

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293182

研究課題名(和文) Neoatherosclerosisの本態解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of neoatherosclerosis

研究代表者

木村 剛 (KIMURA, Takeshi)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80359786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：ステントによる冠動脈治療は現在、虚血性心疾患の標準的な治療となっている。薬剤溶出性ステント(drug eluting stent; DES)の登場により、治療後早期の再狭窄率が劇的に改善したが、DES留置後一年以降に生じる超遅発性ステント血栓症(very late stent thrombosis; VLST)と、遠隔期に生じるステント内再狭窄である‘late catch-up’現象が、重大な問題として残されている。最近になりステント治療後のneoatherosclerosisがこれらの共通の原因となる病態として注目を集めている。今回、我々はその本体について臨床的基礎的検討を行った。

研究成果の概要(英文)：Percutaneous coronary intervention using coronary stent is a standard therapy for ischemic heart disease. Restenosis after stent implantation is dramatically reduced by the development of drug eluting stent. However, very late stent thrombosis and late catch-up phenomenon, which is the restenosis several years after treatment, are still remained as serious problems. Recently, neoatherosclerosis is receiving research attention for the cause of such conditions. We performed clinical and basic research to contribute the elucidation of the mechanism of neoatherosclerosis.

研究分野：循環器内科学

キーワード：動脈硬化 ステント 血栓 狭心症 心筋梗塞

1. 研究開始当初の背景

ステントによる冠動脈治療は現在、虚血性心疾患に対する標準的な治療となっている。薬剤溶出性ステント(drug eluting stent; DES)の登場により、治療後早期の再狭窄率も劇的に改善した。しかしながら、DES 留置後一年以降に生じる超遅発性ステント血栓症(very late stent thrombosis; VLST)と、遠隔期に生じるステント内再狭窄である 'late catch-up' 現象が、重大な問題として残されている。最近になりステント治療後の neoatherosclerosis がこれらの共通の原因となる病態として注目を集めている。

2. 研究の目的

本研究課題では、ステント治療後の冠動脈病変の経年的な観察、VLST の臨床サンプルの解析、および動物モデルでの詳細な病変の解析と新規ステントの開発を通じて、neoatherosclerosis の本態解明と新規治療法開発に向けた貢献をすることが目的である。

3. 研究の方法

【 臨床的検討】

過去に BMS および DES 留置を行った症例に対して、新たに PCI を行う際に、患者の同意を得て、特にステント留置後の長期のフォロー例を中心に、過去のステント治療部の病変を OCT(および IVUS)によって解析する。

上記症例において、血清脂質のプロファイル、単球の表面マーカー、内皮機能、内皮および単球由来の microRNA (miRNA)、HDL 機能の測定、新規バイオマーカーの探索的研究を行う。

すでに積み重ねた BMS および DES 留置後、VLST を発症した患者の吸引血栓の病理的検討と分子生物学的検討を行う。

【 基礎的検討】

動物モデルを用いて、BMS、DES、生体吸収性ステント留置によって惹起される急性期および慢性期の局所変化を網羅的に解析し、neoatherosclerosis の進展とともに変動する因子を同定する。

障害血管の早期再内皮化を誘導するステントを開発するとともに、neoatherosclerosis に対する影響を解析する。内皮細胞機能不全によるコレステロールの沈着が neoatherosclerosis の本態との予測もあり、治療応用と病態解明につながる可能性がある。

4. 研究成果

【 臨床的検討】

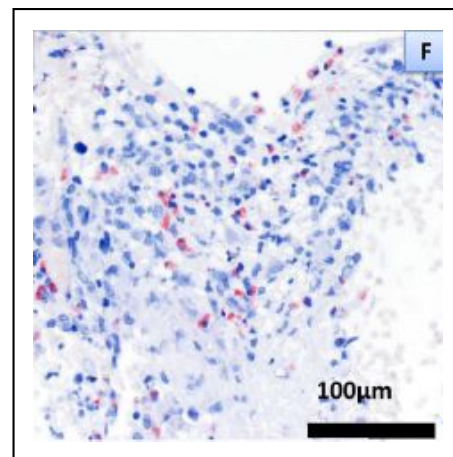
BMS および DES 留置を行った症例でのステント治療部位の解析：DES(シロリムステント)を植え込んだ5712例(7838病変)の病変を検討したところ、ステント周囲の造影剤の染み出し現象(PSS)は184例(3.2%)(194病変(2.5%))に認められた。PSSに対する危険因子としては完全閉塞、左前下降枝病変があった。

一方、逆に PSS が生じにくいものは、ステント内再狭窄、糖尿病、70歳以上、回旋枝病変であった。超遅延性ステント血栓症は PSS 症例において 5.3%(それ以外は 0.7%)と多いことが判明した。また、遠隔期の標的血行再建も PSS 症例において 13%(それ以外は 6.9%)と多かった。さらに超遅延性ステント血栓症例を覗いた標的血行再建も PSS 症例に多い傾向があった(9.9対6.3%; P = 0.15)。

上記症例について、サンプルを採取し、基礎的研究を続けている。

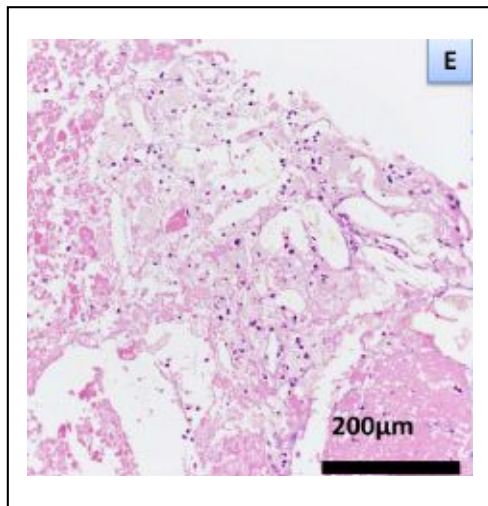
一方、Credo Kyoto Registry 研究において、低 HDL-C 症例とそれ以外の症例において、PCI後の心血管イベントについて検討したところ、両者の間に差は認められなかった。この現象が生じている理由は、スタチンによる LDL-C 低下療法が広まってきたために、相対的に HDL-C 値の重要性が低下してきたことのみならず、虚血性心疾患患者においては HDL-C 値とは無関係に HDL 機能の低下があるためではないかと推察される。

BMS および DES 留置後、VLST を発症した患者の吸引血栓の病理的分子生物学的検討：17例の早期血栓症(early stent thrombosis; EST 30日以内の発症)、7例の遅発性血栓症(late ST; LST 31-365日での発症)、24例の超遅発性血栓症(very late ST; VLST 1年以上の発症)での血栓の性状を検討した。血栓の中の好酸球分画は VLST では $8.2 \pm 5.7\%$ 、LST では $5.5 \pm 3.8\%$ 、EST $4.3 \pm 3.0\%$ と、有意に VLST に多かった(下図は代表的な、好酸球を伴う炎症性細胞に富んだ吸引血栓の病理像)。



また、血管造影上 peri-stent contrast staining (PSS) と呼ばれる所見あるいは血管内超音波による stent の不完全な留置が認められた例においては、好酸球分画が有意に高かった。さらに VLST の病理組織内において、13%に動脈硬化巣の組織の一部(泡沫細胞、コレステロールクリスタル、薄い繊維性皮膜)を認めた。しかしながら、EST、LST、VLSTの間では有意な差がなかった。一方、以前の研究においてはベアメタルステントの VLST 症例において、42例中13例(31%)の吸引血栓で動脈硬化巣の組織を認めた。この違いは、DES VLSTにおいて neoatherosclerosis が多

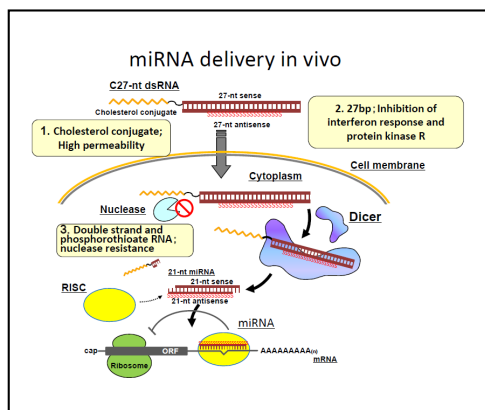
いという報告と合致しないため、DES VLST における neoatherosclerosis の役割を明らかにするために、今後のヒトの病理像の検討やイメージングによる研究の積み重ねが必要である（図は吸引血栓中の泡沫細胞を伴うコレステロールクリスタルの病理像）。



【 基礎的検討】

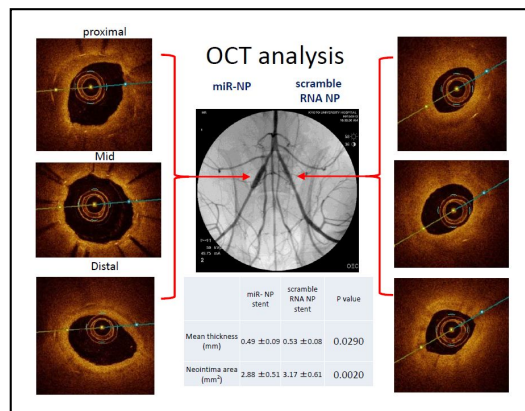
ブタ冠動脈モデルにおいて、ステント留置後の慢性閉塞モデルの作成を行った。サンプルを採取し、解析中である。

血管内皮を早期に増殖、障害血管の再内皮化をはかるステントの開発：早期の臨床応用を視野に、ウイルスなどのベクターを使用せず、miR-126 を局所で過剰発現させるための 2 本鎖合成 RNA を設計した。これは、22 塩基の miR-126 が選択的に Dicer によって切断され、マイクロ RNA の機能を発揮する RISC コンプレックスに取り込まれるように、両端に塩基を付加し、27 塩基の 2 本鎖 RNA としたものである。



実際、培養血管内皮細胞において、この 2 本鎖 RNA は、SPRED1 を抑制し、血管内皮細胞を増殖させた。一方、血管平滑筋細胞においては、IRS-1 を抑制することで、増殖抑制に働くことを明らかとした。さらに、この 2 本鎖合成 RNA を乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子に含有させ、ステントに電氣的に均一にコーティングし、局所で徐放化できるステントを開発した。コレステロール含有食を付加したウサギの腸骨動脈におい

て、バルーン障害後 4 週において、miR-126 搭載ステントは、コントロール RNA と比較して、有意に再狭窄予防効果を認めた。



さらに血管内皮細胞に対する効果を走査型電子顕微鏡標本において検討中である。

5 . 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計 17 件)

Kimura T, Kozuma K, Tanabe K et al; ABSORB Japan Investigators. A randomized trial evaluating everolimus-eluting Absorb bioresorbable scaffolds vs. everolimus-eluting metallic stents in patients with coronary artery disease: ABSORB Japan. *Eur Heart J*. 2015 Dec 14;36(47):3332-42. doi: 10.1093/eurheartj/ehv435.

Izuhara M, Ono K, Kimura T et al; CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 Investigators. High-density lipoprotein cholesterol levels and cardiovascular outcomes in Japanese patients after percutaneous coronary intervention: a report from the CREDO-Kyoto registry cohort-2. *Atherosclerosis*. 2015 Oct;242(2):632-8.

doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.010.

Natsuaki M, Kadota K, Kimura T et al. Final 3-Year Outcome of a Randomized Trial Comparing Second-Generation Drug-Eluting Stents Using Either

Biodegradable Polymer or Durable Polymer: NOBORI Biolimus-Eluting Versus XIENCE/PROMUS Everolimus-Eluting Stent Trial. *Circ Cardiovasc Interv.* 2015 Oct;8(10). pii: e002817.

Shiomi H, Kimura T. Interventional cardiology. Nonprimary PCI at centres without onsite surgical backup. *Nat Rev Cardiol.* 2015 Oct;12(10):563-4.

Stone GW, Gao R, Kimura T et al. 1-year outcomes with the Absorb bioresorbable scaffold in patients with coronary artery disease: a patient-level, pooled meta-analysis.

Lancet. 2016 Mar 26;387(10025):1277-89. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01039-9. Epub 2016 Jan 27.

Taniguchi T, Morimoto T, Kimura T et al; CURRENT AS Registry Investigators. Initial Surgical Versus Conservative Strategies in Patients With Asymptomatic Severe Aortic Stenosis.

J Am Coll Cardiol. 2015 Dec 29;66(25):2827-38. Doi: 10.1016/j.jacc.2015.10.001.

Yamaji K, Ono K, Kadota K, Kimura T et al. Effects of Age and Sex on Clinical Outcomes after Percutaneous Coronary Intervention Relative to Coronary Artery Bypass Grafting in Patients with Triple Vessel Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2016 Mar 23. Doi:

10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020955. pii: CIRCULATIONAHA.115.020955.

[Epub ahead of print]

Yamaji K, Ono K, Kadota K, Kimura T et al. Influence of Sex on Long-Term

Outcomes After Implantation of Bare-Metal Stent: A Multicenter Report From the Coronary Revascularization Demonstrating Outcome Study-Kyoto (CREDO-Kyoto) Registry Cohort-1. *Circulation.* 2015 Dec 15;132(24):2323-33. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017168.

Imai M, Kimura T, Saito N, Kadota K et al: Impact of angiographic peri-stent contrast staining (PSS) on late adverse events after sirolimus-eluting stent implantation: an observation from the multicenter j-Cypher registry PSS substudy. *Cardiovasc Interv Ther.* 2014 Jul;29(3):226-36.

Shiomi H, Kadota K, Kimura T et al: Long-term clinical outcomes after everolimus- and sirolimus-eluting coronary stent implantation: Final 3-year follow-up of the randomized evaluation of sirolimus-eluting versus everolimus-eluting stent trial. *Circ Cardiovasc Interv.* 2014 Jun;7(3):343-54.

Shiomi H, Morimoto T, Kimura T et al; CREDO-Kyoto PCI/CABG registry cohort-2 investigators: Comparison of Percutaneous Coronary Intervention With Coronary Artery Bypass Grafting in Unprotected Left Main Coronary Artery Disease - 5-Year Outcome From CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2. *Circ J.* 2015 May 25;79(6):1282-9.

Natsuaki M, Kadota K, Kimura T et al. Late adverse events after implantation of sirolimus-eluting stent and bare-metal stent long-term

(5-7 years) follow-up of the coronary revascularization demonstrating outcome study-kyoto registry cohort-2. *Circ Cardiovasc Interv.* 2014 Apr;7(2):168-79.

Tokushige A, Ono K, Kadota K, Kimura T et al; on behalf of the CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 Investigators: Incidence and outcome of surgical procedures after coronary artery bypass grafting compared with those after percutaneous coronary intervention: a report from the Coronary Revascularization Demonstrating Outcome Study in Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2. *Circ Cardiovasc Interv.* 2014 Aug;7(4):482-91.

Yamaji K, Inoue K, Kadota K, Kimura T et al. Association of localized hypersensitivity and in-stent neoatherosclerosis with the very late drug-eluting stent thrombosis. *PLoS One.* 2014 Nov 25;9(11):e113870. doi: 10.1371/journal.pone.0113870. eCollection 2014.

Imai M, Kimura T, Inoue K et al. Pathological analyses of very long-term sirolimus-eluting stent implantation in human coronary artery. *J Cardiol Cases.* 2013 Nov;8(5):145-47.

Natsuaki M, Kadota K, Kimura T et al. Biodegradable polymer biolimus-eluting stent versus durable polymer everolimus-eluting stent: A randomized, controlled, noninferiority trial. *J Am Coll Cardiol.* 2013 Jul 16;62(3):181-90.

Morikami Y, Ono K, Kimura T et al.

Impact of polyvascular disease on clinical outcomes in patients undergoing coronary revascularization: An observation from the CREDO-Kyoto Registry Cohort-2. *Atherosclerosis.* 2013 Jun;228(2):426-31.

[学会発表](計12件)

Kimura T. Coronary Session III. Late Breaking Clinical Trials & Leading Clinical Trials from Asan Medical Center. TCTAP2015, April 28-May 1, Seoul(Korea)

Kimura T. ABSORB Japan. 12-month clinical and 13-month angiographic outcomes from a randomized trial evaluating the Absorb Bioresorbable Vascular Scaffold vs_ metallic DES in de novo native coronary artery lesions. ESC CONGRESS 2015, August 29-September 2, London(UK)

Kimura T. Session IV. DES Thrombosis and Restenosis. TCT 2015, October 11-15, San Francisco(USA)

Kimura T. Plenary Session VII. First Report Investigations. TCT 2015, October 11-15, San Francisco(U.S.A.)

Kimura T. New Randomized Trial Data (1-Year Outcomes). ABSORB Japan (ESC Late-Breaking Trial Results and Beyond). TCT 2015, October 11-15, San Francisco(USA)

Izuhara M, Ono K, Kimura T et al. CREDO-Kyoto PCI/CABG Registry Cohort-2 Investigators. High-density lipoprotein cholesterol levels and cardiovascular outcomes in Japanese patients after percutaneous coronary intervention: A report from the CREDO-Kyoto registry cohort-2.

American Heart Association Annual Scientific Sessions 2015, November 7-11, Orlando, Florida(USA)

木村 剛. DES 留置後の至適 DAPT 施行期間についての考察. 第 79 回 日本循環器学会学術集会 平成 27 年 4 月 24 日-26 日 大阪国際会議場外(大阪市)

木村 剛. 大規模レジストリ の将来展望 CREDO-Kyoto Registry. 第 79 回 日本循環器学会学術集会 平成 27 年 4 月 24 日- 26 日 大阪国際会議場外(大阪市)

Ono K. Current Topics in HDL-C ~Novel regulation by microRNA-33 and implications for future therapeutic strategies~. The 8th Otsuka Asia Atherosclerosis Conference, October 11-12, Shanghai(China)

Kimura T. Anticoagulant and Antiplatelet Therapy in Patients with Atrial Fibrillation Undergoing PCI. ANGIOPLASTY SUMMIT TCTAP 2013, April 23-26, Seoul(Korea)

Imai M, Kimura T, Saito N, Kadota K et al: Characteristics of Angiographic Peri-Stent Contrast Staining (PSS) on Very Late Stent Thrombosis After Sirolimus-Eluting Stent Implantation: Morphological Classification and Antiplatelet Therapy. 2013 年欧州心臓学会議 (ESC 2013), August 31-September 4, Amsterdam(Netherlands)

Toyota T, Ono K, Makiyama T, Kadota K, Kimura T et al. Prognostic Impact of the Staged Percutaneous Coronary Intervention Strategy for Non-Culprit Lesions in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Patients with Multi-Vessel Disease Undergoing

Primary Percutaneous Coronary Intervention. The American College of Cardiology(ACC) 63rd Annual Scientific Session, March 29-31, Washington, D.C. (USA)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)
取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://kyoto-u-cardio.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 剛 (KIMURA, Takeshi)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 80359786

(2) 研究分担者

尾野 亘 (ONO, Koh)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 00359275

西英一郎 (NISHI, Eiichiro)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 30362528

塩井哲雄 (SHIOI, Tetsuo)
京都大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 50360095
(平成 27 年度より研究協力者)

牧山 武 (MAKIYAMA, Takeru)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 30528302

齋藤 成達 (SAITO, Naritatsu)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 20467484

今井逸雄 (IMAI, Masao)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 10625677

(3) 連携研究者

なし