

Acknowledgments

We are grateful to the editor and two anonymous reviewers for comments and suggestions which have led to improvement in this paper.

References

- Agresti, A., 1983. A simple diagonals-parameter symmetry and quasi-symmetry model. *Statist. Probab. Lett.* 1, 313–316.
- Azzalini, A., Dalla Valle, A., 1996. The multivariate skew-normal distribution. *Biometrika* 83, 715–726.
- Baghfalaki, T., Ganjali, M., 2011. An EM estimation approach for analyzing bivariate skew normal data with non monotone missing values. *Comm. Statist. Theory Methods* 40, 1671–1686.
- Bishop, Y.M.M., Fienberg, S.E., Holland, P.W., 1975. *Discrete Multivariate Analysis: Theory and Practice*. The MIT Press, Cambridge.
- Bowker, A.H., 1948. A test for symmetry in contingency tables. *J. Amer. Statist. Assoc.* 43, 572–574.
- Tahata, K., Tomizawa, S., 2010. Double linear diagonals-parameter symmetry and decomposition of double symmetry for square tables. *Stat. Methods Appl.* 19, 307–318.
- Tahata, K., Yamamoto, K., Tomizawa, S., 2009. Normal distribution type symmetry model for square contingency tables with ordered categories. *Open Statist. Probab. J.* 1, 32–37.
- Tomizawa, S., 1991. An extended linear diagonals-parameter symmetry model for square contingency tables with ordered categories. *Metron* 49, 401–409.
- Tomizawa, S., Miyamoto, N., Iwamoto, M., 2006. Linear column-parameter symmetry model for square contingency tables: application to decayed teeth data. *Biom. Lett.* 43, 91–98.
- Yamamoto, H., Iwashita, T., Tomizawa, S., 2007. Decomposition of symmetry into ordinal quasi-symmetry and marginal equipoment for multi-way tables. *Austral. J. Statist.* 36, 291–306.
- Yamamoto, K., Kurakami, H., Iwashita, T., Tomizawa, S., 2008. Contaminated normal type symmetry model and decomposition of symmetry for square contingency tables. *J. Stat. Theory Pract.* 2, 651–661.



解説

エリスロポエチンと心血管老化*

肥後修一朗** 南野哲男***

Key Words: erythropoietin (EPO), ischemic heart disease (IHD), myocardial infarction (MI), angiogenesis

高齢化社会における心血管疾患

加齢は動脈硬化進展における大きな要因の一つであり, 冠動脈硬化の進展に伴う虚血性心疾患は, 現在の急速な高齢化社会において克服すべき重要な課題である。急性心筋梗塞は, 冠動脈の閉塞, 心筋の壊死に伴うポンプ不全から心不全をきたす致死性の疾患である。近年, 冠動脈閉塞における病態生理の理解が進み, 冠動脈閉塞を対象とした再灌流療法の確立によって死亡率は大きく減少した¹⁾。特に経皮的血管形成術(PCI)および冠動脈ステント術により途絶した血流を再灌流させる治療法の発展は, 急性心筋梗塞による死亡率の減少に大きく貢献した²⁾³⁾。そ

の一方, 急性期死亡率の改善に伴う梗塞後心不全症例が増加していることは大きな問題である(図1)⁴⁾。本邦においても院内死亡率が改善する反面, 心筋梗塞の発症数が増加傾向にあることから(図2)⁵⁾, 急性期治療のあとに生じる梗塞後心不全に対する予防法の確立は, 昨今の高齢化社会における喫緊の課題である。心筋梗塞に伴う左室機能の低下を予防するためには, 早期の再灌流療法により虚血に伴う傷害をいかに軽減するか, また, その一方で梗塞に伴う心不全の進行をいかに防ぐかが肝要である。

エリスロポエチンが心血管系に及ぼす作用

エリスロポエチンは腎臓において低酸素応答性に産生されるサイトカインであり, 細胞膜表面に存在する受容体に結合し, その後の細胞内シグナル伝達を介して生理活性を発揮する⁶⁾。エリスロポエチンは赤血球前駆細胞の細胞死を抑制する一方で, これら細胞の増殖や分化成熟を促進する作用を持つ⁷⁾ことから, リコンビナント蛋白質として慢性腎臓病における腎性貧血症例において臨床的に広く用いられる。エリスロポエチンは古くから血球系へ作用を及ぼすホルモンとして認識されてきたが, 血球細胞以外の多くの細胞にその受容体が発現していることが明らかとなり, 外因的に投与するエリスロポエチ

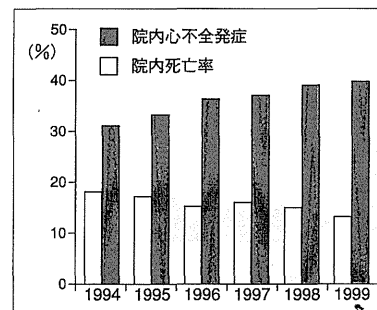


図1 梗塞後心不全の増加(文献⁴⁾より引用改変)

* Erythropoietin and cardiovascular aging.

** Shuichiro HIGO, M.D., Ph.D.: 大阪大学大学院医学系研究科先進心血管治療学(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2); Department of Advanced Cardiovascular Therapeutics, Graduate School of Medicine, Osaka University, Suita, Osaka 565-0871, JAPAN

*** Tetsuo MINAMINO, M.D., Ph.D.: 大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学

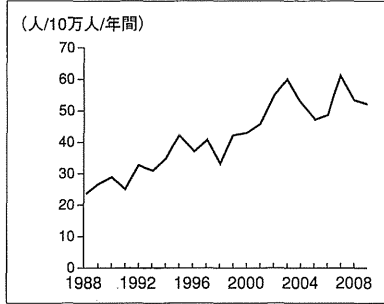


図2 心筋梗塞患者(郊外部)の増加
(文献²⁾より引用改変)

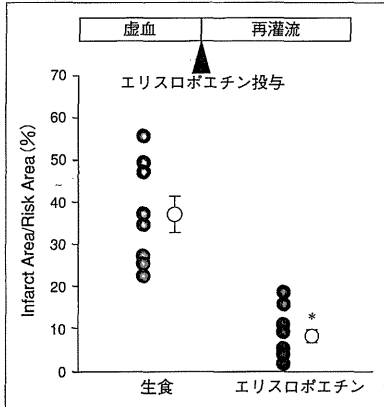


図3 虚血再灌流傷害に対するエリスロポエチンの効果
*P<0.05 (文献²⁰⁾より引用改変)

ンがほかの臓器に及ぼす影響について、多くの実験的検証が行われてきた⁹⁾。特に低酸素、虚血障害に対する効果を検証した報告は多く、局所脳虚血による脳梗塞領域の減少、虚血再灌流障害による腎障害の抑制、消化管や網膜疾患における虚血障害の予防効果が明らかとなっている⁹⁾。ラット心臓組織を用いた免疫染色により、エリスロポエチン受容体が内皮細胞や線維芽細胞を中心とした間質、および心筋細胞そのものに発現していることが明らかとなり¹⁰⁾、ヒトの心臓組織においても、心室心筋組織、内皮細胞においてその発現が確認されている¹¹⁾。このため、特に虚血・低酸素環境下において誘導される血管内

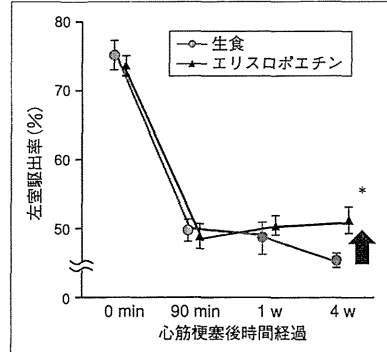


図4 心筋梗塞後慢性期心機能に対するエリスロポエチンの効果
*P<0.05 (文献²²⁾より引用改変)

皮細胞障害、心筋細胞障害に対するエリスロポエチン投与の効果について、多くの検証がなされている。

エリスロポエチンは、培養血管内皮細胞における低酸素誘導性の細胞死を抑制し、その効果は細胞内の増殖・抗細胞死経路であるPI3K/Aktの活性化を介する¹²⁾。内皮障害、動脈硬化、虚血による線維化をきたすラット腎臓摘出モデルにおいても、エリスロポエチンは臓器障害の抑制効果を示し、内皮細胞における持続的なAktの活性化が確認されている¹³⁾。さらに、エリスロポエチンは血管内皮前駆細胞(EPC)を末梢臓器へ動員する作用を持ち、冠動脈疾患患者の血中のエリスロポエチンは末梢血中のEPC数と有意に相関することが明らかとなっている¹⁴⁾。この作用は動物モデルでも証明されており、ラット心筋梗塞モデルにおいてエリスロポエチン投与は心筋虚血領域へのEPC動員を促進し心機能を改善させるだけでなく、血管新生作用も示した¹⁵⁾。血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の発現はエリスロポエチン受容体の活性化を介して促進されることが明らかとなり¹⁶⁾、これらの総合的な作用がエリスロポエチンによる血管新生効果へつながっていると考えられる。

一方で、虚血状態における心筋細胞障害に対するエリスロポエチンの保護効果も、多くの実験的検証により明らかとなっている。ラット摘

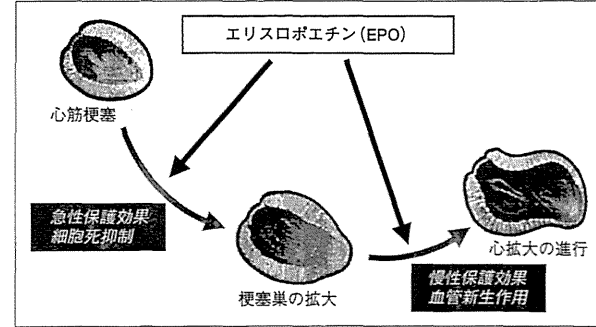


図5 エリスロポエチンの心筋保護効果(文献⁹⁾より引用改変)

出心モデルにおいて、エリスロポエチンの投与は虚血再灌流障害後の心機能改善を促進した¹⁷⁾。ウサギ心筋梗塞モデルにおいて、エリスロポエチン投与は末梢血中のヘマトクリット値に影響を与えずに梗塞後の心機能改善効果を示し、心臓組織での細胞死を抑制した¹⁸⁾。エリスロポエチン投与後の組織においてAktの活性化が認められ、組織への酸素の運搬を介さない直接の効果が示唆されている。ラット摘出心虚血再灌流モデルにおいて、エリスロポエチンの持つ心機能改善効果はPI3K特異的阻害剤により完全に消失したことから、PI3K/Akt活性化経路が心機能改善に直接関与することが実験的に証明された¹⁹⁾。細胞死抑制効果以外にも、虚血再灌流障害に伴う炎症反応の抑制、Na⁺/K⁺交換系に対する作用、心房ナトリウム利尿ペプチドの産生増加の報告もあり⁹⁾、これら血管内皮細胞、心筋細胞に対する作用が、総じてエリスロポエチンによる心筋保護効果につながっていると考えられる。

心筋梗塞薬物治療としてのエリスロポエチンの可能性

心筋梗塞に対する心筋保護を目的に多々の薬物や細胞治療を用いた臨床試験が行われてきた。造血幹細胞による心筋再生を目的とした骨髓細胞移植についても多くの臨床試験が行われ、その効果は明らかとなっているものの²⁰⁾、安全性の問題、投与方法の問題など解決すべき課題が多い。このような状況のなかで、安全性、より現

実的な臨床応用性を兼ね備えた薬物治療の開発が待たれている。エリスロポエチンは、上述のとおりさまざまな細胞内シグナルを介した心血管保護作用を持つことから、臨床的にも心筋梗塞サイズ縮小ならびに慢性期心不全発症抑制効果を有することが期待される。われわれは、ヒトへの応用を目的とし、大動物モデルを用いてエリスロポエチンの心筋保護効果を検証した。麻酔開胸犬を用いた虚血再灌流による心筋梗塞モデルにおいて、再灌流直前に静脈内単回投与したエリスロポエチンは心筋梗塞サイズを縮小し、この効果はPI3K阻害剤において抑制された(図3)²¹⁾。また、麻酔開胸犬を用いた冠動脈完全閉塞による心筋梗塞モデルでは再灌流直後の投与のみならず、6時間後のエリスロポエチン投与によっても慢性期における左室駆出率が改善した(図4)²²⁾。エリスロポエチン投与群では毛細血管数の増加を認め、虚血領域への血流量が増大するため、慢性期における心臓リモデリング抑制効果を呈した可能性が示された。以上より、梗塞後の時期特異的にエリスロポエチンが作用している可能性が示唆される。すなわち、急性期ではエリスロポエチンはアポトーシス抑制効果により心筋梗塞サイズを低下させ、慢性期では血管新生促進効果を介して虚血領域への血流量を増大させるため、慢性期心臓リモデリングを抑制した可能性が示された(図5)。興味深いことに、エリスロポエチンによる心筋保護効果は用量依存的でなく、至適用量が存在する可能

表1 エリスロポエチンを用いたこれまでの大規模臨床試験

試験名	発表年	症例数	EPO用量	一次評価項目	結果	心血管イベント
REVIVAL-3	2009	138例	33,333 IU×3 (0, 24, 48 h)	LV EF	No change	Increase (not significant)
HEBE-III	2010	448例	60,000 IU	Infarction size	No change	Decrease (significant)
REVEAL	2011	210例	60,000 IU	Infarction size	No change	Increase (not significant)
EPOC-AMI	2010	35例	6,000 IU×3 (day 0, 2, 4)	LV EF	Improve	No change
EPO-AMI-I	2010	41例	12,000 IU	LV EF	Improve	No change

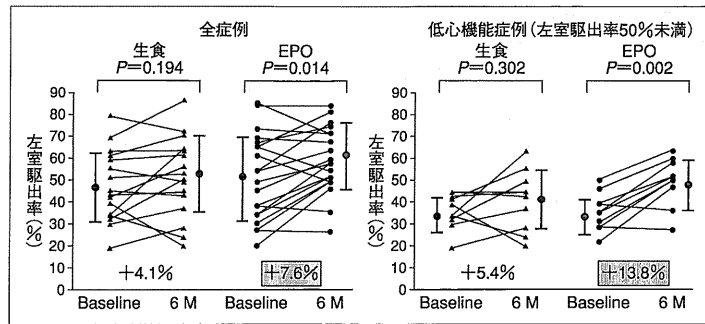


図6 EPO-AMI-I試験における心機能改善効果(文献²⁷⁾より引用改変)

性が示唆されている²³⁾。その理由としては、エリスロポエチンの投与量が過剰である場合、赤血球造血を誘導し血液粘度の上昇をきたすこと、トロンボポエチン受容体にも親和性があることから血小板の活性化をきたし血栓性が増加することなどが想定されている。

エリスロポエチンを用いた臨床試験

これまでのさまざまな検証において、動物実験レベルにおけるエリスロポエチンの有用性は明らかである一方で、海外で行われた大規模臨床試験の結果は効果があると結論するもの、効果がないと結論するものが混在し、必ずしも期待されたものではなかった(表1)。大規模臨床試験であるREVIVAL-3²⁴⁾、HEBE-III²⁵⁾、REVEAL²⁶⁾はいずれもエリスロポエチン投与による心筋梗塞患者における心機能改善効果を検討したものであるが、心機能や梗塞サイズに明らかな改善を認めなかった。しかし一方で、わが国における低用量エリスロポエチンを用いた探索的臨床試験では有効性を示唆する結果が得られている。

Ozawaらは41例の急性心筋梗塞患者を対象に、再灌流療法成功直後にエリスロポエチン12,000単位の単回投与を行い、発症後6か月後における左室駆出率の有意な改善を認めた²⁷⁾。サブ解析において特に低左心機能(左室駆出率50%以下)を呈する患者群において、より有効であることを示す結果が得られている(図6)。

心筋梗塞患者に対する
エリスロポエチン投与による
心機能改善効果に関する研究-II

本邦における臨床試験の特徴は、欧米での試験と比較した場合、エリスロポエチンの投与量が少ないことである。これまでの動物実験の結果からエリスロポエチンの心筋保護効果には至適用量があると考えられる。また、高用量での使用は副作用の発現につながりうることから、比較的低用量のエリスロポエチンを用いることが心筋保護効果につながる可能性がある。このため、心筋梗塞治療における本薬剤の可能性についてさらに検証する必要があると考えられた

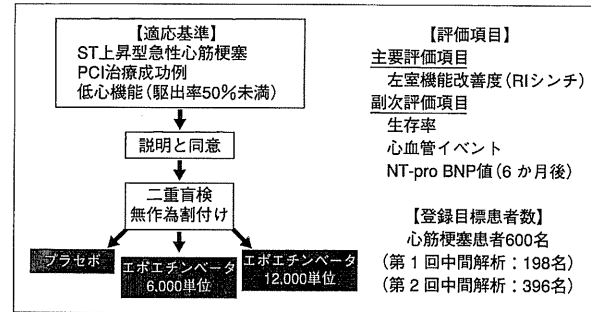


図7 EPO-AMI-II試験デザイン

ため、筆者らのグループは低用量のエリスロポエチンによる梗塞後心機能改善効果を検討する多施設共同のプラセボ対照二重盲検臨床試験を開始した²⁸⁾(図7)。対象は、20歳以上80歳以下の初回発症のST上昇型急性心筋梗塞で、発症から12時間以内に経皮的冠動脈形成術による再灌流に成功し、登録前の左室駆出率が50%未満の患者である。カテーテルによる再灌流療法成功後6時間以内に、試験薬エリスロポエチンベータ6,000単位、12,000単位またはプラセボを静脈内に単回投与し、左室駆出率の急性期から6か月後にかけての改善度を指標として評価する。本研究は、未承認・適応外医薬品を使用する先進的医療技術を保険診療と併用可能にする先進医療制度Bにのっとり行われ、承認申請に必要な科学的データの迅速な収集を行うことも目標としている。

おわりに

加齢に伴い進行する動脈硬化性疾患、特に虚血性心疾患の予防、治療は現代社会における大きな課題である。現存する治療法を基に疾患の治療を行っていくことだけでなく、既存の治療法が持つ生体内での生理活性、異なる臓器に対する作用、さらに分子生物学的な作用に根差した応用を試みることは、われわれ循環器内科医に課せられた重要な役割である。さらに、動物実験や臨床試験だけでなく、薬剤承認へ向けた道筋・方法論を確立していくことも、臨床家に課せられた使命と考えられる。本稿では老化に伴う心血管疾患におけるエリスロポエチンの可

能性について概説した。これらの試みが近い将来、心筋梗塞患者の予後、ADLの改善へとつながることを期待したい。

文献

- 1) The GUSTO investigators. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993; 329 : 673.
- 2) Cucherat M, Bonnefoy E, Tremeau G. Primary angioplasty versus intravenous thrombolysis for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2003 ;(3): CD001560.
- 3) Dixon SR, O'Neill WW. Interventions in acute myocardial infarction. *Curr Probl Cardio* 2001 ; 26 : 619.
- 4) Ezekowitz JA, Kaul P, Bakal JA, et al. Declining in-hospital mortality and increasing heart failure incidence in elderly patients with first myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009 ; 53 : 13.
- 5) Hao K, Yasuda S, Takii T, et al. Urbanization, life style changes and the incidence/ip-hospital mortality of acute myocardial infarction in Japan : report from the MIYAGI-AMI Registry Study. *Circ J* 2012 ; 76 : 1136.
- 6) Ratajczak J, Majka M, Kijowski J, et al. Biological significance of MAPK, AKT and JAK-STAT protein activation by various erythropoietic factors in normal human early erythroid cells. *Br J Haematol* 2001 ; 115 : 195.
- 7) Fisher JW. Erythropoietin : physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003 ; 228 : 1.

- 8) Henry DH, Bowers P, Romano MT, Provenzano R. Epoetin alfa. Clinical evolution of a pleiotropic cytokine. *Arch Intern Med* 2004 ; 164 : 262.
- 9) Lipsic E, Schoemaker RG, van der Meer P, et al. Protective effects of erythropoietin in cardiac ischemia : from bench to bedside. *J Am Coll Cardiol* 2006 ; 48 : 2161.
- 10) van der Meer P, Lipsic E, Henning RH, et al. Erythropoietin improves left ventricular function and coronary flow in an experimental model of ischemia-reperfusion injury. *Eur J Heart Fail* 2004 ; 6 : 853.
- 11) Depping R, Kawakami K, Ocker H, et al. Expression of the erythropoietin receptor in human heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005 ; 130 : 877.
- 12) Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K. Erythropoietin is a novel vascular protectant through activation of Akt1 and mitochondrial modulation of cysteine proteases. *Circulation* 2002 ; 106 : 2973.
- 13) Bahlmann FH, Song R, Boehm SM, et al. Low-dose therapy with the long-acting erythropoietin analogue darbepoetin alpha persistently activates endothelial Akt and attenuates progressive organ failure. *Circulation* 2004 ; 110 : 1006.
- 14) Heeschen C, Aicher A, Lehmann R, et al. Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization. *Blood* 2003 ; 102 : 1340.
- 15) Westenbrink BD, Oeseburg H, Kleijn L, et al. Erythropoietin stimulates normal endothelial progenitor cell-mediated endothelial turnover, but attributes to neovascularization only in the presence of local ischemia. *Cardiovasc Drugs Ther* 2008 ; 22 : 265.
- 16) Nakano M, Satoh K, Fukumoto Y, et al. Important role of erythropoietin receptor to promote VEGF expression and angiogenesis in peripheral ischemia in mice. *Circ Res* 2007 ; 100 : 662.
- 17) Cai Z, Manalo DJ, Wei G, et al. Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2003 ; 108 : 79.
- 18) Parsa CJ, Matsumoto A, Kim J, et al. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. *J Clin Invest* 2003 ; 112 : 999.
- 19) Cai Z, Semenza GL. Phosphatidylinositol-3-kinase signaling is required for erythropoietin-mediated acute protection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2004 ; 109 : 2050.
- 20) Jeevanantham V, Butler M, Saad A, et al. Adult bone marrow cell therapy improves survival and induces long-term improvement in cardiac parameters : a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2012 ; 126 : 551.
- 21) Hirata A, Minamino T, Asanuma H, et al. Erythropoietin just before reperfusion reduces both lethal arrhythmias and infarct size via the phosphatidylinositol-3 kinase-dependent pathway in canine hearts. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005 ; 19 : 33.
- 22) Hirata A, Minamino T, Asanuma H, et al. Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs. *J Am Coll Cardiol* 2006 ; 48 : 176.
- 23) Baker JE, Kozik D, Hsu AK, et al. Darbepoetin alfa protects the rat heart against infarction : dose-response, phase of action, and mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007 ; 49 : 337.
- 24) Ott I, Schulz S, Mehilli J, et al. Erythropoietin in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention : a randomized, double-blind trial. *Circ Cardiovasc Interv* 2010 ; 3 : 408.
- 25) Voors AA, Belonje AM, Zijlstra F, et al. A single dose of erythropoietin in ST-elevation myocardial infarction. *Eur Heart J* 2010 ; 31 : 2593.
- 26) Najjar SS, Rao SV, Melloni C, et al. Intravenous erythropoietin in patients with ST-segment elevation myocardial infarction : REVEAL : a randomized controlled trial. *JAMA* 2011 ; 305 : 1863.
- 27) Ozawa T, Toba K, Suzuki H, et al. Single-dose intravenous administration of recombinant human erythropoietin is a promising treatment for patients with acute myocardial infarction—randomized controlled pilot trial of EPO/AMI-1 study—. *Circ J* 2010 ; 74 : 1415.
- 28) Minamino T, Toba K, Higo S, et al. Design and rationale of low-dose erythropoietin in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (EPO-AMI-II study): a randomized controlled clinical trial. *Cardiovasc Drugs Ther* 2012 ; 26 : 409.

