

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業
(英語) Practical Research Project for Life-Style related Diseases including
Cardiovascular Diseases and Diabetes Mellitus

研究開発課題名： (日本語) 慢性炎症を基盤とする心血管病態モニタリングマーカーの開発と臨床導入の実現—慢性炎症の制御に着目した創薬のための新たなバイオマーカー開発—
(英語) Development of cardiovascular pathology monitoring markers based on chronic inflammation and realization of clinical introduction - Development of new biomarkers for drug discovery focusing on control of chronic inflammation -

研究開発担当者 (日本語) 学校法人自治医科大学・医学部・客員教授 鈴木 亨
所属 役職 氏名： (英語) Toru Suzuki, Visiting Professor, School of Medicine, Jichi Medical University

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語)
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語) 学校法人自治医科大学・医学部・准教授 相澤 健一
所属 役職 氏名： (英語) Kenichi Aizawa, Associate Professor, School of Medicine, Jichi Medical University

研究開発分担者 (日本語) 学校法人自治医科大学・医学部・准教授 今井 靖
所属 役職 氏名： (英語) Yasushi Imai, Associate Professor, School of Medicine, Jichi Medical University

研究開発分担者 (日本語) 学校法人自治医科大学・医学部・准教授 藤田 大司
所属 役職 氏名： (英語) Daishi Fujita, Visiting Researcher, School of Medicine, Jichi Medical University

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

大動脈瘤・解離に関しては、臨床検体で炎症性バイオマーカーの経時的な測定を行い、大動脈解離発症後の進展また予後のサロゲートバイオマーカーとしての有用性を検証した。米国 NIH 主導の世界最大規模の遺伝性大動脈疾患のレスジストリー研究において、血中 IL-6 値が大動脈径と相関を示した(論文投稿中)。これは IL-6 に代表される慢性炎症が、動脈硬化性のみならず非動脈硬化性の遺伝性大動脈疾患の病態形成にも関与することを示唆する。すなわち、IL-6 値が大動脈径のみならず、大動脈拡大のモニタリングに利用できる可能性がある。前臨床研究として、抗 IL-6 抗体 (MR-16) を大動脈解離モデルマウスに投与し、解離抑制効果を検討した。また、イメージングとバイオマーカーのカップリングを行った。具体的には、大動脈解離発症前の予備病態である血管炎症時期を高解像度 MRI を用いて動物モデルで検出し、同時に血中炎症バイオマーカーの推移を特定し、最適なバイオマーカー測定の条件を検討した。また、サイトカイン (GM-CSF 等) の中和効果 (大動脈解離予防) の有用性検討を行い、ヒトへの応用を探索している。

心臓線維化・心不全に関しては、新規炎症性マーカーの同定と臨床応用を目的とし、心臓リモデリングマーカー (TSP4、ペリオスチン、ST2 等) の心不全発症や経過・予後に関する検討を実施した。ST2 は BNP 低値の患者では主要心血管イベントリスクと相関することを明らかにした (論文投稿準備中)。すなわち、ST2 は冠動脈疾患患者の予後予測に有用と考えられる。また、新たに発見した心不全のバイオマーカー (BNP プロセシング産物 4-32、5-32、3-32、および TMAO) の大規模心不全コホートにおける検証を実施すると同時に BNP プロセシング産物のアッセイ系を開発した。これまでに心不全症例の分析を行い、1年後の全死亡率の予測能を比較したところ、BNP5-32 が NT pro-BNP に比して優れたバイオマーカーであることが明らかになった。本ペプチドは次世代の B 型利尿ペプチド検査となる可能性がある。昨年度末から自治医科大学循環器内科の入院全患者の血液を採取するプロトコールが始動した。同時に、1年毎に追跡し、予後調査を行っている。

冠動脈疾患・動脈硬化に関しては、臨床検体での再狭窄とイベント予測能と臨床的有用性検討を目的とし、BNP プロセシング産物 5-32 の臨床的有用性の検討を実施した。また、虚血性心疾患のメタボローム・プロテオーム/疾患フェノーム解析を実施し、新規バイオマーカーを探索した。TMAO が急性心筋梗塞後の予後予測に有用であり、発症後の全死亡と心筋梗塞再発のリスク細分に有用であることを示した。超高速トリプル四重極型質量分析計で TMAO を測定可能なプロトコールを開発し、オンサイトで分析可能になった。自治医科大学の入院症例において TMAO を分析継続し、本邦のコホートにおける測定と比較検討を実施している。

英文.

Regarding aortic aneurysm/dissection, clinical specimens were measured over time of inflammatory biomarkers and the utility as prognostic surrogate biomarkers after progression of aortic dissection was examined. In the registration study of the world's largest hereditary aortic disease led by the US NIH, blood IL-6 value correlated with aorta diameter (paper submission). This suggests that chronic inflammation typified by IL-6 is involved in pathogenesis of atherosclerotic hereditary aortic diseases as well as arteriosclerotic. That is, there is a possibility that IL-6 value can be used not only for aortic diameter but also for monitoring of aortic enlargement. As a preclinical study, anti-IL-6 antibody (MR-16) was administered to aortic dissection model mouse and the dissociation inhibitory effect was investigated. We also performed imaging and biomarker coupling. Specifically, the vascular inflammation period, which is a preliminary disease state before the onset of aortic dissection, is detected in an animal model using high resolution MRI, at the same time, the transition of the blood inflammation biomarker is specified, and the optimum condition of the biomarker measurement investigated. We also examined the usefulness of neutralizing effect (prevention of aorta dissection) of cytokines (GM-CSF etc.) and are searching for application to humans.

Regarding cardiac fibrosis and heart failure, we examined cardiac remodeling markers (TSP4, periostin, ST2 etc.) on the onset, progress and prognosis of heart failure with the aim of identifying novel inflammatory markers and clinical applications. ST2 revealed that it correlates with the risk of major cardiovascular events in patients with low BNP (preparing for paper submission). That is, ST2 is considered to be useful for prognostic prediction of patients with coronary artery disease. We also performed validation in the large-scale heart failure cohort of newly discovered heart failure biomarkers (BNP processing products 4-32, 5-32, 3-32, and TMAO) and developed an assay system for BNP processing products. We analyzed cases of heart failure so far and compared the predictive ability of all-cause mortality one year later, it turned out that BNP 5-32 is an excellent biomarker compared with NT pro-BNP. This peptide may be the next generation B type diuretic peptide test. At Jichi Medical University Hospital, a protocol to collect blood from all patients in the department of cardiovascular medicine started from the end of last fiscal year. At the same time, it tracks every year and conducts a prognostic survey.

Regarding coronary artery disease and arteriosclerosis, clinical usefulness of BNP processing product 5-32 was examined for the purpose of restenosis in clinical specimen, event prediction ability and clinical usefulness. In addition, we performed metabolome and proteome/disease phenome analysis of ischemic heart disease and searched for new biomarkers. TMAO is useful for predicting prognosis after acute myocardial infarction and is useful for risk subdivision of all deaths and recurrence of myocardial infarction after onset. A protocol capable of measuring TMAO with a triple quadrupole mass spectrometer was developed and they became

analyzable on site. We continued analyzing TMAO in the case of inpatient case at Jichi Medical University, and we are conducting measurements and comparative studies in cohort in Japan.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 12 件)

1. Heaney LM, Deighton K and Suzuki T. Non-targeted metabolomics in sport and exercise science. *J Sports Sci.* 2017;1-9.
2. Suzuki T, Israr MZ, Heaney LM, Takaoka M, Squire IB and Ng LL. Prognostic Role of Molecular Forms of B-Type Natriuretic Peptide in Acute Heart Failure. *Clin Chem.* 2017;63:880-886.
3. Ma D, Zheng B, Suzuki T, Zhang R, Jiang C, Bai D, Yin W, Yang Z, Zhang X, Hou L, Zhan H and Wen JK. Inhibition of KLF5-Myo9b-RhoA Pathway-Mediated Podosome Formation in Macrophages Ameliorates Abdominal Aortic Aneurysm. *Circ Res.* 2017;120:799-815.
4. Suzuki T, Heaney LM, Jones DJ and Ng LL. Trimethylamine N-oxide and Risk Stratification after Acute Myocardial Infarction. *Clin Chem.* 2017;63:420-428.
5. Suzuki T, Heaney LM, Bhandari SS, Jones DJ, Ng LL. Trimethylamine N-oxide and prognosis in acute heart failure. *Heart.* 2016;102:841-848.
6. Heaney LM, Jones DJ, Mbasu RJ, Ng LL, Suzuki T. High mass accuracy assay for trimethylamine N-oxide using stable-isotope dilution with liquid chromatography coupled to orthogonal acceleration time of flight mass spectrometry with multiple reaction monitoring. *Anal Bioanal Chem.* 2016;408:797-804.
7. Zhan H, Aizawa K, Sun J, Tomida S, Otsu K, Conway SJ, McKinnon PJ, Manabe I, Komuro I, Miyagawa K, Nagai R, Suzuki T. Ataxia telangiectasia mutated in cardiac fibroblasts regulates doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cardiovasc Res.* 2016;doi:10.1093/cvr/cvw032.
8. Bhandari SS, Narayan H, Jones DJ, Suzuki T, Struck J, Bergmann A, Squire IB, Ng LL. Plasma growth hormone is a strong predictor of risk at 1 year in acute heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2016;18:281-9.
9. Gallardo-Vara E, Blanco FJ, Roqué M, Friedman SL, Suzuki T, Botella L, Bernabeu C. Transcription factor KLF6 upregulates expression of metalloprotease MMP14 and

subsequent release of soluble endoglin during vascular injury. *Angiogenesis*. 2016;19:155-71.

10. Bossone E, Pyeritz RE, Braverman AC, Peterson MD, Ehrlich M, O’Gara P, Suzuki T, Trimarchi S, Gilon D, Greason K, Desai ND, Montgomery DG, Isselbacher EM, Nienaber CA, Eagle KA; IRAD Investigators. Shock complicating type A acute aortic dissection: Clinical correlates, management, and outcomes. *Am Heart J*. 2016;176:93-9.
11. Suzuki T, Lyon A, Saggar R, Heaney LM, Aizawa K, Cittadini A, Mauro C, Citro R, Limongelli G, Ferrara F, Vriza O, Morley-Smith A, Calabro P, Bossone E. Biomarkers of acute cardiovascular and pulmonary diseases. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2016;5:416-33.
12. Nienaber C, Clough R, Sakalihasan N, Suzuki T, Gibbs R, Mussa F, Jenkins M, Thompson M, Evangelista A, Cheshire N, Rosendahl U, Pepper J. Aortic dissection. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016 Jul 21;2:16053.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Thoracic Aortic Aneurysm Disease: Biomarkers and Medical Management、口頭。 Suzuki T. William Harvey Research Institute: Annual Thoracic Aortic Aneurysm Scientific Day. St Bartholemew’s Hospital, London. 2016.9.27. 国外.
2. Biomarker correlates of acute aortic dissection、口頭。 Suzuki T. Fourth GenTAC Thoracic Aortic Summit. Washington Capital Hilton, USA. 2016.9.22. 国外.
3. Diagnostic algorithm for acute aortic dissection - imaging and biomarkers、口頭。 Suzuki T. 5th International Meeting on Aortic Diseases -- New insights into an old problem CHU Liege, APF. Liege, Belgium. 2016.9.16. 国外.
4. Acute biomarkers: where are we?、口頭。 Suzuki T. RomAorta. Rome, Italy. 2016.8.25. 国外.
5. KLF6 in the cardiovascular system、口頭。 Suzuki T. FASEB summer research conference on KLF and Sp transcription factors in disease and regenerative medicine. Snowmass, USA. 2016.8.8. 国外.
6. Functional imaging of aortic dissection and coupling with biomarkers、口頭。 Suzuki T. SDN Istituto di Ricerca Diagnostica e Nucleare. Naples, Italy. 2016.7.13. 国外.

7. Cardiovascular Precision Medicine、口頭. Suzuki T. Zhejiang University, Second Affiliated Hospital. Hangzhou, China. 2016.6.21. 国外.
8. Diagnostic pathways for patients presenting with chest pain、口頭. Suzuki T. Aortic Dissection - Medical Mystery Series. London. 2016.4.14. 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ラジオ (BBC Leicester 放送局) のインタビューに出演. 鈴木亨. 2016.7.27. 国外.
2. テレビ局 (BBC One) の番組 “The Truth About Meat” に出演. 鈴木亨. 2016.9.29. 国外.

(4) 特許出願

当該年度に該当なし。