

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861228

研究課題名(和文) 経カテーテル的大動脈弁植込み術におけるONO-1301の弁周囲逆流抑制効果の検討

研究課題名(英文) Examination of ONO-1301 for inhibitory effect of paravalvular leak following transcatheter aortic valve implantation

研究代表者

前田 孝一 (Maeda, Koichi)

大阪大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：50644994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：経カテーテル的大動脈弁植込み術後弁周囲逆流に対するONO-1301の抑制効果を検討した。本邦で使用されているSAPIEN valveの代わりにGZVステントにONO-1301を懸濁したゼラチンハイドロゲルを塗布した人工血管および逆流を発生させるための骨片を達着し、HBD犬の大動脈に経カテーテル的に植込んだ。逆流は植込み後1ヶ月までは経時的に減少したが1ヶ月以降は変化なかった。組織学的評価としては大動脈壁と骨片の間に線維組織および内膜増生を認めた。以上よりONO-1301は経カテーテル的大動脈弁植込み術後弁周囲逆流の抑制に有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to examine the inhibitory effects of ONO-1301 for paravalvular leak following transcatheter aortic valve implantation. The stent grafts with gelatin hydrogel including ONO-1301 and bone fragment, were implanted on the aorta on HBD dogs. The paravalvular leak was reduced over time until one month, but, was unchanged after one month. The histology revealed the fibrous tissue and intimal proliferation between the aorta and the bone fragment. ONO-1301 may be useful to prohibit paravalvular leak following transcatheter aortic valve implantation.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：弁周囲逆流

1. 研究開始当初の背景

開心術が不可能もしくはハイリスクとされる大動脈弁狭窄症に対して欧米を中心に経カテーテル的大動脈弁植込み術の早期・中期成績の有用性が報告されるようになった。一方で石灰化病変などによる植込み弁と自己大動脈弁輪との間隙により生じる弁周囲逆流は術後中期以降の予後を左右すると報告されており、弁周囲逆流をいかにおさえるかが急務となっている。また、長期作用型プロスタサイクリンアゴニスト(ONO-1301)は1993年に選択的IP受容体作動活性にTXA2合成酵素阻害作用を合わせ持つ非プロスタグランジン骨格である低分子合成化合物として見出された。これまで同製剤の薬理作用として血管内皮細胞増殖因子(VEGF-A)、上皮細胞増殖因子(EGF)などの内因性修復因子の産生促進の他、血管新生促進作用が示されており、様々な分野で注目されている。以上より、弁周囲逆流の原因となるdeviceと弁輪部との間隙を埋め弁周囲逆流を軽減させる手段として、ONO-1301の薬理作用に着目し、本研究を企画するに至った。

2. 研究の目的

本研究は臨床材料ならびに大動物モデルを用いて、ONO-1301による自己組織誘導による弁周囲逆流減少の効果の検討を目的としている。

3. 研究の方法

薬剤徐放性 Stent graft を作成し、それを HBD 犬の大動脈に経カテーテル的に植込む。その際、人工的にステント-大動脈間に間隙(弁周囲逆流に相当)を作成し、術後経時的に間隙の血流およびその組織像を評価し、その効果を検証する。

(1) 薬剤徐放性 Stent graft の作成

ONO-1301は1ヶ月かけて徐々に徐放されるよう、PLGA microsphere製剤を使用した。まず、Edwards-SAPIEN valve (エドワーズライフサイエンス社)の代わりに、一般ステント(GZV)部に人工血管を縫い付け、そこにONO-1301MSを懸濁したニッピゼラチン(ニッピ株式会社)(試薬 1g)に対し10mlの蒸留水を溶かした溶液

を60℃に加熱して塗布し、乾燥、固着し、薬剤徐放性stent graftを作成した。

(2) 大動脈-ステント間隙(弁周囲逆流に相当)の作成

- i) ブタの肋骨骨片(5 x 3 mm)を採取し、stent 外にポリプロピレン糸を用いて固定する。
- ii) HBD 犬の大動脈に後腹膜より経カテーテル的に上記 stent を大動脈に留置し、留置後の間隙間血流を心エコーを用いて評価する。
- iii) また一方で ONO-1301 を含まない MS 製剤を同様に stent に固着させ、同様に HBD 犬に移植した。

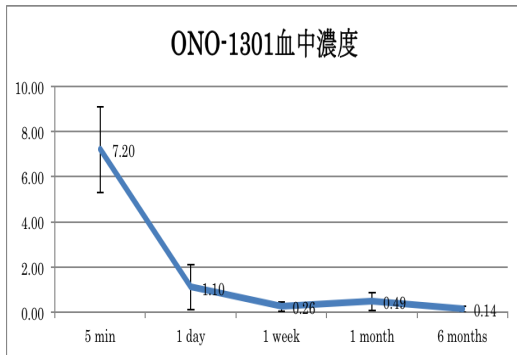
(3) ONO-1301 が大動脈-stent 間隙(弁周囲逆流)に与える影響の検証

- i) 薬物濃度
ONO-1301 の血中濃度を術直後、術後1日及び1、2、4週間、6ヶ月にて測定。
- ii) 大動脈-stent 間隙血流の評価
心エコーによる大動脈-stent 間隙血流を術直後、術後1日及び1、2、4週間、6ヶ月に評価。
- iii) 組織学的評価
H-E 染色、EVG (エラスチカ・ファン・ギーソン)染色 (= 弾性繊維、膠原線維を染め分ける)。
-SMA, CD31 による免疫染色にて Stent の組織への固着を組織学的に術直後、術後1日及び1、2、4週間、6ヶ月に評価。

4. 研究成果

ONO-1301投与群では手術後直後と2週間後にピークを認める2峰性のONO-1301血中濃度を示し、1ヶ月後まで少量ではあるが持続され

ていたが、術1ヶ月後からはほぼ0であった。



エコーでの評価では術直後より全例中等度の逆流(大動脈-ステント間の血液通過面積)を認めていたが、ONO-1301 投与群では植込み後 1、2、4 週と時間を経るごとに減少した印象であったが定量化が困難であった。4 週目以降(6 ヶ月目)での評価では植込み後 4 週目と大きな変化は認めない印象であった。

組織学的評価として、ONO-1301 投与群では H-E 染色にて 1、2、4 週目まで経時的に大動脈壁と骨片の間が組織で埋められていく様子が観察でき、EVG 染色ではその組織が膠原線維主体であることがわかった。また、その組織内には主に α -SMA 陽性細胞(平滑筋細胞)が 4 週目までに増加しており、組織構築に関与していると考えられた。一方、血流に接する表面には CD31 陽性細胞(内皮細胞)が一層存在しており、組織の安定化に寄与しているものと考えられた。しかし、移植後 6 ヶ月目の HBD 犬より得られた組織は植込み 4 週間後の ONO-1301 群の組織像とほぼ同等で、内膜の増生が高度で、EVG 染色では骨片と大動脈壁との間にできた間隙に膠原線維による線維化を認めた。

以上より、ONO-1301 による効果は少なくとも 1 ヶ月は持続することが示唆された。本研究では従来予定していた Edwards-SAPIEN valve (エドワーズライフサイエンス社)を用

いた検討が困難であったため、ONO-1301 による生体弁の影響の評価は行えなかったが、大動脈弁治療としての経カテーテル的大動脈弁植込み術後の弁周囲逆流を減弱することによりその予後の改善に有用である可能性が示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：特になし

6．研究組織

(1)研究代表者

前田 孝一 (MAEDA,Koicni)

大阪大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：50644994