

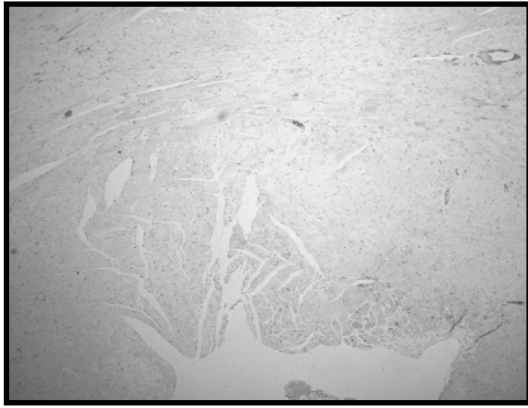
## 心不全における組織微細構造の解析と新規バイオマーカーの確立

大阪赤十字病院 心臓血管センター  
長 央 和也

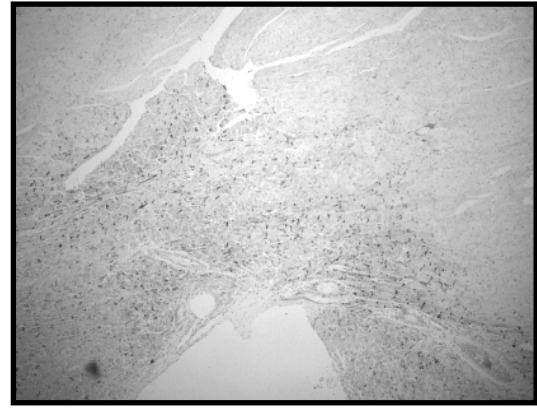
心不全では種々の刺激やストレスにより心筋細胞が壊死し線維組織に置換され心臓リモデリングが引き起こされる。著しい左室リモデリングを伴う患者は頻回の心不全入院を繰り返し、極めて予後不良である。一方、不全心において、心筋細胞は主にミトコンドリアの機能異常により、そのエネルギー源である ATP が枯渇するような代謝ストレス状態に陥っているということが知られている。こうした病態に関わる遺伝子の発現を調べることは心不全の病態解明につながることを期待される。

そこで我々は、培養心筋にエネルギー飢餓を惹起しその結果誘導される膜型蛋白、分泌型蛋白をシグナルシーケンス法と機能的スクリーニングを組み合わせる網羅的に検索し、神経接着因子 (NCAM) を同定した。培養心筋細胞、マウス心筋梗塞モデル、ラット圧負荷モデル、拡張型心筋症患者での心筋組織における NCAM の発現パターンを詳細に解析し、NCAM は線維化組織周辺に残存する心筋細胞から特異的に発現され、心機能の低下とともに著しく発現が増加することを世界で初めて報告した (K Nagao et al. *Jornal of molecular and cellular cardiology* 2010, K Nagao et al. *Circulation heart failure* 2013) (図 1)。NCAM は I 型膜蛋白であるが、細胞膜表面でシェディングを受けその細胞外ドメインが体液中に流出することが知られている。今回、われわれは ELISA 法を用いて心不全患者の血液中 NCAM 濃度を測定し健常者と比較した。その結果、健常者 ;  $515 \pm 132$  ng/ml 心不全患者 ;  $574 \pm 144$  ng/ml ( $P < 0.05$ ) と心不全患者で高値を示した。この結果から、心不全患者では心筋 NCAM が誘導され、その一部が血液中に流出するということが示唆される。一方、臨床応用を考えた場合、両者の重なりは大きくカットオフポイントを定めることは困難である。これは、血液中に流出する NCAM の起源が心臓だけではないことに起因するのかもしれない。現在、臓器特異性を高めるようなアッセイの確立を目指し現在さらに研究を進めている。

最後に、本研究を御指導頂いている京都大学大学院医学研究科循環器内科の尾野 亘先生、今回、医学研究助成を賜りました大阪ハートクラブに謝辞を申し上げたい。



コントロール心臓



肥大心

図1 ラット心臓における NCAM の免疫染色

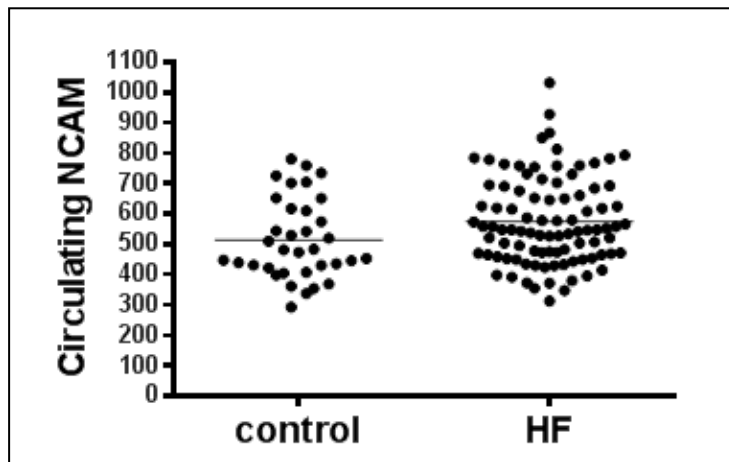


図2 血中 NCAM 濃度

## 血清アポリポ蛋白 B-48 濃度測定法の確立と 高カイロミクロンレムナント血症の動脈硬化惹起性の解析

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学講座  
循環器脂質・動脈硬化研究室 増田 大作

### (背景)

食後小腸で産生されるカイロミクロンレムナント (CM-R) は、食後・空腹時高 TG 血症および small dense LDL 増加・HDL の減少・インスリン抵抗性を引き起こし、直接血管内皮下へ浸潤し動脈硬化プラークを進展させる。CM-R1 粒子に 1 個存在するアポ B-48 の空腹時濃度は空腹時 TG 値正常群で頸動脈 IMT と正相関し、CAG 検査症例における冠動脈狭窄罹患率と強く相関する。臨床検査結果正常群における動脈硬化惹起性の評価におけるアポ B-48 濃度の有用性を検討するため以下の 2 項目を検討した。

### (方法と結果)

A、『動脈硬化リスクである酸化ストレスとアポ B-48 濃度の相関の検討』；対象；大阪大学保健センター健康診断症例 (39±10 歳、男性 70 人女性 29 人) に承諾を得て空腹時採血を実施し、レムナント代謝に関連する脂質項目および酸化ストレスの脂肪酸由来酸化産物 (HODE; hydroxyoctadecadienoic acids および HETE; hydroxyeicosatetraenoic acids) を測定した。その結果レムナントを含む動脈硬化リスクマーカーである nonHDL-C 値は TC, TG, HDL-C, レムナントコレステロール (RemL-C) と相関したが HODE, HETE とは相関せず、アポ B-48 濃度は TG, HDL-C, RemL-C および HODE と相関した (表 1)。空腹時アポ B-48 濃度は動脈硬化惹起的な酸化ストレスの増加を反映するバイオマーカーとなりうると判明した。

B、『CM-R の選択的抽出と組成の検討』；従来 CM-R は肝臓由来の VLDL レムナントと分離できなかったが、今回我々は抗 apoB-48 抗体を用い CM-R の抽出に成功した (図 1)。抽出リポ蛋白の脂質・表面蛋白プロファイル、マクロファージ泡沫化能、脂肪負荷を併用したマウス小腸由来カイロミクロンの変化をそれぞれ検討した。抽出リポタンパクは、HPLC にて CM-R を多く含むことが確認され、マウス腹腔マクロファージを泡沫化し得た。プロテオミクス解析の結果、アポ蛋白 (B, A1, C3, E) のみならず抗炎症に関わる paraoxonase 1 や補体 (C3, C4 その他) が多く含まれていた。さらにマウス小腸由来リンパ液を採取し検討すると、脂肪負荷に伴い一粒子あたりのアポ蛋白や補体 C3/C4 は増加し、さらに小腸上皮での C3 産生が増加していた。CM-R は様々な蛋白を有しており、また食事に伴い組成が変化していることが考えられた。

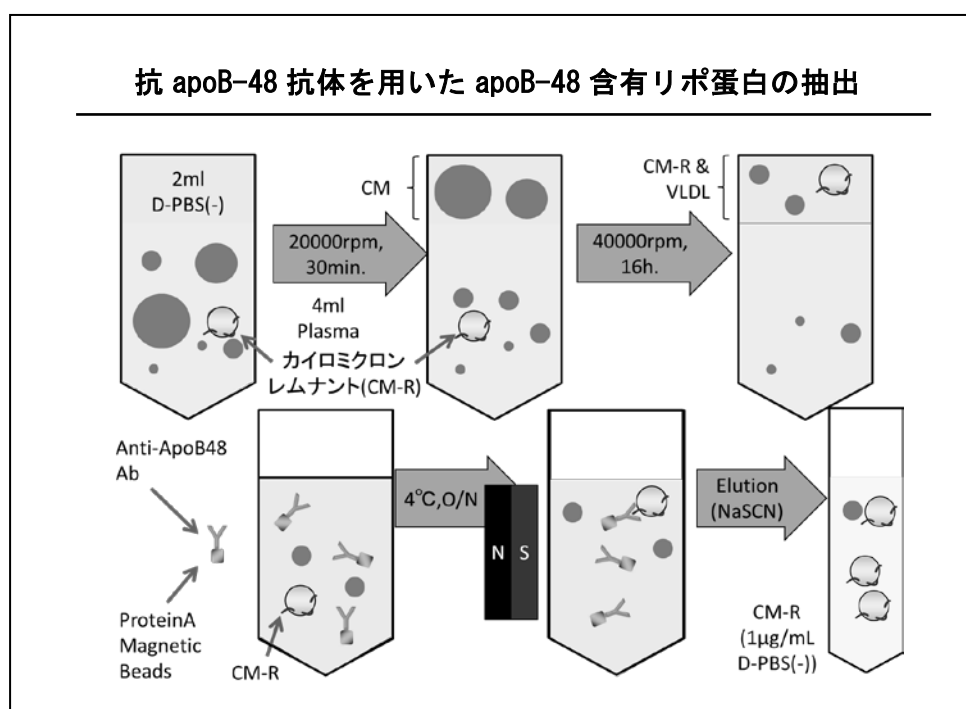
(結語)

臨床検査上脂質異常が見られない症例においても CM-R の蓄積が認められ動脈硬化惹起性を増加させていると推測された。また抽出した CM-R はその表面に様々な蛋白を有しており食事に伴い組成が変化し動脈硬化惹起性に影響している可能性が示唆された。

nonHDL-C および apoB-48 の増加と脂質・酸化ストレス

Non-HDL Quartiles (mg/dL)	1st 0-102	2nd 103-129	3rd 130-158	4th ≥ 159	P value
TC (mg/dl)	164±13	184±13*	203±15*#	240±28*# <sup>5</sup>	<0.05
Triglyceride (mg/dl)	55±28	64±34*	105±70*#	138±59*# <sup>5</sup>	<0.05
HDL-C (mg/dl)	72±14	69±13	60±13*#	58±17*#	<0.05
LDL-C (mg/dl)	81±8	103±8*	123±14*#	155±23*# <sup>5</sup>	<0.05
RemL-C (mg/dl)	6.2±2.6	7.3±2.8*	10.3±5.0*#	13.1±4.4*# <sub>s</sub>	<0.05
apoB-48 (ug/ml)	2.3±2.0	3.0±1.9	4.5±4.2*	4.3±2.3*#	<0.05
Total HODE (nM)	241±76	245±105	241±88	280±147	0.52
Total HETE (nM)	171±133	203±146	181±158	197±108	0.83

ApoB-48 Quartiles (ug/ml)	1st 0-1.6	2nd 1.7-2.6	3rd 2.7-4.2	4th ≥ 4.3	P value
TC (mg/dl)	188±28	202±35	193±33	209±35	0.13
Triglyceride (mg/dl)	52±25	60±22	113±29*#	163±65*# <sup>5</sup>	<0.05
HDL-C (mg/dl)	72±14	68±14	62±16*	56±12*#	<0.05
LDL-C (mg/dl)	105±26	121±36	113±29	120±30	0.22
RemL-C (mg/dl)	6.4±2.2	7.4±2.7	9.2±4.1*	13.8±5.3*# <sub>s</sub>	<0.05
NonHDL-C (mg/dl)	116±28	133±38*	131±33*#	153±36*# <sup>5</sup>	<0.05
Total HODE (nM)	224±60	202±68	289±94*#	293±154#	<0.05
Total HETE (nM)	145±89	174±133	240±139	195±164	0.08



## 心筋梗塞患者に対するエポエチンベータ投与による心機能改善効果に関する研究-II

大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学  
南野 哲男

## 【背景・目的】

心筋梗塞は急性期死亡率が依然高い疾患である。また、梗塞後慢性期には心不全へ進展するため、急性心筋梗塞に対する新しい治療法の開発は重要なアンメットニーズである。私たちは、大型動物を用いた基礎研究において、エリスロポエチンが心筋細胞死を抑制し、同時に血管新生を促進する結果、梗塞後慢性期心機能を著明に改善することを報告した。さらに、急性心筋梗塞患者（41 名）を対象とした早期探索臨床試験において、心筋梗塞急性期におけるエリスロポエチン静脈内単回投与により慢性期心機能が著明に改善することが明らかになった（EPO-AMI-I 試験）。

## 【方法】

平成 23 年 12 月より、急性心筋梗塞患者に対するエリスロポエチン投与による慢性期心機能改善効果を検討するため、多施設共同プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間比較試験（EPO-AMI-II 試験）を開始した。本研究は、全国 24 施設が参加し、低心機能（左室駆出率 50% 未満）をとともう初発急性心筋梗塞患者を対象とする。主要評価項目は、心筋シンチにより評価した慢性期左室機能改善効果である。企業から試験薬（実薬とプラセボ）の無償提供を受けている。本研究は、急性心筋梗塞患者を対象とする日本初の多施設共同プラセボ対照無作為化二重盲検試験であり、研究体制は医学統計専門家を含む試験事務局に加え、独立効果安全性評価委員会、独立 RI 中央評価委員会などからなる。＜臨床研究に関する倫理指針＞を遵守し、補償や有害事象対応の体制を確立している。さらに、中立かつ専門的なデータマネジメント（中央モニタリング）や GCP に準拠した監査を実施し、世界に通用する“質の高い”臨床試験を実践中である。症例登録は着実に進み、平成 27 年 2 月に、中間解析に必要な 198 症例の登録を終了した。フォローアップ終了後、可及的速やかに症例報告書・心筋シンチ画像を回収し、RI 中央評価委員会にて、画像解析を実施する。平成 28 年 1 月には、統計解析を開始し、有効中止、無効中止の場合、本試験を早期に終結する。

## 【最後に】

先進医療Bに則り、質の高い臨床データを収集する。また、PMDA 薬事戦略相談を活用し、本試験のデータを薬事申請に活用する。本研究の成果は、世界初の心筋梗塞患者に対する薬物補充療法の確立、患者 QOL 改善、医療費軽減につながる。また、本試験の完遂により、経験・知見の蓄積や人材育成が期待でき、全国試験ネットワークは国際治験基盤システムとして再活用可能である。

