

「心不全のモニタリングと治療：バイオマーカーから 遠隔モニタリングまで」

慢性心不全患者における尿中8-hydroxy-2'-deoxyguanosineの心事故予測因子としての有効性

小林 茂樹* 須佐 建央 村上 和華子 奥田 真一 土居 正浩 和田 靖明 名尾 朋子 山田 寿太郎 上山 剛
岡村 誉之 矢野 雅文 松崎 益徳

Shigeki KOBAYASHI, MD, PhD*, Takehisa SUSA, MD, PhD, Wakako MURAKAMI, MD, Shinichi OKUDA, MD, PhD,
Masahiro DOI, MD, PhD, Yasuaki WADA, MD, PhD, Tomoko NAO, MD, PhD, Jutarō Yamada, MD, PhD,
Tsuyoshi UHEYAMA, MD, PhD, Takayuki OKAMURA, MD, PhD, Masafumi YANO, MD, PhD, FJCC,
Masunori MATSUZAKI, MD, PhD, FJCC
山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学

要約

慢性心不全では酸化ストレスは亢進し、心機能障害や左室リモデリング増悪の要因と考えられている。本研究では、DNAの酸化的障害による酸化ストレスマーカーである尿中8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)濃度が、慢性心不全患者の心筋酸化ストレスを良く反映し、慢性心不全患の心不全重症度、予後、β遮断薬の効果判定に有効であることを報告した。また、尿中8-OHdGと心筋ストレスマーカーである血漿BNPの2つのバイオマーカーを組み合わせることにより、心事故のリスク層別化を行うことができ、心事故予測により有効であることも報告した。

<Keywords> 慢性心不全
酸化ストレス
尿中8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

バイオマーカー
β遮断薬

J Cardiol Jpn Ed 2012; 7: 152 – 158

はじめに

慢性心不全患者では酸化ストレスが増大しており、心不全の予後因子として重要であると考えられている。しかしながら、多くの酸化ストレスマーカーは心臓特異性が高いとはいえ、どこで産生されているか特定できないところに問題がある。最近われわれは、慢性心不全患者において、DNAの酸化的障害マーカーである8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)が、心不全の重症度と相関して心筋組織で産生されていることを報告した。本稿では、自験例のデータをもとに、慢性心不全患者の重症度、心事故予測およびβ遮断薬の効果判定における尿中8-OHdGの有効性について述べる。

心不全と酸化ストレス

不全心筋細胞内では、アンジオテンシンIIやカテコラミン、エンドセリン1などの神経体液因子やメカニカルストレスにより、NADPH oxidaseやミトコンドリアから活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) が産生される。このROSは、①リン酸化カスケードを介して心筋細胞肥大を誘導し、②リアノジン受容体 (RyR)、Ca²⁺-ATPaseやNa⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX)などの蛋白活性や発現にも影響を与え、Ca²⁺ハンドリングの異常を引き起こし、③カスパーゼカスケードを介してアポトーシスを誘導する。その結果、心機能障害や左室リモデリングを引き起こすと考えられている (図1)¹⁾。

* 山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学
755-8505 宇部市南小串1-1-1
E-mail: skoba@yamaguchi-u.ac.jp

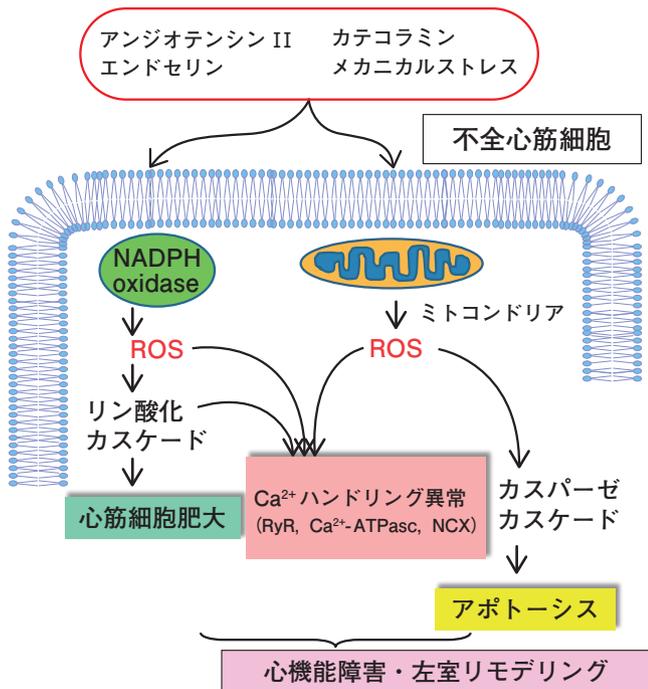


図1 酸化ストレスと心不全.

酸化ストレスマーカーとしての尿中8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) の意義

1. 8-OHdGの代謝経路

ROS産生系の亢進もしくは消費系の低下により心筋細胞内のROSが増加する。その結果、心筋細胞の核やミトコンドリアのDNAは酸化障害を受けて、DNA内の2'-deoxyguanosine (dG) が8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) へと変化する。8-OHdGは修復酵素により速やかに正常なdGへと置換され、DNA合成に再利用されるが、8-OHdGは安定した代謝産物として血中を経て尿中へと排泄される。したがって、血中および尿中8-OHdG濃度はELISA法により測定することができる(図2)。このように、血中および尿中8-OHdGはDNAの酸化的障害マーカーである²⁻⁶⁾。

2. 不全心筋組織で8-OHdGが発現している

Tsutsuiらのグループは、心筋梗塞後の心不全マウスモデルにおいて、ROS産生により心筋細胞内のミトコンドリアDNAが酸化的障害を受けることを報告した^{7,8)}。また、Katoらは、重症の拡張型心筋症患者の心筋生検標本において、免疫染色法により8-OHdGが検出されるだけでなく、血中

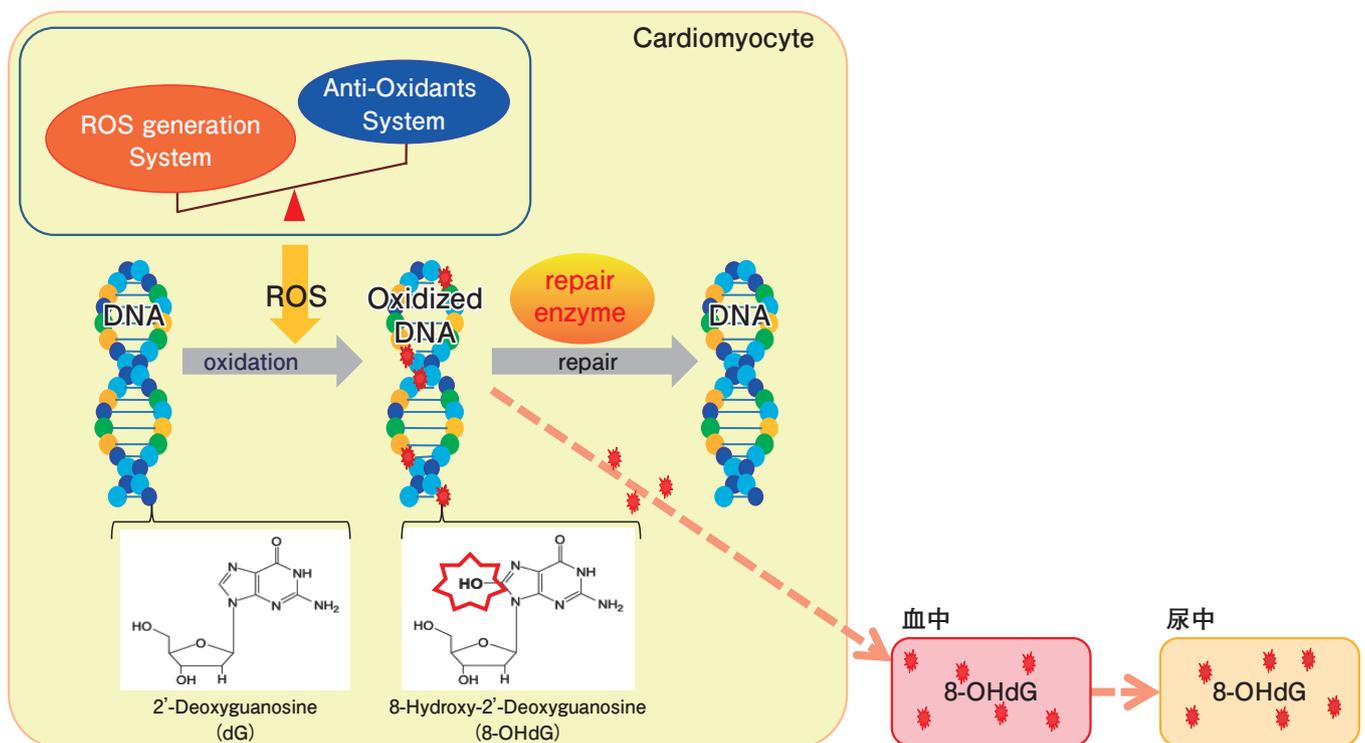


図2 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) の代謝経路.

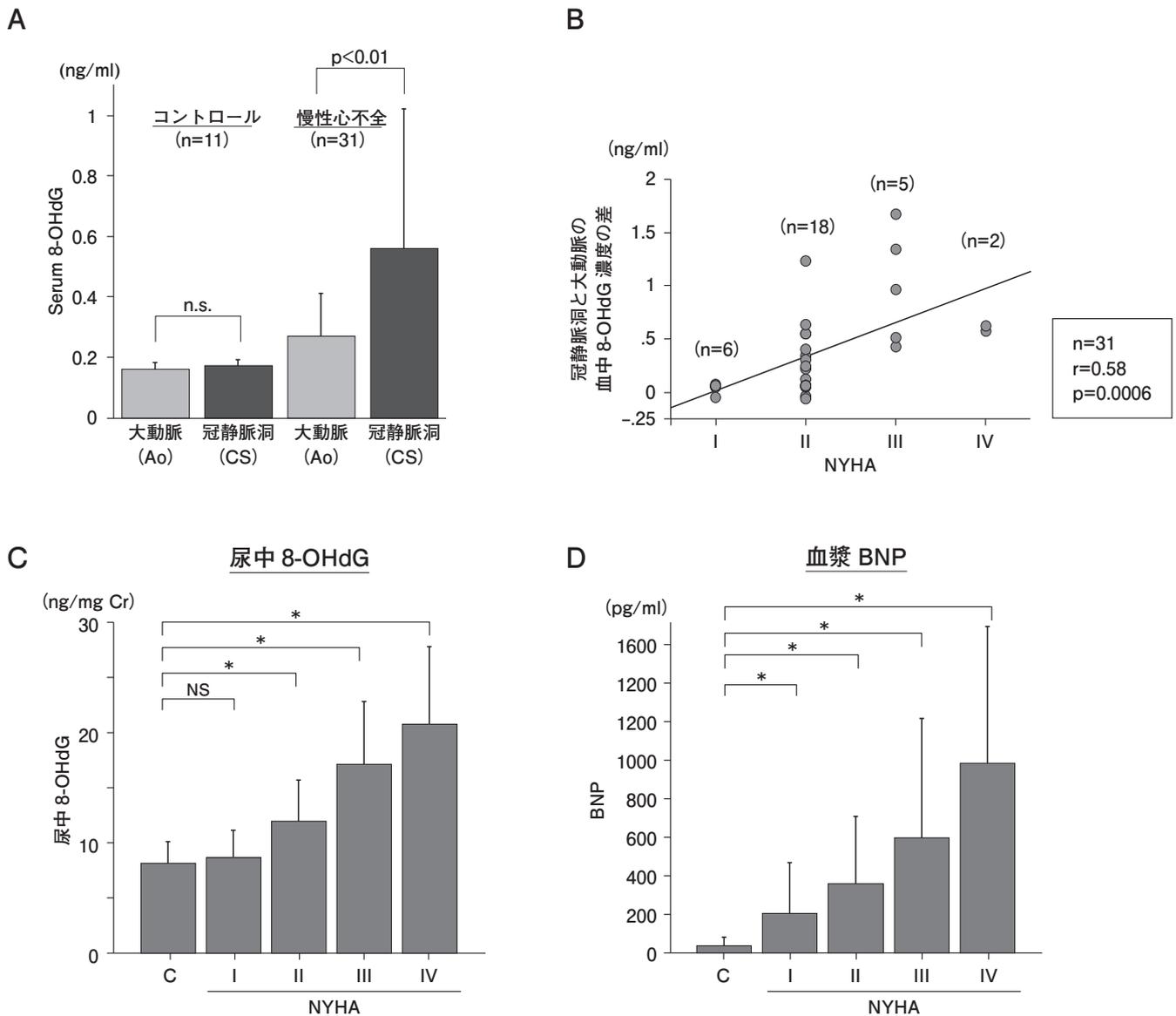


図3 尿中8-OHdGの起源と心不全重症度との関係。

A: 冠静脈洞と大動脈の血中8-OHdGの比較。 B: 不全心筋組織から産生される8-OHdG濃度と心不全重症度との関係。 NYHA: New York Heart Association心機能分類。 C: 尿中8-OHdG濃度と心不全重症度との関係。 D: 血漿BNP濃度と心不全重症度との関係。

8-OHdG濃度も上昇していることを報告した⁹⁾。

3. ヒト心不全患者の心臓から8-OHdGは産生されている

慢性心不全患者の酸化ストレスバイオマーカーとして酸化LDL, 血中あるいは尿中イプロスタン, ミエロペルオキシダーゼの有効性が報告されている¹⁰⁻¹²⁾。しかしながら, いずれのバイオマーカーも心臓特異性は高くなく, 日常臨床に有効で

あるところまでには至っていない。そこでわれわれは, 慢性心不全患者において8-OHdGが心臓組織から産生されているかどうかを検討した¹³⁾。慢性心不全患者 (N=31) および, 対照群として正常心機能群 (N=11) において, 冠静脈洞, 大動脈から血液のサンプリングを行い, 血中8-OHdG濃度を測定した。慢性心不全患者では, 血中8-OHdG濃度は, 大動脈に比較して冠静脈洞で有意に上昇しており, New York Heart Association (NYHA) 心機能分類の重症度が増加す

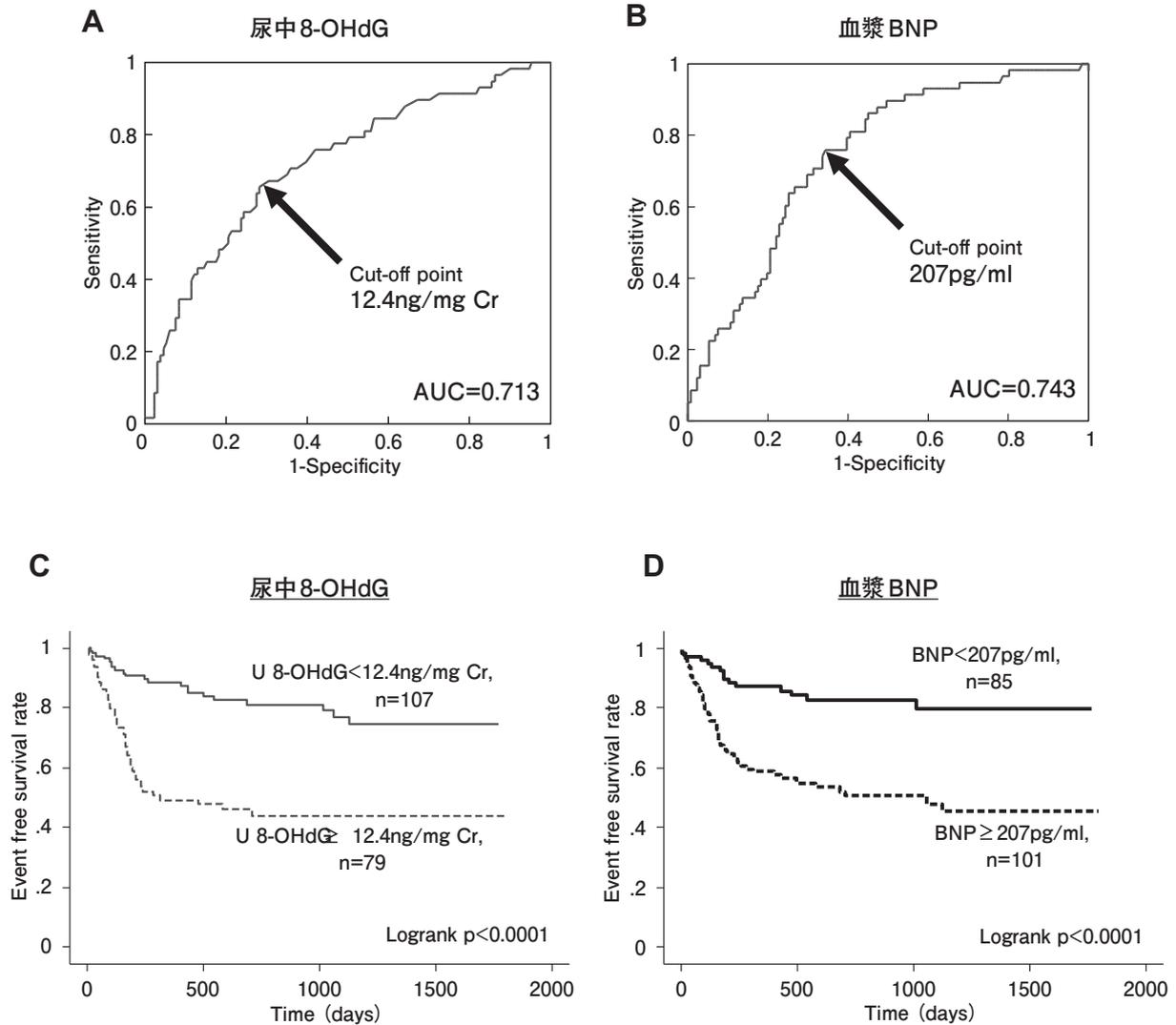


図4 慢性心不全患者における尿中8-OHdGと血漿BNPのROC解析およびKaplan-Meier解析。
 A：尿中8-OHdGのROC解析。 B：血漿BNPのROC解析。 C：尿中8-OHdGのKaplan-Meier解析による非心イベント発生率。
 D：血漿BNPのKaplan-Meier解析による非心イベント発生率。

るにつれて、冠静脈洞と大動脈の血中8-OHdG濃度差が大き
 いことがわかった(図3A, B)。さらに、冠静脈洞と大動脈の
 血中8-OHdG濃度差と尿中8-OHdG濃度は有意な正相関が
 あることを示した。以上より尿中8-OHdG濃度は慢性不全患
 者の心筋組織酸化ストレスの状態を反映していることが示唆
 された¹³⁾。

4. 尿中8-OHdG濃度は慢性心不全患者の心不全重 症度とよく相関する

冠動脈洞からの血液サンプリングは侵襲的であり、また、

末梢静脈血の8-OHdG濃度は、心臓由来の8-OHdGが全身
 の循環血液によって希釈されてしまうため、心不全重症度
 に伴う変化が小さくなる欠点がある。そこでわれわれは、194
 例の慢性収縮期心不全患者(左室駆出率 $28.3 \pm 8.1\%$)にお
 いて、尿中8-OHdG濃度を測定し、慢性心不全の重症度お
 よび心機能との関係について検討した。慢性心不全患者で
 は、血漿BNP同様、尿中8-OHdG濃度はコントロール群(心
 機能正常群)に比較して有意に高値を呈し、NYHA心機能分
 類の重症度の増加につれて上昇した(図3C, D)¹³⁾。また、尿
 中8-OHdG濃度は左室駆出率、肺動脈楔入圧、左室拡張末

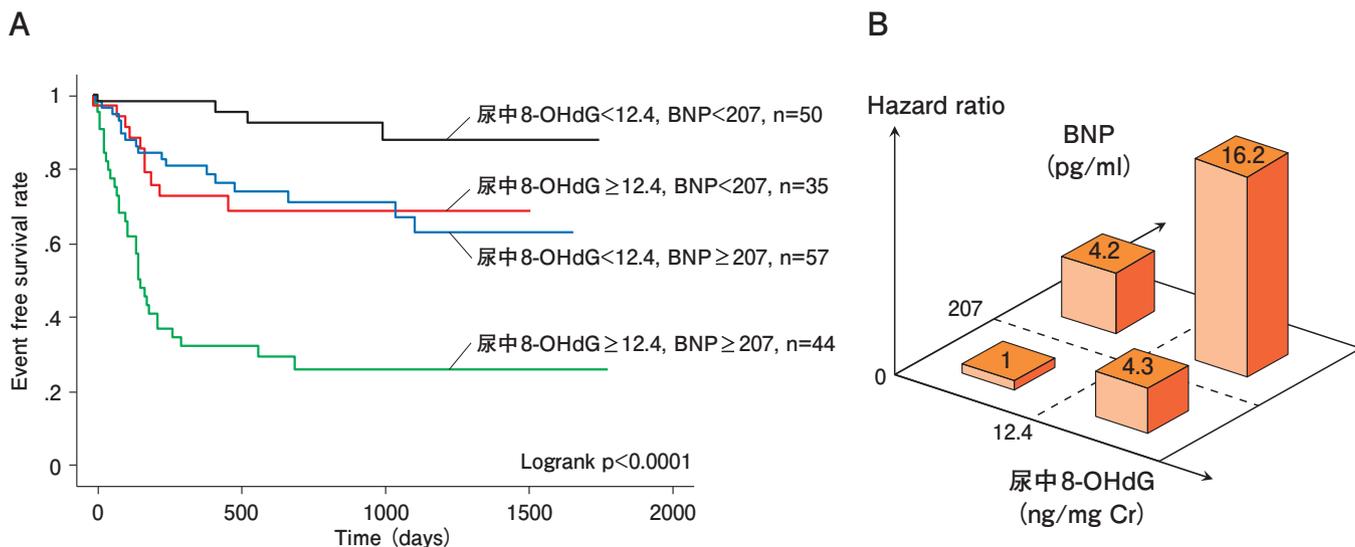


図5 尿中8-OHdGと血漿BNPによる慢性心不全患者の心事故に対するリスクの層別化。
 A: 尿中8-OHdGと血漿BNPのカットオフ値によって分類された4群のKaplan-Meier曲線。 B: 慢性心不全患者4群の心事故に対するハザード比。

期容積と有意な相関を認めた¹³⁾。

このように尿中8-OHdG濃度は、慢性心不全の重症度評価に有用な不全心筋の酸化ストレスマーカーであることが示唆された。

5. 尿中8-OHdG濃度は慢性心不全患者の心事故を予測する

慢性心不全において、尿中8-OHdG濃度が慢性心不全患者の心事故の予測に有用かどうかを、前向きに検討した。退院前の186例の慢性収縮期心不全患者において、心臓死または心不全の増悪による入院をエンドポイントとして、追跡調査した(追跡期間の中央値649日間)¹⁴⁾。Receiver operating curve (ROC) 解析から、尿中8-OHdGおよび血漿BNPのカットオフ値は、それぞれ12.4 ng/mg Cr, 207 pg/mlであった(図4A, B)¹⁴⁾。非心事故発生率は、尿中8-OHdG低値群およびBNP低値群において有意に高かった(図4C, D)¹⁴⁾。多変量解析では、尿中8-OHdGとBNPは心事故の独立した予測因子であった。これらの慢性心不全患者を尿中8-OHdGとBNPのカットオフ値によって4群に分類し、Kaplan-Meier解析を行うと、図5Aのようなリスク層別化が示された¹⁴⁾。BNP単独高値群、尿中8-OHdG単独高値群のhazard ratio (HR)はそれぞれ4.2, 4.3であったが、BNP高値/尿8-OHdG高値群のHRは16.2まで上昇した(図5B)¹⁴⁾。以上より、慢性心不全患者において、尿中8-OHdGとBNPによるリスク層別化は、

BNP単独あるいは尿8-OHdG単独で行うよりも、より心事故予測に有用であることが示唆された。

6. 尿中8-OHdG濃度は慢性心不全患者に対するβ遮断薬治療(カルベジロール)にて低下するか

慢性心不全患者において、酸化ストレスマーカーである尿中8-OHdGがβ遮断薬(カルベジロール)の効果判定に有用であるか否かについて検討した¹⁴⁾。β遮断薬治療が導入されていない慢性収縮期心不全患者30名にβ遮断薬療法を開始して追跡した(平均追跡期間12カ月)。レスポナー群は左室駆出率10%以上の増加あるいはNYHAクラスで1クラス以上の改善するものと定義した。

β遮断薬治療前後でNHYAクラス、心エコー上の左室駆出率、BNP、高感度CRPおよび尿中8-OHdGの比較を行った。その結果19例がレスポナー、11例がノンレスポナーであった(図6)。表1に示すように、レスポナー群においては、β遮断薬投与後に、尿中8-OHdG濃度(ng/mg Cr)は投与前に比し、BNPの変化同様に有意に低下した(投与前vs投与後: 15.9 ± 6.9 vs 9.8 ± 3.2)。ノンレスポナー群においては、尿中8-OHdG濃度は改善しなかった¹⁴⁾。このように、慢性心不全患者において、尿中8-OHdG濃度はβ遮断の効果判定に有用な酸化ストレスマーカーであることが示唆された。

表1 カルベジロール治療前後の各評価項目の変化。

	レスポonder群 (n=19)			ノンレスポonder群 (n=11)		
	Before	After	p	Before	After	p
年齢 (y)	48 ± 16			55 ± 14		
性別 (male/female)	9/10			6/5		
BMI (kg/m ²)	24.5 ± 7.9			23.1 ± 8.7		
NYHA functional class	2.8 ± 0.4	1.6 ± 0.5	<0.0001	2.5 ± 0.7	3.0 ± 0.9	0.1245
心拍数 (bpm)	81 ± 17	71 ± 8	0.0325	71 ± 8	74 ± 12	0.6319
収縮期血圧	99 ± 22	96 ± 16	0.7638	93.1 ± 11	88 ± 9	0.3293
総コレステロール (mg/dl)	182 ± 33	177 ± 30	0.7620	183 ± 31	195 ± 23	0.5697
空腹時血糖 (mg/dl)	107 ± 57	105 ± 29	0.9449	104 ± 39	114 ± 29	0.6522
左室拡張末期径 (mm)	66 ± 9	58 ± 7	0.0048	64 ± 7	64 ± 9	0.7951
左室拡張末期容積指数 (ml/m ²)	140 ± 46	105 ± 30	0.0156	143 ± 46	145 ± 59	0.9266
左室駆出率 (%)	23 ± 5	36 ± 13	0.0005	27 ± 10	23 ± 10	0.3847
e-GFR (ml/min · 1.73 m ²)	79 ± 29	69 ± 28	0.3317	60 ± 27	50 ± 28	0.4026
高感度CRP (mg/dl)	0.38 ± 0.38	0.14 ± 0.19	0.0734	0.40 ± 0.30	0.51 ± 0.70	0.6859
BNP (pg/ml)	410 ± 295	121 ± 120	0.0003	424 ± 399	571 ± 783	0.5847
尿中8-OHdG (ng/mg Cr)	15.9 ± 6.9	9.8 ± 3.2	0.0013	13.4 ± 6.3	20.3 ± 4.4	0.0074
追跡期間 (days)		342 ± 340			577 ± 507	
β遮断薬投与量 (mg)		11.9 ± 7.1			7.4 ± 6.3	

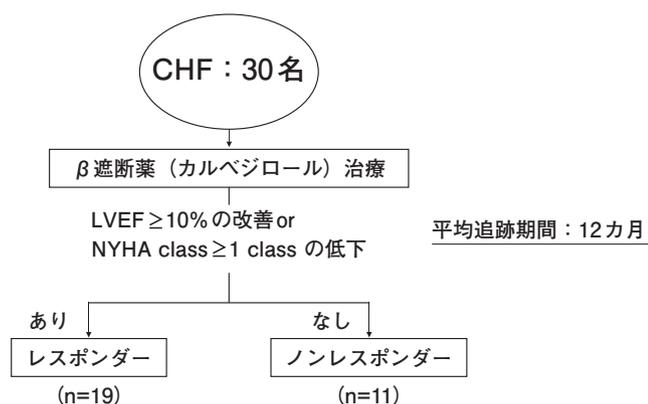


図6 慢性心不全患者に対するカルベジロール治療の効果判定。

おわりに

心不全の診断とその重症度評価、予後判定、治療効果判定に関するエビデンスの数から、心不全のバイオマーカーのゴールドスタンダードはBNP、NT-ProBNPである。一方、酸

化ストレスは心不全において過剰発現していることが示唆され、多くの酸化ストレスバイオマーカーの有効性が報告されてきた。しかしながら、いずれのバイオマーカーも心臓特異性は高くなく、日常臨床に有効であるところまでには至っていない。本稿では尿中8-OHdGは、BNP同様、心不全の重症度、心事故の予測、β遮断薬の治療効果判定に有効であることを述べた。尿中8-OHdGは新しい心不全の酸化ストレスマーカーとして期待されるが、さらなる大規模スタディなどでデータの蓄積が待たれるところである。

文献

- 1) Sawyer DB, Siwik DA, Xiao L, Pimentel DR, Singh K, Colucci WS. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 379-388.
- 2) Kasai H. Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: Formation, repair, and mutagenesis. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 450-466.
- 3) Kaneko T, Tahara S, Matsuo M. Non-linear accumula-

- tion of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidized DNA damage, during aging. *Mutat Res* 1996; 316: 277-285.
- 4) Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. *Free Radical Res Commun* 1989; 7: 121-128.
 - 5) Loft S, Vistisen K, Ewertz M, Tjonneland A, Overvad K, Poulsen HE. Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in humans: influence of smoking, gender and body mass index. *Carcinogenesis* 1992; 13: 2241-2247.
 - 6) Sakumi K, Furuichi M, Tsuzuki T, Kakuma T, Kawabata S, Maki H, Sekiguchi M. Cloning and expression of cDNA for a human enzyme that hydrolyzes 8-oxo-dGTP, a mutagenic substrate for DNA synthesis. *J Biol Chem* 1993; 268: 524-530.
 - 7) Ide T, Tsutsui H, Hayashidani S, Kang D, Suematsu N, Nakamura K, Utsumi H, Hamasaki N, Takeshita A. Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction. *Circ Res* 2001; 88: 529-535.
 - 8) Tsutsui H, Ide T, Shiomi T, Kang D, Hayashidani S, Suematsu N, Wen J, Utsumi H, Hamasaki N, Takeshita A. Oxidative stress mediates tumor necrosis factor-alpha-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in cardiac myocytes. *Circulation* 2001; 104: 2883-2885.
 - 9) Kono Y, Nakamura K, Kimura H, Nishii N, Watanabe A, Banba K, Miura A, Nagase S, Sakuragi S, Kusano KF, Matsubara H, Ohe T. Elevated levels of oxidative DNA damage in serum and myocardium of patients with heart failure. *Circ J* 2006; 70: 1001-1005.
 - 10) Tsutamoto T, Wada A, Matsumoto T, Maeda K, Mabuuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, Ohnishi M, Sawaki M, Fujii M, Matsumoto T, Yamamoto T, Horie H, Sugimoto Y, Kinoshita M. Relationship between tumor necrosis factor-alpha production and oxidative stress in the failing hearts of patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 2086-2092.
 - 11) Tang WHW, Tong W, Troughton RW, Martin MG, Shrestha K, Borowski A, Jasper S, Hazen SL, Klein AL. Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 2364-2370.
 - 12) Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med* 2008; 358: 2148-2159.
 - 13) Kobayashi S, Susa T, Tanaka T, Wada Y, Okuda S, Doi M, Nao T, Yoshiga Y, Yamada J, Okamura T, Ueyama T, Kawamura S, Yano M, Matsuzaki M. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine reflects symptomatic status and severity of systolic dysfunction in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011; 13: 29-36.
 - 14) Susa T, Kobayashi S, Tanaka T, Murakami W, Akashi S, Kunitsugu I, Okuda S, Doi M, Wada Y, Nao T, Yamada J, Okamura T, Yano M, Matsuzaki M. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a novel biomarker for predicting cardiac events and evaluating the effectiveness of carvedilol treatment in patients with chronic systolic heart failure. *Circ J* 2012; 76: 117-126.