

図4 質量分析を基にした免疫学的アッセイ法  
 血漿中から目的の蛋白質に対する抗体を用いて免疫沈降し(左), 質量分析計で分析することにより, さまざまな修飾体を区別することが可能となる。

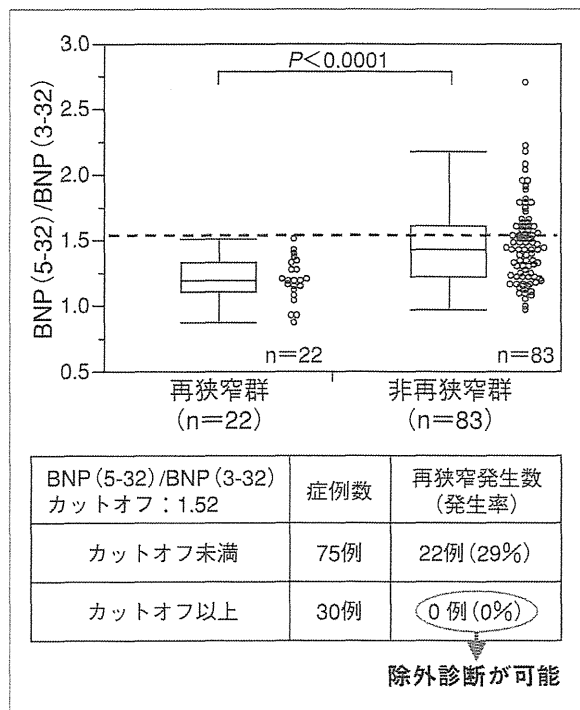


図5 BNPフラグメントのシグナル強度比BNP (5-32)/BNP (3-32)と冠動脈再狭窄との相関  
 カットオフ値1.52以上では再狭窄症例が皆無である, すなわち, 除外診断が可能である。

### 質量分析技術を用いた冠動脈狭窄症の血液検査法

冠動脈狭窄症の治療として年間20万件以上実施されている心臓カテーテル治療では, 約1割の症例において, 施術後の約半年以内に再狭窄が生じることが, 治療上の課題ないし限界となっている。このため, 再狭窄の生じている患者を見分けるためのサロゲート(代替)マーカーが待ち望まれている。BNPは負荷のかかった心臓から分泌されるホルモンであり, 心不全のバイオマーカーとしてすでに広く臨床で用いられている。しかし, 虚血性心疾患における診断に有用かどうかは未解明であった。最近, 末梢血中にはプロセシングを受けたBNPが存在することが報告されてきている<sup>9)~11)</sup>。われわれはこのプロセシングを受けたBNPが心臓カテーテル治療後の再狭窄を診断するのに有用であると仮説をたて, それを検証した。末梢血中にはプロセシングを受けたBNPを分析するために, 質量分析を基にした免疫学的アッセイ法を新たに開発した(図4)。心臓カテーテル治療を受けて約6か月

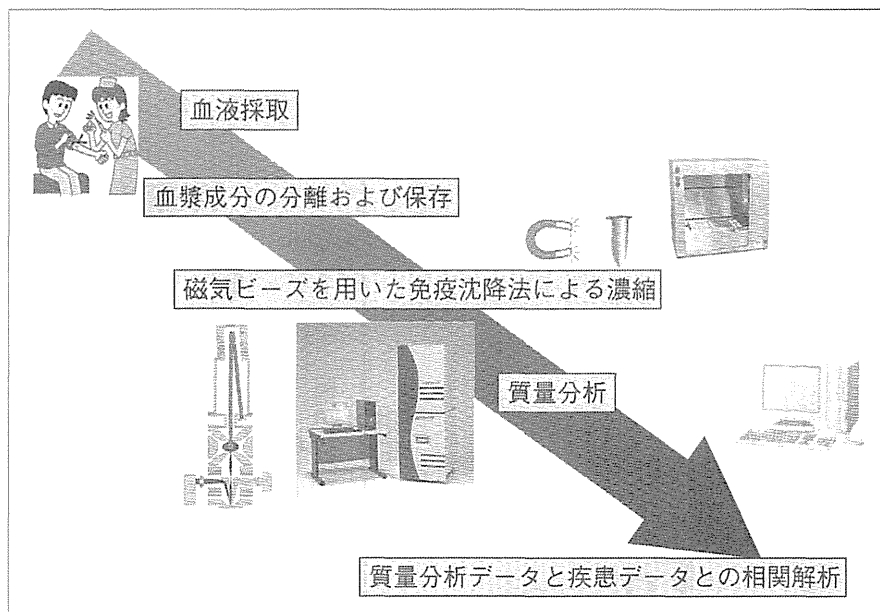


図6 プロテオミクスを用いた臨床血液診断システムの開発の流れ

経過した時点で冠動脈造影の再検査を受けた連続105症例について横断研究を行った<sup>12)</sup>。各患者の冠動脈カテーテル造影検査による再狭窄の診断、および、末梢血中のプロセシングを受けたBNPのシグナル強度比BNP(5-32)/BNP(3-32)を測定対象とした。その結果、再狭窄を生じていた患者群において、BNPフラグメントのシグナル強度比BNP(5-32)/BNP(3-32)が有意に低くなっていた〔再狭窄を生じていた群(n=22)：再狭窄の生じていなかった群(n=83)=1.19(四分位範囲, 1.11~1.34)：1.43(四分位範囲, 1.22~1.61), ( $P < 0.001$ )〕。つまり、BNPフラグメントのシグナル強度比〔BNP(5-32)/BNP(3-32)〕のカットオフ値を、再狭窄を有する症例で1.52とすることで再狭窄の除外診断が可能になり、有用な診断手法であることがわかった。感度は100%であった。このように、BNPフラグメント比〔BNP(5-32)/BNP(3-32)〕は再狭窄の有無を診断する有用なバイオマーカーとなりうることが明らかとなった(図5)。

おわりに

質量分析技術を医療に応用する試みはいまだ端緒に着いたばかりで歴史が浅いが、今後、医療における中心的役割を有す可能性も高いと思われる。なかでも、心血管疾患のプロテオミクス

解析は現在注目されている。米国でNHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute)において、臨床プロテオミクス・ワーキンググループが活動中である<sup>8)</sup>。また、HUPO(The Human Proteome Organization)による血漿プロテオーム解析も行われ、ヒトの血漿からの蛋白質の網羅的同定が試みられ、心血管関連の蛋白質の包括的同定が行われつつある<sup>13)</sup>。ほかにも、心血管疾患に特異的な蛋白質プロファイリングを行った研究も行われつつある<sup>14)15)</sup>。今後も同様のデータを蓄積していくことにより、動脈硬化などの疾患特異的バイオマーカーの同定のみならず、疾患関連蛋白質の病態における動態(相互作用, 修飾, 分解など)を包括的に把握することも可能となるであろう。疾患病態制御機構の解明は最終的には治療薬の開発に繋がるものと期待される。

質量分析装置が臨床診断の主流となるか否かは現段階では答えは出ていないが、費用対効果が示され、従来の検査技術では測定不能な重要な情報を与えることになれば、十分に現実味はある。たとえば、疾患における蛋白質の断片化や翻訳後修飾などについては質量分析装置の利用価値が非常に高いところである。定量性, 再現性, 機器の可搬性などの問題についても解決が必要である。このように、現在の先端的なプロテオーム解析法はまだ端緒に着いたところで

あり、高度な熟練と知識を必要としている。実際、まだ誰もが簡単に利用できるものではないが、今後、簡易型の質量分析システム、またはロボットを用いた再現性とスループットの高い測定法の開発が期待される(図6)。

## 文 献

- 1) Haberland ME, Fong D, Cheng L. Malondialdehyde-altered protein occurs in atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Science* 1988 ; 241 : 215.
- 2) Fogelman AM, Shechter I, Seager J, et al. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980 ; 77 : 2214.
- 3) Amaki T, Suzuki T, Nakamura F, et al. Circulating malondialdehyde modified LDL is a biochemical risk marker for coronary artery disease. *Heart* 2004 ; 90 : 1211.
- 4) Shigematsu S, Takahashi N, Hara M, et al. Increased incidence of coronary in-stent restenosis in type 2 diabetic patients is related to elevated serum malondialdehyde-modified low-density lipoprotein. *Circ J* 2007 ; 71 : 1697.
- 5) Meisinger C, Baumert J, Khuseyinova N, et al. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation* 2005 ; 112 : 651.
- 6) Gygi SP, Rochon Y, Franz BR, Aebersold R. Correlation between protein and mrna abundance in yeast. *Mol Cell Biol* 1999 ; 19 : 1720.
- 7) Labugger R, Organ L, Collier C, et al. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2000 ; 102 : 1221.
- 8) Granger CB, Van Eyk JE, Mockrin SC, Anderson NL. National heart, lung, and blood institute clinical proteomics working group report. *Circulation* 2004 ; 109 : 1697.
- 9) Brandt I, Lambeir AM, Ketelslegers JM, et al. Dipeptidyl-peptidase IV converts intact b-type natriuretic peptide into its des-serpro form. *Clin Chem* 2006 ; 52 : 82.
- 10) Niederkofler EE, Kiernan UA, O'Rear J, et al. Detection of endogenous b-type natriuretic peptide at very low concentrations in patients with heart failure. *Circ Heart Fail* 2008 ; 1 : 258.
- 11) Semenov AG, Tamm NN, Seferian KR, et al. Processing of pro-b-type natriuretic peptide : Furin and corin as candidate convertases. *Clin Chem* 2010 ; 56 : 1166.
- 12) Fujimoto H, Suzuki T, Aizawa K, et al. Processed b-type natriuretic peptide is a biomarker of post-interventional restenosis in ischemic heart disease. *Clin Chem* 2013 ; 59 : 1330.
- 13) Berhane BT, Zong C, Liem DA, et al. Cardiovascular-related proteins identified in human plasma by the HUPO plasma proteome project pilot phase. *Proteomics* 2005 ; 5 : 3520.
- 14) Westbrook JA, Wheeler JX, Wait R, et al. The human heart proteome : Two-dimensional maps using narrow-range immobilised ph gradients. *Electrophoresis* 2006 ; 27 : 1547.
- 15) Mayr U, Mayr M, Yin X, et al. Proteomic dataset of mouse aortic smooth muscle cells. *Proteomics* 2005 ; 5 : 4546.

\* \* \*

# 診断マーカーと測定しておくべき血液検査

相澤健一

## ポイント

- ◎急性心筋梗塞，不安定狭心症などの臨床診断に有用な生化学マーカーとして，クレアチンキナーゼ，トロポニン，心臓型脂肪酸結合蛋白，ミオグロビンがある。
- ◎心機能指標としてBNPがあり，虚血性心疾患の予備心機能や予後を予測する際に有用である。
- ◎急性心筋梗塞の二次予防の重要なリスク因子として評価すべき脂質，糖尿病などがある。

急性心筋梗塞の臨床診断においては，心筋壊死を示す診断マーカーの一過性上昇を認めることが必須であり，これに加え虚血の存在を示唆する遷延する胸痛や心電図所見のいずれかの存在が必要となる。

急性心筋梗塞(ST上昇型)の診療に関するガイドライン<sup>1)</sup>に基づくと，急性冠症候群の初期診断において，臨床検査はクラスI適応であり，患者到着後10分以内の血液生化学検査が推奨されている(レベルC)(図1，表1)。初期に評価すべき検査項目として以下が挙げられる。

- ・心筋バイオマーカー：心筋トロポニン，クレアチンキナーゼ(CK，CK-MB)，ミオグロビン，心臓型脂肪酸結合蛋白(H-FABP)
- ・血算
- ・生化学
- ・電解質

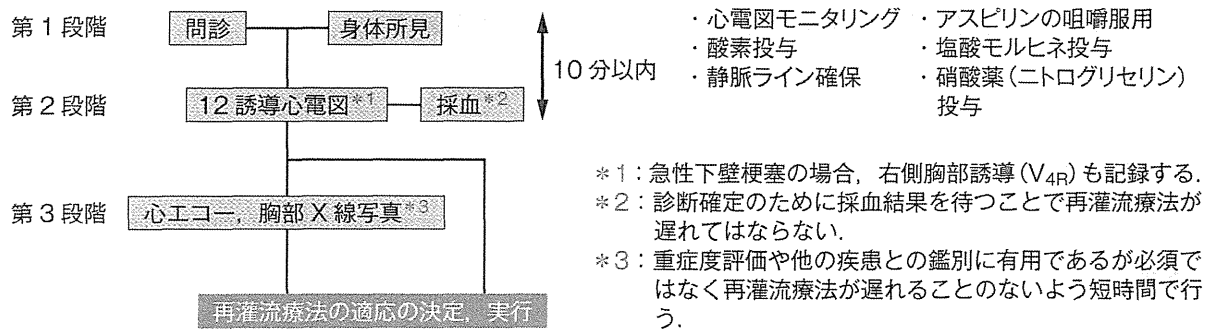
クラスI適応として，CKあるいはCK-MBの経時的な測定により心筋梗塞サイズを推定することが有用とされている(レベルB)。また，クラスII適応として，発症72時間以内にお

けるトロポニン値により心筋梗塞サイズを推定する方法もある(レベルB)。そのほか，心機能の指標としてのBNP，急性心筋梗塞の二次予防に重要な評価すべき脂質プロファイル，血糖，HbA1cなど，本稿では虚血性心疾患の診療において行うべき検査について概説する。

## クレアチンキナーゼ(CK，CK-MB)

心筋壊死のマーカーのスタンダードはクレアチンキナーゼ(creatine kinase：CK)である。CKは細胞質に含まれ，心筋梗塞発症後，3～4時間後に上昇し，約24時間後にピークに達し，2～3日後に元のレベルに戻る。CKは，MM(96%以上)，MB(1～4%)，BB(1%未満)のアイソザイムに分類され，MBないしMMが心筋に相当する。

CK-MBの最高値は心筋壊死量と関連するため，梗塞の大きさを推定するのに役立つ。また，死亡率を含む予後と直接関連することが示され



first medical contact (あるいは door)-to-needle time : 30 分以内  
 first medical contact (あるいは door)-to-device time : 90 分以内

図1 ST 上昇型急性心筋梗塞の診断アルゴリズム (文献1より引用)

ている。したがって、血清 CK-MB を測定することは心筋梗塞の診断とその重症度判定に役に立つ。

注意すべきことは、血清 CK-MB 値は心筋梗塞発症後、数時間以上経過しないと有意な高値を示さない点である。このため、発症後数時間以内では CK-MB 値が基準値内であっても心筋梗塞を否定することはできない。また、CK-MB は少量ながら骨格筋にも含まれるため、筋炎、横紋筋融解症、甲状腺機能低下症など、骨格筋に損傷がある場合にも高値を示す。心筋梗塞との鑑別のポイントは、骨格筋損傷の場合は総 CK 値も上昇するため、CK-MB の割合が 5% を超えない。また、前述したように心筋由来の CK-MB の上昇は梗塞後一過性である。このような時間依存的な CK-MB 値の経過はほかの骨格筋由来の疾患では認められない。時空間的に病態を把握することにより、心筋梗塞と心筋損傷との鑑別は可能である。

## 心筋トロポニン

心筋トロポニン(Troponin)は心筋の収縮調節蛋白の一つであり、トロポニン T、トロポニン I、トロポニン C とともにトロポニン複合体を形成している。

トロポニン T は細胞質の可溶性分画に 6%、筋原線維の構造蛋白として 94% 分布している。心筋が壊死に陥り、筋原線維が分解されると、血中に流出する。心筋梗塞発症後 3~4 時間で有意な上昇を示し、約 10 日遷延する。CK は健常人でも検出され心筋特異性が低いのに対し、心筋トロポニンは心筋特異性が高く、健常人で上昇することはない(基準値 < 0.01 ng/mL)。心筋トロポニンの上昇は、CK が上昇しない程度の微小心筋傷害でも確実に検出される。しかし、心筋トロポニンは発症早期には上昇していないことが多く、超急性期の診断には有用性が低い。一方、確定診断に有用であり、European Society of Cardiology/American College of Cardiology(ESC/ACC)ガイドライン 2000 では急性心筋梗塞の最終診断は CK や CK-MB に代わって、心筋トロポニンの上昇と定義された。ACC/American Heart Association(AHA), ESC, World Heart Federation(WHF) 共同タスクフォースによる心筋梗塞の診断基準改訂版でもトロポニンは心筋梗塞の診断に最も有用なマーカーとされている<sup>2,3)</sup>。また、主に非 ST 上昇型心筋梗塞での診断やリスク層別化において臨床的有用性が高い。

発症 72 時間におけるトロポニン T 値が梗塞量を最も反映するとされている。また、トロポ

表 2 発症からの経過時間別にみた各心筋バイオマーカーの診断精度(文献1より引用)

	<2 時間	2~4 時間	4~6 時間	6~12 時間	12~24 時間	24~72 時間	>72 時間
ミオグロビン*	○	○	○	○	○	△	×
心臓型脂肪酸結合蛋白 (H-FABP)*	○	○	○	○	○	△	×
心筋トロポニン I, T*	×	△	◎	◎	◎	◎	◎
高感度心筋トロポニン I, T	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
CK-MB	×	△	◎	◎	◎	△	×
CK	×	△	○	○	○	△	×

◎：感度、特異度ともに高く診断に有用である。 ○：感度は高いが、特異度に限界がある。 △：感度、特異度ともに限界がある。 ×：診断に有用でない。 \*：全血迅速診断が可能である。

ニン I, トロポニン T の上昇は心臓死や再梗塞の頻度増加とも関連している。トロポニンの上昇の程度は、発症 30 日間の死亡率、および長期予後を規定する。ただし、心筋トロポニンは心不全、心筋炎、急性肺血栓塞栓症など虚血以外の原因による心筋傷害でも上昇することに注意が必要である。

現在、臨床現場で利用可能なトロポニン T の迅速診断キットとして、トロップ T センシティブ®(ロシュ・ダイアグノスティックス)がある。EDTA またはヘパリン添加採血管(血算または血漿用の採血管)で採取した血液で測定可能であり、採血後の血液をそのまま数滴キットに滴下するだけで、約 15 分で結果が判明するため、ベッドサイドや救急外来でも測定可能である。

## 心臓型脂肪酸結合蛋白 (H-FABP)

心臓型脂肪酸結合蛋白(heart-type fatty acid-binding protein : H-FABP)は、心筋細胞質に比較的豊富に存在する低分子可溶性蛋白である。低分子であるために軽度の心筋傷害のレベルで循環血中に逸脱する鋭敏な遊出動態を示す。H-FABP は、心筋トロポニン T では診断できない発症 2 時間以内の超急性期の急性心筋梗塞

の診断を可能とするが、心筋特異性が低く、大動脈解離、骨格筋障害、腎機能障害例などでも陽性となることも報告されており、注意を要する(表 2)。

現在、心筋トロポニン T 同様、H-FABP の迅速診断キットとして、ラピチェック®(DS ファーマバイオメディカル株式会社)がある。急性心筋梗塞発症後早期(2~3 時間)に心筋傷害の有無を確認でき、胸痛などの自覚症状が顕著でない場合や、心電図やほかの蛋白質マーカーでは診断が困難な場合にも急性心筋梗塞の診断、治療の層別化に有用である。ただし、偽陽性が多い点を注意すべきである。

## ミオグロビン

ミオグロビンはトロポニン、H-FABP と同様、心筋細胞質に局在する細胞質可溶性マーカーである。心筋梗塞に特異的ではないが、そのほかの心筋壊死のマーカーよりも早く増加するため、診断がつかない心電図を有する患者のトリアージに役立つことがある。ただし、現在、迅速診断キットはないため、臨床現場における有用性はトロポニン、H-FABP に劣る。

## 心機能指標としての BNP の役割

B型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)は主に左室の伸展刺激を反映して左室心筋から循環血中に分泌される。BNPとNT-proBNPは同じBNP遺伝子に由来する。BNP遺伝子から転写・翻訳後、BNP前駆体(108個のアミノ酸からなるproBNP)が生成され、その後、NT-proBNP(proBNPのN端側の76個のアミノ酸からなる)とBNP(残りの32個のアミノ酸からなる)に切断される。BNPは生理活性を有する一方、NT-proBNPは生理的に非活性である。ナトリウム利尿ペプチドは心不全をはじめとする種々の心血管病態で上昇するため、虚血性心疾患における特異性は低い。しかし、心筋梗塞発症後の長期予後とは良く相関することが知られている。先述したCK、トロポニンなどの心筋逸脱マーカーは壊死心筋から放出されるため、心筋梗塞のサイズを反映する一方、BNPは残存心筋から分泌されるため、心筋梗塞時の心筋予備能などを反映する可能性がある。つまり、左室リモデリングおよび心イベントの予測に有用と考えられる<sup>5,6)</sup>。

再灌流治療の有無にかかわらず、左室機能はST上昇心筋梗塞の予後予測に最も重要な因子である。左室機能を反映するBNPはST上昇型急性心筋梗塞の診療に関するガイドライン<sup>1)</sup>でも、梗塞範囲の進展と左室拡張能を反映し、単独もしくは左室駆出分画率と併わせて評価することで、ST上昇心筋梗塞後の予後推定に役立つとされている。

注意すべき点として、BNP、NT-proBNPともに心血管病態にかかわらず、腎機能の低下に伴い血中濃度が上昇する。特に、NT-proBNPはほとんどが腎臓からの濾過により排泄されるため、軽度の腎機能低下(eGFR 80 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>未満)でも影響を受ける。また、高齢者

においても両ペプチドとも血中濃度は高値を示す傾向がある。

## 急性心筋梗塞の二次予防の 重要なリスク因子として 評価すべき血液検査項目

心筋梗塞二次予防に関するガイドライン(2011年改訂版)<sup>4)</sup>では、心筋梗塞二次予防を達成するには数々の治療法があるが、一般療法、薬物療法および侵襲的治療法に分類している。一般療法は、生活スタイルを是正して冠危険因子を除去することおよび高血圧や糖尿病などの合併症を治療することである。これはすべての心筋梗塞患者に励行すべきものである。

心筋梗塞をはじめとする冠動脈疾患は、主に粥状動脈硬化を基盤としているため、主な危険因子として、血清脂質異常[総コレステロール高値、低比重リポ蛋白コレステロール(LDL-C)高値、高比重リポ蛋白コレステロール(HDL-C)低値、トリグリセライド(TG)高値]、高血圧、糖尿病、肥満などの身体的因子に加え、喫煙、運動、飲酒等の生活習慣が挙げられる。このなかで、脂質および糖代謝に関連する診断マーカーは日常臨床で評価すべき重要なものである。

### 脂質異常の管理

LDL-Cは心血管イベントの予測マーカーとして有用であり、LDL-C推定値が151 mg/dL以上の群は、98 mg/dL未満の群に比べて、冠動脈疾患の発症リスクは男性で3.7倍高い。また、HDL-C値40 mg/dL未満の男性はそれ以上の男性に比べて、冠動脈疾患の発症リスクが2.5倍高く、冠動脈疾患の死亡リスクが2.0~2.5倍高い。さらにTG値150 mg/dL以上の男性は、それ未満の男性に比べて、冠動脈疾患の死亡リスクが1.8倍高い。同ガイドライン<sup>4)</sup>において

もクラスI適応として、高LDL-C血症にはスタチンを投与することが推奨されている(レベルA)。また、HDL-CはLDL-Cよりも有力な予測マーカーとの報告もあり、LDL-Cの目標値を達成した後の残存リスクとして改善することが勧められる。

## 糖尿病の管理

糖尿病管理は心筋梗塞二次予防として重要であり、ガイドライン<sup>4)</sup>においてクラスIIa適応である。糖尿病を合併する患者では、HbA1c 7.0%(国際標準値:NGSP)未満を目標に、体格や身体活動量などを考慮して適切なエネルギー摂取量を決定し、管理することが推奨されている(レベルB)。最近では、食後高血糖や短時間の血糖値変動が心血管イベントに対し影響する可能性も指摘されており、それらのマーカーとして最終糖化産物(advanced glycation end products: AGE)や1,5アンヒドログルシトール(1,5-anhydroglucitol: 1,5-AG)もあり、注目されつつある。

## おわりに

診断マーカーの時間的および空間的動態を理解するうえで、それらの正常時の存在分布と発症時の遊出動態を理解することが役に立つ。す

なわち、発症後の超早期(数時間以内)では細胞質に含まれるマーカー(CK-MB, H-FABP, ミオグロビン)がまず流出することにより血中濃度が上昇する。その後、虚血が長時間にわたり心筋壊死が進展すると、筋原線維に含まれるマーカー(トロポニンT)の血中濃度が上昇する(表2)。このように、診断マーカーを最大限に活用するためには、病態を念頭に置いた診断マーカーの使用法を理解することが重要である。

### 文献

- 1) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン。ST上昇型急性心筋梗塞の診断に関するガイドライン(2013年改訂版), 2013  
[http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2013\\_kimura\\_h.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2013_kimura_h.pdf)(2014年2月閲覧)
- 2) Thygesen K, et al: Universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 116:2634-2653, 2007
- 3) Thygesen K, et al: Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 126:2020-2035, 2012
- 4) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン。心筋梗塞二次予防に関するガイドライン(2011年改訂版), 2011  
[http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2011\\_ogawah\\_h.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2011_ogawah_h.pdf)(2014年2月閲覧)
- 5) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン。慢性心不全治療ガイドライン(2010年改訂版), 2010  
[http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2010\\_matsuzaki\\_h.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2010_matsuzaki_h.pdf)(2014年2月閲覧)
- 6) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン。急性心不全治療ガイドライン(2011年改訂版), 2011  
[http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2011\\_izumi\\_h.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2011_izumi_h.pdf)(2014年2月閲覧)



