

氏名	齋藤 俊信
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第 447 号
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 19 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学位論文名	安定冠動脈疾患患者における S100A12 蛋白と予後予測に関する研究
論文審査委員	(委員長) 教授 石川 三 衛 (委員) 准教授 南 孝 臣 講師 早川 盛 禎 教授 阿古 潤 哉

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患の主な原因には冠動脈の粥状硬化が考えられている。近年、冠動脈疾患の治療法には薬物療法に加え、カテーテルを用いた経皮的冠血行再建術 (PCI:percutaneous coronary intervention) が確立している。しかし、大規模臨床試験においては至適薬物療法のみを行なった群と薬物治療に PCI を追加した群の間で、イベント発生率に差が認められなかったとする報告がなされた (E Nngl J Med. 2007;356:1503-16)。これらの結果より、単に冠動脈狭窄を解除するのみでは冠動脈疾患の予後の改善につながらず、基礎にある病態の改善が重要であることが示された。

近年、動脈硬化症を含む生活習慣病の発生に慢性炎症が関与している報告が多数成されている。S100A12 蛋白は近年同定された単球/マクロファージおよび好中球などの白血球から放出されるカルシウム結合蛋白で終末糖化産物受容体 (RAGE) と結合し、転写因子である NF- $\kappa$ B の発現亢進を介して炎症性疾患や悪性腫瘍の発生などに関与することが報告されている。循環器領域においては、川崎病やベーチェット病などの炎症性心血管疾患において血中 S100A12 蛋白の上昇が見られる、大動脈瘤の血管平滑筋細胞で S100A12 蛋白発現が増加している、冠動脈プラーク破裂によって冠静脈洞の S100A12 蛋白濃度が上昇するなどの報告が成されている。

今回、我々は S100A12 蛋白が冠動脈硬化の病態に関与し、安定冠動脈疾患患者の主要心血管イベントの予後予測因子となるのではないかと考え本研究を施行した。

### 2 研究方法

本学付属病院循環器内科に入院した安定冠動脈疾患患者に対し、冠動脈血行再建に成功した連続 652 人を対象とした (平均年齢 64.1 $\pm$ 9.6 歳、男/女=533/119)。急性冠症候群、急性腎不全、感染症、膠原病、血液疾患、悪性腫瘍、免疫抑制薬使用患者は除外した (本研究は当院臨床研究倫理審査委員会承認された)。

冠動脈血行再建を行う際に末梢動脈内に挿入したシースから動脈血液 10mL を採取し、3,000 rpm、4 $^{\circ}$ C、15 分で動脈血を遠心分離した後、-80 $^{\circ}$ C で保存した。後日 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を用いて、S100A12 蛋白濃度を測定した。診療録から既往症、

血液検査、心臓超音波検査、心臓カテーテル検査データなどの各種臨床項目を抽出し、S100A12 蛋白との関係を検討した。

主要心血管イベントは入院治療を要する心不全、狭心症再発に対する冠動脈再血行再建、急性心筋梗塞、脳卒中、致死性不整脈、末梢動脈血行再建、心臓突然死の複合エンドポイントと定義した。退院後、当院外来に通院している患者に関しては、診療録から患者の予後状況を調査し、他院へ転院している際には手紙郵送または電話連絡にて予後の状況を確認した。

統計解析は SPSS ソフトウェアを用いて行った。各種臨床指標と S100A12 蛋白との相関関係の検定および重回帰分析を行った。また、S100A12 蛋白値により対象を 4 分位に分け、Kaplan-Meier カーブ解析を用いて 4 分位間で予後の差を検討した。さらに Cox 比例ハザードモデル解析を用いて、患者の予後に影響を与えている因子を検討した。

### 3 研究成果

S100A12 蛋白と各種臨床指標との相関関係を検討したところ、白血球・血小板・高感度 CRP と有意な正の相関を示し、赤血球と有意な負の相関を示した。また、それらの指標を説明変数として、S100A12 蛋白を従属変数として重回帰分析を行なったところ、高感度 CRP ( $\beta = +0.246$ ,  $p < 0.001$ ) が S100A12 蛋白に関連する有意な指標であることが明らかとなった。

対象患者の予後を検討した結果、平均 973 日の追跡期間中に 108 名 (16.6%) で主要心血管イベントが発生した。S100A12 蛋白値により対象を 4 分位に分け、Kaplan-Meier カーブ解析を行ったところ、S100A12 最高値分位 (Q4) で有意に主要心血管イベントの発生率が高いことが示された (log-rank test,  $p = 0.026$ )。一方、高感度 CRP で対象を 4 分位に分けた検討では主要心血管イベント発生率に統計学的有意差は得られなかった ( $p = 0.074$ )。また、主要心血管イベント毎にそのイベント発生を 4 分位間で検討したところ、Q4 では心不全および脳卒中発生が有意に多いことが示された (それぞれ  $p = 0.043$ ,  $p = 0.044$ )。Cox 比例ハザードモデル解析を行ったところ、収縮期血圧、HbA1c、推算糸球体濾過量、左室駆出率および S100A12 蛋白 (hazard ratio: 1.64,  $p = 0.025$ ) が有意な心血管イベント発生の予測因子として同定された。

平均 298 日後に施行した PCI 治療後の慢性期確認カテーテル時の採血では S100A12 蛋白値は有意に低下しており ( $10.75 \pm 0.70 \rightarrow 2.01 \pm 0.08$  ng/ml,  $p < 0.001$ )、PCI を含む冠動脈疾患治療により S100A12 蛋白が低下する可能性が示された。また、PCI 施行時の高感度 IL-6 と S100A12 蛋白は有意な正の相関を示していたが ( $r = +0.254$ ,  $p = 0.01$ )、慢性期の高感度 IL-6 と S100A12 蛋白には相関関係は認められなかった。

### 4 考察

本研究により S100A12 蛋白は高感度 CRP および高感度 IL-6 と有意に正の相関を呈し、安定冠動脈疾患の病態に炎症反応が関与することが示唆された。また、S100A12 蛋白は安定冠動脈疾患患者において、冠動脈血行再建による治療成功後の主要心血管イベント発生に関与していた。さらに S100A12 蛋白は高感度 CRP と比較し、より鋭敏に主要心血管イベント発生を予測する因子となり得ることが示された。

この結果が得られた理由として CRP は肝臓で産生され全身の炎症を反映しているのに対し、S100A12 蛋白は血管など局所の炎症を反映していることが要因と考えられ、心血管疾患の炎症

反応をより特異的に反映している可能性が示された。今後 S100A12 蛋白が安定冠動脈疾患患者の予後を予測するマーカーとして利用されることが期待される他、S100A12 蛋白のような炎症性メディエーターが心血管イベント発症の抑制を目的とした治療のターゲットとなる可能性も考えられた。

また、今回我々の研究では未検討であったが、同じ炎症マーカーである Pentraxin3 で心不全重症度や心血管イベント発症に関与していたとする報告や Matrix metalloproteinase が冠動脈プラーク破綻や心血管死に関与していたとの報告も認められており、炎症マーカーの種類によりその予後予測能が異なる可能性も考えられた。

今後の方針として、急性心筋梗塞発症後における S100A12 蛋白の動向や心筋逸脱酵素との関係、その後の心筋リモデリングや心血管イベント発生などについて検討していくことを予定している。

## 5 結論

安定冠動脈疾患患者において血液中の S100A12 蛋白がその後の心血管イベント発症に関与する可能性が示された。本研究では、従来大規模臨床試験において報告されてきた高感度 CRP と比べて、S100A12 蛋白が安定冠動脈疾患治療後の心血管イベント発症に特異的な予測因子となる可能性が示された。S100A12 蛋白は心血管系の炎症反応を反映し、今後心血管疾患の予後予測因子や治療のターゲットとなる可能性が示された。

## 論文審査の結果の要旨

動脈硬化症を含む生活習慣病の発生に慢性炎症が関与することが明らかとなっている。S100A12 蛋白は単球/マクロファージおよび好中球から放出されるカルシウム結合蛋白で、終末糖化産物受容体 (RAGE) と結合して、NF- $\kappa$ B の発現亢進を介して炎症性疾患や悪性腫瘍の発生に関与することが示唆されている。本研究は、安定冠動脈疾患患者において S100A12 が冠動脈硬化の病態に関与するか、また主要心血管イベントの予後予測因子となりえるかについて検討した。対象は、冠動脈血行再建術を施行した安定冠動脈疾患の患者 652 例 (男性 533 例、女性 119 例) で年齢は  $64.1 \pm 9.6$  歳であった。血液は冠動脈血行再建術時末梢動脈内に挿入したシースから採血、S100A12 蛋白を ELISA 法で測定した。診療録から、既往症、血液検査、心臓超音波検査、心カテーテル検査成績を抽出し、S100A12 蛋白との関係を解析した。また主要心血管イベントは心不全、狭心症再発に対する冠動脈再血行再建、急性心筋梗塞、脳卒中、不整脈、心臓突然死の複合エンドポイントとした。S100A12 蛋白は、白血球数、血小板数、高感度 CRP、IL-6 と正の相関、赤血球数と負の相関を示した。平均 973 日の予後調査では、S100A12 蛋白値で患者を 4 分位にして Kaplan-Meier 解析を行うと、S100A12 蛋白最高値群 (Q4) で主要心血管イベントの発生率が有意に高いことが示された。とくに、心不全、脳卒中発生が有意に高くなった。しかし、PCI 治療後平均 248 日後の採血では S100A12 蛋白は  $2.01 \text{ ng/ml}$  (平均) まで著しく低下する所見が得られた。以上の成績から、S100A12 蛋白は高感度 CRP、IL-6 と正の相関を示し、安定冠動脈疾患の炎症反応に深く関係することが示唆された。また高感度 CRP

に比較して、S100A12 蛋白は心不全や脳梗塞などの主要心血管イベント発生の予測因子となる可能性を示した。

本学位論文は、学位審査委員全員で厳正に審査したが、その内容は冠動脈疾患における慢性炎症の関わりを S100A12 蛋白から明らかにしたもので、学術的に高く評価された。したがって、審査員全員から学位授与に値する研究と結論された。

## 最終試験の結果の要旨

申請者は、S100A12 蛋白の解析を通して冠動脈疾患病態における慢性炎症の関与を明らかにした。また S100A12 蛋白は主要心血管イベントの長期予後の予測因子となる新たな可能性を示した。慢性期の S100A12 蛋白が著しく低値となる事実については、さらなる追加検討が必要になることを明言した。その成績は明瞭で、独創性に富む内容であった。申請者がこの研究を主体的に進めてきたことも窺われた。質疑応答でも適切な返答で、高い研究能力があること、また関連分野の知識も十分であることが示された。したがって、申請者は本学の学位授与に値する研究業績と学識を有するものと審査委員全員により判断された。