)。P 群では線条体におけるラクナ数が多い傾向が見られたが有意ではなかった。ベンゾジアゼピン受容体の分布容積を定量し、SPM を用いて 2 群比較したところ。P 群の両側線条体と右側運動前野にベンゾジアゼピン受容体分布容積の有意な低下、すなわち neuronal integrity の障害が観察された (右図、白領域)。



患者背景因子	P 群	NP 群	P
患者数	7 (男 3, 女 4)	5 (男 1, 女 4)	
平均年齢 (範囲)	73.7±4.6 (68-80)	77.0±3.2 (72-80)	0.20
線条体におけるラクナ数	1.14±0.90	0.60±0.55	0.26
ミニメンタルステート試験得点 (0-30)	21.0±6.3	27.2±4.8	0.09
構音障害, No. (%)	3 (43)	0 (0)	0.20
偽性球麻痺, No. (%)	1 (14)	0 (0)	>0.99
尿失禁, No. (%)	3 (43)	1 (20)	0.58
高血圧, No. (%)	5 (71)	2 (40)	0.56
血圧管理 (収縮期血圧 >140 mmHg), No. (%)	1 (14)	0 (0)	>0.99
糖尿病 No. (%)	2 (29)	0 (0)	0.47
喫煙, No. (%)	3 (43)	2 (40)	>0.99
微量アルブミン, No. (%)	2 (29)	0 (0)	0.47
脳血管障害の既往, No. (%)	2 (29)	1 (20)	>0.99
心筋梗塞の既往, No. (%)	2 (29)	1 (20)	0.47
抗血小板剤使用, No. (%)	5 (71)	3 (60)	>0.99
抗凝固剤使用, No. (%)	0 (0)	2 (40)	>0.99
総コレステロール値, mg/dl	223.7±23.8	199.2±15.3	0.82
中性脂肪値, mg/dl	106.2±56.1	140.8±54.6	0.31
ヘマトクリット値, %	38.1±2.6	35.9±2.3	0.16

連続変数データはすべて平均±標準偏差。

D. 考察：線条体や運動前野は前頭葉白質を介し大脳基底核運動ループの一角をなす。この運動ループの機能的障害が虚血性大脳白質病変に伴う VaP の発症に関与している可能性がある。

E. 結論：虚血性大脳白質病変を有する患者の線条体では虚血による機能的異常が解剖学的異常に先行していた。こうした機能的異常をできるだけ早期に検出し、脳梗塞の危険因子のコントロールや抗血小板剤の投与など積極的な治療介入を施すことで、VaP の発症や引き続いて起こる ADL の低下、寝たきりへの予防を的確に行えるものと考えられる。

F. 健康危険情報：なし

G. 平成 15 年度業績：I. Ihara M, Tomimoto H, Ishizu K, Mukai T, Yoshida H, Inoue M, Doi T, Hashikawa K, Konishi J, Shibasaki H, Fukuyama H. Decrease in benzodiazepine receptors in symptomatic patients with leukoaraiosis: a PET study. *Stroke*. 2004;35(4):942-947.

H. 知的財産権の出願・登録状況：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

若年発症心筋梗塞の危険因子としてのホモシステイン遺伝子多型に関する研究

（分担）研究者 鄭 忠和 鹿児島大学大学院循環器呼吸器代謝内科学 教授

研究要旨 冠危険因子としてのホモシステイン遺伝子多型の重要性を検討するために、若年発症心筋梗塞患者96名と正常対照122名で、血中ホモシステインとMTHFR遺伝子多型を解析した。患者のホモシステイン濃度は 11.2 ± 5.4 mmol/lで、健常者の 8.4 ± 5.3 mmol/lより有意に高値を示した。MTHFR遺伝子多型のVV:VA:AAの頻度は、患者群で12:53:31、対照群で15:51:56であり、VVとVA+AAとの比は、患者群で12.5% : 87.5%、対照群で12.3% : 87.7%と両群間に差はなかった。以上より、血漿ホモシステイン濃度の重要な規定因子であるMTHFR遺伝子多型VVは、若年発症心筋梗塞患者ではその危険因子として認められなかった。

A. 研究目的

ホモシステインは動脈硬化促進や易血栓性を惹起するといわれ、ホモシステイン代謝系で重要な働きをするMethylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)の遺伝子多型も心筋梗塞の発症に関与することが報告されている。われわれも若年発症の心筋梗塞患者でホモシステインが独立した危険因子になっていることを報告しているので、今回、MTHFR遺伝子多型(C677T)の関与について検討した。

B. 研究方法

45歳以下で心筋梗塞を発症した96名の患者と年齢を一致させた122名の正常対照者で採血を行い、ホモシステイン濃度とMTHFR遺伝子多型(VV、VA、AA)を解析した。

C. 研究結果

(1) 血漿ホモシステインは、患者群で 11.2 ± 5.4 mmol/l、対照群で 8.4 ± 5.3 mmol/lであり、患者群が対照群に比べ有意の高値を示した
(2) MTHFR遺伝子多型VV:VA:AAの頻度は、患者群で12:53:31、対照群で15:51:56であり、VVとVA+AAとの比は、患者群で12.5% : 87.5%、対照群で12.3% : 87.7%と両群間に差はなかった。
(3) 遺伝子多型別のホモシステイン濃度は、VVで 13.1 ± 9.2 mmol/l、VA+AAで 9.1 ± 4.6 mmol/lと有意に規定していた($P < 0.05$)。両群のホモシステイン濃度は、対照群でVV: 13.8 ± 11.4 mmol/l、VA+AA: 7.6 ± 3.3 mmol/lとVVが有意($P < 0.05$)に高値を示したが、患者群ではVV: 12.2 ± 6.0 mmol/l、VA+AA: 11.1 ± 5.3 mmol/lと、両者には有意差を認めなかった。

D. 考察

血中ホモシステイン濃度は種々の遺伝要因と環境要因で規定されている。今回の研究で、重要な遺伝的規定因子であるMTHFR遺伝子多型が対照群ではホモシステイン濃度を規定しているものの患者群では規定していないことが見出されたことより、若年発症心筋梗塞患者では血中ホモシステイン濃度上昇の原因として、遺伝要因より環境要因の重要性が示唆された。

E. 結論

血漿ホモシステイン濃度の重要な規定因子であるMTHFR遺伝子多型VVは、若年発症心筋梗塞患者では、その危険因子として認められなかった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa M, Abe S, Biro S, Saigo M, Kihara T, Setoyama S, Matsuoka T, Toda H, Torii H, Atsuchi Y, Toyama Y, Tateishi S, Minagoe S, Maruyama I, Tei C: R353Q polymorphism, activated factor VII, and risk of premature myocardial infarction in Japanese men. *Circ J* 2004;68:520-525.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

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、脳梗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 近藤 宇史 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨 閉塞性動脈硬化症 (ASO) の臨床像、病態の進行度、治療効果などの把握は困難なことが多い。治療後再発したり、四肢の切断を余儀なくされる症例の病態の把握や適切な治療法の選択も更に困難である。そのような現状を打破する上では、抹消血管の虚血の程度を示す指標となる血清マーカーの開発は重要課題である。酸化ストレスは細胞障害とレドックス制御を介した細胞機能制御の 2 面性を有している。多くの疾患でこの酸化ストレスが疾病の発症や進展に関与することが示唆されているがまだ不明の点が多い。心血管や脳血管の病変の進展に関与する慢性の酸化ストレスの程度を把握するマーカーを開発して、sLOX-1 の測定値と比較することによって病態予知因子としての意義を明らかにすることを目的とした。酸化ストレスはタンパク、脂質、核 DNA の修飾を引き起こし、細胞障害や発癌の原因となる (Biochem. Biophys. Res. Commun., 2003)。脂質過酸化は核 DNA と結合して DNA の脂質過酸化物を生じることを報告した (Free Rad. Biol. Med., 2004)。一方、酸化ストレスを消去するグルタチオン (GSH) は、OH⁻などの活性酸素を直接消去するほかに、関連酵素の働きで酸化型グルタチオン (GSSG) となることで H₂O₂などを消去する。この GSH はタンパクに対してはシステインの SH 基を保護する働きもある (J. Biol. Chem., 2003)。そこで本研究では、具体的にはシステインが酸化修飾された thiol 化血清タンパク質を測定することで血管病変の予知因子としての意義を明らかにすることを目的とした。本年度は、thiol 化タンパクの測定系を確立し、閉塞性動脈硬化症 (ASO) 患者の血清を測定した。病期の進展に従って sLOX-1 が増加し、この thiol 化タンパクも上昇していた。治療効果の判定にも役立つことを初めて明らかにした。この結果から、ASO 患者の病態を示す客観的で鋭敏な予知因子として sLOX-1 とともに、thiol 化タンパク測定の意義が示唆された。今後治療法の選択と効果判定や疾病の早期診断としての予知因子の動態を早急に詳細に検討する必要性も強く示唆された。

A. 研究目的

閉塞性動脈硬化症 (ASO) の病態は疼痛や冷感などの患者主訴に依存することが多い。治療として内科的両方の他に PTA やバイパス手術が行われるが、その治療効果、臨床像や病態の進行度などの把握は困難なことが多い。動脈造影検査によって狭窄の部位と程度を確認することは重要であるが、微細な側副血行路の存在は把握できないことも多い。治療後再発する症例の病態の把握や適切な治療法の選択も更に困難である。そのような現状を打破する上では、抹消血管の虚血の程度を示す指標となる血清マーカーの開発は重要課題であらう。本年度は、sLOX-1 と共に、新しい酸化ストレスマーカーとして血清タンパク中の含硫アミノ酸が酸化型グルタチオンで修飾される (thiolation) ことに着目してその測定方法の開発と臨床的意義、sLOX-1 との比較検討を行なうことを目的とした。血管老化に活性酸素などによる酸化ストレスが関与することは既に多くの報告があるが、発症、進展や治療効果などの臨床的意義についての解析は未開発の分野である。

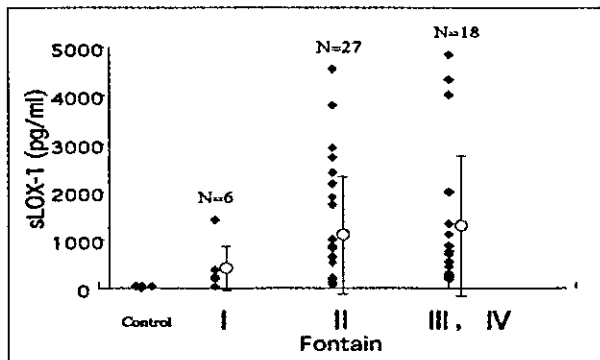
B. 研究方法

長崎大学付属病院および関連病院を受診した ASO 患者 51 名、高血圧患者 14 名、更に健康人 15 名からの血清を試料とした。なお、研究に際しては臨床研究倫理委員会の承認を得た。血清中 sLOX-1 値測定は京都大学循環器内科久米典明先生に依頼した。血清中酸化ストレスマーカーとして、S-glutathionylated thiols に対する特異抗体を作製した。即ち、BSA に GSSG を加えて 60 時間 37℃ でインキュベートし家兎に免疫して作製した。抗体で染色されたタンパク質の同定は二次元電気泳動法で行った。

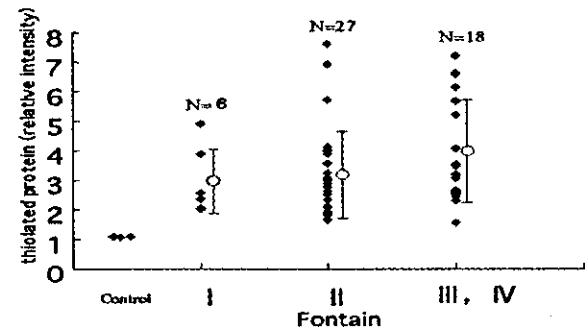
C. 研究結果

1) 血清 sLOX-1 値 (pg/ml)。 ASO 患者では、Fontain 分類 I で 412.2±461.0 (n=6)、Fontain 分類 II で 1100.0±1214.1 (n=27)、Fontain 分類 III, IV で 1304.7±1456.4 (n=18) であった (図 1)。高血圧症や正常人では殆ど検出されなかった。

図1・ASO患者の病期による sLOX-1 値の変化



2) 血清 thiol 化 タンパク値 (正常人の平均値を 1.0 とした相対値)。ASO 患者では、Fontain 分類 I で 2.96 ± 1.08 (n=6), Fontain 分類 II で 3.18 ± 1.47 (n=27), Fontain 分類 III, IV で 3.97 ± 1.73 (n=18) であった (図 2)。高血圧症患者では正常コントロールと差が認められなかった。



3) 血清 sLOX-1 と血清 thiol 化 タンパクの相関性。両マーカーとも ASO 患者で高値を示したが、2つのマーカーとの間には相関性は認められなかった。また、両マーカーとも血清 LDL-cholesterol 値との間に相関性は認められなかった。

臨床経過との関連性。SLOX-1 と血清 thiol 化タンパクともに、バイパスなどの治療で測定値が改善する症例が認められた。一方、治療を行っても増加した値に改善が認められない症例もあった。それは特に、病期の進展している症例で認められた。

D. 考察

今回、初めて血清 sLOX-1 が ASO 患者で増加していること。その値は病状の進行と一致していることを明らかにした。この結果から、血管の狭窄の進展と LOX-1 の血中への遊離に関連があることが強く示唆された。血管造影などの形態学的異常を把握する検査手法にも増して、病態と進行を把握する上で sLOX-1 を測定する意義が高いことが推察された。この sLOX-1 測定は血管損傷の新しいマーカーとして重要であると考えられる。一方、血清 thiol 化 タンパク値も ASO 患者で増加していること、その値が病状の進行と一致していることを明らかにした。しかしながら、これらのマーカー

の間に関連性がないことから、両者は独立した予知因子であり、その増加が異なった機序で生じることが推察される。タンパクの thiolation は酸化/還元の不均衡によってもたらされることから、血清中の酸化/還元が慢性に酸化状態に傾いていることが示唆される。この不均衡は、酸化ストレスが過剰であるのか、生体の還元力を維持する GSH とその関連酵素の力の低下かは明らかではないが、血清の酸化状態が血管の損傷を引き起こす一因となっていることが考えられる。今後予知因子としてのみならず、新しい治療法の開発に対しても意義のある指標となると考えられる。

しかしながら、今回の検討では、患者の経過観察と、治療法選択による差異、基礎疾患との関連性などの検討は十分には行われなかった。今後益々増加すると思われる血管病変の新しいマーカーの臨床応用を早急にはかる対策も必要であると思われる。

E. 結論

(1) sLOX-1 が ASO 患者の病期進展に比例して上昇していることを明らかにした。SLOX-1 が ASO の診断と予後や治療効果の判定に極めて有用な因子であることが示唆された。

(2) 同様に、我々が新しく開発した抗体を用いて測定した thiol 化血清蛋白が ASO 患者で病期進展に比例して上昇していることを明らかにした。両因子は必ずしも相関しないことから、それぞれの病態的意義は異なるものの、両者ともに血管病変の予知因子となることが考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

【1. 論文発表】

- 1: Ihara, Y., Manabe, S., Kanda, M., Kawano, H., Nakayama, T., Sekine, I., Kondo, T., and Ito, Y. Increased expression of protein C-mannosylation in the aortic vessels of diabetic rats. *Glycobiology*. 2004. in press.
- 2: Soh, Y., Goto, S., Kitajima, M., Moriyama, S., Kotera, K., Nakayama, T., Nakajima, H., Kondo, T., and Ishimaru, T. Nuclear Localization of Glutathione S-Transferase π is an Evaluation Factor for Drug Resistance in Gynecological Cancers. *Clinical Oncology*. 2004. in press.
- 3: Yasuoka, C., Ihara, Y., Ikeda, S., Miyahara, Y., Kondo, T., and Kohno, S. Antiapoptotic activity of Akt is down-regulated by Ca^{2+} in myocardial H9c2 cell. - Evidence of Ca^{2+} -dependent regulation of protein phosphatase 2Ac. *J. Biol. Chem.* 279:51182-51192, 2004
- 4: Kamada, K., Goto, S., Okunaga, T., Ihara, Y., Tsuji, K., Kawai, Y., Uchida, K., Osawa, T., Matsuo, T., Nagata, I., and Kondo, T. Nuclear glutathione S-transferase π prevents apoptosis by reducing the oxidative stress-induced formation of exocyclic DNA

adducts. **Free Radical. Biol. Med.** 37(11):1875-1884, 2004
5: Tarumoto, T., Nagai, T., Ohmine, K., Miyoshi, T., Nakamura, M., Kondo, T., Mitsugi, K., Muroi, K., Komatsu, N., and Ozawa, K. Ascorbic acid restores sensitivity to imatinib via suppression of Nrf2-dependent gene expression in the imatinib-resistant cell line. **Experimental Hematology.** 32:375-381, 2004

【2. 学会発表】

- 1: 第45回 原子爆弾後障害研究会
『原発性脳腫瘍の放射線耐性機序における小胞体分子シャペロンの役割』・奥永知宏、井原義人、近藤宇史、奥村寛
- 2: レドックス生命科学第170委員会 「血管フォーラム」 『心血管系のストレス応答における転写因子KLF5の意義』・近藤宇史
- 3: 第63回日本がん学会・学術総会
(1) 『原発性脳腫瘍の放射線耐性機序における小胞体分子シャペロンの役割』・奥永知宏、井原義人、松尾孝之、永田泉、近藤宇史
(2) 『核内グルタチオン S-トランスフェラーゼπによる酸化的 DNA 傷害の抑制』・後藤信治、河合慶親、林田靖、井原義人、大澤俊彦、近藤宇史
- 4: 第77回 日本生化学会総会
(1) 『ER retention of calreticulin and structural implications』・Ihara, Y., Yasuoka, C., Wada, Y., Kondo, T.
(2) 『Protective effect of Estradiol on oxidative stress-induced apoptosis- implication of redoxregulation.』・Urata, Y., Goto, S., Ihara, Y., Kondo, T.
(3) 『Nuclear glutathione S-transferase π prevents apoptosis by reducing the oxidative stress-induced formation of exocyclic DNA adducts.』・Goto, S., Urata, Y., Ihara, Y., Kawai, Y., Osawa, T., Kondo, T.
- 5: 日本過酸化脂質・フリーラジカル学会 第28回大会 (1) 『心筋芽細胞の参加ストレス障害に対するエストロジオールの防御作用の機構』・近藤宇史
(2) 『核内グルタチオン S-トランスフェラーゼπによる酸化的 DNA 障害の抑制』・後藤信治、近藤宇史
- 6: 第26回日本基礎老化学会シンポジウム
『酸化ストレス性細胞障害を防御するシグナル伝達と細胞内アンチオキシダントによる制御』・近藤宇史

H. 知的財産権の出願・登録状況 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

心筋細胞傷害におけるストレスタンパク質発現の病態的意義の解析

（分担）研究者 井原 義人 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科助教授

研究要旨 心筋梗塞や脳梗塞における酸化ストレス応答に関連するストレスタンパク質の病態における意義を解明するため、心筋芽細胞株 H9c2 を用いた酸化ストレス細胞傷害モデルの解析を行った。その結果、酸化ストレス細胞傷害下での細胞内カルシウム変動による細胞生存シグナル Akt の制御機構を見出し、Protein phosphatase 2A の遺伝子発現を介した新たなシグナル制御機構を明らかにした。また、新規生体化合物 C-マンノシル化トリプトファンがラット糖尿病モデル大血管組織で増加することを見出した。今後は新たな血管病変マーカーとして、心筋梗塞や脳梗塞の診断への応用可能性などについて検討を進める予定である。

A. 研究目的

酸化ストレスは虚血心筋における細胞障害の重要な増悪因子であり、細胞内で種々のストレスタンパク質の発現を誘導する。本研究は、心筋梗塞や脳梗塞における酸化ストレス応答に関連するストレスタンパク質について、その病態における意義を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

（1）心筋芽細胞株 H9c2 を用いて、酸化ストレス下での細胞内カルシウム変動による細胞生存シグナル Akt の制御機構について、Protein phosphatase 2A の遺伝子発現制御機構を検討した。

（2）新規生体化合物 C-マンノシル化トリプトファンに対する抗体を作製し、新たな血管病変マーカーとしての可能性についての基礎的検討を行った。

C. 研究結果

（1）H9c2 細胞において、酸化ストレス下の細胞内遊離カルシウムの上昇が継起となり Akt シグナルの抑制と細胞傷害感受性の増強が起こった。この分子機構として、Akt の脱リン酸化に関わる PP2A α 遺伝子の転写因子 CREB による制御が明らかとなった。

（2）抗 C-マンノシル化トリプトファン抗体を用いた免疫組織染色により、糖尿病モデルラットの大血管で C-マンノシル化トリプトファンが特異的に増加していることを見出した。

D. 考察

酸化ストレスによる心筋細胞傷害において小胞体ストレスタンパク質の関わる心筋細胞の傷害感受性の増強機構に、カルシウム代謝を介して CREB が関わる新たな Akt シグナルの制御機構があることを明らかにした。

E. 結論

今後は、酸化ストレス下における心筋細胞傷害機構の詳細な解析をさらに進める。また、今回我々が作製した抗 C-マンノシル化トリプトファン抗体は血管病変の診断マーカーとしての可能性が示唆された。C-マンノシル化トリプトファンやその他のストレスタンパク質マーカーについては、可溶性 LOX-1 との併用による新たな血管病変の診断応用などについての検討を、心筋梗塞患者検体について行う予定である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

【1. 論文発表】 1. Yasuoka C., Ihara Y., et al (4).: Antiapoptotic activity of Akt is down-regulated by Ca²⁺ in myocardial H9c2 cells. Evidence of Ca²⁺-dependent regulation of protein phosphatase 2A α . *J. Biol. Chem.* 279:51182-51192, 2004

2. Kamada K., Ihara Y., et al (9).: Nuclear glutathione S-transferase p prevents apoptosis by reducing the oxidative stress-induced formation of exocyclic DNA products. *Free Radic. Biol. Med.* 37:1875-1884, 2004

3. Ihara Y., et al (7).: Increased expression of protein C-mannosylation in the aortic vessels of diabetic Zucker rats. *Glycobiology*, in press, 2005

4. Ihara Y., Kageyama K., and Kondo T.: Overexpression of calreticulin sensitizes SERCA2a to oxidative stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press, 2005

【2. 学会発表】 1) 井原義人 他: カルレティキュリンの小胞体局在化とその分子機構 第 77 回日本生化学会、2004 年 10 月 13-16 日、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

腹部大動脈瘤の破裂予測因子として sLOX-1 に関する研究
（分担）研究者 坂田隆造, 山本裕之, 増田 宏, 岩元 智
(No. 1)

研究要旨 腹部大動脈瘤の破裂予測因子として瘤径およびその変化は破裂とよく相関している。これら予測因子と血清マーカーとの相関を分析し、予測因子としての意義を検討する。

A. 研究目的

腹部大動脈瘤を有する患者の瘤破裂の予知因子となりうるかどうかを臨床的に検討する。

B. 研究方法

瘤径 3cm 以上の腹部大動脈瘤を有する患者群を対象に経時的に採血を行い、各種血清マーカーを測定する。なお sLOX-1 測定は京都大学循環器学講座に依頼する。

（倫理面への配慮）

研究登録時に研究対象者に対して、書面と口頭で研究の意義、目的、研究方法による対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し理解を得た上で、承諾書に署名をいただいている。同時にヒトゲノム・遺伝子解析研究は行わないことも説明している。

C. 研究結果

平成 16 年 2 月に倫理委員会で承認された。現在 5 名を登録している。

経時的観察が可能な腹部大動脈瘤を有する症例が集まらず、当科関連施設の協力をあおぎ、目標研究対象者数への到達に努力している。

D. 考察

平均観察期間が 1 年にも満たないため検討するほどデータはそろっていません。

E. 結論

結論を導き出すだけのデータがそろっていません。

F. 健康危険情報

採血のみで現在のところ特に問題はありません。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

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

腹部大動脈瘤の破裂予測因子として sLOX-1 に関する研究

（分担）研究者 坂田隆造，山本裕之，増田 宏，岩元 智
(No. 2)

研究要旨 腹部大動脈瘤の破裂予測因子について瘤径変化，血清マーカーについて分担研究するが，手術，剖検に至った症例では動脈瘤壁の組織学的臆策を行う。

A. 研究目的

腹部大動脈瘤を有する患者の手術，剖検等で得られた標本の病理組織学的検索を行うとともに瘤破裂の各種予測因子との関連を検討し，動脈瘤発生のメカニズムをさぐる。

B. 研究方法

瘤径 3cm 以上の腹部大動脈瘤を有する患者群を対象に経時的に採血を行い，各種血清マーカーを測定する。経過中に瘤破裂，手術希望などの理由で大動脈瘤壁のサンプルが得られる症例を対象に，病理組織学的検討を加える。

（倫理面への配慮）

研究登録時に研究対象者に対して，書面と口頭で研究の意義，目的，研究方法による対象者に対する不利益，危険性の排除を説明し理解を得た上で，承諾書に署名をいただいている。同時にヒトゲノム・遺伝子解析研究は行わないことも説明している。

C. 研究結果

平成 16 年 2 月に倫理委員会で承認された。現在 5 名を登録している。瘤壁が得られるまでに至った症例はない。

D. 考察

平均観察期間が 1 年にも満たないため検討するほどデータはそろっていません。

E. 結論

結論を導き出すだけのデータがそろっていません。

F. 健康危険情報

採血のみで現在のところ特に問題はありません。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

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

大動脈瘤の発生部位，形態，性状が sLOX-1 に及ぼす影響に関する研究

（分担）研究者 坂田隆造，山本裕之，増田 宏，岩元 智
(No. 3)

研究要旨 大動脈瘤病変と sLOX-1 の関係において，瘤のサイズ以外の発生部位，形態，性状などの因子が如何に影響しているかを検討する。

A. 研究目的

臨床的に大動脈瘤の発生部位，形態，性状などの因子はその病態に深く関与している。sLOX-1 の発現に影響はないかどうかを検討する。

B. 研究方法

すべての大動脈症例を対象とし，sLOX-1 を含めた血清マーカーを測定する種血清マーカーを測定する。大動脈瘤壁サンプルは，後に病理組織学的検討のために保存しておく。

（倫理面への配慮）

研究登録時に研究対象者に対して，書面と口頭で研究の意義，目的，研究方法による対象者に対する不利益，危険性の排除を説明し理解を得た上で，承諾書に署名をいただいている。同時にヒトゲノム・遺伝子解析研究は行わないことも説明している。

C. 研究結果

平成 16 年 2 月に倫理委員会で承認された。遡り登録も含め 30 名の sLOX-1 測定を行ったが明らかな傾向はえられず，研究開始後登録された 30 例のサンプルを現在測定しているところである。

D. 考察

追加測定データを待って，検討を行う予定である。

E. 結論

結論を導き出すだけのデータがそろっていません。

F. 健康危険情報

採血のみで現在のところ特に問題はありません。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

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

大動脈瘤手術時の中枢神経障害予知因子としての sLOX-1 に関する研究

（分担）研究者 坂田隆造, 山本裕之, 増田 宏, 岩元 智
(No. 4)

研究要旨 動脈硬化の程度をと動脈瘤手術時の中枢神経障害との関連を, S100 β 蛋白と sLOX-1 をマーカーに検討し, 大動脈瘤手術時の中枢神経障害発生予知因子としての可能性を検討する。

A. 研究目的

sLOX-1 は動脈硬化病変において発現が亢進している。Atheromatous plaque によって大動脈瘤手術時に発生する中枢神経障害を予知する因子として, sLOX-1 と S-100 β 蛋白との関連を検討する。

B. 研究方法

胸部大動脈症例（主に低体温循環停止, 順行性脳灌流下に行った症例）の周術期 sLOX-1, S-100 β 蛋白を測定する。

術後の中枢神経障害の有無と, 両マーカーとの関連を検討する。コントロールはして弁膜症, CABG 症例症例とする。

（倫理面への配慮）

研究登録時に研究対象者に対して, 書面と口頭で研究の意義, 目的, 研究方法による対象者に対する不利益, 危険性の排除を説明し理解を得た上で, 承諾書に署名をいただいている。同時にヒトゲノム・遺伝子解析研究は行わないことも説明している。

C. 研究結果

遡り登録した 20 名の sLOX-1 測定を行っているところである。

D. 考察

測定データを待って, 検討にはいる予定である。

E. 結論

結論を導き出すだけのデータがそろっていません。

F. 健康危険情報

採血のみで現在のところ特に問題はありません。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他

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

急性心筋梗塞症に対する血栓吸引療法の有用性に関する研究

（分担）研究者 土井 修 静岡県立総合病院 系統別診療部長

A. 研究目的

経皮的冠動脈形成術(PCI)は急性心筋梗塞症(AMI)に対する早期再灌流療法の第一選択とされているが、血栓の豊富なAMI病変に施行した場合末梢塞栓症や No Flow/Slow Flow を起こし重大な問題を生じることがある。

近年、この問題を解決するために血栓吸引カテーテルが開発され AMI に対する治療に使用されている。今回、我々は AMI に対する血栓吸引療法の有用性を明らかにするために、その初期成績、左心機能および院内予後に与える効果、そして慢性期成績を検討した。

B. 研究方法

対象は2001年5月より2003年12月までに、発症後24時間以内の AMI にて当科に入院し血行再建術を施行した86症例。心原性ショック、unprotect LMT 症例は除外した。血栓吸引療法を行った群を T 群(43病変、43症例)、血栓吸引療法を施行せず PCI のみを行った群を C 群(43病変、43症例)とし、両群間で初期成績、左心機能、院内予後、慢性期成績を比較検討した。統計解析は解析ソフト Stat View (SAS, USA)を使用し、 $p < 0.05$ を統計学的有意と評価した。

C. 研究結果

Patient characteristics (T 群:C 群)では男性率 (%) は 32:32 (ns)、平均年齢は 66:67 (ns)、冠危険因子罹患率 (%) (高血圧/糖尿病/高脂血症/喫煙) は 58/23/40/42: 51/30/35/52 (ns)であった。発症後再灌流までの時間は 5.6:4.1(ns)。IABP の使用も5症例(12%):7 症例(16%)(ns)と両群間で有意差は認めなかった。

Angiographic characteristics では TIMI grade

(0/1/2/3) (%) は 60/21/19/0:62/5/31/2 (ns)。Blush score(0/1/2/3) (%) も 0/7/48/44:2/14/40/44(ns)と両群間で有意差は認めなかった。標的血管 (LAD/LCX/RCA) (%) は 28/9/58:44/21/35 と RCA 病変を T 群に有意に多く認めた。

Procedural characteristics では使用バルーン数は 1.2:1.7($p=0.005$)と T 群で使用したバルーン数が有意に少なかった。またバルーンサイズ(mm)は 3.1:2.8 と T 群で有意に大きなサイズのバルーンを使用した。使用したステント数は 1.02:1.09(ns)と両群間で有意差は認めなかったが、ステントサイズ(mm)は 3.42:3.28($p=0.04$)と T 群で有意に大きなサイズのステントを留置した。

初期成績では末梢塞栓出現頻度(%) は 7:5 (ns)と有意差を認めず、また No Flow/Slow Flow 出現頻度(%)も 5:7(ns)と両群間で有意差は認めなかった。MACE(Death/CABG/SAT)(%)は 0/2/2:0/0/0 (ns)、平均 Peak CK 値は 2516:2761 (ns)、標的血管別の Peak CK 値 (LAD/LCX/RCA) も 2730/1736/2612:2990/2533/2712 (ns)と両群間で有意差は認めなかった。

平均の退院時左室駆出率(%)は 58:61 (ns)、標的血管別の左室駆出率 (LAD/LCX/RCA)(%) も 58/57/58:60/61/61 と両群間で有意差は認めなかった。

慢性期再狭窄率(%)に関しては、4 病変/29 病変(14):16 病変/34 病変(47) ($p=0.02$)と T 群において有意に再狭窄率は少なく、TLR(%)に関しても 3 病変/29 病変(10):14 病変/34 病変(41) ($p=0.059$)と T 群において大きい傾向を認めた。

D. 考察

血栓が豊富な AMI 病変に対して血栓吸引療法が末梢血栓塞栓症の頻度や血流改善に効果があると

する報告も散見されるが、今回の我々の研究では血栓吸引療法の併用あり、なしで末梢塞栓、No Flow/Slow Flow の出現頻度に有意差は認めなかった。また心筋梗塞のサイズを反映すると考えられている Peak CK 値に関しても両群間で有意差は認められず、これが退院時の左心機能(左室駆出率)改善において両群間で有意差が認められなかった要因の一つと考えられた。

ただ血栓吸引療法が効果的であった症例が存在することも事実であり、今後も症例数を増やして検討していくと共に、末梢保護法の併用も考慮に入れ引き続き血栓吸引療法の有用性について検討を重ねてゆく予定である。

E. 結論

AMI 急性期の再灌流治療時に血栓吸引療法を併用することにより、使用するバルーンカテーテル数を減らすことが可能であった。

AMI 急性期の再灌流治療時に血栓吸引療法を施行しても、末梢塞栓症、No Flow/Slow Flow そして MACE の出現頻度を有意に減らすことは出来なかった。

AMI 急性期の再灌流治療時に血栓吸引療法を施行しても、Peak CK 値、左心機能(左室駆出率)に有意な改善効果は認めなかった。

AMI 急性期の再灌流治療時に血栓吸引療法を併用することにより、慢性期再狭窄率を有意に減少させる可能性があると考えられた。

F. 研究発表

学会発表

第44回六甲カルディアックセミナーにて口述発表

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

急性心筋梗塞に対する再疎通療法に関する研究

（分担）研究者 延吉 正清、酒井 孝裕、白井 伸一

研究要旨 急性心筋梗塞は生命予後を規定する疾患であるが、再疎通療法により予後を改善してきている。再疎通療法としての直接冠動脈形成術；direct PTCAは、高い再疎通成功率を示した。再疎通療法の成功は、院内予後を改善した。

A. 研究目的

急性心筋梗塞に対する再疎通療法としての直接冠動脈形成術；direct PTCAの成功率、再疎通成否による院内予後を検討する。

B. 研究方法

1994年1月から1998年12月までの5年間に、小倉記念病院に入院した急性心筋梗塞患者に対してdirect PTCAを施行した1063名（男性71%）を検討した。

（倫理面への配慮）

Direct PTCAの際には、事前に文章による説明を行ない、書面による承諾を得た後に実施した。

C. 研究結果

研究患者1063名は、平均年齢66.0歳、高血圧症44%、高脂血症15%、糖尿病25%、そして心筋梗塞の既往12%であった。多枝病変を42%に認め、冠動脈ステントによる治療は41%に施行した。再疎通は1005人、95%に成功可能であり、58人、5%が不成功であった。院内死亡を52人、4.9%に認めた。

再疎通の成否と院内死亡率の関係を検討すると、再疎通を達成した場合には3.9%の院内死亡率であるのに対して、不成功の場合には22%の院内死亡率であった（ $p < 0.0001$ ）。

D. 考察

急性心筋梗塞は、冠動脈の閉塞により引き起こされ、生命予後を規定する。その急性期治療として冠再疎通療法は有用であるが、その主たる意義は梗塞責任血管の閉塞を解除することにより梗塞サイズを縮小し、合併症を減少させ、急性期および慢性期の予後を改善することにある。再疎通療法として1970年代の後半にRentropらにより冠動脈内血栓溶解療法が導入され、死亡率の減少が報告された。しかし、血栓溶解療法の最大の問題点である再疎通成功率が70%台であり、本研究からもdirect PTCAより低率なことがあげられる。Direct PTCAによ

る再疎通成功率は95%であり、高い再疎通成功率を示した。さらに、再疎通療法の成功は、院内予後を改善した。

E. 結論

Direct PTCAは高率に再疎通が可能であった。再疎通が成功した患者の院内予後は良好であった。

F. 健康危険情報

特記事項無し。

G. 研究発表

- Sakai K, Nakagawa Y, Kimura T, Ando K, Yokoi H, Iwabuchi M, Inoue K, Nosaka H, Nobuyoshi M. Primary angioplasty of unprotected left main coronary artery for acute anterolateral myocardial infarction. *J Invasive Cardiol*. 2004 Nov;16(11):621-5.
- Nishiyama K, Okino S, Andou J, Nakagawa Y, Nobuyoshi M. Coronary angioplasty reduces free wall rupture and improves mortality and morbidity of acute myocardial infarction. *J Invasive Cardiol*. 2004 Oct;16(10):554-8.
- Ozaki K, Inoue K, Sato H, Iida A, Ohnishi Y, Sekine A, Sato H, Odashiro K, Nobuyoshi M, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin-alpha secretion in vitro. *Nature*. 2004 May 6;429(6987):72-5.
- Inoue K, Abe K, Ando K, Shirai S, Nishiyama K, Nakanishi M, Yamada T, Sakai K, Nakagawa Y, Hamasaki N, Kimura T, Nobuyoshi M, Miyamoto TA. Pathological analyses of long-term intracoronary Palmaz-Schatz stenting; Is its efficacy permanent? *Cardiovasc Pathol*. 2004 Mar-Apr;13(2):109-15.

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、脳梗塞の予知因子の道程と予知法の開発に関する研究

（分担）研究者 倉敷中央病院 循環器内科：光藤 和明、後藤 剛

研究要旨 急性心筋梗塞に対する早期責任梗塞枝再開通療法は、その予後を改善した。80歳以上の高齢者においても、非高齢者の成績には劣るものの、同様の効果を示した。

A. 研究目的

急性心筋梗塞に対する、早期責任感動脈再開通療法は1980年台に、血栓溶解療法から始まり、最近ではステントを併用した経皮的血管形成術（以下PTCA）が主流となっている。このような積極的な治療は、適応を拡大され、その予後改善効果が確認されているが、一方で、出血、腎機能障害などの合併症が危惧され、高齢者においても予後を改善しているのかが問題となっている。今回、当院で1980年から行っている治療法の変化、適応拡大の実際と、院内死亡率の変化を検討した。

B. 研究方法

1980年から2004年6月までに、当院へ入院した発症後24時間以内の症例3476例を、80歳以上の高齢者468例と、70歳未満の非高齢者1995例とに分けて検討した。さらに、この25年間を、選択的冠動脈内血栓溶解療法（ICT）を中心とした1983年までをA群、ICT後に引き続いてPTCAを行った1986年までの時期をB群、ICTを先行させず直接PTCAを行った1990年までのC群、PTCA後必要に応じてステントを留置した1995年までのD群、当初より可能な限りステント留置を行った1996年以降をE群に分けて検討した。

この研究は、各々の時期に最善と考えられた治療を行った症例を、後ろ向きに集計したものであり、特別な倫理委員会などの審査は不要と考えられる。

C. 研究結果

約25年間の高齢者、非高齢者の院内死亡率は、17.5%、4.4%と高齢者で高かった（ $P<0.001$ ）。高齢者群死亡例82例の死亡原因を検討すると、心原性ショック30例6.4%、心不全21例4.5%、左室自由壁破裂11例2.4%、心室中隔穿孔6例1.3%、肺炎などの感染症が4例4.9%であった。懸念された出血による死亡は3例で、再開通療法に関連した出血は2例であった。一方、非高齢者では、

全体に対する割合は高齢者に比べて低いが、死亡原因に占める割合は、心原性ショック50例57.5%、心不全13例14.9%、心室自由壁破裂11例12.6%、心室中隔穿孔1例1.1%、感染症2例2.3%、出血合併症3例3.4%であった。高齢者では、心不全、心室中隔穿孔、感染症による死亡の割合が、非高齢者に比べて高かった。

高齢者の時期別の院内死亡率を見ると、A群37.5%、B群25.0%、C群36.1%、D群15.5%、E群15.1%と経時的に低下した。高齢者に対する再開通療法の施行率は、各々、0%、50%、61.1%、87.4%、93.1%であった。再開通療法の適応拡大の時期に一致して、死亡率の低下が見られた。非高齢者においても、再開通療法施行率は、各々、73.6%、67.8%、70.4%、94.8%、95.7%と経時的に高まり、院内死亡率は、各々、15.3%、5.0%、6.7%、3.4%、3.5%と経時的に低下した。

D. 考察

80歳以上の高齢者の死亡率は70歳未満の非高齢者の約4倍であった。死亡原因に大きな差は認められないが、非高齢者と比較して相対的に心原性ショックの割合が低く、心不全による死亡の割合が多かった。その原因として、心機能、腎機能の低下した症例が多いためと考えられる。出血合併症による死亡は0.6%と低く、再開通療法の適応拡大による弊害は少ないと考えられた。経時的な検討で死亡率の低下傾向が、非高齢者と同様に認められたが、再開通療法が約90%の症例に行われるようになった1991年以降は横ばいであり、再開通療法の限界を示唆した。

E. 結論

高齢者においても、急性期梗塞責任枝再開通治療の積極的適応拡大に伴い、院内死亡率は減少している。しかし、約90%の症例に治療を行うようになってからは、更なる低下を認めていない。