

酸化ビリルビンを用いた狭心症患者の家庭内酸化ストレス動態評価

高知大学医学部 外科学講座（外科2）

助教 山本 正樹

（共同研究者）

高知大学医学部 外科学講座（外科2）	教授	渡橋 和政
高知大学医学部 外科学講座（外科2）	准教授	西森 秀明
高知大学医学部 外科学講座（外科2）	助教	近藤 庸夫
高知大学医学部 外科学講座（外科2）	医員	田代 未和

はじめに

心疾患は、第1位の悪性新生物に続き、第2位の死因となっている。人口10万人対では18万人/年となり、その多くは狭心症と心筋梗塞などの虚血性心疾患である。虚血性心疾患は約半数に重症化するまで症状を伴わないとの報告もある。現在の虚血性心疾患に対する治療は、薬物治療とカテーテル治療、さらに冠動脈バイパス術があり、それぞれが成熟した治療法となっている。そのため、虚血性心疾患は早期発見できれば、治療が可能であり、死亡に至る患者数を減じる事ができると考えられる。

現在の虚血性心疾患に対するスクリーニング検査には心電図が一般的であるが、無症状で虚血性心疾患を特定できることは少ない。米国では、家庭医療学会を中心に虚血性心疾患のスクリーニングとして心電図検査を行うべきではないとまでされている。本邦での心電図検査の診療保険点数は130点（1,300円）であり、費用対効果からは本邦でもスクリーニング検査としての有用性は低いと考えられる。しかし、重症化してから発見され、冠動脈カテーテル検査の結果、救命を目的とした緊急治療を要することも多く経験される。

これらの、虚血性心疾患に関与する因子として酸化ストレスがある^[1,2]。酸化ストレスは、活性酸素や活性窒素など多種存在する非常に不安定な物質であり、組織や細胞に傷害性を持つ。狭心症の病態は、冠動脈狭窄による血流供給量の減少により、心筋において虚血と再灌流を繰り返す状態である。これは“心筋虚血再灌流”と表現されるが、この課程において酸化ストレスが産生され、心筋傷害の一因となっている。

生体内において酸化ストレスに関与する物質は多く存在するが、組織内に存在するビリルビンもその一つである^[3,4]。酸化ストレスの存在下で、ビリルビンは“酸化ビリルビン”に変化し、尿中に排泄される。我々はこの“酸化ビリルビン”である“バイオピリン”を検出する事で“心筋虚血再灌流”動態を経時的に測定する方法を動物実験により報告した^[5]。バイオピリンは尿検体により測定できるため、検体採取が容易であり、いずれは家庭内でも測定できることが可能であると考えられる。その為、狭心症スクリーニングとして有用ではな

いかと考えている。

結 果

本研究は、尿中バイオピリンを測定する事により、狭心症患者を検出する事を目指したものである。まず、心筋虚血による尿中バイオピリン値の増加を動物実験により示した。ラットを用いて狭心症モデルを作成した。左前下行枝血流を一時遮断し、その後に経時的に尿中バイオピリン値を測定した。尿中バイオピリン値は、狭心症出現後6時間で上昇し、24時間までは高値が持続した。48時間では前値に復した。(表1)

表1 狭心症モデルによる尿中バイオピリン

再灌流時間	0時間	3時間	6時間	24時間	48時間
狭心症	0.41	0.48	1.98 #	0.78 #	0.57
コントロール	0.46	0.46	0.51	0.46	0.5

(単位 $\mu\text{mol/g.Cr}$, #; $P < 0.05$)

狭心症患者を、労作性狭心症と不安定狭心症に分けて検討した。全例ともに、冠動脈造影検査にて三枝病変を認め、冠動脈バイパス術を要した患者である。コントロール群は、非心臓手術患者で、狭心症を有さない。サンプル採取は入院翌日の安静時行った。

狭心症患者において採取した随時尿サンプルからのバイオピリン値の測定では、不安定狭心症患者では有意な上昇を認めたが、軽症の労作性狭心症患者ではバイオピリン値の上昇は軽微であり、有意差は示さなかった(表2)。同時に測定したC-反応性プロテイン、クレアチニンキナーゼ、総ビリルビン値では各群に有意差はなかった(表3)。

表2 狭心症患者の尿中バイオピリン

バイオピリン	1回目 ($\mu\text{mol/g}$)	2回目 ($\mu\text{mol/g}$)
労作性狭心症	0.2	0.2
不安定狭心症	0.37 #	0.38 #
コントロール	0.23	0.24

(単位 $\mu\text{mol/g.Cr}$, # ; $P < 0.05$)

表3 狭心症患者の血液検査

	C-反応性プロテイン (mg/dL)	クレアチニンキナーゼ (IU/L)	総ビリルビン (mg/dL)
労作性狭心症	0.42	88.4	0.49
不安定狭心症	0.13	81.6	0.81
コントロール	0	80.5	0.57

(# ; $P < 0.05$)

考 察

生体内酸化ストレスの測定には多くの方法がある。一方で、酸化ストレス測定は、数種類の活性酸素種を測定する必要性があり、容易ではない。虚血性心疾患による心筋傷害には数種の酸化ストレスが影響する。

生体内には抗酸化作用を示す物質が存在する。その一つが“ビリルビン”である。ビリルビンはsuicidalに活性酸素種を補足することにより抗酸化作用を示す。新生児は出生後に新生児黄疸なる高ビリルビン状態にあるのは、低酸素状態の母体内から出生により高酸素に暴露されると同時に酸化ストレスも増加する。これに対する反応と考えると論理的である。狭心症においても、酸化ストレスに反応して生じた“バイオピリン”を測定する事で、生体内酸化ストレスを評価することができる。しかも、心筋虚血再灌流は非常に高い酸化ストレスを示す^[6]。本研究では、尿中バイオピリンを測定する事で、狭心症をスクリーニングとして検出する可能性を検討したものである。

予備実験として行った動物実験では、心筋虚血後は尿中バイオピリン値の上昇が見られ、24時間の持続がある。48時間後には前値に復している。狭心症患者における尿中バイオピリン値は、重症心筋虚血にある不安定狭心症では上昇を認めた。労作性狭心症は、尿中バイオピリン値に有意な上昇を認めなかった。労作性狭心症は入院後の安静により心筋虚血が生じていなかった可能性が考えられる。

今回の研究からは、いわゆる冠動脈狭窄度ではなく、心筋虚血状態をバイオピリンが反映する可能性はあることが考えられる。心筋虚血状態にあれば、尿中バイオピリン値の上昇により検出できる可能性がある。一方で、冠動脈狭窄が高度であっても、安静または薬物的に心筋虚血が軽減していればバイオピリン測定は偽陰性となる可能性がある。

狭心症のスクリーニングとしての“尿中バイオピリン”測定は、“心筋虚血”を有する狭心症は検出できるが、狭心症であっても“心筋虚血”がなければ検出できない。無症状患者を検出する事はできない可能性が高い。バイオピリンを狭心症スクリーニングとして使用するにはさらなる検討が必要である。

要 約

尿中バイオピリンを測定する事で、“心筋虚血”にある患者を検出できる可能性がある。その検出可能な期間は一時的な心筋虚血生じた後、24時間以内である。胸痛など狭心症が疑われる患者において狭心症の可能性を評価するツールになる可能性があると考えられる。

文 献

1. Venardos KM, Perkins A, Headrick J, Kaye DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. *Curr Med Chem.*;14 (14) :1539-49, 2007.
2. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res.*;70 (2) :181-90, 2006.
3. Yamaguchi T, Shioji I, Sugimoto A, Komoda Y, Nakajima H. Chemical structure of a new family of bile pigments from human urine. *J Biochem.*;116 (2) :298-303, 1994.
4. Yamaguchi T, Terakado M, Horio F, Aoki K, Tanaka M, Nakajima H. Role of bilirubin as an antioxidant in an ischemia-reperfusion of rat liver and induction of heme oxygenase. *Biochem Biophys Res Commun.*;223 (1) :129-35, 1996.
5. Yamamoto M, Maeda H, Hirose N, Nakagawa A, Radhakrishnan G, Gopalrao RK, et al. Biphasic elevation of bilirubin oxidation during myocardial ischemia reperfusion. *Circ J.*;72 (9) :1520-7, 2008.
6. Yamamoto M, Maeda H, Hirose N, Radhakrishnan G, Katare RG, Hayashi Y, et al. Bilirubin oxidation provoked by nitric oxide radicals predicts the progression of acute cardiac allograft rejection. *Am J Transplant.*;7 (8) :1897-906, 2007