

# アンジオポエチン様因子に着目した、透析患者における心血管疾患発症予測マーカー開発

森永 潤

熊本大学病院総合臨床研究部

key words : 血液透析, 血管老化, アンジオポエチン様因子 2

## 要 旨

血液透析患者は心血管疾患 (cardiovascular disease; CVD) 発症リスクが高く、予後不良である。血液透析患者の CVD 発症には血管老化フェノタイプが強く関与することから、動脈の硬さ指標である Cardio Ankle Vascular Index (CAVI) は临床上重要なパラメーターである。本横断研究では、血中 angiopoietin-like protein (ANGPTL) 2 濃度と CAVI の関連を横断的に解析し、当該分子の血中濃度が心血管疾患発症予測マーカーとなる潜在性を有するかを検討した。その結果、血中 ANGPTL2 濃度は年齢および性別による調整下で CAVI と正に関連していた。血中 ANGPTL2 濃度は透析患者における CVD リスク指標である CAVI と正の関連を有する。血中 ANGPTL2 濃度は CVD リスク指標となる可能性がある。

## 1 目 的

慢性腎臓病は世界における重要な健康問題の一つであるが、その終末期には多くの患者が血液透析による腎代替療法を必要とする。血液透析患者は健常者にくらべ予後が不良であることが知られており、その要因の大部分は心不全などの心血管疾患 (cardiovascular disease; CVD) である。透析患者における CVD 発症には、動脈石灰化などの血管老化フェノタイプが強く関与することから、動脈の硬さ指標である Cardio Ankle Vascular Index (CAVI) は临床上重要なパラメーターである<sup>1-5)</sup>。

アンジオポエチン様因子 (angiopoietin-like protein; ANGPTL) は、血管新生作用などで知られる angiopoietin に構造が類似するものの、その特異的受容体である Tie1 や Tie2 に結合しない分泌蛋白ファミリーである。申請者らはこれまでの基礎的検討から、局所組織において過剰に産生・分泌された ANGPTL2 が慢性炎症を惹起し、メタボリック症候群、動脈硬化、腹部大動脈瘤、がん、慢性腎臓病において、疾患発症および進展に重要な役割を担うことを明らかにしてきた<sup>6-10)</sup>。また、ANGPTL2 は分泌蛋白であり、病変部位における産生の程度が血中濃度に反映されることから、バイオマーカーへの応用が可能である。申請者らの所属するグループは久山町研究室との共同研究により、一般住民において、血中 ANGPTL2 濃度高値が新規の糖尿病発症および心血管疾患発症リスク上昇と関連することを明らかにしてきた<sup>11,12)</sup>。

このような背景から、申請者は熊本県において血液維持透析患者を対象とした横断研究を行い、血中 ANGPTL2 濃度と CAVI の関連を解析し、当該分子の血中濃度が心血管疾患発症予測マーカーとなる潜在性を有するかを検討した。

## 2 方 法

本研究は、熊本県にある透析クリニック 5 施設における成人の維持血液透析患者 412 名を対象とした横断研究である。書面によるインフォームドコンセントにより同意を得た対象者のみを登録した。なお、本研究はヘルシンキ宣言および「人を対象とする医学系研究

に関する倫理指針」に基づき、熊本大学生命科学研究部の承認を得て行われた。登録者のうち欠損値を含む対象者をリストワイズ除去し、欠損値のない367名を解析対象者とした。

対象者血清のANGPTL2濃度は、Human ANGPTL2 Assay Kit (Immuno-Biological Laboratory., Gunma, Japan) を用い、取扱説明書に準じて二重に測定した平均値を解析に用いた。

統計解析においては、単変量解析で連続変数どうしの相関を評価するさいには Spearman 相関係数を用い、カテゴリー別の連続変数を比較するさいには Mann Whitney U test を用いた。また、性および年齢を交絡因子として調整する目的で、一般化線形モデルを用いた多変量解析を行った。血中 ANGPTL2 濃度は右に袖を引く分布をとることから、統計解析では自然対数変

換した値を用いた。なお、解析には STATA MP 15.0 (College Station, TX, US) を用いた。

### 3 結果と考察

本研究における解析対象者の背景は以下の通りであった。年齢は中央値 65 歳、四分位範囲 (58, 74)、女性性は 232 名 (63%)、CAVI は中央値 9.4、四分位範囲 (8.3, 10.5)、血中 ANGPTL2 濃度は中央値 3.3 ng/ml、四分位範囲 (2.5, 4.0) であった。

本研究対象者において、まず CAVI と年齢や性別の関連に着目した検討を行った。CAVI は年齢と正に関連し、女性で有意に低値であった (図 1)。次に、血中 ANGPTL2 濃度と年齢や性別の関連性に着目した検討を行った。血中 ANGPTL2 濃度は年齢と正に関連し、男女で有意な差を認めなかった (図 2)。さらに、年

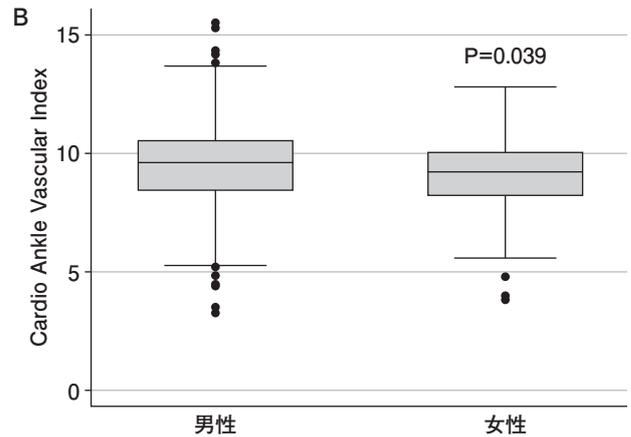
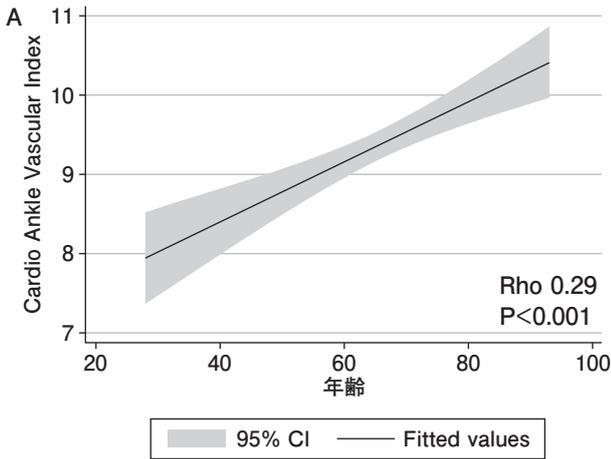


図 1 年齢および性別と CAVI の関連

(A) 年齢と CAVI の関連. Rho, Spearman 相関係数. P, P 値. (B) 性別と CAVI の関連. P, P 値 (Mann Whitney U test).

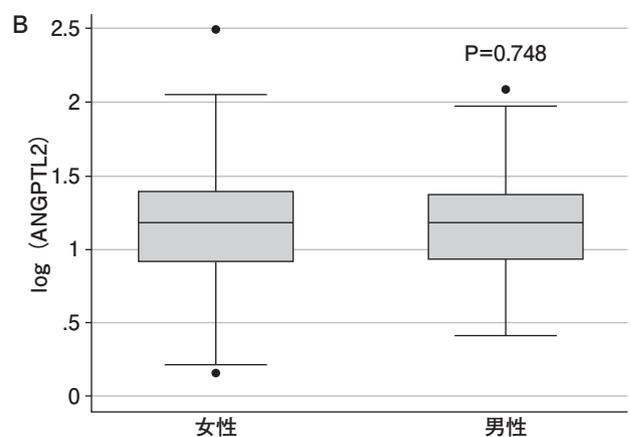
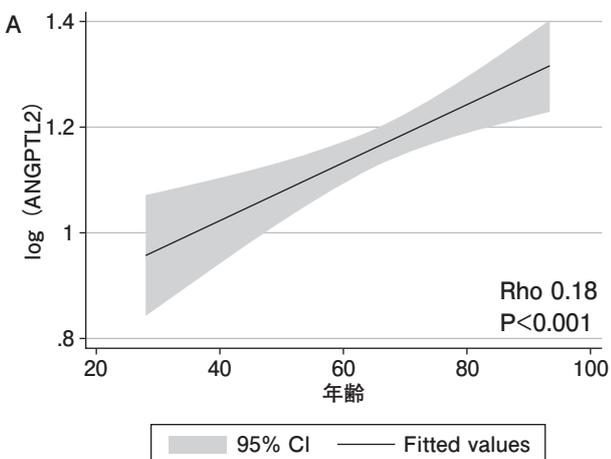


図 2 年齢および性別と血中 ANGPTL2 濃度の関連

(A) 年齢と ANGPTL2 の関連. Rho, Spearman 相関係数. P, P 値. (B) 性別と ANGPTL2 の関連. P, P 値 (Mann Whitney U test). ANGPTL2 は自然対数を使用し解析に用いた。

表1 Cardio Ankle Vascular Index と年齢, 性別, 血中 ANGPTL2 濃度の関連 (一般化線形モデル)

	回帰係数	95% 信頼区間	P 値
年齢	0.04	(0.02, 0.05)	<0.001
女性	-0.54	(-0.92, -0.17)	0.005
ANGPTL2 <sup>†</sup>	0.64	(0.12, 1.16)	0.017

† ANGPTL2 は自然対数を使用し解析に用いた。

年齢, 性別, 血中 ANGPTL2 濃度を説明変数として多変量解析を行った結果, CAVI に対し年齢は正に関連し, 女性では負に関連し, ANGPTL2 とは正に関連しており, いずれも有意であった (表1)。

本研究の結果から, 透析患者における CAVI は年齢と正に関連しており, CAVI は透析患者における老化フェノタイプ指標である可能性が示唆された。申請者らが着目した ANGPTL2 と CAVI の正の関連性は, 年齢および性別による調整下でも有意であり, 血中 ANGPTL2 濃度高値が血管老化フェノタイプを介した CVD リスクとなる可能性が示唆された。CAVI は CVD リスク指標となるだけでなく, 透析患者の死亡リスクとも関連することから, 血中 ANGPTL2 濃度が透析患者における死亡リスクと関連しているのかもしれない。今後もさらなる検討を重ね, 透析患者における血中 ANGPTL2 濃度と様々なアウトカムの関連性を明らかにしていく必要がある。

#### 4 結論

血中 ANGPTL2 濃度は, 透析患者における CVD リスク指標である CAVI と正の関連を有する。血中 ANGPTL2 濃度は CVD リスク指標となる潜在性を有する。

#### 謝辞

本研究の一部は平成 28 年度日本透析医会公募研究助成による御支援を得て行われました。また, 本研究により得られた成果は, 近日中に原著論文として査読つき英文医学誌に投稿予定であるため, 二重投稿となることを避け, 本報告書ではその概要を総説的に記載させて頂きました。

また本研究は, 熊本大学大学院生命科学研究部腎臓内科学の向山政志教授, 同大学大学院生命科学研究部分子遺伝学の尾池雄一教授, 山梨大学第 3 内科の北村健一郎教授との共同研究であり, 多くの貴重なご助言・ご助力を賜りました。ここに深く感謝申し上げます。

申告すべき COI なし。

#### 文献

- 1) Shirai K, Utino J, Otsuka K, et al. : A novel blood pressure-independent arterial wall stiffness parameter; cardio-ankle vascular index (CAVI). *J Atheroscler Thromb* 2006; 13 : 101-107.
- 2) Mizuguchi Y, Oishi Y, Tanaka H, et al. : Arterial stiffness is associated with left ventricular diastolic function in patients with cardiovascular risk factors : early detection with the use of cardio-ankle vascular index and ultrasonic strain imaging. *J Card Fail* 2007; 13 : 744-751.
- 3) Kato A, Takita T, Furuhashi M, et al. : Brachial-ankle pulse wave velocity and the cardio-ankle vascular index as a predictor of cardiovascular outcomes in patients on regular hemodialysis. *Ther Apher Dial* 2012; 16 : 232-241.
- 4) Shanahan CM : Mechanisms of vascular calcification in CKD-evidence for premature ageing? *Nat Rev Nephrol* 2013; 9 : 661-670.
- 5) Kooman JP, Kotanko P, Schols AM, et al. : Chronic kidney disease and premature ageing. *Nat Rev Nephrol* 2014; 10 : 732-742.
- 6) Tabata M, Kadomatsu T, Fukuhara S, et al. : Angiotensin-like protein 2 promotes chronic adipose tissue inflammation and obesity-related systemic insulin resistance. *Cell Metab* 2009; 10 : 178-188.
- 7) Aoi J, Endo M, Kadomatsu T, et al. : Angiotensin-like protein 2 accelerates carcinogenesis by activating chronic inflammation and oxidative stress. *Mol Cancer Res* 2014; 12 : 239-249.
- 8) Horiguchi H, Endo M, Miyamoto Y, et al. : Angiotensin-like protein 2 renders colorectal cancer cells resistant to chemotherapy by activating spleen tyrosine kinase-phosphoinositide 3-kinase-dependent anti-apoptotic signaling. *Cancer Sci* 2014; 105 : 1550-1559.
- 9) Odagiri H, Kadomatsu T, Endo M, et al. : The secreted protein ANGPTL2 promotes metastasis of osteosarcoma cells through integrin alpha5beta1, p38 MAPK, and matrix metalloproteinases. *Sci Signal* 2014; 7 : ra7.
- 10) Morinaga J, Kadomatsu T, Miyata K, et al. : Angiotensin-like protein 2 increases renal fibrosis by accelerating transforming growth factor-beta signaling in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016; 89 : 327-341.
- 11) Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, et al. : Angiotensin-like protein 2 and risk of type 2 diabetes in a general Japanese population : the Hisayama study. *Diabetes Care* 2013; 36 : 98-100.
- 12) Hata J, Mukai N, Nagata M, et al. : Serum Angiotensin-Like Protein 2 Is a Novel Risk Factor for Cardiovascular Disease in the Community : The Hisayama Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016; 36 : 1686-1691.