

血清MDA-LDL (malondialdehyde-modified low density lipoprotein) による2型糖尿病患者の冠動脈ステント内再狭窄予測の臨床的有用性

Clinical Usefulness of Serum MDA-LDL for the Prediction of In-Stent Restenosis after Percutaneous Coronary Stenting in Type 2 Diabetic Patients

重松 作治^{1,*} 田代 淳² 宮崎 彰³ 犀川 哲典⁴ 吉松 博信⁵

Sakuji SHIGEMATSU, MD, PhD^{1,*}, Jun TASHIRO, MD, PhD², Akira MIYAZAKI, MD, PhD³,
Tetsunori SAIKAWA, MD, PhD, FJCC⁴, Hironobu YOSHIMATSU, MD, PhD⁵

¹ 国立病院機構別府医療センター循環器内科, ² 千葉県循環器病センター内科 (現 松戸市立病院内科),
³ 千葉県循環器病センター循環器科, ⁴ 大分大学医学部循環器内科, ⁵ 大分大学医学部第一内科

要 約

目的 2型糖尿病患者では経皮的冠動脈形成術 (PCI) 後にステント内再狭窄が高頻度で発生する。既に血清MDA-LDL (malondialdehyde-modified low density lipoprotein) は2型糖尿病患者においてステント内再狭窄と関連することが報告されているが、今回われわれは血清中MDA-LDL値がPCI治療後の再狭窄を予測するリスクマーカーであるかどうかについてプロスペクティブな検討を行った。

方法 ステント (bare metal stent) を用いてPCI治療を行った2型糖尿病患者71例を対象とした。PCI治療前に血清を採取した44例と、PCIから2-9カ月後に再狭窄の有無を確認するために実施した冠動脈造影検査 (フォローアップ造影) 時に血清を採取した67例を用い、血液生化学項目と血清MDA-LDLを測定した。

結果 ステント内再狭窄を認めた群をISR (+) 群、認めなかった群をISR (-) 群とした。PCI治療前の測定で、ISR (+) 群はISR (-) 群に比べMDA-LDL値が高値を示した (138 ± 46 U/l vs. 102 ± 47 U/l, $p = 0.021$)。フォローアップ造影時の測定でもISR (+) 群はISR (-) 群に比べMDA-LDL値が高値を示した (115 ± 37 U/l vs. 92 ± 29 U/l, $p = 0.007$)。ROC曲線からPCI治療前のMDA-LDLのカットオフ値を110 U/lと設定したところ、MDA-LDLがカットオフ値以上では再狭窄の相対危険度が5.3であった。同様にROC曲線から得られたフォローアップ造影時のMDA-LDLのカットオフ値は100 U/lであり、再狭窄のオッズ比は6.6であった。

結論 PCI治療を行った2型糖尿病患者において、PCI治療前のMDA-LDL値が110 U/l以上は再狭窄の予測因子であることが本検討で初めて示された。

<Keywords> 糖尿病
冠動脈ステント

再狭窄

J Cardiol Jpn Ed 2009; 3: 106-112

はじめに

経皮的冠動脈形成術 (PCI) は冠動脈バイパス手術に比べて侵襲が少ないため、狭心症や心筋梗塞など冠動脈疾患の中心的な治療法として発展してきた。しかしながら、代表的なPCIであるステント留置治療を行った患者において、通

常のステント (bare metal stent) では治療後3-6カ月後に20-40%程度の頻度でステント内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) が起こることが問題である^{1,2)}。特に2型糖尿病患者ではISRの頻度が高いことが知られており²⁻⁵⁾、非糖尿病患者では16.7%の再狭窄率であったのに対し、糖尿病患者の再狭窄率は40.5%と著しく高率であったとの報告もある²⁾。さらに2型糖尿病患者では、ISRが生じても胸部症状を自覚しない無症候性心筋虚血の場合も少なくなく、ISRの出現を正確に診断して治療することは長期予後を改善させる上で重要

* 国立病院機構別府医療センター循環器内科
874-0011 別府市大字内かまど 1473 番地
E-mail: sshige@med.oita-u.ac.jp
2008年6月26日受付, 2008年10月8日改訂, 2008年10月21日受理

である⁵⁾。一方、2型糖尿病患者でISRの頻度が高い原因のひとつとして、糖尿病で亢進している酸化ストレスの関与が注目されている。

近年、冠動脈疾患に関連する血液マーカーとして、血中酸化LDL値が注目されている。酸化LDL仮説で提唱されたように、酸化LDLは動脈硬化初期病変の形成と進展に重要な役割を果たすが⁶⁾、それに加えて冠動脈プラークの不安定化やPCI後のISRに関連するなどの報告もなされている。最近われわれは、代表的な酸化LDLの分子種である血中マロンジアルデヒド修飾LDL (MDA-LDL) 値がPCI治療後のISRと関連あることを初めて報告した⁷⁾。2型糖尿病患者を対象とした場合、ISRを生じた群はISRを生じなかった群に比べてPCI治療から6カ月後に測定した血中MDA-LDLレベルが高値を示していた。これに対してLDLコレステロールなどの従来の脂質パラメーターは関連していなかった⁷⁾。この結果から、血清MDA-LDLの測定は2型糖尿病患者におけるPCI後のISRの出現を示すマーカーとなる可能性が示された。

そこで今回われわれは、PCI治療前に測定したMDA-LDL値が将来のISR出現を予測するマーカーとなりうるかどうかを検討する目的で、PCI治療を行う2型糖尿病患者を対象としたプロスペクティブな検討を行った。

対象と方法

1. 対象

経皮的冠動脈形成術 (PCI) として、通常のス TENT (bare metal stent) を用いた冠動脈ステント留置を行った2型糖尿病患者71例を対象とした。薬剤溶出性ステント使用例は今回の検討には含めなかった。除外基準を、左心機能が低下した症例 (左室駆出率30%以下)、PCI不成功例、腎不全 (血清クレアチニン ≥ 2 mg/dl)、肝疾患、悪性腫瘍患者とした。対象患者にはPCI後に100 mg/dayのアスピリン (PCI治療後無期限) と200 mg/dayのチクロピジン (PCI治療後1カ月間) を投与し、一般的な治療を行った。なお、対象患者に亜急性ステント内血栓症は認めなかった。

2. 方法

1) 血液検査

PCI治療前の空腹時に末梢静脈から採取した血清を用いてMDA-LDLおよび生化学項目の測定を行いPCI治療前の測定値とした (計44例)。PCI治療2-9カ月後にフォローアッ

プ冠動脈造影を行い、冠動脈造影検査前の空腹時に得た血清を用いて、MDA-LDLおよび生化学項目の測定を行いフォローアップ造影時の測定値とした (計67例)。フォローアップ造影にてステント留置部位に50%以上の狭窄を認めた場合を再狭窄 (ISR) ありと判定した。なお、血清MDA-LDLの測定は、抗MDA-LDLモノクローナル抗体 (ML25) を用いた酵素免疫測定法 (ELISA) により行った⁸⁾。血清は専用の保存液を加えて-20℃以下で凍結保存し、1カ月以内にMDA-LDLを測定した⁹⁾。

2) 冠動脈造影検査

冠動脈造影検査の後、定量的冠動脈解析 (CAAS II for Toshiba Infinix; Pie Medical imaging, The Netherlands 使用) を行い、血管内腔の辺縁から算出される最小血管内腔径と狭窄前後の参照血管内腔径より最終的な狭窄度を求めた。フォローアップ造影時のステント内狭窄度が50%以上あった場合を再狭窄ありと定義した。

3) 統計解析

各群間の有意差は、Studentの*t*検定および χ^2 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定とした。PCI治療前、フォローアップ造影時のそれぞれにおいて、ISR (+) 群とISR (-) 群を分別するためのカットオフ値を求める目的でROC解析を行った。ROC曲線から求められたISR (+) 群とISR (-) 群を分別する感度、特異度が最も良好となる値をMDA-LDLのカットオフ値とした。それぞれのカットオフ値を用い、PCI治療前のMDA-LDL値から再狭窄出現の相対危険度を、フォローアップ造影時のMDA-LDL値からオッズ比を算出した。

結果

71例の登録症例において、PCI後のフォローアップ造影でISRを認めたISR (+) 群は26例であり、ISRを認めなかったISR (-) 群は45例であった。71例中、PCI治療前にMDA-LDLを測定できた症例は44例であり、ISR (+) 群14例、ISR (-) 群30例であった。この2群において年齢、性別、HbA1c、脂質項目、MDA-LDL値、ステント情報を比較してTable 1 (A) に示した。ISR (+) 群はISR (-) 群に比べ、HDL-C値が低く ($p < 0.001$)、MDA-LDL値が高かった ($p = 0.021$)。しかしながら他の項目には2群間で差を認めなかった。

フォローアップ造影時にMDA-LDLを測定できた症例は67例であり、ISR (+) 群が26例、ISR (-) 群が41例であった。

Table 1 Comparisons of MDA-LDL levels and other parameters between ISR(+) and ISR(-) groups in type 2 diabetic patients before PCI (A) and during follow-up angiography (B).

		A. Before PCI					B. During follow-up angiography				
		ISR (+)		ISR (-)		<i>p</i> value	ISR (+)		ISR (-)		<i>p</i> value
		<i>n</i> = 14		<i>n</i> = 30			<i>n</i> = 26		<i>n</i> = 41		
mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD		
Age	years	63.2	8.1	68.1	9.3	0.100	66.1	9.6	66.3	10.3	0.932
Gender	Male (%)	79%	-	67%	-	0.420	85%	-	61%	-	0.089
HbA1c	%	7.4	1.8	7.5	1.4	0.847	6.8	1.3	7.0	1.4	0.516
TC	mg/dl	176	35	187	41	0.390	181	30	173	30	0.277
HDL-C	mg/dl	35.7	8.6	47.5	11.0	0.001	41.5	8.3	47.3	12.8	0.028
LDL-C	mg/dl	111	28	115	29	0.641	111	22	102	22	0.118
TG	mg/dl	191	99	131	94	0.056	142	70	132	68	0.557
MDA-LDL	U/l	138	46	102	47	0.021	115	37	92	29	0.007
Stent diameter	mm	3.02	0.18	2.99	0.38	0.707	2.94	0.37	2.94	0.34	1.000
Stent length	mm	15.1	4.8	15.7	4.9	0.724	15.0	5.0	16.0	4.6	0.392

PCI: percutaneous coronary intervention, ISR: in-stent restenosis, HbA1c: Hemoglobin A1c, TC: total cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, TG: triglyceride, MDA-LDL: malondialdehyde-modified LDL.

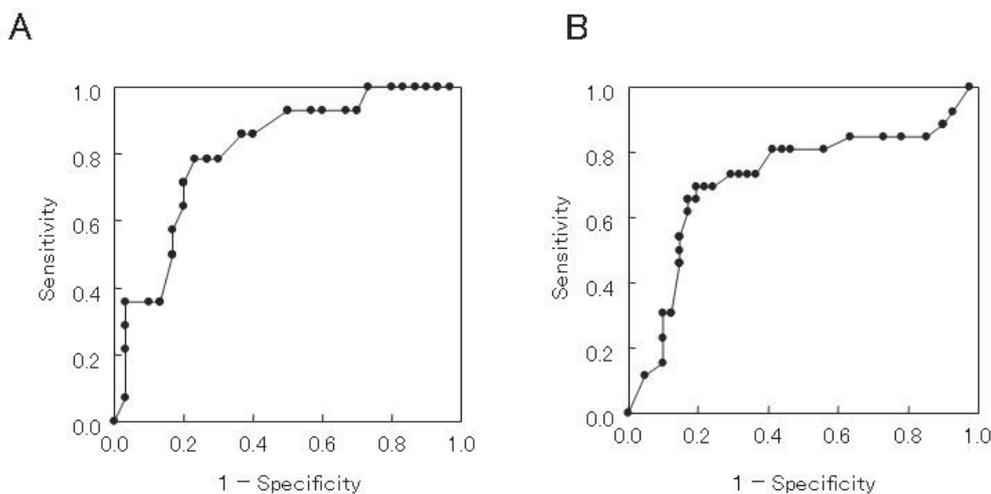


Fig. 1 Receiver-operating characteristic curves of MDA-LDL for detection of in-stent restenosis. A: Before PCI. B: During follow-up angiography.

この2群において各種パラメーターを比較して **Table 1** (B) に示した. ISR (+) 群はISR (-) 群に比べ, HDL-C値が低く ($p = 0.028$), MDA-LDL値が高かった ($p = 0.007$). 一方, 他の項目には2群間で差を認めなかった. 以上より, PCI施

行前, フォローアップ造影時の両方ともISR (+) 群とISR (-) 群とはHDL-C値とMDA-LDL値が有意に異なり, 他の項目に有意差を認めない結果であった.

ROC曲線から求められたISR (+) 群とISR (-) 群を分別

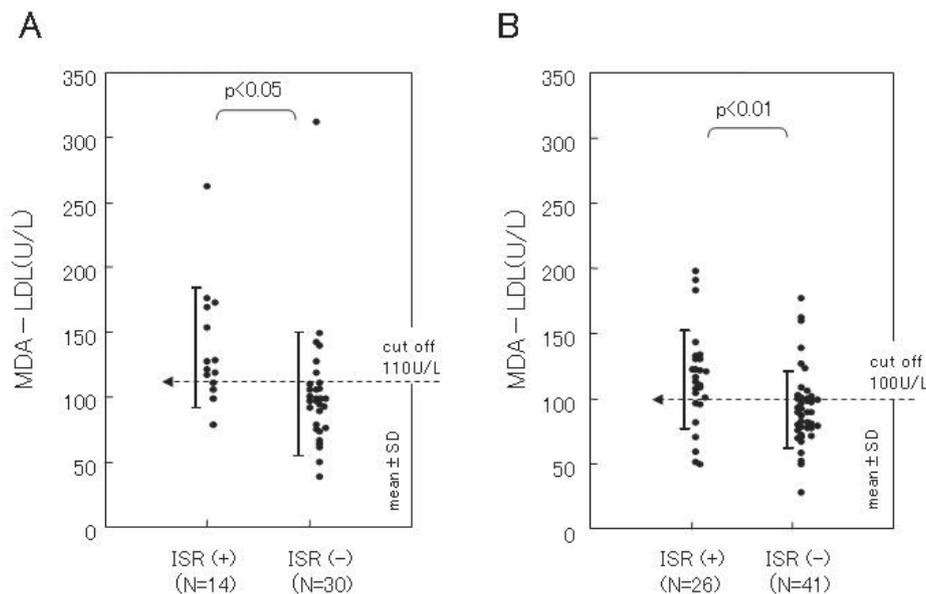


Fig. 2 Comparisons of MDA-LDL levels between ISR (+) and ISR (-) groups in type 2 diabetic patients.

A: Before PCI. B: During follow-up angiography.

Table 2-1 Correlation between MDA-LDL levels before PCI and ISR.

		ISR			Sensitivity	Specificity	OR	95%CI
		(+)	(-)	Total				
MDA-LDL	≥ 110 U/l	11	7	18	79%	77%	5.3	1.7-16.3
	< 110 U/l	3	23	26				
Total		14	30	44				

する感度、特異度が最も良好となるPCI治療前のMDA-LDL値は110 U/lであったため、これをPCI治療前のMDA-LDLのカットオフ値とした (Fig. 1A)。また、同様にフォローアップ造影時にISR (+) 群とISR (-) 群を分別する感度、特異度が最も良好となるMDA-LDL値は100 U/lであったため、これをフォローアップ造影時のMDA-LDLのカットオフ値とした (Fig. 1B)。

PCI治療前、フォローアップ時のMDA-LDL値をISR (+), ISR (-) 群で分けてプロットし、それぞれのカットオフ値を示した図を Fig. 2 に示す。カットオフ値を用いたPCI治療前にISR (+) 群とISR (-) 群を識別するMDA-LDLの感度 (有病正診率) は79%、特異度 (無病正診率) は77%であった (Table 2-1)。本検討はプロスペクティブ検討であることから

相対危険度5.3、95%信頼区間1.7-16.3と算出され、95%信頼区間が1より大であることから有意な結果と判断された。同様にフォローアップ造影時にISR (+) 群とISR (-) 群を識別するMDA-LDLの感度 (有病正診率) は73%、特異度 (無病正診率) は71%であった (Table 2-2)。本時点では症例比較検討であることからオッズ比6.6、95%信頼区間2.2-19.6と算出され、95%信頼区間が1より大であることから有意な結果と判断された。

なお、血清MDA-LDLの値が時間的経過およびPCI手技 (ステント留置) によって影響を受けるかどうかの検討も行った。同一患者において、PCI治療前とフォローアップ造影時のMDA-LDL値を比較した結果を Fig. 3 に示す。ISR (+) 群、ISR (-) 群ともにPCI治療前とフォローアップ造影時の

Table 2-2 Correlation between MDA-LDL levels during follow-up angiography and ISR.

		ISR			Sensitivity	Specificity	OR	95%CI
		(+)	(-)	Total				
MDA-LDL	≥ 100 U/ℓ	19	12	31	73%	71%	6.6	2.2-19.6
	< 100 U/ℓ	7	29	36				
	Total	26	41	67				

ISR: in-stent restenosis, MDA-LDL: malondialdehyde-modified low density lipoprotein, OR: odds ratio, CI: confidence interval.

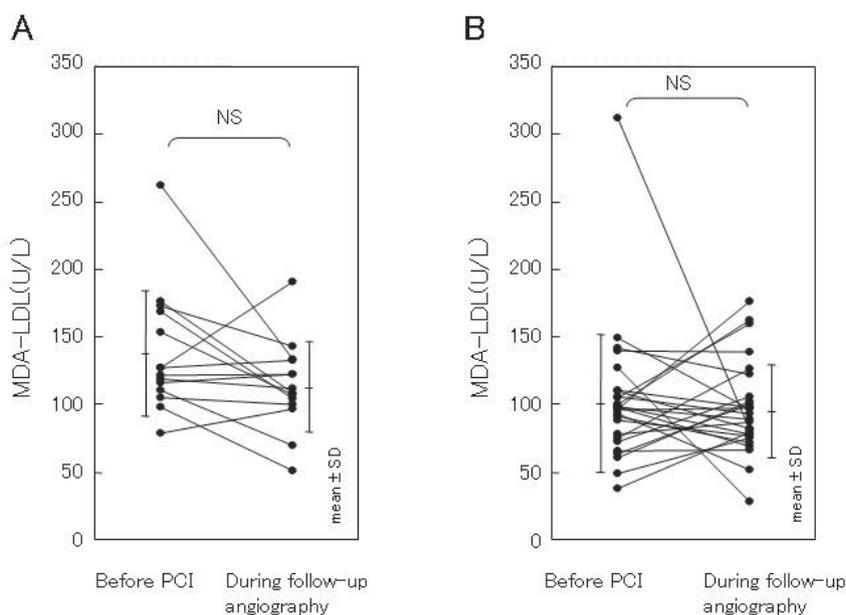


Fig. 3 Changes in MDA-LDL levels before PCI and during follow-up angiography in type 2 diabetic patients.

A: ISR (+) group ($n = 14$). B: ISR (-) group ($n = 26$).

MDA-LDLは若干低下する傾向を示したが有意な変化は認めなかった。この結果から、血清MDA-LDLは時間経過や冠動脈病変の治療自体には大きく影響されていないことが示された (Fig. 3)。

考 察

糖尿病患者は非糖尿病患者に比べて冠動脈疾患の発生頻度が高いだけでなくPCI治療後のISRの出現率も高く、長期予後も不良であることが知られている^{3,4)}。加えて、糖尿病患者では糖尿病性神経症が原因で無症候性心筋虚血になりやすく、ISRが起こっていても胸痛などの自覚症状がないために発見が遅れる場合も少なくない。無症状の患者に対するISR評価のためには運動負荷試験が頻用されているが、

ISRの検出感度が低いことに加え、高齢者や脳血管障害者では十分な負荷がかけられないため鋭敏な検査法とは言えない。このため現在においてもISRの評価方法としては冠動脈造影検査が最も有用であると考えられる。しかしながら、糖尿病患者では糖尿病性腎症による顕性もしくは潜在性の腎機能障害もしばしば認められるため、造影剤による腎毒性も無視できない。このためISRを早期に検出するとともに不必要な造影検査を減らすためには、あらかじめ個々の患者におけるISRのリスクを把握しておくことも重要と思われる。

本検討から糖尿病患者でPCI治療前のMDA-LDLが110 U/ℓ以上の場合、相対危険度5.3でMDA-LDL高値が将来のISR発生の予測因子となることが示された。またフォローアップ造影時においてMDA-LDLが100 U/ℓ以上の場合

には、オッズ比が6.6でMDA-LDL高値とISR出現とに有意な関連を認めた。一般的には治療後3-6カ月後にISRが形成されるため、治療前または治療後6カ月後までのMDA-LDL値をモニターすることにより、ISR出現に関する情報が得られるものと考えられる。

われわれは既にフォローアップ造影時のMDA-LDL値が糖尿病患者のステント留置後のISRの独立した予測因子であることを報告している⁷⁾。今回の検討でも血清MDA-LDL測定によるISR予測は、フォローアップ造影時のMDA-LDL値(オッズ比6.6)の方がPCI治療前のMDA-LDL(相対危険度5.3)よりも鋭敏であった。しかしながら、フォローアップ時にMDA-LDLを測定することは、既に出現しているISRを検出することはできても再狭窄予防のための薬剤介入治療には結びつかない。これに対し、PCI施行前のMDL-LDLを測定することによって数カ月後のISRの出現が予測できれば、スタチンなどの薬剤介入による再狭窄予防にもつながるため、臨床的な意義はより大きいと思われる。

ISR(+)群とISR(-)群とを識別するカットオフ値は、PCI治療前では110 U/lであるのに対し、フォローアップ造影時では100 U/lと異なる結果であった。また一方、PCI治療前と比較してフォローアップ造影時では有意差は認めないもののMDA-LDLが若干低下する傾向を示していた(Fig. 3)。このことから、MDA-LDLのカットオフ値がPCI治療前に比べてフォローアップ造影時で低かった原因として、PCI治療後に行った冠危険因子に対する治療の影響によってMDA-LDLの平均値が低下したためであると思われる。

前述のようにフォローアップ造影時におけるISR(+)群とISR(-)群とを最も効率よく識別するMDA-LDL濃度のカットオフ値は100 U/lであるが、PCI治療前と同じカットオフ値(110 U/l)を用いた検討も行ってみた。その結果、フォローアップ造影時のMDA-LDLが110 U/l以上を示す割合はISR(+)群では26例中14例(54%)であったのに対し、ISR(-)群では41例中6例(15%)であった。したがって、フォローアップ造影時においてもPCI施行前と同じカットオフ値(110 U/l)を用いることは現実的には可能であると思われる。

糖尿病がISRのリスクとして知られているものの、ISRを予測するパラメーターは今日でも明確にされておらず、年齢、性別、喫煙、高脂血症、冠動脈疾患の家族歴など従来の冠危険因子はISRと関連が少ないとされている^{3,5,10)}。大部分の冠危険因子がISRのリスクにならない理由として、動脈

硬化病変とISRの病変とは病理学的に異なるためであると考えられている¹⁰⁾。すなわち、動脈硬化病変が主に泡沫細胞から形成されているのに対し再狭窄病変は脂質沈着ではなく新生内膜の増殖により形成されているためである。また糖尿病患者の血糖コントロールが良好であっても、ISRのリスク低減には関与しないことも報告されている⁴⁾。本検討においても、冠動脈疾患の危険因子である年齢、TC、LDL-CやHbA1cはPCI治療前とフォローアップ造影時のいずれにおいても、ISR(+)群とISR(-)群との間に有意差を認めなかった。これらの結果からも、MDA-LDLはTCやLDL-Cなど従来の脂質項目とは異なる新たなパラメーターであると考えられる。

MDA-LDLとISRとが関連するメカニズムとして、糖尿病患者で亢進した酸化ストレスがLDLの酸化を促進して血中MDA-LDLレベルが上昇し、増加したMDA-LDLが血管障害や増殖因子の作用亢進を介してISRを促進した機序が考えられている¹⁾。さらに、糖尿病では酸化ストレスの増加とともに、合併する脂質代謝異常によりsmall dense LDLの産生も亢進している。small dense LDLは酸化変性されやすく、糖尿病患者のMDA-LDL産生増加に寄与していることが推測されている¹¹⁾。なお、われわれは再狭窄患者に行った再PCI治療前後で血清MDA-LDL値が変化しないことも既に報告した⁷⁾。したがって、再狭窄患者で血清MDA-LDLが上昇している原因として、再狭窄病変で増殖した新生内膜からMDA-LDLが産生され血中に漏洩しているといった可能性は否定的である。現時点において、血清MDA-LDLの由来ならびに血清MDA-LDLがISRの直接的な原因であるとの証明はなされていないが、本研究で示されたように血清MDA-LDL値の上昇はISRの出現と有意に関連しており、血清MDA-LDLの測定は糖尿病患者におけるISRの発生を予測する臨床マーカーとしてとても有用であると思われる。

文 献

- 1) Mehran R, Dangas G, Abizaid AS, Mintz GS, Lansky AJ, Satler LF, Pichard AD, Kent KM, Stone GW, Leon MB. Angiographic patterns of in-stent restenosis: classification and implications for long-term outcome. *Circulation* 1999; 100: 1872-1878.
- 2) Lau KW, Ding ZP, Johan A, Lim YL. Midterm angiographic outcome of single-vessel intracoronary stent placement in diabetic versus in nondiabetic patients: a matched comparative study. *Am Heart J* 1998; 136: 150-155.

-
- 3) Mazeika P, Prasad N, Bui S, Seidelin PH. Predictors of angiographic restenosis after coronary intervention in patients with diabetes mellitus. *Am Heart J* 2003; 145: 1013-1021.
 - 4) Schofer J, Schluter M, Rau T, Hammer F, Haag N, Mathey DG. Influence of treatment modality on angiographic outcome after coronary stenting in diabetic patients: a controlled study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1554-1559.
 - 5) 横山直之, 一色高明. 外来での再狭窄の診断と対処法. *Heart View* 2005; 9: 8-12.
 - 6) Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272: 20963-20966.
 - 7) Shigematsu S, Takahashi N, Hara M, Yoshimatsu H, Saikawa T. Increased incidence of coronary in-stent restenosis in type 2 diabetic patients is related to elevated serum malondialdehyde-modified low-density lipoprotein. *Circ J* 2007; 71: 1697-1702.
 - 8) Kotani K, Maekawa M, Kanno T, Kondo A, Toda N, Manabe M. Distribution of immunoreactive malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in human serum. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1215: 121-125.
 - 9) Kitano S, Kanno T, Maekawa M, Sakurabayashi I, Kotani K, Hisatomi H, Hibi N, Kubono K, Harada S. Improved method for the immunological detection of malondialdehyde-modified low-density lipoproteins in human serum. *Anal Chim Acta* 2004; 509: 229-235.
 - 10) Hoffman R, Mintz GS, Dussaillant GR, Popma JJ, Pichard AD, Satler LF, Kent KM, Griffin J, Leon MB. Patterns and mechanism of in-stent restenosis: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation* 1996; 94: 1247-1254.
 - 11) Tribble DL, Krauss RM, Lansberg MG, Thiel PM, van den Berg JJ. Greater oxidative susceptibility of the surface monolayer in small dense LDL may contribute to differences in copper-induced oxidation among LDL density sub-fractions. *J Lipid Res* 1995; 36: 662-671.