

急性冠症候群のバイオマーカー研究の成果報告 (AHA 2016)

京都大学大学院医学研究科循環器内科学講座

おおの み き こ
大野美紀子

はじめに

このたび、第1回 Travel Award for Women Cardiologists を受賞させていただき、大変光栄に思う。今回、筆者は所属する研究室で研究対象としているメタロプロテアーゼ、ナルディライジン (nardilysin) が、急性冠症候群 (ACS)、中でも不安定狭心症 (UA) の超早期の診断に有効であるという研究成果 “Nardilysin is a Promising Biomarker for the Early Diagnosis of Acute Coronary Syndrome” を、米国心臓協会学術集会2016 (AHA Scientific Sessions 2016, 11月12日～11月16日、米国ルイジアナ州・ニューオーリンズ) のポスターセッションにおいて報告させていただいた (図1)。その研究成果の報告にあたり、旅費の一部を日本循環器学会よりご援助いただいた。

街および学会全体の印象

本学会への参加は、2011年にオーランドで開催された学術集会以来、2度目の参加であった。その年の発表は口頭発表だったため、大変緊張したのを覚えているが、今回はポスター発表ということで、比較的ゆったりした気持ちで discussion に望めるのではと期待していた。また、ニューオーリンズへの訪問は、医学部生のときに参加した他分野の学会以来20年ぶりであり、懐かしさを感じた。学会会場 (図2) に到着するや否や、吹奏楽の楽隊によるジャズの演奏を聴くことができ、「ジャズの

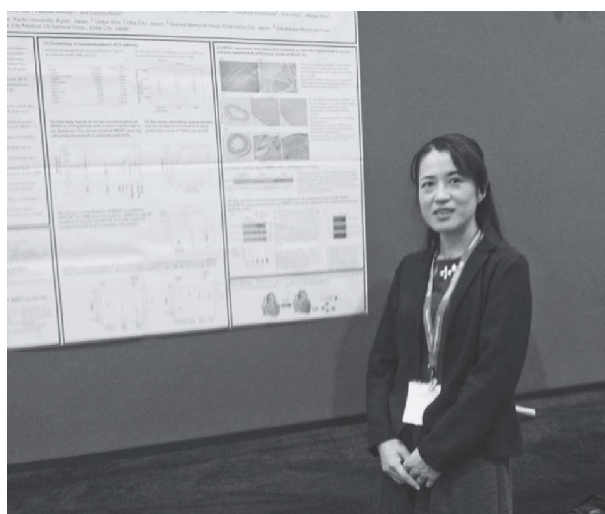


図1 ポスター会場にて



図2 コンベンションセンター入口

街」を実感できた。最近のトレンドとしては、欧州心臓学会議 (European Society of Cardiology: ESC) に参加される方が多いようだが、「老舗国際学会」ともいえる AHA への参加者はやはり多

く、広い会場は混雑しており、各セッション会場への移動が大変であった。そこで効率よく計画を立てて勉強するにはインターネット (Wi-Fi) 環境の充実と、学会プログラムのアプリケーションの使用が一番かと思い、参加登録手続きを済ませた直後に、パソコンやスマートフォンなどのモバイル機器にプログラムをダウンロードし、お目当ての演題をチェックした。日中しっかり勉強した後は街に出かけ、ジャズの生演奏を聴きながら食事をいただく時間がとても贅沢に感じられた。また、フレンチクォーターのディケーター通りにある、Café du Monde 本店は24時間営業しており、名物のベニエとカフェオレを堪能した。

急性冠症候群のバイオマーカー研究について (AHA Scientific Sessions 2016)

ACS の診断バイオマーカーとしては、心筋トロポニン (I, T) がゴールドスタンダードとして用いられている。高感度トロポニンの測定により ACS を早期に診断し、ただちに PCI に持ち込むことで、生命予後の改善を期待することができる。しかしながら、心筋トロポニンは筋原線維タンパクであり、心筋特異性は高いものの「late marker」とされ、発症超急性期においては上昇しない、タイムラグが存在することから、超急性期診断マーカーの出現が望まれている。一方、細胞質可溶性分画に存在し「early marker」とされる H-HABP は感度は高いが心筋特異性が低く、現在の実臨床ではあまり使用されていない印象である。本学会においても、トロポニンのセッションでは白熱した議論が行われていたし、またトロポニン以外の ACS バイオマーカーに関する研究報告も複数の報告がされていた。たとえば、heat shock protein27 (HSP27) と、その自己抗体 (HSP27 antibody) に関する報告¹⁾、また種々の miRNAs が血中に分泌されるという報告などは印象的であった。一言で ACS の診断バイオマーカーと言っても、発症時の分泌機序や生物学的機能はそれぞれ異なる。ある報告では、血清中に分泌され

るタンパクの上位99%は22のタンパクで占められるとされている²⁾。しかしながら、それは生理的な定常状態の話であり、疾患特異的にさまざまな臓器・細胞から分泌されるタンパクが存在するとされている。今回ご紹介するナルディライジン (nardilysin, NRDC) についても、同様のことが言えると思う。

研究成果の概要

ナルディライジン (N Arginine Dibasic Convertase: NRDC) は、M16ファミリーに属するメタロプロテアーゼで、ヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (heparin binding epidermal growth factor like growth factor: HB-EGF) の結合タンパク質として、2001年に西らにより再同定された³⁾。哺乳類で相同性の高いタンパク質として、IDE (insulin degrading enzyme) が知られている。NRDC は、(1)細胞質、(2)細胞膜表面、(3)核、と細胞内局在を変え、それぞれ、(1)メタロプロテアーゼとして抗原のプロセッシングに関わること⁴⁾、(2)膜タンパク質の細胞外ドメインシェディングを増強すること^{5,6,7,8)}、(3)核内で転写コレギュレーターとして転写を制御すること^{9,10)}など、さまざまな機能をもつことが明らかとなっている。

NRDC の発現は、中枢・末梢神経系、褐色脂肪組織、膵β細胞、心血管系など、多岐にわたっており、全身性遺伝子欠損マウス (Nrhc-KO) の作製および解析から、NRDC が中枢および末梢神経系における髄鞘形成を制御すること¹¹⁾、体温調節の鍵分子であること⁹⁾、膵β細胞においてインスリン分泌を制御すること¹²⁾などが明らかとなってきた。さらに、このマウス (Nrhc-KO) が低血圧や徐脈を呈することから、心血管系においても重要な役割をもつことが示唆されている。

今回、われわれは循環器疾患における NRDC の意義を明らかにするため、新たに開発した高感度 ELISA システムを用いて、京都大学医学部附属病院循環器内科に入院中の患者血清における血

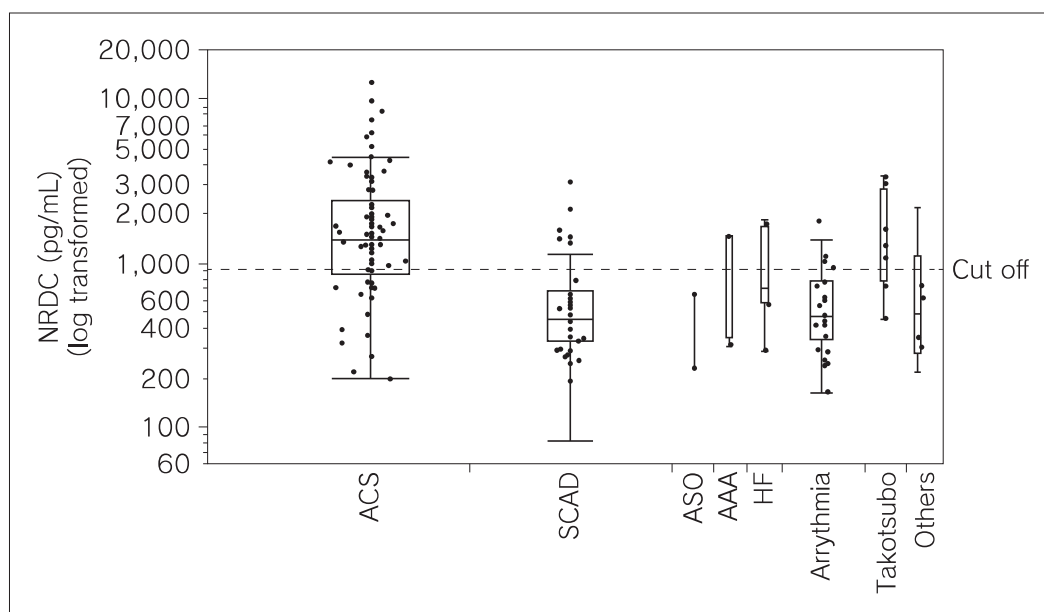


図3 循環器内科入院患者における血清 NRDC 値

ACS; acute coronary syndrome, SCAD; stable coronary artery disease, ASO; arteriosclerosis obliterans, AAA; abdominal aortic aneurysm, HF; heart failure

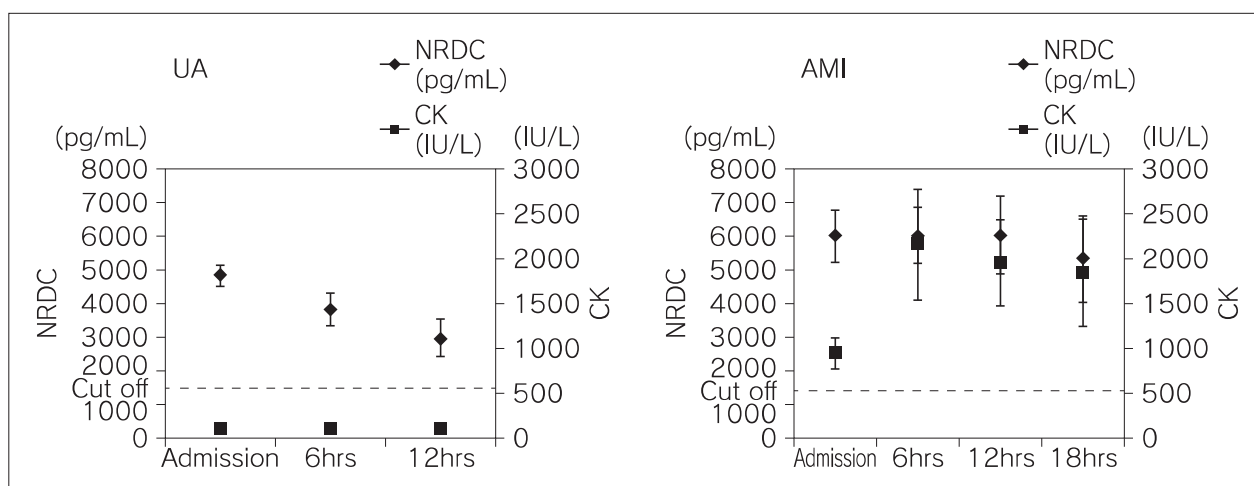


図4 血清 NRDC は UA および AMI 発症早期から上昇する

清 NRDC 値を測定した (2009年1月～2012年9月, $n=210$). さらにコントロールとして, 健常者血清中 NRDC ($n=112$) の平均値+2SD を正常カットオフ値と決定した. その結果, 健常者や安定狭心症, 動脈硬化性疾患と比較して, ACS (AMI+UA) において血清 NRDC 値が有意に上昇しており (図3), ACS のバイオマーカーとして有用であることが示唆された. そこで, 当院 ACS 症例 (前向き連続43症例) における血清

NRDC 値を測定し, AMI と UA でその時系列変化を検討した. AMI では, 血清 CK, CK-MB の平均値は来院6時間後にピークを迎えたが, 血清 NRDC 値は来院時からすでにピークに達しており, 少なくとも18時間後までは高値を呈していた (図4右). 一方, 心筋逸脱酵素の上昇を認めない UA においても, 血清 NRDC 値は来院時より有意に上昇していたことから, ACS, 特に UA における急性期診断バイオマーカーとして有用である

可能性が示唆された (図 4 左)。そこで、ACS における血清 NRDC の分泌源が障害心筋であるのかどうかを明らかにするために、動物実験ならびに細胞実験系で検証することとした。まず、野生型マウスに対し、心筋梗塞モデルである左前下行枝結紮を行った後に採血を行い、対照群 (sham 手術群) と比較して、血清 NRDC が有意に増加していることを確認した。次に、同モデルの心臓における梗塞巣周囲の NRDC の発現パターンを観察するため、抗 NRDC 抗体を用いて免疫染色を行ったところ、梗塞領域における NRDC の染色性の低下、周囲の残存心筋における染色性の上昇を認めた。さらに、ラット初代心筋培養細胞を用いた細胞実験系において、カルシウム過負荷 (A23187) や過酸化水素 (H_2O_2) などの虚血を模倣するような刺激を行ったところ、NRDC が培養上清中に分泌されることが確認できた。この現象は、細胞障害マーカーである LDH が十分に上昇する前から起こっており、NRDC が虚血によって心筋細胞外に分泌される詳細な機序は不明ながら、単に心筋壊死に伴った逸脱酵素として血清中に分泌されるのではなく、虚血刺激によって能動的に細胞外に分泌されることを示唆する。また NRDC は血球系の細胞にも発現しており、心筋梗塞剖検例の壊死巣に浸潤した好中球においても NRDC の発現が増加していたことから、炎症との関連も示唆された¹³⁾。以上の結果をポスターセッションで発表させていただき、各国の医師ならびに研究者からさまざまな質問をしていただいた。

その後、実臨床の現場において、NRDC が ACS の診断バイオマーカーとして有用かどうかを明らかにするために、多施設前向き研究「Nardi-ACS study」を立ち上げた。京都大学医学部附属病院とその関連施設病院のご協力のもと、胸痛で救急外来を受診した症例の血清 NRDC 値を測定し、診断能を検討する予定である。

研究成果が臨床応用される日を夢見て、日々研究に精進して参りたいと思う。このたびは、ご支援いただき本当にありがとうございました。

著者の COI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Edward R OBrien, Chunhua Shi, Yong-Xiang Chen, et al: HSP27 and Anti-HSP27 Autoantibodies: Novel CAD Biomarkers That Non-Invasively Stratified a Medically Underserved Population. *Circulation* 2016; **134**: Issue Suppl 1
- 2) Anderson N. L, Anderson N. G: The human plasma proteome, History, Character, and Diagnostic prospects. *Molecular and Cellular Proteomics* 2002; **1**: 845-867
- 3) Nishi E, Prat A, Hospital V, et al: N-arginine dibasic convertase is a specific receptor for heparin-binding EGF-like growth factor that mediates cell migration. *EMBO J* 2001; **20**: 3342-3350
- 4) Kessler JH, Khan S, Seifert U, et al: Antigen processing by nardilysin and thimet oligopeptidase generates cytotoxic T cell epitopes. *Nat Immunol* 2011; **12**: 45-53
- 5) Nishi E, Hiraoka Y, Yoshida K, et al: Nardilysin enhances ectodomain shedding of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor through activation of tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme. *J Biol Chem* 2006; **281**: 31164-31172
- 6) Hiraoka Y, Ohno M, Yoshida K, et al: Enhancement of alpha-secretase cleavage of amyloid precursor protein by a metalloendopeptidase nardilysin. *J Neurochem* 2007; **102**: 1595-1605
- 7) Hiraoka Y, Yoshida K, Ohno M, et al: Ectodomain shedding of TNF-alpha is enhanced by nardilysin via activation of ADAM proteases. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; **370**: 154-158
- 8) Ohno M, Hiraoka Y, Lichtenthaler SF, et al: Nardilysin prevents amyloid plaque formation by enhancing α -secretase activity in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol Aging* 2014; **35**: 213-222
- 9) Hiraoka Y, Matsuoka T, Ohno M, et al: Critical roles of nardilysin in the maintenance of body temperature homeostasis. *Nat Commun* 2014; **5**: 3224
- 10) Li J, Chu M, Wang S, et al: Identification and characterization of nardilysin as a novel dimethyl H3K4-binding protein involved in transcriptional regulation. *J Biol Chem* 2012; **287**: 10089-10098
- 11) Ohno M, Hiraoka Y, Matsuoka T, et al: Nardilysin regulates axonal maturation and myelination in the central and peripheral nervous system. *Nat. Neurosci*

2009; **12**: 1506-1513

- 12) Nishi K, Sato Y, Ohno M, et al: Nardilysin is required for maintaining pancreatic β -Cell Function. Diabetes 2016; **65**: 3015-3027

- 13) Po-Min Chen, Ohno M, Hiwasa T, et al: Nardilysin is a promising biomaker for the early diagnosis of acute coronary syndrome. Int J Cardiol (in press)

*

*

*