201412050A

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
（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業）

血中自己抗体検出と新規炎症マーカーを用いた急性冠症候群予知因子および治療標的の探索

課題番号：H25－循環器等（生習）－一般－026

平成 26 年度　総括・分担研究報告書

研究代表者　西　英一郎

平成 27（2015）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
（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業）

血中自己抗体検出と新規炎症マーカーを用いた急性冠症候群予知因子および治療標的の探索

課題番号：H25－循環器等（生習）－一般－026

平成26年度　総括・分担研究報告書

研究代表者　西　英一郎

平成27（2015）年 5月

目　　次

Ⅰ．総括研究報告
血中自己抗体検出と新規炎症マーカーを用いた急性冠症候群予知因子および治療標的の探索

西　英一郎 ---------- 1

II. 分担研究報告
1．急性冠症候群患者における血清ナルディライジンの時系列解析

木村　剛 ---------- 7

2．動脈硬化関連疾患自己抗体マーカーのACS症例における定量評価

日和佐　隆樹 ---------- 15

3．急性冠症候群バイオマーカーとしてのマイクロRNAの可能性について

尾野　亘 ---------- 19

4．メタボリック・シンドロームにおける肝線維化とNRDcの関連

妹尾　浩 ---------- 25

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ---------- 29

IV. 研究成果の刊行物･別刷 ---------- 31

Ⅰ．総　括　研　究　報　告

Ⅰ．総括研究報告

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）
総括研究報告書

血中自己抗体検出と新規炎症マーカーを用いた急性冠症候群予知因子および治療標的の探索

研究代表者：西　英一郎（京都大学大学院医学研究科 循環器内科学 特定准教授）

研究要旨

ACS による死亡の約半数を占める発症早期の院外死をいかに抑制するかは喫緊の課題である。本研究で我々は、1）ACS 発症の予知が可能で、かつ 2）病因論的にも重要で治療標的になり得る新たな ACS 予知マーカーの同定を目指し、ACS 患者血清の自己抗体発現パターン、血清ナルディライジン（NRDc）濃度の解析を進めている。今年度は、ACS 症例血清を用いた血中自己抗体の二次、三次スクリーニングを行い、8 種類の予知マーカー候補タンパク質が得られた。さらに血清 NRDc の解析から、NRDc がトロポニン T で検出できない微少心筋障害を検出している可能性、あるいは心筋虚血の鋭敏なマーカーである可能性が示唆された。一方マウス疾患モデルを用いた実験から、NRDc が ACS および NASH の病態において、急性期の炎症反応、慢性期の線維化など組織リモデリングを制御していることが示唆された。

A．研究目的

本研究の目的は、急性冠症候群発症（ACS）の予知を可能にするバイオマーカーを開発すること、そして ACS による死亡の大半を占める、突然死をふくむ院外死を抑制することにある。将来的に治療薬の開発につながるよう、病因論的にも重要で、病態の本質を反映するマーカーの同定を目指す。

予知マーカー探索にあたり、我々は血中自己抗体検出に注目した。その理由は、1）抗体産生には２週間以上かかることから、ACS 発症後早期に上昇している自己抗体は発症前から出現していること、2）生活習慣病の共通基盤である慢性炎症に自己抗体が関与している可能性が高いこと、である。

一方我々はメタロプロテアーゼ、ナルディライジン（NRDc）を、HB-EGF 結合タンパク質として同定し、1）NRDc が HB-EGF や TNF-α の細胞外ドメインシェディングを活性化すること、2）NRDc 欠損マウスが、複数の炎症性疾患モデルマウスにおいて顕著な炎症抵抗性を呈すこと、3）ACS 症例において血清 NRDc が上昇すること、を明らかにした。これらの結果は、NRDc 濃度が慢性炎症を基盤として発症する ACS の病態をよく反映している可能性を示唆した。

本研究では、ACS 患者血清の①自己抗体発現パターンの解析、②血清 NRDc の解析を並行して行っている。①では、平成 25 年度に施行したタンパク質アレイを用いた一次スクリーニングにおいて、ACS 症例特異的に 33 種類の自己抗体価上昇を認めた。本年度は、これらの抗原タンパク質およびアレイに含まれていなかった独自の候補タンパク質を用いて自己抗体価測定系を構築し、より多症例でのスクリーニングを行った。②では、ACS 発症後時間採血により血清 NRDc 値の時間経過の検討を行った。

さらに疾患モデルマウスを用いて、ACS および

NASH における NRDc の意義を検討した。

B．研究方法

1) ACS 患者血清の自己抗体発現パターンの解析：

一次スクリーニングで抽出した 33 種類、およびタンパク質アレイに含まれていなかった候補タンパク質 11 種類を購入あるいは独自に精製し、それらに対する血清自己抗体測定系を、Alpha (Amplified Luminescence Proximity Homogeneous Assay) LISA 法を用いて構築した（詳細は分担報告日和佐の稿参照)。同測定系を用いて、二次スクリーニングとして健康成人 93 例、及び、ACS 症例 67 例の血清を用いて自己抗体価測定を行った。二次スクリーニングで選別された抗原タンパク質について、さらに三次スクリーニングとして、健康成人 192 例、ACS 症例 380 例、非 ACS 心疾患症例 196 例の血清における自己抗体価を測定した。

2) ACS 患者血清 NRDc 濃度の解析：

独自に開発したヒト血清 NRDc 高感度 ELISA（測定感度 50pg/ml）を用いて、ACS 入院症例の血清 NRDc を測定し、同時に測定した CK, TnT などと比較検討した（詳細は分担報告木村の稿参照)。

3) 炎症性疾患における NRDc の病態生理学的意義の解明：

3-1) ACS：野生型と心筋特異的 NRDc 強発現マウスを、左冠動脈前下行枝結紮による ACS モデルに供し、心筋病変部位の組織学的検討、遺伝子発現様式および血清 NRDc の検討を行った。

3-2) NASH：野生型と NRDc 欠損マウスを、コリン欠乏食、高脂肪食による NASH モデルに供し、肝臓の組織学的検討、遺伝子発現様式および血清肝逸脱酵素の検討を行った（詳細は分担報告妹尾の稿参照)。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都大学医学部・医学研究科医の倫理委員会（急性冠症候群予知を可能にするバイオマーカーの探索：E2030）および千葉大学大学院医学研究科倫理委員会（動脈硬化関連疾患のバイオマーカーの開発：千大医総第 110 号）で審査を受け承認されたものである。本研究は、疫学研究に関する倫理指針に基づいて実施する。また、個人情報の保護に関する(平成 15 年法律第 57 号)の規定を遵守し、個人データの安全管理のための必要かつ適切な処置、個人情報の取り扱いに関する苦情の処理その他の個人情報の適正な取り扱いを確保するために必要な措置を講じ、かつ、当該措置の内容を公表するよう努める。動物実験計画は全て、京都大学動物実験委員会での審査を経て承認されたものである。京都大学の動物実験に関する指針に従い、動物に対する苦痛負荷は極力抑え、倫理的に問題のない状態で行う。本研究計画は、組み替え DNA 実験を含む研究計画であり、京都大学において『組み替え DNA 実験申請』の承認を受けている。

C．研究結果

1) ACS 患者血清の自己抗体発現パターンの解析：

プロテインアレイによる一次スクリーニングで抽出した 33 種類、およびアレイに含まれていなかった候補タンパク質 11 種類の抗原タンパク質について、健康成人 93 例、及び、ACS 症例 67 例の血清を用いて二次スクリーニングを行った。その結果、18 種類のタンパク質に対する抗体価が ACS 症例群で有意に上昇していた。ACS67 症例のうち、33 例はクレアチンキナーゼ（CK）上昇を伴う急性心筋梗塞（AMI）症例、34 例は CK 上昇を伴わない不安定狭心症（UAP）症例であったが、18 種類のマーカー候補のうち 8 種類は AMI、UAP 双方で上昇を認め、10 種類は UAP のみで有意な上昇を認めた。

二次スクリーニングで選別した 18 種類の候補タンパク質について、引き続き健康成人 192 例、ACS 症例 380 例、非 ACS 心疾患症例 196 例の血清を用いて三次スクリーニングを行ったところ、8 種類のタンパク質に対する抗体価が、二群のコントロールと比較して ACS 症例で有意に上昇して

いた。

2) ACS 患者血清 NRDc 濃度の解析：

ACS を心筋壊死（心筋トロポニンの上昇）の有無により心筋梗塞と不安定狭心症に分類し、それぞれ発症後の時系列採血による検討を行った。その結果、血清 NRDc がトロポニン T や CK 陰性である ACS 発症後超早期より有意に上昇していること、TnT 陰性、CK 陰性の不安定狭心症群においても TnT 陽性、CK 陰性の心筋梗塞群と同等に上昇していることが明らかになった。一方入院時の陽性率で比較すると、心臓型脂肪酸結合タンパク（H-FABP）陽性率 75%、TnT 陽性率 65%に対して、血清 NRDc 陽性率は 95%と高い値を示した。

3) 炎症性疾患における NRDc の病態生理学的意義の解明：

3-1) ACS: マウス ACS モデル（冠動脈結紮）における免疫染色法を用いた検討から、虚血にさらされた心筋部位において、壊死に至る前の非常に早い段階（冠動脈結紮後 1.5 時間）から、NRDc の有意な発現低下を認めた。冠動脈結紮後の経時的採血の結果、血清 NRDc は 1.5 時間後にすでに上昇していることが明らかになった。心筋細胞特異的 NRDc 欠損マウスにおいては、冠動脈結紮後の血清 NRDc の上昇は認めなかったことから、血清 NRDc の上昇は虚血心筋からの放出を反映しているものと考えられた。

一方冠動脈結紮後 24 時間の梗塞巣組織において、心筋特異的 NRDc 強発現マウス（NRDc-Tg）では好中球浸潤の増加を認めた。同部位から抽出した RNA を用いて検討したところ、NRDc-Tg において TNF-α やインターロイキン 6 など炎症性サイトカインの発現レベルが上昇していることが明らかになった。さらに結紮後 4 週間で比較したところ、NRDc-Tg で線維化領域が増加する傾向が認められ、NRDc が急性期炎症の増強を介して、慢性期心筋リモデリングを制御している可能性が示唆された。

3-2) NASH: マウス NASH モデル（コリン欠乏食、高脂肪食）を用いた検討で、NRDc 欠損マウスにおける肝臓の脂肪沈着は、野生型と比較して軽微ながら、経時的に増強した。一方、NRDc 欠損マウスでは血清中の肝逸脱酵素の上昇、肝線維化の進行はほとんど認めなかった（詳細は分担報告妹尾の稿参照）。

D．考察

経皮的冠動脈インターベンション(PCI)の進歩、普及により、ACS の治療成績は飛躍的に向上し、院内死亡率は５％前後にまで低下した。一方、ACS による死亡の約半数を占める発症早期の院外死をいかに抑制するかは喫緊の課題である。今のところ、発症前に症状のない無症候性心筋虚血、あるいは有意狭窄のない冠動脈プラーク破裂による発症を簡便に予知する方法はない。

現在 ACS 診断に用いられているバイオマーカーは虚血による心筋障害の結果漏出するものである。本申請で我々は、1) ACS 発症の予知が可能で、かつ 2) 病因論的にも重要で治療標的になり得る新たな ACS マーカーの同定を目指し、血中自己抗体のスクリーニング、血清 NRDc の解析を行った。

今年度得られた重要な結果および考察として、1) ACS 症例の血清を用いた一次、二次、三次スクリーニングを経て、8 種類の予知マーカー候補タンパク質が得られたこと、2)血清 NRDc が TnT で検出できない微少心筋障害を検出している可能性、あるいは心筋虚血の鋭敏なマーカーである可能性が示唆されたこと、3) マウス ACS モデルにて、冠動脈結紮直後から血清 NRDc の上昇を認め虚血心筋からの放出を反映していると考えられたこと、NRDc が ACS および NASH の病態において、急性期の炎症反応、慢性期の線維化など組織リモデリングを制御していることが示唆されたこと、が挙げられる。

特筆すべきは、血中自己抗体のスクリーニングで最終候補として残った８種類の中に NRDc が入っていることである。2)で述べたように、NRDc が鋭敏な心筋虚血マーカーである可能性が強く示唆されていることから、血中自己抗体のスクリーニング系が、ACS 予知マーカーを同定する方法として

適当であることも同時に示唆されているものと考えている。

E．結論

本研究の目的は、1）ACS 発症の予知が可能で、かつ 2）病因論的にも重要で治療標的になり得る新たな ACS マーカーを同定することだが、平成 26 年度に得られた成果から、NRDc がそれらの条件を満たす可能性がさらに示唆された。一方、血中自己抗体の網羅的スクリーニングも順調に進んでおり、今後後ろ向きコホート試験（長浜コホートとの提携）を行い、NRDc および新規候補タンパク質の ACS 予知能検証を行う。

F．健康危険情報

該当なし

G．研究発表

1．論文発表

1. Ishizu-Higashi S, Seno H*, Nishi E*, Matsumoto Y, Ikuta K, Tsuda M, Kimura Y, Takada Y, Kimura Y, Nakanishi Y, Kanda K, Komekado H, Chiba T (*Co-corresponding author) Deletion of nardilysin prevents the development of steatohepatitis and liver fibrotic changes. **PLOS ONE** 9(5): e98017, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0098017
2. Tien DN, Kishihata M, Yoshikawa A, Hashimoto A, Sabe H, Nishi E, Kamei K, Arai H, Kita T, Kimura T, Yokode M, Ashida N. AMAP1 as a negative-feedback regulator of nuclear factor-κB under inflammatory conditions. **Sci Rep.** 4:5094. 2014. doi: 10.1038/srep05094.

2．学会発表

1. Nishi K, Sato Y, Ohno M, Saijyo S, Sakamoto J, Chen P, Inagaki N, Kimura T, Nishi E. Nardilysin is a critical regulator of glucose-stimulated insulin secretion Keystone Symposia (Emerging concepts and targets in islet biology), Apr 8, 2014, Keystone, CO, USA
2. Nishi E, Nishi K, Ohno M, Saijo S, Chen P, Sakamoto J, Kimura T, Kita T. Critical role of nardilysin in glucose-stimulated insulin secretion(Selected for oral presentation) Cold Spring Harbor Meeting (Nuclear Receptors & Diseases), Oct 28-Nov1, 2014, Cold Spring Harbor, NY, USA
3. Ohno M, Hiraoka Y, Nishi K, Saijo S, Sakamoto J, Chen P, Makiyama T, Kita T, Matsuura H, Kimura T, Nishi E. Nardilysin controls heart rate through the regulation of sinus node automaticity Cold Spring Harbor Meeting (Nuclear Receptors & Diseases), Oct 28-Nov1, 2014, Cold Spring Harbor, NY, USA.
4. 鳥口　寛、波多野　悦朗、竹本　研二、田邉和孝、瀬尾智、田浦　康二朗、上本　伸二、西　英一郎. 肝細胞癌の発症進展における Nardilysin (NRDc)の意義の検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会（2014 年 4 月 3－5 日、京都）
5. 西清人, 佐藤 雄一, 大野美紀子, 平岡義範, 西城さやか, 稲垣 暢也, 西英一郎. ナルディライジンは膵 β 細胞においてインスリン分泌を制御する. 第６１回日本生化学会近畿支部例会（2014 年 5 月 17 日）**優秀発表賞受賞**
6. 西城さやか, 平岡義範, 松岡龍彦, 大野美紀子, 西清人, 西英一郎. ナルディライジンは PGC-1α を制御することで体温恒常性維持機構と適応熱産生を調節する. 第 61 回 日本生化学会近畿支部例会(2014/5/30 京都)
7. 西清人, 佐藤雄一, 大野美紀子, 平岡義範, 西城さやか, 坂本二郎, 陳博敏, 北徹, 稲垣暢也, 木村剛, 西英一郎. ナルディラインジンはグルコース応答性インスリン分泌を制御する. 第 46 回日本動脈硬化学会学術集会（2014 年 7 月 10-11 日 東京）
8. 西城さやか, 平岡義範, 松岡龍彦, 大野 美紀

子, 中村和弘, 松村成暢, 西清人, 坂本 二郎, 陳 博敏, 北 徹, 木村 剛, 西 英一郎. ナルディライジンはPGC-1αを制御することで体温恒常性維持機構と適応熱産生を調節する. 第46回 日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2014/7/10-11 東京)

9. 大野美紀子、平岡義範、松浦博、西清人、西城さやか、坂本二郎、陳博敏、牧山武、北徹、木村剛、西英一郎. 多機能プロテアーゼによる心拍数制御機構 日本循環制御医学会 2014年7月4日～5日、福岡 第35回日本循環制御医学会総会 **会長賞最優秀賞受賞**
10. 坂本二郎、大野美紀子、西清人、西城さやか、陳博敏、木村剛、西英一郎. ナルディライジンの心肥大、心不全における役割. 第19回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 (2014年8月8-9日、大阪)
    大野美紀子、西清人、西城さやか、坂本二郎、陳博敏、北徹、木村剛、西英一郎. 多機能プロテアーゼによる交感神経系を介した循環動態制御機構. Molecular Cardiovascular Conference II 2014年9月5日、神戸
11. 西城さやか、平岡義範、大野美紀子、中村和弘、松村成暢、西清人、坂本二郎、陳博敏、森田雄介、北徹、木村剛、西英一郎. 褐色脂肪組織に発現するナルディライジンは体温恒常性維持機構において重要な役割を示す. 第37回日本分子生物学会年会 (2014年11月25-27日、横浜)
12. 大野美紀子、松浦博、平岡義範、西清人、西城さやか、坂本二郎、陳博俊、牧山武、北徹、木村剛、西英一郎. 多機能プロテアーゼによる洞房結節自動能制御機構. 第37回日本分子生物学会年会 (2014年11月25-27日、横浜)
13. 坂本二郎、大野美紀子、西清人、西城さやか、陳博敏、森田雄介、北徹、木村剛、西英一郎. ナルディライジンの心肥大、心不全における役割. 第37回日本分子生物学会年会 (2014年11月25-27日、横浜)
14. 西清人、佐藤雄一、大野美紀子、平岡義範、西城さやか、坂本二郎、陳博敏、森田雄介、松岡龍彦、北徹、稲垣暢也、木村剛、西英一郎. ナルディライジンによるインスリン分泌制御の解析. 第37回日本分子生物学会年会 (2014年11月25-27日、横浜)
15. 西 英一郎:『αセクレターゼ活性化因子ルディライジンのアルツハイマー病における意義』シンポジウム Aβ産生制御によるアルツハイマー病根本治療戦略の進歩. 第33回認知症学会学術集会 (2014年11月30日、横浜)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

II. 分 担 研 究 報 告

Ⅱ．分担研究報告書

1．　急性冠症候群患者における血清ナルディライジンの時系列解析

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）
分担研究報告書

血中自己抗体検出と新規炎症マーカーを用いた急性冠症候群予知因子および治療標的の探索
—急性冠症候群患者における血清ナルディライジンの時系列解析—

研究分担者：木村　剛（京都大学大学院医学研究科　循環器内科学　教授）

研究要旨

ACS による死亡の多くは院外死であり、その背景には有意狭窄のない vulnerable な冠動脈プラークや無症候性心筋虚血が存在すると推測される。しかしながら、それらの存在を検出できるバイオマーカーは存在しない。我々はメタロプロテアーゼ、ナルディライジン（NRDc）の高感度測定系を構築し、心筋梗塞症例で血清 NRDc が上昇していることを明らかにした。今回我々は、ACS を心筋壊死（心筋トロポニンの上昇）の有無により心筋梗塞と不安定狭心症に分類し、それぞれ発症後の時系列採血による検討を行った。その結果、血清 NRDc がトロポニン T や CK 陰性である ACS 発症後超早期より有意に上昇していること、TnT 陰性、CK 陰性の不安定狭心症群においても TnT 陽性、CK 陰性の心筋梗塞群と同等に上昇していることが明らかになった。以上から、血清 NRDc が心筋虚血マーカーとなる可能性が示唆された。

A．研究目的

経皮的冠動脈インターベンションの普及により、ACS による院内死亡率は大幅に低下したが、ACS による死亡の多くを占める発症早期の院外死をいかに抑制するかは喫緊の課題である。院外死の背景には、有意狭窄のない vulnerable な冠動脈プラークや無症候性心筋虚血が存在すると推測されるが、それらの存在を検出できるバイオマーカーは存在しない。

我々はメタロプロテアーゼ、ナルディライジン（NRDc）が、炎症性サイトカインや増殖因子の活性化を介して、炎症性疾患や悪性腫瘍の病態を制御していることを報告してきた。さらに ACS 症例入院時採血の検討から、健常者と比較して血清 NRDc が有意に上昇することを明らかにした。

本研究では、ACS 診断マーカーとしての血清 NRDc の有用性をさらに明らかにするため、ACS を心筋壊死（心筋トロポニンの上昇）の有無により心筋梗塞と不安定狭心症に分類し、それぞれ発症後の時系列採血による検討を行った。

B．研究方法

2013 年 7 月から 2014 年 12 月にかけて京都大学附属病院循環器内科に入院し、緊急冠動脈造影にて有意狭窄を認
め ACS と診断された連続 46 症例の、入院時および入院後 6 時間おき（CK のピークが確認されるまで）に採取した血清について、ヒト血清 NRDc 高感度 ELISA（測定感度 50pg/ml）を用いて血清 NRDc を測定し、同時に測定した CK、トロポニン T を含む一般血液生化学検査結果との比較検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都大学医学部・医学研究科医の倫理委員会で審査を受け承認されたものである。「心

血管疾患患者における血中バイオマーカーおよびRNA発現レベルと病態との関連の検討」（ヒト遺伝子解析承認番号 G-322)」、「急性冠症候群予知を可能にするバイオマーカーの探索」:（疫学研究承認番号 E2030)。本研究は、疫学研究に関する倫理指針に基づいて実施する。また、個人情報の保護に関する(平成15年法律第57号)の規定を遵守し、個人データの安全管理のための必要かつ適切な処置、個人情報の取り扱いに関する苦情の処理その他の個人情報の適正な取り扱いを確保するために必要な措置を講じ、かつ、当該措置の内容を公表するよう努める。

C．研究結果

ACSと診断された46例中、現時点で解析可能な32例中12例が入院時にトロポニンT（TnT）陰性、CK陰性（グループ1)、10例がTnT陽性、CK陰性、10例がTnT陽性、CK陽性であった。それぞれのグループの入院時血清NRDcは、グループ1: 3338±1096 pg/ml、グループ2: 3237±1200 pg/ml、グループ3: 7719±1200 pg/ml、であった。グループ3の血清NRDcはグループ1, 2と比較して有意に高かったが、グループ1とグループ2の間に有意差は認めなかった。一方健康成人112人の血清NRDc: 518±190 pg/ml と比較すると、グループ1、グループ2の血清NRDcはいずれも有意に上昇していた。一方入院時の陽性率で比較すると、心臓型脂肪酸結合タンパク（H-FABP）陽性率75%、TnT陽性率65%に対して、血清NRDc陽性率は95%と高い値を示した。

D．考察

ESC/ACCF/AHA/WHF 合同タスクフォースにて、心筋梗塞の universal definition として臨床上の心筋虚血に一致して心筋壊死が確認された場合に心筋梗塞と診断し、心筋壊死の有無は心筋トロポニンの上昇の有無で判断することが提唱された。近年心筋トロポニンの測定系の感度が上がり、従来は心筋壊死を伴わない不安定狭心症と診断された症例にも、微少心筋壊死を伴う症例がかなり含まれていることがわかってきた。一方、心筋トロポニンの上昇を認めない不安定狭心症を感度、特異度とも良好に診断できるバイオマーカーは存在しない。

本研究で我々は、臨床上心筋虚血が示唆され、緊急冠動脈造影にて有意狭窄を認めたが、入院時TnTは陰性である不安定狭心症群（グループ1）において、血清NRDcが有意に上昇していることを示した。さらに、入院時のH-FABP陽性率と比較しても血清 NRDc は高い陽性率を示しており、血清 NRDc が TnT で検出できない微少心筋障害を検出している可能性、あるいは心筋虚血の鋭敏なマーカーである可能性が示唆された。以上から、NRDc の ACS の超早期診断バイオマーカーとしての有用性、ACS予知マーカーとなる可能性が示唆された。

E．結論

今回の解析結果から、血清NRDcがトロポニンTやCK-MBが陰性であるACS発症後超早期より有意に上昇していることが明らかになった。今後長浜コホートとの提携にて約10000例の後ろ向きコホート試験を行い、ACS発症前にNRDcが上昇しているかどうかを検討し、予知能の検討を行う。

F．研究発表

1．論文発表

1. Abe M, Morimoto T, Akao M, Furukawa Y, Nakagawa Y, Shizuta S, Ehara N, Taniguchi R, Doi T, Nishiyama K, Ozasa N, Saito N, Hoshino K, Mitsuoka H, Toma M, Tamura T, Haruna Y, Kita T, Kimura T. Relation of contrast-induced nephropathy to long-term mortality after percutaneous coronary intervention. Am J Cardiol 2014;114:362-368.
2. Ashida N, Kishihata M, Tien DN, Kamei K, Kimura T, Yokode M. Aspirin

augments the expression of Adenomatous Polyposis Coli protein by suppression of IKKβ. Biochem Biophys Res Commun 2014;446:460-464.

3. Campos CM, van Klaveren D, Iqbal J, Onuma Y, Zhang Y-, Garcia-Garcia HM, Morel M-, Farooq V, Shiomi H, Furukawa Y, Nakagawa Y, Kadota K, Lemos PA, Kimura T, Steyerberg EW, Serruys PW. Predictive performance of SYNTAX score II in patients with left main and multivessel coronary artery disease - Analysis of CREDO-Kyoto registry. Circulation Journal 2014;78:1942-1949.
4. Goto K, Nakai K, Shizuta S, Morimoto T, Shiomi H, Natsuaki M, Yahata M, Ota C, Ono K, Makiyama T, Nakagawa Y, Furukawa Y, Kadota K, Takatsu Y, Tamura T, Takizawa A, Inada T, Doi O, Nohara R, Matsuda M, Takeda T, Kato M, Shirotani M, Eizawa H, Ishii K, Lee J-, Takahashi M, Horie M, Takahashi M, Miki S, Aoyama T, Suwa S, Hamasaki S, Ogawa H, Mitsudo K, Nobuyoshi M, Kita T, Kimura T. Anticoagulant and antiplatelet therapy in patients with atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention. Am J Cardiol 2014;114:70-78.
5. Hanazawa K, Kaitani K, Hayama Y, Onishi N, Tamaki Y, Miyake M, Kondo H, Tamura T, Izumi C, Shizuta S, Kimura T, Nakagawa Y. Effect of radiofrequency catheter ablation of persistent atrial fibrillation on the left atrial function: Assessment by 320-row multislice computed tomography. Int J Cardiol 2015;179:449-454.
6. Hattori N, Nomoto M, Kimura T, Kikuchi S, Enomoto H, Yoshizawa K, Tamaoka A, Hatano T, Murata M, Hasegawa K, Tanaka K, Arahata Y, Kanda F, Kashihara K, Yamamoto M, Nishikawa N, Tsuboi Y, Ohya Y. Sustained efficacy of apomorphine in Japanese patients with advanced Parkinson's disease. Parkinsonism and Related Disorders 2014;20:819-823.
7. Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Nakao T, Nishiga M, Usami S, Izuhara M, Nakazeki F, Ide Y, Koyama S, Sowa N, Yahagi N, Shimano H, Nakamura T, Hasegawa K, Kume N, Yokode M, Kita T, Kimura T, Ono K. MicroRNA-33b knock-in mice for an intron of sterol regulatory element-binding factor 1 (Srebf1) exhibit reduced HDL-C in vivo. Scientific Reports 2014;4.
8. Imai M, Kimura T, Morimoto T, Saito N, Shiomi H, Kawaguchi R, Kan H, Mukawa H, Fujita H, Ishise T, Hayashi F, Nagao K, Take S, Taniguchi H, Sakamoto H, Yamane T, Shirota K, Tamekiyo H, Okamura T, Kishi K, Miyazaki S, Yamamoto S, Yamaji K, Kawasaki T, Taguchi E, Nakajima H, Kosedo I, Tada T, Kadota K, Mitsudo K. Impact of angiographic peri-stent contrast staining (PSS) on late adverse events after sirolimus-eluting stent implantation: An observation from the multicenter j-Cypher registry PSS substudy. Cardiovascular Intervention and Therapeutics 2014;29:226-236.
9. Ioroi T, Akao M, Iguchi M, Kato M, Kimura T, Izumi Y, Akaike A, Kume T. Serofendic acid protects against

myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. Journal of Pharmacological Sciences 2014;126:274-280.
10. Isshiki T, Kimura T, Ogawa H, Yokoi H, Nanto S, Takayama M, Kitagawa K, Nishikawa M, Miyazaki S, Ikeda Y, Nakamura M, Saito S. Prasugrel, a Third-Generation P2Y12 receptor antagonist, in patients with coronary artery disease undergoing elective percutaneous coronary Intervention: Phase III, randomized, double-blind study. Circulation Journal 2014;78:2926-2934.
11. Kato M, Kimura T, Kimura T, Hara T. Safety and effectiveness of controlled-release paroxetine in routine clinical practice: results of a postmarketing surveillance study of patients with depression. Neuropsychiatric Disease and Treatment 2015;11:435-452.
12. Kawaji T, Shiomi H, Morimoto T, Tamura T, Nishikawa R, Yano M, Tazaki J, Imai M, Saito N, Makiyama T, Shizuta S, Ono K, Kimura T. Long-term efficacy and safety outcomes after unrestricted use of drug-eluting stents in patients with acute coronary syndrome - Mortality and major bleeding in a single-center registry. Circulation Journal 2014;78:1628-1635.
13. Kawaji T, Shiomi H, Morimoto T, Tazaki J, Imai M, Saito N, Makiyama T, Shizuta S, Ono K, Kimura T. Clinical impact of left ventricular outflow tract obstruction in takotsubo cardiomyopathy. Circulation Journal 2015;79:839-846.
14. Kawase Y, Saito N, Watanabe S, Bao B, Yamamoto E, Watanabe H, Higami H, Matsuo H, Ueno K, Kimura T. Utility of a scoring balloon for a severely calcified lesion: Bench test and finite element analysis. Cardiovascular Intervention and Therapeutics 2014;29:134-139.
15. Kimura T, Shiomi H, Kuribayashi S, Isshiki T, Kanazawa S, Ito H, Ikeda S, Forrest B, Zarins CK, Hlatky MA, Norgaard BL. Cost analysis of non-invasive fractional flow reserve derived from coronary computed tomographic angiography in Japan. Cardiovascular Intervention and Therapeutics 2014;30:38-44.
16. Ko E, Natsuaki M, Toyofuku M, Morimoto T, Matsumura Y, Oi M, Motohashi Y, Takahashi K, Kawase Y, Tanaka M, Kitada M, Yuzuki Y, Tamura T, Inoue K, Mitsudo K, Kimura T. Sirolimus-eluting stent implantation for ostial right coronary artery lesions: Five-year outcomes from the j-Cypher registry. Cardiovascular Intervention and Therapeutics 2014;29:200-208.
17. Kubo T, Akasaka T, Kozuma K, Kimura K, Fusazaki T, Okura H, Shinke T, Ino Y, Hasegawa T, Takashima H, Takamisawa I, Yamaguchi H, Igarashi K, Kadota K, Tanabe K, Nakagawa Y, Muramatsu T, Morino Y, Kimura T. Vascular response to drug-eluting stent with biodegradable vs. durable polymer - Optical coherence tomography substudy of the next. Circulation Journal 2014;78:2408-2414.
18. Kuwabara Y, Horie T, Baba O, Watanabe S, Nishiga M, Usami S, Izuhara M, Nakao T, Nishino T, Otsu K, Kita T,

Kimura T, Ono K. MicroRNA-451 exacerbates lipotoxicity in cardiac myocytes and high-fat diet-induced cardiac hypertrophy in mice through suppression of the LKB1/AMPK pathway. Circ Res 2015;116:279-288.

19. Marui A, Kimura T, Nishiwaki N, Mitsudo K, Komiya T, Hanyu M, Shiomi H, Tanaka S, Sakata R. Percutaneous coronary intervention versus coronary artery bypass grafting in patients with end-stage renal disease requiring dialysis (5-year outcomes of the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2). Am J Cardiol 2014;114:555-561.
20. Marui A, Kimura T, Nishiwaki N, Mitsudo K, Komiya T, Hanyu M, Shiomi H, Tanaka S, Sakata R. Comparison of five-year outcomes of coronary artery bypass grafting versus percutaneous coronary intervention in patients with left ventricular ejection fractions≤50% versus >50% (from the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2). Am J Cardiol 2014;114:988-996.
21. Nagao K, Sowa N, Inoue K, Tokunaga M, Fukuchi K, Uchiyama K, Ito H, Hayashi F, Makita T, Inada T, Tanaka M, Kimura T, Ono K. Myocardial expression level of neural cell adhesion molecule correlates with reduced left ventricular function in human cardiomyopathy. Circulation: Heart Failure 2014;7:351-358.
22. Nakamura M, Yamagishi M, Ueno T, Hara K, Ishiwata S, Itoh T, Hamanaka I, Wakatsuki T, Sugano T, Kawai K, Akasaka T, Tanaka N, Kimura T. Prevalence of visual–functional mismatch regarding coronary artery stenosis in the CVIT-DEFER registry. Cardiovascular Intervention and Therapeutics 2014;29:300-308.
23. Nakamura M, Yamagishi M, Ueno T, Hara K, Ishiwata S, Itoh T, Hamanaka I, Wakatsuki T, Sugano T, Kawai K, Akasaka T, Tanaka N, Kimura T. Modification of treatment strategy after FFR measurement: CVIT-DEFER registry. Cardiovascular Intervention and Therapeutics 2014;30:12-21.
24. Natsuaki M, Morimoto T, Furukawa Y, Nakagawa Y, Kadota K, Yamaji K, Ando K, Shizuta S, Shiomi H, Tada T, Tazaki J, Kato Y, Hayano M, Abe M, Tamura T, Shirotani M, Miki S, Matsuda M, Takahashi M, Ishii K, Tanaka M, Aoyama T, Doi O, Hattori R, Kato M, Suwa S, Takizawa A, Takatsu Y, Shinoda E, Eizawa H, Takeda T, Lee J-, Inoko M, Ogawa H, Hamasaki S, Horie M, Nohara R, Kambara H, Fujiwara H, Mitsudo K, Nobuyoshi M, Kita T, Kimura T. Late adverse events after implantation of sirolimus-eluting stent and bare-metal stent long-term (5-7 years) follow-up of the coronary revascularization demonstrating outcome study-kyoto registry cohort-2. Circulation: Cardiovascular Interventions 2014;7:168-179.
25. Natsuaki M, Morimoto T, Furukawa Y, Shiomi H, Ono K, Kimura T. Effect of statin therapy on cardiovascular outcomes after coronary revascularization in patients ≥80 years of age: Observations from the

CREDO-Kyoto Registry Cohort-2. Atherosclerosis 2014;237:821-828.
26. Ohki T, Yokoi H, Kichikawa K, Kimura T, Snyder SA, Ragheb AO, O'Leary EE, Jaff MR, Ansel GM, Dake MD. Two-year analysis of the Japanese cohort from the Zilver PTX randomized controlled trial supports the validity of multinational clinical trials. Journal of Endovascular Therapy 2014;21:644-653.
27. Ohno M, Hiraoka Y, Lichtenthaler SF, Nishi K, Saijo S, Matsuoka T, Tomimoto H, Araki W, Takahashi R, Kita T, Kimura T, Nishi E. Nardilysin prevents amyloid plaque formation by enhancing α-secretase activity in an Alzheimer's disease mouse model. Neurobiol Aging 2014;35:213-222.
28. Oshita K, Itoh M, Hirashima S, Kuwabara Y, Ishihara K, Kuwahara K, Nakao K, Kimura T, Nakamura K-, Ushijima K, Takano M. Ectopic automaticity induced in ventricular myocytes by transgenic overexpression of HCN2. J Mol Cell Cardiol 2015;80:81-89.
29. Ruwald MH, Okumura K, Kimura T, Aonuma K, Shoda M, Kutyifa V, Ruwald A-H, McNitt S, Zareba W, Moss AJ. Syncope in High-Risk Cardiomyopathy Patients with Implantable Defibrillators: Frequency, Risk Factors, Mechanisms, and Association with Mortality: Results from the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial-Reduce Inappropriate Therapy (MADIT-RIT) Study. Circulation 2014;129:545-552.
30. Saito S, Isshiki T, Kimura T, Ogawa H, Yokoi H, Nanto S, Takayama M, Kitagawa K, Nishikawa M, Miyazaki S, Nakamura M. Efficacy and safety of adjusted-dose prasugrel compared with clopidogrel in Japanese patients with acute coronary syndrome - The PRASFIT-ACS study -. Circulation Journal 2014;78:1684-1692.
31. Sasaki N, Kunisawa S, Otsubo T, Ikai H, Fushimi K, Yasumura Y, Kimura T, Imanaka Y. The relationship between the number of cardiologists and clinical practice patterns in acute heart failure: A cross-sectional observational study. BMJ Open 2014;4.
32. Shiomi H, Kozuma K, Morimoto T, Igarashi K, Kadota K, Tanabe K, Morino Y, Akasaka T, Abe M, Suwa S, Muramatsu T, Kobayashi M, Dai K, Nakao K, Uematsu M, Tarutani Y, Fujii K, Simonton CA, Kimura T. Long-term clinical outcomes after everolimus- and sirolimus-eluting coronary stent implantation: Final 3-year follow-up of the randomized evaluation of sirolimus-eluting versus everolimus-eluting stent trial. Circulation: Cardiovascular Interventions 2014;7:343-354.
33. Shiomi H, Morimoto T, Makiyama T, Ono K, Furukawa Y, Nakagawa Y, Kadota K, Onodera T, Takatsu Y, Mitsudo K, Kita T, Sakata R, Okabayashi H, Hanyu M, Komiya T, Yamazaki F, Nishiwaki N, Kimura T. Evolution in practice patterns and long-term outcomes of coronary revascularization from bare-metal stent era to drug-eluting stent era in Japan. Am J Cardiol 2014;113:1652-1659.

34. Suematsu Y, Miura S-, Zhang B, Uehara Y, Tokunaga M, Yonemoto N, Nonogi H, Nagao K, Kimura T, Saku K. Associations between the consumption of different kinds of seafood and out-of-hospital cardiac arrests of cardiac origin in Japan. IJC Heart and Vessels 2014;2:8-14.
35. Taniguchi T, Shiomi H, Toyota T, Morimoto T, Akao M, Nakatsuma K, Ono K, Makiyama T, Shizuta S, Furukawa Y, Nakagawa Y, Ando K, Kadota K, Horie M, Kimura T. Effect of preinfarction angina pectoris on long-term survival in patients with ST-segment elevation myocardial infarction who underwent primary percutaneous coronary intervention. Am J Cardiol 2014;114:1179-1186.
36. Tazaki J, Morimoto T, Sakata R, Okabayashi H, Yamazaki F, Nishiwaki N, Mitsudo K, Kimura T. Impact of statin therapy on patients with coronary heart disease and aortic aneurysm or dissection. Journal of Vascular Surgery 2014;60:604-612.e2.
37. Tien DN, Kishihata M, Yoshikawa A, Hashimoto A, Sabe H, Nishi E, Kamei K, Arai H, Kita T, Kimura T, Yokode M, Ashida N. AMAP1 as a negative-feedback regulator of nuclear factor-κB under inflammatory conditions. Scientific Reports 2014;4.
38. Tokushige A, Shiomi H, Morimoto T, Ono K, Furukawa Y, Nakagawa Y, Kadota K, Ando K, Shizuta S, Tada T, Tazaki J, Kato Y, Hayano M, Abe M, Hamasaki S, Ohishi M, Nakashima H, Mitsudo K, Nobuyoshi M, Kita T, Imoto Y, Sakata R, Okabayashi H, Hanyu M, Shimamoto M, Nishiwaki N, Komiya T, Kimura T. Incidence and outcome of surgical procedures after coronary artery bypass grafting compared with those after percutaneous coronary intervention: A report from the coronary revascularization demonstrating outcome study in Kyoto PCI/CABG registry cohort-2. Circulation: Cardiovascular Interventions 2014;7:482-491.
39. Tsutsumi N, Kimura T, Arita K, Ariyoshi M, Ohnishi H, Yamamoto T, Zuo X, Maenaka K, Park EY, Kondo N, Shirakawa M, Tochio H, Kato Z. The structural basis for receptor recognition of human interleukin-18. Nature Communications 2014;5.
40. Watanabe S, Horie T, Nagao K, Kuwabara Y, Baba O, Nishi H, Sowa N, Narazaki M, Matsuda T, Takemura G, Wada H, Hasegawa K, Kimura T, Ono K. Cardiac-specific inhibition of kinase activity in calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase-β leads to accelerated left ventricular remodeling and heart failure after transverse aortic constriction in mice. PLoS ONE 2014;9.
41. Yamada S, Nakamura J, Asada M, Takase M, Matsusaka T, Iguchi T, Yamada R, Tanaka M, Higashi AY, Okuda T, Asada N, Fukatsu A, Kawachi H, Graf D, Muso E, Kita T, Kimura T, Pastan I, Economides AN, Yanagita M. Twisted gastrulation, a bmp antagonist, exacerbates podocyte injury. PLoS ONE 2014;9.

42. Yamada Y, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kuwabara Y, Minami T, Yamada C, Shibata J, Nakao K, Cho K, Arai Y, Yasuno S, Nishikimi T, Ueshima K, Kamakura S, Nishida M, Kiyonaka S, Mori Y, Kimura T, Kangawa K, Nakao K. Inhibition of N-type Ca2+ channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure. Cardiovasc Res 2014;104:183-193.
43. Yamaji K, Kubo S, Inoue K, Kadota K, Kuramitsu S, Shirai S, Ando K, Nobuyoshi M, Mitsudo K, Kimura T. Association of localized hypersensitivity and in-stent neoatherosclerosis with the very late drug-eluting stent thrombosis. PLoS ONE 2014;9.
44. Zaid M, Fujiyoshi A, Miura K, Abbott RD, Okamura T, Takashima N, Torii S, Saito Y, Hisamatsu T, Miyagawa N, Ohkubo T, Kadota A, Sekikawa A, Maegawa H, Nakamura Y, Mitsunami K, Ueshima H, Horie M, Nakano Y, Yamamoto T, Ogawa E, Miyazawa I, Murata K, Nozaki K, Shiino A, Araki I, Tsuru T, Toyama I, Ogita H, Kurita S, Maeda T, Miyamatsu N, Kita T, Kimura T, Nishio Y, Barinas-Mitchell EJM, Edmundowicz D, Hozawa A, Okuda N, Higashiyama A, Nagasawa S, Kita Y, Kadowaki T, Kadowaki S, Murakami Y, Ohno S. High-density lipoprotein particle concentration and subclinical atherosclerosis of the carotid arteries in Japanese men. Atherosclerosis 2015;239:444-450.

G．知的所有権の取得状況

１．特許取得

該当なし

２．実用新案登録

該当なし

３．その他

該当なし

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）
分担研究報告書

血中自己抗体検出と新規炎症マーカーを用いた急性冠症候群予知因子および治療標的の探索
—動脈硬化関連疾患自己抗体マーカーのACS症例における定量評価—

研究分担者：日和佐 隆樹（千葉大学大学院医学研究院 遺伝子生化学 准教授）

研究要旨

我々はこれまで動脈硬化に関係する血清自己抗体マーカーを探索した結果、そのうちのいくつかは急性冠症候群（ACS）にも関連することが判明した。そこで本研究において、新たにプロテインアレイ法による一次スクリーニングを行ない、約70種類の候補マーカーを同定した。これらの精製タンパク質、または合成ペプチドを抗原として、血清抗体レベルをAlphaLISA法により測定し、二次、及び三次スクリーニングの選別を行なった。その結果、ACS患者検体における3種類の抗原に対する抗体レベルは健常者検体のみならず、疾患対照検体と比較しても有意に高かった。これらの自己抗体レベルを測定することによりACSの発症を予測できる可能性が示唆された。

A．研究目的

ACSは発症前に予知することが最も重要である。しかしながら、発症前の患者検体を入手することは極めて困難であり、発症後の検体を調べてもそのほとんどは結果を見ているに過ぎない。その意味において、発症直後に特異的に出現する抗体は、発症が原因となって出現したとは考えられず、発症前から存在していたと推定される。即ち、そのような抗体は発症予測マーカーとなり得る。そこで、ACSの発症直後の検体に特異的に出現する抗体を同定し、予知マーカーとなり得るかどうかを検証する。

前年度の一次スクリーニングとして施行されたプロトアレイ解析において、約70種類の候補抗原が選別された。そこでこれらの中に有用マーカーが含まれているかどうかを二次、及び三次スクリーニングによって調べた。

B．研究方法

二次スクリーニング用の抗原として用いるために、市販品のタンパク質抗原33種類を入手した。また、独自にサイトカイン類11種類を精製した。ペプチド抗原は49種類の抗原タンパク質のエピトープ部位として95種類を設計し、その未精製品を用いた。

それらの抗原に対する血清抗体レベルをAlphaLISA法により調べた。タンパク質抗原は10μg/mlに希釈し、glutathione- ドナービーズ、またはNickel chelate- ドナービーズと抗ヒトIgG-アクセプタービーズを用いたAlpha (Amplified Luminescence Proximity Homogeneous Assay) LISA法により血清抗体レベルを解析した。ペプチド抗原は400 ng/mlに希釈し、Avidin- ドナービーズと抗ヒトIgG-アクセプタービーズを用いた。

血清検体はHDコントロールとして健康診断受信者（柏戸クリニック）96例、及び、ACS群として、京都大学附属病院のACS検体93例、及び、千葉大附属病院のAMI検体3例を用いた。

三次スクリーニングとして、二次スクリーニングで選別されたタンパク質10種類、及びペプチド7種類、動脈硬化関連マーカーである抗原ペプ

チド 3 種類、さらにサイトカイン 23 種類、プロテアーゼ類 6 種類、合わせて 49 種類の抗原を用いて同様に血清抗体レベルを AlphaLISA 法により調べた。用いた血清検体は、健常者検体 192 例、ACS 患者検体 380 例、疾患対照検体 196 例であった。

（倫理面への配慮）

急性冠症候群、及びその関連疾患の患者血清を用いる研究については、「動脈硬化関連疾患のバイオマーカーの開発」（実施責任者：日和佐隆樹）の課題名で千葉大学大学院医学研究院倫理委員会に申請し、平成 22 年 3 月 30 日に承認を受け、さらにその修正版が平成 27 年 2 月 20 日付けで承認されている（承認番号：千大医総第 110 号）。その申請書の記載に従って使用している。協力病院はそれぞれの倫理審査委員会の承認を得ている。検体はインフォームドコンセントを得て採取している。

C．研究結果

二次スクリーニングの結果、プロトアレイ選別マーカーのうち、タンパク質抗原 8 種類、及びペプチド抗原 5 種類に対する血清抗体レベルは ACS 患者検体において健常者検体よりも有意に高かった。ペプチド抗原 5 種類のうち、3 種類はタンパク質抗原で有意差を示したものと共通しており、この 3 種類（PIK、GDN、SEL）は有用マーカーであると考えられた。これらの精製品の供給を理化学研究所に依頼した。

その他、サイトカイン類 4 種類に対する抗体レベルも ACS 患者検体において高かった。

上記の二次スクリーニングにおいて選別された抗原についてさらに別の検体セットを用いてバリデーションテストを行なった。ペプチドは精製品を用いた。さらに ACS に影響を及ぼす可能性のあるサイトカインやプロテアーゼ類についても調べた。その結果、タンパク質抗原 5 種類、ペプチド抗原 3 種類について、健常者検体、及び疾患対照検体に比べ、ACS 患者検体は有意に高いレベルを示した。この中には NRD も含まれていた。これら 8 種類が現時点での最有力マーカーである。

一方で、前回の ACS 患者検体 6 例を用いたプロトアレイの結果をもとに、今回、別の健常者検体 5 例を解析し、両者の比較により新たに 17 種類の候補抗原を同定した。

D．考察

二次スクリーニングで選別された抗原タンパク質のうち 3 種類、及び三次スクリーニングで選別された抗原のうち 2 種類は Akt を介するシグナル伝達経路に関係するタンパク質であった。このシグナル経路が心筋細胞のアポトーシスを抑制するという既報に関係すると推定される。

NRD は抗原だけでなく抗体レベルも ACS マーカーとして有用であると考えられた。

最初のプロトアレイ法により選別された候補マーカーのうち、現段階までに有用マーカーとして残ったのは 2 種類である。それは当初の段階で特異マーカーとして選別されたものが少なかったためと思われる。そこで、今回、別の健常者検体のプロトアレイ解析を行ない、前回の ACS 患者検体の結果と比較し、新たに 17 抗原を同定した。これらの中により有用なマーカーが含まれていると期待される。

ACS はさまざまな要因により発症すると考えられており、それぞれの要因によって対応するマーカーが異なることもあり得る。従って、詳細で正確な診断のためには、より多くのマーカーを同定することが必要である。

E．結論

現段階において選別された 3 種類の有用マーカーは ACS の発症予測に適用できると推定された。

F．研究発表

1．論文発表

1. Adachi-Hayama, M., Adachi, A., Shinozaki,