

氏名	のせ だいすけ 野瀬 大補		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	甲第 1765 号		
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 14 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 plasma levels of PCSK9 and the presence of coronary artery disease in Japanese （日本人における血中 PCSK9 濃度と冠動脈疾患の関連性）		
論文審査委員	（主 査） 福岡大学	教授	浦田 秀則
	（副 査） 福岡大学	教授	出石 宗仁
	福岡大学	准教授	大久保 久美子

内 容 の 要 旨

【目的】

プロ蛋白転換酵素サブチリシン/ケキシシ 9 型（PCSK9）は肝細胞表面に発現した LDL 受容体と結合し、複合体を形成したまま分解されることで、LDL 受容体の再利用を阻害する蛋白質である。従って、血中 PCSK9 値の増加により LDL-C の処理が遅れ、血中 LDL-C 値が上昇する。血中 PCSK9 濃度と冠動脈疾患のリスクには有意な関連があるとされるが、その重症度との関連性も含めて未だ十分に確立されておらず、特に日本人での検証はない。今回、欧米人と比較し冠動脈疾患の発生率の低い日本人において、血中 PCSK9 濃度の臨床的意義を明らかにするため、冠動脈疾患の有無および冠疾患重症度との関連を検討した。

【対象と方法】

2012 年 4 月から 2014 年 9 月の期間において臨床所見、及び検査所見から冠動脈疾患の存在が疑われ、冠動脈 CT を施行された男女 423 人のうち急性冠症候群、冠動脈疾患の既往、高度腎機能不全、欠損データを有する症例を除いた連続 393 人を対象とした。冠動脈疾患は冠動脈 CT で 50% を超える狭窄病変の存在と定義し、重症度は病変枝数と Gensini score を用いて評価した。血中 PCSK9 濃度については ELISA 法を用いて計測し、対数変換を行った。

まず、冠動脈疾患の有無により、患者背景、PCSK9 を含めた各種パラメーターについて比較検討した。さらに、血中 PCSK9 濃度に影響を及ぼすスタチン内服の有無によって群分けし、同様に検証した。冠動脈疾患の有無との関連性は Log[PCSK9] と各種パラメーター（年齢、性別、BMI、家族歴、高血圧、糖尿病、腎機能障害、HDL-C、LDL-C、スタチン

治療)を共変数としてロジスティック回帰分析を全患者群、スタチン治療有無群、それぞれにおいて分析した。

【結果】

患者背景では全体の年齢の中央値は66歳で、男性が51%、高血圧症が72%、脂質異常が67%、糖尿病が23%、腎機能障害が31%に認められた。冠動脈疾患の有無によって分けた場合には、冠動脈疾患を有する群において年齢と男性の割合が高く、高血圧、糖尿病、腎機能障害の有病率が高い結果であった。血中 PCSK9 濃度は冠動脈疾患群で有意に高値を示し($p=0.004$)、またスタチン治療により有意に高値を示した($p<0.00001$)。一方でスタチン治療の有無で検証した場合には、スタチン未治療群において、血中 PCSK9 濃度は冠動脈疾患群で有意に高値を認めたが($p=0.0008$)、スタチン治療群では有意差はなかった。重症度に関しては血中 PCSK9 濃度と冠動脈病変数との関係では、一枝病変と多枝病変の間に有意差は認められず、Gensini score との間にも有意な関連はなかった。冠動脈疾患のリスクについては、スタチン治療の有無に分けて検証した場合、スタチン治療群では多変量解析で BMI と糖尿病が予測因子となったが、スタチン未治療群においては年齢、性別、HDL-C、LDL-C そして $\text{Log}[\text{PCSK9}]$ (OR 6.23; 95% CI, 2.44-15.9; $P<0.0001$) が予測因子であった。また、全患者群においても年齢、性別、糖尿病、HDL-C そして log PCSK9 (OR 2.65; 95% CI, 1.36-5.14; $P=0.003$) が独立した予測因子となった。

本解析では血中 PCSK9 と重症度との有意な関連はなかった。サンプルサイズが小さいこと、冠動脈病変の重症度に関して他の欧米の報告と比較した場合に Gensini score における重症度の高い対象数が少ない点や多枝病変患者における女性の割合が少ない点、さらに横断研究である点において検出力には限界があり、今後より大規模な臨床データの蓄積による検証が求められる。

【結論】

血中 PCSK9 濃度は全体群とスタチン未治療群において、高血圧、糖尿病、肥満等の既知の危険因子に加えて LDL-C や HDL-C で補正後、冠動脈疾患の有無との関連は有意であった。この結果は血中 PCSK9 濃度が冠動脈疾患に対するマーカーとしての可能性が示唆されるものであり、また近年の PCSK9 阻害薬による加療において、治療対象となる患者選択等の一助になる可能性が示唆された。

審査の結果の要旨

本論文は、本研究は、近年注目されている PCSK9 の血中濃度と冠動脈疾患の有無や重症

度との関連を、冠動脈 CT を施行された患者を対象に検証したものである。血中 PCSK9 濃度に影響を与えるスタチンの有無でも検討した。古典的な冠動脈リスク因子を共変数として多変量解析を行っているが、その結果、全体群、およびスタチン未治療群において血中 PCSK9 濃度は独立した冠動脈疾患の予測因子であった。しかし、冠動脈病変の重症度に関しては、Gensini score や病変本数のいずれにおいても関連を認めなかった。今後、より大規模な集団での前向き研究が期待される。

1. 斬新さ

これまでに日本人を対象とした血中 PCSK9 濃度と冠動脈疾患の関連性を検討した研究はない。過去の疫学調査では日本の冠動脈疾患死亡率は欧米と比較し有意に低く、冠危険因子に関する研究でも炎症所見の低いことが報告されている。本研究はそのような背景を踏まえて、血中 PCSK9 濃度と冠疾患の病態の検討を行ったところに斬新さがある。

2. 重要性

近年、PCSK9 は動脈硬化症の新しい治療ターゲットとして注目を集めている。PCSK9 を阻害することで血中の LDL-C は 70mg/dL 未満を達成することが容易に可能となり、心疾患二次予防の治療薬としても期待されている。血中 PCSK9 濃度と冠動脈疾患との関連性、および狭窄の重症度との関連性を検証することで、血中 PCSK9 濃度の測定意義がより明らかになる。今回の結果は、血中 PCSK9 濃度が冠動脈疾患存在のマーカーとしての可能性を示唆するもので臨床的に有用である。

3. 研究方法の正確性

本研究で測定した血中 PCSK9 濃度は、これまでの先行論文を参照し、最も使用される R&D 社の ELISA キットを用いた。また、血管病変の測定に関しては、これまで福岡大学で行われてきた冠動脈 CT を用いた確立された手法で計測され、十分な正確性がある。統計は JMP を用いて行われている。研究方法、デザインについては福岡大学病院臨床研究審査委員会承認(#09-10-2)され、UMIN(UMIN000016641)に登録された研究である。また、本論文はすでに国際誌 Heart and Vessels 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している。結果に基づいた考察については、過去の論文を十分検討・引用している。本研究の対象患者において血中 PCSK9 濃度と冠動脈疾患の有無や重症度との関連性について明確に示している。

5. 主な質疑応答

Q1: 血中の PCSK9 は 2 つの形態をとるとされるが、これはいずれのものを測定しているのか?

A1: PCSK9 は LDL 受容体分解の活性を持つヘテロダイマー型とフェーリンにより分解され活性を失ったフリーフラグメント型の 2 形態をとるが、今回用いた R&D 社のものはその区別はできない。

Q2: PCSK9 の 2 形態を区別した報告はあるか？また、その割合はどのようになっているのか？

A2: 国立循環器病センターの堀らの報告によると、家族性高コレステロール血症 (FH) の患者が対象の研究ではあるが、フューリンにより分解された非活性型の PCSK9 は、血中 PCSK9 の約 15%であったとされている。

Q3: 血中 PCSK9 濃度に影響を与える因子として、どのようなものがあるのか？

A3: 今回解析したスタチンの影響 (有無) の他に、食事による日内変動や 2 日以上 of 長期間の絶食では 70% 程度の血中 PCSK9 値の低下を認めたとする報告が紹介された。また、女性は男性よりも高く、閉経後女性は閉経前女性よりも高値を示す報告がある。閉経後女性に対するエストロゲン補充療法による影響は認められていないことも追加された。

Q4: LDL-C 以外の項目での血中 PCSK9 値との相関はみたか？その相関はどうであったか？

A4: これまでの報告として FH の Loss of function に関する研究から、中性脂肪 (TG) や Lp(a) との関連の報告はあるが、本研究では LDL-C、TC、TG との相関関係は認められず、HDL-C 値とは $\rho=0.12$ と弱い傾向があった。Lakoski らの報告では PCSK9 濃度が LDL-C と相関していることを示した一方、LDL-C の変動の 8% 程度しか PCSK9 濃度は説明できなかったとしている。今回の結果との違いは、患者層の違い (選択) による影響があると考えられる。

Q5: スタチンの投与により有意差が消失することについて PCSK9 の影響をどのように考えるのか？

A5: スタチンの使用で SREBP2 が活性化されるが、この活性化は LDL-R の発現増加と同時に PCSK9 の発現も促進する。さらに、このスタチンの使用は容量依存性に PCSK9 を増加させる。これまでの論文から、投与されたスタチンの容量や種類により 3~5 倍の増加率の差が認められていると紹介された。本研究の患者群では、実に様々な種類のスタチンと容量が使用されており、この点については今後さらなる検証が必要である。

Q6: 血中 PCSK9 を対数変換した理由は何か？一般的には正規分布するのか？

A6: これまでの論文の報告をみる限り、正規分布はとらない。対数変換をすることでかなり正規分布に近づいたことが説明された。

Q7: 性差における検討は行ったか？

A7: Jupiter Trial での報告と同様に、血中 PCSK9 値は女性で有意に高値を示した。スタチン未治療群では有意差が認められたが、スタチン投与群では、濃度差は認めなかった。

Q8: 冠動脈疾患との関連性の報告はあるか？また性差において別に分けて解析する必要はなかったか？

A8: 今回の対象群は全体の数が少ないこともあり、また特に多枝病変を有する重症群においては女性が少なく、性別での解析は行わなかった。また、これまでの報告では性別で分けた場合のそれぞれの群における評価はされていなかったが、研究対象人数の規模を拡

大して検討したい。

Q9: ネクロティックコア（壊死巣）は全身の血管で起こると考えられるが、PCSK9 はほかにも適用できるのか？この血中 PCSK9 値は、全身の血管病変を表しているのではないか？

A9: PCSK9 の過剰発現により大動脈におけるコレステロールエステルの沈着、動脈硬化の進展が確認されており、動脈硬化巣での平滑筋細胞や内皮細胞で PCSK9 の発現が確認されている。また、最近になりプラークにおける炎症等に直接かかわっていることが強く示唆されていること等から、ご指摘のように血中 PCSK9 値は全身の血管病変を表しているともいえる。

Q10: スライドに出てきた症例報告に関してだが、PCSK9 阻害薬の使用にも関わらず LDL-C は 90mg/dL 前後までしか下がっていないが、理由はあるか？

A10: 対象患者は LDLR の非常に稀で大きな duplication による遺伝子変異を伴っており、ほぼ片方のアリルにおいては機能が消失していると予想される。未治療時の LDL-C の値も >600mg/dL と非常に高値であった。PCSK9 阻害薬による LDLR の増加も一般的なヘテロ FH 程大きくはないと考える。その結果、LDL-C 値の低下が十分得られてないと考える。

Q11: マーカーとしての可能性については、スタチン内服下でも値として有用である必要があると考えるか？

A11: ご指摘の通り、理想的には心疾患二次予防のマーカーとしての可能性を期待したが、スタチン内服群では、内服加療に伴う PCSK9 の変動により冠動脈疾患群との有意差も消失してしまった。この点に関しては本研究の限界と考えるが、血中 PCSK9 の推移を見ることで臨床評価の一助になる可能性はある。今後さらなる前向き研究が必要である。

その他の質問に関しても、申請者は適切に答えた。本論文は、冠動脈疾患の存在が疑われ、当院で冠動脈CTを施行された患者において、血中PCSK9濃度と冠動脈疾患の有無、および重症度との関連性の検討を行った。血中PCSK9濃度は冠動脈病変の重症度に対するマーカーとしての意義は否定的であったが、冠動脈疾患の有無に関しては予測因子となりうる可能性を示した研究であり、学位論文に値すると評価された。