

20111024A

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

心臓カテーテル検査の低侵襲性代替診断法の開発  
—被曝量低減化に向けた革新的体外診断薬の開発—

平成23年度総括研究報告書

研究代表者 鈴木 亨

平成24（2012）年 5月

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

心臓カテーテル検査の低侵襲性代替診断法の開発  
—被曝量低減化に向けた革新的体外診断薬の開発—

平成23年度 総括研究年度終了報告書

研究代表者 鈴木 亨

平成24（2012）年 5月

目 次

I. 総括研究年度終了報告

心臓カテーテル検査の低侵襲性代替診断法の開発

—被曝量低減化に向けた革新的体外診断薬の開発—

鈴木 亨

----- 1

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

----- 7

III. 研究成果の刊行物・別刷

----- 8

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

総括研究年度終了報告書

心臓カテーテル検査の低侵襲性代替診断法の開発  
—被曝量低減化に向けた革新的体外診断薬の開発—

研究代表者 鈴木 亨

東京大学大学院医学系研究科ユビキタス予防医学講座 特任准教授

研究要旨

本研究では心臓カテーテル検査に代替する低侵襲性診断法の開発を目指す。心臓カテーテル検査の被曝は医療被曝の中で最大のものの一つであり、その低減化が求められている。冠動脈疾患の主な治療法であるカテーテル治療では約1割～3割程度の症例で再狭窄（約半年後に病変が再度進行ないし治療に対する反応として狭窄する現象）が発症する問題ないし限界がある。再狭窄の予防を目的とした治療デバイスの改良が重ねられ、高度な薬剤溶出ステントが使われている現在においても、未だに治療後の患者の約1割に再狭窄が生じる。再狭窄を予知する方法がないため、治療半年後に再度心臓カテーテル検査を実施し再狭窄の有無を評価する必要があるが、X線照射を必要とする検査であり、安全性また医療費の面からも血液検査等の代替法の開発は急務であった。我が国における心臓カテーテル治療半年後に行われる検査件数は年間約26.2万件（推定）である。カテーテル検査1回ごとの被曝量は約7.5mSvであり（他の放射線を用いた医療用検査と比較し数倍～数十倍）、約30万円の費用がかかる。代替検査法の開発により被曝量軽減（患者、術者ともに）また医療費削減も可能となる。

我々は心臓カテーテル治療後の再狭窄を反映する世界で初めてのバイオマーカーを最近開発した（特許も申請済み）。心臓カテーテル検査に代替する方法としてこのバイオマーカーを用いることで被曝量の低減化を図る。すでに実施した160例での初期検討で再狭窄の検出と予知において特異度100%と抜群の性能を示した。本法は、心血管病態時に特異的に発現する蛋白質のナトリウム利尿ペプチド (BNP) から慢性心筋虚血時に生じる特異なプロセッシング産物を質量分析計で測定する方法である。本研究中に検査法の有用性の確立を目指す。研究初年度（平成23年度）は計画通り分析を行い、再狭窄の除外診断法としての性能（検出能ならびに予測能）を検証した（横断300例、縦断70例）。二年目以降は計画通りに症例を重ねつつ（横断500例、縦断130例）、高度医療に向けた前処理、検出法等の最適化を目指した解析を実施する。

研究終了後には先進医療の申請、薬事承認申請を目指す。被曝量の低減化、低侵襲の革新的診断機器を開発する研究、低侵襲かつ患者の視点から苦痛の少ない革新的治療機器を開発する研究となるものと期待している。



## A. 研究目的

心臓カテーテル検査の被曝は医療被曝の中で最大のものの一つであり、その低減化が求められている。昨今の心臓カテーテル法を用いた検査・治療法の普及にともない、冠動脈疾患に対する高度な治療が普及した一方、患者の放射線皮膚障害の増加とともに、白内障や甲状腺機能低下症などの術者における健康障害も懸念される。このため、X線を使用しない冠動脈疾患の診断法の開発が必要とされている。

本研究では心臓カテーテル検査に代替する低侵襲性診断法の開発を目指す。具体的には、心臓カテーテル治療実施半年後に再狭窄の検出を目的に行われる心臓カテーテル検査に代替する方法として我々が開発した診断バイオマーカーを用いる計画である。冠動脈疾患に対するカテーテル治療の主な問題点ないし限界は、約1割～3割の症例で再狭窄（約半年後に病変が再度進行ないし治療に対する反応として狭窄する現象）が発症することがあげられる。現在、再狭窄を予知する方法がないため、治療半年後に再度心臓カテーテル検査を実施し、再狭窄の有無を評価する必要がある。医療被曝の低減、安全性また医療費の面からも血液検査等の非観血的な診断法の開発は急務である。

我々は心臓カテーテル治療後の再狭窄を反映する世界で初めてのバイオマーカーを最近開発した。心臓の慢性虚血時にみられるBNPの特異なプロセシング産物に着目し、再狭窄を示したあるいは将来的に示す症例では、このペプチドが減ることを世界で初めて見いだした。160例を用いた初期検討では心臓カテーテル治療後の再狭窄の検出また予知において本法は特異度100%と抜群の性能を示した。特許も申請済みである。本研究

期間中に検査法の有用性の確立を目指す。具体的には、横断的・縦断的に症例数を増やし、3年間で1,000例を目標とすることで代替法としての診断的な意義ならびに臨床的な有用性を確立する。

研究終了後には先進医療の申請、薬事承認申請を目指す。被曝量の低減化、低侵襲の革新的診断機器を開発する研究、低侵襲かつ患者の視点から苦痛の少ない革新的治療機器を開発する研究となるものと期待している。

## B. 研究方法

我々が開発した、心臓カテーテル検査の代替法となる本バイオマーカーは、心血管病態時に特異的に発現する蛋白質であるナトリウム利尿ペプチド (BNP) から、慢性虚血時に生じる特異なプロセシング産物を質量分析計で測定することを測

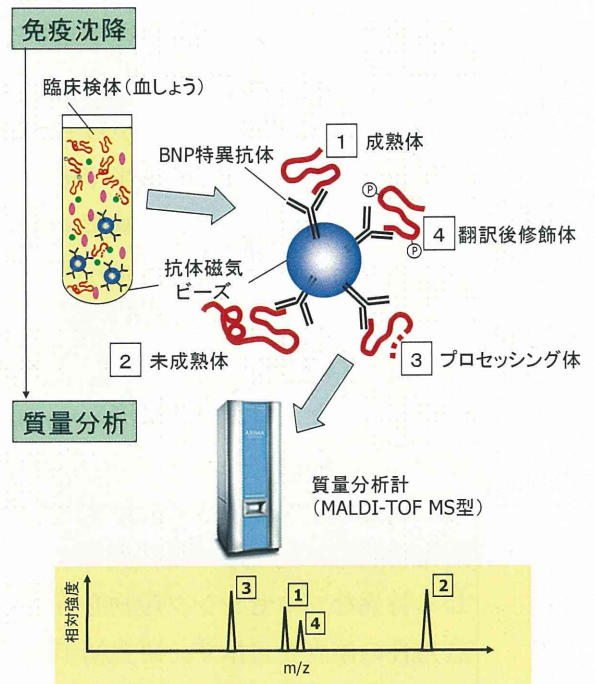


図1. 測定原理

定原理とする(図1)。BNPは心筋虚血、心不全等の病態において心臓で特異的に生成され、また血中に放出されることにより腎臓や血管をはじめとする臓器に作用し、血管拡張ないし利尿作用等

の効果を通して血行動態の安定性に寄与する、我が国で発見された心臓由来の生理活性ホルモンである。血中BNP値の測定を通じた心不全の診断は10年以上前から臨床導入さ

れ、現在は世界中でもっとも広く使われている心臓血管領域の診断バイオマーカーのひとつである。先述したように、我々は慢性虚血時にみられるBNPの特異なプロセッシング産物に着目し、再狭窄を示したあるいは将来的に示す症例では、このペプチドが減ることを見いだした。すでに160例での初期検討を実施したが、心臓カテーテル治療後の再狭窄の検出また予知において本法は特異度100%と抜群の性能を示した。特許も申請済みである。

具体的な計画として、心臓カテーテル検査の代替法としての診断的意義また臨床的有用性を確立するために、前向きコホートによる検証とともに、横断解析を拡げる。3年間の間に経時的な解析を行い、病態変遷との関係をさらに検討する。臨床導入への第一歩として再狭窄のバイオマーカーとしての有用性を確立するとともに、検査感度を向上する。代替法としての臨床的有用性が示されれば、被曝量の低減化を図ることにより心臓カテーテル治療の安全性を高めるとともに、再狭窄リスクの評価を通して治療法選択にも寄与すると期待している。

すでに初期検討にて、130例程度の横断研究ならびに30例程度の前向き検討を実施したが、本研究では、さらに800例程度の横断測定を学内外からのサンプルで行い、また200例程度の縦断検討を行う。研究期間中に計1,000例を測定する。研究に必要な血液は医学部附属病院循環器内科を中心に心臓カテーテル検査症例の検体を入手する。研究初年度（平成23年度）は計画通り分析を

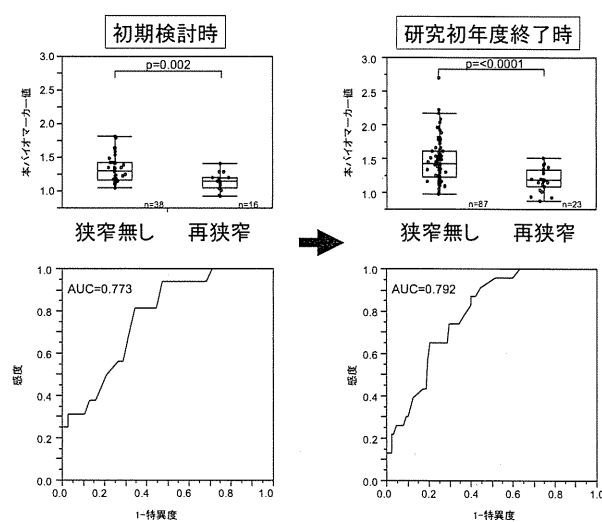
行い、再狭窄の除外診断法としての性能（検出能ならびに予測能）を検証する（横断300例、縦断70例）。二年目以降は計画通りに症例を重ねつつ（横断500例、縦断130例）、高度医療に向けた前処理、検出法等の最適化を目指した解析を実施する。

### （倫理面への配慮）

本研究（東京大学医学部附属病院循環器内科に循環器疾患で入院した症例および同院検診部を受検した健常例に対するプロテオーム解析による新規診断法の開発）はすでに当施設の倫理委員会の承認（平成21年6月19日承認、承認番号448(2)）を得ており、当院の倫理規定に従って遂行した。

### C. 研究結果

研究初年度（平成23年度）は計画通り分析を行い、再狭窄の除外診断法としての性能（検出能な



	初期検討時	研究初年度終了時
狭窄無し	38	87
再狭窄	16	23
P値	0.002	<0.0001
AUC	0.773	0.792

図2. 再狭窄の検出能

らびに予測能) を検証した。

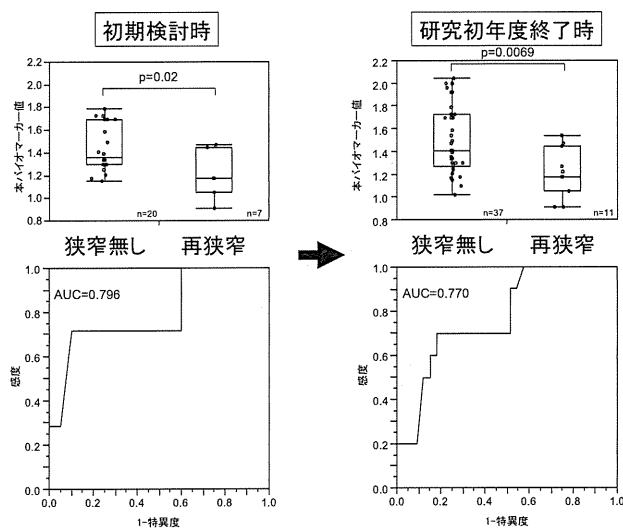
具体的な成果として、研究初年度(平成23年度)は9月末までの6ヶ月間に210例の分析を実施済みあり、そのうち、心不全・腎不全等の除外規定に該当する症例を除き統計分析基準を満たした症例をこれまでの横断解析の分析例に追加し、計110例の統計解析を行った(図2)。再狭窄の検出において非狭窄群と狭窄群の統計的有意差(p値)は初期検討時の0.002から0.0001未満に飛躍的に向上した。また、診断性能を示す受信者操作特性曲線(ROC)の曲線下面積(AUC)値は0.773から0.792と上昇し、診断能力の向上が確認された(図2)。一方、縦断的解析(48例を追跡調査した)すなわち心臓カテーテル治療前に治療後の再狭窄を予測する診断においては、p値は初期検討時の0.02から0.0069に向上した。また、AUC値は0.796から0.776とほぼ変化せず、分析検体数が増加しても予測診断能力に変わりの無いことが確認された(図3)。さらに、心臓カテーテル検査を初めて

受ける患者を対象とした解析では、p値は初期検討時の0.3386から0.0284に改善し、新たに統計的有意差が示された。また、AUC値は0.561から0.599と若干上昇した。平成23年度末までに160例の分析を追加し、合計360例の分析が完了した。

以上のように、現状では当初の予定通りの計画が進行しており、予想通りの成果も認められている。二年目以降は計画通りに症例を重ねつつ(横断500例、縦断130例)、高度医療に向けた前処理、検出法等の最適化を目指した解析を実施する。

体外診断薬として広く一般に提供できる体制を整えるため、研究終了後には先進医療の申請、薬事承認申請を目指す。再狭窄リスクを本法で評価することで、被曝量の低減化を図ることにより心臓カテーテル治療の安全性を高めると同時に、再狭窄リスクの評価を通して、治療法選択への寄与も期待している。

なお、心臓カテーテル法を用いた検査・治療法は近年普及し、年間46.0万人の患者がカテーテル検査を、26.2万人の患者がカテーテル治療を受けている(2008年循環器疾患診療実態調査報告書による、またこの調査の回答率は国内全施設の約40%のため、実際にはこれを相当数上回る)。カテーテル治療後の再狭窄に懸念に対して、治療半年後に再度心臓カテーテル検査を実施する。すなわち26.2万回の確認目的の心臓カテーテル検査が行われていると推定される。また、心臓カテーテル検査の1回あたりの被曝量は約7.5mSv、またカテーテル治療で15mSvであり、現在、医療検査に伴う被曝の中で最大のものの一つである。例えば、CT等の診断目的の他のX線検査(0.5~1.0mSv、放射線技師会雑誌No47 10号)と比較し、被曝量は数倍~数十倍大きい。カテーテル検査の費用は1件約30万円であるが、わが国全体で786億円の医



	初期検討時	研究初年度終了時
狭窄無し	20	37
再狭窄	7	11
P値	0.02	0.0069
AUC	0.796	0.770

図3. 再狭窄の予測能

療費の負担ともなっている。本検査の費用を仮に1件5,000円と試算しても97%減となり、検査費用は23億円に抑えられ、その差は実に763億円超となる。

心臓カテーテル治療後に実施される再狭窄を対象に行われる確認目的の心臓カテーテル検査に代替する血液検査を開発することで、上記のように被曝量軽減、医療費軽減の両者の視点から非常に大きい効果が期待できる。

#### D. 健康危険情報

該当無し。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Fujimoto H, Suzuki T, Aizawa K, Sawaki D, Ishida J, Nagai R. Processed B-type natriuretic peptide is a biomarker of post-interventional restenosis in ischemic heart disease. *JAMA*, in review.
2. Suzuki T, Tomiyama H, Higashi Y. Vascular dysfunction even after 20 years in children exposed to passive smoking - alarming results and need for awareness. *Arteriosclerosis, Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32:841-842.
3. Suzuki T, Isselbacher EM, Nienaber CA, Pyeritz RE, Eagle KA, Tsai TT, Cooper JV, Januzzi JL Jr, Braverman AC, Montgomery DG, Fattori R, Pape L, Harris KM, Boohar A, Oh J, Peterson M, Ramanath VS, Froehlich JB. Type-selective benefits of medications in

treatment of acute aortic dissection; (from the International Registry of Acute Aortic Dissection [IRAD]). *Am J Cardiol* 2012; 109:122-127.

4. Maisel AS, Nakao K, Ponikowski P, Peacock WF, Yoshimura Y, Suzuki T, Tsutamoto T, Filippatos GS, Saito Y, Seino Y, Minamino N, Hirata Y, Mukoyama M, Nishikimi T, Nagai R. Japanese-Western Consensus Meeting on Biomarkers Executive Summary. *Int Heart J* 2011; 52 (5) :253-265.
  5. Suzuki T, Trimarchi S, Sawaki D, Grassi V, Costa E, Rampoldi V, Nagai R, Eagle KA. Circulating TGFbeta levels in acute aortic dissection. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58 (7) :775
- ##### 2. 学会発表
- ・招待講演
    1. 鈴木亨. セッション「橋渡し研究」. CBI/JSBi 2011合同大会. 神戸. 2011. 11. 10
  - ・シンポジウム
    1. Suzuki T, Fujimoto H, Nagai R. Towards Development of New Biomarkers of Atherosclerosis - Use of New Proteomic Technologies. 第76回日本循環器学会学術集会. 福岡. 2012/3/18
  - ・一般講演
    1. Fujimoto H, Suzuki T, Aizawa K, Sawaki D, Ishida J, Nagai R. Processed B-type



natriuretic peptide is a biomarker of post-interventional restenosis in ischemic heart disease. HUP0 2011 10TH World Congress. Geneva, Swiss Confederation. 2011/9/4.

2. 藤本宏隆、鈴木亨、相澤健一、澤城大悟、石田純一、永井良三. プロセスされたB型ナトリウム利尿ホルモンは冠動脈疾患における経皮的冠動脈インターベンション後再狭窄のマーカである. 第36回日本医用マストペクトル学会年会. 大阪. 2011/9/15

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

1. 鈴木亨、日本電気株式会社 宮崎賢司 他、積水メディカル株式会社：心疾患診断マーカー 特許出願2011-175982（出願日2011年8月11日）出願人：東京大学、NEC、積水メディカル
2. 鈴木亨、藤本宏隆：血液試料を用いて心筋虚血状態を評価する方法 国際出願PCT/JP2008/65444（2008年8月28日）出願人：国立大学法人東京大学、株式会社島津製作所

##### 2. 実用新案登録

該当無し。

##### 3. その他

該当無し。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki T, Fujimoto H, Nagai R	Towards Development of New Biomarkers of Atherosclerosis - Use of New Proteomic Technologies.	Circulation Journal	76 (Suppl. I) : I	175	2012

## 抄録詳細

### **Symposium 3 (SY3) (CAD)**

#### **Clinical Significance of Biomarkers for Atherosclerotic Diseases**

#### **Chairpersons :**

**Toyoaki Murohara**

**Masataka Sata**

March 18 (Sun) 16:40 - 18:10

Room 17 (Marinemesse Fukuoka, 3F Sub-arena)

#### **SY3-1**

Towards Development of New Biomarkers of Atherosclerosis

— Use of New Proteomic Technologies

Toru Suzuki

Toru Suzuki

Hiroataka Fujimoto, Ryoza Nagai

Department of Cardiovascular Medicine and Ubiquitous Preventive Medicine, The University of Tokyo, Tokyo

Development of biomarkers of atherosclerotic disease has been a major focus of our research. For acute disease, biomarkers centered on acute aortic dissection have been developed including those of smooth muscle myosin, creatine kinase BB-isozyme, and more recently, calponin (smooth muscle troponin-like protein) and D-dimer. For chronic disease, assays of oxidized LDL were developed. These assays using conventional enzyme immunoassays have already been partly translated to the clinic and bedside, but newer technologies such as proteomic (mass spectrometry) based methods have been a recent focus of research in the last decade. We have contributed to this field both in terms of technology (immuno-mass spectrometry methods, protein chips) as well as clinical applications including a very promising new biomarker which can be used to 'rule out' restenosis. This assay, based on measurement of peptide processing of a cardiac-specific protein substrate by mass spectrometry, detects a peptidase reaction selective to patients with aggressive coronary artery disease, namely restenosis. A cross-sectional study in 150 patients showed 100% sensitivity allowing for reliable rule-out of presence of restenosis. Prediction of restenosis with similar performance was seen in 30 longitudinally examined patients. Although preliminary, results are promising and this will be the first proteomic biomarker that will be pursued for clinical application. I would like to discuss on the status of biomarker development as well as the technology involved in the present symposium.

Circulation Journal 2012, 76(Suppl. I):I-175

175



