

An oxidative stress biomarker,
urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine,
predicts cardiovascular-related death
after steroid therapy for patients with
active cardiac sarcoidosis

(ステロイド治療を施行した心サルコイドーシ
ス患者における酸化ストレスマーカー尿中
8-hydroxy-2'-deoxyguanosine の心血管死の
予後予測因子としての有効性に関する検討)

氏名 明連 武樹

所属 山口大学大学院医学系研究科
応用医工学系専攻

平成28年 12月

目次

1.	要約	・・・ 1
2.	序章	・・・ 2
3.	方法	・・・ 3
4.	結果	・・・ 6
5.	考察	・・・ 11
6.	まとめ	・・・ 14
7.	謝辞	・・・ 14
8.	参考文献	・・・ 15
9.	表	・・・ 18

1. 要約

【背景】これまで我々は酸化ストレスマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)の産生が心サルコイドーシス患者の心筋組織において亢進しており、8-OHdG の尿中濃度が心サルコイドーシスの診断および炎症の活動性の評価、さらにはステロイド治療の効果判定にも有用であるとの報告を行ってきた。

【目的】尿中 8-OHdG が、 ^{18}F -FDG PET/CTにて活動性陽性と判断し、ステロイド治療を行った心サルコイドーシス患者の予後予測因子として有用かどうかについて検討を行った。

【方法】心サルコイドーシス診断基準（2006 年度改訂版）にて心サルコイドーシスと診断され、当院入院となった 30 症例を対象に、 ^{18}F -FDG PET/CT を施行して炎症の活動性を評価するとともに、尿中 8-OHdG、血漿 BNP をはじめ、心機能、腎機能、炎症のマーカーとなる項目の値を測定した。活動性が確認された症例に対してはステロイド治療を行った上で、その後の心血管死の有無を観察した。平均観察期間は 4 年であった。

【結果】 ^{18}F -FDG PET/CTにて炎症の活動性が確認された症例は 20 例であった。うち 19 例に対してステロイド治療を行ったが、7 例で心血管死に至った。19 例のうち、心血管死群(n=7)では、生存群(n=12)と比較して、尿中 8-OHdG は有意に増加した(心血管死群 $24.3 \pm 4.6 \text{ ng/mg} \cdot \text{Cr}$ vs 生存群 $16.4 \pm 5.5 \text{ ng/mg} \cdot \text{Cr}$, $P < 0.01$)。前記の測定項目に関して多変量解析を行ったところ、尿中 8-OHdG は心血管死の独立した予後規定因子であった。ROC 解析を行ったところ、尿中 8-OHdG のカットオフ値は $19.1(\text{ng/mg} \cdot \text{Cr})$ (感度=1.00, 特異度=0.833, AUC=0.869) であり、尿中 8-OHdG $\geq 19.1(\text{ng/mg} \cdot \text{Cr})$ 群と尿中 8-OHdG $< 19.1(\text{ng/mg} \cdot \text{Cr})$ 群の 2 群に分けて Kaplan-Meier 法にて予後を比較検討したところ、前者が有意に予後不良であった($p < 0.01$)。

【結語】 ^{18}F -FDG PET/CTにて活動性陽性と判断し、ステロイド治療を行った心サルコイドーシス患者において、尿中 8-OHdG は予後予測因子として有用である可能性が示唆された。

2. 序章

サルコイドーシスは、T細胞集積、単核食細胞系、非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を特徴とする原因不明の全身性多臓器性疾患である。¹⁻³ 其中で、心サルコイドーシスの予後は心不全、高度房室ブロック、心室頻拍、心室細動といった疾患を合併するため、非常に悪い。⁴⁻⁸

心サルコイドーシスの活動性が亢進している際に、心筋細胞内で活性酸素種(ROS)産生システムが亢進すると、ROSによりDNAの2'-Deoxyguanosineが酸化を受け、8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosineへと変化する。酸化DNAは修復酵素によって修復されるが、この際に8-OHdGはDNAから切り離され、尿中へと排泄される。⁹⁻¹⁷ 最近、我々は尿中8-OHdGが心サルコイドーシスの炎症の活動性を反映していることを報告した。¹⁸ すなわち、(1)心サルコイドーシス患者の剖検にて心臓組織を抗8-OHdG抗体で染色したところ、核が染色されたことから、心サルコイドーシス患者においては心筋組織内で8-OHdGの増加が起きていると考えられること、(2)冠静脈洞の血清8-OHdG濃度が大動脈の血清8-OHdG濃度よりも高値であり、心筋組織にて8-OHdGが産生されていることが示唆されていること、(3)¹⁸F-FDG PET/CTの結果から尿中8-OHdG値は心サルコイドーシスの炎症の活動性に依りて上昇することが明らかになったこと、(4)尿中8-OHdGはステロイド治療に対する反応性を反映したバイオマーカーであることを示している。¹⁸

心サルコイドーシスの患者の予後予測因子に関する報告はいくつかなされているが、心サルコイドーシスに伴う炎症はステロイド治療によって変化することに加え、心サルコイドーシスの病態や範囲も時間経過とともに変化することによりその予後予測は難しい。^{5,19,20} 矢崎らは活動性陽性の心サルコイドーシス患者は陰性の患者と比較して明らかに予後が悪いこと、ステロイド治療は活動性陽性の心サルコイドーシス患者の予後を改善させることを報告している。⁵ Blanksteinらは心サルコイドーシスが疑われる患者において、死亡や心室頻拍といったハイリスクの心イベントとPET/CTにおける¹⁸F-FDGの心筋組織への異常集積やルビジウムシンチにおける灌流域の欠損に明らかな関連が見られることを

報告している。¹⁹ これらの研究は心筋組織内の炎症の活動性が心サルコイドーシス患者の予後の悪さに関係している可能性があることを示唆している。

我々の施設ではサルコイドーシス診断治療ガイドラインに基づき、心サルコイドーシスと診断された時、および心サルコイドーシス患者に重症心不全、致死的不整脈といった合併症が生じ、心筋組織内に¹⁸F-FDGの局所的な集積が見られた時にステロイド治療を行っている。本研究の目的はステロイド治療を受けた活動性陽性の心サルコイドーシス患者における心血管関連の予後予測因子を探求することである。

3. 方法

3.1 対象患者

本研究の対象は、心サルコイドーシスと診断され、当院にて入院加療を行った30症例である。NYHAⅣ度の非代償性心不全の合併、急性冠症候群の合併、悪性腫瘍の合併、感染症、膠原病といった全身炎症性疾患の合併、Cr 2.0 mg/ml以上の重症腎機能障害の合併が認められる症例は今回除外した。

本研究では、心サルコイドーシスは以下の2006年改訂版サルコイドーシス診断治療ガイドラインに基づいて診断を行った。²⁰⁻²²

1. 組織診断群

心筋生検組織標本に非乾酪性肉芽腫が認められ、心臓以外の臓器でも組織診断もしくは臨床診断にてサルコイドーシスと診断された場合、心サルコイドーシスと診断する。

2. 臨床診断群

心筋生検組織標本に非乾酪性肉芽腫は認められないが、心臓以外の臓器でも組織診断もしくは臨床診断にてサルコイドーシスと診断され、下記の主徴候4項目中2項目以上が陽性もしくは主徴候4項目中1項目が陽性で、副徴候5項目中2項目以上が陽性の場合、心サルコイドーシスと診断する。

1) 主徴候：

(a) 高度房室ブロック

(b) 心室中隔基部の菲薄化

(c) Gallium-67 citrate シンチグラフィーもしくは ^{18}F -FDG-PET/CT での心臓への異常集積

(d) 左室収縮不全（左室駆出率 50%未満）

2) 副徴候：

(a) 心電図異常：心室不整脈（心室頻拍，多源性あるいは頻発する心室期外収縮），右脚ブロック，軸偏位，異常 Q 波のいずれかの所見

(b) 心エコー図：局所的な左室壁運動異常あるいは形態異常（心室瘤，心室壁肥厚）

(c) 核医学検査：心筋血流シンチグラフィー（thallium-201 chloride あるいは technetium-99m methoxyisobutylisonitrile, technetium-99m tetrofosmin）での灌流異常

(d) Gadolinium 造影 MRI における心筋の遅延造影所見

(e) 心内膜心筋生検：中等度以上の心筋間質の線維化や単核細胞の浸潤

本研究は山口大学病院の施設内審査委員会より 2008 年 4 月 16 日に承認を受けた。そして、本研究に参加する前に全ての患者に対し、書面によるものも含めてインフォームド・コンセントを行った。

3. 2 標準臨床検査

全患者に 12 誘導心電図、心エコー、 ^{18}F -FDG PET/CT を施行し、 ^{23}Ga シンチ、TI シンチ、Tc シンチ、Gd 造影心臓 MRI の少なくとも 1 つを施行した。²⁴⁻²⁵ 全ての患者にホルター心電図もしくはモニター心電図で不整脈の評価を行った。30 症例全てにおいて、冠動脈の評価を行っており、うち 19 症例では心筋生検も施行した。

3. 3 心サルコイドーシスによる炎症の活動性の評価

ステロイド治療開始前に、同一条件下で全患者に¹⁸F-FDG PET/CTを施行し、全身と心臓の描出を行った。¹⁸患者は¹⁸F-FDGの心臓への集積状態に基づき、活動性陽性群(n=20)と陰性群(n=10)に分類した。

病変における¹⁸F-FDGの取り込みの定量的分析はSUV maxを用いて行った。また、集積の強さを見るためのSUV maxに加えて、集積が起きている範囲の広がりも評価すべく、SUV maxの50%以上の集積を認めた割合(SUV over 50%)および70%以上の集積を認めた割合(SUV over 70%)の算出も行った。

3. 4 活動性陽性の心サルコイドーシス患者に対するステロイド治療のプロトコール

¹⁸F-FDGの心臓組織への異常集積を認め、活動性陽性と判定された20例のうち19例に対してステロイド治療を行った。プレドニゾロン30 mg/dayより開始し、4週間継続、その後6ヶ月以上かけて段階的に減量し、増悪所見を認めなければ、5-10 mg/dayを維持量として継続した。⁸

3. 5 エンドポイントと観察期間

平均観察期間48か月の間に脱落した症例はなかった。主として診療記録、剖検記録、死亡診断書を用いて心血管イベントの出現を確認した。プライマリーエンドポイントは心血管死すなわち心不全の増悪もしくは心臓突然死に定めた。心臓突然死の定義は明確な前駆兆候なしでの死と定めた。

3. 6 8-OHdG および他の神経体液性因子や炎症マーカーの測定方法

血清および尿中8-OHdG濃度は抗8-OHdG抗体を用いたELISA法キットを用いて測定した。¹⁶⁻¹⁸血清IL-6濃度はヒトIL-6ELISAキットおよびヒトIL-6化学発光酵素免疫測定法を用いて測定した。¹⁶⁻¹⁸尿中8-isoprostane濃度は8-isoprostane酵素免疫測定キットを用いて測定した。¹⁶⁻¹⁸尿中濃度の実測値はCr値に基づいて補正を行った。BNPはBNP測定キットを用いて測定した。¹⁶⁻¹⁸

3. 7 剖検を行った2例より得た心臓組織の炎症および線維化に関する組織学的評価

心サルコイドーシスと診断された後、心血管死に至った7症例のうち2症例で剖検を行い、心臓組織の組織学的検査も施行した。左室の中隔、前壁、側壁、後壁および下壁から切り出した標本を10%ホルマリン液で固定したのち、パラフィンで包埋した。ここから4 μ m厚の切片を切り出し、HE染色を行った。これらの組織標本を顕微鏡にて観察した。

3. 8 統計学的分析

全ての結果は平均値±標準偏差(SD)で表記した。カテゴリー変数は頻度とパーセンテージで表し、群間比較は χ^2 検定で行った。尿中8-OHdG、BNP等の測定項目における2群間の差異はMann-Whitney検定で評価した。心血管イベントによる予後予測のため、多変量解析をCoxの比例ハザード分析を用いて、ステップワイズ法にて行った。カットオフ値はROC曲線において、感度、特異度の双方がバランスよく高値となる値として決定された。尿中8-OHdGおよびBNPにおいて、最適なカットオフ値に基づいて患者を2群に分け、それぞれ生存曲線を作成し、Kaplan-Meier解析を行った。2群間の生存曲線の差異はLog-rank検定で評価した。全ての解析はSPSS(第19版)を用いて行った。p<0.05を有意とした。

4. 結果

4. 1 患者背景

表1に全対象患者の検査結果を示した。30例のうち、心筋生検を施行したのは19例であり、うち病理学的に心サルコイドーシスと診断されたのは2例であった。残りの28例は臨床診断に基づき診断された。症例1-20が ^{18}F -FDGの心筋への異常集積および臨床所見、他の画像診断に基づき活動性陽性と診断された一方、症例21-30は活動性陰性と診断された。症例1-19は心室頻拍・高度房室ブロック・心不全といった臨床症状を合併しており、

ステロイド治療を行ったが、症例 20 は患者が希望しなかったことからステロイドは導入しなかった。本研究の症例は症例 6 の 1 症例を除き冠動脈に有意狭窄を認めなかった。心筋生検にて病理学的に心サルコイドーシスと診断されたのは 2 例であった。中央値が 48 か月である観察期間において活動性陽性でステロイド治療を行った 19 症例中 7 症例が心血管死に至った。これに対し、活動性陰性の 10 症例のうち、心血管死に至ったのは 1 症例だけであった。表 2 に全患者の患者背景をまとめた。患者を ^{18}F -FDG の心筋への異常集積の有無によって活動性陰性群と陽性群の 2 群に分類したところ、左室駆出率や尿中 8-OHdG は陰性群と比較して陽性群は有意に高値を示した。

4. 2 ステロイド治療を受けた活動性陽性の心サルコイドーシス患者の転帰に関する特徴

活動性陽性を示した患者に対しては、希望されなかった 1 例を除いた 19 症例に対し、プレドニゾロンの投与を行った。この 1 例は一連の解析からは除外した。活動性陰性群のうち、心血管死に至ったのは 1 症例だけであったのに対し、これらの群のうち、7 症例で心血管死に至った。19 症例中 15 症例でステロイド治療開始前に ICD もしくは CRT-D の植え込み術が施行されていることもあって(表 3)、植え込み施行した 15 症例中 3 例で ICD 作動を認めたにも関わらず、致死的不整脈に起因する突然死は見られなかった。図 1 に代表的な生存症例と心血管死症例の画像診断結果を提示した。表 3 にステロイド治療を受けた活動性陽性の心サルコイドーシス患者における転帰ごとの基本的な特徴を示した。心血管死群と生存群を比較したところ、尿中 8-OHdG, BUN, eGFR, LVDd, 性別において有意差を認めた。一方、PET の SUV 関連の値については両群間に有意差は認めなかった。加えて、尿中 8-OHdG と SUV 関連の値に有意な相関は見られず、BNP と SUV 関連の値についても同様であった。

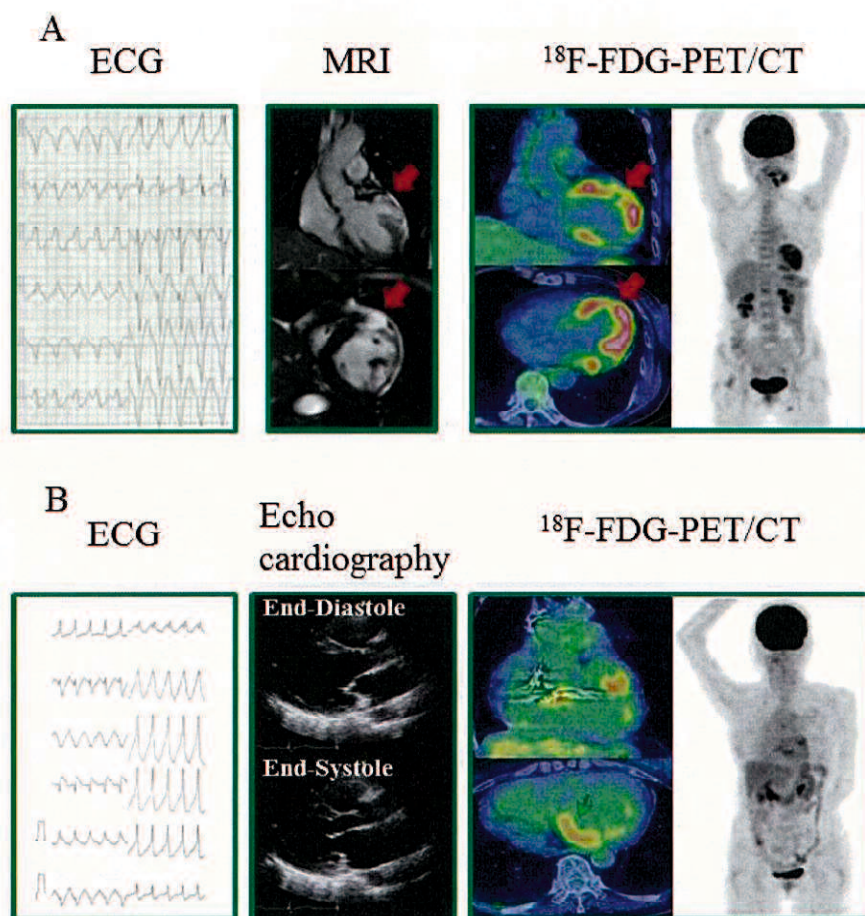


図.1 生存群、心血管死群における典型的な臨床所見

A. 心血管死に至らなかった症例(No.11)の入院時所見：心電図にてVT, 心臓MRIにて左室前壁に心室瘤, ^{18}F -FDG PET/CTにおいて瘤周囲の壁に広く ^{18}F -FDGの異常集積を認める

B. 心血管死に至った症例(No.7)の入院時所見：心電図にてVT, 心エコーにて心室中隔基部の菲薄化, ^{18}F -FDG PET/CTにおいて前壁・後壁に限局した ^{18}F -FDGの異常集積を認める

4. 3 単変量および多変量解析

図4に単変量および多変量解析にて心血管死との関連が示された項目を示した。単変量解析においては、尿中8-OHdG, BNP, BUN, eGFR, LVDDにおいて関連が示された。年齢、性別、BSA, NYHA分類, LVDD, LVEF, BUN, eGFR, 尿中8-OHdG, BNP, CRP, IL-6, SUV over 50%, SUV over 70%, SUV maxについて、多変量解析を行ったところ、最終的に尿中8-OHdGとBNPが心血管死の独立した予後予測因子として残った。

4. 4 心血管死の予後予測因子として尿中 8-OHdG と BNP における最適なカットオフ値の決定

ROC 曲線を用いて、尿中 8-OHdG と BNP における最適なカットオフ値を決定した。尿中 8-OHdG のカットオフ値は 19.1ng/mg・Cr, 感度 100%, 特異度 83.3%であった。一方、BNP のカットオフ値は 209 pg/ml・Cr, 感度 71.4%, 特異度 75.0%であった。

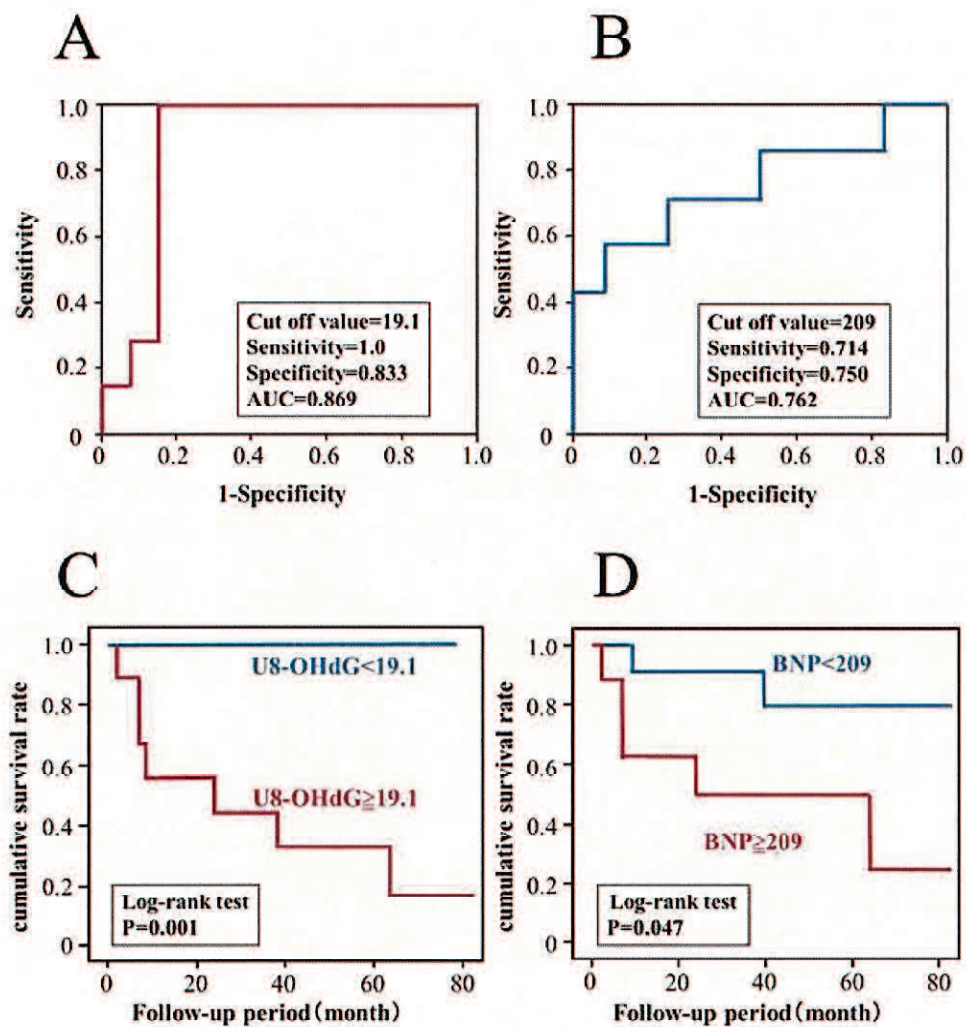


図.2 心血管死の予後予測因子としての尿中 8-OHdG と BNP

- A. 尿中 8-OHdG の ROC 解析:cut off 値 19.1ng/mg・Cr, 感度 100%, 特異度 83.3%
- B. BNP の ROC 解析:cut off 値 209 pg/ml・Cr, 感度 71.4%, 特異度 75.0%
- C. 尿中 8-OHdG が cut off 値 19.1ng/mg・Cr 以上の群と未満の群の Kaplan-Meier 解析
- D. BNP が cut off 値 209 pg/ml・Cr 以上の群と未満の群の Kaplan-Meier 解析

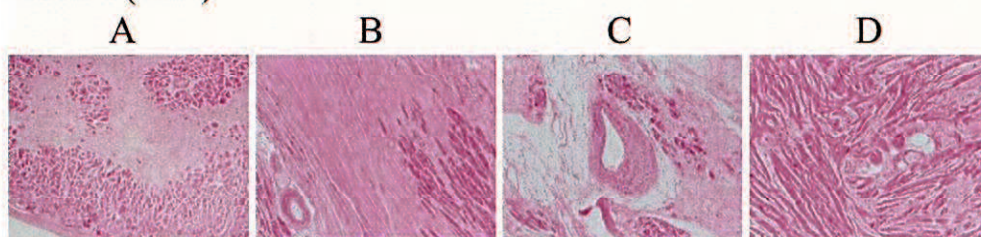
4. 5 尿中 8-OHdG と BNP を用いた Kaplan - Meier 解析

尿中 8-OHdG がカットオフ値(19.1ng/mg・Cr)以上の群と未満の群に分け、Kaplan - Meier 解析を行い、予後を比較検討したところ、尿中 8-OHdG が 19.1 ng/mg・Cr 以上となった群は、未満となった群と比較して Log-rank 検定にて P=0.001 と、有意に予後不良であった。BNP についてもカットオフ値(209 pg/ml・Cr)以上の群と未満の群に分けて、同様に比較検討したところ、209 pg/ml・Cr 以上となった群は、未満となった群と比較して Log-rank 検定にて P=0.047 と、有意に予後不良であった。

4. 6 剖検心における炎症や線維化についての病理学的評価

図 3 に示しているものはステロイド治療を行ったものの心血管死に至り、剖検を行った 2 例の HE 染色した心筋組織標本である。症例 1 および 2 の双方に広範かつ多発した線維化と炎症性の内膜肥厚に伴う筋層内の小細動脈の硬化が見られた。これらの組織学的所見は症例固有の所見ではなく、心サルコイドーシスに特徴的な所見である(図 3A-H)。加えて症例 2 では炎症細胞浸潤を伴った多数かつ広範な線維化が観察され、炎症活動性が未だ高いことが示唆された(図 3E-H)。大変興味深いことに、ステロイド治療開始前の尿中 8-OHdG 濃度は症例 1 で 27.6 ng/mg・Cr、症例 2 で 21.3 ng/mg・Cr と著明な上昇が見られた。

Case 1(No.4)



Case 2(No.3)

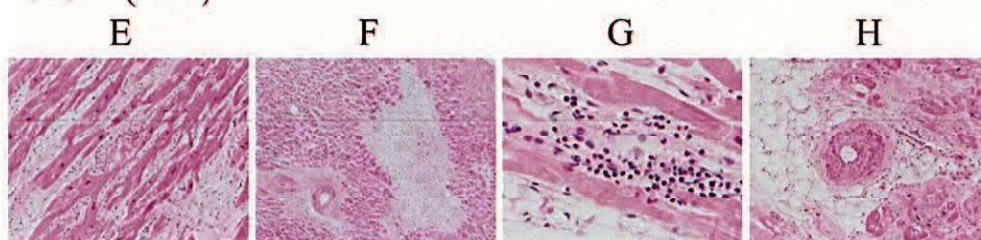


図 3 剖検心における組織学的評価

Case 1 (No.4) (H.E.染色 ×100)

- A. 広範かつ多発した線維化
- B. 癒痕と線維化
- C. 心サルコイドーシスに特徴的な筋層内の小細動脈の炎症性の内膜肥厚
- D. 心筋細胞死に伴う心筋のリモデリングを示す心筋の錯綜

Case 2 (No. 3) (H.E.染色 ×100)

- E. 炎症細胞浸潤と筋細胞溶解
- F. 炎症細胞浸潤と炎症性の内膜肥厚を伴った広範かつ多発した線維化
- G. リンパ球浸潤を伴う急性炎症所見
- H. 筋層内の小細動脈の炎症性の内膜肥厚

5. 考察

5. 1 全体的な見解

本研究におけるもっとも重要な知見は、ステロイド治療を行った活動性陽性の心サルコイドーシス患者において、酸化ストレスマーカーである尿中 8-OHdG が予後予測因子として有用であるということである。このことは、以下の所見から支持される。(1) 観察期間中の心血管死の割合は活動性陽性群の方が陰性群に比べて明らかに高値である(37% vs 10%)。(2) ステロイド治療を行った活動性陽性の心サルコイドーシス患者において、尿中 8-OHdG は心血管死群の方が生存群と比べて高値であったが、NYHA 分類, LVEF, BNP, CRP, TNF α , IL-6, ACE, TnT といった項目については、有意な差は見られなかった。(3) 多変量解析を行ったところ、最終的に尿中 8-OHdG と BNP が心血管死の独立した予後予測因子として残った。(4) 尿中 8-OHdG がカットオフ値(19.1 ng/mg・Cr)以上の群は未満の群と比較して、心血管死のリスクが有意に高値であり、BNP についても同様の結果であったが、ROC 解析の結果から尿中 8-OHdG の方が BNP よりも心血管死の予後予測因子としてより優れていると考えられる。

5. 2 ステロイド治療による予後改善のメカニズム

矢崎らは、ステロイド治療は活動性陽性の心サルコイドーシス患者の予後を改善させることを報告している。⁵ それに加えて、永井らは、ステロイド治療は心血管死や心不全による入院といった重大なイベントを長期にわたって減少させることを示した。⁷ これらの研究によって、ステロイド治療が炎症による心臓組織障害の進行抑制に大きな効果があることが示されている。²⁶ Blankstein らは活動性陽性の心サルコイドーシス患者において、¹⁸F-FDG PET/CTにおける¹⁸F-FDGの心筋組織への異常集積やルビジウムシンチにおける灌流域の欠損が死亡や心室頻拍といったハイリスクの心イベントを予測すること、¹⁹ 心筋の炎症とそれに続発する心筋の障害が予後を悪化させることを明らかにした。我々の研究は尿中 8-OHdG が心筋リモデリング、心不全、不整脈につながる細胞内 Ca²⁺ハンドリングの異常やアポトーシスによる心筋内の酸化ストレスを反映していることを示した。また、NYHA 分類, LVEF, BNP といった項目において、心血管死群と生存群を比較して、有意な差は見られなかったことから、尿中 8-OHdG が高値である患者は低値である患者より、ステロイド治療に抵抗性であることを示している。

5. 3 尿中 8-OHdG の上昇と心筋リモデリング

ステロイド治療を行ったものの心血管死に至った心サルコイドーシス患者のうち剖検を行った 2 例の組織標本では、多発性かつ広範な線維化を認め、炎症性の内膜肥厚による心筋内細小動脈の硬化も認めた(図. 3A-H)。これらの所見から、非乾酪性肉芽腫を認めなくても、病理組織学的に心サルコイドーシスとの診断に至った。³²⁻³⁴ どちらの症例においてもステロイド治療前の尿中 8-OHdG の値は著明に上昇していた。心筋の酸化ストレスの増加は心筋リモデリングの原因であるのか、結果であるのかの判断は困難であるが、心筋の酸化ストレスが強い心サルコイドーシス患者はステロイド治療抵抗性である可能性をこの結果は強く示唆している。それゆえ、心サルコイドーシス患者における尿中 8-OHdG の上昇

は心サルコイドーシスの炎症活動性だけではなく、心筋リモデリングの存在の可能性を示している。

5. 4 ステロイド治療を受けた心サルコイドーシス患者の予後予測に ^{18}F -FDG PET/CT と尿中 8-OHdG を組み合わせることの可能性

^{18}F -FDG PET/CT における心筋組織への ^{18}F -FDG の集積の広がりや強度が心サルコイドーシス患者の心室頻拍や完全房室ブロックといった不整脈の出現に関連していることが、最近報告された。²⁰ しかしながら、炎症の活動性はステロイド治療によって変化するので、ステロイド治療開始前の心筋組織への ^{18}F -FDG の集積の広がりや強度だけで予後予測することは困難であると思われる。したがって、 ^{18}F -FDG PET/CT と尿中 8-OHdG を組み合わせることが、ステロイド治療を受けた心サルコイドーシス患者の予後予測により有用である可能性がある。

5. 5 研究の限界

本研究にはいくつかのリミテーションがある。1 点目は、コホートとして症例数が少なく、活動性陽性で、ステロイド治療を行った心サルコイドーシス患者における尿中 8-OHdG の心血管死における予後予測因子としての有用性を確立するために、今後、さらに大規模な研究が望まれる。2 点目は活動性陽性の患者のうち、7 例で心血管死に至ったが、いずれも重症心不全によるものであり、致死的不整脈による突然死の症例が含まれていないことである。これに関しては、19 例のうち 15 例で ICD もしくは CRT-D の植え込みを行っており、実際に作動した症例もあったことから、これらのデバイスが突然死の予防に寄与したものと考えている。3 点目は心血管死群と生存群の間に性別、eGFR に有意差を認め、また、統計学的に有意ではないものの IL-6 の値にも大きな差異を認めていることである。しかしながら、これらの項目に関しては、多変量解析にて、独立した予後予測因子とはならない

ことを確認しており、本研究に大きな影響はないものとする。²⁸

6. まとめ

¹⁸F-FDG PET/CTにて活動性陽性であり、ステロイド治療を施行した心サルコイドーシス患者において、治療前に測定した尿中 8-OHdG は予後予測因子として有用である可能性が示唆された

7. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ご指導、ご助言いただいた器官病態内科学 矢野雅文教授に感謝申し上げます。また、小林茂樹准教授には、指導教官として、終始ご指導いただき、深謝の意を表します。本研究では、器官病態内科学の多くの先生方にデータ収集から解析まで、ご協力いただきました。ここに改めて感謝の意を表します。

8. 参考文献

1. R.H. Swanton, Sarcoidosis of the heart, *Eur. Heart J.* 9 (Supplement G) (1988) 169–174.
2. M.C. Iannuzzi, B.A. Rybicki, A.S. Teirstein, Sarcoidosis, *N. Engl. J. Med.* 357 (2007) 2153–2165.
3. R.P. Baughman, E.E. Lower, R.M. du Bois, Sarcoidosis, *Lancet* 361 (2003) 1111–1118.
4. Y. Yoshida, S. Morimoto, S. Hiramitsu, N. Tsuboi, H. Hirayama, T. Itoh, Incidence of cardiac sarcoidosis in Japanese patients with high-degree atrioventricular block, *Am. Heart J.* 134 (1997) 382–386.
5. Y. Yazaki, M. Isobe, M. Hiroe, S. Morimoto, S. Hiramitsu, T. Nakano, et al., Prognostic determinants of long-term survival in Japanese patients with cardiac sarcoidosis treated with prednisone, *Am. J. Cardiol.* 88 (2001) 1006–1010.
6. H. Furushima, M. Chinushi, H. Sugiura, H. Kasai, T. Washizuka, Y. Aizawa, Ventricular tachyarrhythmia associated with cardiac sarcoidosis: its mechanisms and outcome, *Clin. Cardiol.* 27 (2004) 217–222.
7. T. Nagai, N. Nagano, Y. Sugano, Y. Asaumi, T. Aiba, H. Kanzaki, et al., Effect of corticosteroid therapy on long-term clinical outcome and left ventricular function in patients with cardiac sarcoidosis, *Circ. J.* 79 (2015) 1593–1600.
8. R. Kandolin, J. Lehtonen, J. Airaksinen, T. Vihinen, H. Miettinen, K. Ylitalo, et al., Cardiac sarcoidosis: epidemiology, characteristics, and outcome over 25 years in a nationwide study, *Circulation* 131 (2015) 624–632.
9. K. Psathakis, G. Papatheodorou, M. Plataki, P. Panagou, S. Loukides, N.M. Siafakas, et al., 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in the expired breath condensate of patients with pulmonary sarcoidosis, *Chest* 125 (2004) 1005–1011.
10. T. Kaneko, S. Tahara, M. Matsuo, Non-linear accumulation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidized DNA damage, during aging, *Mutat. Res.* 316 (1996) 277–285.
11. B.N. Ames, Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer, *Free Radic. Res. Commun.* 7 (1989) 121–128.
12. S. Loft, K. Vistisen, M. Ewertz, A. Tjønneland, K. Overvad, H.E. Poulsen, Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in humans: influence of smoking, gender and body mass index, *Carcinogenesis* 13 (1992) 2241–2247.

13. T. Ide, H. Tsutsui, S. Hayashidani, D. Kang, N. Suematsu, K. Nakamura, et al., Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction, *Circ. Res.* 88 (2001) 529–535.
14. H. Tsutsui, T. Ide, T. Shiomi, D. Kang, S. Hayashidani, N. Suematsu, et al., Oxidative stress mediates tumor necrosis factor- α -induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in cardiac myocytes, *Circulation* 104 (2001) 2883–2885.
15. Y. Kono, K. Nakamura, H. Kimura, N. Nishii, A. Watanabe, K. Banba, et al., Elevated levels of oxidative DNA damage in serum and myocardium of patients with heart failure, *Circ. J.* 70 (2006) 1001–1005.
16. S. Kobayashi, T. Susa, T. Tanaka, Y. Wada, S. Okuda, M. Doi, et al., Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine reflects symptomatic status and severity of systolic dysfunction in patients with chronic heart failure, *Eur. J. Heart Fail.* 13 (2011) 29–36.
17. T. Susa, S. Kobayashi, T. Tanaka, W. Murakami, S. Akashi, I. Kunitsugu, et al., 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.* 76 (2011) 117–126.
18. S. Kobayashi, T. Myoren, S. Oda, M. Inari, H. Ishiguchi, W. Murakami, et al., Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a novel biomarker of inflammatory activity in patients with cardiac sarcoidosis, *Int. J. Cardiol.* 190 (2015) 319–328.
19. R. Blankstein, M. Osborne, M. Naya, A. Waller, C.K. Kim, V.L. Murthy, et al., Cardiac positron emission tomography enhances prognostic assessments of patients with suspected cardiac sarcoidosis, *J. Am. Coll. Cardiol.* 63 (2014) 329–336.
20. B.A. Mc Ardle, D.H. Birnie, R. Klein, R.A. de Kemp, E. Leung, J. Renaud, et al., Is there an association between clinical presentation and the location and extent of myocardial involvement of cardiac sarcoidosis as assessed by ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography? *Circ. Cardiovasc. Imaging* 6 (2013) 617–626.
21. K. Soejima, H.D. Yada, The work-up and management of patients with apparent or subclinical cardiac sarcoidosis: with emphasis on the associated heart rhythm abnormalities, *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 20 (2009) 578–583.
22. D.H. Birnie, W.H. Sauer, F. Bogun, J.M. Cooper, D.A. Culver, C.S. Duvernoy, et al., HRS expert consensus statement on the diagnosis and management of arrhythmias associated with cardiac sarcoidosis, *Heart Rhythm.* 11 (2014) 1305–1323.
23. S. Ishimaru, I. Tsujino, T. Takei, E. Tsukamoto, S. Sakaue, M. Kamigaki, et al.,

- Focal uptake on 18F-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography images indicates cardiac involvement of sarcoidosis, *Eur. Heart J.* 26 (2005) 1538–1543.
24. J.P. Smedema, G. Snoep, M.P. van Kroonenburgh, R.J. van Geuns, W.R. Dassen, A.P. Gorgels, et al., Evaluation of the accuracy of gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance in the diagnosis of cardiac sarcoidosis, *J. Am. Coll. Cardiol.* 45 (2005) 1683–1690.
 25. M.R. Patel, P.J. Cawley, J.F. Heitner, I. Klem, M.A. Parker, W.A. Jaroudi, et al., Detection of myocardial damage in patients with sarcoidosis, *Circulation* 120 (2009) 1969–1977.
 26. N. Hamzeh, D.A. Steckman, W.H. Sauer, M.A. Judson, Pathophysiology and clinical management of cardiac sarcoidosis, *Nat. Rev. Cardiol.* 12 (2015) 278–288.
 27. M. Maytin, W.S. Colucci, Cardioprotection: a new paradigm in the management of acute heart failure syndromes, *Am. J. Cardiol.* 96 (2005) 26G–31G.
 28. M. Yano, S. Okuda, T. Oda, T. Tokuhisa, H. Tateishi, M. Mochizuki, et al., Correction of defective interdomain interaction within ryanodine receptor by antioxidant is a new therapeutic strategy against heart failure, *Circulation* 112 (2005) 3633–3643.
 29. A.R. Marks, Calcium cycling proteins and heart failure: mechanisms and the rapapeutics, *J. Clin. Invest.* 123 (2013) 46–52.
 30. K. Tziomalos, J.M. Hare, Role of xanthine oxidoreductase in cardiac nitroso-redox imbalance, *Front. Biosci. (Landmark Ed.)* 14 (2009) 237–262.
 31. T.A. McKinsey, D.A. Kass, Small-molecule therapies for cardiac hypertrophy: moving beneath the cell surface, *Nat. Rev. Drug Discov.* 6 (2007) 617–635.
 32. Y. Matsui, K. Iwai, T. Tachibana, T. Fruie, N. Shigematsu, T. Izumi, et al., Clinicopathological study of fatal myocardial sarcoidosis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 278 (1976) 455–469.
 33. M. Sekiguchi, Y. Yazaki, M. Isobe, M. Hiroe, Cardiac sarcoidosis: diagnostic, prognostic, and therapeutic considerations, *Cardiovasc. Drugs Ther.* 10 (1996) 495–510.
 34. T.P. Darcy, R. Virmani, *Coronary Vasculitis. Nonatherosclerotic Ischemic Heart Disease*, Raven Press, New York, 1989 237–275.

9. 表

表 1. 心サルコイドーシス患者の臨床所見

No.	Age	Sex	NYHA class	ECG/Holter findings	Echocardiography			CMR	CAG	Type of diagnosis	Clinical diagnosis		Cardio-vascular death	Autopsy
					LVEF	Basal wall thinning of IVS and PW	¹⁸ F-FDG PET				Major criteria	Minor criteria		
1	74	M	II	AVB, SVT	15	+	Focal: IVS, Ant wall	Not done	intact	CD	4	2	+	Not done
2	73	F	II	SVT	30	+	Focal on diffuse: A-S, Lat, Inf wall	Not done	intact	CD	3	2	+	Not done
3	77	M	II	SVT	28	+	Focal: IVS, Lat wall	Not done	intact	CD	3	2	+	Done
4	74	M	I	AVB, SVT	40	+	Focal on diffuse: IVS, Lat, Inf wall	Not done	intact	CD	4	2	+	Done
5	73	M	I	AVB, SVT	48	+	Focal on diffuse: A-S, Lat, Inf wall	Not done	intact	CD	4	2	+	Not done
6	67	M	II	SVT	27	+	Focal on diffuse: A-S, Pos, Inf wall	Not done	#77.5%	CD	3	2	+	Not done
7	59	F	II	SVT	35	+	Focal: Lat, Pos wall	Not done	intact	CD	3	2	+	Not done
8	70	F	II	AVB, PVC	45	+	Focal on diffuse: Ant, Lat wall	Not done	intact	CD	4	2	-	
9	76	F	II	PVC	43	+	Focal: Ant wall	Not done	intact	CD	3	2	-	
10	59	F	II	AVB	55	+	Focal on diffuse: A-S, Pos, Inf, RV wall	Not done	intact	CD	2	2	-	
11	68	F	II	SVT	52	+, VA	Focal on diffuse: A-S, Lat, Pos wall	LGE: RV, IVS, Ant wall	intact	CD	1	3	-	
12	56	M	II	AVB, PVC	25	+	Focal on diffuse: IVS, Lat, Pos, Inf wall	Not done	intact	CD	3	2	-	
13	67	F	II	SVT	30	-	Focal on diffuse: A-S, Pos, RV wall	LGE: RV, IVS, Lat,	intact	CD	2	3	-	

14	46	F	I	SVT	28	+	Focal on diffuse: A-S, Pos, wall	Apex wall LGE: IVS, Lat,	intact	CD	3	3	-
15	78	M	I	AVB, SVT	35	+	Focal: IVS, Ant wall	Apex wall LGE(-)	intact	HD	4	2	-
16	69	M	II	PVC, abnormal Q	30	+	Focal on diffuse: Ant, Lat wall	Not done	intact	HD	3	2	-
17	59	F	I	SVT	32	+	Focal on diffuse: Ant, Lat wall	Not done	intact	CD	3	2	-
18	56	F	I	SVT	37	+	Focal on diffuse: A-S, Pos, Inf wall	LGE: RV, IVS, Lat, Apex wall	intact	CD	3	3	-
19	57	F	I	AVB, PVC	60	+	Focal: A-S, Inf wall	LGE: RV, IVS	intact	CD	3	3	-
20	78	F	I	AVB, PVC	50	-	Focal: IVS, Ant wall	Not done	intact	CD	2	2	-
21	53	M	II	AVB, SVT	15	+	-	Not done	intact	CD	3	2	-
22	74	F	II	AVB, SVT	25	-	-	Not done	intact	CD	2	2	-
23	63	M	II	AVB, SVT	45	-	-	Not done	intact	CD	2	2	-
24	72	F	II	SVT	30	+	-	Not done	intact	CD	2	2	+ Not done
25	79	M	II	PVC	25	+	-	Not done	intact	CD	2	2	-
26	66	M	II	PVC	18	+	-	Not done	intact	CD	2	2	-
27	53	M	II	AVB, SVT	20	-	-	Not done	intact	CD	2	2	-
28	27	M	II	AVB, PVC	67	-	-	Not done	intact	CD	1	2	-
29	54	M	I	AVB, SVT	25	+	-	Not done	intact	CD	3	2	-
30	65	F	II	PVC	25	+	-	Not done	intact	CD	2	2	-

NYHA, New York Heart Association; ECG, electrocardiogram; AVB, atrioventricular block; SVT, sustained ventricular tachycardia; LVEF, left ventricular ejection fraction; VA, ventricular aneurysm; IVS, interventricular septum; PW, posterior wall; Ant, anterior; Lat, lateral; A-S, anteroseptal; Pos, posterior; CMR, cardiac magnetic resonance imaging; LGE, late gadolinium enhancement; CAG, coronary angiography; CD, clinical diagnosis; HD, histological diagnosis.

表 2. 心サルコイドーシス患者の患者背景

	Total (n=30)	Non-active CS (n=10)	Active CS (n=20)	P value
Gender(M/F)	15/15	7/3	8/12	0.121
Age(years)	65±11	61±14	67±9	0.194
BMI(kg/m ²)	21.1±2.4	21.3±1.5	21.0±2.6	0.451
BSA(m ²)	1.484±0.158	1.523±0.110	1.466±0.172	0.220
NYHA class	1.8±0.6	1.9±0.5	1.8±0.6	0.495
SBP(mmHg)	108±15	106±16	108±13	0.270
Heart rate(bpm)	66±8	67±6	65±9	0.548
LVDd(mm)	60±10	65±10	58±10	0.085
LVEF(%)	36±14	30±15	38±13	0.026
BNP(pg/ml)	309.5±336.5	308.3±300.5	310.0±349.9	0.660
U8-OHdG(ng/mg Cr)	15.8±6.4	10.3±1.6	18.0±6.3	<0.001
U8-ISO(ng/mg Cr)	208±84	247±89	197±79	0.308
UA(mg/dl)	6.0±2.1	6.7±2.1	5.9±2.1	0.314
CRP(mg/dl)	0.30±0.72	0.06±0.06	0.37±0.79	0.066
TNFα(pg/ml)	2.1±1.4	1.7±1.1	2.2±1.5	0.560
IL-6(pg/ml)	4.1±3.6	3.4±3.1	4.3±3.8	1.000
BUN(mg/dl)	21±8	20±5	21±9	0.981
eGFR(ml/min/1.73m ²)	58.7±18.5	62.2±14.1	58.1±20.7	0.741
TnT(ng/ml)	0.043±0.04	0.013±0.005	0.048±0.37	0.191

Data given as mean ± SD or % (n).

CS, cardiac sarcoidosis; BMI, body mass index; NYHA, New York Heart Association; SBP, systolic blood pressure; LVDd, left ventricular end-diastolic diameter; LVEF, left ventricular ejection fraction; BNP, Brain natriuretic peptide; U-8-OHdG, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; U-8-ISO, urinary 8-isoprostane; UA, uric acid; CRP, C-reactive protein; TNF-α, tumor necrosis factor-α; IL-6, interleukin-6; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate; TnT, troponin T

The normal range of the U-8-OHdG level is <10 ng/mg·Cr, as taken from a previous

study.

表 3. 活動性陽性でありステロイド治療を受けた心サルコイドーシス患者の患者背景

	Active CS on corticosteroids (n=19)	Cardiovascular-related death (n=7)	Survival (n=12)	P value
Gender(M/F)	8/11	5/2	3/9	0.048
Age(years)	66±9	71±6	64±9	0.082
BSA(m2)	1.480±0.164	1.558±0.108	1.435±0.173	0.076
NYHA class	1.7±0.6	2.0±0.6	1.5±0.5	0.081
LVDd(mm)	59±9	66±10	55±6	0.022
LVEF(%)	37±11	32±10	39±11	0.189
BNP(pg/ml)	303.2±373.3	532.3±523.0	169.6±112.1	0.063
U8-OHdG(ng/mg Cr)	18.0±6.3	24.3±4.6	16.8±5.3	0.009
U8-ISO(ng/mg Cr)	203±75	226±72	187±73	0.439
UA(mg/dl)	5.7±1.8	5.6±1.3	5.7±2.0	0.899
CRP(mg/dl)	0.38±0.81	0.38±0.38	0.36±0.98	0.175
TNFα(pg/ml)	1.6±0.6	1.9±0.5	1.4±0.6	0.136
IL-6(pg/ml)	4.0±3.0	5.8±3.5	2.6±1.6	0.081
BUN(mg/dl)	21±10	29±11	17±5	0.022
eGFR(ml/min/1.73m2)	61.3±18.8	44.3±12.3	71.3±14.2	0.004
ACE(U/L)	13.4±7.8	9.5±4.5	15.5±8.4	0.366
TnT(ng/ml)	0.049±0.053	0.059±0.012	0.044±0.052	0.111
SUV max	6.63±2.63	6.49±2.59	6.71±2.65	0.871
SUV over 50%	0.61±0.24	0.73±0.22	0.54±0.22	0.115
SUV over 70%	0.20±0.11	0.18±0.06	0.21±0.13	0.828
Risk factor				
Hypertension	7/19	4/7	3/12	0.161
Diabetes Mellitus	3/19	2/7	1/12	0.243
Dyslipidemia	13/19	6/7	7/12	0.216
Symptom				
Sustained VT	12/19	6/7	6/12	0.120

Advanced AVB	3/19	1/7	2/12	0.891
only HF	4/19	0/7	4/12	0.086
Treatment				
β-blocker	19/19	7/7	12/12	NS
ACEI/ARB	13/19	4/7	9/12	0.419
Loop diuretics	14/19	6/7	8/12	0.363
Aldosterone antagonist	5/19	2/7	3/12	0.865
Statin	13/19	6/7	7/12	0.216
Steroid	19/19	7/7	12/12	NS
CRT-D/ICD	15/19	7/7	8/12	0.086
DDD PM	3/19	0/7	3/12	0.149

Numerical data are expressed as mean ± SD.

CS, cardiac sarcoidosis; NYHA, New York Heart Association; LVDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVEF, left ventricular ejection fraction; BNP, Brain natriuretic peptide; U-8-OHdG, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; U-8-ISO, urinary 8-isoprostane; UA, uric acid; CRP, C-reactive protein; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; IL-6, interleukin-6; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate; ACE, angiotensin-converting enzyme; TnT, troponin T; SUV, standardized uptake value; VT, ventricular tachycardia; AVB, atrioventricular block; HF, heart failure; ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin receptor blockers; CRT-D, cardiac resynchronization therapy defibrillator; ICD, implantable cardioverter-defibrillator; DDD PM, DDD pacemaker; NS, not significant among three groups

The normal range of the U-8-OHdG level is <10 ng/mg·Cr, as taken from a previous study.

表 4. ステロイド治療を受けた活動性陽性の心サルコイドーシス患者における
心血管死のリスクファクター

	Univariate			Multivariate			
	HR	(95%CI)	P value	HR	(95%CI)	P value	Wald coefficient
U8-OHdG (ng/mg Cr)	1.130	(1.010-1.265)	0.033	1.203	(1.030-1.407)	0.020	5.408
BNP(pg/ml)	1.003	(1.001-1.006)	0.013	1.003	(1.000-1.006)	0.028	4.817
LVDD(mm)	1.141	(1.032-1.260)	0.010				
BUN(mg/dl)	1.114	(1.034-1.201)	0.004				
eGFR (ml/min/1.73m ²)	0.925	(0.873-0.980)	0.008				

Abbreviations: HR, hazard ratio; CI, confidence interval; U-8-OHdG, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; BNP, brain natriuretic peptide; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate; LVDD, left ventricular end-diastolic diameter