

2013/5068A

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの
開発と臨床導入の実現

—慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発—

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鈴木 亨

平成26(2014)年5月

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの

開発と臨床導入の実現

—慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発—

平成25年度 総括・分担年度終了研究報告書

研究代表者 鈴木 亨

平成26（2014）年5月

目 次

I. 総括研究年度終了報告

慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの開発と 臨床導入の実現	-----1
鈴木 亨・相澤健一	

II.

分担研究年度終了報告

1. 日本人健常者におけるST2の基準値の検討および慢性心不全症例における 予後予想マーカー及び心筋リモデリングマーカーとしてのST2の有用性の 検討	-----9
石田淳一	
2. 大動脈疾患の原因究明のための基礎的メカニズムの研究及び 大動脈症例での慢性炎症モニタリングバイオマーカーの探索	-----13
澤城 大悟	

(資料) 自主臨床試験：「冠動脈カテーテル治療後再狭窄の新規バイオマーカー
(BNP断片比) の探索的臨床試験」
試験実施計画書・説明文書・同意文書・試験審査結果通知書
臨床試験審査委員会への指示事項への回答書 (承認通知書)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----49
---------------------	---------

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----51
-----------------	---------

V. 研究班名簿	-----91
----------	---------

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）
総括研究年度終了報告書

慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの開発と臨床導入の実現
—慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発—

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准教授

研究要旨

慢性炎症による病的組織リモデリングは、心血管疾患（特に①動脈硬化性冠動脈疾患、②心臓線維化・心不全、③大動脈瘤・解離）の病態形成において中心的役割を果たす。申請者は今までにこれらの病態に対する診断バイオマーカーを開発・実用化してきた実績を有する。バイオマーカーは病勢等の病態の生体内情報を反映し、急性の診断支援に主に用いられてきたが、予後予測や慢性の病態モニタリングの観点からの開発は進んでこなかった。慢性炎症の観点から臨床病態を反映する心血管病態モニタリングを目的としたバイオマーカーの研究開発は十分に進んでいない。

本研究は、心血管系の慢性炎症を基盤とする組織リモデリングを反映するバイオマーカーを開発し、臨床における病態モニタリングの実現を主な目的とする。具体的には、慢性炎症が基礎病態である動脈硬化性冠動脈疾患、心臓線維化・心不全、大動脈瘤・解離を主な対象疾患とする。慢性炎症・臓器リモデリングのモニタリング用バイオマーカーの開発において、最重要であるのは比較対象となる臨床情報（画像診断所見や臨床イベント）の集積・管理とその解析である。慢性病態のバイオマーカー（モニタリング、予後予測）開発の遅れは、臨床データ集積等の基盤インフラ整備不足の影響と考えられる。申請者らは、従来からこの点を重要視し、臨床症例情報データベースの構築を進め、バイオマーカー開発に活用してきた。心血管系の慢性炎症・臓器リモデリングを反映するバイオマーカーの確立を目的に、申請者が開発した心血管バイオマーカーの他に、既知または新規開発・導入マーカーや組み合わせの有用性を検討する。各疾患病態の最多症例数を有する施設と協力し、臨床検体や症例データの集積・管理の有機的な連携を通じた、コア施設を中心としたネットワーク体制で進める。技術面では、複数マーカーを同時に検討するためのプラットフォーム開発を課題とし、病態診断・検査の効率化も図る。さらにバイオマーカーを通して新規病態機序（鍵となる新規蛋白・酵素等）を明らかにし、新たな治療戦略も考案することを目的としている。

このように、心血管系の慢性炎症に対してのバイオマーカーを開発し、臨床現場において有効な診断・治療支援につなげ、さらには創薬はじめ新しい治療戦略開発の糸口とすることを最終目標とする。慢性炎症制御に着目した診断・創薬のための新たなバイオマーカー開発を中心とした橋渡し研究と考えられる。

研究分担者

相澤健一 東京大学医学部附属病院循環器
内科・自治医科大学薬剤
石田純一 東京大学医学部附属病院循環器
内科 助教
藤田大司 東京大学保健センター 助教
澤城大悟 東京大学医学部附属病院循環器
内科 特任助教
研究協力者
山本 晋 川崎幸病院大動脈センター長

A. 研究目的

研究では、慢性炎症性を基盤とする心血管系の組織リモデリングを反映するバイオマーカーを開発し、臨床における病態モニタリングの実現、さらに新しい治療戦略を開発する。

慢性炎症を病態基礎とする臓器リモデリングであり、早期介入・治療効果が期待される疾患としては、①動脈硬化性冠動脈疾患、②心筋線維化を元にした心不全、③瘤や解離等の大動脈疾患がある。

これら疾患の急性診断バイオマーカーの開発は申請者らも主導してきたが、慢性炎症による疾病発症以前の経時的な変化（組織リモデリング）の検討は、長期間にわたる臨床経過（イベント等）の追跡研究が難しく、関連解析が不十分であった。慢性バイオマーカーの開発では、比較対象となる臨床情報の集積・管理と解析を可能にする基盤整備が不可欠である。本研究では、申請者らが開発してきた東大病院の臨床データベースを軸に、経時的にバイオマーカーと生体指標・臨床経過（非侵襲的な画像診断と臨床イベントの発生）を検討し、慢性的な組織リモデリングとバイオマーカーの関係を明らかにする。同時に、同マーカーを指標に、新しい病態機序を明らかにし、治療開発・創薬への糸口とする。具体的な検討項目は下図に示す。

重要なのは、心血管バイオマーカーの開発実績、ならびに東大病院が有する医療統合データベースによる各施設からの情報集積・解析や臨床試験・治験での既存システム・ノウハウ、そしてネットワークの活用である。

また、臨床実用化での効率・低コストも勘案し、複数マーカーの同時測定を可能にするマルチ・マーカー用のプラットフォーム

フォーム開発（抗体アレイや質量分析SRM/MRM法の検討等）も技術課題とする。申請者は内外の試薬メーカー（アリア・メディカル社・積水メディカル社等）と数多くの診断マーカー商品化に関り、また大型診断機器製作会社である島津製作所やNECとの連携実績もあり技術開発・商品化の実現性も非常に高い。

B 研究方法

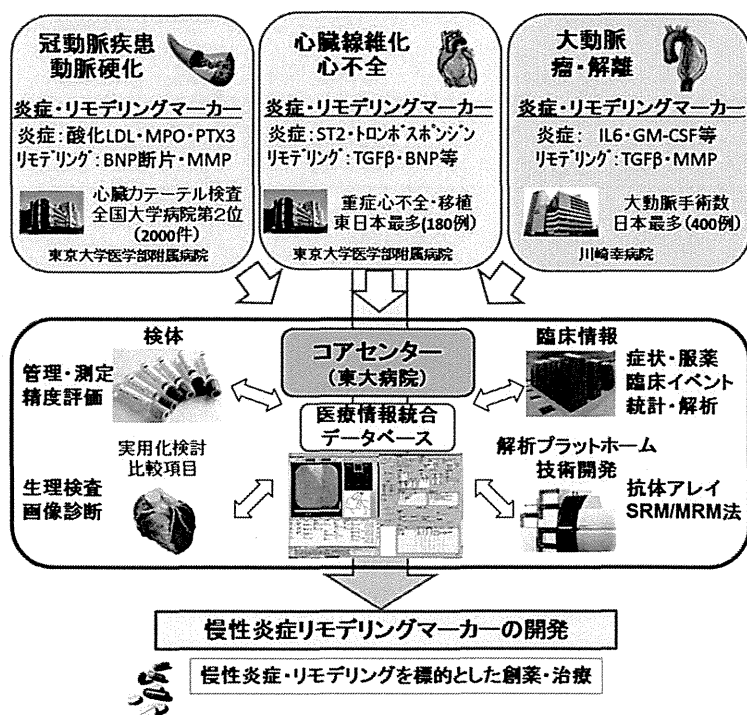
本研究では、心血管系の慢性炎症性を基盤とする組織リモデリングを反映するバイオマーカー開発を現在までの成果および各施設から医療情報統合データベースに集積された情報を基に達成し、病態モニタリングの実現、新しい治療戦略につなげることを目的とする。またメカニズム検証のため動物等での解析を行う。

①冠動脈疾患・動脈硬化

申請者は保険適用済みの複数の酸化LDL測定系（ATVB 2000, Clin Biochem 2002, Heart 2004）他、インターロイキン6も検討し（Heart 2000）、炎症マーカーによる冠動脈病態のバイオマーカー開発・臨床実用化を進めてきた。最近、生理活性物質（心臓利尿ペプチドBNP）のプロセッシングを指標とする新しい手法による冠動脈疾患バイオ

マーカーを開発した。診断的有用性（Clin Chem in press）の他、プロセッシングの病態に新規酵素が関わることも明らかにし、今後、新しい治療戦略につながる期待もある。このように、診断バイオマーカー開発や病態指標として新しい機序を明らかにし、創薬へと発展させた実績を有する。

今回、東大病院循環器内科にて年間1800例を越える入院者数を対象にバイオマーカーの有用性検討を進める。既存炎症マーカー（酸化LDL、ミエロペロキシダーゼMPO、IL6/PTX3/CRP等）ま



た開発を進めている新規酸化ストレスマーカーについて病勢と画像診断所見（心臓カテテル、冠動脈CT）を比較検討する。健康者として東大病院心血管ドック症例（年間500例）との比較検討を通して、慢性炎症性動脈硬化疾患の進行との経時的関連の検討も行う。

②心臓線維化・心不全

心不全は今まで心臓利尿ペプチドBNPが重症度指標として用いられ、申請者も研究に貢献してきた（Am Heart J 1998, Cardiovasc Res 2001, Int Heart J 2000 & 2001 & 2011 & 2012）。海外で最近インターロイキン33の関連物質であるST2と心臓線維化・リモデリングとの関連が注目されており（昨年FDA認可取得）本研究にて本邦へはじめて導入し、検討を行う。東京大学医学部附属病院は心臓移植認定施設であり、種々の心不全症例が非常に多い。また以前より臨床検体の蓄積が非常に豊富であり、正常例から移植例までスペクトラムの広い経時的検討が可能である。この特徴を生かし、リモデリングマーカーの心不全症例を対象に、期間内に心不全発症や経過・予後に関する成果の確認が可能と考えられる。

③大動脈瘤・解離

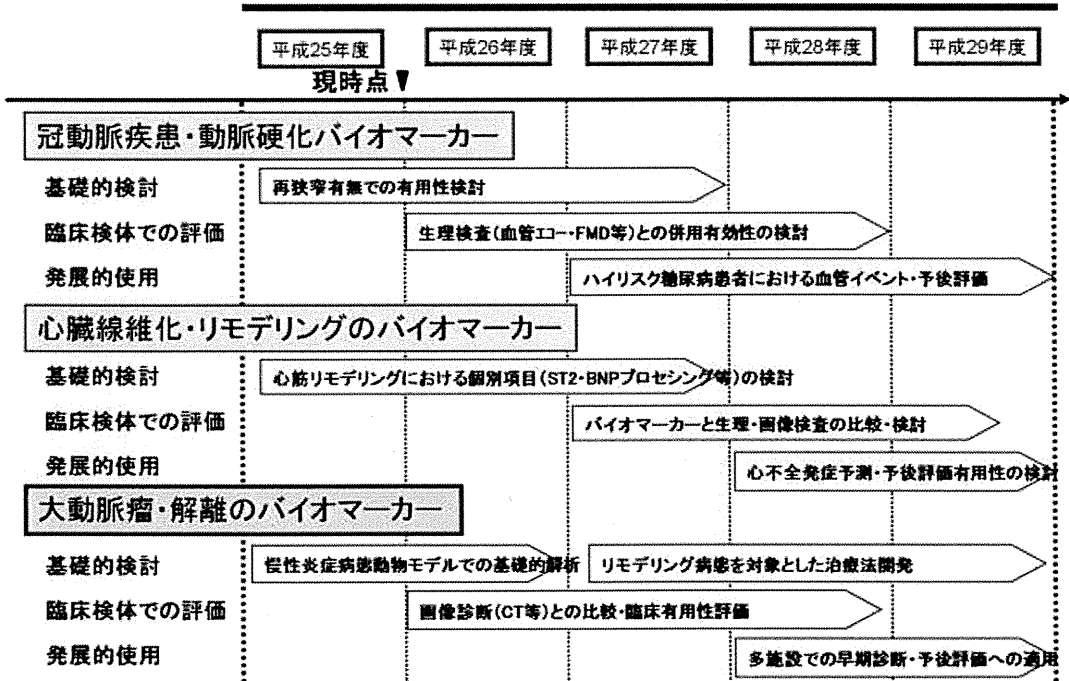
大動脈瘤・解離については、申請者は世界に先駆けてバイオマーカーを開発してきた第一人者である。主に血管壁の炎症性リモデリングに伴う平滑筋由来構造蛋白質、メタロプロテアーゼ、凝固因子Dダイマーさらに血管増殖因子TGFβの有用性を報告した（Lancet 1995 & 1997, Circulation 1996, Ann Int Med 2000, J Cardiovasc Med 2006, Eur Heart J 2008, Circulation 2009. J Am Coll Cardiol 2011）。成人の慢性炎症性大動脈病態でのマーカー開発への業績は内外で知られており、既知また開発中のマーカー有用性について検討する。最近、発症機転での免疫細胞浸潤（樹状細胞・マクロファージ）の重要性も指摘しており、活性化サイトカイン（GM-CSF、インターロイキン6）を世界に先駆け検討する。日本国内最多の大動脈手術例を有する川崎幸病院大動脈センターにて、予後や画像診断との経時的比較も含め検討する。さらに、申請者が主要構成メンバーを務める大動脈疾患の国内及び国際レジストリーでの導入を行い、予定研究期間内に効率的に検証を行う。

（倫理面での配慮）

・試験実施に係る生データ類および同意書等を取扱う際は、被験者の秘密保護に十分

新規病態バイオマーカー開発行程予定表

本研究期間(5年間)



配慮する。病院外に提出する症例報告書等では、被験者識別コード等を用いて行う。試験の結果を公表する際は、被験者を特定できる情報を含まないようにする。試験の目的以外に、試験で得られた被験者のデータを使用しない。

・日本心臓血管外科手術データベースについて2009年4月1日付けで日本心臓血管外科学会医療倫理委員会より問題なしとの審査結果を得ている (<http://jcvsd.umin.jp/P-1.html#004>)。

・ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）、疫学研究に関する倫理指針（平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号）、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号）、臨床研究に関する倫理指針（平成20年厚生労働省告示第415号）を遵守する。

・患者個人情報・臨床情報は東京大学医学部附属病院において施錠可能な保管庫内・パスワード保護されたコンピューター内に厳重に保管され、第三者がアクセスすることは出来ない。個人名はコード番号に変換される。また学会等で個人情報は発表されないが研究成果含め外部に漏洩の無いよう最大限の注意を払う。

C. 研究結果

①冠動脈疾患・動脈硬化

酸化ストレスマーカー（酸化LDL、MDA-LDL）による病勢・画像診断所見（心臓カテーテル）の比較検討を進めている。当初の計画の予定通り20例の予備検討を完了する予定である。

②心臓線維化・心不全

インターロイキン33の関連物質ST2と心臓線維化・リモデリングとの関連解析の今年度の当初計画は上述の通り、測定環境整備及び初期評価（50例）である。既に測定キット・ロボットによる測定自動プログラムの検証を終了しており測定機器準備はほぼ完了している。測定キットの輸入手続きおよび測定自動化に向けた機器選定・プログラム開発・最適化の為、時間を要したが、今後、平成26年1月より測定に着手し、臨床

検体での測定・既存マーカーとの比較を目的とした予備検討を開始し、今年度末までに初期検討目標である50例での初期検討を終了する予定である。

③大動脈瘤・解離

上述の通り、今年度の当初計画である病態動物での基礎的研究については、既に発症機転での免疫細胞浸潤（樹状細胞・マクロファージ）の重要性を実証・確認（論文投稿中）している。活性化サイトカイン（GM-CSF、インターロイキン6）を標的とした治療法開発に至る知見を得ている状態であり、今年度末までの目標は達成されている。

D. 考察、E. 結論

①学術的・国際的意義

本研究により、臨床における心血管系疾患の病態モニタリングの実現、さらに新しい治療戦略の開発が可能になることが期待される。

②社会的意義

日本では、循環器系医療費は年間5兆2980億円（全医療費の20.4%）であり、近年増加の一途である（平成20年度国民医療費の概況）。なかでも冠動脈疾患は年間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）。カテーテル検査費は1件約30万円、カテーテル治療費は1件約210万円であり、検査だけでも1380億円、治療に至っては5500億円の医療費を要す（2001年全日本病院協会調査）。バイオマーカーでモニタリング可能となれば、検査費に相当する1380億の医療費抑制につながると試算される。心不全についても、患者総数は25万人にのぼり、死因の5.7%を占める（平成23年度患者調査）。心不全診断の為に心エコー検査は1件8000円であり、診断・経過観察がバイオマーカーでモニタリング可能となれば200億円の抑制につながる。同様に、大動脈瘤・解離も最近患者数の増加が著しく、それぞれ3.4万、1.5万人に達する（平成23年度患者調査・人口動態調査）。現在、造影CT（1件35000円）が診断に用いられているが、初期診断がバイオマーカーでモニタリング可能となれば17.2億円の医療費抑制につながると試算され

る。このように、本研究で開発するバイオマーカーは、費用対効果の観点からも大きな成果が期待できる。

③今後の課題

今後、手術例摘出大動脈や血液サンプル等バイオリソースからの遺伝子、蛋白、組織等の取扱いについてはNIH主導のGenTAC研究と同様に行いつつ、新規の原因可能性遺伝子を含めた解析・資源整備を行う必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Hoff E, Eagle T, Pyeritz RE, Ehrlich M, Voehringer M, Bossone E, Hutchison S, Peterson MD, Suzuki T, Greason K, Forteza A, Montgomery DG, Isselbacher EM, Nienaber CA, Eagle KA.
Pulse pressure and type A acute aortic dissection in-hospital outcomes (from the International Registry of Aortic Dissection).
Am J Cardiol. 2014, 113: 1255-9.
- 2). Bossone E, Corteville DC, Harris KM, Suzuki T, Fattori R, Hutchison S, Ehrlich MP, Pyeritz RE, Steg PG, Greason K, Evangelista A, Kline-Rogers E, Montgomery DG, Isselbacher EM, Nienaber CA, Eagle KA.
Stroke and outcomes in patients with acute type A aortic dissection.
Circulation. 2013, 128: S175-9.
- 3). Larsen M, Bartnes K, Tsai TT, Eagle KA, Evangelista A, Nienaber CA, Suzuki T, Fattori R, Froehlich JB, Hutchison S, Sundt TM, Januzzi JL, Isselbacher EM, Montgomery DG, Myrmet T.
Extent of preoperative false lumen thrombosis does not influence long-term survival in patients with acute type aortic dissection.
J Am Heart Assoc. 2013, 2 : e000112.
- 4). Miyairi T, Miyata H, Taketani T, Sawaki D, Suzuki T, Hirata Y, Shimizu H, Motomura N, Takamoto S.
Risk model of cardiovascular surgery in 845 marfan patients using the Japan adult cardiovascular surgery database.
Int Heart J. 2013, 54: 401-4.
- 5). Fujimoto H, Suzuki T, Aizawa K, Sawaki D, Ishida J, Ando J, Fujita H, Komuro I, Nagai R.
Processed B-Type Natriuretic Peptide Is a Biomarker of Postinterventional Restenosis in Ischemic Heart Disease.
Clin Chem. 2013, 59: 1330-1337.
- 6). Enooku K, Kato R, Ikeda H, Kurano M, Kume Y, Yoshida H, Ono T, Aizawa K, Suzuki T, Yamazaki T, Yatomi Y.
Inverse correlations between serum ADAMTS13 levels and systolic blood pressure, pulse pressure, and serum C-reactive protein levels observed at a general health examination in a Japanese population: A cross-sectional study.
Clin Chim Acta. 2013, 421: 147-151.
- 7). Sawaki D, Suzuki T.
Targeting Transforming Growth Factor- β Signaling in Aortopathies in Marfan Syndrome.
Circ J. 2013, 77(4): 898-899.
- 8). Bechmann LP, Vetter D, Ishida J, Hannivoort RA, Lang UE, Kocabayoglu P, Isabel Fiel M, Muñoz U, Patman GL, Ge F, Yakar S, Li X, Agius L, Lee YM, Zhang W, Yiu Hui K, Televantou D, Schwartz GJ, Leroith D, Berk PD, Nagai R, Suzuki T, Reeves HL, Friedman SL.
Post-transcriptional activation of PPAR alpha by KLF6 in hepatic steatosis.
J Hepatol. 2013, 58(5): 1000-1006
- 9). Aizawa K, Suzuki T.
Takotsubo Cardiomyopathy: Japanese Perspective.
Heart Failure Clin. 2013, 9(2): 243-247.

- 10). Bossone E, Suzuki T, Eagle KA, W
einsaft JW.
Diagnosis of Acute Aortic Syndrome
s - Imaging and Beyond.
Herz. 2013, 38(3): 269-276.
- 11). Suzuki T, Bossone E, Sawaki D, Já
nosi RA, Erbel R, Eagle K, Nagai
R.
Biomarkers of aortic diseases.
- 12). *Am Heart J*, 2013, 165(1): 15-25.
Garrido-Martín EM, Blanco FJ, Roqu
e M, Novensà L, Tarocchi M, Lee
UE, Suzuki T, Friedman SL, Botella
LM, Bernabeu C.
- 13). Vascular injury triggers Krüppel-like f
actor 6 (KLF6) mobilization and coo
peration with Sp1 to promote endothe
lial activation through upregulation
of the Activin Receptor-Like Kinase
1 (ALK1) gene.
Circ Res. 2013, 112: 113-27.
- 2.学会発表
- 1). The 12th Human Proteome Organiz
ation World Congress (HUPO 2013,
Yokohama, Japan, 2013/9/15)
Kenichi Aizawa, Toru Suzuki, Hirota
ka Fujimoto, Daigo Sawaki,
Processed B-type natriuretic peptide
is a biomarker of post-interventional
restenosis in ischemic heart diseas
e
- 2). American college of cardiology scien
tific session 2013 (San Francisco, C
A, USA: 2013/3/9-11)William T. Froe
hlich, Jip L. Tolenaar, Toru Suzuki,
Artur Evangelista Masip, Alan Braver
man, Linda Pape, Matthias Voehring
er, Patrick O'Gara, Alberto Forteza,
Kevin Greason, Philippe Steg, Eric I
sselbacher, Christoph Nienaber, Kim
Eagle, Santi Trimarchi,
Predictors of Death in Type B Acute
Aortic Dissection Patients: An Anal
ysis from the International Registry
of Acute Aortic Dissection (IRAD)
- 3). Artur Evangelista Masip, Reed Pyerit
z, Matthias Voehringer, Truls Myrmel,
Marek P. Ehrlich, Mark Peterson, L
inda Pape, Toru Suzuki, Guillaume
Jondeau, Andrea Ballotta, Daniel Mo
ntgomery, Eric Isselbacher, Christop
h Nienaber, Kim Eagle, Patrick O'G
ara,
Influence of Family History on Acute
Aortic Dissection: An Analysis from
the International Registry of Acute
Aortic Dissection (IRAD)
- 4). 2012 Gordon Research Conference
s; Mammalian DNA Repair (Ventura,
CA, USA: 2013/2/10-15)
Hong Zhan, Toru Suzuki, Kenichi Ai
zawa, Daigo Sawaki, Junichi Ishida,
Bo-Kyung Son, Kiyoshi Miyagawa, I
ssei komuro, Ryozo Nagai
Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM)
-mediated DNA Damage Response i
n Cardiac Fibroblasts Plays an Impo
rtant Role in Modulating Doxorubicin
-induced Cardiotoxicity
- 5). 第78回日本循環器学会総会・学術集会
(東京: 2014/3/21-23)
鈴木 亨,
モーニングレクチャー 心血管バイオ
マーカー
- 6). Kenichi Aizawa, Toru Suzuki, Hirota
ka Fujimoto, Daigo Sawaki, Junichi Is
hida, Jiro Ando, Hideo Fujita, Ryozo
Nagai, Issei Komuro
Processed B-type natriuretic peptide
measured by immuno-mass spectro
metry is a biomarker of postinterven
tional restenosis in ischemic heart di
sease
- 7). Zhan H, Suzuki T, Aizawa K, Sawa
ki D, Ishida J, Son BK, Manabe I, Mi
yagawa K, Nagai R, Komuro I.
Doxorubicin-induced Cardiotoxicity is
Regulated by Ataxia Telangiectasia
Mutated (ATM) in Cardiac Fibroblas
ts
- 8). Bo-Kyung Son, Toru Suzuki, Daigo
Sawaki, Kenichi Aizawa, Hong Zhan,
Junichi Ishida, Takayoshi Matsumur
a, Scott J. Friedman, Ryozo Nagai,
Issei Komuro
Novel mechanism of aortic dissectio
n involving regulation of dendritic cel
ls and macrophage by granulocyte/
macrophage colony stimulating factor
- 9). Daigo Sawaki, Toru Suzuki, Kenichi

Aizawa, Takayoshi Matsumura, Junichi Ishida, Bo-Kyung Son, Hong Zhan, Scott J. Friedman, Ryozi Nagai, Issei Komuro
Cardiomyocyte Modulates Cardiac Fibrosis by Transcription Control of Fibroblasts Regulating ECM Factors

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特になし。
2. 実用新案登録 特になし。
3. その他 特になし。

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）
慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの開発と臨床導入の実現
－慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発－
分担研究年度終了報告書

日本人健常者におけるST2の基準値の検討および慢性心不全症例における予後予想マーカー及び心筋リモデリングマーカーとしてのST2の有用性の検討

研究分担者 石田淳一 東京大学医学部附属病院循環器内科

研究要旨

慢性炎症による病的組織リモデリングは、心血管疾患、心臓線維化・心不全の病態形成において中心的役割を果たす。今までにこれらの病態に対する診断バイオマーカーは病勢等の病態の生体内情報を反映し、急性の診断支援に主に用いられてきたが、予後予測や慢性の病態モニタリングの観点からの開発は進んでこなかった。慢性炎症の観点から心筋線維化、ひいては不可逆的心不全発症臨床病態を反映する心血管病態モニタリングを目的としたバイオマーカーの研究開発は十分に進んでいない。

本研究は、心血管系の慢性炎症を基盤とする組織リモデリングを反映するバイオマーカーを開発し、臨床における病態モニタリングの実現を主な目的とする。具体的には、慢性炎症が基礎病態である心臓線維化・心不全を主な対象疾患とする。慢性炎症・臓器リモデリングのモニタリング用バイオマーカーの開発において、最重要であるのは比較対象となる臨床情報（画像診断所見や臨床イベント）の集積・管理とその解析である。慢性病態のバイオマーカー（モニタリング、予後予測）開発の遅れは、臨床データ集積等の基盤インフラ整備不足の影響と考えられる。心筋の慢性炎症・臓器リモデリングを反映するバイオマーカーの確立を目的に、ST2をはじめとした新規開発・導入マーカーや組み合わせの有用性を検討する。更にはバイオマーカーを通して新規病態機序（鍵となる新規蛋白・酵素等）を明らかにし、新たな治療戦略も考案することを目的としている。

A. 研究目的・背景

心筋線維化は心不全の病態形成の上で、組織学的に主要な変化であるが、その前段階である慢性炎症病態からの把握は現在までほぼなされていなかった。心不全指標として臨床使用されているBNP値は現在では既に発症した心不全のマーカーであり、今後は発症前介入を可能とするバイオマーカーの開発が急務とされている。昨今IL33シグナルを介した心筋内パラクライン応答を反映するST2が心筋リモデリングのモニターに有用である可能性が報告されている。一方日本人におけるST2の研究は皆無である。日本人健常者におけるST2の基準値はま

だ検討されていない。また日本人における各種心疾患患者におけるST2値、また急性期・慢性期におけるST2値の変動も明らかではない。

東京大学医学部附属病院は心臓移植認定施設であり、種々の原因による末期心不全症例の割合が非常に多い。また以前より組織や血清等の臨床検体の蓄積が非常に豊富であり正常例から移植や左室補助器具を必要とする末期心不全症例までスペクトラムの広い検討が可能であることが特徴である。この特徴を生かし、本邦で初めて日本人健常者におけるST2の基準値と慢性心不全症例における予後予想マーカー及び心筋リモデリングマーカーとしてのST2の有用性を

検討し報告する。

B. 研究方法

まず日本人健常者における ST2 の基準値を検討する。次に各種心疾患患者における ST2 値、また急性期・慢性期における ST2 値の変動を追求し、ST2 が心疾患の予後予測や心筋リモデリングのバイオマーカーとして有用か否かを検討する。

東京大学医学部付属病院の入院患者を対象とし、固相化96穴プレートを用いたELISA法にてST2値を測定、臨床状と比較検討を行う。

C. 研究結果・

キット輸入：ST2 ELISA 20キット（約500検体分）

検体回収ワークフローの構築：検体回収に関する同意取得後、血清検体を回収。検体を -80°C に保管。検体数が確保できた時点でELISAを施行し、ST2を測定。

ELISA 測定の自動化：マイクロプレート用分注装置（Zepher[®]パーキンエルマー社）、プレートリーダー（Arvo[®]）、マイクロプレートハンドラー（TwisterII[®]パーキンエルマー社）を導入し、ELISA 操作を自動化。これにより人的資源を節約し、測定の効率化・正確化が可能となった。

健常者 (n=18)

平均値25.41、中央値23.49、標準偏差8.20

心疾患患者 (n=6)

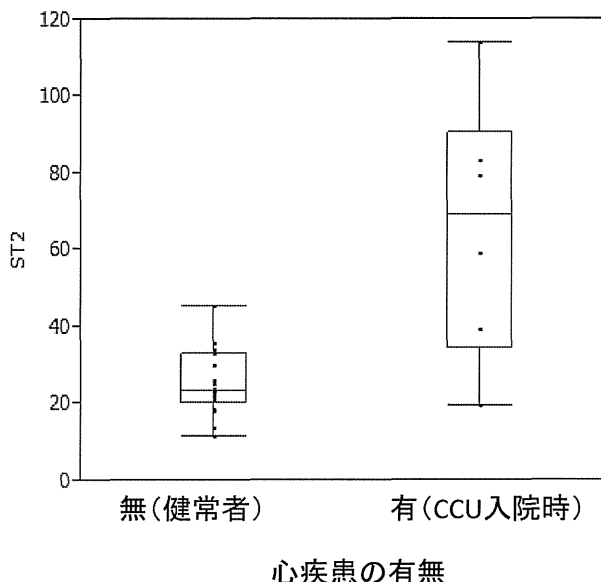
平均値65.55、中央値68.96、標準偏差30.77

D. 考察、

最初の検体の吸い上げに若干の不安定性が認められる。機器の調整を行う。

E. 結論

本研究は、慢性炎症を基盤とする心筋線維化・心不全等の治療方法の最適化や予後予測、また特に慢性炎症性を基盤とする組織リモデリングを反映するバイオマーカーの開発や臨床における病態モニタリングの実現等、新しい治療戦略の開発を可能にすると期待される。



F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Fujimoto H, Suzuki T, Aizawa K, Sawaki D, Ishida J, Ando J, Fujita H, Komuro I, Nagai R. Processed B-Type Natriuretic Peptide Is a Biomarker of Postinterventional Restenosis in Ischemic Heart Disease. *Clin Chem*.2013, 59: 1330-1337.

2. 学会発表

- 1). The 12th Human Proteome Organization World Congress (HUPO 2013, Yokohama, Japan, 2013/9/15) Kenichi Aizawa, Toru Suzuki, Hiroka Fujimoto, Daigo Sawaki, Processed B-type natriuretic peptide is a biomarker of post-interventional restenosis in ischemic heart disease
- 2). Kenichi Aizawa, Toru Suzuki, Hiroka Fujimoto, Daigo Sawaki, Junichi Ishida, Jiro Ando, Hideo Fujita, Ryoza Nagai, Issei Komuro Processed B-type natriuretic peptide measured by immuno-mass spectro

metry is a biomarker of postinterventional restenosis in ischemic heart disease

- 3). Zhan H, Suzuki T, Aizawa K, Sawaki D, Ishida J, Son BK, Manabe I, Miyagawa K, Nagai R, Komuro I.
Doxorubicin-induced Cardiotoxicity is Regulated by Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) in Cardiac Fibroblasts
- 4). Bo-Kyung Son, Toru Suzuki, Daigo Sawaki, Kenichi Aizawa, Hong Zhan, Junichi Ishida, Takayoshi Matsumura, Scott J. Friedman, Ryozi Nagai, Issei Komuro
Novel mechanism of aortic dissection involving regulation of dendritic cells and macrophage by granulocyte/macrophage colony stimulating factor
- 5). Daigo Sawaki, Toru Suzuki, Kenichi Aizawa, Takayoshi Matsumura, Junichi Ishida, Bo-Kyung Son, Hong Zhan, Scott J. Friedman, Ryozi Nagai, Issei Komuro
Cardiomyocyte Modulates Cardiac Fibrosis by Transcription Control of Fibroblasts Regulating ECM Factors

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特になし。
2. 実用新案登録 特になし。
3. その他 特になし。

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）
慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの開発と臨床導入の実現
—慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発—
分担研究年度終了報告書

臨床研究協力体制の整備
大動脈疾患の原因究明のための基礎的メカニズムの研究
及び大動脈症例での慢性炎症モニタリングバイオマーカーの探索

研究分担者 澤城大悟 東京大学医学部附属病院循環器内科
研究協力者 山本 晋 川崎幸病院大動脈センター センター長

研究要旨

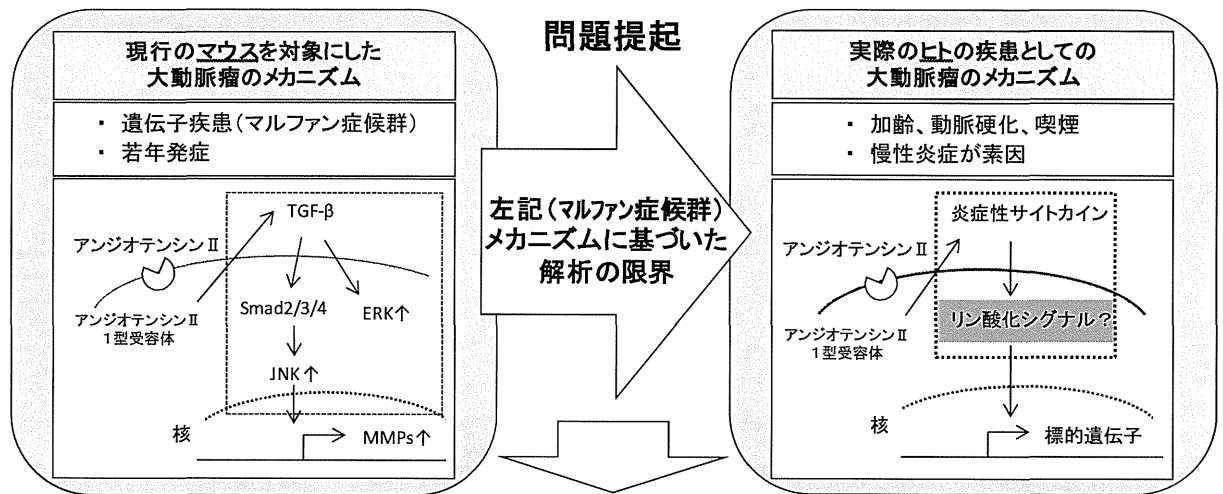
動脈瘤・大動脈解離は発症すれば極めて死亡率が高く、またその死亡者数は増加傾向にあるにもかかわらずあまり注目されていない。本研究は、慢性炎症を基盤とする組織リモデリング特に大動脈瘤・大動脈解離の発症・進展を反映するバイオマーカーを開発し、臨床における病態モニタリングの実現を主な目的とする。具体的には、慢性炎症が基礎病態である大動脈瘤・解離の発症・進展メカニズムを明らかにするマウスモデルでの基礎的な検討と臨床症例（東京大学附属病院・川崎幸病院）を対象とした革新的バイオマーカー探索・開発である。慢性炎症・臓器リモデリングのモニタリング用バイオマーカーの開発において、重要であるのは比較対象となる臨床情報（画像診断所見や臨床イベント）の集積・管理とその解析である。大動脈疾患の研究解析での問題点は、各施設での症例数が少なく解析にたる例数の集積が困難である点が挙げられる。川崎幸病院は大動脈手術例数が日本最多であり、症例数の集積に関しては最適のコラボレーションと考えられる。またメカニズム解析や革新的バイオマーカーの開発に関しては、東京大学医学部附属病院中心臨床検体や症例データの集積・管理有機的な連携を通じた、ネットワーク体制で推進が可能と考えられる。技術面では、複数マーカーを同時に検討するためのプラットフォーム開発も課題とし、病態診断・検査の効率化も図る。さらにバイオマーカーを通して新規病態機序（鍵となる新規蛋白・酵素等）を明らかにし、同因子を標的とした新たな治療戦略も提案することを目的としている。

A. 研究目的

大動脈瘤は大動脈の局所的な拡張が持続的に進行し、遂には破裂にいたる疾患である。最近、遺伝子異常を基にした大動脈瘤であるマルファン症候群においてはリン酸化シグナルの活性化が瘤の発症に重要な役割を果たすことが報告されたが、動脈硬化、老化を基盤とした実際の大動脈瘤におけるメカニズムはほとんど検討されていないのが現状である。我々の予備検討ではアンジオテンシンⅡにより誘導される大動脈瘤においてIL-6の上流シグナルである炎症因子がマクロファージ特異

的に活性化していることが明らかになった。しかし同炎症シグナル経路が慢性炎症および大動脈瘤につながる機序は未だに不明な点が多い。この分子機序を解明すべく本研究では炎症因子の全身もしくはマクロファージ特異的なノックアウトマウスを用いて、大動脈瘤の病態における炎症シグナル経路の役割を明らかにするとともに、IL-6受容体の中和抗体など、本シグナルの阻害による慢性炎症および大動脈瘤の抑制効果を検証し、大動脈瘤の形成を抑える新規治療法開発に結び付けることを目的とする（図1）。

図1. 大動脈瘤発症メカニズム解析モデルの問題点



新規メカニズム解明の必要性

B. 研究方法

大動脈瘤は慢性炎症により進行する病態であり、IL-6は炎症反応に最も多く関与しているメディエータである。しかしながら、その下流のリン酸化シグナルである炎症経路の役割や標的についてはほとんど検討されていないのが現状である。我々の予備検討ではアンジオテンシンIIによる大動脈瘤においてIL-6およびIL-6受容体α、Gp130、STAT3の発現が増加していることを確認した。さらに大動脈の弾性線維の破綻がみられ、マクロファージが蓄積している局所にSTAT3が特に活性化していることが明らかになった。また、我々は転写因子であるKrüppel-like factor (KLF)群がアンジオテンシンIIの刺激によりその発現が増加し、大動脈瘤形成に関与する結果を得ている。さらに、このKLF群が炎症シグナル経路により制御される可能性があり非常に興味深い。本研究ではKLF因子を介したシグナルが慢性炎症につながる経路を明らかにすべく全身ノックアウトマウス、マクロファージ特異的なノックアウトマウス (Flox/LysM-Cre)を用いて、標的遺伝子を同定することを目標とする。また、IL-6受容体の中和抗体等を介して特定の標的遺伝子をブロックすることにより慢性炎症および大動脈瘤の形成を抑制する効果があるかを検証し、臨床に応用可能な大動脈瘤の新規治療法の開発につなげることを目標とする (図2)。

慢性炎症および大動脈瘤における炎症シグナル経路の役割を明らかにし、治療標的としての可能性を評価する。まずIL-6受容体の中和抗体を用いて炎症シグナル経路を阻害することでアンジオテンシンII刺激による大動脈瘤の病変形成および進行を抑制することが可能なかを、病理(免疫)組織学的、血清学的、生理的(血圧、血管エコー)に解析して評価する。さらに、炎症因子の全身ノックアウトマウスやマクロファージ特異的な炎症因子のノックアウトマウスを用いて大動脈瘤における炎症シグナルの役割を詳細に検討する。アンジオテンシンIIによる大動脈瘤モデルだけではなく、塩化カルシウム刺激により誘導される炎症反応および大動脈瘤の形成モデルについても同様の検討を行い、多方向から大動脈瘤病態における炎症シグナル経路を明らかにする。また、炎症シグナルの標的遺伝子を同定し、in vitro系に展開して詳細な分子メカニズムを検討する。

1. IL-6受容体の中和抗体が慢性炎症および大動脈瘤発症および進行に及ぼす影響の検討

ノックアウトマウスにおいてIL-6受容体の中和抗体(MR16-1、15mg/kg)を用いて炎症シグナル経路をブロックすることで、大動脈瘤の形成および進行に差異があるかを検討する。また、その機序が古典的な炎症シグナル経路もしくはトランス・シグナル経路を介するかを検討する。最近、免疫細胞においてIL-6のトランス・シグナル経路を介し、LPS刺激下

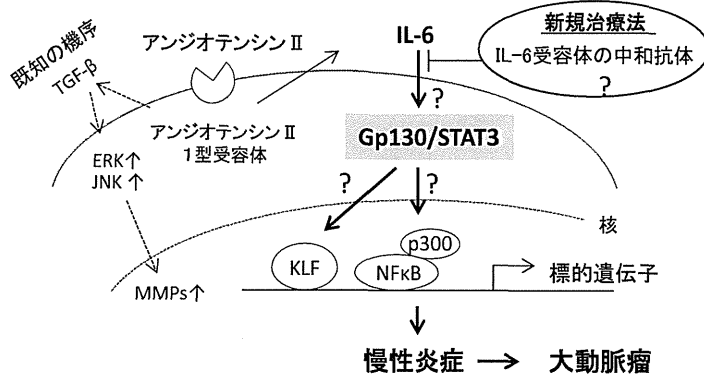


図2. Gp130/STAT3シグナルによる慢性炎症および大動脈瘤発症のメカニズム(仮説)

においてTLR4とクロストークし、病態を悪化することが報告された(Greenhill et al. J Immunol. 2011)。本研究ではIL-6受容体の中和抗体を投与してIL-6のトランス・シグナル経路を介してTLR4、NFκBなどのクロストークが慢性炎症および大動脈瘤を惹起するかを検討する。また、マクロファージの炎症シグナルがパラクライン経路で周辺の組織に影響を与える可能性も考えられることから、血管内皮細胞や平滑筋細胞に対する炎症シグナルの影響についても検討する。

2. ノックアウトマウスを用いた大動脈瘤に対する反応の検討

炎症因子ノックアウトマウスをアンジオテンシンII投与により誘導される大動脈瘤における炎症シグナル経路を詳細に検討する。また、塩化カルシウムにより誘導される炎症反応と大動脈瘤の形成モデルにおいても慢性炎症シグナルが重要な役割をしているかを検討し、このシグナルの重要性を様々なメカニズムによる大動脈瘤の形成モデルにおいて検証する。さらにFlox/Creシステムを用いて組織特異的炎症因子ノックアウトマウス

(conditional knockout mouse)を作成し、マクロファージ特異的な炎症因子欠損モデル

(Flox/LysM-Cre)を構築する。この系を用いることによりさらに選択的、特異的に炎症因子の働きを解析することができ全身ノックアウトマウスで認められた表現型をさらに明瞭化することが可能となる。また、炎症シグナルの活性化が認められたマクロファージが骨髄由来であるかも検討すべく、GFPマウスの

骨髄をノックアウトマウスへ移植し、マクロファージの由来を明らかにする

3. 炎症因子の標的遺伝子の同定と分子レベルでの検討

全身ノックアウトマウスやマクロファージ特異的な欠損マウスにおいて、アンジオテンシンII投与による大動脈瘤の形成抑制を確認し、また慢性炎症につながる下流の標的遺伝子を同定する。具体的には、大動脈瘤病変において炎症シグナル経路の抑制により変動する遺伝子をDNA chip analysisを用いてスクリーニングし、標的遺伝子を特定する。さらにin vi

tro系でIL-6の刺激また、dominant negativeの導入により、gain of functionとloss of functionの条件下、標的遺伝子が炎症性サイトカインの分泌や細胞外マトリックス生成および分解のメカニズムに与える影響を検討する。炎症因子介する標的遺伝子の転写活性にはp300等のコアクチベーターが必要であるか、またKLFが直接的に関与しているかをクロマチン免疫沈降を行い検討し詳細な分子メカニズムを明らかにし、実臨床例での大動脈瘤・大動脈解離での慢性炎症状況のバイオマーカーとしての同因子の有用性を判断する。

C. 研究結果・

現在までの研究成果として、まず大動脈解離のモデル動物(マウス)を作製した。具体的には、KLF6ノックアウトマウスに大動脈の炎症(アンジオテンシンII持続投与とCaCl₂の局所投与)で大動脈解離が発症することを見出した(次ページ左上図)。マクロファージを欠失させるクロドロネートを投与すると同フェノタイプが見られないことからマクロファージの関与が示唆され、マクロファージ特異的なノックアウトマウス(LysM)を作成した。その結果、同様に大動脈解離が見られ(次ページ右上図)、KLF6がマクロファージを介して大動脈解離の発症を制御することを明らかにした。また、その作用機序として、炎症性サイトカインGM-CSF(顆粒球マクロファージコロニー刺激因子)とその下流に位置するIL-6の活性化が免疫樹状細胞とマクロファージの活性化・極性変化を制御することを明らかにした。その証明として、GM-CSFに対する中和抗体の投与でフェノタイプが抑えられ

た(左下図)。逆に、GM-CSFの投与により動脈瘤・解離が発症した(右下図)。実際に、モデル動物でも患者症例でもGM-CSFの血中濃度は高値である。GM-CSFは動脈瘤・解離の鍵分子であると考えられ、治療介入の検討が急がれる。

D. 考察

大動脈疾患の発症機序の基礎病態は大動脈壁の脆弱化 (fragile aorta) であるが、この病態における慢性炎症の役割は意外にも今まで注目されていない。大動脈瘤は主に大動脈壁内の炎症とそれに対する修復

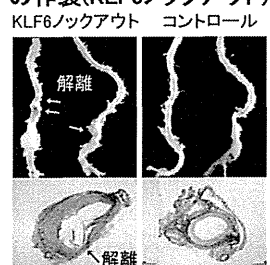
(線維化) 反応の遷延が基本病態を成すと考えられるようになりつつあるが、大動脈解離の場合は、むしろ高血圧等による機械的な刺激が主因であり、これが動脈硬化等で変性・脆弱化した大動脈に負荷をかけることが破綻原因と考えられてきた。今回の動物モデルはあくまでも炎症のモデルであり、ヒトでみられる大動脈解離の複雑な病像(圧負荷、動脈硬化変性)の中のコンポーネントのひとつに過ぎないが、その部分を極端に強調した単純化されたモデルに位置づけられる。重要なことは、この単純化した炎症モデルを用いたことにより、炎症成分の主因を成すサイトカインであるGM-CSF、IL-6等を分子標的とした治療介入という今までになかった新しい分子標的治療法の開発の可能性を示唆する結果を得たことである。大動脈解離の治療法は、外科治療を除けば基本的には降圧治療が中心であることから、本研究を通して基本病態を標的とした新しい抜本的な治療法の開発につながる可能性を示唆する。また本研究は、炎症基盤を有する大動脈瘤等の血管病態への波及、さらに心臓線維化等の心臓における慢性炎症病態の新しい病態解明さらに治療法の開発の糸口となる期待もある。このように、本研究は、慢性炎症を基礎とした普遍的な病態メカニズムの解明、さらにそれに基づいた治療法の開発という心血管病態学のみならず医学全般へと広く波及する可能性を有すると考えている。

E. 結論

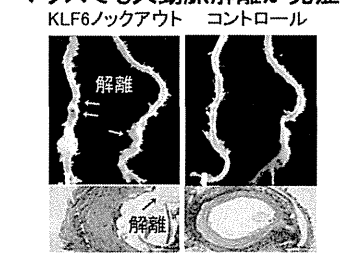
本研究は、結合織疾患を素因に有する大動脈疾患の治療方法の最適化や予後予測、また特に慢性炎症性を基盤とする組織リモ

デリングを反映するバイオマーカーの開発や臨床における病態モニタリングの実現等、新しい治療戦略の開発を可能にすると期待される。

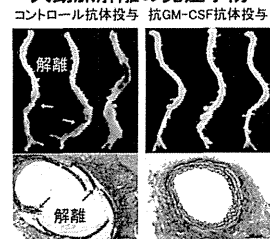
大動脈解離動物モデルの作製(KLF6ノックアウト)



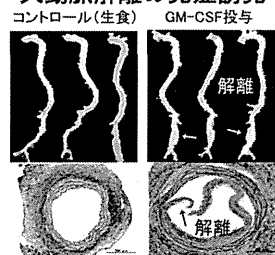
マクロファージ特異的KLF6KOマウスでも大動脈解離が発症



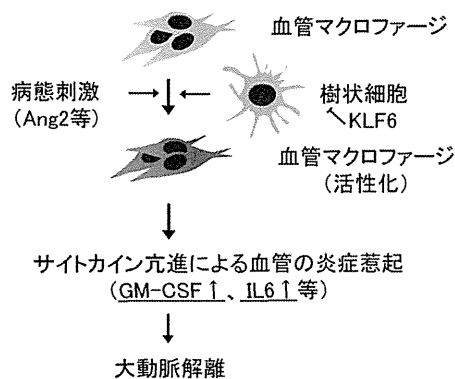
GM-CSFの中和による大動脈解離の発症予防



GM-CSFの投与による大動脈解離の発症誘発



大動脈解離の発症機序の作業仮説



F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Sawaki D, Suzuki T. Targeting Transforming Growth Factor- β Signaling in Aortopathies in Marfan Syndrome.

- Circ J.* 2013, 77(4): 898-899.
- 2). Suzuki T, Bossone E, Sawaki D, Janosi RA, Erbel R, Eagle K, Nagai R.
Biomarkers of aortic diseases.
Circ Res. 2013, 112: 113-27.

1. 特許取得 特になし。
2. 実用新案登録 特になし。
3. その他 特になし。

2.学会発表

- 1). The 12th Human Proteome Organization World Congress (HUPO 2013, Yokohama, Japan, 2013/9/15)
Kenichi Aizawa, Toru Suzuki, Hiroka Fujimoto, Daigo Sawaki,
Processed B-type natriuretic peptide is a biomarker of post-interventional restenosis in ischemic heart disease
- 2). Kenichi Aizawa, Toru Suzuki, Hiroka Fujimoto, Daigo Sawaki, Junichi Ishida, Jiro Ando, Hideo Fujita, Ryoza Nagai, Issei Komuro
Processed B-type natriuretic peptide measured by immuno-mass spectrometry is a biomarker of postinterventional restenosis in ischemic heart disease
- 3). Zhan H, Suzuki T, Aizawa K, Sawaki D, Ishida J, Son BK, Manabe I, Miyagawa K, Nagai R, Komuro I.
Doxorubicin-induced Cardiotoxicity is Regulated by Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) in Cardiac Fibroblasts
- 4). Bo-Kyung Son, Toru Suzuki, Daigo Sawaki, Kenichi Aizawa, Hong Zhan, Junichi Ishida, Takayoshi Matsumura, Scott J. Friedman, Ryoza Nagai, Issei Komuro
Novel mechanism of aortic dissection involving regulation of dendritic cells and macrophage by granulocyte/macrophage colony stimulating factor
- 5). Daigo Sawaki, Toru Suzuki, Kenichi Aizawa, Takayoshi Matsumura, Junichi Ishida, Bo-Kyung Son, Hong Zhan, Scott J. Friedman, Ryoza Nagai, Issei Komuro
Cardiomyocyte Modulates Cardiac Fibrosis by Transcription Control of Fibroblasts Regulating ECM Factors

H. 知的財産権の出願・登録状況

自主臨床試験：「冠動脈カテーテル治療後再狭窄の新規バイオマーカー（BNP断片比）の探索的臨床試験」

試験実施計画書

試験責任医師：

（氏名）	（所属機関）	（診療科）	（職名）
鈴木 亨	東京大学	心臓血管予防医学講座	特任准教授

<連絡先>

東京大学 心臓血管予防医学講座
〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1
電話：03-3815-5411（内線 35636）、FAX：03-5800-9847
E-mail：torusuzu-tky@umin.ac.jp

緊急連絡先：

東京大学医学部付属病院 循環器内科 当直
〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1
電話：03-3815-5411（内線 30215）

臨床試験実施予定期間：

承認日 ～ 西暦2017年 3月 31日

作成日・承認日・改訂日：

2014年1月7日	計画書案	第1版作成
2014年1月30日	計画書案	第2版作成

1. 試験の背景

心臓カテーテル検査時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実用化が必要とされている。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。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割の症例で治療後に再び狭くなる現象（再狭窄）があげられる。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、再狭窄抑制作用を有する薬剤を塗布した薬剤溶出ステントが使われている現在においても、未だ治療後の患者の約1割に再狭窄が生じる。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。心臓カテーテルを用いた検査・治療法は近年普及し、年間46.0万回のカテーテル検査が、26.2万回のカテーテル治療が実施されている¹。カテーテル治療後の再狭窄の懸念に対して、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等の他の診断目的のX線検査(0.5～1.0mSv)と比較し、被曝量は数倍～数十倍大きい²。

責任医師ら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（BNP断片比と称す）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。後ろ向き105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において本法はカットオフ値を1.52とする際に感度100%、すなわち1.52以上の全症例で再狭窄の除外診断が可能であった（別紙、技術概要参照）。2013年5月に論文³、およびプレスリリースにて公開した⁴。特許も申請済みである（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）。

同様の研究の国内外の実施状況として、重松らが実施した心臓カテーテル治療を行った糖尿病患者の再狭窄群、非再狭窄群における酸化LDL(MDA-LDL)値の比較試験がある^{5,6}。対象患者が2型糖尿病患者に限られ、症例数も44例と小規模である。カットオフ値を110U/Lとした場合、カットオフ値未満の症例における再狭窄発生率は12パーセントであり（値が大きいほど再狭窄しやすい）、除外診断性能はBNP断片比に劣る。さらに、MDA-LDLの診断性能は従来型の金属ステントに限定されるもので、昨今広く使用されている薬剤溶出ステントでは無効との報告もあり、日常臨床では十分に活用されていない（別紙、既評価技術との比較参照）⁷。

2. 試験の目的と必要性

本研究は本バイオマーカー（BNP断片比）の実用化を目的とし、臨床的有用性を確認するものである。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、本バイオマーカーを用いる計画である。2年間で50例を目標とする。最終的には心臓カテーテル検査の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ことを目指す。

なお、本研究は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、先進医療として実施するものである。有用性の確認後は薬事承認申請を目指す。