

氏名	池本 智一 <small>いけもと ともかず</small>
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 704号
学位授与年月日	平成 27年 6月 22日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第4条第3項該当
学位論文名	冠動脈疾患を有する患者における血漿エンドグリンの心血管イベントの予測因子としての意義に関する研究
論文審査委員	(委員長) 教授 谷口 信行 (委員) 教授 川人 宏次 准教授 小宮根 真弓

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

日本では、脳血管疾患による死亡率が減少している一方、虚血性心疾患を中心とした心疾患は増加している。我々は、虚血性心疾患に対し経皮的冠動脈インターベンション (Percutaneous Coronary Intervention : PCI) を積極的に施行しているが、安定狭心症患者に冠動脈ステント留置を行ってもその後の予後を改善しないとの報告がある。そのため、潜在的なリスクの高い患者を同定することは重要であり、我々は冠動脈疾患の予後予測因子となるバイオマーカーの研究を行ってきた。最近の研究では、エンドグリンが造血や心血管系の発達や血管形成に重要な役割を果たしていることが明らかになっており、アテローム性動脈硬化を来した冠動脈では TGF- $\beta$  受容体とエンドグリンの発現が増加している。エンドグリンは細胞膜から切断され、可溶性として体循環中に入っていくが、可溶性エンドグリンは内皮障害、炎症や老化の有用なマーカーであると考えられる。

この研究では、可溶性エンドグリンの血漿中濃度を測定し、慢性の冠動脈疾患患者においてその臨床的な有用性を検討した。

### 2 研究方法

まず、ヒト臍帯静脈内皮細胞を培養し、可溶性エンドグリン値を測定した。臨床試験の対象は、2003年10月から2008年10月まで、自治医科大学附属病院で心臓カテーテル検査を行った連続症例で、安定した冠動脈疾患に対し PCI を施行し、研究に対する同意が得られた 318 例とした。全ての症例で冠動脈ステントが留置された。PCI 後は、4~8 週ごとに定期的に経過観察が行われた。主要心血管イベントは、急性心筋梗塞、うっ血性心不全、脳卒中、致死的不整脈、心臓死とした。急性冠症候群、急性の炎症性疾患、急性腎不全、血液疾患、悪性疾患や免疫抑制剤を投与されている症例は除外した。PCI が不成功だった症例も除外した。心臓カテーテル検査の直前に、動脈血を採取し、1000 g、4°C で 15 分間遠心分離後、-80°C で保存した。エンドグリンとトロンプモジュリンの測定は、ELISA 法で測定した。

### 3 研究成果

#### 3-1. in vitro 試験

まず、我々は HUVEC の培養上清におけるエンドグリン値を測定した。エンドグリン値は、72 時間まで経時的に上昇した。次に、HUVEC の培養上清を継代培養しエンドグリン値を測定したところ、継代が進むにつれて可溶性エンドグリン値は上昇した。さらに HUVEC を腫瘍壊死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) および過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) で刺激し、48 時間後の培養上清中の可溶性エンドグリン値を測定した。TNF- $\alpha$  と  $H_2O_2$  の添加によりいずれもコントロールと比較して有意な可溶性エンドグリン値の上昇を認めた (TNF- $\alpha$ :  $0.334 \pm 0.034$  vs  $0.564 \pm 0.045$  ng/mL,  $p < 0.001$ ,  $H_2O_2$ :  $0.553 \pm 0.008$  vs  $0.733 \pm 0.062$ ,  $p < 0.05$ )

#### 3-2. 臨床試験

症例の背景としては、268 症例は男性、50 症例は女性であった。平均年齢は  $63.3 \pm 9.9$  才、高血圧が 232 症例 (73.0%)、脂質異常症が 223 症例 (71.0%)、糖尿病が 149 症例 (46.9%)、喫煙が 99 症例 (31.1%)、冠動脈疾患の家族歴が 99 症例 (31.1%) であった。可溶性エンドグリンと血小板数の間には、有意ではないが、弱い負の相関が示唆された。重回帰分析を行ったところ、可溶性エンドグリン値と血小板数には有意な負の相関がみられた ( $\beta = -0.133$ ,  $p = 0.046$ )。我々は、古典的な内皮障害のマーカーであるトロンボモジュリンの血漿レベルを測定した。トロンボモジュリン値とクレアチニン値には有意な正の相関があったため ( $r = +0.81$ ,  $p = 0.001$ )、トロンボモジュリン値をクレアチニン値で補正し解析したが、可溶性エンドグリン値とトロンボモジュリン値には有意な正の相関がみられた ( $r = +0.177$ ,  $p = 0.002$ )。

#### 3-3. 対象の予後と予後予測因子

次に、可溶性エンドグリンが安定冠動脈疾患患者の予後予測因子となるかどうかを検討した。平均の観察期間は  $1055 \pm 612$  (49-2136) 日であり、観察期間中に 27 例 (8.5%) に主要心血管イベントが生じた。症例を可溶性エンドグリン値によって 3 群に分けて検討した。可溶性エンドグリン値は、T1 群で平均  $2.63$  ng/mL ( $2.13$ - $3.03$  ng/mL)、T2 群で平均  $3.28$  ng/mL ( $3.04$ - $3.57$  ng/mL)、T3 群で  $4.21$  ng/mL ( $3.58$ - $6.56$  ng/mL) であった。Kaplan-Meier 生存曲線解析を行ったところ、3 群で主要心血管イベントの発生に有意差がみられた ( $\chi^2 = 6.75$ ,  $p = 0.034$ )。T3 群は T1 群と比較して、主要心血管イベントの発生率が有意に高かった ( $p = 0.009$ )。主要心血管イベントのうち、特にうっ血性心不全については 3 群で有意な差がみられ ( $\chi^2 = 6.77$ ,  $p = 0.034$ )、T2 群と T3 群はそれぞれ T1 群に対して有意にうっ血性心不全の発生が多かった (T1 vs T2:  $p = 0.045$ , T1 vs T3:  $p = 0.008$ )。標的病変の再血行再建については、有意な差はみられなかった ( $p = 0.117$ )。Cox 比例ハザードモデルによる単変量解析では、可溶性エンドグリンは主要心血管イベントの有意な予測因子であった [hazard ratio (HR) 1.92, 95% confidence interval (CI) 1.28-2.88,  $p = 0.001$ ]。同様に、慢性腎疾患と左室駆出率も主要心血管イベントの予測因子であった。トロンボモジュリン値は主要心血管イベントとは相関がなかった。さらに Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析を行ったが、これら 3 つは有意な予測因子であった。

### 4 考察

本研究では①可溶性エンドグリンは、継代培養や、TNF- $\alpha$  や  $H_2O_2$  による刺激によって発現が増加すること、②左室駆出率、慢性腎疾患、そして可溶性エンドグリンが PCI を施行した冠動脈疾

患患者において主要心血管イベントの独立した予測因子であることが明らかになった。我々は、可溶性エンドグリンが血管内皮の老化や炎症、酸化ストレスを示しており、慢性の冠動脈疾患患者において心血管イベントの予測因子となり得ると考えた。特にうっ血性心不全の発症において有意であった。エンドグリンは心不全患者の左室線維芽細胞内に多くみられ、エンドグリンの減少が左室の線維化を軽減することが報告されており、この研究の結果はエンドグリン値が左室のリモデリングを示していた可能性が考えられる。

## 5 結論

血漿エンドグリンは、内皮の炎症や老化のマーカーである可能性があり、慢性の冠動脈疾患患者において主要心血管イベント、特にうっ血性心不全の予測因子と考えられた。今後のその役割を明らかにするためにはさらに大きな規模の研究が必要であると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

はじめに、エンドグリン研究の背景について説明された。次に、臨床的検討として、心カテーテル検査を行った者を対象に、まず心血管系のパラメータについて、クレアチニン値で補正後の解析を行ったところ、エンドグリンと同様の予後推定因子であるトロンボモジュリンに有意な正の相関がみられた。一方、カテーテル施行時のエンドグリン値とその後の主要血管イベントの発生について調査したところ、その値が高いほどイベントの発生率が明らかに高く、さらにうっ血性心不全の発生も有意に多く発症した。この結果は、エンドグリン値がその有力な予後予測因子となることを示しており、今後の臨床的応用が期待できる成果であった。

これらの内容は、学位申請論文の要件を満たすと判断でき、論文審査の合格に値することに、審査員全員が賛成した。

## 試問の結果の要旨

これまで申請者およびそのグループが取り組んできた動脈硬化症マーカーへの研究、他の心不全マーカーとの関連、さらにマーカーと心エコーでの拡張能の指標との関連について諮問が行われた。

いずれの質問にも、的確な回答、説明が行われ、研究内容だけでなく、その背景となる知識、さらに技能についても十分な資質を有することが確認された。