

学位論文

「心臓突然死の原因となる疾患の発症メカニズム解明と  
その診断的・治療的戦略」

DM 09011 亀田 良

北里大学大学院 医療系研究科 医学専攻 博士課程  
臨床医科学群 循環器内科学  
指導教授 阿古 潤哉

## 著者の宣言

本学位論文は、著者の責任において実験を遂行し、得られた真実の結果に基づいて正確に作成したものに相違ないことをここに宣言する。

# 心臓突然死の原因となる疾患の発症メカニズム解明と

## その診断的・治療的戦略

氏 名 亀田 良 (DM09011)

背景: 循環器系疾患は、病死の主たる原因疾患であるばかりでなく、その有病率も高く、医療経済の観点からも、循環器疾患の治療や予防はわが国の国民生活において重要な課題となっている。その中でも心臓突然死は、「急性の症状が発症した後、1 時間以内に突然意識喪失を来す心臓に起因する内因死」と定義され、これは、基礎疾患の有無に関わらず、発症の仕方も時期も予測できない突然の死亡である。よって、突然死は誰でも起こりうる可能性があり、突然死を回避するためには、それを予知し、予防手段を講じる必要がある。今回、突然死の最たる原因疾患である虚血性心疾患の研究として、薬剤溶出性ステントを用いた経皮的冠動脈形成術 (PCI: percutaneous coronary intervention) を施行された虚血性心疾患患者におけるステントストラットの早期被覆化の検討 (研究Ⅰ) を行った。そして冠動脈疾患罹患患者の二次予防として新たな心疾患イベントの出現を予知するバイオマーカーの検討を行い (研究Ⅱ)、また突然死の原因でありながら、病態の解明がまだ不十分であり、1 次予防として確立した治療が存在しない不整脈死に関して、自律神経の観点から着目し、新たなペプチドホルモンの測定を行い、検討した (研究Ⅲ)。具体的には、下記のような内容でそれぞれ研究を行った。

### 【研究Ⅰ】 薬剤溶出性ステント治療における早期被覆化の検討

【背景】 虚血性心疾患における PCI は、再狭窄率の低下から薬剤溶出性ステント (DES : drug-eluting stent) の使用が主流である。一方で DES は治療後遠隔期に遅発性ステント血栓症の発症が問題であり、この原因の一つとしてステント留置部位の新生内膜被覆遅延が考えられている。ステント被覆化は、主に使用されている第 2 世代 DES (エベロリムス溶出性ステント ; EES 及びバイオリムス溶出性ステント ; BES) では、8-9 か月以内に認められると報告されているが、3 か月未満の早期被覆化については報告がない。

【目的】 OCT (optical coherence tomography: 光干渉断層法) を用いて第 2 世代 DES における早期被覆過程の経時的推移と、ステントの種類による早期被覆過程の差異を調査し、DES の使い分けを検討することを目的とした。

【方法】 第 2 世代 DES を用いた待機的 PCI を少なくとも 2 回以上予定され、多枝病変を有する安定狭心症患者、連続 26 症例 (BES 11 例、EES 15 例) を対象とした。2 回目の PCI 時に、1 回目のステント留置部位を OCT にて観察し、新生内膜被覆化過程を経時的に評価した。主要評価項目は、ステントストラットの被覆率 (%) とした。

【結果】 BES、EES とともに被覆化の割合は経時的に増加傾向であった。また、EES と比べ BES ではより早期から被覆化を認めた [BES:EES 被覆率 (P 値) 1 か月後 ; 58.2% : 39.1%

( $P<0.05$ )、2 か月後 ; 76.8% : 45.5% ( $P<0.01$ )、3 か月後 ; 76.3% : 61.2% ( $P<0.01$ )。血栓は 5 例に認められたが、ステント血栓症は観察期間中の発症は認められなかった (BES 3 例 : 留置後 1, 2, 3 か月、EES 2 例 : 留置後 1, 2 か月)。

DES 留置後のステント血栓症致命率は約 30%前後であり、早期に心血管イベント発症を診断するツールが必要不可欠である。また、このような冠動脈疾患罹患患者における二次予防は重要であり、心不全発症といった新たな心疾患イベントの出現を予知するバイオマーカーの確立を目的として研究Ⅱを行った。

【研究Ⅱ】 冠動脈疾患罹患患者における、心血管病の進展を予知しうる新たなバイオマーカーの検討

【背景】 近年、心臓疾患におけるバイオマーカー診断が進歩し、特に高感度トロポニン T は心筋特異性に優れ、心筋傷害の早期検出・リスク層別化・予後予測に、また BNP は心不全の診断、重症度判定、予後予測に有用であることが確立された。そのような中、血管内皮増殖因子は、心血管のリモデリングや動脈硬化の進展を起こしうるという報告があるが、その内因性阻害因子である sFlt-1 に関して、心疾患との関わりには不明な点が多い。

【目的】 冠動脈疾患罹患患者において、sFlt-1 が心血管病の進展を予知しうるバイオマーカーであるかを検討した。

【方法】 北里大学東病院二次予防センターにおいて、2006 年から 2010 年までの間に冠動脈疾患罹患患者および糖尿病罹患患者の心血管高リスク患者 88 名を対象とし、5 年間の経過を追った。88 例において、冠危険因子 (コレステロールや糖尿病、高血圧など) や BNP と言ったバイオマーカーの変化、そして心筋シンチグラフィを用いて、左心機能の経時的推移を評価し、sFlt-1 との関係を検討した。

【結果】 冠動脈疾患罹患患者群において、非冠動脈疾患罹患患者群と比較した結果、測定開始時の sFlt-1 と測定開始時から 5 年後までの BNP の変化量と有意な正の相関を示し ( $r=0.303$ ,  $P<0.05$ )、かつ BNP の変化量と左室拡張期末期容量の変化量とは有意な正の相関が得られた ( $r=0.379$ ,  $P<0.05$ )。また冠動脈疾患罹患患者の中で sFlt-1 の値が高値であった群は BNP の変化量と、より強い正の相関が得られた ( $r=0.511$ ,  $P<0.01$ )。

突然死の主たる原因である不整脈死に関しては、1 次予防として確立した治療が存在しない。このような不整脈死はもちろん、さきほどでも検討した、虚血性心疾患に関しては、自律神経のアンバランスによる事が報告されており、今回、サリューシン- $\beta$  というペプチドホルモンに着目した。この物質は、未知の副交感神経刺激因子であると考えられ、その全身投与により、心原性ショック様の病態を生じることが明らかになっているが、その機序やヒトの病態にどのように関わっているかについては、これまでのところ不明であった。よって、今回、サリューシン- $\beta$  が自律神経に深くかかわっていることが証明できれば、心不全や虚血、不整脈などいずれも自律神経、特に副交感神経機能異常との関連が古くから示唆されていることから、この物質が突然死の 1 次予防のバイオマーカーとなりえるのではないかと考え、研究Ⅲを行った。



### 【研究Ⅲ】 神経調節性失神におけるサリュージン-βの役割についての検討

【背景】 失神の原因の一つに神経調節性失神がある。本疾患は自律神経の過剰反射による循環応答異常が原因と考えられており、Head-up Tilt test で自律神経の調節異常の起こりやすさを診断するが、その詳細な機序については明らかになっていない。しかし、七里らが発見したサリュージン-βは、未知の副交感神経刺激因子であると考えられ、その全身投与により、心原性ショック様の病態を生じることが明らかになっている。

【目的】 本研究では、神経調節性失神が起こる機序として副交感神経の過剰興奮が起こることから、サリュージン-βが本病態の原因物質ではないかと推測し、神経調節性失神におけるサリュージン-βの病態生理学的役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】 2010年4月から2012年3月までにHead-up tilt test (HUT) を施行された、連続27症例を対象とした。HUT中に経時的に採血を行い、検査中に失神、もしくは失神前駆症状の出現や血圧が低下したものを陽性とし、陽性群と陰性群に分類し検討した。評価項目は基礎疾患を含む臨床背景、血液検査所見、心拍変動解析 (HRV)、カテコラミン3分画、サリュージン-βを測定し検討した。

【結果】 HUT 陽性群は16例、陰性群は11例となり、陽性群は陰性群と比較して、安静時において、サリュージン-βが有意な高値を示した (陽性群 : 5.3 pmol/mL vs 陰性群 : 2.8 pmol/mL,  $P<0.01$ )。また経時的に採血を行った平均値も陽性群が有意な高値を示していた (陽性群 : 5.0 pmol/mL vs 陰性群 : 3.9 pmol/mL,  $P<0.01$ )。

### 考察と今後の展望:

突然死の解明は、循環器疾患診療にとっては、極めて重要であり、解決していかなければならない課題である。突然死の主たる原因である、虚血性心疾患に対するPCI治療では現在DESが約7割の症例で使用されているが、合併症であるステント血栓症は致死率が高い。そのため血栓症予防目的で抗血小板薬が長期間投与され出血性合併症も増加している。今回の研究結果から、第2世代DES留置後における早期被覆化の差異は、ステントの薬剤コーティングに関与している可能性が示唆された (EES : 全周性、BES : 血管側のみ)。本研究である早期被覆過程の解明は、血栓症リスクの評価、高齢者や抗凝固薬併用者などの出血性合併症高リスク患者における至適抗血小板薬内服期間の決定、あるいは症例に応じた適切なステントの種類を決定する上で、臨床的意義が高いといえる。

冠動脈疾患罹患患者に対するバイオマーカー研究では、sFIt-1の値が高値である場合、その後にBNP値の上昇を認めた。この結果より、冠動脈疾患罹患患者において、高sFIt-1は、その後心血管病が進行していく可能性を示唆する、有益なバイオマーカーになりえる事が示唆された。

今回、研究の意義としては、急性期における、sFIt-1の動向は、先行論文ではいくつか報告があるが、慢性期、特に5年に渡って評価したものは、報告がない。今回の研究で、急性期の治療が終わり、慢性期に入った際の、冠動脈罹患患者における、sFIt-1について述べた結果であり、注目すべき内容と考えている。今後は、冠動脈疾患罹患患者の2次予防として、予

後予測に応用できるバイオマーカーに発展させたい。

また、心筋梗塞発症後など、器質的心疾患に伴う、心室性不整脈はしばしば致死的であり、日本においては、その他、**Brugada** 症候群や、**QT** 延長症候群などプライマリー不整脈疾患による不整脈死が多く含まれているのが特徴である。その中で、心室性不整脈については、2次予防として、**ICD** が最も有効で治療の第一選択となっているが、1次予防としては、確立したものはないのが現状である。しかし、今回の研究によって、サリューシン- $\beta$  が内因性副交感神経刺激因子の可能性があり、これまで病因が明らかではなかった神経調節性失神の病態について、原因物質になり得る可能性が考えられた。また以前から、心不全や虚血性心疾患、そして不整脈疾患などが副交感神経異常との関連が示唆されているので、この結果が不整脈死に対する、有用なバイオマーカーになり得る可能性がある、有用な臨床データと考える。

今回の一連の研究を通じ、今後、益々高齢化が進む時代を迎え、部分的な動脈硬化症の治療だけではなく、総合的に突然死の様々な循環器疾患を的確に診断および治療し、さらに予防することの重要性を推進して行く必要がある。

## 目次

	頁
<b>1. 序論</b> -----	1
<b>2. 研究Ⅰ. 薬剤溶出性ステント治療における早期被覆化の検討</b>	
2-1. 背景 -----	2
2-2. 方法	
2-2-1. 対象及びプロトコール -----	3
2-2-2. 評価項目	
(1) 患者背景及び心臓カテーテル検査所見 -----	3
(2) 光干渉断層法による測定方法 -----	3
2-2-3. 統計学的解析 -----	4
2-3. 結果	
2-3-1. 患者背景及び心臓カテーテル検査所見 -----	4
2-3-2. ステントストラットの被覆率 -----	4
2-4. 考察	
2-4-1. 薬剤溶出性ステントによる被覆率の差異 -----	5
2-4-2. 抗血小板薬内服期間と薬剤溶出性ステント -----	5
2-5. 研究の限界 -----	6
2-6. 結語 -----	6
<b>3. 研究Ⅱ: 冠動脈疾患罹患患者における、心血管病の進展を予知しうる新たなバイオマーカーの検討</b>	
3-1 背景・目的 -----	7
3-2. 方法	
3-2-1. 対象患者 -----	8
3-2-2. 測定項目	
(1) 臨床的背景因子 -----	8
(2) 血液生化学検査 -----	8
(3) Perfusion SPECT -----	9
3-2-3. 評価手順 -----	9
3-2-4. 統計学的解析 -----	9
3-3. 結果	
3-3-1. 臨床的背景因子および5年間の各測定項目 -----	9
3-3-2. 冠動脈罹患患者における sFlt-1 値 -----	9
3-3-3. 血清 sFlt-1 値と $\Delta$ BNP の関係 -----	10

3-3-4. 冠動脈罹患患者における心臓リモデリング-----	10
3-3-5. 有益なバイオマーカーとしての sFlt-1 値 -----	10
3-4. 考察 -----	11
3-5. 研究の限界 -----	12
3-6. 結語 -----	12
<b>4. 研究Ⅲ：神経調節性失神における多機能内因性生理活性ペプチド、サリュースイン-β の病態生理学的意義の解明</b>	
4-1. 背景・目的-----	13
4-2. 方法	
4-2-1. 対象及びプロトコル-----	13
4-2-2. ヘッドアップチルト試験および診断基準 -----	14
4-2-3. 被験者の安全対策 -----	14
4-2-4. 評価項目	
(1) 患者背景及び検査項目-----	15
(2) サリュースイン-β 血中濃度-----	15
(3) 心拍変動による自律神経機能成分-----	15
(4) 血清カテコラミン 3 分画 (アドレナリン、ノルアドレナリン、 ドーパミン) -----	15
4-2-5. 統計学的解析 -----	15
4-3. 結果	
4-3-1. 患者背景及び検査結果-----	16
4-3-2. サリュースイン-β 血中濃度結果 -----	16
4-3-3. 心拍変動による自律神経機能成分-----	16
4-3-4. 血清カテコラミン 3 分画 (アドレナリン、ノルアドレナリン、 ドーパミン) -----	16
4-4. 考察	
4-4-1. ヘッドアップチルト試験 -----	17
4-4-2. サリュースイン-β 血中濃度 -----	17
4-5. 今後の展望 -----	18
4-6. 結語 -----	19
<b>5. 総括 -----</b>	<b>19</b>
<b>6. 謝辞 -----</b>	<b>20</b>

7. 引用文献	21
8. 図表の説明	27
9. 業績目録	31
10. 図表	32

## 1. 序論

近年、脳・頸動脈・冠動脈・大血管・末梢動脈などの『全身性動脈硬化疾患』が増加している。世界の44か国でアテローム血栓性イベントリスクを有する患者に対しイベント発生率を長期的に評価した REACH Registry のサブ解析によると、日本人5193人の対象患者のうち、既知の血管病（一過性脳虚血発作、虚血性心疾患に対するステント治療、足首上腕血圧比が0.9以下の間欠性跛行のいずれかの既往がある）を認める症例は83.7%に及び、この中で高血圧、脂質異常症、糖尿病などの冠危険因子を少なくとも3つ以上保有している患者は全体の16.3%、また約35%で虚血性心疾患（IHD: ischemic heart disease）、30%で脳血管疾患、7%で末梢動脈疾患を合併していると報告されている。さらに、0.8%はこの3大動脈硬化疾患をすべて併発している<sup>1)</sup>。特にIHDに関しては、欧米的な食生活の変化によって肥満や耐糖能異常症、脂質異常症が増加し30代や40代などの若年層における急性心筋梗塞や狭心症患者の増加が目立つ。しかしその一方で80代の超高齢者層も高齢化に伴い患者数は増加している。日本では約90%に心臓カテーテルによるステント治療が施されているが、近年、長期にわたる抗血小板薬服用に伴う出血性合併症や医療費の問題が山積している。また、心血管病の発症早期診断に関する研究も散見されるが、未だ心血管病の発症を予測しうるマーカーは少ない。このように循環器系疾患は、病死の主たる原因疾患であるばかりでなく、その有病率も高く、医療経済の観点からも、循環器疾患の治療や予防はわが国の国民生活において重要な課題となっている。その中でも心臓突然死は、「急性の症状が発症した後、1時間以内に突然意識喪失を来す心臓に起因する内因死」と定義され<sup>2)</sup>、これは、基礎疾患の有無に関わらず、発症の仕方も時期も予測できない突然の死亡である。よって、突然死は誰でも起こりうる可能性があり、突然死を回避するためには、それを予知し、予防手段を講じる必要がある。今回、突然死の最たる原因疾患であるIHDの研究として、薬剤溶出性ステントを用いた経皮的冠動脈形成術（PCI: percutaneous coronary intervention）を施行された虚血性心疾患患者におけるステントストラットの早期被覆化の検討（研究Ⅰ）を行った。そして冠動脈疾患罹患患者の二次予防として新たな心疾患イベントの出現を予知するバイオマーカーの検討を行い（研究Ⅱ）、また突然死の原因でありながら、病態の解明がまだ不十分であり、1次予防として確立した治療が存在しない不整脈死に関して、自律神経の観点から着目し、新たなペプチドホルモンの測定を行い、検討した（研究Ⅲ）。具体的には、下記のような内容でそれぞれ研究を行った。

### ◆研究Ⅰ

薬剤溶出性ステント治療における早期被覆化の検討

### ◆研究Ⅱ

冠動脈疾患罹患患者における、心血管病の進展を予知しうる新たなバイオマーカーの検討

### ◆研究Ⅲ

神経調節性失神におけるサリューシン-βの役割についての検討

## 研究 I. 薬剤溶出性ステント治療における早期被覆化の検討

### 薬剤溶出性ステント治療における早期被覆化の検討

#### 2-1. 背景

虚血性心疾患における経皮的冠動脈形成術（PCI：percutaneous coronary intervention）は薬剤溶出性ステント（DES：drug-eluting stent）が汎用されている。DES の使用により PCI 後の再狭窄率は低下し、治療における長期ステント開存成績が改善している。一方で抗血小板薬多剤併用の服用期間が不明瞭であることや、DES による遅発性ステント血栓症などが今後解決すべき課題として残されている。AHA/ACC のガイドラインでは DES 留置後に 1 年間の DAPT（double antiplatelet therapy: 抗血小板薬の 2 剤併用）が推奨されているが、未だその適切な服薬期間においては明確なコンセンサスは得られていない。DAPT の長期服用に伴う出血性合併症リスクを検討した BAT Study (The Bleeding with Antithrombotic Therapy Retrospective Study) では、DAPT 群ではアスピリン単剤と比較し約 2~3 倍発生リスクが増加することが報告されている<sup>3)</sup>。また、To AC らの報告では、年齢を追うごとに出血性合併症の頻度は増加しており、高齢患者における多剤併用は更にハイリスクと考えられる<sup>4)</sup>。抗血小板薬の内服中断、非被覆化ストラットの血栓付着やポリマー惹起性の炎症反応などが原因と考えられている遅発性ステント血栓症も DES においては重要な問題である。明確な原因が不明であり、その根本的な予防方法は未だないことから、抗血小板薬の内服継続が推奨されているのが現実である。

本邦では 5 種類の DES [第 1 世代（SES; sirolimus-eluting stent 及び PES; paclitaxel-eluting stent）、第 2 世代（ZES; zotarolimus-eluting stent 及び EES; everolimus-eluting stent、BES; biolimus-eluting stent）] の DES がある。ZES は、ステントにコーティングされているホスホリルコリン（PC）ポリマーが高い生体適合性を有していることや、薬剤の溶出が 2 週間で完了と短期間であることから、新生内膜による被覆化が早期より生じ、より BMS（bare metal stent）に近い早期ステントストラット被覆化が得られる可能性が示唆されている<sup>5,6,7)</sup>。Kim らは、光干渉断層法（OCT: optical coherence tomography）を用いて ZES のストラット被覆化を評価し、留置 3 か月後ではほぼ 100% の被覆化を認め、ステント内再狭窄が進行する可能性は低かったと報告している<sup>8,9,10)</sup>。また、同じ第 2 世代である EES では Inoue らによると、留置 8 か月後で 98.4% の被覆化を認めたと報告している<sup>11)</sup>。そして同じく第 2 世代の BES は、ステントに生体吸収性のポリマーであるポリ乳酸（poly lacted acid; PLA）が使用されており、ポリマーが冠動脈内に遺残するためと考えられる慢性期の炎症反応を回避することができ、このポリマーマトリックスは 9-12 か月で吸収されると考えられている。さらにこの DES の最大の特徴は、ポリマーマトリックスは血管壁側だけに塗布されてい

る点である。現在の報告では、BES 留置後 9 か月後で 97.2%の被覆化を認めたとの報告がある<sup>12)</sup>。このように様々な特徴がある DES のステントの被覆化過程はステント血栓症の発症機序とも密接な関連があると考えられ、これを正確に評価することは、DAPT の継続期間の決定に有用な情報を与える可能性がある。現在までに、ステント留置 3 か月以降の、中または長期のストラット被覆化の観察は行われているものの、留置後 3 か月以内の超短期評価に関する報告はない。

そこで本研究は、OCT を用いて第 2 世代 DES (EES 及び BES) 留置後 3 か月以内のステントストラットにおける早期被覆過程の経時的推移と、ステントの種類による早期被覆過程の差異を調査し、DES の使い分けを検討することを目的とした。

## 2-2. 方法

### 2-2-1. 対象及びプロトコール

当院で 2010 年 7 月から 2011 年 10 月までに IHD に対し PCI をされた 461 例のうち、急性心筋梗塞を除く待機的 PCI 施行症例を対象とした。この中で、冠動脈造影にて多枝病変を有し（左冠動脈主幹部病変を除く）、第 2 世代 DES を用いた待機的 PCI を少なくとも 2 回以上予定されている安定狭心症患者または急性心筋梗塞を除く急性冠症候群 (ACS: acute coronary syndrome) 患者、連続 26 症例 (BES 11 例、EES 15 例) に対し、2 回目の PCI 時に 1 回目のステント留置部位を OCT にて観察しその解析を行う、臨床前向き横断研究とした。

### 2-2-2. 評価項目

#### (1) 患者背景及び心臓カテーテル検査所見

患者背景は、年齢、性別、疾患名（狭心症か急性冠症候群）、BMI (Body Mass Index)、冠危険因子の既往歴（高血圧症、脂質異常症、糖尿病、慢性腎不全、喫煙）に関して評価した。心臓カテーテル検査における冠動脈病変の評価項目は、病変数（合計）、病変部位（右冠動脈、左冠動脈前下行枝、左回旋枝）、狭窄率（%）、ステント数（合計）、ステント径（mm）、ステント長（mm）とした。評価時期は、1 回目の治療後にランダムに 2 回目の待機的 PCI（1 回目の治療から 1, 2, 3 か月後のいずれか）の時期を決定し、2 回目の治療の際に被覆過程を評価した。

#### (2) 光干渉断層法による測定方法

被覆化は、血管内 OCT imaging system (M3 system, LightLabo Imaging Inc, Westford, MA, USA) を用い、1mm 間隔の断面解析で行った。各スライスにおいて、血管内腔 (lumen area)、ステント内腔 (stent area) をトレースし、新生内膜厚 (NIH: neointima hyperplasia)、% NIH [neointimal hyperplasia:  $100 \times (\text{stent area} - \text{lumen area}) / \text{stent area}$ ]



を計測した。またステント被覆化評価は、横断面におけるストラットを4パターン [圧着評価 (well-apposition or malapposition) と新生内膜被覆の有無 (with neointima or without neointima) ] に分け、観察しうるストラットを全て数えて評価した。Malapposition は EES ストラット厚 (90 $\mu$ m) +20 $\mu$ m 以上、BES ストラット厚(130 $\mu$ m) +20 $\mu$ m 以上、ストラットと血管壁の圧着が不良である所見とした<sup>12)</sup>。主要評価項目は OCT による 1, 2, 3 か月後のステントストラットの被覆率 (%) とした。また、それぞれの断面解析で血栓の有無も確認した。

### 2-2-3. 統計学的解析

連続値は平均値 $\pm$ 標準偏差で表記し、比較には ANOVA を用いた。分類データは出現頻度を表記し、 $\chi^2$  検定を用いた。P 値は 0.05 未満を統計学的有意と判断した。

## 2-3. 結果

### 2-3-1. 患者背景及び心臓カテーテル検査所見

疾患は BES、EES とともに安定狭心症に加え、不安定狭心症も含まれていたが、両者に有意な差は認めなかった。平均年齢：61-69 歳、冠動脈疾患の危険因子など、両者間で各月における患者背景に統計学的有意差は認めなかった。冠動脈病変では、病変数、病変部位、狭窄率 (%) は両群間で有意差は認められなかった。ステントに関しては、留置 3 か月後のステント数が少なかったが、ステント径やステント長も含め、統計学的有意差は認められなかった (表 1)。

### 2-3-2. ステントストラットの被覆率

EES、BES とともに被覆化の割合は経時的に増加傾向であった。また、図 1 に示すように新生内膜を伴い血管壁に圧着しているストラット数 (well-apposition with neointima) の割合は EES に比べ BES ではより早期から被覆化を認めた [EES:BES 被覆率 (P 値) 1 か月後 ; 39.1 : 58.2% (P<0.05)、2 か月後 ; 45.5 : 76.8% (P<0.01)、3 か月後 ; 61.2 : 76.3% (P<0.01)、図 1]。血栓は 5 例に認められたが、ステント血栓症は観察期間中の発症は認められなかった [血栓像 : EES 2 例 (1, 2 か月後)、BES 3 例 (1, 2, 3 か月後)]。新生内膜による被覆化に関しては、平均の NIH は 1, 2, 3 か月の BES において有意に増加を認め、これに伴い % NIH も 1, 2 か月において、有意に BES 群で大きかった (表 2)。また図 2 に示すように、3 か月後の BES における新生内膜の性状はステントストラット周囲を中心に高輝度の組織で描出された (図 2)。

## 2-4. 考察

#### 2-4-1. 薬剤溶出性ステントによる被覆率の差異

NOBORI Study の結果から、BES は第一世代 DES (PES) と比較して、ステント留置後 9 か月後のステント内 Late Loss、主要心血管イベント・心臓死などにおける非劣性や、BES に対する安全性が確認され、ステント血栓症に関しても、2 年後の時点でも、PES 群は 4%であったのに対して、BES 群は 0%と安全性は継続していた<sup>13)</sup>。また昨年報告された、SORT OUT V 試験の結果においても、BES は第一世代 (SES)と比較して、主要心血管イベント・心臓死などにおける非劣性が 2012 年の EuroPCR2012 で発表された。

今回の我々の検討では、BES 留置 3 か月後におけるストラット被覆化は 76.3%の状態であったが、これまで報告されたデータは 9 か月までのものであり、3 か月の早期のデータを解析したものはない。また、第二世代 DES の中でも、今回の結果から、BES は 1 か月後では、約 6 割で被覆化を認めるのに対して、EES では約 3 割弱と有意な差を認めていた。BES と EES は、生体適合性の高いポリマーはリムス系薬剤の溶出である点などは共通しているが、BES の場合は、生体吸収性のポリマーを採用し、また薬剤をステント血管壁接触面のみにコーティングするといった違いがあり、この違いが今回の結果に結びついたと思われる。EES などの既存の DES では、薬物の放出が終わった後も、薬物担持体(ポリマー)が恒久的に残存し続け、ポリマーに対する恒常的な異物反に基づく遠隔期の血栓症などの潜在的リスクの懸念が払拭できないため、BES では、一定期間内に消失する生分解性ポリマーを採用している。また、BES はステント血管壁接触面のみにコーティングする事 (abluminal coating) で薬物を効率的に内膜増殖反応の起こる血管壁側のみに移行させ、全身暴露レベルの低減と血管内腔側の再内皮化遅延作用減弱効果により、超遅発性ステント血栓予防が期待できる構造となっている。よって、両ステントにおけるストラット被覆化過程の差異は stent coating の差異が早期の被覆化の差に関連しているのではないかと思われる。

この結果から、特に 3 か月未満の第 2 世代 DES 留置後における DAPT 中断に関して、BES はステント血栓症のリスク要因と考えられる非被覆化ストラットが EES と大きな差があることから、至適 DAPT 期間が DES 毎に異なっていく可能性がある。一方で、特に病理学的側面からステントを被覆している新生内膜の性状が通常の BMS で見られる被覆組織とは異なるのではないかとの意見もあり、ステントストラットの完全被覆化現象がステント血栓症の発症リスクを完全に払拭できるのかどうかについては今後も慎重に議論されるべきである。

#### 2-4-2. 抗血小板薬内服期間と薬剤溶出性ステント

現在、DES 留置後の至適二剤併用抗血小板療法剤期間の検討が盛んに行われており、EES に関しては、韓国において RESET 試験 (Randomized Evaluation of Sirolimus-eluting versus Everolimus-eluting stent Trial、前向き無作為化試験、n = 2120)

で ZES、ZES-Resolute、SES、EES 留置後、DAPT 期間 3 か月と 12 か月における主要心血管イベントの比較研究が行われている。日本においては、NIPPON (Nobori dual antiplatelet therapy as appropriate duration, n=4598) 試験という名前で、BES 留置後、DAPT6 か月群と 18 か月群の 3 年間のイベントを比較する前向き多施設共同並行群間比較試験が行われ、EES は、STOP DAPT (short and optimal duration of dual antiplatelet therapy study, n=1500) 試験が今後実施予定となっている。

DAPT 中断によって、ステント血栓症・大出血・主要心血管イベントなどの主要評価項目に差を認めるか、これら無作為比較試験の結果が待たれる。

## 2-5. 研究の限界

本研究はいくつかの limitation が挙げられる。第一に、各時期での症例数が 10 例未満と症例数が限られている点である。第二に、新生内膜の被覆化の観察のみであり内皮機能評価を施行していないため、被覆化された組織が安定した内皮機能を持つかどうかの評価ができていない点である。第一の課題に関しては、現在症例数を増やし研究を継続しており、第 2 の課題に関しては、Pendyala LK の報告によると、豚の血管モデルでの研究ではあるが、BES 留置 1 か月後で SES と比較して、血管内皮機能や炎症反応に関して、早期に改善することが証明されている<sup>14)</sup>。そして、藤井らの報告によると ZES 留置 3 か月後でアセチルコリン負荷試験を施行し、認められた新生内膜の内皮機能の評価した結果安定性が証明されている<sup>15)</sup>など、他の stent の血管内皮機能も検討されてきている。

また 2011 年 6 月 26 日付けで厚生労働省より急性心筋梗塞に対しても DES 使用の制限が解除される勧告が出たため、当施設では、急性心筋梗塞における DES のステントストラットの早期被覆過程の検討も新たに開始している。今後、本研究をさらに飛躍させつつ継続していくことで、より臨床的意義の高い研究になると考えられる。

## 2-6. 結語

BES 及び EES における 3 か月以内の超短期ステントストラット早期被覆化過程を OCT により経時的に評価した。DES が汎用されている今、長期の DAPT に伴うリスクが危惧される高齢者や、ワーファリン内服併用が必要で抗血小板薬を早期に離脱したい症例（脳梗塞・心房細動・血栓症関連疾患・大血管や心臓疾患の外科的治療後など）などに対し、DAPT の中断に対するリスク評価のひとつとして、また PCI 施行時の DES 選択において参考になる研究と考えられる。

## 研究Ⅱ．冠動脈疾患罹患患者における、心血管病の進展を予知しうる新たなバイオマーカーの検討

### 冠動脈疾患罹患患者における、心血管病の進展を予知

#### しうる新たなバイオマーカーの検討

##### 3-1. 背景・目的

心不全を患った患者は、通常次第に症状の悪化や活動性が低下していき、しばしば肺鬱血を伴う急性心不全を引き起こす事がある<sup>16)</sup>。また、心不全患者の罹患率は世界中で増加し続け、それに伴い、医療費も増額し続けている。そして、心不全の原因の多くは、心筋梗塞などの冠動脈疾患罹患患者 [coronary artery disease (CAD)] であり、その他、高血圧性心疾患、または大動脈狭窄症のような心臓に慢性的な心負荷がかかることで、心筋障害や過剰な血行動態の悪化に伴うストレスが起こり、心臓リモデリングが進行していく<sup>17)</sup>。心臓リモデリングは、心筋細胞のアポトーシスや心筋負荷が過剰に増加する事で、心肥大、収縮不全が引き起こされる事に起因される<sup>18-20)</sup>。また、病理学的な左室リモデリングは、神経体液因子の発現と密接に関連していることが考えられ、これは心筋障害や左室心筋負荷、また血行動態の変動が大きくなる事で、神経体液因子の発現が制御されている事がわかっている<sup>21)</sup>。Fms-like tyrosine kinase 1 (Flt-1) は、チロシンキナーゼの受容体であり、血管内皮増殖因子 [vascular endothelial growth factor (VEGF)] の receptor family の一つである<sup>22)</sup>。また Soluble Flt-1 (sFlt-1) は、VEGF-A や動脈硬化を促進させると考えられている、胎盤増殖因子である placental growth factor (PlGF) の内因性の拮抗物質である<sup>22)</sup>。Flt-1 の遺伝子からは alternative splicing によって膜結合ドメインが欠損し、リガンドとの結合に必要な細胞外ドメインだけからなる sFlt-1 が翻訳され、血中・組織液中の sFlt-1 は、遊離型の PlGF あるいは VEGF と結合し、これらのリガンドが細胞膜上にある VEGF 受容体と結合することを阻害している<sup>24,25)</sup>。また PlGF 値と sFlt-1 値の比は、臨床的に重症の冠動脈疾患と関連する事が報告され<sup>26)</sup>、胸痛を伴った患者や急性冠症候群の患者においては、心筋梗塞を発症すると PlGF 値がより高くなる事が報告されており、その後の経過で PlGF 値が高値になると、長期的な予後の悪化が高まる危険性に関連している<sup>27-29)</sup>。しかしながら、健常者と比較して、急性心筋梗塞患者における PlGF の内因性の拮抗物質である sFlt-1 値が高値を示すという報告や<sup>30)</sup>、心筋梗塞発症後の急性期においては、sFlt-1 値は低値を示すといった、全く矛盾した結果の研究が報告されているのも事実である<sup>31,32)</sup>。このような先行研究から PlGF や sFlt-1 値は、慢性心不全患者の重要なバイオマーカーになり得るかもしれないが、どちらの要素も心不全患者において、十分な研究はされていないのが現状である。一つ挙げるとすると、PlGF 値が虚血性心不全患者の the New York Heart

Association (NYHA) 分類と正の相関といった 98 人の横断研究があるなど<sup>33)</sup>、このような VEGF は心血管のリモデリングや動脈硬化の進展を起こしうるという報告があるのみであり、その内因性阻害因子である sFlt-1 に関して、心疾患との関わりには不明な点が多い。よって、今回 sFlt-1 値に注目し、sFlt-1 が心肥大や、血管新生、アテローム発現への強い効果のため、これが CAD 患者の左室リモデリングと関連していると仮定し、CAD 患者との関係を検討した横断研究を行った。この研究は、CAD 患者や、冠動脈疾患の高リスク患者において、sFlt-1 値が心臓リモデリングを引き起こす、有益なバイオマーカーとなり得るかどうかを説明することを目的とした。

### 3-2. 方法

#### 3-2-1. 対象患者

心臓病発症・再発予防を目的とする地域連携疾病管理システムを統括する北里大学東病院二次予防センターにおいて、登録患者 3100 名のうち、本人の同意が得られ、かつ、過去の血液検体が保存され、検体が回収できた、121 症例の中で、冠動脈疾患罹患者および心血管高リスク患者 88 名を対象とした。

除外基準として、過去の検体が保存、また回収する事ができない者、歩行困難な整形外科的疾患・中枢神経疾患を有する者、認知症を有する者、精神疾患を有する者、重症肝不全・腎不全、担癌患者、炎症疾患を有する者は対象から除外した。

#### 3-2-2. 測定項目

##### 1) 臨床的背景因子

臨床的背景因子として、年齢、性別、身長、体重、BMI、収縮期血圧、拡張期血圧、冠危険因子を調査した。冠危険因子は、収縮期血圧 $\geq 140\text{mmHg}$  または拡張期血圧 $\geq 90\text{mmHg}$ 、あるいは降圧薬を服用している場合を高血圧、空腹時血糖 $\geq 126\text{mg/dL}$  およびヘモグロビン A1c (HbA1c)  $\geq 6.1\%$  (JDS 基準)、あるいは糖尿病治療薬を服用している場合を糖尿病、LDL コレステロール (LDL-C)  $\geq 140\text{mg/dL}$ ・HDL コレステロール (HDL-C)  $< 40\text{mg/dL}$ ・中性脂肪 $\geq 150\text{mg/dL}$  のいずれかを有する、あるいは高脂血症治療薬を服用している場合を脂質異常症、現在喫煙している場合を喫煙、BMI $\geq 25\text{kg/m}^2$  の場合を肥満、心筋梗塞・狭心症の既往がある場合を冠動脈疾患の既往と定義した。

##### 2) 血液生化学検査

血液は採血前日の夜から 12 時間以上の絶食後に採取し、脂質代謝指標として LDL-C、HDL-C、中性脂肪、糖代謝指標として HbA1c、心不全評価として Brain natriuretic peptide (BNP) を測定した。sFlt-1 の測定は、the Human sVEGF R1/Flt-1 Immunoassay Quantikine ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) を用いて測定した。

### 3) Perfusion SPECT

electrocardiography-gated single-photon emission computed tomography (SPECT) をもとに左室容積や収縮、拡張機能や左室壁厚を含む左心機能は、一般的に用いられている心臓核医学のソフトウェアを使用して分析した。心臓核医学検査は、北里大学東病院二次予防センター登録時や、1 年毎の定期検査の際、多くの CAD 患者に対する一般的なプロトコールに沿って行われている。

#### 3-2-3. 評価手順

評価手順としては、北里大学東病院二次予防センターに登録した年度の患者の採血検体、および検査結果を測定開始時と定義した。登録開始から 5 年後の患者の採血検体、および検査結果を比較対象項目とした。

#### 3-2-4. 統計学的解析

5 年間における、各測定項目の比較には、対応のある  $t$  検定を用いて検討した。さらに、5 年間の各測定項目の差分から変化量 ( $\Delta$ ) を算出し、ピアソンの積率相関係数を用いて相関関係を検討した。統計ソフトは SPSS12.0J for Windows を用い、統計学的有意水準は 5%未満とした。

### 3-3. 結果

#### 3-3-1. 臨床的背景因子および 5 年間の各測定項目

対象者の臨床的背景因子、および 5 年間の各測定項目の変化を表 3 に示す。表 3 のように CAD 患者は 65.9%、既往歴に高血圧、脂質異常症、糖尿病、また心筋梗塞罹患歴のある患者はそれぞれ、59.1%、70.5%、28.4%、35.2%であり、測定開始時の血清 sFlt-1 値は、 $189.6 \pm 95.5$  ng/mL であった (表 3)。5 年間にて、sFlt-1 値に有意な低下がみられた ( $P<0.01$ )。また、北里大学 2 次予防センターに登録された患者のデータを地域 270 診療所との連携を密にした我が国初の心臓二次予防活動を行い、LDL-C が、5 年間で低コレステロールの食事療法により、有意な改善を示したが ( $P<0.01$ )、body mass index (BMI) や中性脂肪、HbA1c、BNP 値に関しては、有意な変化はみられなかった。

#### 3-3-2. 冠動脈罹患患者においての sFlt-1 値

sFlt-1 値は、女性 ( $160.1 \pm 34.3$  ng/mL) と比べて男性 ( $200.7 \pm 108.0$  ng/mL) の方が、有意に高い値を示していた ( $P<0.01$ )。図 3 に示すように、sFlt-1 値は CAD 患者において、非 CAD 患者と比べて有意な高値を示した[127% increase;  $P<0.01$ 、(表 4)]。その上、sFlt-1 値は、陳旧性心筋梗塞罹患患者においては、非罹患患者と比べて 140%高い値を

示していた ( $P<0.01$ )。そして、対象患者を測定開始時の sFlt-1 値に基づき、高値群と低値群の 2 群に分けて評価を行ったところ、2 群間では患者背景では陳旧性心筋梗塞の既往、検査データでは estimated glomerular filtration rates (eGFR)、5 年後の BNP 値で有意な差が見られた (表 5)。

### 3-3-3. 血清 sFlt-1 値と $\Delta$ BNP の関係

対象患者全てにおいて、測定開始時の sFlt-1 値と測定開始時と 5 年後の間の BNP の変化量( $\Delta$ BNP)に有意な相関は見られなかったが、CAD 患者や男性、そして陳旧性心筋梗塞罹患患者、高血圧症、脂質異常症罹患患者において、両者間で有意な相関が見られた [ ( $r=0.303$ ,  $P<0.05$ )、( $r=0.295$ ,  $P<0.05$ )、( $r=0.558$ ,  $P<0.01$ )、( $r=0.291$ ,  $P<0.05$ )、( $r=0.311$ ,  $P<0.05$ ) ]。その中で、糖尿病罹患患者には、両者間に相関関係は見られなかった ( $r=0.179$ ,  $P=0.393$ )。

### 3-3-4. 冠動脈罹患患者における心臓リモデリング

前述の通り、CAD 患者において、弱いながら sFlt-1 と  $\Delta$ BNP の間に有意な正の相関が見られたことにより、心臓核医学検査を用いて、心臓リモデリングについて評価した。CAD 患者の中で 58 名中、42 名の患者 (72.4%) が、心筋 perfusion SPECT を施行されており、心臓リモデリングの評価として、安静時 SPECT で検出される、左室収縮終末期容積係数 [left ventricular end-systolic volume index (ESVI)] の年ごとの変化率 ( $\Delta$ ESVI/年) を用いた。図 4A で示した通り、 $\Delta$ ESVI/年は CAD 患者の  $\Delta$ BNP と有意な正の相関が見られた ( $r=0.379$ ,  $P<0.05$ )。加えて  $\Delta$ ESVI/年は、CAD 患者での左室駆出率 [left ventricular ejection fraction (EF)] の年ごとの変化率 ( $\Delta$ EF/年) と強い負の相関が見られた (図 4B)。

### 3-3-5. 有益なバイオマーカーとしての sFlt-1 値

対象患者を冠動脈罹患しているか否かをもとに 2 群に分けたところ、2 群間で、HbA1c, eGFR, sFlt-1, sFlt-1/PIGF, そして高血圧の有無で有意な差が見られた (表 4)。また高 sFlt-1 群において、 $\Delta$ BNP 値は sFlt-1 値と相関がみられ ( $r=0.456$ ,  $P<0.01$ )、その中で冠動脈罹患患者に対象を絞るとより強い相関が見られた ( $r=0.511$ ,  $P<0.01$ ) が、低 sFlt-1 群では相関関係は見られなかった ( $r=-0.237$ ,  $P=0.381$ )。そして、今回の研究結果からは、糖尿病、高血圧症、脂質異常症、年齢、性別を含めた、いかなる冠危険因子と sFlt-1 値の間に有意な相関は見られず、患者群を冠危険因子 (糖尿病、高血圧症、脂質異常症、慢性腎臓病、BMI30 以上の肥満) の積算数をもとに比較してみても、血清 sFlt-1 値、PIGF 値、いずれも冠危険因子や積算数ともに有意な相関は見られなかったが、多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、sFlt-1 値は BNP 上昇の独立因子であった (表 6)。また図 4C で示した通り、sFlt-1 値は、5 年後の BNP 上昇を予見するバイオマーカー

一となり得る可能性がある。

### 3-4. 考察

この研究は、CAD 患者において、sFlt-1 が 5 年後の BNP の増加や左室リモデリングとの関連を示した初めての報告である。この結果はまた、高 sFlt-1 値が BNP の上昇の独立した予測因子となることを示した。これらの結果は、CAD 患者による心不全の進行を予測する効果的なバイオマーカーとなり得る可能性がある。そして、より多くの臨床データが必要であるが、この結果は sFlt-1 が心臓リモデリングや臨床経過の予測としての有益なバイオマーカーとしての役割を果たすことを支持する報告となりえると考えられる。血漿 BNP 値が症候性の左室収縮不全を引き起こした患者において上昇する事や<sup>34,35)</sup>、NYHA 分類の進行と関連していることは知られている<sup>36,37)</sup>。それに加えて、左心機能低下の程度に関わらず、血漿 BNP 値は陳旧性心筋梗塞、心筋症、弁膜症、高血圧性心筋症や心房細動といった、様々な心疾患を患った患者で上昇が見られることも知られている<sup>34,38)</sup>。それゆえ、血漿 BNP 値は、中等度から重症の心不全を引き起こしうる器質的な心疾患を患っている高リスク患者だけでなく、無症候性の軽症心不全の患者を選び出す事ができるような、スクリーニングとしては、非常に有益なバイオマーカーとなっている<sup>39)</sup>。そして、これまで血管新生のバイオマーカーと BNP 値との関係を記した研究は存在しなかったが、この研究が初めて sFlt-1 値が 5 年後に BNP 値が上昇する事と強い関連を示した。

この結果の臨床的意義と、考え得るメカニズムに関しては次に考察してみる。動物実験モデルでは、VEGF/Flt-1 シグナルが心不全の進行過程を規定するようないくつかの重要なメカニズムに関して述べている。VEGF リガンドがそれぞれの受容体に結合することに伴い、活性化した二量体の分子内キナーゼによって、レプターの自己リン酸化が生じ、細胞内にシグナルが伝達される。また、Flt-1 の遺伝子からは *alternative splicing* によって膜結合ドメインが欠損し、リガンドとの結合に必要な細胞外ドメインだけからなる sFlt-1 が翻訳される。血中・組織液中の sFlt-1 は、遊離型の PlGF あるいは VEGF と結合し、これらのリガンドが細胞膜上にある VEGF 受容体と結合することを阻害する事で、血管新生を制御している<sup>40-43)</sup>。今回の研究では、sFlt-1 値は腎機能障害との関連は見られなかったが、sFlt-1 値は糸球体機能を悪化させる事で、心腎連関の悪化に大きく関わっていることを報告しているいくつかの論文がある。また過去の研究においても、Di Marco らは、sFlt-1 値が腎機能障害と独立した予測因子と報告している<sup>44)</sup>。また実験動物モデルにおいて、妊娠動物モデルに sFlt-1 を負荷すると、血管内皮障害や高血圧症、そして腎機能障害を引き起こすことが分かっている<sup>25,45)</sup>。これらの結果は sFlt-1 の抗血管新生作用が、低下した腎臓や心臓において、補完的な血管新生作用に影響を及ぼしている事を示唆している。



そして、これまでの研究では、無症候性心不全患者において sFlt-1 値が上昇するメカニズムが十分に理解されていなかったが、副腎皮質から分泌されるアルドステロンに着目して検討してみる。アルドステロンは、ミネラルコルチコイド受容体(MR)を活発にさせ、ナトリウムの再吸収を促進させるステロイドホルモンである<sup>46)</sup>。またメカニズムは十分に解明されていないが、臨床的試験にてアルドステロン拮抗薬は、心血管病や死亡率を減らしているという報告がある<sup>47,48)</sup>。血管内皮障害を伴ったマウスの血管や動脈硬化疾患を患っている患者の血管では、アルドステロンは PIGF やその受容体である Flt-1 の発現を高めたり、MR 拮抗薬は PIGF の発現を弱めるという報告もある<sup>49)</sup>。またマウスの頸動脈障害モデルでは、アルドステロンの負荷により、血管リモデリングを助長させ<sup>49)</sup>、PIGF ノックアウトマウスでは、その効果が失われるという報告もある<sup>49)</sup>。このことから PIGF は、血管リモデリングだけでなく、心不全において、アルドステロンに関連した血管新生を調節する血管 MR を標的とした、ダウンストリームとなり得ると考えられる。これらの結果は、腎機能には起因しない、アルドステロン拮抗薬の血管保護作用を示唆するだけでなく、虚血性心不全や心臓リモデリングにとって、血管の aldosterone/MR/PIGF/Flt-1 といった一連の経路を標的とする治療を可能性に対する重要な裏付けとなり得る可能性があり、非常に臨床的意義のある研究と考える。

### 3-5. 研究の限界

この研究の最大の焦点は、sFlt-1 と BNP 値との間に予測的な関連を表すことが出来た初めての報告である事である。しかしながら、この研究にはいくつかの限界があるのも事実である。一つ目として挙げられるのは、sFlt-1 値と BNP の上昇との間に有意な相関がある事を示したが、この研究で示した関係が極めて強いものではなく、他の危険因子への付加的な影響が解明されていないことである。二番目として、これは観察研究であるため、sFlt-1 や PIGF のバイオマーカーとしての評価が、ある一つの定点だけの検討で行われている事である。バイオマーカー値をより連続的な変化の検討を加えることで、この結果はより臨床的に有益なものとなり得る可能性がある。三番目として、この研究の対象患者が多くの内服加療されており、患者背景が完全にそろえることが出来ていないことである。対象患者が多くなり、またフォローアップ期間を長くなれば、この研究はより多くの変数でも統計学的な有意差を得ることが出来たかもしれない。

### 3-6. 結語

5 年間にわたる研究によって、sFlt-1 値が冠動脈疾患罹患患者において、増加し、また高 sFlt-1 値が BNP の上昇と関連することを証明した。その上、冠動脈罹患患者に

において、 $\Delta$ BNP 値は、測定開始時が高い sFlt-1 値を示した場合、 $\Delta$ ESVI/year と関連することが分かった。これらの結果は、冠動脈罹患患者において、高 sFlt-1 値は、心不全を進行させる有益なバイオマーカーとなり得る可能性を示している。

研究Ⅲ：神経調節性失神における多機能内因性生理活性ペプチド、サリューシン  $\beta$  の病態生理学的意義の解明

## 神経調節性失神における多機能性内因性生理活性ペプチド、

### サリューシン- $\beta$ の病態生理学的意義の解明

#### 4-1. 背景・目的

医学的に突然意識を失うことを失神と呼ぶが<sup>50)</sup>、失神の原因の一つに神経調節性失神 (neurally mediated syncope: NMS) がある。神経調節性失神は心血管系および中枢神経系に原因はなく、他の原因疾患も明らかでない失神発作の多くを占め<sup>51)</sup>、その診断にはヘッドアップチルト試験 (Head-up Tilt test) が非常に有用であることが証明されている<sup>52,53)</sup>。80 度のチルトテーブル (傾斜台) に患者を乗せ、20~30 分間、血圧、心拍数、心電図をモニターする。起立だけでは、失神が誘発されない場合、さらに  $\beta$  刺激薬を持続投与して、失神を誘発する<sup>54)</sup>。心疾患のない患者で、発作に先行する頻脈と血圧低下、徐脈、失神が誘発されれば、ヘッドアップチルト試験陽性とし、 $\beta$  遮断薬などの治療が有効である<sup>55,56)</sup>。本疾患は自律神経の過剰反射による循環応答異常が原因と考えられており、ヘッドアップチルト試験で自律神経の調節異常の起こりやすさを診断するが、その詳細な機序については明らかになっていない。共同研究者 七里らが発見したサリューシン- $\beta$  は、未知の副交感神経刺激因子であると考えられ、その全身投与により、心原生ショック様の病態を生じることが明らかになっている<sup>57)</sup>。しかしながら、その機序やヒトの病態にどのように関わっているかについては、これまでのところ不明である。そこで、本研究では、神経調節性失神が起こる機序として副交感神経の過剰興奮が起こることから、サリューシン- $\beta$  が本病態の原因物質ではないかと推測し、神経調節性失神におけるサリューシン- $\beta$  の病態生理学的役割を明らかにすることを目的とした。

#### 4-2. 方法

##### 4-2-1. 対象及びプロトコール

対象は2010年4月から2012年3月までに北里大学病院循環器内科に入院あるいは通院中の患者のうち、医学的に神経調節性失神を疑い、ヘッドアップチルト試験が必要とされる患者30人を対象とする前向き観察研究（ランダム化、群分け、介入いづれもなし）である。対象患者には、文章による説明を行い、同意が得られた患者について、ヘッドアップチルト試験中に、検査のために挿入している動脈ラインから経時的に採血を行う。血液検体のサリューシン- $\beta$ 濃度とカテコラミンを測定して、これが神経調節性失神の原因物質ではないかどうかについて検討した。

プロトコールとしては、下記に記載した（図5）。採血は、試験前①、試験中②～⑨、試験終了時⑩の10回、それぞれ2mlずつを血漿と血清検体に分注し、計40 mL行う。試験終了後、遠心分離、凍結処理の後、血中カテコラミン3分画とサリューシン- $\beta$ を測定した。なお試験中の早い段階で失神が誘導された場合には、それ以降の採血は省略し、回復期⑩のみの採取とする。

【具体的な血液採取のタイムスケジュール】

- 1) 臥位 15分 ←検査前採血①
- 2) 立位（\*80°傾斜）30min ←立位5分②、10分③、20分④、30分⑤
- 3) 薬物負荷・臥位（lsp 0.01  $\gamma$ ）10分 ←薬物負荷10分⑥
- 4) 薬物負荷・立位（lsp 0.01  $\gamma$ ）10分 ←薬物負荷・立位3分⑦、5分⑧、10分⑨
- 5) 回復期（臥位）：症状消失後、バイタル安定したところで検査後採血⑩

#### 4-2-2. ヘッドアップチルト試験および診断基準

前日より、入院のうえ、ヘッドアップチルト試験前は禁食とする。圧バッグ、点滴等の備品を準備し、病棟にて動脈ラインを挿入のうえ、車いすで検査室に移動する。ヘッドアップチルト試験の結果には、日差変動がある事も指摘されているため<sup>58,59)</sup>、開始時間は午後1時半で統一して検査を行った。検査は準備・記録担当者のほかに、循環器内科医師2名以上が担当する。ヘッドアップチルト試験の診断基準は、ESC2009に記されているガイドラインに沿って診断した<sup>60)</sup>。

#### 4-2-3. 被験者の安全対策

本研究は通常臨床で行われている、ヘッドアップチルト試験のプロトコールに基づいて検査を行う際に、合わせて同時に血液を採取した。本試験は失神を誘発する試験であり、血圧低下や徐脈や心停止を来すため、気分不快を伴うが、チルト位から臥位への体位変換や薬物投与の中止のみで回復する場合が多い。被験者の安全対策として、本試験では、心電図連続モニターを装着するとともに、随時血圧モニターのための動脈ライン

と末梢静脈ラインの両者を確保したうえで、必要があれば、硫酸アトロピンなど即座に薬物の静脈投与が可能な状態で行った。検査室には救急カートと電氣的除細動器を常備し、迅速な対応が取れる体制で行った。

#### 4-2-4. 評価項目

##### (1) 患者背景及び検査項目

患者背景は、年齢、性別、BMI (Body Mass Index)、入院時の血圧、脈拍、既往歴 (高血圧症、脂質異常症、糖尿病) に関して評価した。また入院時の検査項目として、採血項目は LDL-C, HDL-C, 中性脂肪 (TG), HbA1c, BNP を、また動脈硬化評価として、血圧脈波検査 【脈派伝播速度[Pulse Wave Velocity(PWV)]】、足関節上腕血圧比 [Ankle Brachial Pressure Index(ABI)]を評価した。

##### (2) サリューシン- $\beta$ 血中濃度測定

これまで、サリューシン- $\beta$  の測定には、実験結果の再現性に確証が持てないような不安定な結果が得られていたが、今回、東京医科歯科大学保健衛生学研究科先端血液検査学の藤本先生らが、サリューシン- $\beta$  の酵素免疫吸着測定系を確立し、今回の研究の全ての検体を藤本先生のご協力を頂き、サリューシン- $\beta$  を測定した。

##### (3) 心拍変動による自律神経機能成分

NMS 発症には、自律神経異常についての報告も多く<sup>61)</sup>、ヘッドアップチルト試験中に自律神経評価も同時に行った。非侵襲的に自律神経を評価する方法として、心拍変動解析 (Heart rate variability; HRV) が有用であり、検査開始から終了まで評価した。試験中の HRV 解析には、ワイヤレスセンサー機能のある装置 (RF-ECG, Micro Medical Device, inc., Tokyo, Japan)を胸部に装着し、検査後の解析を行った。解析には、周波数領域解析を行い、高周波成分のパワー [High Frequency (HF) : 0.15-0.4Hz]は副交感神経機能、高周波成分と低周波成分 [Low Frequency (LF) : 0.04-0.15Hz]のパワー比 (LF/HF) は交感神経機能として評価した<sup>62)</sup>。

##### (4) 血清カテコラミン 3 分画 (アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン)

先行研究にて、NMS の発作直前にアドレナリンの上昇がみられたという報告があり<sup>63)</sup>、今回の研究では、検査中において、安静時とヘッドアップ中の 2 点において、カテコラミン 3 分画を測定し評価した。

#### 4-2-5. 統計学的解析

連続値は平均値 $\pm$ 標準偏差で表記し、分類データは出現頻度を表記し、 $\chi^2$  検定を用いた。P 値は 0.05 未満を統計学的有意と判断した。

### 4-3. 結果

#### 4-3-1. 患者背景および検査結果

今回、研究の同意が得られた 27 名の症例において評価検討を行った。27 名全患者の平均年齢は、 $57.1 \pm 22.2$  歳で、男女比は 16 : 11 であった。また高血圧、脂質異常症、糖尿病の既往に関しては、それぞれ 40-50%程度認めていたが、血圧や採血結果の平均値は全て正常範囲内であり、それぞれの疾患のコントロールは良好な患者背景であった。今回、ヘッドアップチルト試験の検査結果は、前述の通り、ESC ガイドラインに沿って行い、結果、陽性群が 16 名、陰性群が 11 名の結果となった。両群間において患者背景、採血項目の評価を行ったところ、両群間において、統計学的な有意な差は認められなかった（表 7）。

#### 4-3-2. サリューシン- $\beta$ 血中濃度結果

陽性群、陰性群ともにプロトコールに沿って、①~⑩までの継時的な採血結果を評価したが、プロトコール上①の安静時での血中濃度、またヘッドアップを行ってから開始 5 分後の②、そして①~⑩までのサリューシン- $\beta$  の血中濃度の平均値において、両群間に有意差が見られた。[陽性群:陰性群 サリューシン- $\beta$  血中濃度。① ; 5.3 (nmol/L) : 2.8 (nmol/L) ( $P < 0.01$ )、② ; 5.2 (nmol/L) : 3.6 (nmol/L) ( $P < 0.05$ )、平均血中濃度 ; 5.0 (nmol/L) : 3.9 (nmol/L) ( $P < 0.01$ )、表 8, 図 6]

#### 4-3-3. 心拍変動による自律神経機能成分

ヘッドアップチルト中に自律神経評価を周波数解析にて行い、HF を副交感神経活動の指標、また LF/HF を交感神経活動の指標とし評価した。結果、HF に関しては、プロトコール上の①、②において陰性群が HF で高値、ヘッドアップ時の平均値においては、陽性群が高値となった。また LF/HF に関しては、プロトコール上の①~⑩のそれぞれにおいては、有意な差は認められなかったが、陽性群において、ヘッドアップ時、またプロトコール上①~⑩の平均値では、LF/HF が有意差をもって高値を認めていた（表 9）。

#### 4-3-4. 血清カテコラミン 3 分画（アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン）

今回、カテコラミン 3 分画（アドレナリン・ノルアドレナリン・ドーパミン）において、安静時と立位時に関して陽性群と陰性群の両群間で評価を行ったが、いずれも陽性群において高値を示していたが、両群間において、統計学的な有意な差を認めなかった（図 7）。

#### 4-4. 考察

##### 4-4-1. ヘッドアップチルト試験

今回、プロトコールに沿ってヘッドアップチルト試験を行い、対象症例 27 名中、陽性群が 16 名、陰性群が 11 名という結果であった。この結果は先行研究で神経性失神を疑い、ヘッドアップチルト試験を行った患者の中では、60%で陽性が見られるとした報告と同等の結果となり<sup>64)</sup>、診断基準、またプロトコールに大きな問題はなかったと考えられる。ヘッドアップチルト試験で誘発される、神経調節性失神の推定機序であるが、ヘッドアップにより、静脈還流量が減少し、低圧系の圧受容体反射と、心拍出量低下による動脈圧の低下に対する高圧系の圧受容体反射により交感神経緊張の亢進と迷走神経反射緊張の低下が生じる。ヘッドアップにより容積の減少した左室の収縮力が増強すると、左室機械受容体が刺激され、求心性の無髄性迷走神経(C fiber)をインパルスが上行し、延髄孤束核に至り、ここからの繊維により、血管運動中枢の抑制による血管拡張と、心臓抑制中枢の刺激および心臓促進中枢の抑制により、心拍数、血圧が低下を来し失神となる事が考えられている<sup>65)</sup>。

##### 4-4-2. サリューシン- $\beta$ 血中濃度

今回の研究の目的としては、神経調節性失神が起こる機序として副交感神経の過剰興奮が起こることから、サリューシン- $\beta$  が本病態の原因物質ではないかと推測し、研究を行った。サリューシンについて概説すると、共同研究者である七里らは既存のヒト cDNA データベースをバイオインフォマティクス解析し、生理活性因子をコードする可能性が高い cDNA 配列を全長濃縮 cDNA ライブラリーから選択して機能解析する新たな手法を考案し、生理活性ペプチドであるサリューシン- $\alpha$  及びサリューシン- $\beta$  を発見した<sup>57)</sup>。サリューシン遺伝子と蛋白レベルの発現解析では心筋や中枢の一部を除くヒトの臓器に広範囲に発現している。サリューシン- $\beta$  は著明な徐脈と同時に強力な降圧活性を惹起し<sup>57,66)</sup>、摘出血管標本では血管弛緩活性は示さず末梢血管抵抗は変化させない。Millar MicroTip カテーテルを用いた検討では心筋収縮力の抑制作用が示され、摘出灌流心ワーキングモデルではや冠血流量を変化させずに大動脈流量を著減させたが徐脈は生じないことから、心筋に対する直接作用以外の機序が示唆され、アトロピンの前投与によりサリューシン- $\beta$  による降圧作用が抑制されることから、副交感神経系の刺激を介する機序の存在を明らかにした。さらにラット視床下部・下垂体系のバゾプレッシン含有細胞にサリューシン- $\beta$  様免疫活性が共存するため、サリューシン- $\beta$  は神経内分泌系機構を介して脳下垂体後葉 axon terminal から循環血中に分泌され、心臓を始めとする標的臓器に作用する下垂体ペプチドホルモンである可能性を示し<sup>57)</sup>、さらに最近では、動脈硬化制御作用などが明らかになり<sup>67)</sup>、さらに、ヒト血中・尿中濃度も測定できるバイオアッセイ系がようやく確立した<sup>68)</sup>。

現時点でもサリューシン- $\beta$  については、血中濃度はもちろんヒト各種体液中の濃度や存在様式も明らかではなく、これまで多くの研究者がサリューシン- $\beta$  研究に参入したものの、同一の実験系を用いてもその実験結果の再現性に確証をもてないような不安定な結果が得られるといった特徴から、研究の継続をあきらめる研究者が出てしまい、その正確な作用機序や病態生理学的意義の解明が遅れていた。しかし、現在はサリューシン- $\beta$  の酵素免疫吸着測定系を確立でき、サリューシン- $\beta$  の正常者の血中濃度を七里らが継続して研究を行っている。

今回の研究から、ヘッドアップチルトテストの開始前の安静時に陽性群と陰性群との間で有意な差が見られた。また先行研究で神経調節性失神にカテコラミンの関与が報告されていた論文があるが、今回の結果は陽性群と陰性群において、有意な差は認められなかった。この事は、神経調節性失神を引き起こす患者に、サリューシン- $\beta$  が関わって副交感神経のある刺激を高めている可能性があり、これまで病因が明らかではなかった神経調節性失神の病態に関わっている事も示唆された結果であった。陽性群の患者は最終的に血圧低下が起こり、失神を引き起こす状態となるが、サリューシンが関わっている病態としては、サリューシンは血管弛緩活性を示さず、NO を介した血管弛緩による血圧低下も否定的である事が知られている。また、サリューシンは血管平滑筋細胞や繊維芽細胞において増殖作用を示す一方で、これまでの液性因子にはみられない作用機序による強力な降圧作用を示すが、両作用は一つの受容体を介した作用と考えるのが難しく、受容体の同定が待たれる。よって、失神を引き起こすような降圧作用は、心筋細胞に直接作用して、心収縮力を抑制した可能性や、神経系を介した可能性を考えている。

#### 4-5. 今後の展望

本研究は心機能と動脈硬化進展の強力な内因性制御因子と期待されているサリューシン- $\beta$  の病態生理学的意義を確立するための初めての研究でもある。ヒトの循環動態を維持している液性因子のうち、既知の因子の作用だけでは説明できない病態も多いが、これまでの知見からとくにサリューシン- $\beta$  が内因性副交感神経刺激因子として、さまざまな病態に関与している可能性に加えて、動脈硬化進展の制御調節にも関与していることが示されている。サリューシン- $\beta$  の全身性投与による循環動態の変化は心原性ショックの病態に酷似しているなどの知見から今回の研究を行ったが、結果として、神経調節性失神を引き起こす患者に高値となっていたことから、これまで病因が明らかではなかった神経調節性失神の病態が解明される可能性がある。また、糖尿病における自律神経障害や慢性心不全、睡眠時無呼吸症候群などで低下している副交感神経活性については、有用なバイオマーカーがなく病態の解明は困難を極めている。これらの観点からサリューシン- $\beta$  の病態生理学的意義を解明することはきわめて重要であり、引き続き研究を行っていき、様々な循環器疾患の病態解明に取り組

んでいきたい。

#### 4-6. 結語

今回の結果から、サリューシン- $\beta$  が神経調節性失神を引き起こす、原因物質の可能性が高いと考えられ、神経調節性失神を疑っている患者に対して、安静時の採血でサリューシン- $\beta$  を評価する事で、非常に有益なバイオマーカーとなり得ることが示唆された。

#### 5. 総括

今回、循環器内科学診療では避けては通れない『突然死』に関して研究を行った。突然死の解明は、循環器疾患診療にとっては、極めて重要であり、解決していかなければならない課題である。IHD に関しては、PCI 治療が冠動脈における血行再建術の 9 割を占め、そのうち約 7 割に DES が使用されている。漫然と DES による治療が進む一方で、治療効果と相反する合併症の増加が懸念されたため、研究Ⅰを行った。突然死の主たる原因である、虚血性心疾患に対する PCI 治療では現在 DES が主流であるが、ステント治療の合併症であるステント血栓症は致死率が高い。そのため血栓症予防目的で抗血小板薬が長期間投与され、その結果出血性合併症も増加している。今回の研究Ⅰの結果から、第 2 世代 DES 留置後における早期被覆化の差異は、ステントの薬剤コーティングに関与している可能性が示唆された (EES: 全周性、BES: 血管側のみ)。本研究である早期被覆過程の解明は、血栓症リスクの評価、高齢者や抗凝固薬併用者などの出血性合併症高リスク患者における至適抗血小板薬内服期間の決定、あるいは症例に応じた適切なステントの種類を決定する上で、臨床的意義が高いといえる。

また、予防医学が進歩する中で、早期診断・早期治療に注目が及び、近年盛んにバイオマーカー研究が行われている。しかし、実際の臨床現場において急性期診断に有用なマーカーはもちろん、長期予後に関わるバイオマーカーは非常に少ないのが現状である。よって研究Ⅱでは、5 年間に渡る臨床データを基に、冠動脈疾患罹患患者に対するバイオマーカー研究を行った。結果としては、sFIt-1 の値が高値である場合、その後に BNP 値の上昇を認めた。この結果より、冠動脈疾患罹患患者において、高 sFIt-1 は、その後心血管病が進行していく可能性を示唆する、有益なバイオマーカーになりえる事が示唆された。この研究の意義としては、急性期における sFIt-1 の動向は、先行論文ではいくつか報告があるが、慢性期、特に 5 年に渡って評価したものは報告がない。今回の研究で、急性期の治療が終わり、慢性期に入った際の、冠動脈罹患患者における sFIt-1 について述べた結果であり、注目すべき内容と考えている。今後は、冠動脈疾患罹患患者の



2 次予防として、予後予測に応用できるバイオマーカーに発展させたい。

また、心筋梗塞発症後など、器質的心疾患に伴う、心室性不整脈はしばしば致死的であり、日本においては、その他、Brugada 症候群や、QT 延長症候群などプライマリー不整脈疾患による不整脈死が多く含まれているのが特徴である。その中で、心室性不整脈については、2 次予防として、ICD が最も有効で治療の第一選択となっているが、1 次予防としては、確立したものはないのが現状である。このような不整脈死はもちろん、さきほどでも検討した、虚血性心疾患に関しては、自律神経のアンバランスによる事が報告されている。今回、サリュージン- $\beta$  というペプチドホルモンに着目した。この物質は、未知の副交感神経刺激因子であると考えられ、その全身投与により、心原性ショック様の病態を生じることが明らかになっているが、その機序やヒトの病態にどのように関わっているかについては、これまでのところ不明であった。よって、今回、サリュージン  $\beta$  が自律神経に深くかかわっていることが証明できれば、心不全や虚血、不整脈などいずれも自律神経、特に副交感神経機能異常との関連が古くから示唆されていることから、この物質が突然死の 1 次予防のバイオマーカーとなりえるのではないかと考え、研究Ⅲを行った。

結果、安静時において、神経調節性失神の診断となった陽性群と、診断に至らなかった陰性群との間にサリュージン- $\beta$  の値に有意な差が見られ、サリュージン- $\beta$  がこの病態の原因物質になり得る可能性が考えられた。また以前から、心不全や虚血性心疾患、そして不整脈疾患などが副交感神経異常との関連が示唆されているので、この結果が不整脈死に対する、有用なバイオマーカーになり得る可能性がある、有用な臨床データと考える。

今回の一連の研究を通じ、今後、益々高齢化が進む時代を迎え、部分的な動脈硬化症の治療だけではなく、総合的に突然死の様々な循環器疾患を的確に診断および治療し、さらに予防することの重要性を推進して行く必要があると改めて強く感じさせられた。

尚、上記臨床研究に関しては、北里大学医学部倫理委員会の承認を得ており、ヘルシンキ宣言に則した研究である。

## 6. 謝辞

稿を終えるにあたり、終始御指導を賜りました、本学医療衛生学部准教授 東條美奈子先生、本学医学部循環器内科学 阿古潤哉教授、和泉徹名誉教授、東條大輝講師、下浜孝郎診療講師、内分泌代謝内科学 七里眞義教授、に厚く御礼申し上げます。

## 7. 引用文献

- 1) Yamazaki T, Goto S, Shigematsu H, Shimada K, Uchiyama S, Nagai R, Yamada N, Matsumoto M, Origasa H, Bhatt DL, Steg PG, Ikeda Y; REACH Registry Investigators. Prevalence, awareness and treatment of cardiovascular risk factors in patients at high risk of atherothrombosis in Japan. *Circ J* 2007; **71**: 995-1003.
- 2) Myerburg RJ, Castellanos A. Cardiac arrest and sudden cardiac death. Chapter 24. In Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine. 5th Edition. Edited by E. Braunwald, vol 2. W.B. Saunders Co 1999.
- 3) Toyoda K, Yasaka M, Iwade K, Nagata K, Koretsune Y, Sakamoto T, Uchiyama S, Gotoh J, Nagao T, Yamamoto M, Takahashi JC, Minematsu K; Bleeding with Antithrombotic Therapy (BAT) Study Group. Dual antithrombotic therapy increases severe bleeding events in patients with stroke and cardiovascular disease: a prospective, multicenter, observational study. *Stroke* 2008; **39**: 1740-1745.
- 4) To AC, Armstrong G, Zeng I, Webster MW. Noncardiac surgery and bleeding after percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv* 2009; **2**: 213-221.
- 5) Pinto Slottow TL, Waksman R. Overview of the 2007 Food and Drug Administration Circulatory System Devices Panel meeting on the endeavor zotarolimus-eluting coronary stent. *Circulation* 2008; **117**: 1603-1608.
- 6) Boland JL, Corbeij HA, Van Der Giessen W, Seabra-Gomes R, Suryapranata H, Wijns W, Hanet C, Suttrop MJ, Buller C, Bonnier JJ, Colombo A, Van Birgelen C, Pieper M, Mangioni JA, Londero H, Carere RG, Hamm CW, Bonan R, Bartorelli A, Kyriakides ZS, Chauhan A, Rothman M, Grinfeld L, Oosterwijk C, Serruys PW, Cumberland DC. Multicenter evaluation of the phosphorylcholine-coated biodivYsio stent in short de novo coronary lesions: The SOPHOS study. *Int J Cardiovasc Intervent* 2000; **3**: 215-225.
- 7) Awata M, Nanto S, Uematsu M, Morozumi T, Watanabe T, Onishi T, Iida O, Sera F, Kotani J, Hori M, Nagata S. Angioscopic comparison of neointimal coverage between zotarolimus- and sirolimus-eluting stents. *J Am Coll Cardiol* 2008; **52**: 789-790.
- 8) Popma JJ, Mauri L, O'Shaughnessy C, Overlie P, McLaurin B, Almonacid A, Kirtane A, Leon MB. Frequency and clinical consequences associated with sidebranch occlusion during stent implantation using zotarolimus-eluting and paclitaxel-eluting coronary stents. *Circ Cardiovasc Interv* 2009; **2**: 133-139.
- 9) Kim JS, Jang IK, Fan C, Kim TH, Kim JS, Park SM, Choi EY, Lee SH, Ko YG, Choi D, Hong MK, Jang Y. Evaluation in 3 months duration of neointimal coverage after zotarolimus-eluting stent implantation by optical coherence tomography: the ENDEAVOR OCT trial. *JACC Cardiovasc Interv* 2009; **2**: 1240-1247.

- 10) Kim JW, Seo HS, Park JH, Na JO, Choi CU, Lim HE, Kim EJ, Rha SW, Park CG, Oh DJ. A prospective, randomized, 6-month comparison of the coronary vasomotor response associated with a zotarolimus- versus a sirolimus-eluting stent: differential recovery of coronary endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2009; **53**: 1653-1659.
- 11) Inoue T, Shite J, Yoon J, Shinke T, Otake H, Sawada T, Kawamori H, Katoh H, Miyoshi N, Yoshino N, Kozuki A, Hariki H, Hirata K. Optical coherence evaluation of everolimus-eluting stents 8 months after implantation. *Heart* 2011; **97**: 1379-1384.
- 12) Juan Luis Gutierrez-Chio, Peter Juni, Hector M Garcia-Garcia, Evelyn Regar, Eveline Nuesch, Francesco Borgia, Carlo di Mario. Long-term tissue coverage of a biodegradable polylactide polymer-coated biolimus-eluting stent: Comparative sequential assessment with optical coherence tomography until complete resorption of the polymer. *Am Heart J* 2011; **162**: 922-31.
- 13) Bernard Chevalier, Sigmund Silber, Seung-Jung Park, Eulogio Garcia, Gerhard Schuler, Harry Suryapranata, Jacques Koolen, Karl E. Hauptmann, William Wijns, Marie-Claude Morice, Didier Carrie, Gerrit-Anne van Es, Hirofumi Nagai, Danny Detiege, Dragica Paunovic, Patrick W. Serruys. Randomized Comparison of the Nobori Biolimus A9-Eluting Coronary Stent With the Taxus Liberte Paclitaxel-Eluting Coronary Stent in Patients With Stenosis in Native Coronary Arteries. *Circ Cardiovasc Intervent*. 2009; **2**: 188-195.
- 14) Pendyala LK, Matsumoto D, Shinke T, Iwasaki T, Sugimoto R, Hou D, Chen JP, Singh J, King SB 3rd, Chronos N, Li J. Nobori stent shows less vascular inflammation and early recovery of endothelial function compared with Cypher stent. *JACC Cardiovas Interv*. 2012; **5**: 436-44.
- 15) Fujii K, Kawasaki D, Oka K, Akahori H, Fukunaga M, Sawada H, Masutani M, Lee-Kawabata M, Tsujino T, Ohyanagi M, Masuyama T. Endothelium-dependent coronary vasomotor response and neointimal coverage of zotarolimus-eluting stents 3 months after implantation. *Heart* 2011; **97**: 977-982.
- 16) Mudd JO, Kass DA. Tackling heart failure in the twenty-first century. *Nature* 2008; **451**:919-928.
- 17) Ock S, Ahn J, Lee SH, Park H, Son JW, Oh JG, et al. Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand is a novel inducer of myocardial inflammation. *Cardiovascular research* 2012; **94**: 105-114.
- 18) Eaton LW, Weiss JL, Bulkley BH, Garrison JB, Weisfeldt ML. Regional cardiac dilatation after acute myocardial infarction: recognition by two-dimensional echocardiography. *The New England journal of medicine* 1979; **300**: 57-62.
- 19) Erlebacher JA, Weiss JL, Eaton LW, Kallman C, Weisfeldt ML, Bulkley BH. Late

- effects of acute infarct dilation on heart size: a two dimensional echocardiographic study. *The American journal of cardiology* 1982; **49**: 1120-1126.
- 20) McKay RG, Pfeffer MA, Pasternak RC, Markis JE, Come PC, Nakao S, et al. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: a corollary to infarct expansion. *Circulation* 1986; **74**: 693-702.
  - 21) Konstam MA, Kramer DG, Patel AR, Maron MS, Udelson JE. Left ventricular remodeling in heart failure: current concepts in clinical significance and assessment. *JACC* 2011; **4**: 98-108.
  - 22) Shibuya M. Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis* 2006; **9**: 225-230; discussion 231.
  - 23) Khurana R, Moons L, Shafi S, Luttun A, Collen D, Martin JF, et al. Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. *Circulation* 2005; **111**: 2828-2836.
  - 24) Kendall RL, Wang G, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochemical and biophysical research communications* 1996; **226**: 324-328.
  - 25) Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of clinical investigation* 2003; **111**: 649-658.
  - 26) Onoue K, Uemura S, Takeda Y, Somekawa S, Iwama H, Imagawa K, et al. Reduction of circulating soluble fms-like tyrosine kinase-1 plays a significant role in renal dysfunction associated aggravation of atherosclerosis. *Circulation* 2009; **120**: 2470-2477.
  - 27) Heeschen C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, Hamm CW, Berger J, Simoons ML, et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA* 2004; **291**: 435-441.
  - 28) Iwama H, Uemura S, Naya N, Imagawa K, Takemoto Y, Asai O, et al. Cardiac expression of placental growth factor predicts the improvement of chronic phase left ventricular function in patients with acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2006; **47**: 1559-1567.
  - 29) Lenderink T, Heeschen C, Fichtlscherer S, Dimmeler S, Hamm CW, Zeiher AM, et al. Elevated placental growth factor levels are associated with adverse outcomes at four-year follow-up in patients with acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology* 2006; **47**: 307-311.
  - 30) Onoue k, Umemura S, Takeda Y, Saito Y, et al. Usefulness of soluble Fms-like

- tyrosine kinase-1 as a biomarker of acute severe heart failure in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2009; **104**: 1478-83.
- 31) Kodama Y, Kitta Y, Nakamura T, Takano H, Umetani K, Fujioka D, et al. Atorvastatin increases plasma soluble Fms-like tyrosine kinase-1 and decreases vascular endothelial growth factor and placental growth factor in association with improvement of ventricular function in acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2006; **48**: 43-50.
  - 32) Belgore FM, Blann AD, Lip GY. sFlt-1, a potential antagonist for exogenous VEGF. *Circulation* 2000; **102**: E108-109.( DOI: 10.1161/01.CIR.102.15.e108; accessed October 14, 2012)
  - 33) Nakamura T, Funayama H, Kubo N, Yasu T, Kawakami M, Momomura S, et al. Elevation of plasma placental growth factor in the patients with ischemic cardiomyopathy. *International journal of cardiology* 2009; **131**: 186-191.
  - 34) Omland T, Aakvaag A, Vik-Mo H. Plasma cardiac natriuretic peptide determination as a screening test for the detection of patients with mild left ventricular impairment. *Heart (British Cardiac Society)* 1996; **76**: 232-237.
  - 35) Davidson NC, Naas AA, Hanson JK, Kennedy NS, Coutie WJ, Struthers AD. Comparison of atrial natriuretic peptide B-type natriuretic peptide, and N-terminal proatrial natriuretic peptide as indicators of left ventricular systolic dysfunction. *The American journal of cardiology* 1996; **77**: 828-831.
  - 36) Mukoyama M, Nakao K, Saito Y, Ogawa Y, Hosoda K, Suga S, et al. Increased human brain natriuretic peptide in congestive heart failure. *The New England journal of medicine* 1990; **323**: 757-758.
  - 37) Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Hisanaga T, Maeda Y, Fukai D, et al. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure: prognostic role of plasma brain natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation* 1997; **96**: 509-516.
  - 38) Nishigaki K, Tomita M, Kagawa K, Noda T, Minatoguchi S, Oda H, et al. Marked expression of plasma brain natriuretic peptide is a special feature of hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* 1996; **28**: 1234-1242.
  - 39) Nakamura M, Endo H, Nasu M, Arakawa N, Segawa T, Hiramori K. Value of plasma B type natriuretic peptide measurement for heart disease screening in a Japanese population. *Heart (British Cardiac Society)* 2002; **87**: 131-135.
  - 40) Belgore FM, Blann AD, Li-Saw-Hee FL, Beevers DG, Lip GY. Plasma levels of

- vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *The American journal of cardiology* 2001; **87**: 805-807, A809.
- 41) Walsh K, Shiojima I. Cardiac growth and angiogenesis coordinated by intertissue interactions. *The Journal of clinical investigation* 2007; **117**: 3176-3179.
  - 42) Izumiya Y, Shiojima I, Sato K, Sawyer DB, Colucci WS, Walsh K. Vascular endothelial growth factor blockade promotes the transition from compensatory cardiac hypertrophy to failure in response to pressure overload. *Hypertension* 2006; **47**: 887-893.
  - 43) Giordano FJ, Gerber HP, Williams SP, VanBruggen N, Bunting S, Ruiz-Lozano P, et al. A cardiac myocyte vascular endothelial growth factor paracrine pathway is required to maintain cardiac function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001; **98**: 5780-5785.
  - 44) Di Marco GS, Reuter S, Hillebrand U, Amler S, Konig M, Larger E, et al. The soluble VEGF receptor sFlt1 contributes to endothelial dysfunction in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; **20**: 2235-2245.
  - 45) Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *The New England journal of medicine* 2004; **350**: 672-683.
  - 46) Rogerson FM, Fuller PJ. Mineralocorticoid action. *Steroids* 2000; **65**: 61-73.
  - 47) Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *The New England journal of medicine* 1999; **341**: 709-717.
  - 48) Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *The New England journal of medicine* 2003; **348**: 1309-1321.
  - 49) Jaffe IZ, Newell BG, Aronovitz M, Mohammad NN, McGraw AP, Perreault RE, et al. Placental growth factor mediates aldosterone-dependent vascular injury in mice. *The Journal of clinical investigation* 2010; **120**: 3891-3900.
  - 50) BlancJ-J, Benditt DG: Syncope: definition, classification, and multiple potential causes. In "The Evaluation and Treatment of Syncope". 2006, p3-9.
  - 51) Grubb BP, Karas B: Clinical disorders of the autonomic nervous system associated with orthostatic intolerance: an overview of classification, clinical evaluation, and management. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999; **22**: 798-810
  - 52) Almquist A, Goldenberg IF, Milstein S, et al: Provocation of bradycardia and hypotension by isoproterenol and upright posture in patients with unexplained

- syncope. *N Engl J Med* 1989; **320**: 346-351.
- 53) 井上 博, 相澤 義房, 安部 治彦, ほか: 失神の診断・治療のガイドライン. *Cir J* 2007; **671** (Suppl IV): 1049-1101
  - 54) Brignole M: tilt table testing. In "Syncope: mechanism and management" (Grubb BP, Olshansky B, ed), Blackwell Publishing, Massachusetts, 2005, p159-168.
  - 55) Kluger J, Bazunga M, Goldman R et al: Usefulness of intravenous metoprolol to prevent syncope induced by head-up-tilt. *Am J Cardiol* 1988; **82**: 820-823
  - 56) Cox MM, Perlman BA, Mayor MR, et al: Acute and long-term beta-adrenergic blockade for patients with neurocardiogenic syncope. *J Am Coll Cardiol* 1995; **26**: 1293-1298.
  - 57) Shichiri M, Ishimaru S, Ota T, Nishikawa T, Isogai T, Hirata Y. Salusins: newly identified bioactive peptides with mitogenic and hemodynamic activities. *Nat Med* 2003; **9**: 1166-72.
  - 58) Grubb BP, Wolfe D, Temesy-Armos P, et al: Reproducibility of head upright tilt table test results in patients with syncope. *Pacing clin Electrophysiol* 1992; **15**: 1477-1481.
  - 59) Blanc JJ, Mansourati J, Maheu B, et al: Reproducibility of a positive passive upright tilt test at a seven-day interval in patients with syncope. *Am J Cardiol* 1993; **72**: 469-471.
  - 60) Angel M, Richard S, Fabrizio A, Jean-Jacques B, Michele Brignole, et al. Guidelines for the diagnosis and management of syncope (version 2009). *Eur Heart J* 2009; **30**: 2631-2671
  - 61) Kochiadakia GE, Kanoupakis EM, Rombola AT, Ignoumenidis NE, Chlouverakis GI, Vardas PE: Reproducibility of tilt table testing in patients with vasovagal syncope and its relation to variations in autonomic nervous system activity. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; **21**: 1069-1076.
  - 62) Hayano J, Mukai S, Sakakibara M, et al. Effects of respiratory interval on vagal modulation of heart rate. *Am J Physiol* 1994; **267**: H33-H40.
  - 63) Sra JS, Murthy V, Natale A, et al. Circulatory and catecholamines changes during head-up tilt testing in neurocardiogenic (vasovagal) syncope. *Am J Cardiol* 1994; **73**: 33-37.
  - 64) Kobayashi Y. Diagnosis and Treatment of syncope. *J Arrhythmia* 2006; **22**: 74-85.
  - 65) Rosen SG, Cryer PE. Postural tachycardia syndrome. Reversal of sympathetic hyperresponsiveness and clinical improvement during sodium loading. *Am J Med* 1982; **72**: 47-850.
  - 66) Izumiyama H, Tanaka H, Egi K, et al. Synthetic salusins as cardiac depressors in rat.

*Hypertension* 2005; **45**: 419-25.

- 67) Watanabe T, Shichiri M, Miyazaki A, et al. Impact of Salusin- $\alpha$  and  $-\beta$  on Human Macrophage Foam Cell Formation and Coronary Atherosclerosis. *Circulation* 2008; **117**: 638-648.
- 68) Sato K, Sato T, Susumu T, Koyama T, Shichiri M. Presence of immunoreactive salusin-beta in human plasma and urine. *Regul Pept* 2009; **158**: 63-67.

## 8. 図表の説明

### (図 1) BES 及び EES の経時的ステント被覆率

BES と EES において well-apposition with neointima (血管壁にストラットが圧着し、新生内膜で被覆化されているストラット) の割合をステント留置後から経時的に示した。その結果、BES は留置後 1 か月で約 6 割、3 か月で約 8 割の被覆化を認めた。BES, biolimus-eluting stent; EES, everolimus-eluting stent;

### (図 2) BES 及び EES の経時的ステント被覆過程

各ステントの代表的なステント留置部位における冠動脈断面像 (OCT 画像)。

#### A: BES における被覆過程

BES においては、1 か月後から、やや low density の組織でストラットが被覆され、2 か月後にはストラット周囲を中心に被覆化されてきていた。3 か月後ではストラットに均一な新生内膜被覆化を認める。

#### B: EES における被覆過程

EES では留置 1 か月後では非被覆化ストラットが目立ち、2 か月後ではストラットの表面にやや low-density な組織を認める。3 か月後では比較的均一な density の新生内膜組織を認める。

### (図 3) 冠動脈罹患患者と非罹患患者の sFlt-1 値の分布図 ((測定開始時)

冠動脈罹患患者の sFlt-1 と非罹患患者の sFlt-1 の値を示す。罹患患者は 58 名で、204.5 (pg/mL) であり、30 名の非罹患患者での 160.8 (pg/mL) と有意な差を認めていた。

### (図 4) sFlt-1 と BNP の変化量 ( $\Delta$ BNP) との間の心臓リモデリングや心機能を含めた関係図

A: 冠動脈罹患患者の中で、心筋 perfusion SPECT を施行した 42 名で評価を行ったところ、左室収縮終末期容積係数 [left ventricular end-systolic volume index



(ESVI) ]の年ごとの変化率 ( $\Delta$ ESVI/年) は CAD 患者の  $\Delta$ BNP と有意な正の相関が見られた ( $r=0.379$ ,  $P<0.05$ )。

B: 冠動脈罹患患者の中で、心筋 perfusion SPECT を施行した 42 名で評価を行ったところ、 $\Delta$ ESVI/年は、CAD 患者での左室駆出率 [left ventricular ejection fraction (EF) ]の年ごとの変化率 ( $\Delta$ EF/年) と強い負の相関が見られた

C: sFlt-1 高値群の中での冠動脈罹患患者は 42 名であり、この 42 名と 5 年間の  $\Delta$ BNP との関係を検討した結果、両者に強い相関関係が見られた ( $r=0.511$ ,  $P<0.01$ )。

#### (図 5) Head up tilt test protocol

プロトコルとしては、検査開始後 15 分は安静にし、安静後 30 秒以内に検査台を  $80^\circ$  の角度まで上げ、その状態で 30 分立位保持。バイタルや症状の変化がなければ、ベッドを水平に戻し、薬剤負荷を施行。薬剤負荷は  $\beta$  刺激薬であるイソプロテレノールを  $0.01 \mu$  の用量で投与し、10 分間安静。10 分経過後は速やかに検査台を  $80^\circ$  まで上昇し、薬剤負荷投与を継続しながら、10 分間立位を保持し、バイタルや症状の変化がなければ、ベッドを水平に戻し、バイタルなど状態が安定した時点で検査終了となる。

採血のタイミングは、試験前①、試験中②～⑨、試験終了時⑩の 10 回、それぞれ 2ml ずつを血漿と血清検体に分注し、計 40 mL 行う。

#### (図 6) Head up tilt test 結果別 サリューシン- $\beta$ 値

Head up tilt test の検査結果にて陽性群、陰性群の 2 群に分け、サリューシン- $\beta$  値を評価検討した。結果、プロトコル上①の安静時において陽性群が高値となり、両群に有意差を認め、またプロトコル上②-⑤のヘッドアップ時においても、同様な結果となった。その後、プロトコル上、 $\beta$  刺激薬投与下での安静、ヘッドアップ時に関しては、陽性群が高値を示すものの、両群間で有意な差は認めなかった。その後の検査終了前の安静時においては、陽性群が有意差をもって高値を示した。

#### (図 7 ) Head up tilt test 結果別 カテコラミン 3 分画 (安静時・立位時)

Head up tilt test の検査結果にて陽性群、陰性群の 2 群に分け、カテコラミン 3 分画 (アドレナリン・ノルアドレナリン・ドーパミン) を安静時・立位時、それぞれで測定し評価検討した。結果、両群間で評価を行い、いずれも陽性群において高値を示していたが、両群間において、統計学的な有意な差を認めなかった。

#### (表 1) BES と EES 留置患者の臨床背景

BES 及び EES を留置後、1、2、3 か月での被覆過程における臨床背景を比較した。連続値は平均値  $\pm$  標準偏差で記載し、 $P$  値  $<0.05$  とした。

BES, biolimus-eluting stent; EES, everolimus-eluting stent; ACS, acute coronary syndrome; AP, stable effort angina pectoris; RCA, right coronary artery; LAD, left anterior descending artery; LCx, left circumflex artery; NS, not significant.

(表 2) BES と EES 留置患者の OCT 所見

ストラット被覆化評価は、ストラットの圧着の有無 (well-apposition あるいは malapposition)、新生内膜被覆の有無 (with neointima あるいは without neointima) で 4 パターンに分けて評価した。NIH は 3 か月後の評価時に ZES で有意に増加を認めた。 $\% \text{ NIH} = 100 \times (\text{stent area} - \text{lumen area}) / \text{stent area}$  で算出した。

NIH, neointimal hyperplasia; NS, not significant.

(表 3) 対象患者の臨床背景

測定開始時と 5 年後において、LDL-C に有意な改善が見られたが、その他の TG、HDL-C、HbA1c に関しては、有意な変化は認められなかった。また eGFR は、5 年後に有意な悪化を認め、sFlt-1 は有意な低下を認めた。

BMI, body mass index; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglyceride; HbA1c, hemoglobin A1c; eGFR, estimated glomerular filtration rate; PWV, pulse wave velocity; BNP, brain natriuretic peptide; sFlt-1, soluble Fms-like tyrosine 1; RAAS, rennin-angiotensin-aldosterone system; Ca-blocker, calcium channel; NS, not significant.

(表 4) 冠動脈疾患罹患別患者背景

冠動脈罹患患者 (CAD) と冠動脈非罹患患者 (non-CAD) において、患者背景では、高血圧症の既往のみ両群間で有意差を認めた。また、検査データでは、HbA1c と eGFR、sFlt-1、sFlt-1/PIGF において、両群間で有意な差を認めていた。

BMI, body mass index; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglyceride; HbA1c, hemoglobin A1c; eGFR, estimated glomerular filtration rate; PWV, pulse wave velocity; BNP, brain natriuretic peptide; sFlt-1, soluble Fms-like tyrosine 1; PIGF, placental growth factor; NS, not significant.

(表 5) 測定開始時の高 sFlt-1 群と低 sFlt-1 群別患者背景

測定開始時の sFlt-1 を高値群と低値群の 2 群に分けて、評価したところ、患者背景では陳旧性心筋梗塞の既往、検査データでは estimated glomerular filtration rates (eGFR)、5 年後の BNP 値、そして sFlt-1、PIGF、sFlt-1/PIGF において、2 群間で有意な差が見られた。

BMI, body mass index; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglyceride; HbA1c, hemoglobin A1c; eGFR, estimated glomerular filtration rate; PWV, pulse wave velocity; BNP, brain natriuretic peptide; sFlt-1, soluble Fms-like tyrosine 1; PIGF, placental growth factor; NS, not significant.

**(表 6) BNP 上昇に影響を及ぼす変量の多変量ロジスティック回帰分析**

糖尿病、高血圧症、脂質異常症、年齢、性別を含めた、いかなる冠危険因子と sFlt-1 値の間に有意な相関は見られず、患者群を冠危険因子（糖尿病、高血圧症、脂質異常症、慢性腎臓病、BMI30 以上の肥満）の積算数をもとに比較してみても、血清 sFlt-1 値、PIGF 値、いずれも冠危険因子や積算数ともに有意な相関は見られなかったが、多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、sFlt-1 値は BNP 上昇の独立因子であった。

**(表 7) ヘッドアップチルト試験 試験結果別患者背景**

ヘッドアップチルト試験を行い、27 名中、陽性群が 16 名、陰性群が 11 名となった。それぞれ患者背景を比較検討した結果、両群間で有意な差を認めなかった。

BMI, body mass index; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglyceride; HbA1c, hemoglobin A1c; BNP, brain natriuretic peptide; PWV, pulse wave velocity; ABI, ankle brachial pressure index; NS, not significant

**(表 8) ヘッドアップチルト試験 試験結果別 サリューシン-β 値**

ヘッドアップチルト試験を行い、陽性群と陰性群のサリューシン-β 値をプロトコールに沿って評価検討した。結果、プロトコール上①の安静時での血中濃度、またヘッドアップを行ってから開始 5 分後の②、そして①~⑩までのサリューシン-β の血中濃度の平均値において、両群間に有意差が見られた。

**(表 9) ヘッドアップチルト試験 試験結果別 自律神経評価**

ヘッドアップチルト試験を行い、陽性群と陰性群の自律神経系をプロトコールに沿って評価検討した。結果、HF に関しては、プロトコール上の①、②において陰性群が HF で高値、ヘッドアップ時の平均値においては、陽性群が高値となった。また LF/HF に関しては、プロトコール上の①~⑩のそれぞれにおいては、有意な差は認められなかったが、陽性群において、ヘッドアップ時、またプロトコール上①~⑩の平均値では、LF/HF が有意差をもって高値を認めていた。

## 9. 業績目録

### (I) 主学術論文 (英文原著)

◎ 1. Kameda R, Yamaoka-Tojo M, Makino A, Wakaume K, Nemoto S, Kitasato L, Shimohama T, Tojo T, Machida Y, Izumi T. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is a novel predictor of brain natriuretic peptide elevation: Results of a 5-year observational study involving Japanese patients with coronary artery disease. *Int Heart J*. 2013; 54(3): 133-9.

### (II) 原 著 (主学術論文を除く)

1. Nishinari M, Simohama T, Tojo T, Shiono T, Shinagawa H, Kameda R, Aoyama N, Izumi T. Two-week interval optical coherence tomography: Imaging evidence on neointimal coverage completion after implantation of the endeavor zotarolimus-eluting stent. *Catheter Cardiovascular Interv*. 2013 Jul 19. (in press)

O2. 亀田良、東條美奈子、若梅一樹、根本慎司、北里梨紗、吉田友紀、東條大輝、町田陽二、饗庭尚子、増田卓、和泉徹 『冠動脈疾患およびその高リスク患者において、血中 Pentraxin 3(PTX3)濃度は LDL/HDL 比と関連する。 A Novel prognostic biomarker, Pentraxin 3 is associated with the change of the LDL/HDL ratio in patients at high-risk for cardiovascular disease: Kitasato Registry for cardiovascular disease prevention』日本循環器予防学会誌 2013, 48:9-17.

3. Satoh A, Niwano S, Niwano H, Kamiya K, Kishihara J, Aoyama Y, Kameda R, Oikawa J, Yuge M, Izumi T. Prediction of inappropriate implantable cardioverter-defibrillator therapies through parameters obtained in a simple exercise stress test. *Int Heart J*. 2012; 53(5):276-81.

4. Kitasato L, Tojo T, Hatakeyama Y, Kameda R, Hashikata T, Yamaoka-tojo M. Postprandial hyperglycemia and endothelial function in type 2 diabetes: focus on mitiglinide. *Cardiovasc Diabetol*. 2012 June 29; 11:79

5. 若梅一樹、東條美奈子、根本慎司、亀田良、饗庭尚子、吉田友紀、町田陽二、増田卓、和泉徹 『生活習慣病患者における歩数計を利用したセルフモニタリングによる運動指導は身体活動量を増加させ血管内皮機能の改善につながる。 Pedometer-based exercise increases physical activity and improves endothelial function in patients at high risk of cardiovascular disease』日本循環器学会誌 2012,47:13-23

O6. Yamaoka-tojo M, Tojo T, Wakaume K, Kameda R, Nemoto S, Takahira N, Masuda T, Izumi T. Circulating interleukin-18: A specific biomarker for atherosclerosis-prone patients with metabolic syndrome. *Nutr Metab (Lond)*. 2011 Jan 20; 8(2):3

### (III) 著 書

### (IV) 総説・講座

### (V) 症例・臨床治験・その他 な し

## 10. 図表

図1: BES及びEESの継続的ステント被覆率

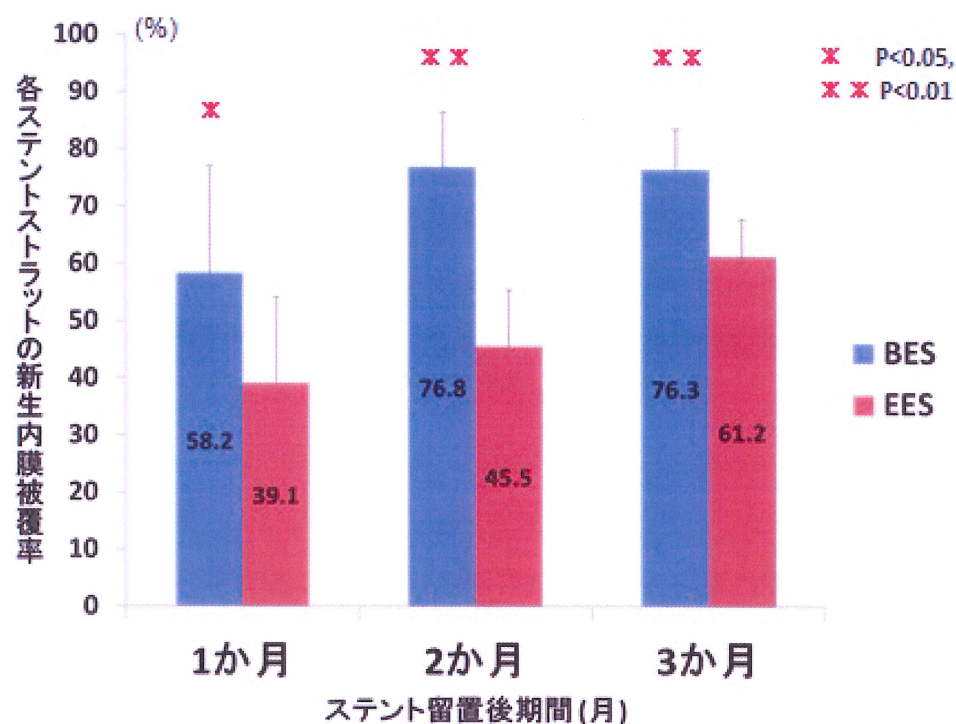
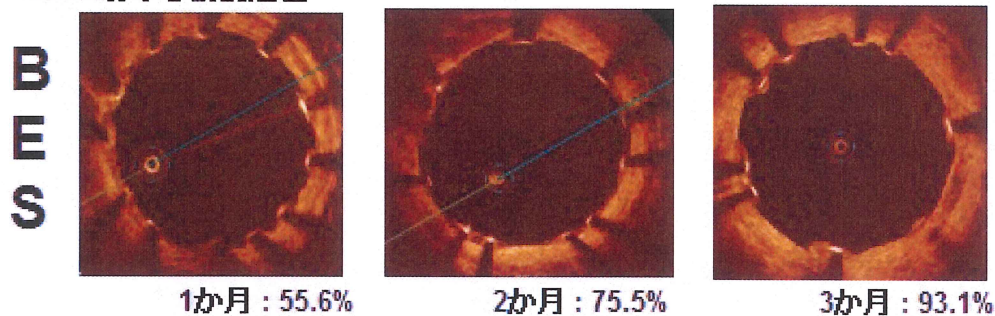


図2: BES及びEESの継続的ステント被覆過程

A: BESおける被覆過程



B: EESおける被覆過程

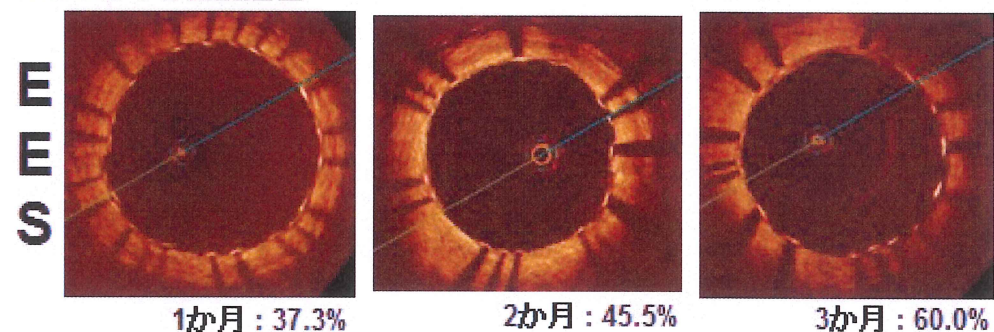


図3: CAD患者と非CAD患者のsFlt-1値(測定開始時)

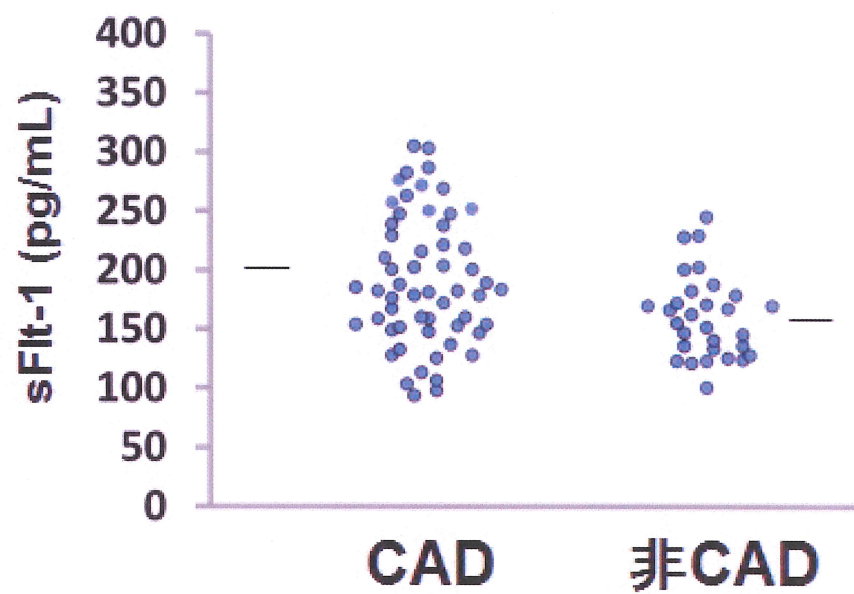


図4A, 4B, 4C: sFlt-1とBNPの変化量( $\Delta$ BNP)との間の心臓リモデリングや心機能を含めた関係図

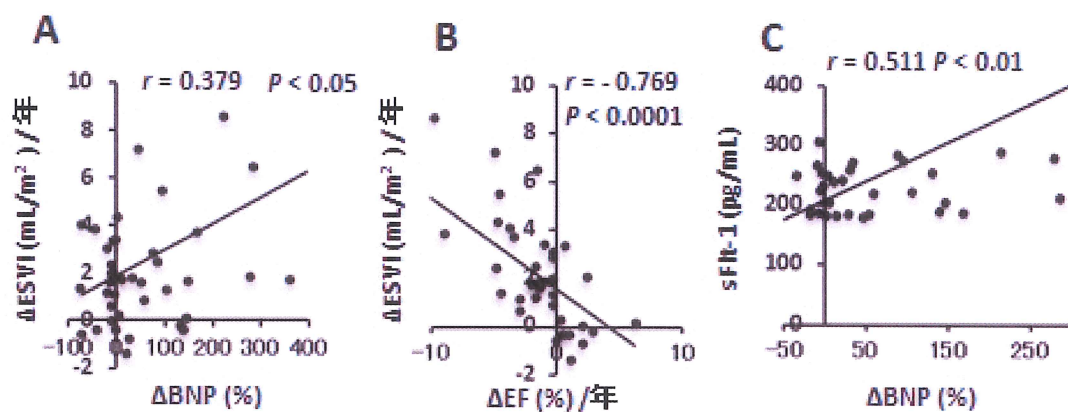
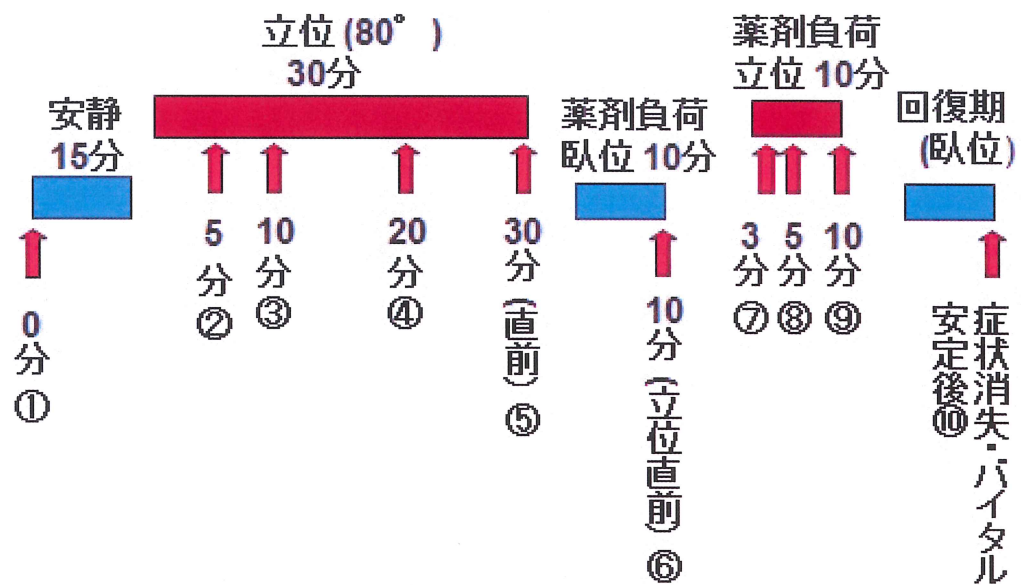




図5: Head up tilt test protocol



- 採血は10回でそれぞれ4mlずつ採取し、2mlずつ血漿・血清にわけ分注
- 薬剤負荷：β刺激薬：プロターールL  
0.01 $\mu$ gで負荷とする(体重50kgの場合 0.01 $\mu$ g=3ml/h)

図6: Head up tilt test 結果別 サリューション $\beta$ 値

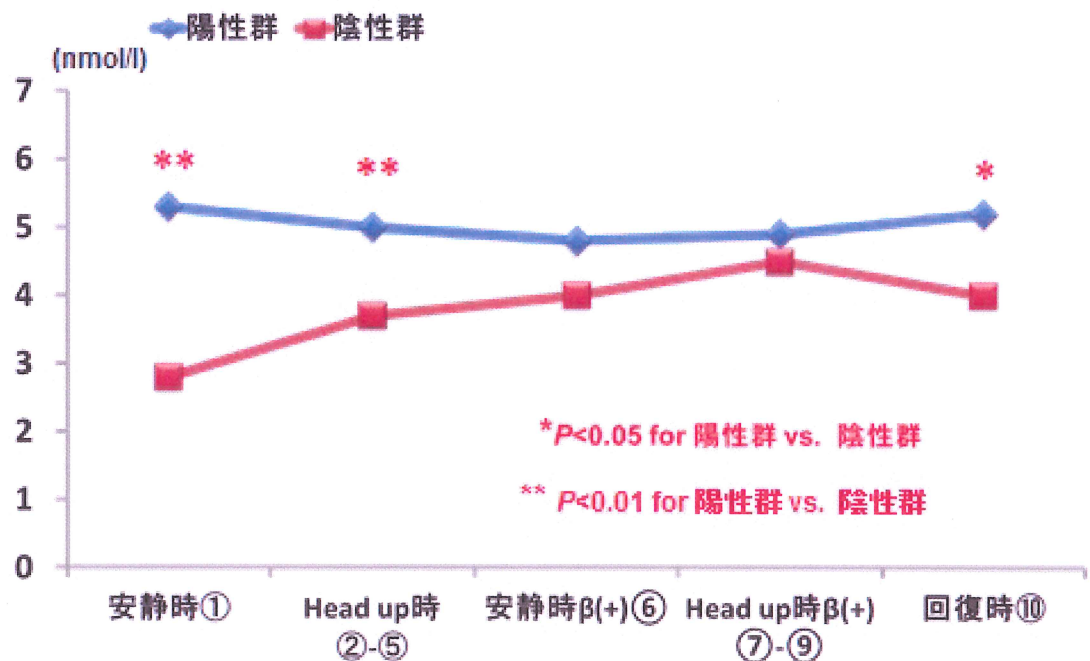


図7: Head up tilt test 結果別 カテコラミン3分画 (安静時・立位時)

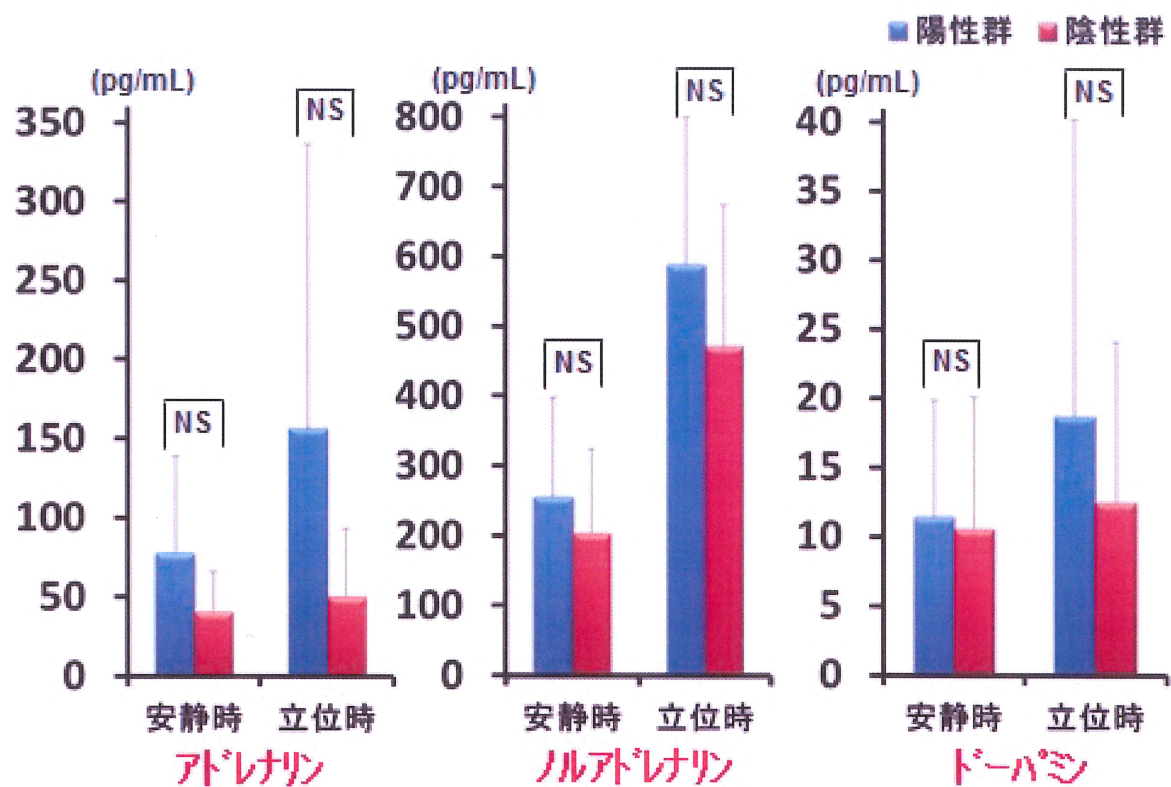




表1: BESとEES留置患者の臨床背景

	留置1か月後		留置2か月後		留置3か月後	
	BES	EES	BES	EES	BES	EES
日数 (日)	29.8 (±3.6)	29.4 (±2.0)	57.5 (±2.4)	55.0 (±3.5)	84.0 (±7.0)	83.0 (±3.5)
患者背景						
患者数 (n)	4	5	4	5	3	5
疾患 (ACS:AP) (n)	2:2	1:4	1:3	2:3	0:3	1:4
年齢 (歳)	61.0 (±8.5)	67.0 (±9.2)	66.8 (±6.1)	66.0 (±7.8)	62.7 (±11.0)	69.0 (±12.4)
性別 (男性:女性) (n)	4:0	5:0	4:0	3:2	2:1	4:1
BMI	26.3 (±3.0)	24.9 (±3.2)	22.1 (±2.3)	23.4 (±2.8)	24.1 (±2.1)	25.7 (±2.3)
高血圧症 (n)	3	3	4	4	2	1
脂質異常症 (n)	3	5	3	4	2	4
糖尿病 (n)	2	2	4	1	3	3
慢性腎臓病 (n)	1	0	4	2	1	1
喫煙歴 (n)	1	1	1	1	0	0
病変背景						
病変数 (n)	5	6	5	5	4	5
病変 (RCA/LAD/LCx) (n)	2:2:1	2:2:2	2:2:1	3:0:2	2:1:1	4:0:1
ACC/AHA 分類 (A:B1:B2:C) (n)	0:3:0:2	2:0:0:4	0:0:2:3	0:1:0:4	0:1:1:2	0:3:0:2
平均病変径 (mm)	2.5 (±0.6)	2.8 (±0.4)	2.4 (±0.3)	2.8 (±0.4)	2.5 (±0.2)	2.7 (±0.6)
病変長 (mm)	14.8 (±9.3)	22.6 (±5.2)	17.0 (±18.0)	21.7 (±9.4)	15.7 (±3.8)	16.8 (±7.3)
狭窄率 (%)	89.0 (±7.1)	95.3 (±5.6)	84.4 (±4.2)	87.4 (±12.0)	79.0 (±16.9)	84.4 (±11.1)
ステント数 (n)	6	9	7	8	6	5
ステント径 (mm)	3.0 (±0.3)	2.9 (±0.4)	3.0 (±0.4)	2.9 (±0.3)	2.9 (±0.2)	2.9 (±0.4)
ステント長 (mm)	22.3 (±5.0)	22.9 (±5.6)	23.4 (±5.5)	27.6 (±6.7)	21.0 (±6.5)	23.0 (±5.0)
最高バルーン径 (mm)	2.8 (±0.6)	3.0 (±0.4)	2.8 (±0.3)	3.0 (±0.5)	2.8 (±0.1)	2.8 (±0.3)
最高バルーン圧 (atm)	12.6 (±2.3)	16.2 (±2.1)	14.4 (±4.3)	19.0 (±3.0)	15.0 (±5.3)	21.3 (±2.5)

\*: p-value<0.05, \*\*: p-value<0.01

表2: BESとEES留置患者のOCT所見

	留置1か月後		留置2か月後		留置3か月後	
	BES	EES	BES	EES	BES	EES
総ストラット数 (n)	1072	1650	1256	1182	772	1081
血栓 (n)	1	1	1	1	1	0
Well-apposed						
with neointima (%)	58.2 (±18.8) *	39.1 (±15.0)	76.8 (±9.6) **	45.5 (±11.1)	76.3 (±7.2) **	61.2 (±7.4)
without neointima (%)	39.8 (±18.3) *	59.6 (±13.0)	22.2 (±7.5) **	53.5 (±11.1)	19.7 (±6.6) **	38.7 (±7.4)
Malapposed						
with neointima (%)	1.2 (±1.8)	0	0.2 (±0.5)	0.1 (±0.1)	2.3 (±2.7)	0.1 (±0.3)
without neointima (%)	0.8 (±1.3)	0.4 (±0.9)	0.8 (±1.9)	0.9 (±1.3)	1.7 (±2.7)	0
新生内膜						
Mean NIH thickness (μm)	78.0 (±9.7) **	40.0 (±8.4)	98.4 (±4.6) **	43.5 (±5.8)	84.0 (±15.5) *	51.6 (±15.3)
Mean % NIH (%)	10.0 (±0.8) *	5.9 (±1.8)	12.8 (±0.9) **	5.6 (±0.8)	10.7 (±2.3)	7.3 (±3.8)

\*: p-value<0.05, \*\*: p-value<0.01

表3: 患者背景

総数 = 88	測定開始時	5年後	P-値
年齢	64.9 ± 9.4		-
性別 (女性), n (%)	24 (27.3)		-
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.5 ± 3.1	23.8 ± 3.2	NS
冠動脈疾患, n (%)	58 (65.9)		-
糖尿病, n (%)	25 (28.4)		-
高血圧症, n (%)	52 (59.1)		-
脂質異常症, n (%)	62 (70.5)		-
陳旧性心筋梗塞, n (%)	31 (35.2)		-
LDL-C (mg/dL)	133.2 ± 46.1	113.3 ± 27.4	<0.01
HDL-C (mg/dL)	54.1 ± 18.0	56.2 ± 20.3	NS
TG (mg/dL)	131.0 ± 82.4	125.4 ± 89.0	NS
HbA1c (%)	5.5 ± 0.6	5.6 ± 0.7	NS
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	73.4 ± 19.0	70.4 ± 19.3	<0.05
PWV (m/s)	1547.1 ± 252.1	1560.2 ± 249.2	NS
BNP (pg/mL)	45.6 ± 48.1	62.4 ± 108.7	NS
sFlt-1 (pg/mL)	189.6 ± 95.5	71.3 ± 20.2	<0.01
スタチン製剤内服, n (%)	37 (42.0)	39 (44.3)	NS
β-blocker内服, n (%)	35 (39.8)		
RAAS 阻害剤内服, n (%)	30 (34.1)		
Ca-blocker内服, n (%)	49 (55.7)		
アスピリン製剤内服, n (%)	54 (61.4)		

表4: 冠動脈疾患罹患別患者背景

	冠動脈疾患		P-値
	罹患	非罹患	
	(n = 58)	(n = 30)	
年齢	64.7 ± 9.4	65.2 ± 9.6	NS
性別 (女性), n (%)	13 (22.4)	11 (36.7)	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.6 ± 3.3	24.3 ± 2.6	NS
糖尿病, n (%)	18 (31.0)	7 (23.3)	NS
高血圧症, n (%)	27 (46.6)	25 (83.3)	<0.01
脂質異常症, n (%)	43 (74.1)	19 (63.3)	NS
陳旧性心筋梗塞, n (%)	31 (53.4)	0 (0.0)	-
LDL-C (mg/dL)	139.4 ± 48.0	121.2 ± 40.6	NS
HDL-C (mg/dL)	51.7 ± 11.0	58.8 ± 26.4	NS
TG (mg/dL)	133.5 ± 86.2	126.3 ± 75.8	NS
HbA1c (%)	5.6 ± 0.6	5.3 ± 0.4	<0.05
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	69.8 ± 18.8	80.5 ± 17.6	<0.05
PWV (m/s)	1531.2 ± 241.9	1577.8 ± 272.4	NS
BNP 測定開始時 (pg/mL)	43.6 ± 50.2	40.5 ± 44.8	NS
5年後 (pg/mL)	59.2 ± 78.3	41.5 ± 43.7	NS
Δ BNP	54.4 ± 112.3	27.2 ± 75.4	NS
sFlt-1 (pg/mL)	204.5 ± 113.0	160.8 ± 35.3	<0.01
PIGF (pg/mL)	55.3 ± 17.2	57.5 ± 11.1	NS
sFlt-1/PIGF	4.2 ± 2.8	2.9 ± 1.1	<0.01



表5: 測定開始時の高sFlt-1群と低sFlt-1群別患者背景

	sFlt-1 (pg/mL)		P-値
	高値群	低値群	
	(n = 44)	(n = 44)	
年齢	66.6 ± 10.4	63.1 ± 8.1	NS
性別 (女性), n (%)	9 (20.5)	15 (34.1)	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.6 ± 3.3	24.3 ± 2.6	NS
糖尿病, n (%)	11 (25.0)	14 (31.8)	NS
高血圧症, n (%)	25 (56.8)	27 (61.4)	NS
脂質異常症, n (%)	33 (75.0)	29 (65.9)	NS
陳旧性心筋梗塞, n (%)	23 (52.3)	8 (18.2)	<0.01
LDL-C (mg/dL)	133.3 ± 41.0	133.0 ± 51.3	NS
HDL-C (mg/dL)	53.3 ± 11.5	55.0 ± 22.8	NS
TG (mg/dL)	130.3 ± 89.0	131.8 ± 76.3	NS
HbA1c (%)	5.5 ± 0.7	5.5 ± 0.5	NS
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	69.3 ± 16.4	77.6 ± 20.7	<0.05
PWV (m/s)	1564.8 ± 277.6	1529.4 ± 225.7	NS
BNP 測定開始時 (pg/mL)	49.2 ± 43.1	35.9 ± 52.2	NS
5年後 (pg/mL)	71.7 ± 89.3	34.6 ± 29.6	<0.05
Δ BNP	51.6 ± 103.1	38.7 ± 100.9	NS
sFlt-1 (pg/mL)	238.4 ± 115.4	140.8 ± 21.6	<0.01
PIGF (pg/mL)	52.7 ± 14.7	59.4 ± 15.4	<0.05
sFlt-1/PIGF	5.0 ± 2.9	2.6 ± 1.0	<0.01

表6: BNP上昇に影響を及ぼす変量の多変量ロジスティック回帰分析

変量	単変量	多変量
sFlt-1 (pg/mL)	0.0088	0.0096
年齢	0.6039	0.8249
性別 (女性), n (%)	0.151	0.345
LDL-C (mg/dL)	0.3876	-
HDL-C (mg/dL)	0.8679	-
TG (mg/dL)	0.7878	-
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	0.6738	-
PWV (m/s)	0.0949	-
糖尿病, n (%)	0.7977	-
高血圧症, n (%)	0.4891	-
冠危険因子数	0.3812	-
陳旧性心筋梗塞, n (%)	0.3812	-
冠動脈疾患既往	0.2359	-

表7: ヘッドアップチルト試験 試験結果別患者背景

総数 = 27	陽性群 (n=16)	陰性群 (n=11)	P-値
年齢	61.6 ± 21.1	50.6 ± 23.4	NS
性別 (男性: 女性)	12:4	5:6	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.9 ± 4.1	20.6 ± 2.3	NS
収縮期血圧 (mmHg)	127.7 ± 14.1	116.7 ± 15.7	NS
心拍数 (/分)	66.3 ± 14.8	68.8 ± 12.3	NS
糖尿病, n (%)	6 (37.5)	5 (45.5)	NS
高血圧症, n (%)	9 (56.3)	4 (36.4)	NS
脂質異常症, n (%)	6 (37.5)	5 (45.5)	NS
LDL-C (mg/dL)	103.1 ± 22.2	114.3 ± 24.7	NS
HDL-C (mg/dL)	56.5 ± 19.8	68.4 ± 14.7	NS
TG (mg/dL)	158.6 ± 157	117.0 ± 45.0	NS
HbA1c (%)	5.6 ± 0.6	5.7 ± 0.9	NS
BNP (pg/mL)	87.8 ± 118.7	20.2 ± 11.5	NS
PWV (m/s)	1628 ± 488	1448 ± 359	NS
ABI	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	NS

表8: ヘッドアップチルト試験 試験結果別 サリューシンβ 値

	総数 = 27	陽性群 (n=16)	陰性群 (n=11)	P-値
安静時	サリューシンβ (nmol/l) ①	5.3 ± 2.2	2.8 ± 1.9	< 0.01
ヘッドアップ時	②	5.2 ± 2.2	3.6 ± 1.4	< 0.05
	③	5.2 ± 2.2	4.1 ± 1.2	NS
	④	5.0 ± 2.5	3.4 ± 1.7	NS
	⑤	4.7 ± 1.8	3.5 ± 1.2	NS
β 刺激薬 (+)	⑥	4.8 ± 2.2	4.0 ± 1.7	NS
ヘッドアップ時 β 刺激薬 (+)	⑦	5.0 ± 2.4	4.5 ± 1.5	NS
	⑧	5.0 ± 2.2	4.4 ± 1.1	NS
	⑨	4.8 ± 2.0	4.6 ± 1.1	NS
回復時	⑩	5.2 ± 2.0	4.0 ± 1.6	NS
	サリューシンβ (全平均値)	5.0 ± 2.1	3.9 ± 1.5	< 0.01
	Peak値 (平均値)	5.8 ± 2.1	5.0 ± 1.3	NS
	Peak - Minimum (平均値)	2.7 ± 1.8	2.6 ± 1.4	NS



表9: ヘッドアップチルト試験 試験結果別 自律神経評価

		陽性群		陰性群		P-値	
		HF	LF/HF	HF	LF/HF	HF	LF/HF
安静時	①	67.4	2	55.4	3	< 0.01	NS
ヘッドアップ時	②	15	6.1	52.3	3.6	< 0.01	NS
	③	59	11.7	43.1	5	NS	NS
	④	45.7	8.6	40.8	7.2	NS	NS
	⑤	387.7	10.1	51.9	4.3	NS	NS
β 刺激薬 (+)	⑥	99.9	4.6	79.2	1.1	NS	NS
ヘッドアップ時 β 刺激薬 (+)	⑦	274.7	4	27	2.7	NS	NS
	⑧	190.7	8.6	40.6	3.5	NS	NS
	⑨	528.3	9	32.6	9.8	NS	NS
回復時	⑩	315.5	3.4	54.1	2.2	< 0.05	NS
②-⑤、⑦-⑨	ヘッドアップ時 (全平均値)	263.9	8.3	41.6	5.2	< 0.01	< 0.05
②-⑤	ヘッドアップ時 (薬剤負荷なし)	216.8	9.1	46.8	5.1	NS	< 0.05
⑦-⑨	ヘッドアップ時 (薬剤負荷あり)	331.2	7.2	33.4	5.3	< 0.01	NS
①-⑩	全平均値	225.1	6.6	122.4	4.3	NS	< 0.05