

〈特集：ゲノム解析で見つかったProtein Markerの意義
—PTX3は新たな炎症マーカーとして認知されるか—〉

Pentraxin familyの中でのPTX3の位置づけ

前村 浩二¹⁾、志賀 太郎²⁾

The role of PTX3 in the pentraxin family

Koji Maemura¹⁾ and Taro Shiga²⁾

Summary C-reactive protein (CRP) is an established marker for predicting cardiovascular events. The long pentraxin 3 (PTX3) shares a structural homology with CRP and is produced abundantly by vascular endothelial cells and macrophages, while CRP is mainly produced in the liver. Thus PTX3 is expected to be a more specific marker for cardiovascular inflammation. We examined plasma PTX3 and serum CRP levels in 259 consecutive patients who underwent coronary angiography. The correlation between the concentrations of PTX3 and CRP was very low (Spearman's $\rho=0.177$), suggesting that PTX3 is independent of CRP as a marker for cardiovascular events. Among all enrolled patients, levels of PTX3 but not CRP were significantly higher in the acute coronary syndrome group than in other groups. In conclusion, PTX3 may reflect active inflammation that leads to plaque ruptures more specifically than CRP.

Key words: PTX3, CRP, Pentraxin, Inflammation, Biomarker

I. はじめに

C-reactive protein (CRP) はpentraxin familyに属するタンパクであり、急性期反応タンパクとして古くから炎症マーカーとして確固たる地位を築いている。さらに、高感度CRPが測定できるようになり、微細な炎症も反映できるようにな

ると、心血管イベント発症のリスク層別化など、循環器系のバイオマーカーとしても広く認識されるに至った。最近、CRPと同じpentraxin familyに属すが、その産生部位、発現動態がCRPとは異なるpentraxin 3 (PTX3) が高感度に測定できるようになり、その臨床的意義が注目されている。

¹⁾長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科
循環病態制御内科学

〒852-8501 長崎県長崎市坂本1-7-1

²⁾東京大学大学院医学系研究科 循環器内科

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

¹⁾Department of Cardiovascular Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan

²⁾Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

本稿では、PTX3のPentraxin superfamily内での位置づけを、特に、CRPとの対比で紹介し、その臨床応用について概説したい。

II . Pentraxin Superfamily

生体内に病原体が侵入した時の生体防御システムである免疫系には、自然免疫系と獲得免疫系がある。獲得免疫はT細胞や抗体などのように特定の抗原に対して獲得されるものである。これに対し、自然免疫は、生体が生まれつき持っている免疫系で、NK細胞、マクロファージ、顆粒球などの細胞性免疫と、補体系などの液性免疫から成り立っている。これまで自然免疫系は非特異的な免疫反応と考えられていたが、最近、Toll-like receptor (TLR：Toll様受容体)が病原体に特異的な構成成分の認識に重要な役割を果たしていることが明らかとなり一躍注目を浴びている。液性の自然免疫系は補体系と、病原体共通の構造パターンを認識するパターン認識受容体からなる。パターン認識受容体にはcollectin (surfactant protein-A(SP-A)やSP-D)、ficolin、pentraxinなどが属し、微生物や組織傷害に反応して好中球、マクロファージ、樹状細胞など細胞性の自然免疫細胞と相互作用すると

もに、補体系の活性化にとって重要な働きをする¹⁾。

Pentraxinにはいくつかのタンパクが存在しsuperfamilyを形成している (図1)^{1,2)}。Pentraxin superfamilyの分子は、そのC末端側に約200アミノ酸残基からなる相同性の高いpentraxinドメインもつ。特に、その中でも8アミノ酸から成る配列 (HxCxS/TWxS、xはどのアミノ酸でも可)は保存されており、pentraxin signatureと呼ばれている。Pentraxin domainに隣接するN末端側の長さは異なり、短いShort pentraxin familyと、長いlong pentraxin familyに分けられる。CRPとserum amyloid P component (SAP)はshort pentraxinであり、PTX3はlong pentraxinである。

1. Short Pentraxin

CRPは肺炎球菌のC-polysaccharideに反応する急性反応タンパクとして、1930年代にヒト血清中から発見され、その後、75年以上も炎症マーカーとして用いられて来た。血中のCRPレベルは、従来の測定法では測定できないほど低値 (≤ 0.3 mg/dl)であるが、急性炎症により1,000倍程までに上昇する。ヒトSAPはCRPとアミノ酸配列の相同性 (51%)のあるタンパクとして同定されが、CRPがヒトで急性反応タンパクと

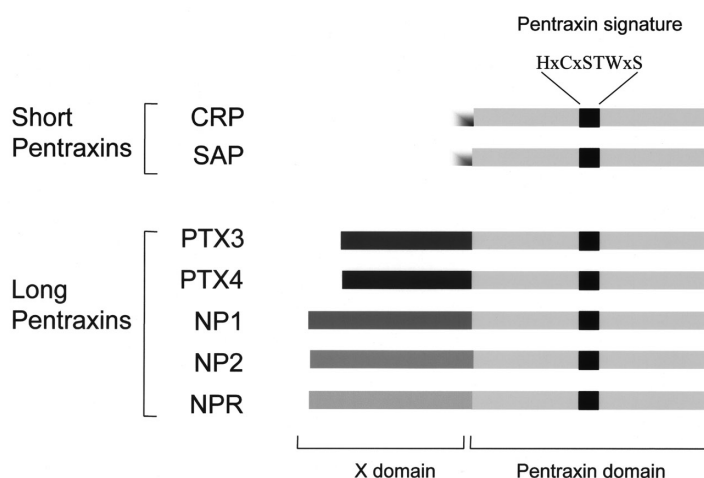


図1 Pentraxin familyの模式図 (文献2)より改変して引用)

Pentraxin familyに属するタンパクはC末端側のPentraxin domainという共通構造と、それぞれ異なるN末端側の構造からなる。さらに、Pentraxin domain内にはPentraxin signatureと呼ばれる保存された配列がある。

して働くのに対し、SAPはヒトでは恒常的に発現している。実際ヒトでSAPは血中に30-50 mg/lの濃度で定常的に存在する。一方、マウスではSAPが急性反応タンパクとして働いており、マウスにおけるCRPに相当すると考えられている。

CRP遺伝子はchromosome 1q23に存在し2つのexonをもつ。最初のexonはleaderペプチドと成熟タンパクの最初の2アミノ酸残基をコードしている。2番目のexonは残りの204アミノ酸をコードしている。ヒトのCRPは115 kDaの5量体として存在し、36番目と97番目にシステイン残基を持ちS-S結合に寄与している¹⁾。

CRPは肺炎球菌のC-polysaccharide内のphosphorylcholine (PC) と結合することにより急性反応を来す。さらに、CRPは、真菌、酵母、細菌、寄生虫などの微生物ともPCを介して結合する。また、CRPは、変性したlow-density lipoprotein (LDL) ともPCを介して結合し、動脈硬化病変において変性したLDLと共存することが知られている。

CRP同様、SAPもA型溶連菌や髄膜炎菌など様々な細菌と結合する。さらに、インフルエンザウイルスとも結合する。SAPは、lipopolysaccharide (LPS) を介していくつかの細菌と結合し、LPSによる補体の活性化を防ぐ作用がある。一方、A型溶連菌や大腸菌と結合して微生物を貪食から防ぐことにより、毒性を増強する作用もある。Pentraxinは微生物のみでなく傷害された組織も認識し、アポトーシスに陥った細胞の排除にも関与する。ヒトCRPは、傷害された細胞やアポトーシスに陥った細胞の膜に、さまざまなphospholipids (PCとphosphoethanolamine (PE)) を介して結合する。CRPやSAPは、補体のC1qと結合してclassicalな補体系を活性化する。sap-/-マウスは糸球体腎炎やSLEに似た病態を発症することが報告されている²⁾。このことはSAPがクロマチンにより誘導される自己免疫を防ぐ働きがあることを示している。

2. Long Pentraxin

long pentraxinは、short pentraxinの発見よりかなり遅れて、1990年代に特定の組織でサイトカインにより誘導される物質として同定された(血管内皮細胞や神経など)。Long pentraxin familyタンパクはC末端側に相同性の高いpentraxin

domainを有しているが、N末端側の相同性は低い。また染色体上の位置、産生部位、産生刺激やリガンドがshort pentraxinと異なる。

PTX3は当初、血管内皮細胞においてinterleukin-1 (IL-1) により誘導される物質として同定された³⁾。その後、マクロファージ、樹状細胞、線維芽細胞からもLPS、TLR、TNF- α 、IL-1 β などに反応して産生されることが明らかになった⁴⁾。血中のPTX3レベルは正常状態では低い(< 2 ng/ml)、敗血症や他の炎症により劇的に上昇する。

ヒトPTX3遺伝子は、chromosome 3q25に存在する。PTX3タンパクは381アミノ酸残基より成り分子量40 kDaであり血中では8量体を形成している。C-末端側の203個のアミノ酸から成るpentraxin domainと、そのN-末端側に178個のアミノ酸がある。PTX3は補体C1qやある特定の病原物質などと高いアフィニティを持ち、補体活性化の調節、貪食細胞の認識機構等に働き、免疫応答に関与することも明らかにされている。CRPやSAPはヒトとマウスで構造や発現動態が大きく異なり、遺伝子改変マウスの解釈には注意を要するが、PTX3はヒトとマウスで良く保存されており、遺伝子改変マウスの結果がヒトにおけるPTX3の機能を反映していると考えられる。

PTX3欠損マウスは不妊になることが示され、PTX3が生殖に重要であることが明らかとなった。SalioらはPTX3欠損マウスで急性心筋梗塞モデルを作成し、PTX3の有無と心筋梗塞巣のダメージの大きさについて比較した。その結果、PTX3欠損マウスの方が心筋梗塞のダメージが大きく、PTX3は心臓の保護的役割を持つ可能性が示された⁵⁾。さらに、動脈硬化モデルとして用いるApoE欠損マウスとPTX3欠損マウスのダブルノックアウトマウスでは動脈硬化が増悪し、PTX3が動脈硬化に対しても保護的に働くことが明らかになった⁶⁾。このように、PTX3は液性の自然免疫に関する機能以外にも多彩な機能を持ち、血管新生や細胞基質のリモデリングに関する機能も有している。

PTX3以外のlong pentraxinとしては、神経組織より同定されたNP1、NP2、NPRと、PTX3との相同性から同定されたPTX4がある⁷⁾。NP1(またはNPTX1とも呼ばれる)は蛇由来の神経毒

表1 PTX3、CRP、SAPのリガンド(文献2より引用)。PTX3とshort pentraxinは異なったりガンドを認識する。

	PTX3	CRP	SAP
membrane moieties:			
PC	-	+	-
PE	-	-	+
Galactomannan	+	NT	NT
LPS	-	-	+
OmpA	+	NT	NT
Complement components:			
C1q	+	+	+
C4b-binding protein	-	-	+
Cytokines—Growth factors:			
FGF2	+	+/-	NT
IL-1; other growth factors, cytokines and chemokines	-	NT	NT
Matrix proteins:			
TSG6	+	NT	NT
Laminin	-	+	+
Type IV collagen	-	-	+
Fibronectin	-	+	+
Chondroitin sulfate	-	NT	+
Hyaluronic acid	-	NT	NT
Microbes:			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	NT
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	NT	NT
<i>Salmonella typhimurium</i>	+	-	+
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	+	NT	NT
Zyosan	+	+	+
Miscellaneous:			
Apoptotic cells	+	+	+
Histones	+	+	+
Heparin	-	-	+
Mo β DG	-	-	+

taipoxinに結合する物質として同定された。NP2(またはNP2X、Narpとも呼ばれる)はシナプス活動の早期に誘導される物質として同定された。NP2はNP1と異なり神経以外の多くの組織で発現している。NPRは、NP1とともに脳で発現しており、NP1とともにtaipoxinに結合する。

3. CRPと比較したPTX3の特徴

CRPとPTX3は微生物や変性した自己(アポトーシス細胞など)を認識し、補体を活性化し、マクロファージによる貪食を促進する点では類似している。しかし、前述したようにPTX3、CRP、SAPが認識するリガンドは異なり表1に示す通りである。PTX3はLPSやshort pentraxinのリガンドであるPCやPEには結合しない。さらに、CRPとPTX3の最も大きな違いはその産生部位と発現誘導刺激である。CRPは主に肝臓でIL6の刺激によって産生される。肝臓以外でもCRP mRNAの発現が報告されてはいるが、血中のCRPレベルに寄与する程ではない。これに対し

PTX3は肝臓以外の炎症発生病所TLRの活性化や炎症性サイトカインにより直接誘導される(図2)⁷⁾。また、またPTX3は、好中球内の特殊顆粒にも蓄えられており、炎症刺激や病原体の認識などにより迅速に分泌される⁷⁾。このような特徴のために、PTX3はCRPとは異なった病態を反映するマーカーと考えられ、CRPよりも迅速かつ特異的な炎症マーカーになると期待されている。

以下ではPTX3の臨床的意義、特に、心血管疾患での意義についてCRPと比較しながら紹介したい。

Ⅲ. 心血管疾患とCRP

血管壁への機械的刺激、アンジオテンシンⅡやサイトカインによる刺激や感染による刺激により血管に炎症が生じ、その結果動脈硬化が進展すると考えられている。炎症部位ではIntracellular adhesion molecule-1(ICAM-1)、

Vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) やセレクチンなどの細胞接着関連因子やmonocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) の発現が増加し炎症細胞が動脈壁内へ誘導される。単球は活性化マクロファージとなり、泡沫細胞が形成される。その後、泡沫細胞の集簇や血管平滑筋細胞の遊走増殖がすすみ、プラークの発育、血管壁のリモデリングなどが進行して動脈硬化が形成されていくと考えられている。事実、動脈硬化巣の病理像ではTリンパ球、好中球やmonocyteの浸潤像や壊死像が観察され、同部位にはIL-1 β 、TNF- α やIL-6といった炎症性サイトカイン

の産生増加と活性化されたマクロファージが認められる。さらに、粥種が最終的には破裂またはびらんを形成することにより血栓を形成し、急性冠症候群をはじめとする血管イベントにつながる。この際にも粥種に浸潤している炎症細胞が大きな役割を果たしていることが知られている。このように血管の慢性炎症は動脈硬化病変の形成からその破綻に至るまで重要な役割を果たすことが明らかとなり、炎症に関わるサイトカインや反応タンパクなどの炎症性物質が動脈硬化の病態を反映すると期待されるようになった。

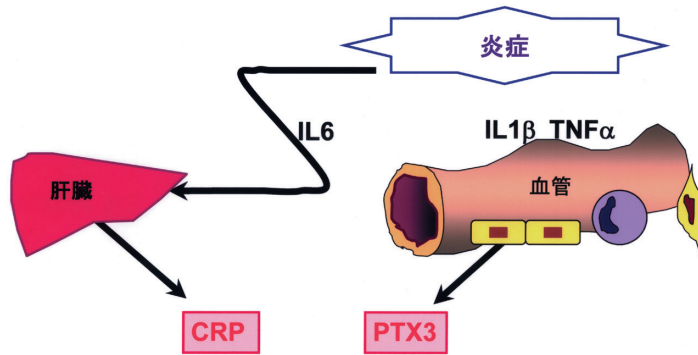


図2 PTX3とCRPの産生部位と誘導刺激
CRPは主に肝臓でIL6の刺激によって産生される。一方、PTX3は肝臓以外の炎症のある部位でTLRの活性化や炎症性サイトカインにより直接誘導される。

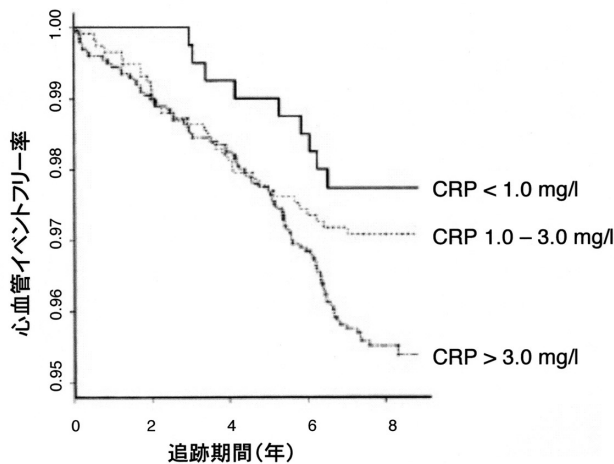


図3 CRPの層別化と心血管イベント発症の関係 (文献8)より引用)。CRP値はその後の心血管イベント発症を予知するマーカーである。

近年、CRPの高感度測定法が一般臨床で実用化されるようになって、体内での微小な炎症存在も検出することが可能となった。その結果、病態の微細な変化をとらえ、その変化とイベント発生の関係を解析できるようになった。心血管疾患領域においても数多くの高感度CRPに関係した論文が発表されてきた。その代表的なものに、血清CRP値が動脈硬化症患者の心血管イベントの発生と良く相関し、心血管疾患のリスクを予測する因子となるというRidkerらによる報告がある(図3)⁸⁾。このように血管炎症マーカーとして高感度CRPが用いられているが、周知のとおり血中CRP値は感染や慢性炎症性疾患など多くの疾患を原因として非特異的に上昇する。そこで、より血管特異的な炎症マーカーが模索されている。その中でCRPと類似の構造をもつが、動脈硬化部位局所からの発現しているPTX3の血管炎症マーカーとしての有用性が注目されている。

IV. 心血管疾患とPTX3

PTX3のアッセイ系が確立され、心血管疾患とPTX3との関係を示す論文が数多く報告されてい

る。その他、PTX3は、敗血症、アスペルギルス感染、結核、デング熱などで上昇することが報告されている。

最後に、我々が東大病院において心臓カテテル検査を受けた連続259例を対象に血中のPTX3と高感度CRPを測定した結果を紹介したい。PTX3値とCRP値の相関は非常に弱く(図4)、PTX3はCRPとは異なった病態を反映していることが確認された。急性冠症候群において有意にPTX3は高値であったが、同一症例でCRP値は上昇を認めたものの有意ではなかった(図5)。これによりPTX3が冠動脈プラークの不安定性をCRPより良く反映する可能性が示唆された。また、Inoueらも同様の報告をしている⁹⁾。また、PTX3値がその後の心血管イベント発症の予測因子となることも示された(図6)。

V. おわりに

Pentraxin familyとその中でのPTX3の位置づけを、特に、CRPとの対比で概説した。CRPは炎症マーカーとして確固たる地位を築いているが、全身の炎症を反映し肝臓から分泌されるCRPの心血管疾患における特異性については依然疑問

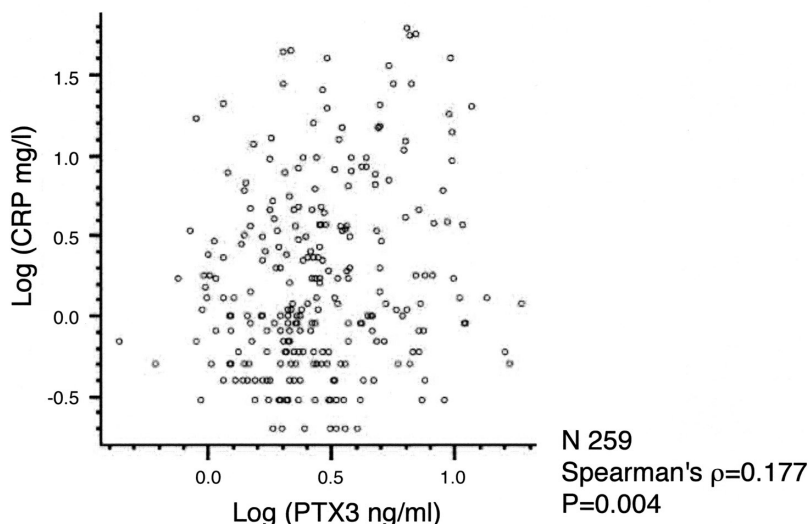


図4 PTX3値とCRP値の相関
心臓カテテル検査を受けた症例でPTX3値とCRP値を比較すると、非常に弱い相関が認められるのみであった。

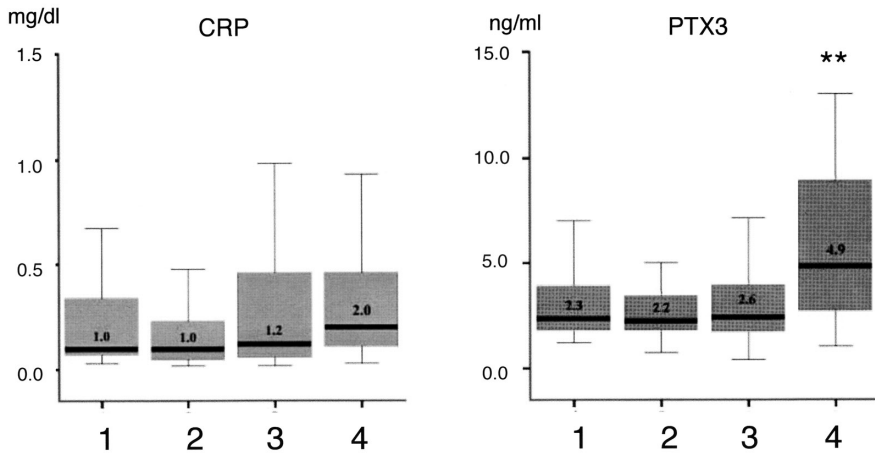


図5 PTX3は冠動脈病変の不安定性を反映する
 心臓カテーテル検査を受けた259例で冠動脈造影所見別にPTX3値を比較した。不安定狭心症群で有意におPTX3が上昇していた。一方、同一症例でCRP値には有意差が無かった。
 **: $p < 0.01$ 、中央線は群の中央値を示す。
 1：冠動脈正常群、2：冠動脈25～50%狭窄群、3：冠動脈75%以上狭窄群、ただし、安定型狭心症、4：不安定狭心症群

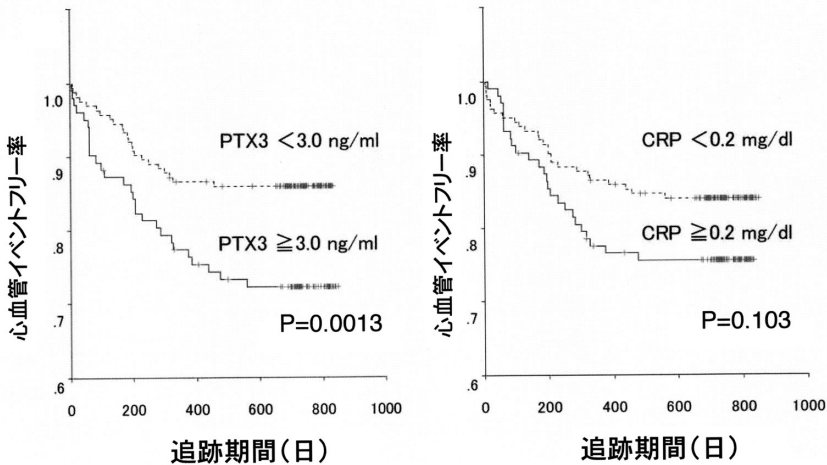


図6 PTX3は心血管イベント発症の予知マーカーとなる
 心臓カテーテル検査を受けた259例のPTX3値、CRP値と、その後の心血管イベントの発症について検討した。その結果、PTX3が3.0 ng/ml以上の患者群において心血管イベントの発症率が有意に高いことが示された。同一症例群でCRPによる層別化では有意差を認めなかった。

が残る。その点、PTX3は炎症部位局所から分泌され、また、疾患発症後、比較的早期から分泌されるタンパクであり、疾患特異性等バイオマ

ーカーとしての役割が十分に期待できるタンパクと考えられた。最近、高感度PTX3の測定が可能となったことより、心血管病をはじめとして、

炎症性疾患の診断と治療に役立つバイオマーカーとしてのさらなる研究発展が期待される。

文献

- 1) Bottazzi B, Doni A, Garlanda C, Mantovani A: An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol*, 28: 157-183, 2010.
- 2) Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A: Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol*, 23: 337-366, 2005.
- 3) Botto M, Hawkins PN, Bickerstaff MC, Herbert J, Bygrave AE, McBride A, Hutchinson WL, Tennent GA, Walport MJ, Pepys MB: Amyloid deposition is delayed in mice with targeted deletion of the serum amyloid P component gene. *Nat Med*, 3: 855-859, 1997.
- 4) Introna M, Alles VV, Castellano M, Picardi G, De Gioia L, Bottazzai B, Peri G, Breviario F, Salmona M, De Gregorio L, Dragani TA, Srinivasan N, Blundell TL, Hamilton TA, Mantovani A: Cloning of mouse ptx3, a new member of the pentraxin gene family expressed at extrahepatic sites. *Blood*, 87: 1862-1872, 1996.
- 5) Salio M, Chimenti S, De Angelis N, Molla F, Maina V, Nebuloni M, Pasqualini F, Latini R, Garlanda C, Mantovani A: Cardioprotective function of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation*, 117: 1055-1064, 2008.
- 6) Norata GD, Marchesi P, Pulakazhi Venu VK, Pasqualini F, Anselmo A, Moalli F, Pizzitola I, Garlanda C, Mantovani A, Catapano AL: Deficiency of the long pentraxin PTX3 promotes vascular inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 120: 699-708, 2009.
- 7) Garlanda C, Maina V, Cotena A, Moalli F: The soluble pattern recognition receptor pentraxin-3 in innate immunity, inflammation and fertility. *J Reprod Immunol*, 83: 128-133, 2009.
- 8) Ridker PM: Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention: *Circulation*, 107: 363-369, 2003.
- 9) Inoue K, Sugiyama A, Reid PC, Ito Y, Miyauchi K, Mukai S, Sagara M, Miyamoto K, Satoh H, Kohno I, Kurata T, Ota H, Mantovani A, Hamakubo T, Daida H, Kodama T: Establishment of a high sensitivity plasma assay for human pentraxin3 as a marker for unstable angina pectoris. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27: 161-167, 2007.