

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591518

研究課題名(和文)

Rhoキナーゼを介したeNOS活性制御による血管内膜肥厚抑制

研究課題名(英文)

The effect of Rho Kinase inhibitor on the intimal hyperplasia induced by stenting

研究代表者

山本 清人 (YAMAMOTO KIYOHITO)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10298359

研究成果の概要(和文)：

実験1) Rho kinase inhibitor に代謝される hydroxyfasudil のウサギ高脂血症腸骨動脈ステント留置モデルの内膜肥厚抑制効果について検討。コントロール：1.0%コレステロール餌。fasudil 投与群：hydroxyfasudil をコレステロール餌に混ぜて投与。結果：4週後の内膜中膜比に有意差はなかった。実験2) Ezetimibe 群で有意に内膜肥厚を抑制した。

研究成果の概要(英文)：

**Background:** Rho kinase plays an important role in vascular smooth muscle cell (VSMC) contraction and other cellular functions, such as proliferation, migration, and apoptosis. We examined whether long-term inhibition of Rho kinase suppresses stent-induced hyperplasia in hypercholesterolemic rabbits.

**Experiment I:**

**Methods:** Male rabbits were fed a 1.0% cholesterol diet for 4 weeks before stent implantation. Then, randomly divided into two groups and received cholesterol chow (control group) or a special chow containing fasudil.

**Results:** The intimal thickening of the fasudil group was comparable with the control group. There was not significant difference between the two groups.

**Experiment II:**

**Background:** We investigated whether Ezetimibe, which reduce the high-cholestetrol level, inhibited the intimal hyperplasia induced by vein graft and additionally, relationship between the inhibited effect on Rho-kinase.

**Results:** We demonstrated that oral administration of Ezetimibe to normocholesterolemic rabbits inhibited intimal hyperplasia of carotid interposition-reversed jugular vein grafts 4 weeks after implantation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：Rho-Kinase, ステント, 内膜肥厚

### 1. 研究開始当初の背景

近年、本邦においては閉塞性動脈硬化症 (ASO) の有病率が上昇している。ASO に対する治療としてはステントによる血管内治療やバイパスによる血行再建手術が現在のところ最も有効な手段である。しかし、ステント術後や自家静脈や人工血管をグラフトに用いたバイパス手術後の患者の経過を長期にわたり観察すると、グラフト内を被覆した内皮細胞の過形成 (「内膜肥厚」) によるステントやグラフトの狭窄・閉塞が経過中に発生し、ついには再び血流障害に陥る症例を経験する。このため、ステントやグラフトの長期開存率向上を目標とする基礎研究は臨床上也強く求められるところである。

### 2. 研究の目的

我々は、ステント再狭窄やグラフト不全の原因となっている内膜肥厚や内膜機能低下のメカニズムを、分子生物学的手法を用いて解析するとともに、最終的にこれらを制御することで、ステントやグラフトの長期開存率を飛躍的に向上させることを目指して研究を開始した。現在までに内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) と Rho-kinase の相互作用を通じた内皮機能の制御機構に注目して研究を行っている。本研究の目的はステント再狭窄と Rho-kinase との関連ならびに Rho-kinase の制御により内膜肥厚が抑制されるか検討することである。

Hydroxyfasudil は Rho kinase inhibitor に代謝され、ウサギ vein graft の内膜肥厚を抑制することを、我々はすでに報告している (Furuyama et al. *J Vasc Surg* 43:1249, 2006)。しかしながら、ステント狭窄の原因であるステントの内膜肥厚に与える効果については検討されていない。そこで今回 hydroxyfasudil の血管内膜肥厚に与える影響についてウサギ高脂血症腸骨動脈ステント留置モデルを用いて検討した。

### 3. 研究の方法

実験 1：以下の 2 群にわけて検討した。

A 群：control group (n=5)：1.0% コレステロール餌をステント留置 4 週間前より標本摘出時まで経口投与。B 群：fasudil-treated group (n=5)：1.0% コレステロール餌をステント留置 4 週間前より、ステント留置 3 日前より hydroxyfasudil 30mg/kg をコレステロール餌に混ぜて経口投与。ステント留置方法：麻酔導入後、右頸動脈に 5Fr シースを留置、ヘパリンを全身投与 (200IU/kg) し、透視下で腸

骨動脈にステントを留置する。4 週間後に sacrifice し標本を摘出する。

実験 2：薬剤の内膜肥厚抑制効果

次に我々は以前、スタチン製剤が自家静脈内膜肥厚を抑制し、その機序のひとつとして Rho kinase の活性抑制を明らかにしている。よって、今回高脂血症薬として広く用いられている Ezetimibe の内膜肥厚抑制効果ならびに Rho kinase との関連を検討することとした。Ezetimibe は小腸コレステロールトランスポーター阻害薬として脂質代謝に作用しているが、その他にも抗粥状動脈硬化作用等も報告されている。しかしながら静脈グラフトに関する効果ははまだ検討されていない。そこで今回 Ezetimibe の血管内膜肥厚に与える効果についてウサギ自家静脈グラフトモデルを用いて検討した。

### 4. 研究成果

実験 1 結果：摘出動脈を中枢・中央・末梢の 3 か所で切断してプレパラートを作製、各プレパラートにおいて任意の 8 か所で内膜・中膜を測定し内膜中膜比を計測。合計 24 か所の計測の平均をそのウサギの平均内膜中膜比とした。内膜中膜比：コントロール群 3.448、fasudil 群 3.702、有意差は認められなかった。実験 2 結果：摘出静脈グラフトを 4 分割しプレパラートを作製、各プレパラートにおいて任意の 8 か所で内膜・中膜を測定し内膜中膜比を計測。合計 32 か所の計測の平均をそのウサギの内膜中膜比とした。内膜中膜比：コントロール群 1.2、Ezetimibe 群 0.586 で有意に Ezetimibe 投与群で内膜肥厚を抑制した。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

1. Kodama A, Narita H, Kobayashi M, Yamamoto K, Komori K:  
Usefulness of POSSUM Physiological score for the Estimation of Morbidity and Mortality Risk after Elective Abdominal Aortic Aneurysm Repair in Japan  
*Circulation J*, Vol. 75, 550-556, 2011 査読有
2. Sato T, Kobayashi M, Yamamoto K, Komori K:  
Immunohistochemical properties in the

- patients with Buerger's disease- Possible role of Plasminogen Activator Inhibitor-1(PAI-1) for preservation of vessel wall architecture  
Cardiovascular Pathology, in press, 2010 査読有
3. 山本清人、古森公浩:  
大動脈瘤のステントグラフト治療  
腹部大動脈瘤に対する標準治療: どのステントグラフトを選ぶのか  
Heart View, Vol. 14, 82-87, 2010 査読有
  4. Sugimoto M, Yamanouchi D, Komori K:  
Therapeutic Approach Against Intimal Hyperplasia of Vein Grafts Through Endothelial Nitric Oxide Synthase/Nitric Oxide (eNOS/NO) and the Rho/Rho-Kinase Pathway  
Surg Today, Vol.39, 459-465, 2009 査読有
  5. Kodama A, Komori K, Kajikuri J, Itoh T:  
Chronic treatment of hydroxytryptamine type 2a receptor antagonist sarpogrelate hydrochloride modulates the vasoreactivity of serotonin in experimental rabbit vein grafts  
J Vasc Surg, Vol.50, 617-25, 2009 査読有
  6. Kodama A, Komori K, Hattori K, Yamanouchi D, Kajikuri J, Itoh T:  
Sarpogrelate hydrochloride reduced intimal hyperplasia in experimental rabbit vein graft  
J Vasc Surg, Vol.49z(5), 1272-81, 2009 査読有
  7. 山本清人、玉井宏明、出津明仁、森前博文、堀昭彦、児玉章朗、成田裕司、小林昌義、古森公浩:  
末梢動脈疾患(Peripheral Arterial Disease: PAD)に対する血行再建術  
-血管内治療と外科的バイパス術-  
脈管学, Vol. 49, 307-312, 2009 査読有
  8. 山本清人、玉井宏明、出津明仁、森前博文、堀昭彦、児玉章朗、成田裕司、小林昌義、古森公浩:  
市販ステントグラフトによる腹部大動脈瘤治療の初期成績  
日本血管内治療学会誌, Vol.10: 475, 2008 査読有
  9. Narita H, Sen C, Komori K, Kadomatsu K:  
Midkine is expressed by infiltrating macrophages in in-stent restenosis In hypercholesterolemic rabbits  
J Vasc Surg, Vol.47, 1322-9, 2008 査読有
  10. Fujita H, Banno H, Yamanouchi D, Kobayashi M, Yamamoto K, Komori K:  
Pitavastatin Inhibits Intimal Hyperplasia in Rabbit Vein Graft  
J Surg Res, Vol.148, 238-243, 2008 査読有
- [学会発表] (計 16 件)
1. 坂野比呂志、森崎浩一、玉井宏明、高橋範子、渡辺芳雄、森前博文、井原努、堀昭彦、小林昌義、山本清人、古森公浩  
血管内膜肥厚とミッドカインの関連について  
第 51 回 日本脈管学会総会, 2010 年 10 月 14-16 日, 旭川グランドホテル
  2. Komori K  
Differences in the Endothelial Function and Morphological Modulation between the Canine Autogenous Vein and Arterial Grafts Endothelium and Intimal Thickening  
The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, June 14-18, 2010, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan
  3. Horii K, Shibata R, Narita H, Kobayashi M, Yamamoto K, Komori K  
Cilostazol Causes Angiogenesis Mediated through the Enhancement of Nitric Oxide Production in the Ischemic Hindlimb of Mouse  
2010 Vascular Annual Meeting, June 10-13, 2010, Hynes Convention Center, Boston, Massachusetts, USA
  4. 古森公浩  
血管外科領域におけるトランスレーショナルリサーチ -Nitric Oxide とセロトニン-  
第 38 回日本血管外科学会総会 2010 年 5 月 20-22 日 大宮ソニックシティ・パレスホテル大宮
  5. Komori K  
THERAPEUTIC ANGIOGENESIS FOR THE PATIENTS WITH PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE  
The 10th Annual Congress of Asian Society for Vascular Surgery, October 14-17, 2009, BEXCO, Busan, Korea
  6. Komori K  
Differences in the Endothelial Function and Morphological Modulation between the Canine Autogenous Vein and Arterial Grafts - Endothelium and Intimal Thickening -  
Satellite Symposium of the IUPS2009, July 23-25, 2009, Nagoya City University

Hospital Nagoya, Japan

7. 成田裕司, 古森公造, 山本清人, 小林昌義,  
堀 昭彦, 児玉章朗, 森前博文, 出津明仁,  
玉井宏明  
当科における下肢虚血に対する無侵襲診断  
について  
第 37 回日本血管外科学会総会 2009 年 5  
月 13-15 日 名古屋国際会議場
  8. Kodama A, Tamai H, Idetsu A, Morimae H,  
Hori A, Narita H, Kobayashi M, Yamamoto K,  
Komori K  
Sarpogrelate Hydrochloride Modulates the  
Expression of 5-Hydroxytryptamine Type 2A  
and Type 1B Receptors in Experimental  
Rabbit Vein Grafts  
Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular  
Biology Annual Conference 2009, April  
29-May 1, 2009, Omni Shoreham Hotel,  
Washington, USA
  9. 児玉章朗, 玉井宏明, 出津明仁, 森前博文,  
堀昭彦, 成田裕司, 小林昌義, 山本清人,  
古森公造  
ウサギ自家静脈グラフトにおけるセロトニンレ  
セプター発現の検討-塩酸サルポグレラート  
投与の効果-  
第 109 回日本外科学会定期学術集会 2009  
年 4 月 1 日-4 日 福岡国際会議場
  10. 成田裕司, 玉井宏明, 出津明仁, 森前博文,  
児玉章朗, 堀昭彦, 小林昌義, 山本清人,  
古森公造  
塩酸サルポグレラートによるウサギ自家静脈  
グラフト内膜肥厚抑制効果  
第 109 回日本外科学会定期学術集会 2009  
年 4 月 1 日-4 日 福岡国際会議場
  11. 山本清人, 玉井宏明, 出津明仁, 森前博文,  
堀昭彦, 児玉章朗, 成田裕司, 小林昌義,  
古森公造  
腹部大動脈慢性完全閉塞に対する血管内  
治療  
第 109 回日本外科学会定期学術集会 2009  
年 4 月 1 日-4 日 福岡国際会議場
  12. 山本清人, 玉井宏明, 出津明仁, 森前博文,  
児玉章朗, 成田裕司, 古森公造  
膝窩動脈以下の病変における血管内治療  
の役割  
第 49 回日本脈管学会総会 2008 年 10 月  
24-26 日 東京コンファレンス
  13. 山本清人, 玉井宏明, 出津明仁, 森前博文,  
堀昭彦, 児玉章朗, 成田裕司, 小林昌義,  
古森公造  
市販ステントグラフトによる腹部大動脈瘤治  
療の初期成績  
第 14 回血管内治療学会総会 2008 年 7 月  
25 日-26 日 アルカディア市ヶ谷
  14. Kodama A, Idetsu A, Sugimoto M, Ihara T,  
Niimi K, Narita H, Kobayashi M, Yamamoto  
K, Itoh T, Komori K  
Sarpogrelate Hydrochloride Reduced Intimal  
Hyperplasia in Experimental Rabbit Vein  
Graft-Possible Involvement of Enhancement  
of Nitric Oxide (NO) Production  
VASCULAR ANNUAL MEETING 2008 June  
5-8, 2008, San Diego
  15. 山本清人, 出津明仁, 杉本昌之, 井原努,  
新美清章, 児玉章朗, 成田裕司, 上遠野由  
紀, 小林昌義, 古森公造  
当科における閉塞性動脈硬化症の治療成  
績-大動脈腸骨動脈領域を中心に  
第 108 回日本外科学会定期学術集会 2008  
年 5 月 15 日-17 日 長崎ブリックホール
  16. 山本清人, 出津明仁, 杉本昌之, 井原努,  
新美清章, 児玉章朗, 成田裕司, 上遠野由  
紀, 小林昌義, 古森公造  
重症虚血肢における血管内治療の役割  
第 36 回日本血管外科学会学術総会 2008  
年 4 月 16 日-18 日 アルカディア市ヶ谷  
ディア市ヶ谷
- [図書] (計 1 件)
1. 山本清人, 古森公造  
腸骨動脈領域に対する EVT 後遠位塞栓へ  
の治療方法は?  
中外医学社 ENDOVASCULAR  
TREATMENT EVT テクニックこれは困った  
どうしよう: 274-276, 2009
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
山本 清人 (YAMAMOTO KIYOHITO)  
名古屋大学医学部附属病院・講師  
研究者番号: 10298359
  - (2) 研究分担者  
古森 公浩 (KOMORI KIMIHIRO)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 40225587  
小林 昌義 (KOBAYASHI MASAYOSHI)  
名古屋大学医学部附属病院・助教  
研究者番号: 60329381
  - (3) 連携研究者 なし  
( )  
研究者番号:

