

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	アリー・アブドゥルアルカリム・ターリブ
学位論文題目			
<b>Combination of Fetuin-A and Osteoprotegerin as a Biomarker of Diastolic Dysfunction in Patients Undergoing Hemodialysis</b> (透析患者における左室拡張障害のバイオマーカーに関する研究 -Fetuin-A とOsteoprotegerinの測定意義について-)			
共著者名			
中川直樹、斉藤江里香、松木孝樹、小林基、赤坂和美、平山智也、佐藤伸之、長谷部直幸			
未公表			
研究目的			
<p>疫学調査によると、透析患者の約4割の症例において虚血性心疾患もしくは心不全を合併していることが報告されている。透析患者では血管壁の石灰化が共通の病態として存在することがよく知られているが、血管壁の石灰化は血管の硬化、左室後負荷の増大から左室肥大へと進展し、最終的に左室拡張障害をもたらす。他方、左室拡張障害は主として左室肥大などの心筋の構築変化や線維化によって引き起こされることが知られている。</p> <p>血管壁の石灰化は血液中のCa inhibitorとenhancerのバランスにより調整される能動的過程である。Fetuin-Aは肝臓で産生され、血清中に高濃度で存在するacute-phase proteinであり、かつ血管の石灰化を抑制するcirculating calcium-regulatory glycoproteinである。本蛋白質はcalcium, phosphate, fetuinからなる可溶性のcolloidal calciprotein particleを形成することによりcalcium phosphateの沈澱を抑制する。一方、本蛋白質はmacrophage脱活性化作用、TGF-<math>\beta</math>拮抗作用や、血管平滑筋における抗アポトーシス作用、インスリン抵抗性改善作用など多彩な作用も有すると言われている。最近の報告によると、Fetuin A ノックアウトマウスではTGF-<math>\beta</math>, fibronectin mRNAの発現促進から高度の拡張障害を呈することが示されており、また、末期腎不全患者においては血清fetuin-Aの低下と心血管死亡率に有意な相関関係があることが示されている。このようにfetuin-Aは透析患者の心血管疾患による予後予測因子になり得るとともに、心筋リモデリングや線維化に関連するバイオマーカーになり得る可能性が示されている。</p>			

他方、Osteoprotegerin (OPG)はthe receptor activator of nuclear factor  $\kappa$  B ligand (RANKL) とともに骨のremodelingを制御する分泌型のサイトカインであり、可溶性蛋白として血液中に存在している。OPGもまたRANKLと結合するが、decoy receptorとしてRANK-RANKLの結合を阻害し、骨密度、骨重を維持する。近年、循環中および局所のTNF- $\alpha$ が心肥大や心筋の炎症をもたらすことが報告されているが、OPGはその存在様式とリガンドに対する親和能から、TNF/TNFレセプターファミリーの反応における阻害性のレセプターであると推察され、炎症反応を修飾し、抗アポトーシス作用を有するとされている。さらに最近、RANKLとOPGのmRNAが心筋内に発現していること、RANKLはヒト線維芽細胞におけるMMP発現を亢進させ心筋リモデリングをもたらすこと、RANKLと同様OPGも血管平滑筋から産生されるTNF-related apoptosis-inducing ligand(TRAIL)に結合しその作用を中和すること、OPG欠損マウスでは著明な骨粗鬆症と血管壁の石灰化を呈すること、透析患者、左室肥大患者、PWV高値の症例では血中OPGレベルが上昇していることなど、多数の実験的、疫学的データが示されている。

そこで、本研究ではvascular calcification regulatorであるOPGおよびFetuin-Aと、血管壁のstiffness、心筋のstiffnessとの関連を検討し、OPGとFetuin-Aが透析患者における左室拡張障害の有用なマーカーになり得るか否かを検討した。

#### 材 料 ・ 方 法

63人の末期腎臓病患者、透析患者を対象とした(平均年齢 $64 \pm 12$ 才:男性44人、女性19人)。感染症患者、急性心不全、心房細動、末梢動脈硬化性疾患、ステロイド服用患者、収縮機能障害の患者、心臓弁膜症、自己免疫疾患、悪性腫瘍患者は対象から除外した。透析開始前に臥位血圧、心エコー検査、採血を施行し、以下に示す指標を解析した。また腹部 spiral CTにて大動脈石灰化指数:Abdominal aorta calcification score(AACS)を計測し、血圧脈波装置(Waveform analyzer (VP-1000; Colin Co., Komaki, Japan))にて pulse wave velocity (baPWV)を計測した

心エコー検査としては、断層法、Mモード法、ドップラー法を行い、収縮能、拡張能の諸指標(Interventricular septum thickness (IVS), posterior wall thickness (PW), Left atrial dimensions(LAD) , Left atrial volumes(LAV) ,LAV index (LAVI). Left ventricular massindex (LVMI) , Ejection fraction (EF), Fractional shortening (FS), E/A ratio (Peak velocities of early filling (E), atrial filling (A)), the deceleration time of the E wave , E/e' (Early diastolic (e') velocity, late diastolic (a') velocity))を測定した。大動脈石灰化指数(AACS)としては、Agatston scoreをoffline soft wareを用いて計測し、agatston scoreを0,1-99,100-399,400以上の4段階に分類した。

血液検査としては、CBC, Na,K,Cl,Ca,P,Mg,Free Ca,Free Mg, 25-hydroxyvitamin D, hANP, BNP, pro-BNP,PTH, TNF- $\alpha$  ,TGF- $\beta$  ,TIMP(tissue inhibitor of matrix metaroproteinases) 2, Matrix metaroproteinase (MMP) 2,9, PIIP(carboxy-terminal propeptide of procollagen type III), Fetuin-A, Osteoprotegerin, Osteopontine等を測定した。

数値は全て平均 $\pm$ 標準偏差で表示した。連続変数の解析には単回帰分析を用い、また

E/E' を目的変数とした重回帰分析(ステップワイズ法)も施行した。さらにFetuin A値( $\geq 225\text{ng/ml}$  or  $\leq 224\text{ng/ml}$ )、OPG値( $\geq 234\text{ng/ml}$  or  $\leq 234\text{ng/ml}$ )双方の値の組み合わせにより4群に分類し、E/E', LVMI, baPWV, AACSとの相関も検討した。統計処理はSPSS software package Version11 for Windowsにて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

## 成 績

Fetuin-A はsystolic BP (SBP) ( $r = -0.425$ ,  $p < 0.01$ ), pulse pressure (PP) ( $r = -0.535$ ,  $p < 0.01$ ), serum phosphorus ( $r = -0.325$ ,  $p < 0.05$ ), Ca x P product ( $r = -0.296$ ,  $p < 0.05$ ), PIIP ( $r = -0.317$ ,  $p < 0.05$ ), E/E' ( $r = -0.343$ ,  $p < 0.01$ ), LV mass index(LVMI) ( $r = -0.313$ ,  $p < 0.05$ ), 左心房容積(LAVI) ( $r = -0.357$ ,  $p < 0.05$ ), baPWV ( $r = -0.277$ ,  $p < 0.05$ ) および大動脈石灰化指数(AACS) ( $r = -0.362$ ,  $p < 0.01$ ) と有意な負の相関を示し、HDL-C ( $r = 0.271$ ,  $p < 0.05$ ), albumin ( $r = 0.525$ ,  $p < 0.01$ ), 25-hydroxyvitamin D ( $r = 0.441$ ,  $p < 0.01$ ) と有意な正の相関を示した。ステップワイズ重回帰分析ではE/E' は Fetuin-Aと有意な相関を示した( $\beta$  coefficient =  $-0.319$ ,  $p < 0.05$ )。

OPG は透析期間 ( $r = 0.543$ ,  $p < 0.01$ ), hANP ( $r = 0.298$ ,  $p < 0.05$ ), PIIP ( $r = 0.545$ ,  $p < 0.01$ ), E/E' ( $r = 0.345$ ,  $p < 0.01$ ), LAVI ( $r = 0.498$ ,  $p < 0.01$ ), baPWV ( $r = 0.622$ ,  $p < 0.01$ ), AACS ( $r = 0.257$ ,  $p < 0.05$ ) と有意な正の相関を示した。LVMIとは正の相関を呈したが、有意ではなかった ( $r = 0.118$ ,  $p = 0.435$ )。ステップワイズ重回帰分析では、E/E'はOPGと有意な相関を示した ( $\beta$  coefficient =  $0.402$ ,  $p < 0.01$ )。

Fetuin A と OPG の値の組み合わせにより4群に分類し(Group 1: high fetuin-A, low OPG, Group 2: high fetuin-A, high OPG, Group 3: low fetuin-A, low OPG, Group 4: low fetuin-A, high OPG)、LAVI, LVMI, E/E'との関連を交絡要因を補正して検討したところ、Group 4 (low fetuin-A, high OPG)が最も高いLAVI, LVMI, E/E'値を示した。

## 考 案

本研究により、透析患者においてvascular calcification regulatorであるOPGとFetuin-Aが血管のstiffnessだけではなく心筋のstiffnessも反映し、心筋拡張障害の有用なマーカーになり得ることが示された。これまで血管のstiffnessの増加と左室拡張障害が相関するとの報告や、透析患者において血管壁の石灰化の亢進が左室肥大、左室拡張障害を誘導するといった報告はなされていたが、今回我々は、calcification regulatorであるOPGおよびFetuin-Aと血管壁硬化、心機能の関係を初めて明らかにした。

透析患者においては、慢性炎症状態に加えてリン酸Ca負荷によるFetuin-Aの消費増大によりFetuin-Aが低下することが示唆されている。本研究では、Fetuin-Aは大動脈石灰化指数、PWVと有意な負の相関を示した。さらにFetuin-Aは左房径、E/E'、LVMIと有意な負の相関を示し、Fetuin-A低値は血管のstiffness上昇だけではなく、心筋のstiffness上昇、拡張障害も反映することが示された。Fetuin-Aはcalciumとphosphateに結合して可溶性複合物を形成し、Ca x  $\text{PO}_4$ の沈澱を抑制する。従って、Fetuin-Aの減少は血管壁石灰化亢進とその後の血管壁硬化を反映していると推察されるが、本研究結果でFetuin-AがPWVおよび大動脈石灰化指数と負の相関を示したことも上記仮説に合致する所見と考えら

れた。

血管壁硬化による拡張障害の機序としては、硬化した血管では反射脈波が収縮後期に戻ってくるため収縮期圧が増幅され脈圧が大きくなり、これが左室後負荷の増大へと誘導され拡張不全をもたらすと考えられた。即ち、収縮期の後負荷の増大と拡張期の冠灌流量の減少が左室肥大と左室弛緩能の低下をもたらすと考えられた。

他方、尿毒症モデルを用いた動物実験では、高リン酸血症が心筋線維化を促進し左室肥大を引き起こすことが示されおり、リン酸Caのキレート剤であるFetuin-Aは高リン酸血症による心筋障害に対しても防御的に働いている可能性があることが推察された。

心筋の線維化はコラーゲン合成の亢進によって生じるが、Fetuin-AはTGF- $\beta$ 拮抗作用を有するため、Fetuin-Aの低下そのものが直接心室のstiffness上昇や心筋肥大に寄与している可能性も推察された。本研究結果で、Fetuin-AとPIIPが負の相関を示したことは、この仮説を支持する所見と言えるかもしれない。

OPGはRANKL/RANK システムに対する可溶性のdecoy receptorであり、主として血管平滑筋から産生される。高度の大動脈石灰化を伴うOPGの上昇は、動脈石灰化、血管硬化に対するincomplete defense mechanismによると一般的には説明されている。さらに、OPGは血管平滑筋細胞のsurvival factorとして作用し得るとの報告も存在する。

本研究の他の重要な新知見は、OPGが拡張能の指標であるE/E'、心筋硬化の間接的指標であるPIIPと正相関を示したことである。過去の報告では、心不全患者においてOPGの発現が亢進しており、これはRANKLの有害作用に対する防御反応によると説明されている。一方、本研究結果から別な機序も推察された。American AfricanにおいてOPG値と左室肥大は正相関を示すことが報告されており、一方、OPGはTRAILに結合することにより、抗アポトーシス作用を呈することが知られている。本研究ではOPGと左室肥大指標(LVMI)間に有意な正相関を示すことができなかったが、OPG値とPIIPおよび拡張障害指標との間に有意な正相関は認められたため、OPGそのものが透析患者の拡張障害促進因子として働いた可能性も考えられた。

本研究では透析患者をFetuin-AとOPGのレベルにより分類した結果、低Fetuin-Aならびに高OPGであるほど、左室肥大が進行しており、左房拡大も進展し、左室拡張障害を呈することが示された。従って、上記の本研究結果を踏まえると、Fetuin-AとOPGの併用測定は透析患者の頭在する拡張障害のみならず潜在的な拡張障害や心房細動合併の危険予知の新しいマーカーになり得ることが示唆された。

## 結 論

Fetuin AとOPGの併用測定は、透析患者における拡張障害の新しい有用なマーカーになり得ると考えられた。

(最終項)



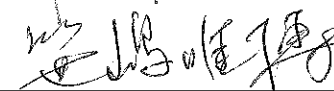

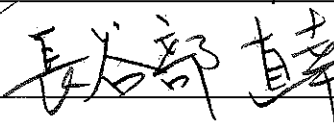

### 引 用 文 献

- 1) Merx MW, Schafer C, Westenfeld R, et al: Myocardial stiffness, cardiac remodeling, and diastolic dysfunction in calcification-prone fetuin-A-deficient mice. *J Am Soc Nephrol* 16:3357-3364, 2005.
- 2) Oikawa O, Higuchi T, Yamazaki T, et al: Evaluation of serum fetuin-A relationships with biochemical parameters in patient with hemodialysis. *Clin Exp Nephrol* 11:304-308,2007.
- 3) Ueland T, Yndestad A, Oie ME , et al: Dysregulated osteoprotegerin/Rank Ligand/Rank axis in clinical and experimental heart failure. *Circulation* 111:2461-2468,2005.

### 参 考 论 文

1. Tashiro N, Sato N, Talib Ahmed, Talib Ali, Saito E, Okura M, Yamaki M, Nakagawa N, Sakamoto N, Ota H, Tanabe Y, Takeuchi T, Akasaka k, Kawabe J, Kawamura Y, Hasebe N: Brugada syndrome case: Difficult differentiation between a concealed form and tricyclic antidepressant-induced Brugada sign  
*Inter Med* 48: 1535-1539, 2009

## 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	アリー・アブドウルアルカリム・ターリム
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>審査委員長</p>   </div> <div style="text-align: center;"> <p>審査委員</p>   </div> <div style="text-align: center;"> <p>審査委員</p>   </div> </div>			
<p>学位論文題目</p> <p><b>Combination of Fetuin-A and Osteoprotegrin as a Biomarker of Diastolic Dysfunction in Patients Undergoing Hemodialysis</b></p> <p>「透析患者における左室拡張障害のバイオマーカーに関する研究 -Fetuin-A と Osteoprotegrin の測定意義について-」</p>			

本研究では、透析患者を対象に、血管石灰化制御因子である Fetuin-A および Osteoprotegerin (OPG) と、血管壁や心筋の硬化との関連を解析した。その結果、Fetuin-A は、大動脈石灰化指数、心筋拡張能低下、心筋硬化の指標である PIIP 等と負の相関を示した。一方、OPG では、これらの指標との間に正の相関が認められた。また、Fetuin-A が低値で OPG が高値を示す症例群で、心肥大や心筋拡張能低下が著明であることが明らかとなった。

透析患者では、血管の硬化が心肥大を誘発し、最終的に左室拡張障害をもたらすことが知られており、その病態診断の確立が急務となっている。本研究は、Fetuin-A および OPG が、透析患者の左室拡張障害を早期に予見可能なバイオマーカーとなる可能性を示唆するものであり、その臨床的意義は大きいと考えられる。

なお、論文提出者に対し各審査委員より、本論文とその関連領域に関して試問が行われ、適切な回答が得られた。

以上より、本論文は博士の学位論文として適切であると判定した。