

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790732

研究課題名(和文) 新型薬剤溶出性ステントの血管機能異常発現に与える効果についての検討

研究課題名(英文) Impact of new generation drug-eluting stent on coronary vasomotion

研究代表者

圓谷 隆治 (Tsuburaya, Ryuji)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：30599882

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)：新世代薬剤溶出ステントであるエベロリムス溶出ステント(EES)及びバイオリムス溶出ステント(BES)留置後の血管機能について検討し、第1世代薬剤溶出ステントで認められた異常血管反応が改善するがEESにおいては改善が認められない事を明らかにした。この機序として、免疫組織学的検討によりDES留置後の炎症反応および冠動脈外膜のVasa vasorum(VV)の増生がBESにおいて抑制されていることを明らかにし、更に光干渉断層装置を用いて生体内でVVが評価可能であることをブタモデルおよび臨床研究にて明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We evaluated a vasomotion in new generation drug-eluting stent (DES) implantation, everolimus-eluting stent (EES) and biolimus-eluting stent. The BES could improve an abnormal vasomotion compared with first generation DES and EES. In immunohistological analysis, enhanced inflammatory response and adventitial Vasa Vasorum (VV) formation, which were observed in first generation DES, was significantly inhibited in BES site. Furthermore, we succeeded VV imaging in vivo by optical frequency domain imaging in pigs and even in humans.

研究分野：循環器内科学

キーワード：薬剤溶出ステント 異常血管反応 Vaso vasorum

1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患（狭心症、心筋梗塞）に対する薬物溶出性ステント（Drug-eluting stent, DES）治療は、従来の金属製ステントで問題であった再狭窄を飛躍的に改善させたが、一方で第1世代のDESは遅発性血栓症や血管運動異常（冠攣縮反応）などの問題点が報告された。我々は、ブタ冠動脈モデルを用いて、第1世代DES（Cypher™、Taxus™）がBMSと比して、ステント近傍での冠動脈過収縮反応および組織における炎症反応/微小血栓形成を亢進させ、その機序としてRhoキナーゼの発現、活性の亢進が関与していることを世界に先駆けて明らかにした。また本知見を臨床においても確認した。

DES留置後の炎症反応の機序として、薬剤含有のために塗布されている非生体適合性ポリマーが注目されている。研究開始当初、ポリマーを含めた薬剤溶出システム、薬剤そのものを改良した第2世代DESであるエベロリムス溶出ステント（everolimus-eluting stent, EES）が汎用されており、更には完全生体吸収性ポリマーを用いた第3世代DESであるバイオリムス溶出ステント（biolimus-eluting stent, BES）が発売され臨床応用が開始された。これらのステントではDESの問題点（ステント血栓症、血管機能異常）の改善が期待されているが、これらの新世代ステントについて血管機能を分子的機序にまで言及して論じた報告は未だない。

2. 研究の目的

上記のような背景を基に、本研究では第2、3世代DES留置後の血管機能に与える影響及びその機序についての解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) ブタステント留置モデルにおける検討：
ゲッチング種ミニブタ(雄、体重30 - 40kg)

に、実験2日前より抗血小板剤（アスピリン300mg + クロピドグレル150mg）を投与の上左冠動脈へBES、EES、第1世代DES（sirolimus-eluting stent, SES）のいずれかをステント径・長を一致させて留置する。ステント留置前およびステント留置後1ヶ月、6ヶ月で薬剤の冠動脈内注入に対する血管反応を評価する。具体的にはセロトニン(5-HT)10 µg/kg・100 µg/kgによる血管収縮反応を検討し、更にセロトニンによる血管収縮反応が選択的Rhoキナーゼ阻害薬であるhydroxyfasudil事前投与により抑制されるか（Rhoキナーゼの関与についての検討）についても併せて検討する。血管径の変化は定量的冠動脈造影法(QCA)を用いて計測する。

慢性期最終評価後、動物を安楽死させ心摘出し、光干渉断層装置（Optical Coherence Tomography, OCT）を用いて、ステント内面及びその周囲の詳細な検討をin vivoにて行う。更にホルマリン固定後、ステント留置部位およびその周辺部位の組織学的評価を行う。

(2) 臨床における検討：

臨床において現在広く汎用されているEESを留置した症例において、慢性期の冠動脈造影時に同意を得た症例に対してアセチルコリン負荷試験を施行し、ステント近傍部および非治療血管の血管収縮反応を評価する。我々はSES留置後慢性期の血管収縮反応を以前検討しており、その血管をHistorical controlとして比較する。

4. 研究成果

(1) SESではセロトニン冠動脈内投与によりステント留置近傍の過収縮反応が認められ、この過収縮反応はRhoキナーゼ阻害薬であるハイドロキシファスジルの前投与によって抑制された。一方BESにおいては、ステント留置近傍の過収縮がSESと比して有意に

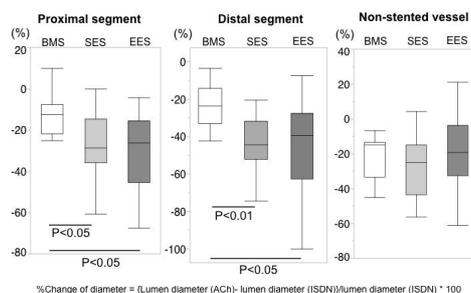
抑制されていた (BES 22±3 vs. SES 52±7%, P<0.01, n=18 each)。また6ヶ月目での血管反応性評価では、SES のステント近傍ではセロトニンによる過収縮反応が認められていたが、BES では過収縮反応抑制効果が持続していた。一方でブラディキニンによる内皮依存性弛緩反応やニトログリセリンによる非内皮依存性弛緩反応は2群間で差を認めなかった。組織学的評価において、SES では炎症反応の亢進 (M1 マクロファージ) や微小血栓の形成が認められ、また冠動脈外膜側に Vaso Vasorum (VV) の増生を認めた。一方、BES ではこれらの反応が有意に抑制されていた。VV の増生および M1 マクロファージの浸潤は、過収縮反応と有意に相関を認めた。更には、血管過収縮反応に関する分子機序として、Rho キナーゼの発現、活性を検討したところ、1ヶ月の時点で SES において Rho キナーゼの発現および活性が亢進していたが、BES では有意に抑制されていた。6ヶ月においては Rho キナーゼの発現は1ヶ月と比べると低下していたが、活性は依然として SES において亢進している傾向にあった。一方で、EES では SES と有意な差を認めなかった。以上から M1 マクロファージおよび VV の増生が DES 留置後の血管異常反応に関与している事が示され、BES による異常血管反応改善効果の機序の一つと考えられた。

更には、OCT を用いた検討で冠動脈外膜に管腔構造が確認され、組織および Micro CT にて同構造物が VV であることを確認した。OCT での検討においても、SES および EES 周囲で BES に比して VV の増生亢進が認められた。

(2) EES を留置した症例において、8-12ヶ月後の慢性期冠動脈造影時にアセチルコリン負荷に血管機能評価を施行したところ、EES ではベアメタルステント (BMS) と比較して血管過収縮反応の亢進が認められ、SES と同

等であった (下図)。以上の結果から第2世代 DES でも血管機能異常は未解決であることが示された。今後 OCT を用いた詳細な解析によりその機序に関する評価を行う予定である。また EES を留置した症例は多く存在しており、内服治療によりその血管機能異常を改善することができるか検討を行う。

Figure. %Changes in Coronary Diameter to Acetylcholine (ACh)



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2件)

Nishimiya K, Matsumoto Y, Uzuka H, Oyama K, Tanaka A, Taruya A, Ogata T, Hirano M, Shindo T, Hanawa K, Hasebe Y, Hao K, **Tsuburaya R**, Takahashi J, Miyata S, Ito K, Akasaka T, Shimokawa H. Accuracy of Optical Frequency Domain Imaging for Evaluation of Coronary Adventitial Vasa Vasorum Formation After Stent Implantation in Pigs and Humans - A Validation Study. *Circ J* 2015. (Epub ahead of print), 査読有り.

Nishimiya K, Matsumoto Y, Shindo T, Hanawa K, Hasebe Y, **Tsuburaya R**, Shiroto T, Takahashi J, Ito K, Ueda H, Yasuda S, Shimokawa H. Association of Adventitial Vasa Vasorum and Inflammation with Coronary Hyperconstriction after Drug-Eluting Stent Implantation in Pigs in Vivo. *Circ J* 2015. (Epub ahead of print), 査読有り.

[学会発表](計2件)

Nishimiya K, Matsumoto Y, Takahashi J, Shindo T, Hanawa K, Hasebe Y, **Tsuburaya R**, Shiroto T, Ito K, Ueda H, Yasuda S, Shimokawa H. Important role of Adventitial Vasa Vasorum in the Pathogenesis of Coronary Hyperconstricting Responses After Drug-Eluting Stent Implantation in Pigs in Vivo. ESC congress 2013. Amsterdam (Netherlands). 2013年8月31日～9月4日

Nishimiya K, Matsumoto Y, Takahashi J, Shindo T, Hanawa K, Hasebe Y, **Tsuburaya R**, Shiroto T, Ito K, Ueda H, Yasuda S, Shimokawa H. Important role of Adventitial Vasa Vasorum in the Pathogenesis of Coronary Hyperconstricting Responses After Drug-Eluting Stent Implantation in Pigs in Vivo. American Heart Association Scientific Session 2013.Dallas (USA). 2013年11月16日～11月20日

6. 研究組織

(1)研究代表者

圓谷 隆治 (Tsuburaya, Ryuji)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：30599882

(3)連携研究者

下川 宏明 (Shimokawa, Hiroaki)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00235681

安田 聡 (Yasuda, Satoshi)

国立循環器病研究センター・病院・部門長

研究者番号：00431578

西宮 健介 (Nishimiya Kensuke)

東北大学・東北メディカルメガバンク機構・非常勤講師

研究者番号：10734238

松本 泰治 (Matsumoto Yasuharu)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：90600528

高橋 潤 (Takahashi Jun)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：00375081