

**Enhanced oxidative stress and presence of
ventricular aneurysm for risk prediction in
cardiac sarcoidosis**

(酸化ストレスの亢進と心室瘤の存在は心サル
コイドーシスにおけるリスク予測因子となる)

氏名 吉富 亮介

所属 山口大学大学院医学系研究科

医学専攻 器官病態内科学講座

令和 4 年 1 月

目次

第1章 要旨	2
第2章 研究の背景	2
第3章 目的	3
第4章 研究方法	3
第5章 結果	7
第6章 考察	20
第7章 結語	23
第8章 謝辞	24
第9章 参考文献	24
第10章 補足図	2

第 1 章 要旨

心臓突然死 (sudden cardiac death: SCD) は心サルコイドーシス患者における主要な死亡原因であり、SCD の大部分は心室性不整脈が原因である。これまでのところ、心サルコイドーシス患者の致死的不整脈と SCD を予測するバイオマーカーは報告されていない。本研究では心サルコイドーシス患者における持続性心室頻拍 (sustained ventricular tachycardia: sVT) および SCD を予測する因子は何であるかを調査した。連続 89 症例において心サルコイドーシス患者の炎症活動性を反映する酸化的 DNA 損傷のマーカーである尿中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (尿中 8-OHdG)、他のバイオマーカー、心機能の指標、腎機能を測定した。追跡期間中、15 人の患者は sVT (N = 12) または SCD (N = 3) を示した。COX 比例ハザードモデルを用いた多変量解析では、尿中 8-OHdG 濃度および心室瘤 (ventricular aneurysm: VA) の存在が sVT/SCD の独立した予測因子であることが示された。尿中 8-OHdG および VA の存在は、心サルコイドーシス患者の初回の sVT/SCD の強力な予測因子であり、心臓イベントのリスクの層別化に有用である。さらに、これらは VT 基質についてのさらなる情報を与えるものであることが示唆された。

第 2 章 研究の背景

サルコイドーシスは、病因が不明な非乾酪性類上皮肉芽腫を特徴とする全身炎症性疾患である。心サルコイドーシスは予後不良な疾患であり、高頻度に心不全、高度房室ブロック、心室性不整脈を合併する。最近の研究では心サルコイドーシス患者では突然死のリスクが高く、これは心室性不整脈が原因であることが最も多い[1-3]。心サルコイドーシス患者において ^{18}F -fluorodeoxyglucose -positron emission tomography (^{18}F -FDG PET) や programmed electrical stimulation (PES)、心臓 magnetic resonance imaging (MRI) といった新しいモダリティにより得られた予後に関する情報は致死的不整脈を予測するのに有用であると報告されてきた[4-8]。酸化ストレスマーカーである 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) は細胞の酸化ストレス条件下で DNA 塩基である 2'-deoxyguanosine の酸化によって生成される [9]。DNA が修復される過程で 8-OHdG は血液中に排出され、代謝されずに尿中に排出される。したがって、血液および尿中の 8-OHdG 濃度は、抗 8-OHdG 抗体を使用した酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) によって正確に測定することが可能である (図 1A) [9-12]。心不全患者における冠状静脈洞および大動脈から得られた採血データは、8-OHdG 濃度が大動脈よりも冠状静脈洞で有意に高いことを示し、8-OHdG が心臓組織で産生されたことを示した [9]。興味深いことに、冠状静脈洞と大動脈の 8-OHdG 濃度の差は、非活動性心サルコイドーシスおよび拡張型心筋症の患者よりも活動性心サルコイドーシスの患者の方がはるかに大きく、心サルコイドーシスが引き起こす炎症が心臓での酸化ストレスを強く増強することを示唆している [10]。

さらに、尿中 8-OHdG のレベルは、心サルコイドーシスの ^{18}F -FDG-PET で観察された炎症活動性[9-11]、および心筋生検組織の酸化ストレスの程度[12]と有意に相関していた。

以前、我々は尿中 8-OHdG レベルが心筋の線維化の程度と有意な正の相関関係があることを報告した[12]。さらに、尿中 8-OHdG レベルは VT のない心サルコイドーシス患者よりも VT のある心サルコイドーシス患者で有意に高く、尿中 8-OHdG 濃度と VT は有意な相関を示していた[12]。これまでのところ、心サルコイドーシス患者の致死的不整脈と SCD を予測するバイオマーカーは報告されていない[13]。本前向きコホート研究では、心サルコイドーシス診断時に評価された項目で、sVT/SCD の予測因子を調査した。

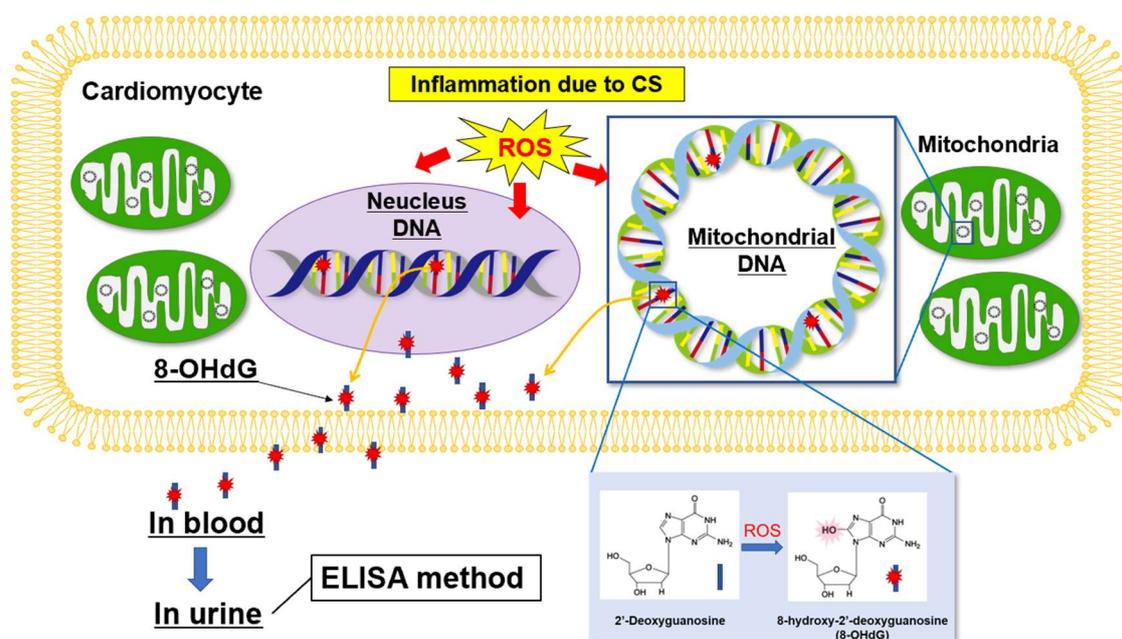


図 1A. DNA 酸化損傷のマーカーとしての 8-OHdG

活性酸素種の生産の亢進は、心臓サルコイドーシスの活動期に心筋細胞で起こり、核 DNA およびミトコンドリア DNA の酸化 (2'-デオキシグアノシン (青棒) から 8-OHdG [赤い星+青棒]) を引き起こし、8-OHdG は血液中から尿中への排泄される。

8-OHdG 濃度は、抗 8-OHdG 抗体 (N45.1) を用いた ELISA 法で測定可能である [10-12]。

尿中 8-OHdG 濃度の正常範囲は、 $<10 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$ である。 [9]。

第 3 章 目的

心サルコイドーシス患者における sVT および SCD を予測する因子を調査した

第 4 章 研究方法

2.1 研究デザインと患者集団

単一施設観察前向き研究で、心サルコイドーシスの疑いで当院に入院し、最終的に心サルコイドーシスと診断された患者を対象とした。心サルコイドーシスの確定診断は、日本循環器学会または Heart Rhythm Society の心サルコイドーシスの診断および治療ガイドライン

[10,14]に基づいて行われた。選択基準は次のとおりである：1) 心サルコイドーシスと診断された患者、2) 年齢 20 歳以上、3) NYHA クラス I および II (慢性期)。除外基準は次のとおりである：1) 急性非代償性心不全 (NYHA クラス III および IV) の患者、2) 急性冠症候群、3) 悪性腫瘍、4) 感染症、5) 全身炎症性疾患、6) 重度腎機能障害 (推定糸球体濾過率[eGFR] <30mL)。

以前、NYHA クラス III および IV の慢性 HF 患者で尿中 8-OHdG レベルが有意に増加していることを報告した[9]。そのため、心サルコイドーシス患者における炎症活動性の増強が尿中 8-OHdG レベルの上昇の原因であることを明確にするために、NYHA クラス III および IV の患者は除外した。

本研究 (# H19-87) は、2008 年 4 月 16 日に山口大学医学部附属病院の倫理委員会によって承認された。すべての患者から参加についての書面によるインフォームドコンセントが得られた。

図 1B は研究プロトコルを示している。2008 年 6 月から 2020 年 3 月の間に日本循環器学会または Heart Rhythm Society のガイドラインに従って当院で診断された心サルコイドーシスの連続症例が本研究に登録された。診断時および慢性期に、心サルコイドーシスの炎症活動性を反映する酸化的 DNA 障害マーカーである尿中 8-OHdG や他のバイオマーカー、心機能、腎機能の指標を測定した。

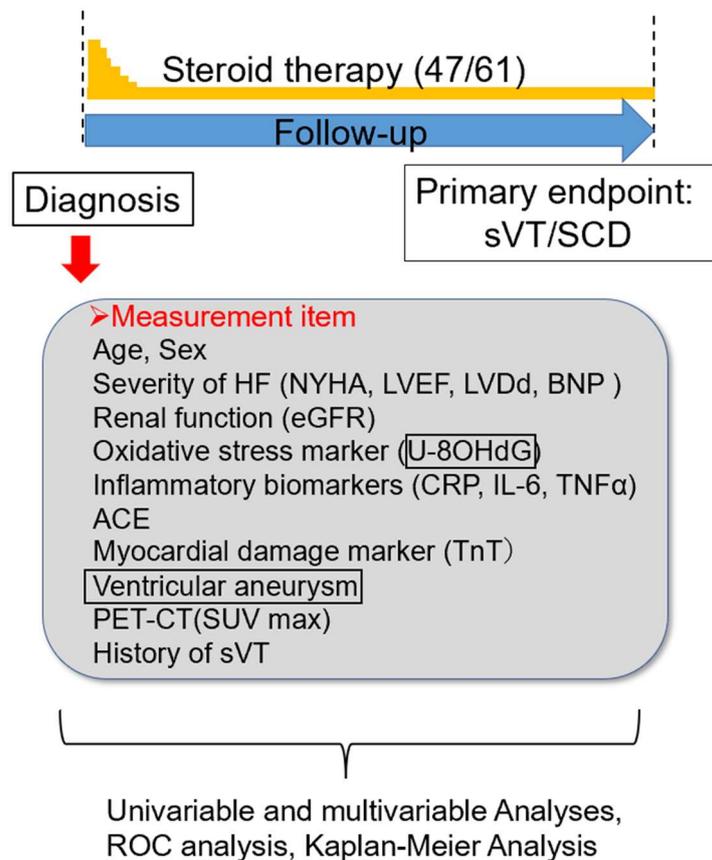


図 1B 研究プロトコール

NYHA, New York Heart Association class; LVEF, left ventricular ejection fraction; LVDd, left ventricular end-diastolic diameter; BNP, B-type natriuretic peptide; eGFR, estimated glomerular filtration rate; CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin-6; TNF- α , tumor necrosis factor; ACE, angiotensin-converting enzyme; TnT, troponin T; SUVmax, maximum standardized uptake value.

2.2 標準臨床検査

全患者において、12誘導心電図検査 (ECG)、心エコー検査、 ^{18}F -FDG-PET CT、 ^{67}Ga シンチグラフィが施行されました。全患者は、ホルターECG、ECG モニター (日本光電、東京)、または植込み型除細動器 (植込み型除細動器、心臓再同期療法除細動器、またはデュアルチャンバーペースメーカー) によって心電図モニターされた。心エコー検査の局所壁運動異常 (RWMA) スコアは、心筋瘢痕のマーカーとして測定された [12]。心室瘤 (ventricular aneurysm: VA) は、心エコー検査、左心室造影、MRI のいずれかの画像検査で拡張末期の心室壁の膨隆と定義した [15]。

2.3 心サルコイドーシスによる炎症活動性の評価

全患者において 18 時間絶食した後、¹⁸F-FDG-PET / CT 検査が施行された。病変における ¹⁸F-FDG 取り込みの定量分析は、最大標準化取込値 (SUV_{max}) 測定値を使用した[10-12,15]。

2.4 活動性のある心サルコイドーシス患者のステロイド治療プロトコル

コルチコステロイド治療 (プレドニゾロン) は、既存の日本のプロトコルに従って次のように開始した。30mg/日を 4 週間、6 か月にわたって 1 日おきに 5~10 mg まで徐々に漸減し、最小有効用量を確立した[13]。

2.5 エンドポイント

フォローアップ期間中に脱落した患者はいなかった。心血管イベントの発生は、主に医療記録、剖検記録、死亡診断書を使用して 2021 年 7 月に把握した。主要エンドポイントは初回の sVT または SCD と定義した。sVT は、100 /分以上の心室頻拍が 30 秒以上続くか、electrical storm (24 時間以内に 3 回以上の VT エピソードが発生する) と定義した。心臓突然死は、突然かつ予期しない死亡で、症状の発症から 1 時間以内に発生する意識消失が先行し、不整脈または血行動態の破綻による 24 時間以内の死亡と定義した[1,16]。

2.6 尿中 8-OHdG およびその他の神経液性因子と炎症マーカーの測定

尿中 8-OHdG 濃度は、抗 8-OHdG 抗体を備えた ELISA キットを使用して測定し[9-12、15]、測定された尿中濃度はクレアチニン (Cr) 値に基づいて補正した。血清インターロイキン-6 (IL-6) 濃度は、ヒト IL-6 ELISA キットとヒト IL-6 化学発光酵素免疫アッセイを使用して測定した[9-12、15]。B 型ナトリウム利尿ペプチド (BNP) レベルは、BNP 測定キットを使用して測定した[9-12、15]。

2.7 患者と一般市民の関与

参加者は、調査の質問または結果の測定値の設定に関与しなかった。前向きコホート研究の結果は、研究グループの Web サイトを通じて研究参加者に定期的に配布した。これらの調査結果をプレスリリースで参加者や一般の人々に広める予定である。

2.8 統計分析

連続変数は、正規分布の場合は平均±標準偏差として、非正規分布の場合は中央値と四分位範囲 (IQR) として表記した。グループ間の差は、必要に応じて、連続変数の対応のない t 検定またはマンホイットニー U 検定、 χ^2 検定を使用して比較した。予後予測マーカーを決定し、sVT/SCD のリスクを層別化するために、単変量解析、多変量解析、ROC 曲線の作成および Kaplan-Meier 分析を施行した。単変量解析は、年齢、性別、NYHA クラス、左心

室拡張末期径 (LVDd)、左室駆出率 (LVEF)、RWMA スコア、収縮期血圧 (SBP)、CRP、eGFR、尿中 8-OHdG、心室瘤の存在、VT study による VT の誘発、治療 (アミオダロン、ベータ遮断薬、ループ利尿薬、ステロイド)、sVT の既往、およびデバイスの埋め込みで行った。sVT/SCD イベントを予測するために、多変量解析 (Cox 比例ハザードモデル) では、単変量解析 (モデル 1) によって推定された $P < 0.2$ の共変数を使用して行った。sVT の既往は、再発性 sVT の危険因子であることがよく知られている [17]。したがって、sVT の既往を含む変数減少法アプローチを使用して解析を行った。sVT/SCD に対する尿中 8-OHdG の予測可能性を調べるために、ROC 曲線を作成して、1、2、3、4、5 年および最終観測点でイベント発生までの期間を分析した。各最大カットオフ値、感度、および特異度は、Youden index 法を用いて計算した。カットオフ値は、感度と特異性の両方がバランスよく高くなる値として ROC 曲線上で決定した。尿中 8-OHdG 濃度に基づいて、患者は最大カットオフ値を使用して 2 群に分けられた。生存率を比較するため Kaplan-Meier 分析を施行した。2 群間の生存曲線の違いは、ログランク検定を使用して評価した。すべての分析は SPSS (第 26 版) を使用し、 $P < 0.05$ は統計的に有意であるとみなした。

第 5 章 結果

3.1 患者の背景

図 1C に、本研究のフローチャートを示す。山口大学医学部附属病院で心サルコイドーシスと診断された連続 89 人の患者が診断時あるいは慢性期に登録された。登録された 89 人の心サルコイドーシス患者は、心臓での ^{18}F -FDG-PET / CT の異常集積に基づいて、活動性 ($n = 61$) と非活動性 ($n = 28$) の 2 群に分類した (表 1)。表 1 に示すように、89 人 (100%) の患者全員が 2006 年の日本循環器学会のガイドラインを満たし、16 人 (26%) の活動性心サルコイドーシス患者と 4 人 (14%) の非活動性心サルコイドーシス患者が Heart Rhythm Society のガイドラインを満たした。患者、37 人 (61%) は心臓外のサルコイドーシス (全身性心サルコイドーシス) を合併する心サルコイドーシスと診断され、24 人 (39%) は ^{18}F -FDG-PET / CT (または Ga シンチグラフィー) および組織学的検査に基づいて心臓限局性心サルコイドーシスと診断された。LVDd、LVEF、RWMA スコア、尿中 8-OHdG、およびステロイドの使用には、2 群間で有意差を認めなかった。興味深いことに、尿中 8-OHdG レベルは、非活動性心サルコイドーシス群の方が活動性心サルコイドーシス群よりも有意に低かった (活動性心サルコイドーシス; $14.9 \pm 7.0 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$ 対非活動性心サルコイドーシス; $11.0 \pm 4.4 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$, $P = 0.015$)。2 群は他の指標で有意差は認めなかった。このように 2 群は、患者背景と心筋の炎症活動性において大きく異なった。したがって、非活動性心サルコイドーシス患者群は本研究から除外した。活動性心サルコイドーシス群の 61 人の患者は、登録完了から中央値 46 か月間 (IQR : 20-84) 追跡された (図 1B、C)。

表 2 は、イベント (sVT / SCD) 群と非イベント群の患者の特徴を示している。活動性心サルコイドーシスの 61 人の患者のうち、12 人は sVT を、3 人は SCD 認め、イベント群は

合計 15 人で、残りの 46 人は非イベント群とした。2 群は、年齢、NYHA クラス、RWMA スコア、SBP、BNP レベル、尿中 8-OHdG レベル、心室瘤、sVT、ループ利尿薬、およびデバイス（ペースメーカー/植込み型除細動器/心臓再同期療法）に有意差を示し、他の指標に有意差は認めなかった。

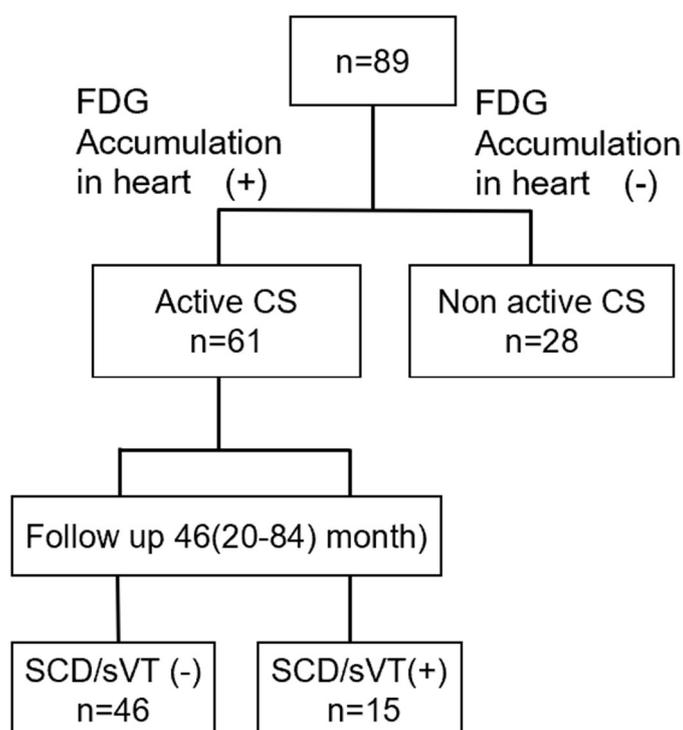


図 1 C フローチャート

89 人心サルコイドーシス患者は、心臓への ^{18}F -FDG の蓄積に応じて、活動性心サルコイドーシス群 (n = 61) と非活動性心サルコイドーシス群 (n = 28) の 2 群に分けられた。

活動性心サルコイドーシス群の患者は、さらに sVT / SCD イベント群 (n = 15) と非 sVT / SCD イベント群 (n = 46) に分けられた。

3.2 活動性心サルコイドーシス患者における初回 sVT および SCD の予測因子に関する単変量および多変量解析

表 3 に、活動性心サルコイドーシス群の sVT および SCD を予測するため行った単変量および多変量解析の結果を示す。多変量解析は、単変量解析 (モデル 1) で $P < 0.2$ であった年齢、性別、NYHA クラス、LVDd、RWMA スコア、SBP、BNP、U-8-OHdG、VA の存在、sVT の既往、アミオダロン、ループ利尿薬、およびデバイスを共変数として用いて行った。

「sVT の既往」を含む変数減少法アプローチは、尿中 8-OHdG と VA の存在が sVT の既往よりも強力な予測因子であることを示した (モデル 2)。尿中 8-OHdG は、 $1 \text{ ng} / \text{mg} \cdot \text{Cr}$

あたり 1.118 倍の sVT / SCD リスク増加と関連しており (ハザード比[HR]、1.118; 95%信頼区間[CI]、1.046-1.195; P = 0.001)、VA の存在は 4.18 倍の sVT / SCD リスク増加と関連しており、sVT / SCD の独立した予測因子であった (HR、4.180; 95%CI、1.380-12.664、P = 0.011)。

3.3 時間依存 ROC 分析を用いた活動性心サルコイドーシスの sVT / SCD 予測因子としての尿中 8-OHdG の最適なカットオフ値

図 2A-F は、各ポイントでの ROC 曲線を示している。それぞれの最適なカットオフ値、感度、および特異度は、Youden index 法を用いて算出した。ハレルの c-index は 0.77 と計算され、area under the curve は各ポイントで約 0.8 であった。これらの結果は、尿中 8-OHdG が sVT / SCD に対して高い予測可能性を持っていることを示唆している。最後に、尿中 8-OHdG のカットオフ値は、Youden index 法を使用して 14.9 ng / mg · Cr とした。

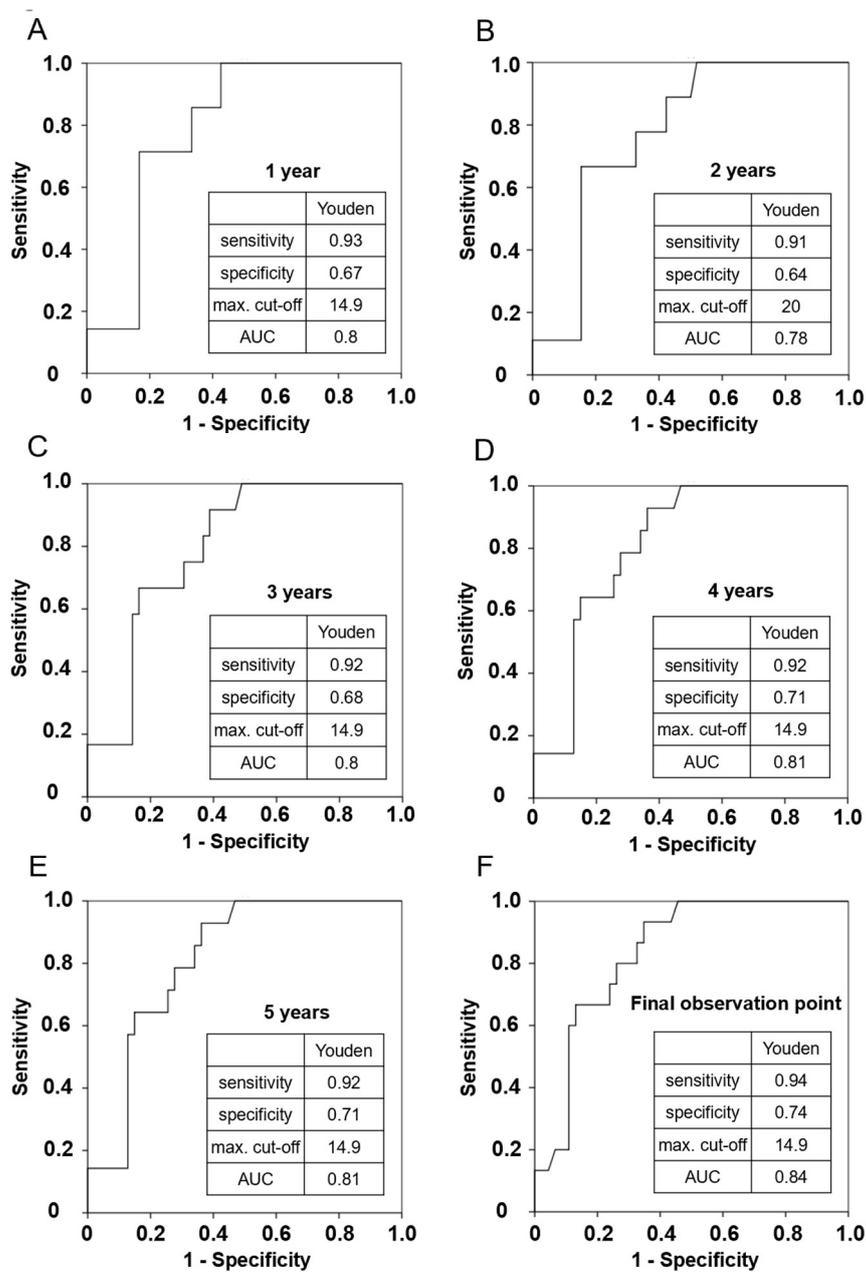


図 2.sVT / SCD を予測するための ROC 分析

1、2、3、4、5 年および最終観測点でのイベントまでの時間データを分析するために ROC 分析を行った。各最大カットオフ値、感度、特異性は、Youden index 法によって計算された。これらの結果は、各 ROC 曲線に示した。

ハレルの c-index は 0.77 と計算された。Youden index 法より、尿中 8-OHdG のカットオフ値を 14.9ng / mg · Cr と決定した。

A.1 年目 B.2 年目 C.3 年目 D.4 年目 E.5 年目

G.最終観測期間

3.4 尿中 8-OHdG のカットオフ値を用いた Kaplan-Meier 分析

尿中 8-OHdG カットオフ値 14.9 ng/mg・Cr に基づいて患者を 2 群に分けた場合、Kaplan-Meier 分析では、14.9 ng/mg・Cr 以上の群は 14.9 ng/mg・Cr 未満のグループよりも予後が有意に不良であることが示された (図 3A-C)。sVT の既往は、sVT/SCD のリスクとしてよく知られている [17]。sVT の既往のある患者を除外した感度分析では、Kaplan-Meier 分析により、14.9 ng/mg・Cr 以上の群は、14.9 ng/mg・Cr 未満のグループよりも予後が有意に不良であることが示された (図 3D; ログランク検定; P = 0.009)。sVT/SCD の 100 人年あたりのイベントの発生率は、尿中 8-OHdG が低い場合と高い場合でそれぞれ 0.6/100 人年 (95%CI、0.015-3.303) と 12.3/100 人年 (95%CI、6.739-20.681) であった。

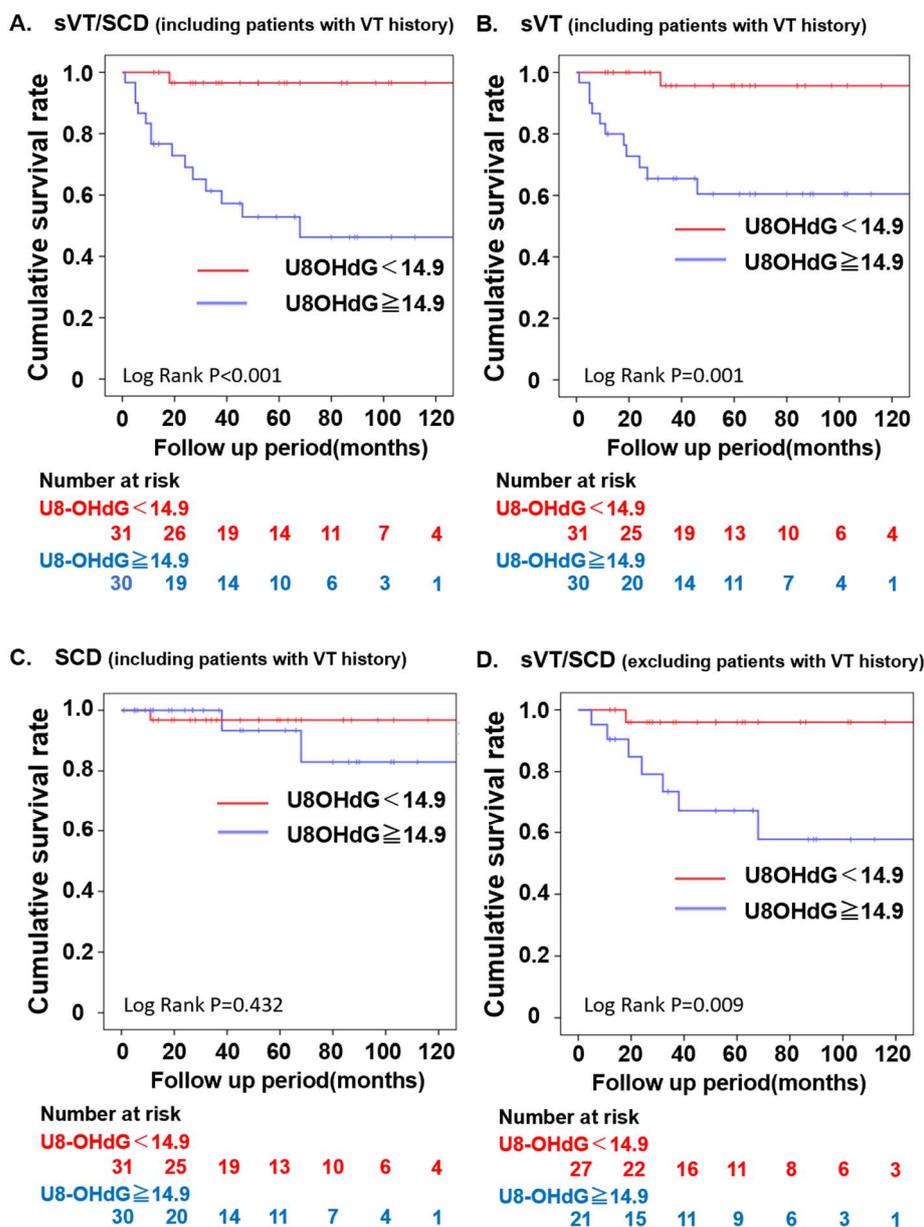


図 3.尿中 8-OHdG のカットオフ値に基づいて 2 群分けた活動性心サルコイドーシス患者の生存分析

主要評価項目は sVT / SCD とした。累積無イベント生存率は、カプランマイヤー法を使用して評価した (A: sVT/SCD の複合、B: sVT、C: SCD の Kaplan-Meier 分析、D: VT の既往がある症例を除いた sVT/SCD の複合)。

3.5VA を用いた Kaplan-Meier 分析

Kaplan-Meier 分析は、VA のある心サルコイドーシス群は VA のない心サルコイドーシス群よりも予後が著しく不良であることが示された (図 4A-C)。sVT の既往のある患者を除外した分析では、Kaplan-Meier 分析により、VA ある心サルコイドーシス群の予後は VA なしの群よりも有意に不良であることが示された (図 4D;ログランク検定、 $P = 0.045$)。sVT / SCD の 100 人年あたりのイベントの発生率は、VA のないものとあるものでそれぞれ 2.7/100 人年 (95%CI、1.000-5.932) と 14.5/100 人年 (95%CI、6.629-27.519) であった。

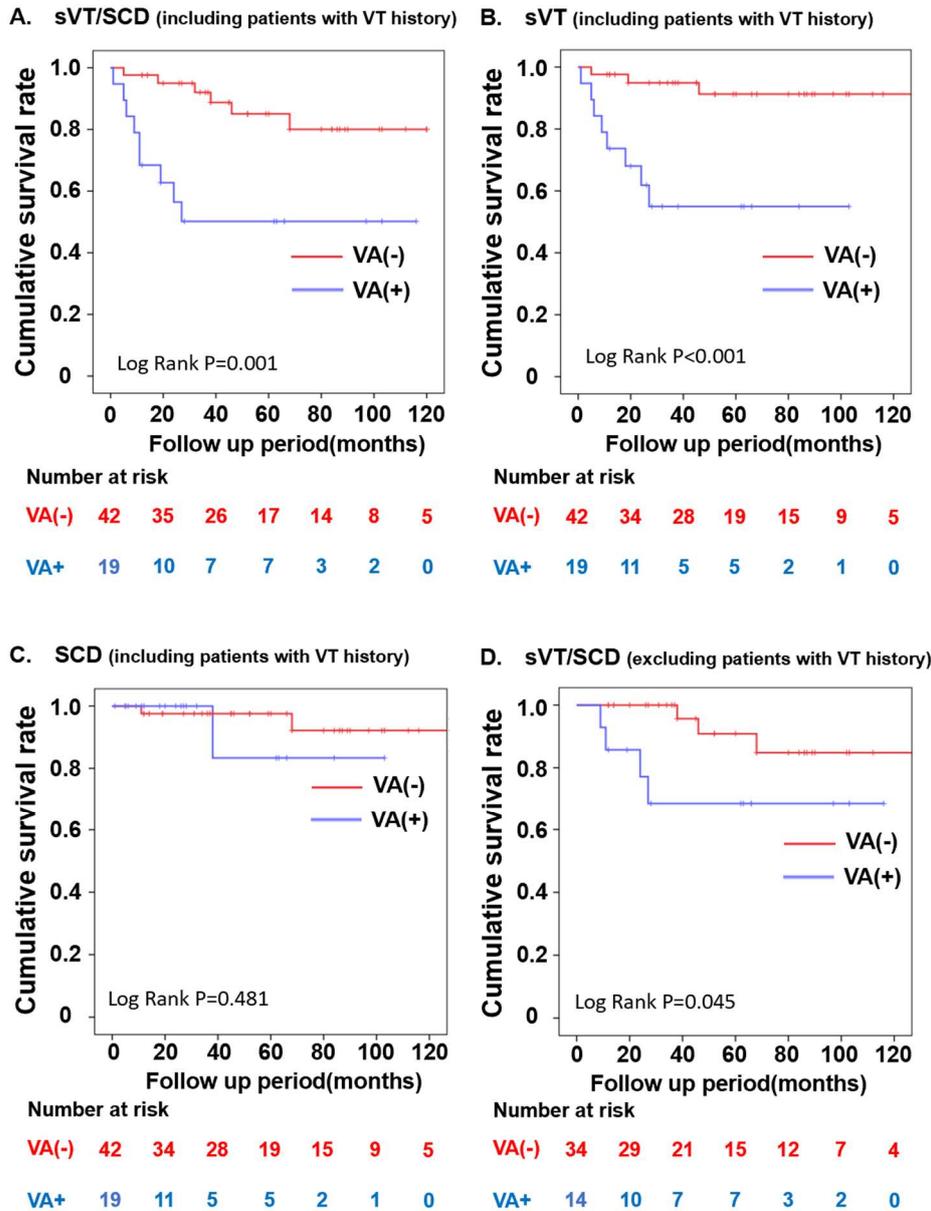


図 4.VA の存在に基づいて 2 群に分けた心サルコイドーシス患者の生存分析
 主要評価項目は、sVT / SCD の複合とした。累積無イベント生存率は、カプランマイヤー法を使用して評価した (A : sVT/SCD の複合、B : sVT、C : SCD の Kaplan-Meier 分析、D : VT の既往がある症例を除いた sVT/SCD の複合)。

3.6 尿中 8-OHdG と VA の存在を用いた Kaplan-Meier 分析

尿中 8-OHdG のカットオフ値と VA の存在に基づいて患者を 3 群に分けた場合、尿中 8-OHdG 濃度が 14.9 ng / mg · Cr 以上かつ VA がある群は有意に高い sVT / SCD 発生リスクを示した (図 5; ログランク検定、P < 0.001、100 人年あたりのイベント:31.0)。

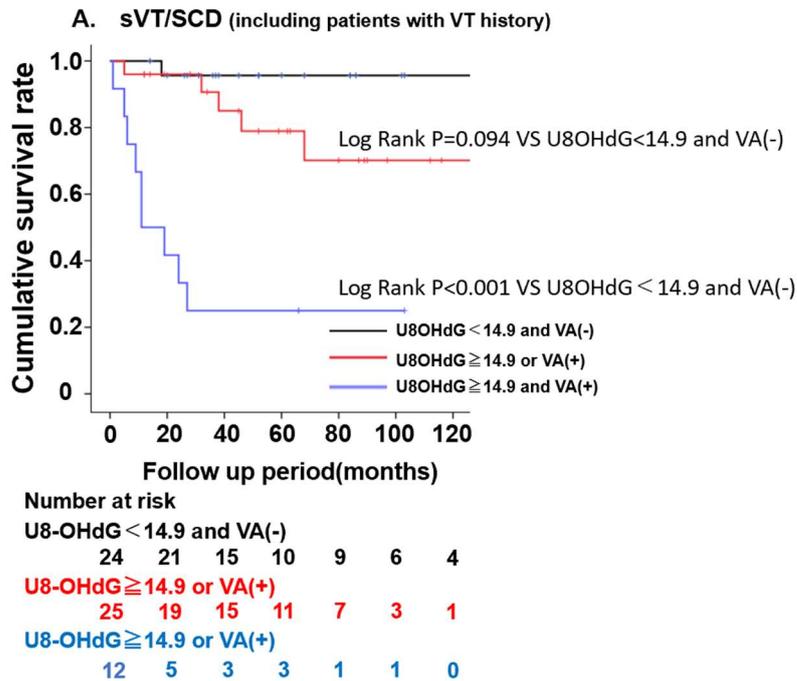


図 5.尿中 8-OHdG と VA に基づくリスク層別化

尿中 8-OHdG 濃度が 14.9ng / mg · Cr 以上で VA の存在を示す患者は、sVT / SCD リスクが有意に高かった（ログランク検定、P < 0.001、100 人年あたりのイベント:31.0）。

第 6 章 考察

4.1 概要

本研究の最も重要な所見は、尿中 8-OHdG 測定と VA の存在が、活動性心サルコイドーシス患者の sVT / SCD を予測するのに役立つという点である。これは、以下によって裏付けられる。1) 観察期間中、sVT / SCD イベント群は、非 sVT / SCD イベント群に比較して尿中 8-OHdG 濃度と VA 合併症率が有意に高値であった。2) 単変量解析では、年齢、SBP、BNP、尿中 8-OHdG、VA の存在、sVT の既往、およびループ利尿薬が sVT / SCD と有意に相関していることが示された。多変量解析では、尿中 8-OHdG レベルと VA の存在が sVT / SCD の独立した予後因子であった。3) ROC 分析から、初回の sVT / SCD を予測する尿中 8-OHdG のカットオフ値が 14.9ng / mg · Cr であることが示された。4) 尿中 8-OHdG 濃度が 14.9 ng / mg · Cr 以上である患者や、VA が存在する患者は、sVT / SCD リスクが有意に高かった。本研究は、酸化ストレスのバイオマーカーが心サルコイドーシス患者の sVT / SCD の予測に臨床的に有用であることを明らかにした最初の論文である。

4.2 尿中 8-OHdG と VA の存在は、sVT の不整脈基質に関係する

心室性不整脈と SCD は、2 つの関連するメカニズムによって引き起こされると考えられている。1 つは活動性炎症であり、もう一つは心室筋の癒痕負荷である [18]。本研究では、尿

中 8-OHdG レベルは非活動性心サルコイドーシス患者よりも活動性心サルコイドーシス患者で有意に高いことを示した (表 1)。これは、8-OHdG 産生が心サルコイドーシス関連の炎症によって亢進されていることを強く示唆している。

以前、1) 尿中 8-OHdG レベルは、心サルコイドーシス患者の ^{18}F -FDG-PET で観察される炎症活動性と有意に相関していることを報告した[10]。2) 尿中 8-OHdG レベルは、sVT の既往のある患者で著しく増加し、心筋生検組織の酸化ストレスの程度や心筋線維化の程度と正の相関を認めた[12]。これらの所見は、心筋の酸化ストレスと炎症が、撃発活動による心室性不整脈の発生と密接に関連していることを示唆している[19-24]。さらに、尿中 8-OHdG レベルの亢進は、高度の心筋線維化の存在を示唆しており、リエントリー回路の形成と維持に寄与すると考えられる[8、25、26]。

一方、VA の存在は、程度の差はあれ比較的大きな瘢痕の存在を示していると言える[15]。本研究では、心エコー検査によって瘢痕組織の指標として使用された RWMA スコアは、非 sVT / SCD イベント群よりも sVT / SCD イベント群で有意に高いことが示された (表 2)。VA の存在は、多くのリエントリー回路を維持できる心室瘢痕および心筋線維化が存在することを示しており、瘢痕関連の VT を引き起こす傾向がある[8、25-27]。

sVT の既往のある患者を除外した解析では、Kaplan-Meier 分析により、尿中 8-OHdG のレベルが $14.9 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$ 以上の群は、 $14.9 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$ 未満の群よりも予後が有意に不良であった (図 3D)。また VA のある群は VA のない群よりも予後が著しく不良であった (図 4D)。これらの結果は、尿中 8-OHdG と VA の存在が sVT / SCD の独立した予測因子であることを強く示唆している。

4.3 心筋の酸化ストレスのマーカーとしての尿中 8-OHdG

活動性のある心サルコイドーシス患者 ($n = 61$; 表 1) で心臓外病変の炎症が尿中 8-OHdG レベルに影響を与えるかを検討するために、全身性サルコイドーシス ($n = 37$) と孤立性心サルコイドーシス ($n = 24$) の尿中 8-OHdG レベルを比較した。2 群間で尿中 8-OHdG レベルに差は見られなかった (補足図 1)。心臓の 8-OHdG 産生が増加する理由のひとつは、心臓組織には心臓外臓器よりもミトコンドリアが多く含まれているため、ミトコンドリアでの活性酸素種生成が大きいことが考えられる[12]。我々は以前に、尿中 8-OHdG レベルが活動性のある心サルコイドーシスの患者よりも活動性のある肺サルコイドーシスの患者で有意に低かったことを報告した[12]。これらの発見は、尿中 8-OHdG が心臓外サルコイドーシスの影響を受けにくいことを裏付けている。

4.4 sVT / SCD の他の予測因子

心臓 MRI での遅延造影陽性および VT study での VT 誘発は、致死性不整脈と関連していることが報告されている[4-8]。しかし、我々のコホート研究では、遅延造影が陽性であることおよび VT study で VT の誘発が認められることは、単変量解析で sVT / SCD と関連

を認めなかった（表3）。ただし、欠損データが非常に多く、遅延造影と VT study が sVT / SCD を予測できるかを結論付けることができなかった。

sVT の既往は、再発性 sVT の危険因子であることがよく知られている[17]。単変量解析では、sVT の既往が将来の sVT / SCD ($P=0.008$) と有意に関連していることが示されたが、多変量解析では示されなかった ($P=0.075$)。この理由は、統計的検出力が不足しているからであろう。本研究で、尿中 8-OHdG と VA の存在が sVT の既往よりも強力な予測因子であったことは注目すべきことである。

4.5 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。第一に単一施設の前向きコホート研究であり、症例が少数であった。心サルコイドーシスにおける sVT / SCD の予後予測因子として尿中 8-OHdG の有用性と VA の存在を証明するには、さらに大規模な研究が必要である。第二に、心臓 MRI と VT study は、心サルコイドーシスの多くの患者で施行していなかった。したがって、遅延造影および VT の誘発は多変量解析から除外された。

第7章 結語

尿中 8-OHdG と VA の存在は、心サルコイドーシスの sVT / SCD 発生の強力な予測因子であり、心臓イベントのリスクを層別化し、VT 基質を説明するのに役立つと考えられる。これらの結果は、心サルコイドーシスにおける sVT / SCD の初期予後マーカーに関するより詳細な研究の基盤となる。

第8章 謝辞

本研究を行うために多大なご指導・ご助言をいただいた山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学 矢野雅文教授に感謝を申し上げます。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。また、器官病態内科学の多くの先生方、スタッフの方々にご指導、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。

第9章 参考文献

- [1] Ekström K, Lehtonen J, Nordenswan HK, et al. Sudden death in cardiac sarcoidosis: An analysis of nationwide clinical and cause-of-death registries, *Eur Heart J*. 2019; 40(37): 3121–3128. doi:10.1093/eurheartj/ehz428.
- [2] Kobayashi Y, Nagai T, Takenaka S, et al. Long-term prognostic significance of ventricular repolarization dispersion in patients with cardiac sarcoidosis. *Am J Cardiol*. 2021; 9149(21): S0002 00419–00417. doi. 10.1016/j.amjcard.2021.04.039.
- [3] Narasimhan B, Patel N, Ho K, et al. Incidence and predictors of sudden cardiac arrest in sarcoidosis: A nationwide analysis. *JACC Clin Electrophysiol*. 2021; 7(9): 1087-1095.

doi:10.1016/j.jacep.2021.01.022.

- [4] Franke KB, Marshall H, Kennewell P, et al. Risk and predictors of sudden death in cardiac sarcoidosis: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2021; 328: 130–140. doi:10.1016/j.ijcard.2020.11.044.
- [5] Zipse MM, Tzou WS, Schuller JL, et al. Electrophysiologic testing for diagnostic evaluation and risk stratification in patients with suspected cardiac sarcoidosis with preserved left and right ventricular systolic function. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2019; 30(10):1939–1948. doi:10.1111/jce.14058.
- [6] Blankstein R, Osborne M, Naya M, et al. Cardiac positron emission tomography enhances prognostic assessments of patients with suspected cardiac sarcoidosis. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 63(4): 329–336. doi. 10.1016/j.jacc.2013.09.022.
- [7] Patel MR, Cawley PJ, Heitner JF, et al. Detection of myocardial damage in patients with sarcoidosis. *Circulation.* 2009; 120(20): 1969–1977. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.851352.
- [8] Muser D, Santangeli P, Liang JJ, et al. Characterization of the electroanatomic substrate in cardiac sarcoidosis: Correlation with imaging findings of scar and inflammation. *JACC Clin Electrophysiol.* 2018; 4(3): 291–303. Doi:10.1016/j.jacep.2017.09.175.
- [9] Kobayashi S, Susa T, Tanaka T, 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.* 2011; 13(1): 29–36. doi:10.1093/eurjhf/hfq178.
- [10] Kobayashi S, Myoren T, Oda S, et al. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a novel biomarker of inflammatory activity in patients with cardiac sarcoidosis. *Int J Cardiol.* 2015; 190: 319–328. doi:10.1016/j.ijcard.2015.04.144.
- [11] Myoren T, Kobayashi S, Oda S, et al. An oxidative stress biomarker, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, predicts cardiovascular-related death after steroid therapy for patients with active cardiac sarcoidosis. *Int J Cardiol.* 2016; 212: 206–213. doi:10.1016/j.ijcard.2016.03.003.
- [12] Ishiguchi H, Kobayashi S, Myoren T, et al. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a myocardial oxidative stress marker is associated with ventricular tachycardia in patients with active cardiac sarcoidosis. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2017; 10(12): e006764. doi:10.1161/CIRCIMAGING.117.006764.
- [13] Terasaki F, Azuma A, Anzai T, et al. JCS Guideline on Diagnosis and Treatment of Cardiac Sarcoidosis - Digest Version. *Circ J.* 2019; 83(11): 2329–2388.
- [14] Birnie DH, Sauer WH, Bogun F, et al. HRS expert consensus statement on the diagnosis and management of arrhythmias associated with cardiac sarcoidosis. *Heart Rhythm.* 2014; 11(7);1 305–1323. doi:10.1016/j.hrthm.2014.03.043.

- [15] Nanno T, Kobayashi S, Yoshitomi R, et al. Detection of active inflammation status around ventricular aneurysms in patients with cardiac sarcoidosis. *Circ J*. 2019; 83(12): 2494–2504. doi:10.1253/circj.CJ-19-0248.
- [16] Yousuf O, Chrispin J, Tomaselli GF, et al. Clinical management and prevention of sudden cardiac death. *Circ Res*. 2015;116(12):2020-2040. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304555.
- [17] Priori SG, Blomström-Lundqvist C, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Eur Heart J*. 2015; 36(41): 2793-2867. Doi: 10.1093/eurheartj/ehv316.
- [18] Viwe M, Nery P, Birnie DH. Management of ventricular tachycardia in patients with cardiac sarcoidosis. *Heart Rhythm O2*. 2021; 2(4): 412-422. doi: 10.1016/j.hroo.2021.07.005.
- [19] Murakami W, Kobayashi S, Susa T, et al. Recombinant atrial natriuretic peptide prevents aberrant Ca²⁺ leakage through the ryanodine receptor by suppressing mitochondrial reactive oxygen species production induced by isoproterenol in failing cardiomyocytes. *PLoS One*. 2016; 11(9): e0163250. doi:10.1371/journal.pone.0163250.
- [20] Bovo E, Lipsius SL, Zima AV. Reactive oxygen species contribute to the development of arrhythmogenic Ca²⁺ waves during β -adrenergic receptor stimulation in rabbit cardiomyocytes. *J Physiol*. 2012; 590(14): 3291–3304. doi:10.1113/jphysiol.2012.230748.
- [21] Willis BC, Salazar-Cantú A, Silva-Platas C, et al. Impaired oxidative metabolism and calcium mishandling underlie cardiac dysfunction in a rat model of post-acute isoproterenol-induced cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015; 308(5): H467–H477. Doi:10.1152/ajpheart.00734.2013.
- [22] Yano M, Okuda S, Oda T, et al. Correction of defective interdomain interaction within ryanodine receptor by antioxidant is a new therapeutic strategy against heart failure. *Circulation*. 2005; 112(23): 3633–3643. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.555623.
- [23] Anderson ME, Hodgson-Zingman DM. Ventricular tachycardia in patients with heart failure. in: Zipes DP, Jalife J (Eds.) *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*, fifth edition. WB Saunders, 2009, pp. 707–716.
- [24] Curran J, Brown KH, Santiago DJ, et al. Spontaneous Ca waves in ventricular myocytes from failing hearts depend on Ca(2+)-calmodulin-dependent protein kinase II. *J Mol Cell Cardiol*. 2010; 49(1): 25–32. doi:10.1016/j.yjmcc.2010.03.013.
- [25] Kumar S, Barbhuiya C, Nagashima K, et al. Characterization of ventricular substrate and outcomes of catheter ablation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2015; 8(1): 87–93. doi:10.1161/CIRCEP.114.002145.
- [26] Lull RJ, Dunn BE, Gregoratos G, et al. Ventricular aneurysm due to cardiac sarcoidosis with surgical cure of refractory ventricular tachycardia. *Am J Cardiol*. 1972; 30(3): 282–287.

doi:10.1016/0002-9149(72)90073-2.

[27] Miyazawa K, Yoshikawa T, Takamisawa I, et al. Presence of ventricular aneurysm predicts poor clinical outcomes in patients with cardiac sarcoidosis. *Int J Cardiol.* 2014; 177(2): 720–722. doi:10.1016/j.ijcard.2014.10.024.

第 10 章 表、補足図

表 1. 心サルコイドーシス全症例の患者背景

	Over all (n = 89)	¹⁸ F-FDG-PET positive (n = 61)	¹⁸ F-FDG-PET negative (n = 28)	P-value
Age, years	65 ± 11	64 ± 11	67 ± 11	0.303 ‡
Male	38(43)	24(39)	14(50)	0.345*
Cardiac symptoms				
None	15(17)	12(20)	3(11)	0.295*
Syncope	17(19)	11(18)	6(21)	0.705*
Palpitations	19(21)	13(21)	6(21)	0.990*
Dyspnea	55(62)	38(62)	17(61)	0.887*
NYHA class	1.6 ± 0.5	1.6 ± 0.5	1.8 ± 0.6	0.159 ‡
ECG/Holter findings				
Advanced AVB	30(34)	18(30)	12(43)	0.219*
sVT	22(25)	13(21)	9(32)	0.274*
NSVT	17(19)	11(18)	6(21)	0.705*
CLBBB	12(13)	7(11)	5(18)	0.670*
CRBBB	12(13)	8(13)	4(14)	0.880*
Q wave	11(12)	7(11)	4(14)	0.708*
Echocardiography				
LVDd, mm	56 ± 9	55 ± 8	60 ± 10	0.005 ‡
LVEF, %	40 ± 14	43 ± 12	33 ± 13	0.001 ‡
RWMA score	2.2(1.5-2.8)	2.0(1.4-2.7)	3.4(2.1-3.6)	0.003 †
¹⁸ F-FDG-PET				

Cardiac	61(69)	61(100)	0(0)	< 0.001*
Extracardiac				
None	34(38)	24(39)	10(36)	0.743*
Lung	8(9)	7(11)	1(4)	0.226*
Skin	3(3)	3(5)	0(0)	0.233*
Liver	9(10)	8(13)	1(4)	0.166*
Lymph node	30(34)	27(44)	3(11)	0.002*
Other	4 (4)	4(7)	0(0)	0.166*
Positive LGE on CMR	35(90)	30(90)	5(83)	0.574*
Missing 50/89				
Comorbidity				
Coronary artery disease	3(3)	3(5)	0(0)	0.235*
sVT	22(25)	13(21)	9(32)	0.271*
VA	24(27)	19(31)	5(18)	0.190*
Histological diagnosis				
Cardiac	1(1)	1(2)	0(0)	0.496*
Extracardiac				
Lymph node	4(4)	2(3)	2(7)	0.414*
Lung	10(11)	9(15)	1(4)	0.121*
Skin	5(6)	4(7)	1(4)	0.570*
Eye	3(3)	3(5)	0(0)	0.233*
Other	1(1)	1(2)	0(0)	0.496*
Labo data				
BNP, pg/mL	89(40-264)	56(30-129)	301(53-341)	0.141 †
U-8-OHdG, ng/mg·Cr	13.8 ± 6.6	14.9 ± 7.0	11.0 ± 4.4	0.015 ‡
Diagnosis				
JCS2006	89(100)	61(100)	28(100)	
HRS	20(22)	16(26)	4(14)	0.161*
Isolated CS	35(39)	24(39)	11(39)	0.996*
Treatment				

β -blocker	65(73)	45(74)	20(71)	0.817*
Amiodarone	24(27)	17(28)	7(25)	0.777*
Steroid	55(62)	47(77)	8(29)	<0.001*
Device (PM/ICD/CRT)	57(64)	39(64)	18(64)	0.974*

過去の文献より尿中 8-OHdG は 10 ng/mg·Cr 未満を正常値とした [9]。

AVB, complete atrioventricular block; BNP, B-type natriuretic peptide; CLBBB, complete left bundle branch block; CMR, cardiac magnetic resonance; CRBBB, complete right bundle branch block; CRT, cardiac resynchronization therapy; CS, cardiac sarcoidosis; ECG, electrocardiogram; ^{18}F -FDG-PET, ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography, HRS, Heart Rhythm Society; ICD, implantable cardioverter-defibrillator; JCS, Japanese Circulation Society; LGE, late gadolinium enhancement; LVDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVEF, left ventricular ejection fraction; NSVT, non-sustained ventricular tachycardia; NYHA, New York Heart Association; PM, pacemaker; RWMA, regional wall motion abnormality; SBP, systolic blood pressure; sVT, sustained ventricular tachycardia; U-8-OHdG, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; VA, ventricular aneurysm.

Continuous variables are presented as mean \pm standard deviation if normally distributed and median (interquartile range) if not normally distributed. Categorical variables are presented as the number of patients (%).

* χ^2 test, † Mann–Whitney U test, ‡ t-test

表2. 活動性心サルコイドーシス症例の患者背景

	sVT/SCD (-) (n = 46)	sVT/SCD (+) (n = 15)	P-value
Age, years	63 ± 12	70 ± 6	0.019 ‡
Male	16(35)	8(53)	0.202*
NYHA class	1.5 ± 0.5	1.8 ± 0.4	0.031 ‡
LVDD, mm	54 ± 7	57 ± 10	0.150 ‡
LVEF, %	45 ± 13	40 ± 9	0.207 ‡
RWMA score	2.00(1.34-2.75)	2.59(1.97-2.62)	0.038 †
SBP, mmHg	111(104-118)	104(102-113)	0.017 †
HR, bpm	71 ± 10	70 ± 10	0.776 ‡
BNP, pg/mL	50(29-111)	129(92-265)	0.001 †
U-8-OHdG, ng/mg·Cr	12.7 ± 6.0	21.0 ± 6.2	<0.001 ‡
CRP, mg/dL	0.09(0.06-0.18)	0.10(0.05-0.12)	0.591 †
TNF-α, pg/mL	1.4(0.9-2.1)	1.6(1.2-1.7)	0.905 †
IL-6, pg/mL	2.3(1.7-3.8)	2.0(1.9-2.3)	0.277 †
ACE, U/L	11.4(8.9-15.5)	9.8(6.3-16.5)	0.289 ‡
eGFR, mL/min/1.73 m ²	65.1 ± 21.0	61.1 ± 22.8	0.532 ‡
TnT, ng/mL	0.015(0.011-0.019)	0.009(0.007-0.145)	0.977 †
SUVmax	5.9 (4.1-7.5)	5.4(4.0-7.0)	0.816 ‡
Positive LGE on CMR	24(89)	6(100)	0.392*

Missing 28/61			
Inducibility	5(56)	3(43)	0.614*
on VT study			
missing 45/61			
Comorbidity			
HT	19(41)	6(40)	0.929*
DL	17(37)	6(40)	0.833*
DM	8(17)	5(33)	0.190*
Advanced AVB	15(33)	3(20)	0.352*
Coronary artery disease	2(4)	1(7)	0.718*
VA	10(22)	9(60)	0.005*
sVT	5(11)	8(53)	<0.001*
Treatment			
ACEI/ARB	31(67)	12(80)	0.352*
β-blocker	33(72)	12(80)	0.528*
Amiodarone	10(22)	7(47)	0.061*
Loop diuretics	12(26)	9(60)	0.016*
Aldosterone antagonist	8(17)	5(33)	0.190*
Statin	10(22)	5(33)	0.365*
Steroid	34(74)	13(87)	0.308*
Device (PM/ICD/CRT)	26(57)	13(87)	0.035*

ACE, angiotensin-converting enzyme; ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitor;

ARB, angiotensin receptor blocker; AVB, atrioventricular block; BNP, B-type natriuretic

peptide; CMR, cardiac magnetic resonance; CRP, C-reactive protein; CRT, cardiac resynchronization therapy; CS, cardiac sarcoidosis; DL, dyslipidemia; DM, diabetes mellitus; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HF, heart failure; HR, heart rate; HT, hypertension; ICD, implantable cardioverter-defibrillator; LGE, late gadolinium enhancement; IL-6, interleukin-6; LVDd, left ventricular end-diastolic diameter; LVEF, left ventricular ejection fraction; NYHA, New York Heart Association; PM, pacemaker; RWMA, regional wall motion abnormality; SBP, systolic blood pressure; SCD, sudden cardiac death; SUVmax, maximum standardized uptake value; sVT, sustained ventricular tachycardia; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; TnT, troponin T; U-8-OHdG, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; VA, ventricular aneurysm; VT, ventricular tachycardia.

Continuous variables are presented as mean \pm standard deviation if normally distributed and median (interquartile range) if not normally distributed. Categorical variables are presented as the number of patients (%).

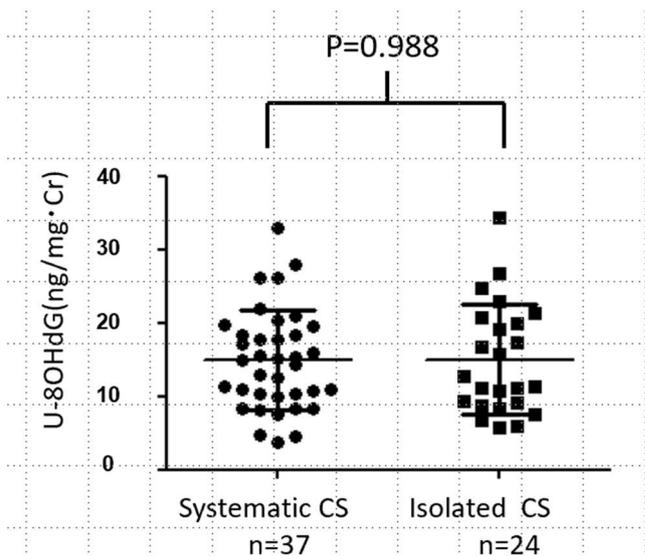
* χ^2 test, † Mann–Whitney U test, ‡ t-test

表 3. 活動性心サルコイドーシス症例における sVT/SCD 予測因子に関する単変量
および多変量解析結果

	Univariable			Multivariable					
				Model 1			Model 2		
	HR	95%CI	P-value	HR	95%CI	P-value	HR	95% CI	P-value
Age	1.064	1.006-1.125	0.030	1.071	0.977-1.174	0.145			
Male	2.467	0.881-6.907	0.087	4.020	0.796-20.290	0.092			
NYHA class	3.172	0.894-11.258	0.082	0.604	0.111-3.275	0.559			
LVDd, mm	1.038	0.983-1.095	0.180	0.947	0.835-1.073	0.392			
LVEF, %	0.977	0.937-1.019	0.281						
RWMA score	1.693	0.848-3.382	0.117	0.599	0.186-1.928	0.390			
SBP, mmHg	0.957	0.920-0.996	0.032	0.938	0.872-1.010	0.089			
BNP, pg/ml	1.005	1.002-1.009	0.005	1.005	0.997-1.012	0.246			
CRP, mg/dL	0.019	0.000-19.801	0.264						
eGFR, mL/min/1.73 m ²	0.994	0.970-1.018	0.611						
U-8-OHdG, ng/mg·Cr	1.124	1.054-1.199	<0.001	1.097	0.975-1.234	0.124	1.118	1.046-1.195	0.001
Presence of VA	4.687	1.654-13.285	0.004	5.096	1.005-25.849	0.049	4.180	1.380-12.664	0.011
History of sVT	3.940	1.426-10.883	0.008	2.323	0.493-10.942	0.287	2.728	0.904-8.234	0.075
Inducibility on VT study missing 45/61	0.495	0.110-2.233	0.360						
Amiodarone	2.133	0.772-5.893	0.144	0.880	0.134-5.777	0.894			
β-blocker	1.426	0.402-5.059	0.583						

Loop diuretic	2.887	1.023-8.143	0.045	0.499	0.081-3.094	0.455			
Steroid	2.201	0.496-9.765	0.299						
Device (PM/ICD/CR T)	3.298	0.739-14.705	0.118	1.934	0.241- 15.533	0.0.53 5			

BNP, brain natriuretic peptide; CI, confidence interval; CMR, cardiac magnetic resonance; CRP, C-reactive protein; CRT, cardiac resynchronization therapy; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HR, hazard ratio; ICD, implantable cardioverter-defibrillator; LGE, late gadolinium enhancement; LVDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVEF, left ventricular ejection fraction; NYHA, New York Heart Association; PM, pacemaker; RWMA, regional wall motion abnormality; SBP, systolic blood pressure; sVT, sustained ventricular tachycardia; U-8-OHdG, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; VA, ventricular aneurysm, VT, ventricular tachycardia.



補足図 1

サルコイドーシスの全身負荷が尿中 8-OHdG レベルに影響を与えるかどうかを調べるために、全身性サルコイドーシス（心臓外サルコイドーシスを伴う）（N = 37）と孤立性心サル

コイドーシス (N = 24) の U-8OHdG レベルを比較した (表 1) 。 全身性サルコイドーシスと孤立性心サルコイドーシスの間で尿中 8-OHdG レベルに差はなかった (全身性サルコイドーシス; $14.9 \pm 6.8 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$ 対孤立性心サルコイドーシス; $15.0 \pm 7.5 \text{ ng / mg} \cdot \text{Cr}$ 、 $P = 0.99$)。