

平成 20 年度研究報告書

研究者代表者

島根難病研究所老年医学研究部門

所属 静岡県立総合病院 臨床医学研究センター

氏名 島田俊夫

1. 研究テーマ

奥出雲住民健康診断受診者並びに病院受診者での BNP、NT-proBNP 濃度の四分位数による層別化群での病態に伴う BNP、NT-proBNP の分子数の比率に関する研究

2. 研究者氏名

島田俊夫¹、村上 陽²、公受伸之³、月橋啓典⁴、川上興一⁵、安田 勲⁶、吉富裕之⁷、小谷暢啓⁸、高橋伸幸⁸、影山久美子⁸、田邊一明⁸、橋本道男⁹

3. 研究概要

(背景)

利尿ペプチドの心不全における臨床的有用性は一般臨床医にも認知されつつある。我が国において利尿ペプチドの中で最初に ANP が臨床に導入され、引き続いて BNP が導入された。しかしながらヨーロッパでは主に NT-proBNP が臨床に最初に応用されている。近年我が国において許可された NT-proBNP と以前から使用されている BNP の特徴の差を明らかにするための試みとして本研究を行った。NT-proBNP も BNP も本来は心筋細胞で preproBNP として合成され、その後シグナルペプチドが切離され、preproBNP は proBNP になる。proBNP は furin というタンパク分解酵素の助けで生理活性のある BNP と非生理活性の NT-proBNP に分解され血中に放出される。血中半減期は NT-proBNP が 5 倍程度長い。

(目的)

NT-proBNP と BNP の末梢での分子数が心不全の悪化により変化する可能性が考えられるため住民健康診断受診者および病院受診者（患者）の背景の異なる対象で検

¹ 静岡県立総合病院 臨床医学研究センター（静岡市）

² 陽循環器内科クリニック（出雲市）

³ おおつかクリニック（出雲市）

⁴ 湖北つきはしクリニック（松江市）

⁵ 橘林堂 川上医院（大田市）

⁶ 来島診療所（飯南町）

⁷ 島根大学医学部附属病院臨床検査部

⁸ 島根大学医学部第四内科

⁹ 島根大学医学部環境生理学

討を行った。

(方法)

奥出雲地方の住民健康診断受診者の中で循環器検診を受けることに同意した受診者並びに循環器内科受診者（患者）を対象として同時採血した同一サンプルで電気化学発光法を用いてそれぞれ測定した。NT-proBNP, BNP の両利尿ペプチドにつき 0-25%, 25-50%, 50-75%, 75-100% の 4 群での測定値を分子数に換算して得られた NT-proBNP (pmol/L), BNP (pmol/L) の分子数を基に比率を計算した。NT-proBNP, BNP, NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L を 4 分位数により subgroup 化し 4 群間での比較のために分散分析を行い Tukey-HSD 法にて多重比較を行った。統計学的有意は $p < 0.05$ を用いた。

(結果)

最初に循環器内科を受診した 1222 名の患者についての解析結果を示す。全体の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値はそれぞれ 38.5pg/ml, 136pg/ml, 平均値は 104pg/ml, 1001.4pg/ml, 分子数で表示した計算値は中央値が 11.3pmol/L, 16pmol/L, 平均値が 30.6pmol/L, 117.8pmol/L, 比で表示した NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L の値の中央値は 3.65, 平均値は 3.79 であった。濃度の低い方から subgroup1, 2, 3, 4 と subgroup 化した。各々の subgroup 間での差について分散分析を行い、多重比較は Tukey HSD 法により行った。Subgroup1 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値はそれぞれ 12.5pg/ml, 38.4pg/ml, 平均値は 12.3pg/ml, 37.1pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が 3.68pmol/L, 4.51pmol/L, 平均値が 3.63pmol/L, 4.37pmol/L, 比で表示した NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L の値の中央値は 1.34, 平均値は 1.50 であった。Subgroup2 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々 25.8pg/ml, 87.1pg/ml, 平均値は 27.2pg/ml, 90.5pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が 7.59pmol/L, 10.2pmol/L, 平均値が 8.01pmol/L, 10.6pmol/L, 比で表示した NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L の値の中央値は 1.26, 平均値は 1.61 であった。Subgroup3 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々 57.4pg/ml, 247.3pg/ml, 平均値は 60.6pg/ml, 268.6pg/ml, 分子数で表示した値は中央 16.9pmol/L, 29.1pmol/L, 平均値が 17.8pmol/L, 31.6pmol/L, 比で表示した NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L の値の中央値は 1.53, 平均値は 2.06 であった。Subgroup4 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々 172.5pg/ml, 1172pg/ml, 平均値は 316.4pg/ml, 3614.7pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が 50.5pmol/L, 138pmol/L, 平均値が 93.1pmol/L, 425.3pmol/L, 比で表示した NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L の値の中央値は 2.47, 平均値は 3.32 であった。その結果を図 1-2 (BNP で subgroup 化、NT-proBNP で subgroup 化) に示す。明らかに患者集団では subgroup3, 4 で統計的 NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/L の値は増加した。同様の解析を健康集団受診者についても行った。健康集団受診した 1973 名（男性/

女性：722/1251, 年齢：66.3±10.8才) についての解析結果を同様に示す。全体のBNP濃度, NT-proBNP濃度の中央値は各々18.2pg/ml, 57pg/ml, 平均値は29.4pg/ml, 93.3pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が5.35pmol/L, 6.63pmol/L, 平均値が8.7pmol/L, 10.8pmol/L, 比で表示したNT-proBNPpmol/L/BNPpmol/Lの値の中央値は3.65, 平均値は3.79であった。濃度の低い方から subgroup1, 2, 3, 4 と subgroup 化した。各々の subgroup 群間で差について分散分析を行い、多重比較は Tukey-HSD 法により比較した。Subgroup 1 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々6.2pg/ml, 38.4pg/ml, 平均値は6.0pg/ml, 37.1pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が1.8pmol/L, 4.5pmol/L, 平均値が1.8pmol/L, 4.4pmol/L, 比で表示したNT-proBNPpmol/L/BNPpmol/Lの値の中央値は1.34, 平均値は1.50であった。Subgroup 2 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々13.6pg/ml, 87.1pg/ml, 平均値は13.8pg/ml, 90.5pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が4.00pmol/L, 10.2pmol/L, 平均値が4.06pmol/L, 10.6pmol/L, 比で表示したNT-proBNPpmol/L/BNPpmol/Lの値の中央値は1.3, 平均値は1.6であった。Subgroup3 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々24.4pg/ml, 247.3pg/ml, 平均値は24.9pg/ml, 268.6pg/ml, 分子数で表示した値は中央7.18pmol/L, 29.1pmol/L, 平均値が7.32pmol/L, 31.6pmol/L, 比で表示したNT-proBNPpmol/L/BNPpmol/Lの値の中央値は1.5, 平均値は2.1であった。Subgroup4 の BNP 濃度, NT-proBNP 濃度の中央値は各々54.1pg/ml, 1172pg/ml, 平均値は73.0pg/ml, 3614.7pg/ml, 分子数で表示した値は中央値が15.9pmol/L, 138pmol/L, 平均値が21.5pmol/L, 425.3pmol/L, 比で表示したNT-proBNPpmol/L/BNPpmol/Lの値の中央値は2.5, 平均値は3.32であった。統計処理は前に示したと同様に行った。結果を図3-4に示す。BNPでsubgroup化した群ではsubgroup 1のみが高く、後の3群間には差がなかった。NT-proBNPでsubgroup化した群では subgroup 4のみが高値を示した。年齢、性別を調整しても結果は変わらないことを確認している。今回の解析は紙面の都合で2, 4を除いてBNP濃度に基づいてsubgroup化されたデータを提示したことを付言しておきます。

NT-proBNP/BNPpmol/L

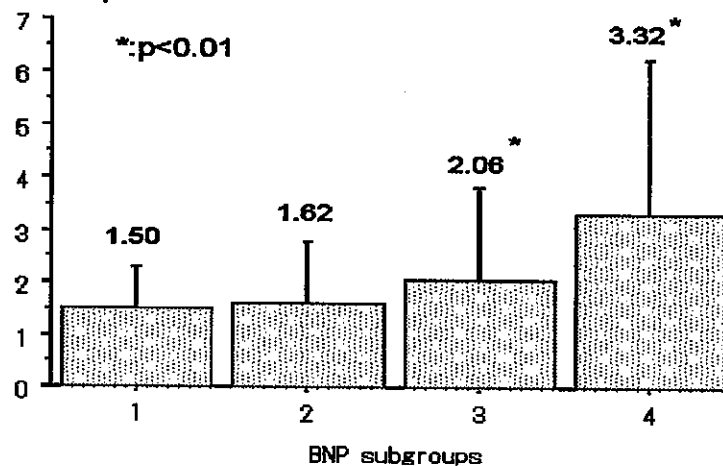


図1 循環器内科受診患者群でのBNP濃度によるsubgroups間でのNT-proBNP/BNPpmol/Lの比の変化

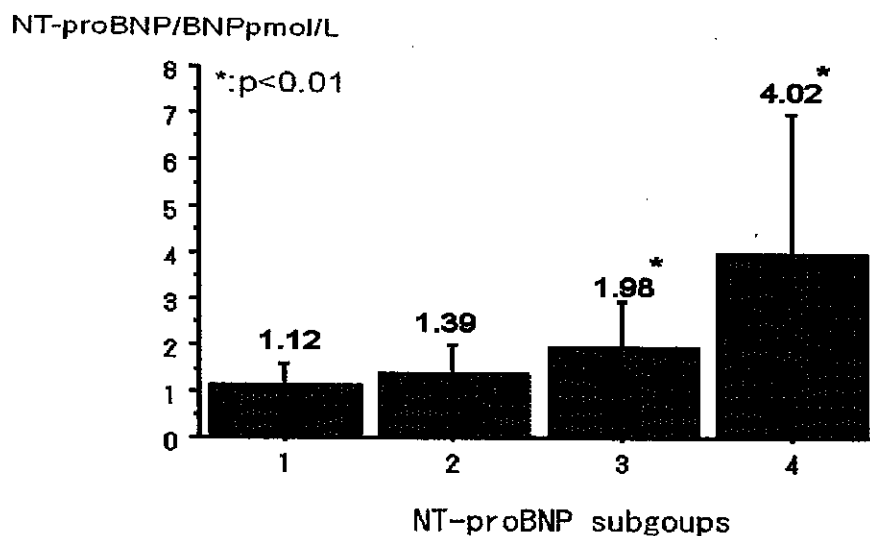


図2 循環器内科受診患者群での NT-proBNP 濃度による subgroups 間での NT-proBNP/BNPpmol/L の比の変化

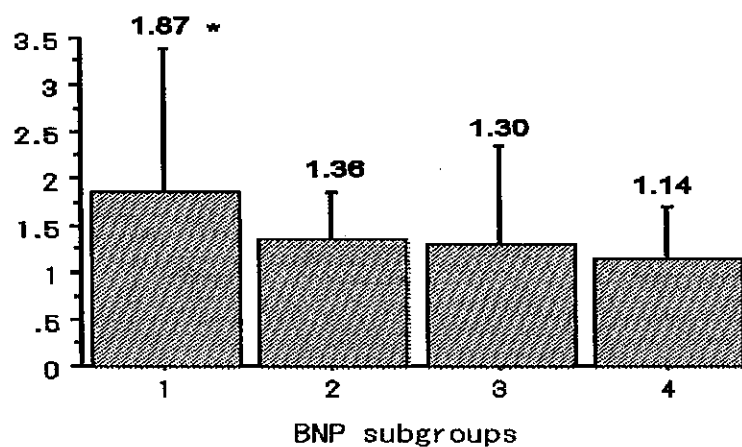


図3 住民健康診断受診者群の BNP 濃度による subgroups 間での NT-proBNP/BNPpmol/L の比の変化

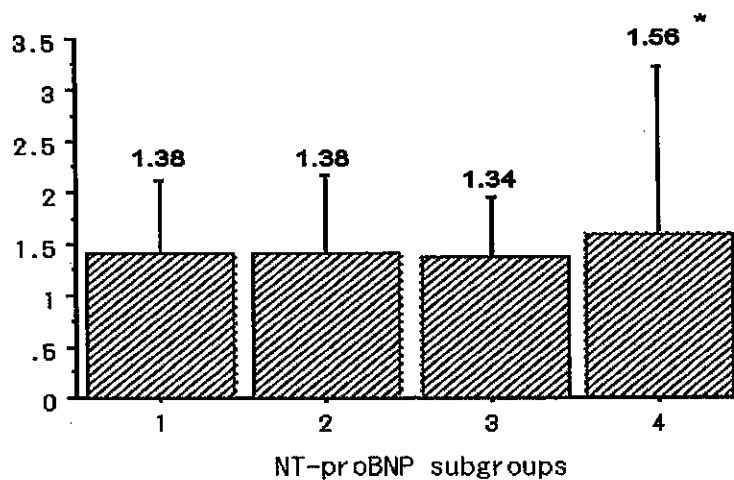


図4 住民健康診断受診者群の NT-proBNP 濃度による subgroups 間での NT-proBNP/BNPpmol/L の比の変化

(考察・結語)

我が国において心不全のバイオマーカーとして現在3つのマーカーが主に使用されている。ANPが最初に許可されたマーカーであるが現在ではBNP, NT-proBNPの使用が中心になっている。後発品として我が国に導入されたNT-proBNPに関してはBNPと比較し使用経験がなかったためBNPを使用している者にとって最初は当然ながら使用に抵抗があるのは止むを得ない。抵抗感を軽減する目的で私の作成したNT-proBNP (Rocheより配布されている)とBNP (塩野義)の換算表を参考にしてほしい (希望者はRocheに請求してください)。NT-proBNPは血中半減期が長いこと、血清で測定が出来るために日常診療での追加オーダーが容易に可能であり、大量の集団を測定する健康診断においても血清の安定性が高い優れた側面を持っている。また、腎からのみの排泄のために腎不全でも上昇するので生体の異常を見つけるスクリーニング目的ではシングルマーカーでデュアルファンクション有するマーカーとして今後の使用が期待される。今回はBNPとNT-proBNPを同時に測定したいいわゆる健常集団と患者集団双方において換算表作成にともなう両者の血中分子数の変化について検討した結果、患者群では血中濃度の上昇に伴いNT-proBNPpmol/Lの分子数が増えることが判明した。しかし一方、健康診断受診者群では全体的に濃度が低い対象を扱っているためかBNPによるsubgroup化群とNT-proBNPによるsubgroup化群で一見矛盾するデータが出たため低濃度では確実な結論は出すことができなかった。患者群では明らかに

NT-proBNPpmol/L/BNPpmol/Lの比が統計学的にsubgroup3, subgroup4で有意に高い値を示すことが明らかになった。つまりNT-proBNPはより重症心不全例でBNPよりも血中濃度が増加することが証明された。この機序に関しては推測の域を出ないがNT-proBNPの半減期が約5倍程度長いことおよび重症心不全例では腎前性腎不全の合併例が多いことも部分的に濃度の増加に関与しているのではと推測している。この両者のバイオマーカーの解離する時点は心不全の重症化のターニングポイントを示す可能性が考えられる。このことに関してはさらなる臨床研究が必要と考える。住民健康診断群では一見矛盾する結果であったがこれは正常に近い低値例では一定の結論が出しにくいということを意味している可能性が考えられる。この点に関しては更なる検討が必要である。

4. 学会機関誌もしくは学会への関連論文(演題)発表状況 (2007-2008)

論文発表

- 1) Hashimoto M, Shahdat HM, Katakura M, Tanabe Y, Gamoh S, Miwa K, Shimada T, Shido O. Effects of docosahexaenoic acid on in vitro amyloid beta peptide 25-35 fibrillation. Biochim Biophys Acta. 2009;1791(4):289-96
- 2) Takahashi N, Shimada T, Tanabe K, Yoshitomi H, Murakami Y, Ishibashi Y, Kikkawa R, Yano S, Araki A, Inoue A. Steroid-induced crisis and rhabdomyolysis in

- a patient with pheochromocytoma: A case report and review. *Int J Cardiol.* 2009 [Epub ahead of print]
- 3) Takahashi N, Shimada T. Author's reply: What is a true definition of MELAS? *Int J Cardiol.* 2008 [Epub ahead of print]
 - 4) Hashimoto M, Shahdat HM, Yamashita S, Katakura M, Tanabe Y, Fujiwara H, Gamoh S, Miyazawa T, Arai H, Shimada T, Shido O.
Docosahexaenoic acid disrupts in vitro amyloid beta(1-40) fibrillation and concomitantly inhibits amyloid levels in cerebral cortex of Alzheimer's disease model rats. *J Neurochem.* 2008;107(6):1634-46. Epub 2008
 - 5) Ishibashi Y, Takahashi N, Tokumaru A, Karino K, Sugamori T, Sakane T, Kodani N, Kunizawa Y, Yoshitomi H, Sato H, Oyake N, Murakami Y, Shimada T. Activation of inducible NOS in peripheral vessels and outcomes in heart failure patients. *J Card Fail.* 2008 ;14(9):724-31. Epub 2008 Aug 9.
 - 6) Takahashi N, Shimada T, Ishibashi Y, Yoshitomi H, Sugamori T, Sakane T, Sato H, Oyake N, Murakami Y. The pitfall of coagulase-negative staphylococci A case of *Staphylococcus lugdunensis* endocarditis. *Int J Cardiol.* 2008 [Epub ahead of print]
 - 7) Oyake N, Shimada T, Murakami Y, Ishibashi Y, Satoh H, Suzuki K, Matsumory A, Oda T. Hepatitis C virus infection as a risk factor for increased aortic stiffness and cardiovascular events in dialysis patients. *J Nephrol.* 2008 ;21(3):345-53
 - 8) Akiyama Y, Moritake K, Miyazaki T, Kowari K, Sato H, Shimada T. Cutting balloon angioplasty for carotid artery in-stent stenosis supported by three-dimensional rotational angiography with automated vessel analysis software. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2008;48(5):235-8; discussion 238.
 - 9) Ishibashi Y, Takahashi N, Tokumaru A, Karino K, Sugamori T, Sakane T, Yoshitomi H, Sato H, Oyake N, Murakami Y, Shimada T. Effects of long-term nicorandil administration on endothelial function, inflammation, and oxidative stress in patients without coronary artery disease. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008 Mar;51(3):311-6
 - 10) Takahashi N, Shimada T, Ishibashi Y, Yoshitomi H, Oyake N, Murakami Y, Nishino I, Nonaka I, Goto YI, Kitamura J. Marked left ventricular hypertrophy in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes. *Int J Cardiol.* 2007 [Epub ahead of print]
 - 11) Takahashi N, Shimada T, Ishibashi Y, Oyake N, Murakami Y. Transient elevation of serum tumor markers in a patient with hypothyroidism. *Am J Med Sci.* 2007 ;333(6):387-9. PubMed PMID: 17570994.