

## 論 文 要 旨

**Plasma levels of soluble glycoprotein 130 in acute myocardial infarction**

〔 急性心筋梗塞症における  
血漿 Soluble glycoprotein 130 濃度の検討 〕

市 来 智 子

## 【序論および目的】

Soluble glycoprotein 130 (sgp130) は、インターロイキン-6 (IL-6) サイトカインファミリーの可溶性レセプターで、血中の IL-6 及び可溶性 IL-6 レセプターと結合することにより、IL-6 の作用を抑制していると考えられている。急性冠症候群のような循環器疾患における sgp130 の役割についてはいまだ解明されていない。

## 【材料および方法】

鹿児島医療センターに入院し 4 週間生存した、発症 24 時間以内の急性心筋梗塞 (AMI) 患者 33 例 (67 ± 2 才; 男性 21 名、女性 12 名) の血漿 sgp130 濃度を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を用いて測定した。

## 【結 果】

血漿 sgp130 濃度は健常者 (38 名, 227.1 ± 5.6 ng/ml) と比べ、入院時に有意に高く (260.5 ± 7.3 ng/ml)、2 日目から 5 日目に有意に低下した (202.4 ± 5.1 ng/ml、3 日目)。最低 sgp130 濃度は入院時の白血球数 ( $r = -0.42, p < 0.05$ ) 及び C-反応性蛋白 (CRP) ピーク値 ( $r = -0.43, p < 0.05$ ) と負の相関を示した。また、*in vitro* の実験において、AMI 患者の血漿に IL-6 及び可溶性 IL-6 レセプターを加えると血漿 sgp130 濃度は有意に減少することがわかった。これら 3 者の相互作用が AMI 患者における血漿 sgp130 濃度減少の機序に参与する可能性が示唆された。

## 【結論及び考察】

血漿 sgp130 濃度は AMI 患者において経時的に変化し、炎症と負の相関を示した。

本研究では、AMI 患者の入院時に血漿 sgp130 濃度が上昇し、2-5 日後に低下していた。ラットの梗塞心筋では、gp130 発現が増加することが報告されている。sgp130 の生成は、細胞膜外のドメインが切断されて生じる、いわゆる“shedding”によるものと考えられている。入院時の血漿 sgp130 の増加は、梗塞心筋における gp130 発現の増加に続く“shedding”による sgp130 の放出によるのではないかと思われる。その後 sgp130 は低下したが、脳卒中急性期、頭部外傷などの急性疾患では sgp130 が低下し、うっ血性心不全、維持透析患者、悪性腫瘍などの慢性疾患では上昇すると報告されている。sgp130 は、IL-6

や可溶性 IL-6 レセプター (sIL-6R) と複合体を形成することにより IL-6 の抑制因子として働くが、この複合体は ELISA では検出されない。AMI 患者において IL-6 は増加するという報告があるが、*In Vitro* 実験では患者血漿に IL-6 や sIL-6R を追加すると、時間依存性に sgp130 が低下した。以上より sgp130 は AMI 患者の血漿中の IL-6 や sIL-6R と複合体を形成し、sgp130 が消費されて減少したものと考えられる。

また、血漿 sgp130 濃度は、白血球数や CRP 値などの、炎症性マーカーと負の相関があった。AMI 患者では、白血球、なかでも好中球やマクロファージが増加していると言われている。AMI 患者ではこのような炎症細胞より IL-6 が放出され IL-6 が増加し、その IL-6 は CRP 増加に寄与していると報告されている。sgp130 は IL-6 や sIL-6R と複合体を形成するため、sgp130 の変動は IL-6 の影響を受け、白血球数や CRP 値と相関したのではないと思われる。これらを証明するためには今後、AMI 患者の血漿 sgp130・IL-6・sIL-6R 値を同時に測定することと、sgp130/IL-6/sIL-6R 複合体量を測定することが必要である。

今回の研究においては、血漿 sgp130 濃度は心機能・血行動態との関連はなかった。AMI ではサイトカインなどの炎症物質の増加があり、IL-6 ファミリーも増加している。Sgp130 は Leukemia inhibitory factor や Ciliary neurotrophic factor などの他の IL-6 ファミリーとも複合体を形成することがわかっている。Sgp130 は、AMI 急性期での IL-6 を中心とする IL-6 ファミリーの局所での反応を調整し、結果として過剰な炎症による反応や IL-6 ファミリーの効果を調整しているのではないと思われる。

(Journal of cardiology Vol.50, No.2 2007年 掲載)

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 38 号		学位申請者	市来 智子
審査委員	主査	丸山 征郎	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	宮田 篤郎	副査	竹中 俊宏
	副査	坂田 隆造	副査	新村 英士

### Plasma level of soluble glycoprotein 130 in acute myocardial infarction

(急性心筋梗塞症における血漿 Soluble glycoprotein 130 濃度の検討)

Glycoprotein 130 (以下 gp130) は Interleukin-6 (以下 IL-6) サイトカインの共有レセプターである。IL-6 は gp130 を通して遺伝子活性・細胞の増殖や分化などの細胞機構の制御、心臓においては発生から肥大の誘導、細胞保護までの重要な働きを有する。soluble gp130 (以下 sgp130) は、IL-6、soluble IL-6 レセプター (以下 sIL-6R) と複合体を形成し、細胞膜上の gp130 と IL-6 との結合を阻害することで、IL-6 の抑制物質として作用すると考えられている。循環器疾患において、慢性心不全では sgp130 が重症度・予後との関連性を報告されている。急性心筋梗塞では IL-6 は上昇するとの報告はあるが sgp130 の検討はなく、その臨床的意義は解明されていない。そこで学位申請者らは、急性心筋梗塞の臨床検体を用いて sgp130 の血中濃度を測定し、その時間経過と臨床的因子との関連を比較検討するとともに sgp130 に対する IL-6 と sIL-6R の作用を *in vitro* で検討した。急性心筋梗塞症例 33 例を対象とし、入院時から 4 週間の血漿 sgp130 濃度を Enzyme-linked immunosorbent assay 法により測定した。梗塞量・心不全の指標としてクレアチンフォスフォキナーゼ (以下 CPK) ・脳性利尿ペプチド (以下 BNP) を、炎症の指標として C-reactive protein (以下 CRP) ・白血球数を測定した。また、心エコー・スワンガンツカテーテルからの測定値を基に心機能、循環動態の指標を算出した。その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) 血漿 sgp130 濃度は入院時に健常者と比較して有意に高く、1 日後より減少、7 日目まで入院時と比較して低値となり、健常者と比較しても 2-5 日目は有意に低値であった。14 日目に健常者レベルに復帰した。
- 2) 白血球数は入院時が最も高く、その後減少し 5 日目には正常化した。CRP は 1 日目より増加、3 日目をピークとし減少、14 日目に正常化した。血漿 sgp130 濃度の最低値は、ピーク CRP 値や入院時の白血球数と有意な負の相関を示した。低値を示した期間の血漿 sgp130 濃度とピーク CRP 値は有意な負の相関があり、特に 4 日目に顕著であった。
- 3) 血漿 sgp130 濃度と患者背景、CPK、BNP、心機能や循環動態の指標などの重症度と相関は認めなかった。
- 4) *in vitro* で急性心筋梗塞患者の血漿にヒト IL-6 及び sIL-6R を添加することで、sgp130 濃度は時間依存性に減少した。

急性心筋梗塞症において、Sgp130 濃度は入院時高値を示しながらその後減少し、減少した sgp130 濃度は炎症を示す指標と負の相関があった。減少の機序として IL-6・sIL-6R・sgp130 の複合体形成の可能性を論じ、sgp130 の推移は炎症を制御している可能性が示された。

本研究は、急性心筋梗塞症における sgp130 の推移と臨床像との関連を検討したものであり、その結果 sgp130 の推移は抗炎症に関係することが示され、急性心筋梗塞での炎症の調節機構のひとつであることを示した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 38 号		学位申請者	市来 智子
審査委員	主査	丸山 征郎	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	宮田 篤郎	副査	竹中 俊宏
	副査	坂田 隆造	副査	新村 英士

主査および副査の5名は、平成20年2月12日、学位申請者 市来 智子 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) **sgp130** の変化は、感染症による急性炎症でも同じ現象となるのか。

(回答) HIV、Hepatitis Cなどの慢性感染の報告はあるが、急性の感染症に関しては報告されていない。

質問2) **sgp130** の発症後の遺伝子発現はどれくらい続くのか。

(回答) マウスのAMIモデルでは、発症後1日後から14日後まで強い発現を認めている。

質問3) **sgp130** の複合体は長期間増加していると考えているか。

(回答) **sgp130** の複合体量はIL-6の発現に依存するので、IL-6生成は単球などから放出されるため白血球の増加した5日間が主であり、発症後1週間程度ではないかと推察している。

質問4) AMIで**sgp130**を測定したのは何故か。心臓の何に影響していると予想して研究を立案したか。また、重症度とも関連すると思ったか。

(回答) IL-6サイトカインファミリーの一つであるCT-1をAMI患者で検討し、**sgp130**と関連があるのではないかと期待していた。IL-6は抗アポトーシス作用がある、またIL-6・sIL-6Rを阻害することで循環動態改善効果があるという動物実験結果もあり、梗塞量や循環動態との関連を予測していた。

質問5) **sgp130**がIL-6のsub-receptorであるのに、同時にIL-6の測定をしなかった理由は。

(回答) CT-1のsub-receptorでもあるだろうと期待していたがCT-1とは有意な相関がなく、**sgp130**はIL-6にはほぼ特異的に働くという最近の報告もあり、IL-6と同時測定すべきであった。同一検体は残存していないため測定できず、現在新しいAMI群にて3者の同時測定を進行中である。

質問6) 亡くなった症例はいたか。亡くなりそうな重症例での**sgp130**値は高い傾向がみられたか。

(回答) 死亡例は除外対象だが、検討期間内でAMIの死亡例はなかった。生命が危ぶまれるような重症例もなかった。心不全の予後不良患者では**sgp130**が高いため、AMI患者でも超重症例は高い可能性はある。症例を増やしたり、長期フォローをしたりして重症度や予後について検討していきたい。

質問7) AMIでは**sgp130**が複合体を作るために減少すると考えるなら、心不全でIL-6も**sgp130**も増加するのはどう解釈するのか。

(回答) 既報では複合体の存在に関して考察していない。心不全は多臓器に長期に渡って影響しうる病態なため、障害を受けた諸臓器で**gp130**の発現が亢進し**sgp130**がAMIの場合よりも多量に放出され、生成が複合体形成による消費を上回る可能性がある。また若年性関節リウマチの報告ではIL-6とsIL-6Rの結合を阻害する物質の存在が示唆されており、病態によってはIL-6/sIL-6R/**sgp130**複合体形成を阻害する物質も存在する可能性があるのではないかと考えている。

質問8) 健常者はAMI症例より若い傾向にある。**sgp130**は年齢と正の相関があるのではないか。

(回答) 今回の健常者群は症例数が少なすぎるため、Age match study ができなかった。健常者群でも年齢と sgp130 との相関はなく、このデータを使用した。今後症例数を増やし Age match して検討をしたい。

質問 9) Peak CPK を梗塞量として検討しているが、 $\Sigma$ CPK では検討しているか。

(回答) CPK が Peak を迎えるまで 4 時間後毎に測定しているが、その後の測定は症例により欠測値が多く、今回の対象では評価が困難であった。今後検討していきたい。

質問 10) 脳梗塞で sgp130 が下がるとのことであったが、経時変化のパターンは同じか。

(回答) 脳梗塞での報告では、最初の採血は入院から一日後である。この検討では、一日後より下がっており、1 週間低値であった。一日後から考えると今回の症例とは同様の時間経過である。

質問 11) sgp130 が複合体形成による消費なら、一日後に下がるよりも IL-6 の動きに合わせて下がったり、消費されることで枯渇するような現象が起こったりしそうであるが、どう考えるか。

(回答) sgp130 が増加すると IL-6 の量に関わらず複合体形成能が高まると言われる。IL-6 も単独に存在する量である。入院時 sgp130 が高値を示した段階で、生成し始めた IL-6 と複合体を形成し、sgp130 減少を起こす。IL-6 のピークは sgp130 が減少した時期と一致しており複合体形成能が落ちてフリーの IL-6 が残存したのではないかと考えている。sgp130 のヒトでの血中濃度は約  $4 \times 10^{-6}$  M、IL-6 は当院の AMI の最高値でも約  $8 \times 10^{-9}$  M と、約 500 倍の濃度差があり sgp130 が枯渇する可能性は低いと思われる。

質問 12) sgp130 の切断は炎症の何がきっかけとなっているか。

(回答) TNF- $\alpha$  や MMP family、IL-15+IL-18 などの報告があり、炎症性サイトカインだと考えられているが、今後も詳細な検討が必要である。

質問 13) 入院時の採血は、対象群を発症 24 時間以内と規定すれば症例によって発症からかなりの時間差がありそうである。時間による差や、PCI 前後での変化は認められたか。

(回答) 発症 12 時間以上経過した症例は sgp130 値が高い傾向にはあったが、有意差は認めなかった。PCI 後の採血 (入院 4 時間後) の全ての症例において入院時と比較し有意な減少を認めた。

質問 14) 一例慢性期に責任冠動脈の閉塞があったが、sgp130 値や変化に違いがあったか。

(回答) sgp130 値やその変動に、明らかな特徴は認めなかった。今回の検討では梗塞量と sgp130 に有意な相関はなく、また gp130 は梗塞巣だけでなく心筋組織全体で発現が亢進するということなので、責任冠動脈が閉塞し広範囲の梗塞が完成しても他症例との明らかな差が出なかったではないかと思われる。

質問 15) 炎症の終焉機構が最近の話題である。ADAM family などの関与により shedding が起ると、100 nM ほどのマイクロパーティクルが細胞から放出していくのを観察することができる。複合体形成量をみるには、サンドイッチ法を用いた ELISA や SDS を使わない電気泳動を用いればいい。

(回答) 今後それらの手法の取得と、データの検討をしていきたい。

質問 16) 炎症の終焉機構に sgp130 が関わっている可能性がある。局所では IL-6 が細胞を rescue し、大循環では IL-6 が他臓器に悪影響しないよう、sgp130 が抑制をかけているのではないか。

(回答) IL-6 ファミリーは血管内皮において動脈硬化を惹起する作用もあり、我々も sgp130 の大循環における抑制作用は意義のあることと考えている。局所での作用についても検討を重ねていきたい。

質問 17) 虚血や壊死周辺に IL-6R の発現はあるのか。

(回答) 梗塞心筋において 3 日後から 12 週間発現が亢進したという報告がある。

質問 18) sgp130 の入院時の高値と 14 日後より上昇したのでは sgp130 の由来が違う可能性はないか。

(回答) 単核球由来の sgp130 を検討した報告があり、AMI でも単核球から遊離する可能性がある。

質問 19) 入院時 sgp130 が高いところとか、他の日などの検討でも心機能などとは関連なかったのか。 $\Delta$ sgp130 値との検討もしたか。

(回答) 全て検討を行ったが、新たな関連は得られなかった。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。