

**10) 重症虚血性心疾患患者における血管内皮機能異常
と血管内皮前駆細胞 Sirt-1 発現調節、EPC 機能異常
との関連**

研究代表者 太田 久宣

[研究目的]

重症虚血性心疾患、とりわけ急性心筋梗塞 (AMI) においては、再灌流療法の進歩により著しい急性期予後の改善が果たされている。しかし、メタボリックドミノによる動脈硬化を背景に発症する本病態では、最善の急性期治療を受けても患者の予後は一様ではなく、患者 QOL の改善には個々に応じた急性期治療から慢性期へと継続した治療戦略が必要である。中でも腎機

能障害を有する心血管疾患患者の生命予後は不良であり、心腎連関の概念からも動脈硬化を基盤とする心血管疾患患者の腎機能特に初期病態を反映する尿中微量蛋白の有無は重要である。この中でもとりわけAMI発症急性期に尿中アルブミン増加の観察される症例では短期生命予後が不良であることが報告されている。我々は2007～2008年に当院に入院したAMI患者について急性期蛋白尿の有無と、亜急性期のBNP値並びに心疾患イベントによる予後との関連性を検討した(n=40)。その結果、急性期蛋白尿の出現群では蛋白尿非出現群、擬陽性群と比較し、有意にBNPが高値で2年生存率が不良であった。微量アルブミン尿は腎糸球体血管系内皮障害に基づく微細構造異常の指標であり、特に糖尿病患者においては動脈硬化性疾患発症の前段階から出現し、全身の動脈硬化進展とともに進行、酸化ストレスや炎症性サイトカインの動員などにより再内皮化の障害とともに非可逆性障害へと進展、腎糸球体内圧を上昇させ血圧上昇、RA系の亢進をきたし心血管イベントの発症を導くと考えられる。しかし、こうしたAMI急性期の蛋白尿がどのような機序でAMIの長期予後と関連しているかは未だ明らかではない。

AMIをはじめとする重症虚血性心疾患において、動脈硬化巣の進展は血管内皮にかかる様々な外的要因のみならず、障害内皮の機能障害、再内皮化の異常も大きな要因である。血管内皮前駆細胞(EPC)は骨髄から末梢血に動員され、障害内皮の修復、虚血組織での血管新生に重要な役割を果たす。EPCの機能異常は、正常な内皮修復、血管新生を妨げ、結果更なる動脈硬化巣の進展を助長すると予想されるが、虚血性心疾患患者におけるEPCの機能異常に関する詳細な検討は未だ明らかではない。Sirt1は長寿遺伝子とも言われ、加齢、酸化ストレスに伴う種々の細胞障害にたいし保護的に働く酵素として注目されているが、近年Notchシグナルを介して神経幹細胞分化に関与することが報告され、EPCの内皮分化、機能制御にも重要な働きを担っていると考えられる。本研究の目的は、重症虚血性心疾患患者由来EPCの機能異常(血管新生作用)を明らかにし、この機能異常に寄与する因子としてSirt1に着目、Sirt1の発現調節と虚血性心疾患患者の内皮機能異常について検討することである。

【研究方法】

対象：発症24時間以内に再灌流療法を行ったAMI患者

測定項目：①尿中アルブミン排泄率(UAER:24時間蓄尿):300～30mg/日;微量アルブミン尿群、<30mg/日;正常群 ②頸動脈エコーによるPlaque score ③AMI患者由来単核球(フローサイトメトリー):CD34、AC133、Fik1陽性細胞 ④AMI患者由来early EPC:
a. Fik1陽性細胞比による内皮細胞分化効率 b. Sirt1、PGIS、SDF-1遺伝子発現(定量的real-time PCR) ⑤急性期血漿中PTX3濃度

方法：AMI来院後、直ちに炎症マーカーである血漿中PTX3濃度、48時間以内にUAERを測定する。また①48時間以内と②7日目に末梢血30mlを採取、単核球分画におけるCD34、Fik1陽性細胞の骨髄からの動員を評価する。さらに、この分画を体外培養しearly EPCを樹立する。次いで各細胞よりmRNAを抽出し、定量的real-time PCR法にてSirt1、PGIS、SDF1遺伝子の発現量調節を定量的評価する。これらEPCの量的・質的機能及びその可塑性を、上記3群間において比較検討を行う。副次評価項目として頸動脈エコーにてプラークスコアの評価を行う。

【結果と考察】

2010年1月から7月までの間に20例のAMI患者が入院し、そのうち19例を対象に検討を行った。これらを正常群(n=12, 63.8±16.1歳)、微量アルブミン尿群(n=7, 64.7±11.1歳)に分け、各群を比較した。患者背景では、Peak CPK、MBがそれぞれ3431 vs 2754 IU/l、290 vs 227 IU/lと大きな差はなかったが、正常群ではKillip III以上が0%であったのに対し、微量アルブミン尿群では42.9%と、来院時状態が重篤であるものの割合が高かった。48時間以内の循環血中CD34+Fik1+細胞数は各群で同様であったが、7日目では48.3 vs 68.9 cells/104と微量アルブミン尿群で高い傾向にあった(図1)。しかし、7日目の細胞分画から分離したe-EPCにおけるSirt1、SDF1のmRNA発現量を比較すると、いずれも正常群において高値を示した(図2)。頸動脈プラークスコアは5.1 vs 8.0であった。これらの結果から、AMI急性期に微量アルブミン尿を呈する群は、正常群と比較し循環血中へのCD34+Fik1+細胞の動員は増加するが、e-EPCにお

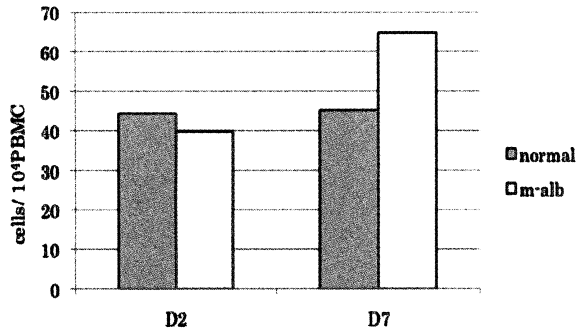


図1 CD34⁺Flk1⁺

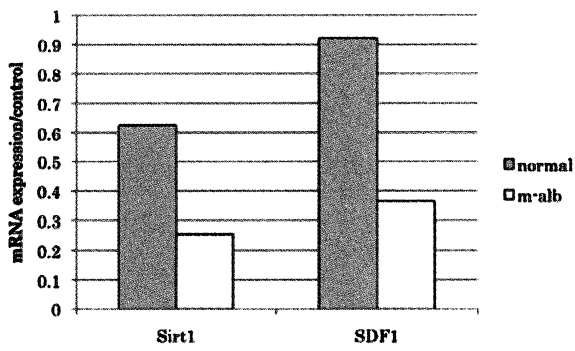


図2 EPCの各mRNA発現

る Sirt1, SDF1 遺伝子の発現は低下しており、EPC 機能が低下している可能性が示唆された。

[まとめ]

急性心筋梗塞の急性期において、微量アルブミン尿を呈する群は、正常群に比べ循環血中への CD34⁺Flk1⁺ 細胞の動員が増加しているが、e-EPC における Sirt1 や SDF1 の mRNA 発現は低下しており、EPC 機能が低下している可能性がある。今後さらに症例数を蓄積し、検討を進めていく予定である。