

平成 21 年 6 月 12 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591214
 研究課題名（和文） 川崎病における血管内皮障害に対する再生医療を目指した実験的研究
 研究課題名（英文） Experimental studies on the regenerative medicine aimed at vascular endothelial dysfunction in Kawasaki disease
 研究代表者
 小澤 誠一郎 (OZAWA SEIICHIRO)
 京都府立医科大学・医学研究科・助教
 研究者番号：40405246

研究成果の概要：離乳早期日本白色系家兔を用い血管炎モデルを作成し、HMG-CoA 還元酵素阻害剤(スタチン)の抗炎症効果を検討した。結果として、血管炎モデルでは、内膜の剥離を伴う全層性の炎症性変化、中膜を中心とする浮腫状血管壁肥厚、内弾性板の破壊などを伴う血管炎が出現し、血管炎惹起 1 ヶ月後も継続した。一方、スタチン投与群において、全層性の炎症反応は軽減し、内膜の限局的炎症性変化、軽度の血管壁肥厚を中心とする変化に留まる傾向が見られた。以上の結果より、スタチンの血管炎に対する抗炎症効果が認められた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000 円	540,000 円	2,340,000 円
2008 年度	1,700,000 円	510,000 円	2,210,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000 円	1,050,000 円	4,550,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：川崎病・血管炎・血管内皮障害・HMG-CoA 還元酵素阻害剤・血管炎動物モデル

1. 研究開始当初の背景

(1) 川崎病は小児期に好発する代表的な全身性血管炎であり、特に冠動脈炎に伴う冠動脈障害は虚血性心疾患につながることから臨床的に注目されている。患者数は年々増加し、最近では毎年 9,000 名以上の発症者が見られる（第 18 回川崎病全国調査 2005）。川崎病の病因と血管炎の正確な発症機転は未だ不明な点が多いが、病理学的には中小動脈を中心とした全身性の血管炎を主病態と

する。特に、冠動脈炎に伴う冠動脈瘤の発生の後、経過と共に過剰な内膜の線維性肥厚により狭窄性病変へと移行し虚血性心病変へ進展する。さらに遠隔期においても、血管内エコー検査および内皮由来血管拡張機能評価に関する研究結果から、血管内膜の肥厚による硬化性病変とともに、冠動脈病変の有無にかかわらず血管内皮機能障害が残存することが報告されるようになってきており、動脈硬化の危険因子となることが危惧されて

いる。これまで我々は、川崎病遠隔期例において血管内皮機能障害の指標である血漿トロンボモジュリン (TM) の異常高値 (日児誌 97(1), 93-96, 1993)、遠隔期例の冠動脈血流予備能の低下 (J Am Coll Cardiol 15, 833, 1998)、などを報告してきた。また、川崎病既往児では、冠動脈病変に関係なく、Flow-Mediated Dilatation (FMD) の低下や NO 産生の低下などの血管内皮機能障害が存在するほか、酸化ストレス状況にあることも報告してきた。

(2) さらには、我々が開発した川崎病類似の血管炎像を有する幼弱期家兔血管炎モデルでは、遠隔期において高コレステロール負荷により明らかなアテローム変化をきたすことから (日児誌 100(1) 1453-1458, 1996)、急性期の血管障害が長期的にも血管内皮機能障害として残存し、結果的に早発動脈硬化の危険因子となることを報告した。関係するエビデンスとして、酸化ストレスが関連している可能性も報告して来た。これらのエビデンスから、川崎病血管炎では血管内皮障害が遠隔期においても残存し、粥状動脈硬化発現の大きな危険因子になることが明らかとなってきた。そのため、急性期から遠隔期に及ぶ血管内皮機能障害の抑制や改善並びにその再内皮化を考慮に入れた治療戦略をたてること、川崎病冠動脈障害の長期予後の改善に極めて重要であると考えられる。

(3) 一方、現在急性期治療法として汎用されている超大量ガンマグロブリン療法は、必ずしも血管内皮機能の改善には結びついていない点、ガンマグロブリンそのものが生物製剤である点、さらには高価である点、などの問題点もあり、前述した種々のエビデンスからも遠隔期に及ぶ血管内皮機能障害の抑制や改善を考慮にいれた新たな治療法の開発が求められている。最近、成人領域において HMG-CoA 還元酵素阻害剤 (スタチン) が CRP 低下などの抗炎症作用などの多面的薬理作用を有していることが広く認められるようになり、その抗炎症作用とともに、血管内皮機能改善作用に関する有効性が広く期待されている。これまで小児での臨床応用に関する報告は見られないが、比較的安全で長期的投与が可能であるスタチンは、川崎病血管障害に対して、その抗炎症効果とともに長期的予後の改善を目指した血管内皮機能改善効果が期待される。さらに、障害血管内皮における再内皮化の促進と抑制のバランスをとることは、血管内皮機能の恒常性を保つという点において重要である

2. 研究の目的

今回、スタチンの臨床応用を視野に入れた基礎データを手に入れるために、独自に開発した川崎病類似の血管炎病態を有する幼弱期家兔血管炎モデルを用いて、炎症性冠血管障害に対するスタチンの急性期抗炎症効果、血管内皮機能障害に対する血管内皮機能改善への有効性と治療効果を明らかにするために実験的研究を行う事とした。

3. 研究の方法

実験動物には離乳早期日本白色系家兔 (平均体重700g、雄) を用いる。血管炎モデルは既に報告した方法に基づき生後5週および7週目に馬血清を静脈内投与して作成する。血管炎群は、さらに2回目の馬血清投与 (7週目) 1日後より14日間、

A群: スタチンを投与しない

B群: フルバスタチンを投与する群

C群: プラバスタチンを投与する群

の3群に分ける。

これら各群に関して、血管炎惹起となる2回目の馬血清投与 (7週目) の1, 3, 7, 14, 28日後に各群から心血管系組織を採取して組織および免疫組織学的検討を行う。また、対照群には馬血清の代わりに生食を同様の方法によって静脈内投与した家兔を用いる。

4. 研究成果

(1) A 群において、3日目より激しい内膜の剥離を伴う全層性の炎症性変化、中膜を中心とする浮腫状血管壁肥厚、内弾性板の破壊などを伴う血管炎を認めた。血管壁の肥厚は5日目をピークとして、以後消退した。

(2) B、C 群において、全層性の炎症反応は軽減し、内膜の限局的炎症性変化、軽度の血管壁肥厚を中心とする変化に留まる傾向が見られた。

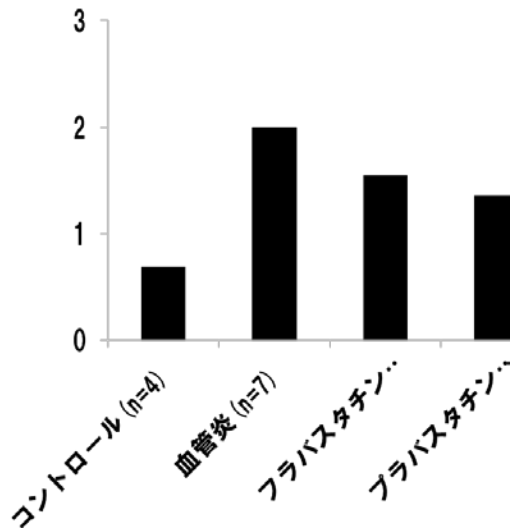


図 血管炎の評価

血管炎惹起7日後の標本を用いて、各群の血管炎の強さを内膜、中膜、外膜各について下記の4段階で評価、比較した。

- 0：炎症細胞の浸潤、血管壁肥厚を全く認めない。
 1：炎症細胞の浸潤、血管壁肥厚を軽度認める。
 2：炎症細胞の浸潤、血管壁肥厚を強く認める。
 3：炎症細胞の浸潤、血管壁肥厚をかなり高度に認める。

(3) 内皮細胞の形態評価において、A群と比較して、B、C群の血管内皮細胞の剥離、重層などの形態異常は3日後より軽減し、7日後には著明な改善を認めた。

以上より本血管炎モデルにおいて、スタチン投与により血管炎の早期(3日目)より抗炎症効果が認められた。

川崎病既往児で危惧されている動脈硬化への進展に対するprospectiveな検討は病態評価と積極的な介入治療の意義と適応を明らかにする事が期待される。

今回の結果より、川崎病血管炎の病態の全体像を把握するための重要な知見を得ることが可能になり、今後の臨床データ蓄積の参考になると考えられる。急性期から遠隔期に及ぶ血管内皮機能障害の抑制や改善並びにその再内皮化を考慮に入れた治療戦略をたてる事が重要であると考えられ、川崎病の新しい治療戦略のみならず血管障害の予測因子、予防因子としても活用することが出来る。

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1件)

- ① Ozawa S, Hamaoka K, Anti-inflammatory effects of HMG-CoA Reductase Inhibitors (statins) on acute coronary arteritis in a rabbit Model of Kawasaki disease *Cardiology in the Young* 17, 76-76, 2007、査読有

[学会発表] (計4件)

- ① Ozawa S, Hamaoka K, HMG-CoA Reductase Inhibitors (statins) are Effective for Prevention of Acute Coronary Artery Injury in a Rabbit Model of Kawasaki disease, the 42th Annual Meeting of the Association for European Pediatric Cardiology, 2007. 5. 18, Warsaw, Poland
- ② Ozawa S, Hamaoka K, Anti-inflammatory effects of HMG-CoA Reductase Inhibitors (statins) on acute coronary arteritis in a rabbit Model of Kawasaki disease, the 29th European Society of Cardiology Congress, 2007. 9. 2, Vienna, Austria
- ③ Ozawa S, Hamaoka K, Investigating the serial process of the histopathological features on acute coronary arteritis in a rabbit model of Kawasaki disease, 9th International Kawasaki Disease Symposium, 2008. 4. 18, Taipei, Taiwan
- ④ 小澤誠一郎、浜岡建城、川崎病血管炎に対するHMG-CoA還元酵素阻害剤(スタチン)の抗炎症効果に関する実験的検討、第44回小児循環器学会総会、2008. 7. 16、福島県郡山

[その他]

ホームページ

<http://koto8.kpu-m.ac.jp/~pedchd/rs-JSPCCS2008.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小澤 誠一郎 (OZAWA SEIICHIRO)
 京都府立医科大学・医学研究科・助教
 研究者番号：40405246

(2)研究分担者

浜岡 建城 (HAMAOKA KENJI)

京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：61089602