

ミトコンドリアDNAメチル化解析による ミトコンドリア老化尺度の開発と新規細胞老化機構の解明

岩手医科大学解剖学講座 人体発生学分野

助教 三上 貴浩

(共同研究者)

岩手医科大学解剖学講座 人体発生学分野 教授 人見 次郎

はじめに

「ミトコンドリアDNAメチル化解析によるミトコンドリア老化尺度の開発と新規細胞老化機構の解明」に関して、現在の進行状況としては、検体解析を行う検証群と探索群を選択し、そのメチローム解析を外注、検証群の解析モデルを検討する段階まで到達した。そして、当初のミトコンドリアDNAメチル化解析による老化マーカーの探索をしている過程で、頸動脈狭窄症のマーカーを同定した。そこで、本報告では「頸動脈狭窄症マーカーとしての active C3」に関して報告させていただく。

要 約

WHOの統計によれば、アテローム性動脈硬化巣を発生母地とするアテローム血栓症が原因となる脳梗塞、心筋梗塞などの“虚血性血管イベント”は、世界における死亡原因のトップにあり、その患者数は今後も増加傾向にある。

一方、頸動脈狭窄 (carotid artery stenosis; CAS) は頸動脈のアテローム性動脈硬化が原因であり、アテローム血栓症の主要な責任病巣の一つである。CASが原因となる脳梗塞は全脳梗塞の15%程度を占めると推定され、狭窄率60%以上の高度の無症候性のCASは、未治療の場合、8%以上が血管イベントをきたすと報告されている。さらに、その進行は全身性のアテローム性動脈硬化の進行程度を反映しており、頸動脈の狭窄度が高度になると、頸動脈のみならず、他の多くの血管にもプラークが存在する 경우가多く、合併により致死的な血管イベントの発生の危険性が増大する。

治療対象となるCAS (狭窄度60%以上) を診断し、適切な治療を行うことの重要性は明らかであるが、現在CASの存在診断は超音波画像診断装置によって行われており、既往の無い或は自覚症状の無いCAS患者は血管イベントの発生まで診断される可能性は低い。

申請者らは症候性CASの有用な治療法である頸動脈内膜剥離術(carotid endarterectomy; CEA) の施術予定患者で増加する血中マーカー (active C3) を同定し、その測定系を完成させた。この active C3 は、狭窄度60%未満 (狭窄の無いものも含む) と60%以上の高度の狭

窄を区分することができるとともに、2つ以上の血管病変を持つ患者を、1つの病変のある患者、病変の無い患者、それぞれを区分することもでき、本アッセイがCASの狭窄率の判定とともに血管イベントの危険度評価に活用できる可能性が示唆された。

背 景

脳卒中 (cerebrovascular disease; CVD) のアテローム血栓性脳梗塞や一過性脳虚血、冠動脈疾患 (coronary artery disease; CAD)、末梢動脈疾患 (peripheral arterial disease; PAD) は、動脈のアテローム性動脈硬化巣を発生母地とする血栓で発症する。WHOの統計によれば、このようなアテローム血栓症 (Atherothrombosis; ATIS) が原因となる脳梗塞やCADの心筋梗塞などの“虚血性血管イベント”は、世界における死亡原因のトップにあり、その患者数は今後も増加傾向にある。一方、頸動脈狭窄 (CAS; Carotid Artery Stenosis) は一過性脳虚血やアテローム血栓性脳梗塞の発生母地となり、CASが原因となる脳梗塞は全脳梗塞の15%程度を占めると推定されている。何らかの血管イベントの既往のある症候性のCASの場合、早期の頸動脈内膜剥離術 (carotid endarterectomy; CEA) が有用であるが、狭窄率60%以上の高度の無症候性のCASは、未治療の場合、8%以上が血管イベントをきたすことが報告されており、抗血小板薬や脂質異常症改善薬を含む最良の内科的治療に加えて、CEAを行った方がCVDの発症率は低い。また、高度のCASは他の血管病変も合併する場合が多く、合併により致死的な血管イベントの発生の危険性が増大する。

治療対象となるCAS (狭窄度60%以上) を診断し、適切な治療を行うことの重要性は明らかであり、高度CASの存在とともに複数の病変の合併を評価できるような体外診断薬が期待されている。しかし、高度CASの存在診断は、頸動脈狭窄率を測定できる超音波画像診断装置によるところが大きく、明確な症状が現れてから専門の医療機関を受診するか、脳ドック等で健診しない限り、診断の機会を得ることが無い。合併病変を診断することはさらに困難である。

結 果

申請者らは頸動脈狭窄と関連する血中マーカーであるactive C3を同定し、その測定系を完成させた。このactive C3は、CEA施術予定者を含むATISの患者、ATISの危険因子を3つ以上有する患者 (血管イベント発症の高危険度群、もしくはATIS予備群) を対象として、狭窄度60%未満 (狭窄の無いものも含む) のCAS (163例) と60%以上の高度の狭窄 (70例) を区分することができた (AUC= 0.8470, Std-Error 0.02686, 95% CI 0.7944 to 0.8997, p value < 0.0001) (図1)。

また、ATISの危険因子と治療法の世界規模登録研究であるREACH registryの4年後の追跡結果から、エンドポイントを心血管死、非致死性の脳卒中または心筋梗塞とした場合、

ATISの病変（冠状動脈、脳動脈、末梢動脈など）の数が血管イベントリスク上昇の強力な予測因子であり、2つ以上のpolyvascular diseaseでその上昇が特に顕著であることが示されているが、active C3は、血管イベントの既往の無い患者（L0；26例）、1つの病変のある患者（CVDもしくはCADもしくはPADの既往のある患者）（L1；91例）、2つ以上の病変のある患者（L2-3；33例）をそれぞれ区別することができた（L0 vs L1; AUC=0.7815, L0 vs L2-3; AUC=0.8986, L1 vs L2-3; AUC=0.6901）（図2,3）

図 1

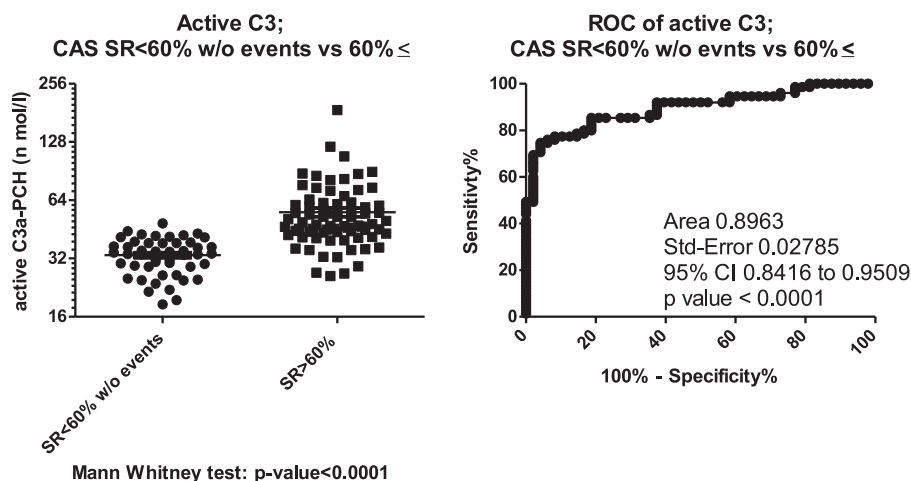


図 2

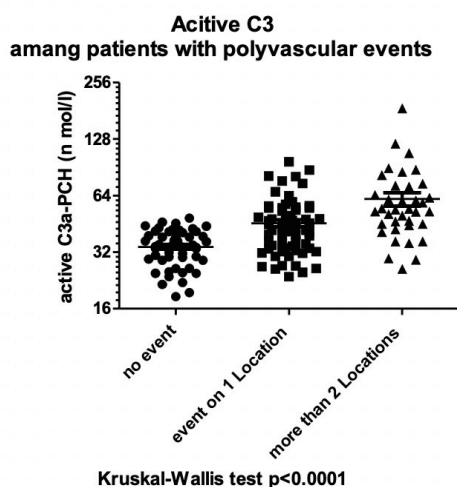
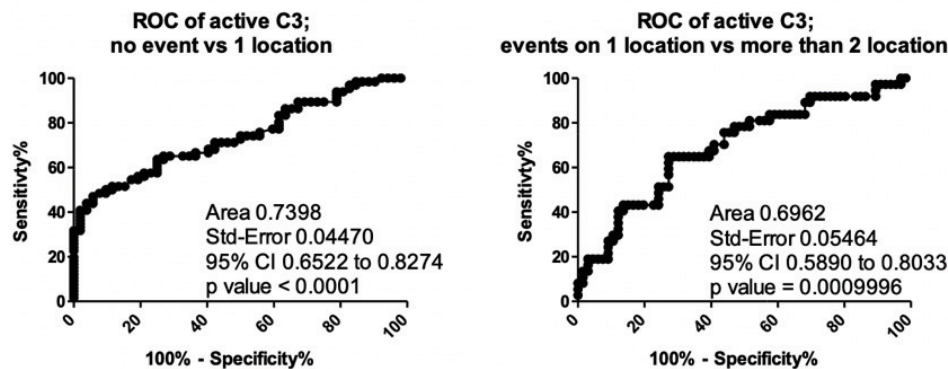


図 3



考 察

現在、アテローム血栓症（Atherothrombosis; ATIS）の発生母地であるアテローム性動脈硬化巣（プラーク）の存在を知るための有効な体外診断薬は無い。例えば、頸動脈狭窄は超音波診断装置によって存在が確認されており、無症候性の高度頸動脈狭窄は偶発的に発見されるか、何らかの血管イベントの発生を契機として診断されている。

Active C3の測定系である本試験物は、頸動脈狭窄の好発年齢であり、自覚症状は無いがアテローム血栓症の危険因子である血圧、血糖値、脂質などの異常値を示す患者を対象として、高度頸動脈狭窄の診断を助ける一次スクリーニング検査薬として活用できると共に、全身のアテローム性動脈硬化巣の進行とそれによる血管イベントの危険度評価に活用できる可能性がある。

尚、頸動脈狭窄については、60%以上狭窄のある無症候性頸動脈狭窄の頻度を、50歳以上80歳未満で0.5%と見積ると患者数は20万人、65歳以上80歳未満で1.0%と見積ると24万人程度が予想される。ATISの危険因子には年齢（男性65歳以上、女性70歳以上）、糖尿病、高血圧、脂質異常症、喫煙が含まれており、これら因子を3つ以上もつスクリーニング対象者は、65歳以上の人口が2,400万人で30%が高血圧、20%が糖尿病と計算すると、優に100万人を超える。

本アッセイは補体C3カスケードの第2経路の活性化状態を検出している。一方、アテローム血栓症（Atherothrombosis; ATIS）は、比較的太い動脈のプラークを母地として、病巣の血管内膜の損傷に伴って生じる血栓が脳や心臓、下肢などの組織を虚血に陥らせ、壊死に至らせる疾患である。頸動脈狭窄（carotid artery stenosis; CAS）は頸動脈のアテローム性動脈硬化が原因であり、ATISの主要な責任病巣の一つである。その進行は全身性のアテローム性動脈硬化の進行程度を反映しており、頸動脈の狭窄度が高度になると、頸動脈のみならず、他の多くの血管にもプラークの存在が疑われるが、大きなプラークは表面性状や狭窄により、血液の恒常性（ホメオスタシス）を変化させ、C3補体カスケードの第2経路の活性化を引き起こしていると考えられる。