

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：32665
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2021
課題番号：19K16621
研究課題名(和文)冠動脈不安定粥腫ブタにおけるステント留置後の第Xa因子阻害抗凝固薬の効果の検討

研究課題名(英文)Efficacy of Factor Xa Anticoagulant Monotherapy after Drug-Eluting Stent Implantation in a Human-Like Coronary Atherosclerotic Porcine Model

研究代表者
北野 大輔(KITANO, Daisuke)
日本大学・医学部・助教

研究者番号：40815495
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：冠動脈ステント(DES)留置後の直接作用型第Xa因子阻害抗凝固薬(Xa-i)単剤のステント内血栓抑制効果を含めた有効性・安全性をLDLコレステロール受容体ホモ欠損(LDLR-/-)ブタモデルを用いて検討することを目的とした。LDLR-/-ブタの冠動脈病変にDESを留置し、Xa-iエドキサバン単剤および抗血小板薬二剤併用療法下に1ヶ月飼育した。1ヶ月後、光干渉断層法ではXa-i単剤群の方が新生内膜が薄かった。組織学的検討ではステント周囲のフィブリン血栓の沈着および炎症細胞浸潤は同等だった。明らかなステント内血栓は認めなかった。以上より、DES留置時からXa-i単剤でも安全であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ヒトに類似した大動物モデルを用いた本研究の成果は、薬剤溶出性ステント留置時から直性作用型経口抗凝固薬単剤でも安全性に寄与するだけでなく、ステント再狭窄の抑制に繋がる可能性があり、今後実臨床においてより少ない抗血栓薬の投与で十分な冠動脈ステント留置治療を行うことができることを支持するという重要な意義を持つ。

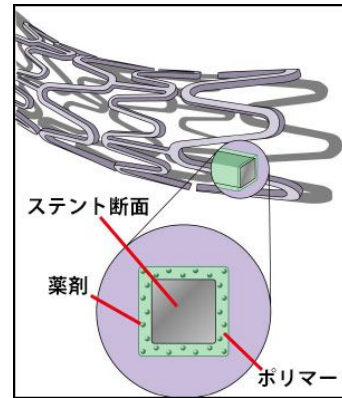
研究成果の概要(英文)：Background: We evaluated the safety and efficacy of factor Xa inhibitor, edoxaban monotherapy in a low-density lipoprotein receptor knockout (LDLR-/-) miniature pig with human-like unstable coronary plaques compared to conventional dual-antiplatelet therapy (DAPT). Methods & results: Drug-eluting stents (DES) were implanted in LDLR-/- pigs with unstable coronary plaque. The pigs were given a DAPT comprising of aspirin and clopidogrel or an edoxaban orally 3 days before DES implantation and then daily throughout the follow-up period. One month after DES implantation, optical coherence tomography assessment showed the neointima in the edoxaban was thinner than that in the DAPT. Histological analysis revealed fibrin deposits and inflammatory cells infiltration in the peri-strut region were similar in both groups. No in-stent thrombi were observed. Conclusion: Our results showed that the edoxaban monotherapy was non-inferior to DAPT after DES implantation in terms of safety and efficacy.

研究分野：循環器内科学

キーワード：直接作用型経口抗凝固薬 薬剤溶出性ステント 冠動脈狭窄症 大動物モデル 血管内イメージング 抗血栓療法

1. 研究開始当初の背景

狭心症や心筋梗塞などの冠動脈疾患に対して、狭窄した冠動脈の内腔を金属製の網目状の筒（ステント）により拡張することで冠動脈の血行を改善させるカテーテル治療である経皮的冠動脈形成術が行われている。現在は主にステントに新生内膜の増殖を抑制する効果のある薬剤を塗布した薬剤溶出性ステント（Drug-Eluting Stent: DES）が用いられている（右図、名古屋ハートセンターより）。DES の登場により、冠動脈再狭窄が劇的に減少したが、DES 留置後の早期ステント血栓症、および晩期のステント内新規動脈硬化などの合併症は依然として問題となっている。



同時に DES 留置後のステント血栓症を予防するためにアスピリンとチエノピリジン系抗血小板薬の 2 剤併用療法（Dual Anti-Platelet Therapy: DAPT）が必要となる。さらに昨今の高齢化に伴い、冠動脈疾患患者において心房細動を合併する症例が増加傾向にある。つまり、冠動脈ステント留置が必要な場合、DAPT に加えて経口抗凝固薬を追加し、3 剤併用が必要となる。しかし、これら 3 剤の併用療法は出血リスクが増大することが示されており、ハイリスク症例では課題となっている。近年、直接作用型経口抗凝固薬（Direct Oral Anti-coagulant: DOAC）が開発され、欧州循環器学会はステント留置時の DAPT と DOAC の使用に関するガイドラインを発表したが（我が国のガイドラインは未改定）、抗血小板薬と DOAC の最適な組み合わせおよび至適投与期間、更に DOAC の生体内における血管内反応（動脈硬化抑制作用など）は未だ明らかとなっていない。特に、出血リスクを抑える DOAC 単剤または DOAC と抗血小板薬 1 剤併用療法のステント留置後血栓形成抑制効果は明らかになってはいない。

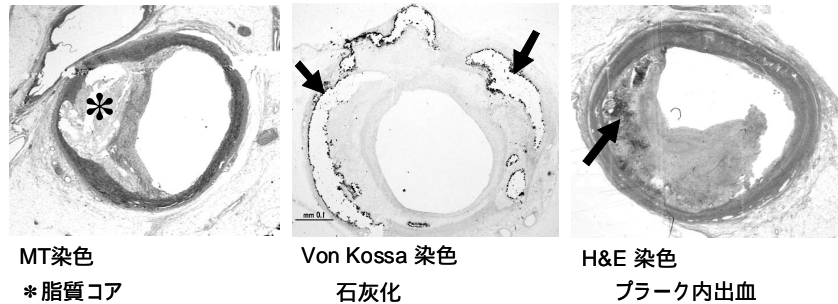
2. 研究の目的

本研究の目的は、LDL コレステロール受容体ホモ欠損（LDLR^{-/-}）ブタ冠動脈不安定粥腫モデルを用いて、DOAC の一つである直接型第 Xa 因子阻害抗凝固薬（Xa-i）が DES 留置後のステント内血栓形成にどのように作用するか、また動脈硬化の進展に影響を及ぼしているのかを血管内イメージングモダリティ（血管内超音波（IVUS）、血管内光干渉断層法（OCT））を用いて観察・比較し、そして病理・組織学的解析を加味する。これらにより Xa-i の DES 留置後のステント血栓に対する抑制効果と、DES 留置後の血管内皮障害及びステント内新規動脈硬化に対する抑制効果を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) LDLR^{-/-}ブタに高脂肪食負荷を行い、冠動脈不安定粥腫モデルを作製する。

我々の研究グループにおいて 3 ヶ月齢の LDLR^{-/-}ブタに 1.5%コレステロールと 15%牛脂を含む高脂肪食を 4 ヶ月間与えることで、冠動脈に平均 3 箇所不安定粥腫を作製することに成功した（Li Y, et al. JAHA. 2016、下図）。本研究においても同様の方法で冠動脈不安定粥腫モデルを作製した。



(2) 冠動脈不安定粥腫病変部に DES を留置し抗血栓薬を投与する。

冠動脈に不安定粥腫を形成した LDLR^{-/-}ブタに冠動脈造影、IVUS、OCT を施行し、不安定粥腫の特徴と部位を確認した。冠動脈粥腫病変を確認後、一頭の LDLR^{-/-}ブタの右冠動脈および左冠動脈前下行枝に第三世代 DES (SYNERGY, Boston Scientific 社, USA) を 1 本ずつ留置した。以上のステント留置ブタモデルを 8 頭作成し二群に分け、次の通り抗血栓薬を投与した。ステント留置 3 日前より実験終了まで、抗血小板薬 2 剤併用療法 (DAPT) としてアスピリン 100 mg/日およびチエノピリジン系抗血小板薬であるクロピドグレル 75 mg/日を経口投与、または Xa-i 単独群としてエドキサバン 3 mg/kg/日を経口投与にて行なった。

(3) ステント留置後 1 ヶ月間観察する。

ステント留置後も引き続き 1.5% コレステロールと 15% 牛脂による高脂肪食負荷を継続して行なった。我々の過去の実験の結果 (Kitano D, et al. J Atheroscler Thromb. 2020) からステント新生内膜の性状を評価するためには 1 ヶ月間で十分であることが確認されているため、本研究の観察期間は 1 ヶ月とした。ステント留置後 LDLR^{-/-}ブタを飼育継続し、1 ヶ月後に冠動脈造影、IVUS、OCT を施行し冠動脈内の観察を行なった。観察終了後、LDLR^{-/-}ブタを安楽死させ、ステント留置部位の冠動脈を取り出し、樹脂包埋及びパラフィン包埋ブロックを作製し、病理組織学的検討を行なった。

(4) 評価項目

臨床的血管内イメージング評価

OCT (C7 ILUMIEN, Dragonfly, Abbott Vascular 社, USA) を用いてステントと血管の圧着度、血管径、内腔径、壁在血栓、新生内膜の厚さを観察した。

病理組織学的評価

ステント留置部位の冠動脈を取り出し、樹脂包埋及びパラフィン包埋ブロックを作製し、HE 染色および Masson's trichrome 染色を用いて病理組織学的検討を行った。評価項目は血管面積、血管内腔面積、ステント新生内膜の面積と壁在血栓、ステントストラット周囲のフィブリン蓄積および炎症細胞浸潤の程度を評価した。上記の測定方法に関しては我々の過去の論文を参照 (Kitano D, et al. J Atheroscler Thromb. 2020, Migita S, et al. scientific reports. 2021)。

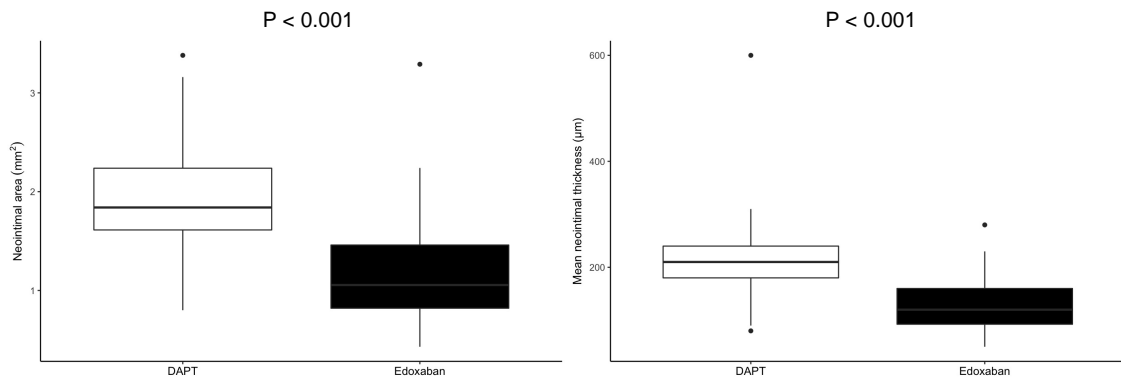
(5) 統計学的解析

値は平均 ± 標準誤差または中央値 [四分位範囲] で表記した。群間の比較は student's t 検定または Mann-Whitney U 検定を用いた。統計ソフトは RStudio を使い、p 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした。

4. 研究成果

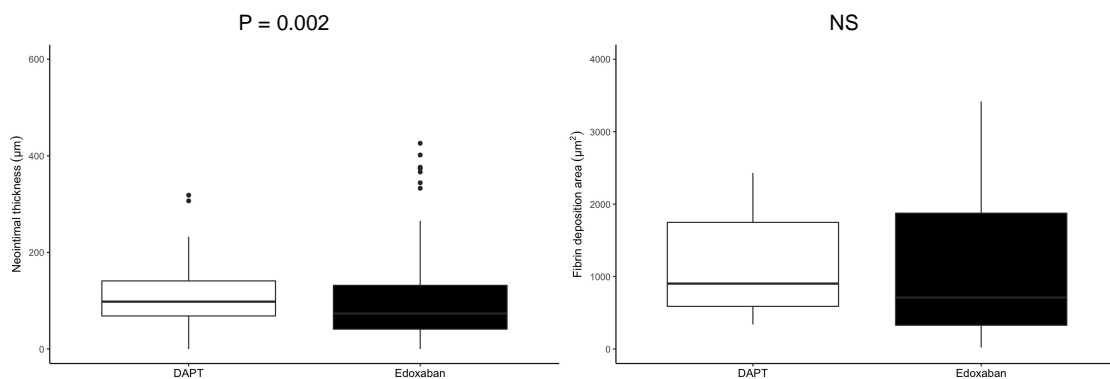
(1) 臨床的血管内イメージング解析

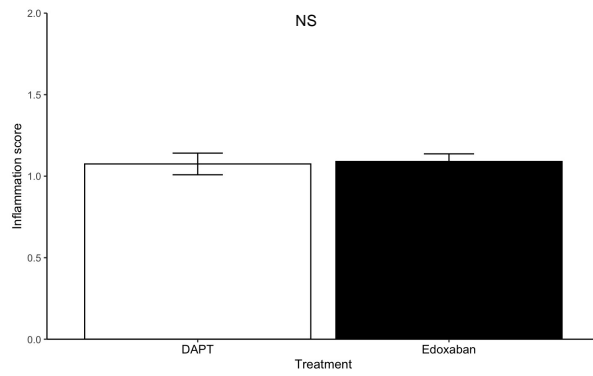
冠動脈造影上、ステント留置後1ヶ月時点で有意な再狭窄は認めなかった。両群とも、OCT解析ではステントの圧着不良などは認めず、ステント内血栓も確認できなかった。OCT上、両群ともステントは完全に被覆されていた。しかし、下図に示すようにエドキサバン群において、新生内膜の厚さは有意に薄く(120.0 [92.5-160.0] μm vs. 210.0 [180.0-240.0] μm , $p < 0.001$)、新生内膜の面積も有意に小さかった(1.06 [0.82-1.46] mm^2 vs 1.84 [1.61-2.24] mm^2 , $p < 0.001$)。



(2) 組織学的解析

病理組織学的検討では両群とも明らかな血管内腔面への壁在血栓の付着は認めなかった。病理学的解析でもステントの被覆の程度は同等であったが(DAPT群: 97.7% vs. エドキサバン群: 94.6%)、下図の通り新生内膜の厚さはエドキサバン群で有意に薄かった。新生内膜内のフィブリン血栓の沈着に関しては両群とも同等だった(エドキサバン群: 709.7 [327.1-1874.9] $\mu\text{m}^2/\text{strut}$ vs. DAPT群: 1021.6 [678.3-2373.6] $\mu\text{m}^2/\text{strut}$, $p = 0.258$)。新生内膜内の炎症細胞の浸潤度合いも両群とも同等であった(エドキサバン群: 1.09 ± 0.05 vs. DAPT群: 1.07 ± 0.07 , $p = 0.906$)。





本研究の結論として、冠動脈不安定粥腫大動物モデルにおいて薬剤溶出性ステント留置時に直接作用型第 Xa 因子阻害経口抗凝固薬エドキサバンを単独投与することは従来の抗血小板薬 2 剤併用療法と比べ、ステント内血栓抑制作用は同等であり、新生内膜の進展を抑える作用がある可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Migita Suguru, Kitano Daisuke, Li Yuxin, Koyama Yutaka, Shimodai-Yamada Sayaka, Onishi Akira, Fuchimoto Daiichiro, Suzuki Shunichi, Nakamura Yoshiyuki, Matsuyama Taka-aki, Hirota Seiichi, Sakuma Masashi, Tsujimoto Masahiko, Hirayama Atsushi, Okumura Yasuo, Hao Hiroyuki | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Pathological findings after third- and second-generation everolimus-eluting stent implantations in coronary arteries from autopsy cases and an atherosclerotic porcine model | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 6281-6294 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-85740-2 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Daisuke Kitano, Yuxin Li, Suguru Migita, Yutaka Koyama, Akira Onishi, Daiichiro Fuchimoto, Shunichi Suzuki, Yoshiyuki Nakamura, Atsushi Hirayama, Hiroyuki Hao, Yasuo Okumura |
| 2. 発表標題 Safety and Efficacy of Edoxaban Monotherapy after Bioabsorbable Polymer Everolimus-Eluting Stent Implantation in a Human-like Coronary Atherosclerotic Porcine Model |
| 3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会（国際学会） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Suguru Migita, Daisuke Kitano, Yuxin Li, Sayaka Yamada, Kumiko Asakura, Toshio Mukaiyama, Akira Onishi, Daiichiro Fuchimoto, Shunichi Suzuki, Yoshiyuki Nakamura, Yasuo Okumura, Hiroyuki Hao |
| 2. 発表標題 PATHOLOGY OF CORONARY ARTERY AFTER THIRD-GENERATION DRUG-ELUTING STENT IMPLANTATION IN ATHEROSCLEROTIC PORCINE MODEL AND HUMAN AUTOPSY CASES |
| 3. 学会等名 ACC 20（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Daisuke Kitano, Yuxin Li, Suguru Migita, Atsushi Hirayama, Hiroyuki Hao, Yasuo Okumura |
| 2. 発表標題 Comparison of in-stent responses between durable polymer and bioabsorbable polymer everolimus-eluting stent in a human-like coronary atherosclerotic porcine model |
| 3. 学会等名 AHA Scientific Sessions 2019（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Suguru Migita, Daisuke Kitano, Yuxin Li, Sayaka Yamada, Toshio Mukaiyama, Akira Onishi, Daiichiro Fuchimoto, Shunichi Suzuki, Yoshiyuki Nakamura, Atsushi Hirayama, Yasuo Okumura, Hiroyuki Hao |
| 2. 発表標題 Pathology of coronary artery after third-generation drug-eluting stent implantation in low-density lipoprotein receptor knockout mini pigs and human autopsy cases |
| 3. 学会等名 EAS 2020 (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|