

氏名・(本籍)	やま もと とも ひこ 山 本 智 彦 (福岡県)
学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1557号
学位授与の日付	平成27年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(課程博士)
学位論文題目	Association between mild myocardial injury post percutaneous coronary intervention and improvement of cardiac function through an increase in tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (経皮的冠動脈形成術後の軽度心筋傷害と組織メタロプロテアーゼ阻害物質1の増加を伴った心機能改善の関連性)
論文審査委員	(主 査) 福岡大学 教授 朔 啓二郎 (副 査) 福岡大学 教授 井 上 亨 福岡大学 教授 浦 田 秀 則 福岡大学 講師 四 元 房 典

## 内 容 の 要 旨

### 【背景と目的】

虚血性心疾患における経皮的冠動脈形成術(PCI)は非常に重要な治療戦略であり、現在の多くの施設で安全に実施されている。しかし、実臨床では少なからずPCI後の血液検査で心筋トロポニンやCK-MBの上昇を認めることがある。これはPCI後の心筋傷害(PMI: periprocedural myocardial infarction)を惹起するが、PCIによる血行再建の有益性を損ね、逆に心機能を低下させることがある。また、PMIによる炎症反応、血管新生や細胞外基質(ECM)の破壊が心筋傷害と関連するとの報告がある。しかし、PMIに関するこれまでの多くの報告は、心筋バイオマーカーとして心筋トロポニンやCK/CK-MBのみを測定したものであった。今回、申請者は、PCI後の抗炎症作用・血管新生形成やECM破壊に關与するバイオマーカーは、心筋傷害の軽減、さらには心機能改善と関連すると仮説を立てた。そして、PCI後の患者を対象として、抗炎症・血管新生やECMのマーカーと心機能の関連性について検討した。

### 【対象と方法】

福岡大学病院に入院した急性冠症候群を除く、待機的PCIを施行された連続47名を対象とした。PCI当日の朝およびPCI翌日朝に採血と尿検査を実施した。PCIから6-9ヶ月後に追跡(フォローアップ)

の冠動脈造影検査 (CAG) を行った。心機能の評価として、PCI前とフォローアップCAGの際に心エコーを施行した。バイオマーカーは、血中トロポニン T、CK/CK-MB、高感度CRP、マトリックスメタロプロテアーゼ9 (MMP-9)、ペントラキシン3 (PTX-3)、組織メタロプロテアーゼ阻害物質1 (TIMP-1)、血管内皮細胞増殖因子 (VEFG) および尿中L型脂肪酸結合蛋白 (U-LFABP) を測定した。心エコーの指標は、左室収縮能 (LVEF)、左室拡張末期容量 (LVEDV)、左室収縮末期容量 (LVESV) とした。

#### 【結果】

患者背景では、平均フォローアップ期間は265日、高血圧と脂質代謝異常症が90%以上と多かった。標的血管は右冠動脈43%、左前下行枝42%、左回旋枝15%。バルーン治療のみ4%、ベアメタルステント使用15%、薬剤溶出性ステント使用81%。11%にローターブレードを使用し、PCIによる側枝閉塞は2%であった。MACEは認めなかった。また、PCI前後のバイオマーカー変化では、PCI後にトロポニン T、CK、PTX-3が有意に増加していた。心エコーでの心機能変化は、LVEDVがフォローアップCAG時に有意に改善していた。PCI前後でのCKの変化量 ( $\Delta$  CK) を3分位 (Low群: -2.9 ~ 0.1、Middle群: 0.5 ~ 3.6、High群: 4.7 ~ 73.4) として、患者背景、PCI手技や心エコー所見との関連性を検討したが、3群間で有意差は認めなかった。しかし、 $\Delta$  CKで3分位した場合、LVEFとTIMP-1においてLow群と比較してHigh群が有意に高かった。その他のバイオマーカーでは有意差は認めなかった。さらに、 $\Delta$  LVEFと各種 $\Delta$ バイオマーカーを単解析したところ、 $\Delta$  CK、 $\Delta$  MMP-9、 $\Delta$  トロポニン Tのみが $\Delta$  LVEFと有意に相関していた。

#### 【結論】

$\Delta$  CK-MBが高い群では、MMP-9内因性阻害因子であるTIMP-1が高値を示し、 $\Delta$  LVEFが改善していた。MMP-9によりECM破壊が出現するため、内因性MMP-9阻害因子であるTIMP-1が上昇している群で $\Delta$  LVEFが改善していることは仮説に矛盾しない結果であった。しかし、 $\Delta$  CKと $\Delta$  LVEFが正相関している点は矛盾していた。MMP-9以外のバイオマーカーは $\Delta$  LVEFと関連性はなかった。以上から、PMIによる軽度の心筋傷害では、内因性MMP-9阻害因子であるTIMP-1が増加によるECM破壊予防機構が心機能を改善する可能性があると考えた。

この結論は、これまでのPMIに関する報告と異なる。しかし、過去の報告は、PMIによるPCI後のCKとトロポニン Tの上昇が心筋傷害を来して心機能を低下させるというもので、PMIによるCKの増加度による検討はなされていない。本研究のように、 $\Delta$  CKを細分化し、上昇が軽度の場合はTIMP-1のような心筋修復機構により心機能低下しない機序が動く可能性が考えられた。

ECMは心筋梗塞や動脈硬化と関連があり、MMP-9はECM破壊制御因子である。フラミンガム心臓研究によると、MMP-9は心機能と関連があるとされ、MMP-9阻害は心機能低下を防ぐ報告がある。内因性MMP-9阻害因子であるTIMP-1欠損心筋梗塞モデルマウスは左室リモデリングを悪化させる報告もある。以上から、軽度PMIの場合はTIMP-1のMMP-9抑制作用により、左室リモデリング抑制や心機能低下抑制機構が働いたと考えられた。もう一つの可能性は、心筋虚血プレコンディショニング効果が心機能に関与したかもしれない。PCI前に上腕を加圧し虚血にするとPMIを軽減できたとする報告があり、PCIによる繰り返すバルーン拡張による心筋虚血プレコンディショニング効果が心機能に好影響を及ぼした可能性が考えられる。

PTX-3は、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、単球やマクロファージなどで合成され、急性冠症候群

(ACS) と関連がある。また、PCIによるステント留置により血管内皮細胞から PTX-3が増加することで心保護効果を持っていると予測した。そのため、PTX-3と LVEF を検討したが、そこには関連はなかった。この理由として、PTX-3が ACSでの不安定プラーク内のマクロファージで多量に合成されると考えられるのに対して、本研究では ACS患者を除外した安定狭心症患者（スタチン内服が多い）を対象としているためと考えられる。

以上から、PCIによる軽度の心筋傷害は TIMP-1の増加を介して心機能低下を防ぐ可能性が示唆された。

## 審査の結果の要旨

本論文は、冠動脈形成術 (PCI) 後の心筋傷害・梗塞 (PMI : periprocedural myocardial infarction) が心機能低下に関与すること、また、これまでの報告が CK や心筋トロポニンを測定していたものであったことに注目し、炎症や組織構成に関与する各種バイオマーカーの測定から、PMI と心機能との関連について新たに研究したものである。

PCI前後での CK の変化量 ( $\Delta$  CK) を3分位し LVEF やバイオマーカーとの関連を検討し、High  $\Delta$  CK群で組織メタロプロテアーゼ阻害物質 1 (TIMP-1) 増加度と左室駆出率 (LVEF) 改善度に相関を認めた。TIMP-1は PMI と関連する細胞外基質が破壊された際に出現するマトリックスメタロプロテアーゼ9の内因性阻害因子であり、TIMP-1が PMI を抑制することで心機能を改善させる可能性が考えられた。申請者は、PCIによる軽度の心筋傷害は TIMP-1の増加を介して心機能低下を防ぐとの新しい可能性を報告した。

### 1. 斬新さ

PCI後の心筋傷害・梗塞 (PMI : peri-procedural myocardial infarction) は約 20 年前から指摘されているにも関わらず、心筋傷害のバイオマーカーとして、心筋トロポニンや CK/CK-MB の変動のみをみただけであった。近年の研究で、炎症や組織から放出される様々なサイトカインが心機能と関連しているとの報告があることから、これらに関する新たなバイオマーカーを測定するにより PMI による心機能への影響を改めて検証した。その結果、これまで指摘されていなかった組織メタロプロテアーゼ阻害物質 1 (TIMP-1) が、軽度心筋傷害時の心筋修復に関与し心筋保護効果を発揮することを発見した点に斬新さがある。

### 2. 重要性

高齢化社会により虚血性心疾患の発症率は非常に高く、PCIによる虚血性心疾患治療が行われる機会は今後も増加する。それに伴い、PMI の頻度も増えることが予想されるため、臨床医は PMI を如何に防ぐかを考慮し治療戦略を建てるのが重要である。これまでも PMI の原因と考えられる末梢塞栓を防ぐための様々なデバイスが開発され実臨床で使用されているが、デバイスによる PMI 予防には限界があり、これまでと異なる予防方法が必要と考えられた。そこで、本研究により、TIMP-1には PMI による心機能低下を軽減できる可能性が発見された。これにより、既存の薬剤による TIMP-1 増幅の研究や、TIMP-1 を特異的に増加させる薬剤開発などに繋がる可能性を示唆した研究は非常に重要である。

### 3. 研究方法の正確性

本研究で測定したバイオマーカーが炎症や組織と関連していることは世界的に知られており、測定手段や測定方法は標準的なもので十分な正確性がある。統計解析は、一般的に認められた分析法・解釈を行っている。研究方法、デザインは、福岡大学病院臨床研究審査委員会（#13-10-13）で承認されている。また、本論文はすでに Experimental Clinical Cardiology にすでに掲載されている。

#### 4. 表現の明確さ

目的、方法、結果は、正確かつ詳細に表現されている。結果に基づいた考察については、過去の論文を十分検討し、TIMP-1 と心機能との関連を示し、軽度PMI での TIMP-1 による心機能保護機構を明確に示している。

#### 5. 主な質疑応答

Q1：MMP-9やTIMP-1を測定した理由は？

A1：PMIによる炎症や梗塞部位の繊維化には細胞外基質であるコラーゲン系が重要であり、その分解を調整するMMPとTIMPを測定することでPMIと心機能変化や左室リモデリングとの関連を証明できると考えたためMMP-9とTIMP-1の測定を行った。

Q2：PMIによりMMP-9やTIMP-1はどこから放出されるのか？その局在はどこか？

測定したMMP-9とTIMP-1は組織外の血管内であるため、直接関与しないのではないかと？

A2：MMP-9やTIMP-1の明確な発現場所は不明である。PMIにより組織破壊が生じるために、破壊された箇所から血管内へMMP-9やTIMP-1が流出したと考える。これらが組織内で細胞外基質の破壊を制御することで、心筋リモデリングの進行を防ぐと考えられ、MMP-9とTIMP-1は大きく関与すると考える。しかし、これらバイオマーカーは血液内での増減で有り、組織内での変化を表現しているわけではないことが追加された。

Q3：対象患者には既に様々な薬剤が投与されているが、PMIに影響を及ぼすものは？

A3：主にスタチンが影響していると考ええる。本研究では対象患者の約87%にスタチン投与がなされているため、スタチンによる不安定プラークの安定化が関与しPMIが抑えられた可能性が考えられる。スタチンによりPTX-3やMMP-9が抑制されたとの報告もあるため、TIMP-1による心保護効果に加えて、スタチンが強く結果に影響した可能性は否定できない。

Q4：PCIによる使用ステント種類での検討はしたか？TIMI flame countはしたか？

A4：BMS、DESの2種類の違いで検討は行ったが、関連は認めなかった。現在認可されているステントは多種類あるため、種類による違いで検討することよいかもしいが、本研究は対象患者が47名と非常に検出パワーに劣るため、今後対象患者を増やして検討することが望ましい。また、使用ステントのサイズや長さがPMIに大きく影響を与えている可能性が考えられるため、サイズや長さによる影響も検証が必要と考える。

TIMI flame countに関しては計測していないが、PCIによる末梢塞栓でTIMI flowが悪くなることは既知のことなので、TIMI flame countによる検証は非常に重要と考え、今後の検討課題としたい。

Q5：TIMP-1もしくは、TIMP-1類似物質を投与すると心機能が改善すると考えられるが、実際に投与されているものはあるか？

A5：TIMP-1やその類似物質で構成された薬剤はない。TIMPはMMPの内因性阻害因子であるため、MMPを阻害することで心機能悪化を防ぐことが出来る。既存の薬剤においてMMPを阻害する薬

剤として ACE 阻害薬 (ACE-I) があり、実臨床でも頻用されている。本研究でも ACE-I を内服している患者がおり、この点で MMP 阻害から心機能保護効果が現れた可能性が考えられる。

その他の質問に関しても申請者は適切に答えた。また、今後の検討に関してのアドバイスがあった。本研究は対象患者数が少ないことが study limitation であり、探索的研究と位置づけられるが、今後、対象患者数を追加し検討する必要がある。

本論文は、PCI後のPMIに対して新たなバイオマーカーを測定し、心筋傷害があると心機能は低下するというこれまで考えられた機序と異なり、軽度心筋傷害時の心筋修復には、組織メタロプロテアーゼ阻害物質1 (TIMP-1) が関与し心筋保護効果を発揮することを発見した。対象患者数が少ないが、独創性があり、今後のPCI治療において、発展性、有益性があり、学位に値すると評価された。