

急性心不全に対する網羅的蛋白質解析による 新規創薬ターゲット及びバイオマーカーの同定

【背景】心不全は多様な症候群であり新規治療開発のために疾患発症機序の解明が重要である。近年抗体やアプタマーを用いたプロテオーム解析が可能となり、少量のサンプルから多数の蛋白質を同定することが可能となり、病態解明に寄与することが期待されている。本研究では、網羅的蛋白質解析の基盤となるデータベースを構築することと、拡張型心筋症における網羅的蛋白質解析を行うことで、心筋症特異的なシグナルを同定することである。

【方法】網羅的蛋白質解析を行うための多施設前向き急性心不全コホート JROADHF-NEXT を構築し、拡張型心筋症の血清を用いて網羅的蛋白質解析を行った。

【結果】JROADHF-NEXT に登録された 4,016 症例の内 528 例が拡張型心筋症であった。この内 436 症例の血清を保管しており、150 症例を無作為に抽出し網羅的蛋白質解析を行った。心血管死亡 / 心不全入院と BNP, RAGE, REN, FGF-23 が有意に関連していた。REN と BNP 間には強い相関関係は認めず、これら 4 蛋白質を組み込んだ多変量解析においても、REN は BNP と独立して予後不良と関連していた。

【結論】REN は拡張型心筋症において心血管死亡 / 心不全入院と関連していた。

※ ※ ※ ※ ※
 円山 信之 松島 将士 絹川真太郎 井手 友美 遠山 岳詩
 ※※ ※※※
 瀬戸山大樹 伊藤 薫

緒 言

心不全は主たる死因の 1 つであるが、多様な症候群であり、他分野と比較して治療開発が遅れている。我々は近年日本人 20 万人を超える心不全ゲノムワイド関連解析を行い、HFrEF (heart failure with reduced ejection fraction) は HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction) と比較し、より均一な疾患群であり、多くの遺伝子シグナルが同定出来ることを報告した¹⁾。このことは蛋白質プロファイルについ

ても同様に HFrEF では特異的なシグナルが見つかる可能性を示唆している。拡張型心筋症は心不全の主たる原因であり、心不全入院や突然死を引き起こすため、正確な診断・予後予測・正確な治療介入が不可欠である。このためには心筋症で特異的に生じているシグナルや新規バイオマーカーの同定が必要である。しかし生体内では多くの蛋白質が複雑に作用しており、これらの同定は容易ではない。以前までは質量分析により網羅的蛋白質解析が行われてきたが、スループットが低い点が問題であった。近年では抗体やアプタマーを基盤とした網羅的蛋白質解析が可能となり、少量のサンプルから複数の蛋白質を同定出来るようになった。

目 的

本研究では、網羅的蛋白質解析の基盤となるデータ

※九州大学大学院医学研究院 循環器内科学
 ※※九州大学病院 検査部
 ※※※理化学研究所 生命医科学研究センター
 循環器ゲノミクス・インフォマティクス
 研究チーム

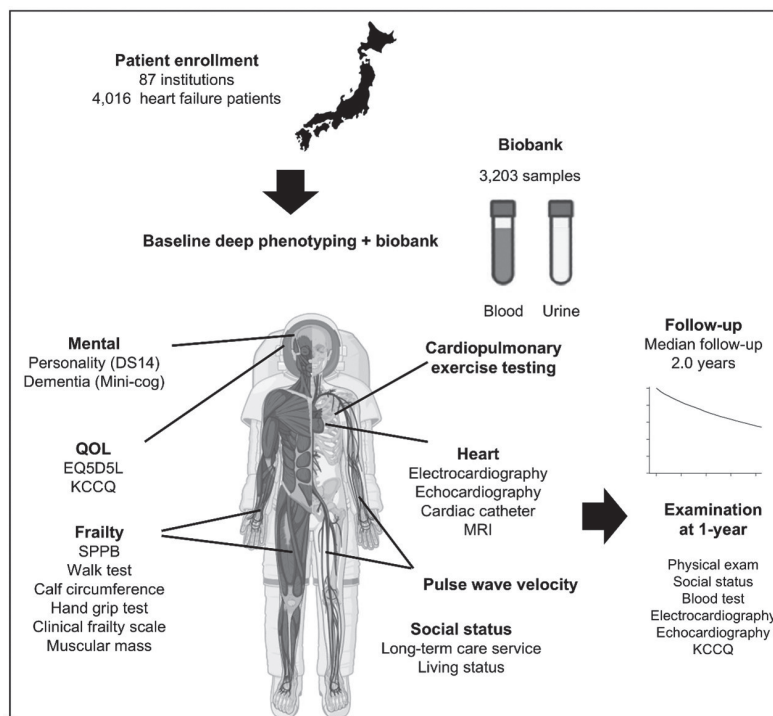


図1 JROADHF-NEXT 概要

ベースを構築し、急性心不全症例の中でも、特に拡張型心筋症における網羅的蛋白質解析を行うことで、心筋症特異的なシグナルを同定することを目的とした。

方法

まず我々は網羅的蛋白質解析を行うためのデータベース JROADHF-NEXT を構築する (UMIN ID: UMIN000036592)。JROADHF-NEXT の組入基準は (1) 治療を要する急性心不全入院 (2) 心不全の診断基準が日本循環器学会心不全ガイドライン 2011 に準拠する (3) 20 歳以上 (4) インフォームドコンセントが得られることであり、除外基準は (1) 心移植 (2) 冠動脈血行再建術を必要とする急性冠症候群 (3) 入院死亡 (4) 担当医が不適切と判断した場合である。患者は 2019 年 2 月から 2021 年 6 月まで登録した。患者背景に加え (i) 心臓関連検査 (心電図・心エコー・心臓カテーテル・心臓 MRI) (ii) 心肺運動負荷試験 (iii) 脈波伝播速度 (iv) 精神状況 (DS14, Mini-cog) (v) QOL (Eq5D5L, KCCQ) (vi) Frailty (SPPB, 6 分間歩行距離, 握力, 筋重量, Clinical Frailty Scale) (vii) 生活状況 (独居か否か, 介護申請の有無) を含め包括的にデータを

収集した (図 1)。

これらの情報の内一部は 1 年後追跡期間においても収集し、更に DPC 情報を収集した。更に同意を得られた場合には血清・尿サンプルを収集し、九州大学の冷凍庫にて管理した。拡張型心筋症で血清サンプルを収集したサンプルの中から、ランダムに症例を抽出した。蛋白質は Olink 社 Olink 96 CVD II パネルを使用した。本研究での主要評価項目は心血管死亡 + 心不全入院の複合アウトカムとした。各蛋白質の値は年齢・性別を Regress out した後に Inverse rank normalization を行った主要評価項目に対し、年齢・性別を調整したコックス回帰分析を行った。有意水準は False discovery rate < 0.05 とした。有意になった蛋白質同士の相関関係を Spearman の順位相関係数で計測した。また蛋白質の予後に与える独立性を調査するために、年齢・性別に加え、有意となった 4 つをコックス回帰分析に組み込み多変量解析を行った。

結果

JROADHF-NEXT に登録された 4,016 症例の内、拡張型心筋症は 528 症例であった (図 2)²⁾、この内

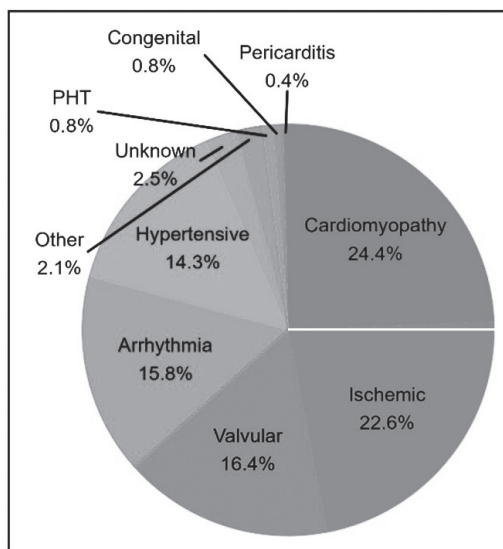


図2 心不全原因の内訳

436 症例の血清を保管していたため、150 症例を無作為に抽出し、網羅的蛋白質解析を行った。心血管死亡 / 心不全入院と有意に相関する蛋白質として BNP, RAGE, REN, FGF-23 が統計学的に有意であった (図 3)。REN と BNP 間には相関関係は認められなかった (図 4)。これら 4 蛋白質を組み込んだ多変量解析においても、REN は BNP と独立して予後不良と関連していた。

結 論

既に広く臨床現場で用いられている BNP の他に

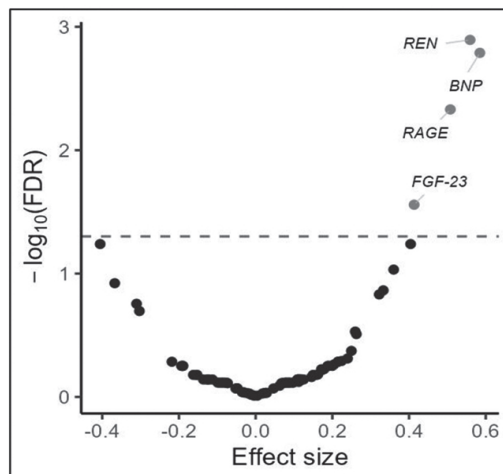


図3 心血管死亡 / 心不全入院への各蛋白質の影響
各ドットそれぞれの蛋白質を意味する。X 軸は効果量 (log(ハザード比)) で Y 軸が $-\log_{10}(\text{FDR})$ である。
赤のドットは統計学的有意 (FOD < 0.05) となった蛋白質である。FOD : False discovery rate

REN が予後不良と関連していた。REN と BNP 間には相関関係はなく、多変量解析においても BNP とは独立した予後規定因子であることから、新規バイオマーカーとなる可能性がある。FGF-23 は過去の報告において、HFrEF (heart failure with reduced ejection fraction) の発症との関連が報告されている。しかし、拡張型心筋症を発症した症例において予後予測に有用である報告はない³⁾。RAGE は冠動脈疾患との関連を示唆されている⁴⁾、冠動脈疾患と関連のない拡張型心筋症の予後予測に重要であることは報告さ

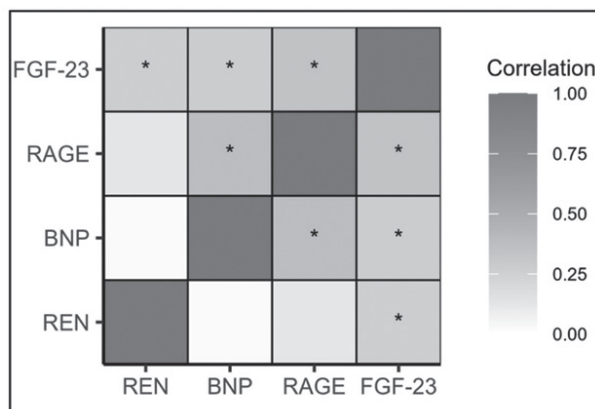


図4 Inverse rank normalization 後の蛋白質同士の相関関係。図は Pearson の相関係数を示している。
*は $P < 0.05$ となったペアである。

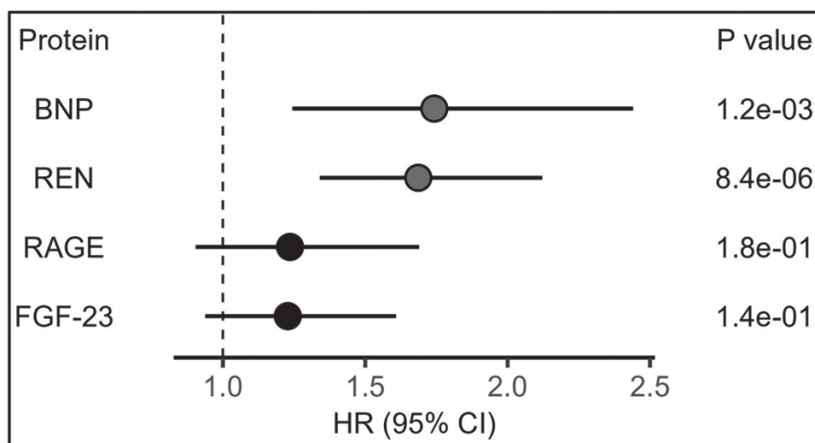


図5 年齢・性別に加え、図4で有意になった4つの蛋白質をモデルに組み込んだコックス回線分析の結果を示す。赤の塗りつぶしはP<0.05となった蛋白質出ある。

れていない。これらの蛋白質は拡張型心筋症例にとって新規のバイオマーカーとなる可能性がある。今後更に対象症例を増やすことにより、更なるバイオマーカーが同定される可能性がある。

結 論

本研究により、拡張型心筋症の新規バイオマーカー候補となる蛋白質を同定した。今後これらの蛋白質を用いたリスクモデルを構築し、既存の予後予測モデルと比較する予定である。

謝 辞

本研究はJROADHF-NEXTに参加された患者様、登録にご協力頂いた協力施設の先生方の基に可能となりました。この場をお借りして深く感謝申し上げます。

文 献

1) Nobuyuki Enzan, Kazuo Miyazawa, Satoshi Koyama, Ryo Kurosawa, Hirotake Ieki, Hiroki Yoshida, Fumie Takechi, Masashi Fukuyama, Ryosuke Osako, Kohei Tomizuka, et al. Genome-wide analysis of heart failure yields insights into disease biological heterogeneity and enables prognostic prediction in the Japanese population. *Genome-wide analysis of heart failure yields insights into disease heterogeneity and enables prognostic prediction*

in the Japanese population. *Nat Commun* 16, 9680 (2025)

2) Nobuyuki Enzan, Takeshi Tohyama, Tatsuya Watanabe, Takuya Nagata, Eri Noda, Yoshitomo Tsutsui, Masataka Ikeda, Takafumi Sakamoto, Shouji Matsushima, Yuya Matsue, et al. *J Cardiol*. 2025 Online ahead of print

3) S. Heleen Binnenmars, Georgette E. Hoogslag, Stanley M. H. Yeung, Frank P. Brouwers, Stephan J. L. Bakker, Wiek H. van Gilst, Ron T. Gansevoort, Gerjan Navis, Adriaan A. Voors, Martin H. de Borst. Fibroblast Growth Factor 23 and Risk of New Onset Heart Failure With Preserved or Reduced Ejection Fraction: The PREVEND Study. *J Am Heart Assoc*. 2022;11:e024952.

4) Sergio Raposeiras-Roubín, Bruno K Rodiño-Janeiro, Lilian Grigorian-Shamagian, María Moure-González, Ana Seoane-Blanco, Alfonso Varela-Román, Ezequiel Alvarez, José R González-Juanatey. Soluble receptor of advanced glycation end products levels are related to ischaemic aetiology and extent of coronary disease in chronic heart failure patients, independent of advanced glycation end products levels: New Roles for Soluble RAGE. *Eur J Heart Fail*. 2010;12(10):1092-100

THE PROTEOMICS ANALYSIS FOR ACUTE HEART FAILURE

※ ※ ※ ※
Nobuyuki ENZAN, Shouji MATSUSHIMA, Shintaro KINUGAWA, Tomomi IDE,
※ ※ ※ ※ ※ ※ ※ ※ ※ ※
Takeshi TOHYAMA, Daiki SETOYAMA, Kaoru ITO

※ Department of Cardiovascular Medicine, Faculty of Medical Sciences,
Kyushu University

※※ Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine,
Kyushu University Hospital

※※※ Laboratory for Cardiovascular Genomics and Informatics, RIKEN
Center for Integrative Medical Sciences

[Background] Heart failure is a heterogeneous syndrome, and elucidation of its underlying pathophysiological mechanisms is essential for the development of novel therapeutic strategies. Recent advances in proteomic technologies using antibodies and aptamers have enabled the identification of a large number of proteins from small sample volumes, which is expected to contribute to a deeper understanding of disease mechanisms. The aims of this study were to construct a database serving as a foundation for comprehensive proteomic analyses and to identify cardiomyopathy-specific signals through large-scale proteomic profiling in patients with dilated cardiomyopathy (DCM).

[Methods] We established the multicenter, prospective acute heart failure cohort, JROADHF-NEXT, to facilitate comprehensive proteomic analyses, and performed large-scale proteomic profiling using serum samples from patients with DCM.

[Results] Among the 4,016 patients enrolled in JROADHF-NEXT, 528 were diagnosed with DCM. Serum samples were available for 436 of these patients, and 150 patients were randomly selected for comprehensive proteomic analysis. Cardiovascular death or hospitalization for heart failure was significantly associated with levels of BNP, RAGE, renin (REN), and fibroblast growth factor 23 (FGF-23). No strong correlation was observed between REN and BNP. In multivariable analyses incorporating these four proteins, REN remained independently associated with adverse outcomes, irrespective of BNP levels.

[Conclusions] REN was significantly associated with cardiovascular death or heart failure hospitalization in patients with dilated cardiomyopathy.