

ストレス反応から捉えた急性冠症候群の病態と、 炎症性マーカーの診断的意義

井上 信孝¹ 白木 里織² 江尻 純哉²
乙井 一典² 本庄 友行² 横山 光宏²

要 旨：動脈硬化を基盤とした心血管病は、内皮障害から始まる炎症性疾患と捉えることができる。高感度CRPが冠動脈危険因子であるという知見は、この概念を支持する。しかし、vulnerable patientの鑑別という点では、CRPにはその非特異性など問題点もある。本稿では、ストレス反応の観点から急性冠症候群の病態を概説し、炎症性マーカーの診断的意義および、新たな指標としての末梢血単球Toll-like受容体の有用性を考察したい。(J Jpn Coll Angiol, 2007, 47: 519-523)

Key words: oxidative stress, NADPH oxidase, C-reactive protein, Toll-like receptor

緒 言

急性冠症候群(acute coronary syndrome: ACS)は、不安定粥腫の破綻および粥腫表面の内皮のびらん、それにより引き起こされる冠動脈内血栓の形成により発症し、その病態の基盤には、動脈硬化病変の形成がある。動脈硬化は、血管内皮機能障害から始まる慢性の炎症性疾患であり、破綻した粥腫、責任病変周囲に高度な炎症性細胞の浸潤が認められる。このような点から、ACSの発症には、炎症性機転が深く関わっており、その炎症巣では酸化ストレスが亢進していると考えられる。われわれはこれまで剖検標本およびdirectional coronary atherectomyにて得られた冠動脈片を用いた細胞組織学的な検討にて、血管局所におけるNAD(P)H oxidaseの発現増加に伴う酸化ストレスの亢進が、ACSの病態形成に深く関わっていることを示してきた¹⁾。さらに炎症性マーカーであるC-reactive protein(CRP)が冠動脈において産生され、CRP自身が炎症を惹起すること、さらに自然免疫における病原体認識分子として炎症性機転において重要な役割を果たしているToll-like receptor(TLR)が、ACS症例の冠動脈血栓に発現がみられることを明らかにしてきた^{2,3)}。さらにストレス下においてその発現が大きく変動するbrain-de-

rived neurotrophic factor(BDNF)の冠循環における産生がACS症例で増加していることを見出した。本稿では、われわれのこれまでの知見をふまえ、ACSの病態を炎症性機転およびストレス反応の観点から捉え、ハイリスク症例の診断法としての高感度CRP、末梢血単球TLR4発現レベル等の炎症性マーカーの有用性、問題点に関して考察したい。

vulnerable plaque とvulnerable patient

ACSは、不安定狭心症、急性心筋梗塞、心臓突然死を含む急性の心筋虚血を呈する疾患群を指し、不安定狭心症から急性心筋梗塞に至る一連の過程を同一の疾患スペクトラムとして認識するものである。急性心筋梗塞が、狭窄度の軽度な冠動脈病変から生じるという観察から、狭窄度という量的な変化でなく、ACSの治療戦略においては、動脈硬化病変の質的な変化に重点が置かれ、不安定プラークの安定化が心血管病の治療戦略となっている。どのような機序により粥腫が不安定化し、そしてそれが破綻するのか。その分子機構の詳細は明らかではないが、これまでの研究により、細胞外基質蛋白のdysregulation、血管構成細胞のアポトーシス、炎症性機転などが重要であるとされている。また、近年の生命科学の進歩、分子生物学の循環器領域の展開によって、粥腫不安定化機構に関して新たな知

¹国立循環器病センター研究所脈管生理部

²神戸大学大学院医学系研究科循環呼吸器病態学

2007年4月12日受付 2007年8月21日受理

見が次々ともたらされている。

ACSによる突然死を防ぐには、いかに不安定プラーク(vulnerable plaque)を的確に診断し、いかに高リスクの患者(vulnerable patient)を識別するかが重要である。vulnerable plaqueの診断に関しては、近年の多くのmodalityの進歩に伴い、飛躍的な進展をみせている。血管内エコー、血管内視鏡に加えて、optical coherence tomography(OCT)などの新しい技術の臨床応用、さらにCT、MRIの解像力の向上によって、non-invasiveな診断法にも新たな進展がみられる。ACSの発症リスクの高いvulnerable plaqueとはどのようなものを指すかは、アプローチの仕方によりその違いがあるが、2003年のCirculation誌の総説に現時点のコンセンサスとしての定義が記してある⁴⁾。その中で、major criteriaとして、活動性炎症がその筆頭に挙げられ、ACSにおける炎症性機転の重要性が指摘されている。また、「vulnerable patient」という概念は、ACSのリスク評価を血管局所の評価にとどまらず、個人全体をトータルに考慮すべきであると喚起するものと捉えることができる。このような観点から、各症例の炎症の活動性を反映する炎症性マーカーは、ACSのリスク評価に有用である可能性がある。

炎症性マーカーCRPの意義と問題点

ACS発症のリスクファクターとして、高脂血症、糖尿病、高血圧、喫煙、肥満といった古典的な危険因子に加えて、より正確な新しいリスク評価法が検討されている。こうした研究の流れの中で、高感度CRPが強力に独立した心血管病の危険因子であることが多くの臨床研究より証明された。Ridkarは、meta-analysisの検討で、高感度CRPの高値はLDLコレステロールよりも心血管病のリスクを上昇させることを示している⁵⁾。

CRPは、もともとpentraxin familyに属する蛋白では、肺炎球菌のC-polysaccharideのphosphocholine残基に結合する蛋白として同定された。CRPは、オプソニン効果を有し、生体防御機構における自然免疫の重要な担い手である。CRPは、急性炎症に伴い、その転写活性が劇的に増加することから、急性反応性蛋白として一般的に用いられている。これまで、CRPの起源は、肝臓の肝細胞から産生されるとされていたが、最近の研究で、神経細胞、腎臓など肝臓以外のextra-hepaticな産生が注目されている。われわれは、虚血性心疾患の冠動

脈片を用いた検討により、ヒト冠動脈においてCRPが産生され、その血管CRPが局所の酸化ストレスを増大させることを明らかにした²⁾。

CRPのACSのリスク評価法としての意義を考えた場合、問題になるのは、その「非特異性」である。CRPは、炎症に伴い上昇するほか、肥満、メタボリック症候群など多くの病態で上昇する。またスタチンの服用によりその濃度は減少し、喫煙によっても上昇する^{6,7)}。このように、高感度CRPは他の危険因子に伴って変動する(Table 1)。確かに、高度な動脈硬化病変を有し、多くの危険因子を併せ持つ症例は、高感度CRPが高値を示すであろう。しかし、日常診療で、高感度CRPが高値を示す症例を診察した時、それが他の疾患による慢性炎症によるものか、他のリスクファクターに伴っているものか、あるいは動脈硬化粥腫の活動性炎症を反映しているものかを見極めるのは困難である。またその逆に、高感度CRPが、ガイドラインで低リスクとされている0.3mg/dl以下の症例でも、心血管病を有することは日常の臨床によく経験する。このように、確かにACSの病態に炎症は極めて重要な役割を果たしているが、vulnerable plaqueの活動性炎症をCRPのみにより判断することには困難を感じる。

Toll-like receptorと急性冠症候群

われわれは、このCRPの持つ非特異性を克服するものとして、Toll-like receptor(TLR)に注目した。TLRは、自然免疫のフロントラインに位置する受容体で、主に種々の菌体成分をパターン認識し、炎症性機転を引き起こし、生体防御に重要な働きをする。心血管病と、クラミジアやサイトメガロウイルス、歯周病といった感染症と心血管病との関連が明らかになる中、動脈硬化形成機転におけるTLRの役割が注目されている。Edfeldtらは、動脈硬化血管に浸潤する炎症細胞にTLRが強度に発現していることを報告した⁸⁾。われわれは、ACSの冠動脈血栓にTLRが発現していることを明らかにした³⁾。また、MetherらはACS症例の血中のHSP70の濃度と、末梢血単核球におけるTLR4の発現が亢進していることを示した⁹⁾。このように、自然免疫の担い手であるTLRと動脈硬化を基盤とした心血管病は、なんらかの関連性がある。今後、心血管病の病因においてTLRが果たす分子機序の解明は、興味深い研究課題である。

Table 1 Conditions which affect the levels of hsCRP

Increased Levels	Decreased Levels
Hypertension	Exercise
Obesity	Alcohol intake
Smoking	(mild to moderate amount)
Diabetes	Statin
Insulin resistance	
Chronic/acute inflammation	

このような研究の流れから、われわれは、末梢血単核球のTLRを評価することにより、CRPのリスク評価指標としての非特異性を克服できるのではないかと仮説のもとに、神戸大学病院および神鋼病院に通院または入院中の心血管病事例100名および、健常者100名の血中高感度CRP濃度と、末梢血単球のTLR4の発現レベルを測定した¹⁰⁾。

Fig. 1 は、高感度CRP濃度と単球TLR4の発現レベルを示す。確かに、症例全体でみると、Fig. 2 で示すように、冠動脈疾患群では、対照群に比べて、高感度CRP値が有意の高値であった。しかしながら、われわれの症例においても、ガイドライン上、低リスクとされている高感度CRP 0.1mg/dl以下の群においても、かなりの冠動脈疾患症例を認めた(Fig. 1)。この低CRP群では、高感度CRP値は、冠動脈疾患群と有意な差は認めなかった。興味深いことに、このCRP 0.1mg/dl以下の症例においても、TLR4の発現レベルは、冠動脈疾患群で有意に高値であった(Fig. 3)。さらに重要なことに、ACS症例の末梢血単球TLR4発現は、安定狭心症症例に比べて有意に高値であった(Fig. 4)。それに対して、高感度CPRは、両者の間では、有意差は認めなかった。本検討はcross sectional analysisだが、大規模な前向きさらなる検討が必要である。高感度CRPと末梢血単球TLR4の両者を同時に測定することにより、心血管病リスク評価に繋がるのではないかと考えている。

精神的ストレスと冠動脈疾患

われわれは、以前本雑誌に、精神的ストレスの冠動脈疾患病態における役割をBDNFとの関連から報告した¹¹⁾。神経細胞の分化、発生、維持に本質的な役割を果たしている神経ペプチドBDNFは、精神的ストレス下では、その発現がダイナミックに変化する。興味深いことにBDNF、およびその受容体trk family、p75NTR

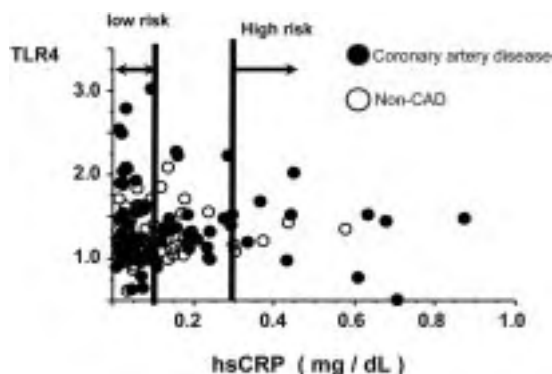


Figure 1 Relation between serum hsCRP levels and the TLR4 expression levels.
open circles: non-CAD, group, closed circles: CAD, group
CAD: coronary artery disease

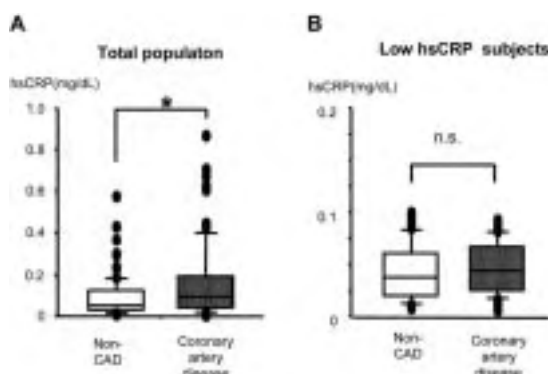


Figure 2 Serum hsCRP levels of CAD patients and non-CAD subjects in the total population (A) (n = 200; CAD, n = 100, non-CAD, n = 100) and in the low-hsCRP subjects (B) whose serum hsCRP levels were under 0.1 mg/dl (n = 125; CAD, n = 53, non-CAD, n = 72).
Values are expressed as mean $\pm$ 25th percentile. *p < 0.01, Mann-Whitney U test was used for statistical analysis.

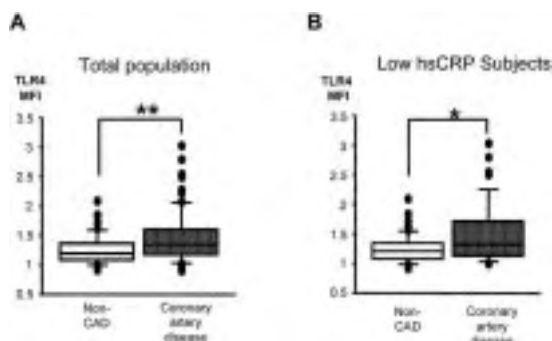


Figure 3 The TLR4 expression levels on peripheral blood monocytes in the total population (A) and in the low-hsCRP subjects (B) whose serum hsCRP levels were under 0.1 mg/dl.
Values are expressed as mean $\pm$ 25th percentile. **p < 0.05, Mann-Whitney U test was used for statistical analysis.

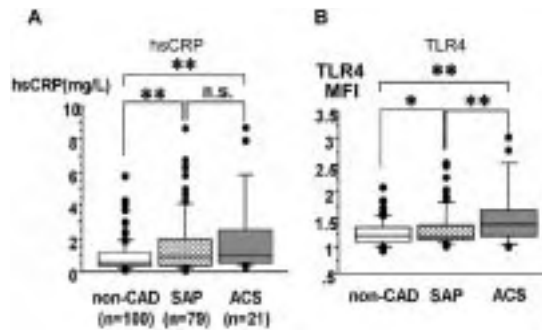


Figure 4 Disease activity and hsCRP (A) and TLR4 expression (B). Values are expressed as mean $\pm$ 25th percentile. *p < 0.05, **p < 0.01, Kruskal-Wallis rank test was used for statistical analysis. SAP: stable angina pectoris

の発現は心血管系にも認められる。われわれは、虚血性心疾患の病態におけるBDNFの重要性を検証するために、患者の冠静脈洞および、大動脈起始部のBDNFの濃度格差を測定することにより、冠循環特異的なBDNFの産生を検討した。ACS症例では、安定狭心症、非冠動脈疾患に比べて、有意にBDNFの冠循環での産生が亢進していることを見出した。また、BDNFは、冠動脈平滑筋細胞の活性酸素産生を著明に亢進させる。BDNFは、精神的ストレスと冠動脈疾患を結ぶkey moleculeかもしれない。このような神経体液性因子の測定が、冠動脈疾患病態把握に繋がる可能性がある。

最後に

vulnerable patientという概念は、ACSのリスク評価を血管局所にのみ視点を置くのではなく、患者全体をトータルとして捉えなければならないことを意味する。高感度CRPを含め、臨床で現在測定可能な診断指標には、いくつかの問題点があるが、今後、ACSの発症のメカニズムが分子レベルで明らかになることにより、よりの確にリスクが評価できる診断マーカーが確立されることを期待したい。

文 献

- 1) Azumi H, Inoue N, Ohashi Y et al: Superoxide generation in directional coronary atherectomy specimens of patients with angina pectoris: important role of NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22: 1838–1844.
- 2) Kobayashi S, Inoue N, Ohashi Y et al: Interaction of oxida-

tive stress and inflammatory response in coronary plaque instability: important role of C-reactive protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23: 1398–1404.

- 3) Shiraki R, Inoue N, Kawasaki S et al: Expression of Toll-like receptors on human platelets. *Thromb Res*, 2004, 113: 379–385.
- 4) Naghavi M, Libby P, Falk E et al: From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part I. *Circulation*, 2003, 108: 1664–1672.
- 5) Ridker PM: Role of inflammatory biomarkers in prediction of coronary heart disease. *Lancet*, 2001, 358: 946–948.
- 6) Ridker PM, Cannon CP, Morrow D et al: C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Eng J M*, 2005, 352: 20–28.
- 7) Visser M, Bouter LM, McQuillan GM et al: Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*, 1999, 282: 2131–2135.
- 8) Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK et al: Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesion: a possible pathway for plaque activation. *Circulation*, 2002, 105: 1158–1161.
- 9) Methe H, Kim JO, Kofler S et al: Expansion of circulating Toll-like receptor 4-positive monocytes in patients with acute coronary syndrome. *Circulation*, 2005, 111: 2654–2661.
- 10) Shiraki R, Inoue N, Kobayashi S et al: Toll-like receptor 4 expressions on peripheral blood monocytes were enhanced in coronary artery disease even in patients with low C-reactive protein. *Life Sci*, 2006, 80: 59–66.
- 11) 井上信孝, 横山光宏: 冠動脈疾患病態形成における血管炎症とBDNFの重要性. *脈管学*, 2005, 45: 423–428.

Stress Response in Acute Coronary Syndrome and Inflammatory Markers as Diagnostic Tools

Nobutaka Inoue,¹ Rio Shiraki,² Junya Ejiri,² Kazunori Otsui,² Tomoyuki Honjo,² and Mitsuhiro Yokoyama²

¹Department of Vascular Physiology, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan

²Department of Cardiovascular Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, Hyogo, Japan

Key words: oxidative stress, NADPH oxidase, C-reactive protein, Toll-like receptor

Atherosclerotic cardiovascular disease is considered an inflammatory disease. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) is a potent and independent predictor of cardiovascular events; however, there are some limitations in the clinical use of hsCRP as a coronary risk factor such as its non-specificity.

Toll-like receptors (TLRs) recognize pathogen-associated molecular patterns, which plays a crucial role in innate immunity as the first defense system against microbial infection. Recent evidence strongly suggests TLRs' important roles in the pathogenesis of atherosclerotic vascular diseases. We found that the combined measurement of serum hsCRP level and the TLR4 expression on peripheral blood monocytes, especially among low hsCRP subjects, might predict coronary risk more precisely than hsCRP alone. In this review, we discuss the pathogenesis of acute coronary syndrome from a viewpoint of stress response and the significance of inflammatory markers including Toll-like receptors on peripheral monocytes as a risk markers for cardiovascular diseases.

(J Jpn Coll Angiol, 2007, **47**: 519–523)