

0.06). There was no difference in media area among the groups.

Immunohistochemical expression of MCP-1 and PDGF-BB and the composition of the neointima were then examined

in the abdominal aorta in the neointima (Fig. 2A). Azelnidipine at low and high doses reduced PDGF-BB and MCP-1 expression in the neointima (Fig. 2). In contrast, neither dose of azelnidipine affected the neointimal area (vehicle group:

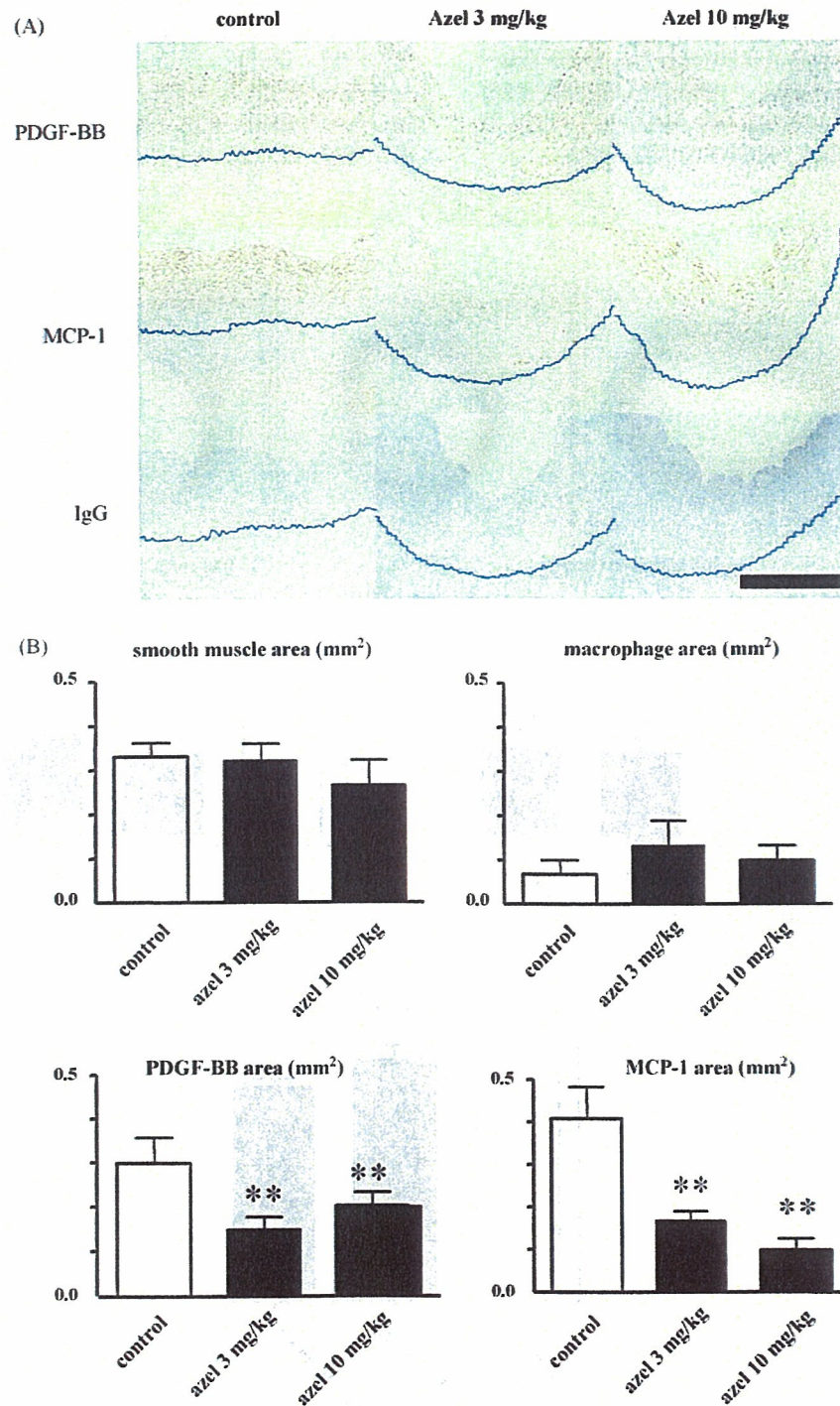


Fig. 2. Immunohistochemical detection of PDGF-BB and MCP-1 expression. (A) Cross-sections of abdominal aortas from experimental groups stained with the antibody against monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), platelet-derived growth factor (PDGF), or non-immune IgG (negative control). Internal elastic lamina are outlined with blue. Bar = 100 μ m. (B) The MCP-1- and PDGF-positive areas were markedly decreased in azelnidipine low- and high-dose groups. However, there were no significant differences in the smooth muscle cell areas and macrophage areas among the groups. *** $P < 0.01$ versus vehicle control group ($n = 12$ each). Each value represents mean \pm S.E.M.

$1.49 \pm 0.10 \text{ mm}^2$, low-dose group: $1.54 \pm 0.15 \text{ mm}^2$, high-dose group, $1.27 \pm 0.17 \text{ mm}^2$) or the macrophage or smooth muscle areas (Fig. 2B).

3.2. Detection of local oxidative stress in the aorta using DHE staining

No DHE fluorescence was detected in the normal abdominal aorta (data not shown). As shown in Online Figure, the fluorescent signal attributable to superoxide production was markedly enhanced in the neointima and media from the control group. Azelnidipine at low and high doses eliminated the intensity of DHE fluorescence in the neointima (Online Figure), whereas the DHE signal intensity did not differ among three groups in the media (data not shown).

3.3. Proliferation and migration of vascular smooth muscle cells in vitro

Azelnidipine at 1, 10, and 100 nM significantly inhibited the PDGF-induced proliferation of the human coronary

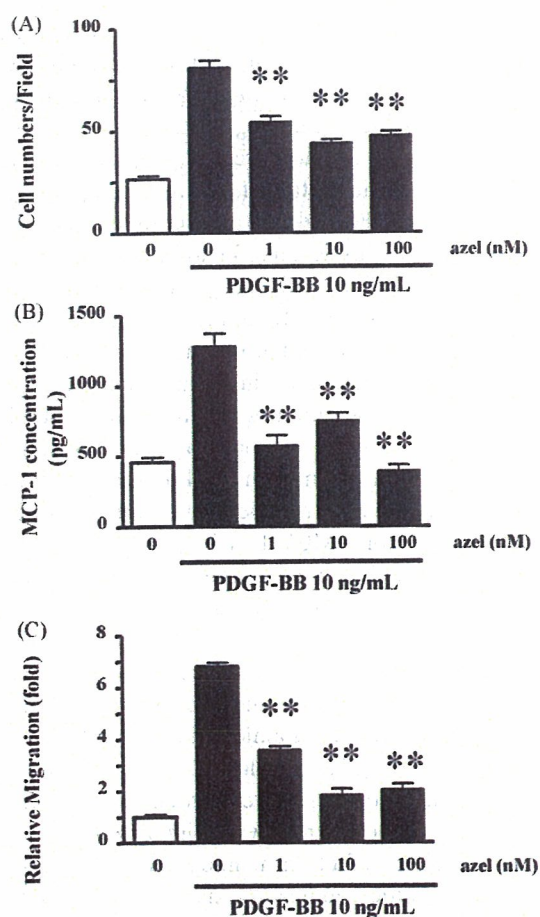


Fig. 3. Effects of azelnidipine on PDGF-induced proliferation of human coronary artery smooth muscle cells (A), on the concentration of MCP-1 in supernatant fluid from cell cultures treated with PDGF-BB (B), and on the migration of rat aortic smooth muscle cells (C). *P < 0.01 versus control (n = 9). Each value represents mean \pm S.E.M.

smooth muscle cells (Fig. 3A). To examine the effects of azelnidipine on the PDGF-induced release of MCP-1, MCP-1 concentrations in supernatant fluid were measured (Fig. 3B). PDGF increased the MCP-1 levels in supernatant from 462 ± 23 to $1322 \pm 98 \text{ pg/mL}$. Azelnidipine at 1, 10, and 100 nM significantly reduced the MCP-1 levels to 548 ± 34 , 742 ± 39 , and $405 \pm 33 \text{ pg/mL}$, respectively (Fig. 3B). Azelnidipine at 1, 10, and 100 nM also inhibited the PDGF-induced migration of rat aortic smooth muscle cells (Fig. 3C). The human coronary arterial smooth muscle cells treated with azelnidipine at 100 nM showed no signs of cell toxicity or apoptosis (data not shown).

3.4. Comparison of azelnidipine and amlodipine in ApoE-KO mice

Azelnidipine at low and high doses markedly reduced atherosclerotic lesion formation as detected by staining of en face preparations of the aortas of ApoE-KO mice (Fig. 4).

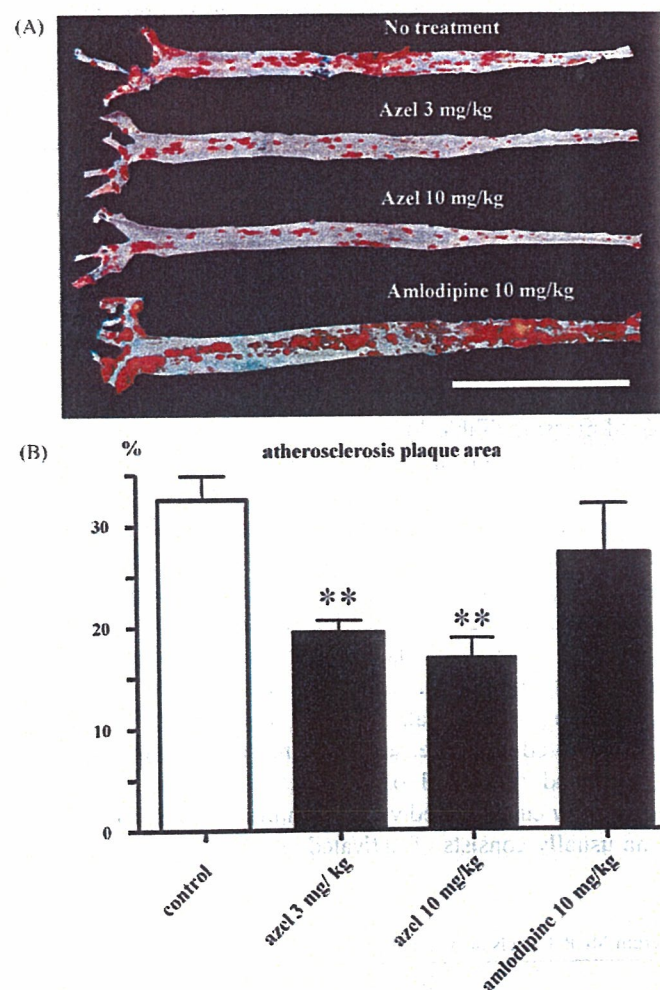


Fig. 4. Effects of azelnidipine and amlodipine on atherosclerosis in ApoE-KO mice. (A) En face preparations of aortas were stained with oil red O. Bar = 10 mm. (B) Quantitative comparison of atherosclerotic lesion size (percent of oil red O stained area) (n = 6–10). Data are reported as mean \pm S.E.M. ***P < 0.01 versus no treatment group.

However, amlodipine showed no such reduction compared with the 'no treatment' group (Fig. 4). In contrast, there were no significant differences in the lipid profiles, systolic blood pressure, and heart rates among the differently treated groups of mice (Online Table 2). There were also no significant differences in levels of multiple cytokines and chemokines among the groups (Online Table 3).

4. Discussion

The present study demonstrated that treatment with a newly developed CCB, azelnidipine, at 3 and 10 mg/kg attenuated the development of advanced atherosclerosis induced by balloon injury and hypercholesterolemia in non-human primates (cynomolgus monkeys).

To assess the clinical significance of our present finding, the dose range of azelnidipine is important. We recently reported that the C_{max} of azelnidipine at 3 and 10 mg/kg per day were 36 ± 17 and 107 ± 17 ng/mL, respectively, in cynomolgous monkeys [12]. The C_{max} after oral administration of 16 mg of azelnidipine to hypertensive subjects is reported to be 48 ± 19 ng/mL [10]. Therefore, it is reasonable to consider that in regards to plasma concentrations (C_{max}), the 3 mg/kg dose is within a clinically relevant dose range, and the 10 mg/kg dose is higher than the clinical dose range (i.e. is a pharmacological dose range) in monkeys. Furthermore, we also reported that the dose of azelnidipine used in the present study did not affect systemic arterial blood pressure and heart rate in cynomolgus monkeys under conscious conditions [12]. Therefore, it is suggested that the beneficial effects of azelnidipine on atherosclerosis as observed in monkeys were not due to its effects on serum lipids or arterial blood pressure (Table 1).

To examine the mechanisms underlying azelnidipine's anti-atherosclerotic effects, we examined a representative local oxidative stress marker with fluorescent dihydroethidium staining in monkeys. Our data clearly showed that azelnidipine at low and high doses nearly eliminated the increase in the fluorescence (i.e. the increase in oxidative stress) in neointima cells in atherosclerotic lesions. Similar potent anti-oxidant effects of azelnidipine were also reported by Jinno et al. [9], who showed that azelnidipine prevented the increases in fluorescent dihydroethidium signals and NAD(P)H oxidase activity in the neointima induced by cuff-induced vascular injury. Because the neointima usually consists of activated smooth muscle cells, the

present data suggest that mediation of local oxidative stress in neointimal smooth muscle cells is one of the major pathways by which azelnidipine exerts its anti-atherosclerotic actions.

Because inflammatory and proliferative processes induced by oxidative stress play a central role in atherogenesis [15], we next used immunohistochemistry to examine the expression of MCP-1 and PDGF. We and others have demonstrated that increased monocyte-mediated inflammation is associated with greater neointimal formation after stenting [16,17] and that anti-MCP-1 gene therapy [18,19] or administration of blocking antibody against the MCP-1 receptor markedly reduces neointimal formation after vascular injury. In addition to inflammation, the proliferation of vascular smooth muscle cells induced by PDGF plays a crucial role in atherogenesis. Here, we found reduced MCP-1 and PDGF immunoreactivity in the neointimal smooth muscle cells after treatment with azelnidipine at 3 and 10 mg/kg. Normalization of serum MCP-1 levels was also noted with azelnidipine treatment. These data suggest that the anti-atherosclerotic effects of azelnidipine might be attributable to the inhibition of oxidative stress-induced upregulation of MCP-1 and PDGF in the neointimal cells.

However, immunohistochemical analysis of the cellular composition of the neointima showed that azelnidipine had no effect on macrophage infiltration. We therefore hypothesized that azelnidipine was having a direct effect on vascular smooth muscle cells. The data presented here from vascular smooth muscle cells in culture shows that azelnidipine significantly inhibits PDGF-induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. In addition, this inhibitory effect was associated with decreased PDGF-induced production of MCP-1. We recently found that blocking MCP-1 partly inhibits PDGF-induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells in culture (author's unpublished data, 2006). In addition, it was recently reported that MCP-1 not only mediates monocyte-related inflammation, but also mediates transformation, proliferation, and migration of vascular smooth muscle cells [20]. Collectively, these data suggest that MCP-1 is involved in the mechanism of azelnidipine's inhibitory effects on PDGF-induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells.

To investigate whether the observed anti-atherosclerotic effects are unique to azelnidipine, we therefore compared effects of azelnidipine versus amlodipine in ApoE-KO mice. Azelnidipine at 10 mg/kg per day, but not amlodipine at 10 mg/kg per day, reduced atherosclerotic plaque size after 8 weeks of a high cholesterol diet. Neither azelnidipine nor amlodipine had any effect on hemodynamic parameters or on blood lipid profiles, indicating that the observed differential effects between the two drugs are independent of any effects on serum lipid levels or arterial blood pressure. Our present data are not contradictory to previous articles showing no definitive effects in atherosclerotic mice [21,22] or monkeys [23]. The mechanism underlying the differential

Table 1
Serum MCP-1 levels in cynomolgus monkeys

	Baseline (week 0)	24 weeks after treatment
Control	44 ± 5	$61 \pm 5^*$
Azelnidipine 3 mg/kg	46 ± 4	47 ± 5
Azelnidipine 10 mg/kg	47 ± 4	37 ± 4

Data are expressed as mean \pm S.E.M. n = 12.

* P < 0.05 vs. baseline.

effects of these two CCBs is unclear, but may be related to azelnidipine's high lipid solubility/high vascular affinity [23]. Recently, Ma et al. reported that the inhibitory effect of azelnidipine on iNOS-catalyzed NO production from vascular smooth muscle cells in culture was greater than that of amlodipine or nifedipine [24]. Moreover, azelnidipine is reported to inhibit H₂O₂-induced production of 8-iso-prostane from human arterial endothelial cells in culture to a greater extent than other same class CCBs (amlodipine and nifedipine) [25].

There are several caveats in interpreting the clinical significance of our present study. First, although we have shown anti-atherosclerotic effects of azelnidipine in non-human primates, the experimental and clinical evidence for the anti-atherosclerotic effects of CCBs remains controversial. Recent clinical trials with CCBs did not directly address the reduction of atherosclerosis and/or cardiovascular mortality in patients with atherosclerotic vascular disease [26]. Second, it deserves mentioning that the vast majority of patients with atherosclerotic vascular disease is not treated with CCB alone, but with combination of CCB plus statin, angiotensin receptor blockers and etc. [27]. In this regard, recent reports shows a synergistic effects of CCBs and statin etc. on progression of atherosclerosis. It is likely therefore that clinical benefits of CCBs on atherosclerosis might be overt in combination of other vasculoprotective drugs, such as statins.

In conclusion, this study presents experimental evidence that oral administration of azelnidipine at a clinically relevant dose and at a pharmacological dose attenuates advanced atherosclerosis in non-human primates. The beneficial effects were associated with reduced local oxidative stress, reduced MCP-1 and PDGF expression, and reduced smooth muscle cell proliferation/migration in the neointima. Notably, the anti-atherosclerotic effect seems to be unique to azelnidipine, rather than a class-effect of CCBs in respect to our data with ApoE-KO mice. These data in non-human primates suggest potential clinical benefits of azelnidipine might be beneficial as a "vasculoprotective CCB" in patients with atherosclerotic vascular disease. Further clinical trials are needed to prove this hypothesis.

Acknowledgements

This study was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research (14657172, 14207036) from the Ministry of Education, Science, and Culture, Tokyo, Japan and by unlimited research grant from Sankyo Co., Tokyo, Japan.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.atherosclerosis.2007.03.036.

References

- [1] Pitt B, Byington RP, Furberg CD, et al. Effect of amlodipine on the progression of atherosclerosis and the occurrence of clinical events. *PREVENT Invest Circ* 2000;102:1503–10.
- [2] Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs. diuretic: the Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA* 2002;288:2981–97.
- [3] Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, et al. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial. *Lancet* 2004;363:2022–31.
- [4] Jorgensen B, Simonsen S, Endresen K, et al. Restenosis and clinical outcome in patients treated with amlodipine after angioplasty: results from the Coronary Angioplasty Amlodipine REStenosis Study (CAPARES). *J Am Coll Cardiol* 2000;35:592–9.
- [5] Nissen SE, Tuzcu EM, Libby P, et al. Effect of antihypertensive agents on cardiovascular events in patients with coronary disease and normal blood pressure: the CAMELOT study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;292:2217–25.
- [6] Poole-Wilson PA, Lubsen J, Kirwan BA, et al. Effect of long-acting nifedipine on mortality and cardiovascular morbidity in patients with stable angina requiring treatment (ACTION trial): randomised controlled trial. *Lancet* 2004;364:849–57.
- [7] Mason RP, Marche P, Hintze TH. Novel vascular biology of third-generation L-type calcium channel antagonists: ancillary actions of amlodipine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:2155–63.
- [8] Henry PD, Bentley KI. Suppression of atherogenesis in cholesterol-fed rabbit treated with nifedipine. *J Clin Invest* 1981;68:1366–9.
- [9] Jinno T, Iwai M, Li Z, et al. Calcium channel blocker azelnidipine enhances vascular protective effects of AT1 receptor blocker olmesartan. *Hypertension* 2004;43:263–9.
- [10] Kuramoto K, Ichikawa S, Hirai A, et al. Azelnidipine and amlodipine: a comparison of their pharmacokinetics and effects on ambulatory blood pressure. *Hypertens Res* 2003;26:201–8.
- [11] Yagil Y, Lusting A. Azelnidipine. (CS-905), a novel dihydropyridine calcium channel blocker with gradual onset and prolonged duration of action. *Cardiovasc Drugs Rev* 1995;13:137–48.
- [12] Nakano K, Egashira K, Tada H, et al. A third-generation, long-acting, dihydropyridine calcium antagonist, azelnidipine, attenuates stent-associated neointimal formation in non-human primates. *J Hypertens* 2006;24:1881–9.
- [13] Kitamoto S, Nakano K, Hirouchi Y, et al. Cholesterol-lowering independent regression and stabilization of atherosclerotic lesions by pravastatin and by antimonocyte chemoattractant protein-1 therapy in nonhuman primates. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1522–8.
- [14] Inoue S, Egashira K, Ni W, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2002;106:2700–6.
- [15] Egashira K. Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease. *Circ J* 2002;66:529–33.
- [16] Farb A, Weber DK, Kolodgie FD, Burke AP, Virmani R. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. *Circulation* 2002;105:2974–80.
- [17] Welt FG, Rogers C. Inflammation and restenosis in the stent era. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1769–76.
- [18] Egashira K, Zhao Q, Kataoka C, et al. Importance of monocyte chemoattractant protein-1 pathway in neointimal hyperplasia after periarterial injury in mice and monkeys. *Circ Res* 2002;90:1167–72.
- [19] Egashira K. Molecular mechanisms mediating inflammation in vascular disease: special reference to monocyte chemoattractant protein-1. *Hypertension* 2003;41:834–41.
- [20] Denger S, Jahn L, Wende P, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 cDNA in vascular smooth muscle cells: induction

- of the synthetic phenotype: a possible clue to SMC differentiation in the process of atherogenesis. *Atherosclerosis* 1999;144:15–23.
- [21] van de Poll SW, Delsing DJ, Jukema JW, et al. Raman spectroscopic investigation of atorvastatin, amlodipine, and both on atherosclerotic plaque development in APOE*3 Leiden transgenic mice. *Atherosclerosis* 2002;164:65–71.
- [22] Candido R, Allen TJ, Lassila M, et al. Irbesartan but not amlodipine suppresses diabetes-associated atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:1536–42.
- [23] Takai S, Kim S, Sakonjo H, Miyazaki M. Mechanisms of angiotensin II type 1 receptor blocker for anti-atherosclerotic effect in monkeys fed a high-cholesterol diet. *J Hypertens* 2003;21:361–9.
- [24] Ma J, Kishida S, Wang GQ, et al. Comparative effects of azelnidipine and other Ca²⁺-channel blockers on the induction of inducible nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006;47:314–21.
- [25] Shinomiya K, Mizushige K, Fukunaga M, et al. Antioxidant effect of a new calcium antagonist, azelnidipine, in cultured human arterial endothelial cells. *J Int Med Res* 2004;32:170–5.
- [26] Lichtlen PR, Hugenholtz PG, Rafflenbeul W, et al. Retardation of angiographic progression of coronary artery disease by nifedipine. Results of the International Nifedipine Trial on Antiatherosclerotic Therapy (INTACT). INTACT Group investigators. *Lancet* 1990;335:1109–13.
- [27] Jukema JW, Zwinderman AH, van Boven AJ, et al. Evidence for a synergistic effect of calcium channel blockers with lipid-lowering therapy in retarding progression of coronary atherosclerosis in symptomatic patients with normal to moderately raised cholesterol levels. The REGRESS Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:425–30.

概論

血管医学の新展開

—ニューパラダイムの構築から治療開発へ

江頭健輔

臨床医学である「血管医学」の重要性は、血管の形態と機能制御が臓器ならびに生命の維持に不可欠であること、虚血性心疾患などの血管病の増加が著しいこと、血管医学によって血管病のメカニズム解明と治療法開発につながることで、などから明らかである。血管医学に関する研究成果を基盤にして、医学から医療に移行するプロジェクトがはじまっている。「血管を創る」治療法として血管新生の基礎・臨床研究が世界的に進んでいる。また、「血管を護る」対策についても多くの研究が進んでいる。血管医学からの生命科学が開拓され、その成果が臨床医学へ還元されるときを迎えつつある。

はじめに

血管病の分子メカニズムに関する研究は2000年以降を振り返ってみるだけでもめざましいものがある。いくつもの新しいパラダイムが構築され、その多くは動脈硬化性疾患の治療開発へ応用されつつある。また、血管医学の研究成果が悪性腫瘍や炎症性疾患などの難治性疾患の治療開発研究に応用されはじめている。

今回、本書「血管研究の最先端と治療への展開」の第2章「血管病態の分子メカニズム」の分担編集を担当させていただく機会を得て9本の特集を取りあげた。いずれもこのテーマに関する最新の話であり、その多くはニューパラダイムの構築に貢献したものであり、今後その成果を基盤にして治療法あるいは診断法の開発研究に移行しようとしている。本稿では、これらの研究のバックボーンともいえる「血管医学」の新展開について述べる。

1. 血管に視点をおいた「血管医学」の重要性

血管に視点をおいた臨床医学である「血管医学」の重要性は以下のように要約される。

第1に、血管の形態と機能がシステムとして正常に作動することが臓器ならびに生命の維持に不可欠であることはいままでのない。血管系のシステム欠損によって重要臓器の形成不全・機能不全が生じることがわかっているし、内皮細胞機能障害が心血管イベントの独立し

[キーワード&略語]

血管医学, 炎症, 血管新生, トランスレーショナルリサーチ

VEGF: vascular endothelial growth factor (血管内皮増殖因子)

HGF: hepatocyte growth factor (肝細胞増殖因子)

た予測因子となることも明らかにされている。次世代医療として期待されている血管新生療法や再生療法も健全な血管系の発生/分化を伴わなければ成立しない。健全な血管では血管壁構成細胞群（内皮，平滑筋，線維芽細胞）が相互に機能しあって，循環，細胞遊走/増殖，凝固/線溶などが正常に機能するように働いている（第2章-4）。さらに，炎症・免疫疾患，造血異常，腫瘍などの病態形成にも血管系の存在は必須である。

第2に，高齢者の増加によって血管医学の臨床的重要性はかつてないほどに高まっている。虚血性心疾患だけでなく，脳血管疾患・腎硬化症・網膜疾患・末梢血管疾患・大動脈瘤などの血管病の増加が著しく，これら血管疾患の国民死亡率と全医療費に占める割合はきわめて大きい。心不全は血管疾患と同様に代表的循環器疾患であるが，その多くは冠動脈疾患を基盤として発症するようになった。したがって，血管疾患の診断と治療に関する知識は循環器専門医だけでなく一般臨床医にとってもきわめて重要になってきたわけである。また，これらの血管疾患の診療研究に携わる医師・研究者は内科系だけでなく多くの診療科（脳内科，血管外科，眼科，腫瘍内科・外科）と基礎講座に所属しているので，血管疾患のメカニズム解明と治療開発には講座・診療科の垣根を越えた横断的共同研究体制の構築も必要であろう。

第3に，血管疾患は国民病ともいえる生活習慣病と密接に関連する。高コレステロール血症，高血圧症，糖尿病では合併症としての血管障害が臨床的に重要であり，生活習慣病の治療は単に脂質，血圧，血糖の値をコントロールするだけでなく，「血管保護」を認識して進めるよう推奨されている（第2章-6）。また，「ヒトは血管とともに老いる」といわれるように老化と血管病は密接にかかわっている。したがって，血管を視点においた血管医学を推進することにより生活習慣病や老化による血管病のメカニズム解明と治療法開発につながるであろう（第2章-8）。さらに，老化によって生じる難治性疾患の治療開発のきっかけが得られる可能性もある。

最後に，血管病は全身性疾患であるので，血管医学に関する診療/治療は内科学の基本の1つとなり臨床医学としての重要性もきわめて大きい。

2. 血管病を治療する対策の創製

生活習慣病は血管障害を生じさせることによって臨床的に重要な病態となる。大規模臨床試験で心血管病の予後を改善することが示されているACE阻害薬，スタチン，アンジオテンシン受容体拮抗薬などは共通に血管内皮機能を改善させることも血管障害の臨床的重要性をいっそう高めるものである（第2章-4，第3章-5）。したがって，血管内皮を保護する，あるいは，血管再生を誘導する治療法の開発は「血管医学」の大きなテーマである。血管障害因子刺激の上流あるいは下流にある新しい遺伝子/タンパク質を同定し，疾患発症リスクの階層化や疾患の診断/治療に応用することによって，血管病の予防法・治療法が創製されるであろう。また，内皮細胞障害や動脈硬化の感受性遺伝子多型を同定できれば，リスクの階層化や治療開発研究が進むであろう。

「血管を創る」治療法としての血管新生因子による血管新生（第2章-3，第3章-1），自己骨髄系細胞（第3章-2）やES細胞（第2章-7）を用いた血管新生，医用工学技術を駆使したハイブリッド人工血管（第3章-3），などの開発研究が進んでいる。血管新生/再生の研究は生命科学上の意義があるだけでなく，臨床医学全体に大きく貢献するものである。

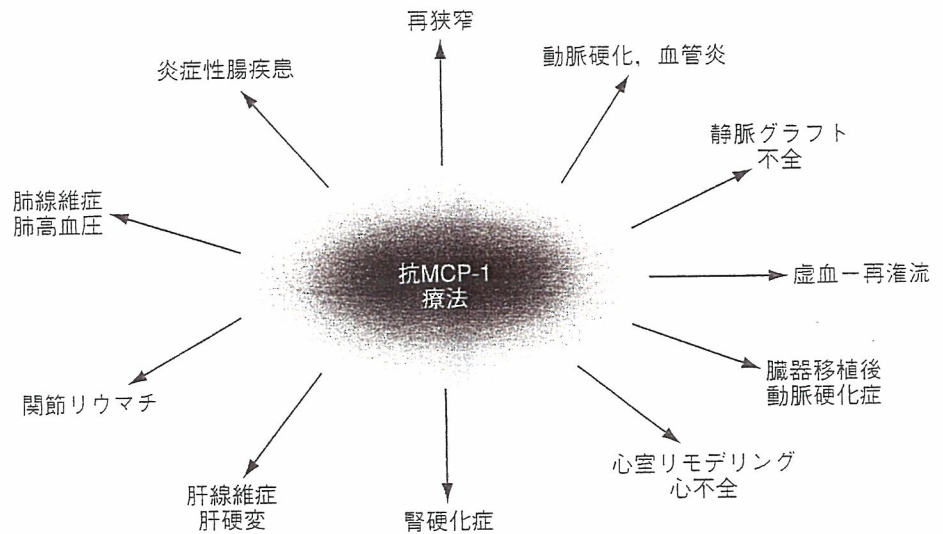


図1 抗MCP-1療法の幅広い臨床応用の可能性

血管新生/再生は臓器の発生/再生に必須であり、癌も血管なしには成長できない。内皮細胞増殖因子 VEGF や肝細胞増殖因子 HGF による血管新生治療は重症虚血肢の新しい治療法として臨床研究が進んでいる（第3章-1）。自己骨髄細胞を用いた血管新生療法はわが国の研究者らが世界に先駆けて開発し、その臨床の有効性を報告した。最近では世界的レベルで重症下肢虚血ならびに虚血性心疾患患者に対する自己細胞療法が実施されている。しかし、血管新生療法の陰の部分も指摘されはじめた。たとえば、VEGF の臨床試験で少数例を対象とした第 I / II 相試験では有効と報告されたが、無作為化試験あるいは多数例を対象とした大規模試験では有効性が証明されていない。さらに、VEGF 投与が実験的動脈硬化を促進する、VEGF 抑制によって動脈硬化病変が減少する、などの報告があり、VEGF による血管新生療法の成績は注意して解釈する必要がでてきた（第2章-2）。骨髄細胞移植についても、投与した細胞のほとんどは血管形成に貢献しない、細胞融合に起因する、などの批判がある。将来、より強力な血管新生能を付与した細胞、ES細胞あるいはケモカインを用いた血管新生療法などの新しい対策が必要になるであろう（第2章-8）。

「血管を護る」対策も進んでいる（第2章-9）。われわれは monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 抑制による抗炎症療法の探索研究（トランスレーショナルリサーチ）を進めている。MCP-1 の N 末端欠失体（7ND）が MCP-1 の強力な抑制因子として作用することを利用して 7ND プラスミド遺伝子導入による抗 MCP-1 療法を開発した（第2章-1）。この戦略によって、動脈硬化の発生・進行の抑制とプラーク安定化がもたらされること、退縮が生じること、再狭窄反応（傷害後内膜肥厚）が抑制されること、を霊長類モデルを含む実験動物を用いて明らかにした。これらの研究によって、動脈硬化性疾患のメカニズムにおける新しいパラダイム（炎症仮説の証明）が構築できたと考えている。また、MCP-1 の機能は多彩であり、平滑筋遊走増殖・線維化・血管新生に必須である。MCP-1 機能阻止によって高血圧性心疾患・心不全、重症腎疾患、脳血管障害、網膜疾患、病的血管新生、肺高血圧症、線維症、臓器移植後動脈硬化、などの難治性炎症性疾患にも有用であることを示す実験成果が集積されつつある（第2章-5）（図1）。

例：再狭窄に対する抗炎症（抗MCP-1）治療開発の流れ

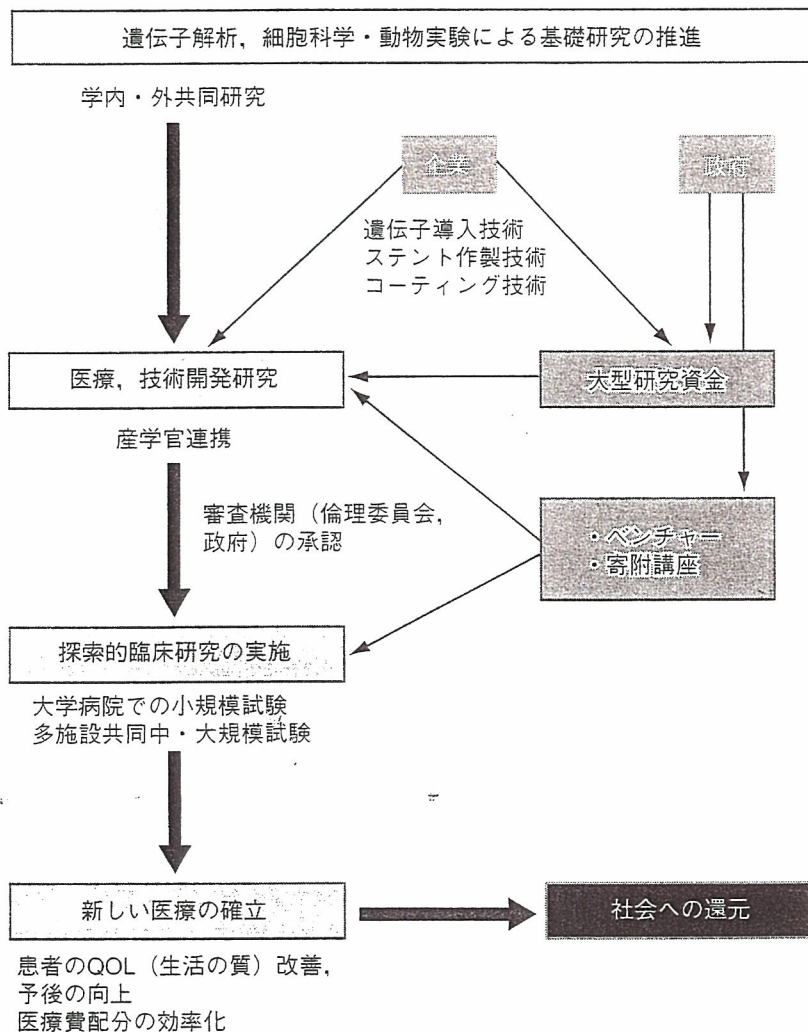


図2 トランスレーショナルリサーチの流れ

動脈硬化による狭窄を解除する方法としてカテーテルによるインターベンションが血管疾患の治療として確立している。しかし、冠動脈インターベンション後再狭窄が30%程度に生じることが問題である。最近、薬物溶出型ステントが登場し再狭窄に対して画期的臨床成績を示したことから、再狭窄克服に向けての開発研究の第一幕がスタートした。われわれは、7NDの成果を駆使して遺伝子溶出型ステントなどを開発し、画期的血管内治療システムを創製することをめざしている（第2章-1）（図2）。

このような新しい治療開発研究が実際に応用されるには、治療的遺伝子、ペプチド、タンパク質を標的臓器や組織の局所に送達するDDS（ドラッグデリバリーシステム）の開発もきわめて重要である。遺伝子導入用ベクター、生分解性材料、ナノ技術、などによる画期的DDSの開発も重要な研究テーマである（第2章-9）。

3. 血管医学からの生命科学の開拓と臨床医学への還元

わが国の血管医学研究のレベルは、本書の内容から自明なように世界的レベルに達しつつ

ある。これは、1990年代後半から大型研究費が血管生物学分野ならびに循環器疾患の臨床研究分野に配分されるようになったことの反映でもある。したがって、血管医学研究に携わるわが国の研究者の使命は、独自性・独創性のある研究成果を世界へ発信することであろう。

血管を対象としたこのような生命科学研究は単に循環器疾患だけでなく、広く臨床医学全体にフィードバックできることが期待されることから、血管医学は生命科学としても重要な分野である。

おわりに

質の高い研究・教育の遂行と研究成果の臨床医学・社会への還元は21世紀の大学に課せられた使命である。したがって、研究成果を臨床応用し、社会に還元することを目標にした臨床・基礎研究を実施することがわれわれの使命である。その目標達成のためには、臨床に視点をおいた高いレベルの研究・教育が必須であり、高い診断・治療技術を有する臨床チームを組織しなくてはならない。高水準の循環器診療・研究の環境が構築されれば、自然と次世代を担う多くの人材が育成されるであろう。

将来のインターベンション対策

単球走化性促進因子； MCP-1 を標的とした再狭窄予防対策 —遺伝子溶出性ステントの展望—

大谷規彰*1,*2, 江頭健輔*2

OHTANI Kisha, EGASHIRA Kensuke

*1 済生会福岡総合病院循環器内科

*2 九州大学大学院医学研究院循環器内科学

SUMMARY

薬剤溶出性ステント (Drug-Eluting Stent : DES) は、冠動脈インターベンション (percutaneous coronary intervention : PCI) 後の再狭窄を減らすことに成功し、虚血性心疾患に対する治療戦略は新たな局面を迎えている。しかし再狭窄におけるすべての問題が解決されたわけではなく、糖尿病患者や病変によっては依然再狭窄率は高く、また現行の搭載薬剤が再内皮化を遅延させ、遅発性再狭窄を引き起こす可能性があり、長期成績への危惧もある。われわれは再狭窄における炎症の役割に注目し、血管傷害後の炎症に必須の役割を果たす単球走化性促進因子 (monocyte chemoattractant protein-1 : MCP-1) の機能抑制により実験的再狭窄が抑制できることを、霊長類を含む実験動物を用いて明らかにしてきた。MCP-1 の抑制により炎症が抑制されるだけでなく、平滑筋遊走・増殖が抑制され、内皮再生は影響を受けないことがわかってきた。今後、MCP-1 を標的とした遺伝子溶出性ステントによる再狭窄治療法の確立が期待される。

POINTS

- 劇的に再狭窄を減少した DES にも残された問題点がある。
- 安全性と有効性においてよりすぐれた革新的ステントの開発が期待されている。
- 再狭窄の機序には単球、MCP-1 により惹起される炎症が大きくかわる。
- 変異型 MCP-1 遺伝子導入により実験的再狭窄が抑制される。
- 7 ND 遺伝子溶出性ステントを作製し、前臨床試験を実施している。

KEY WORDS

炎症, 単球走化性促進因子 (monocyte chemoattractant protein-1 : MCP-1), 遺伝子溶出性ステント

はじめに

現在わが国で年間 15 万例、世界で 150 万例の経皮的冠動脈インターベンション (percutaneous coronary intervention : PCI) がおこなわれているが、そのうち 80% 以上をステント留置術が占めている。しかしながら、ステ

ント留置後の新生内膜形成による再狭窄が 20~40% の割合で生じ、さらにはステント内再々狭窄の危険性はさらに高い (50% 以上) ことから、問題となっている。

薬剤溶出性ステント (Drug-Eluting Stent : DES) の登場により、冠動脈ステント留置後の再狭窄が劇的に減少し、虚血性心疾患に対する治療法は新たな時代に入っ

たといえる。なかでも免疫抑制薬シロリムスと抗悪性腫瘍薬パクリタキセルを使用した溶出性ステントは大規模臨床試験で有効性が確認された¹¹⁻¹⁴⁾。この臨床試験結果より、この研究はコーティングステントによる再狭窄予防戦略の妥当性・正当性を示すものである。しかしながら未決の問題も残されている。

■ Ⅰ. 現行の DES の問題点が指摘されている

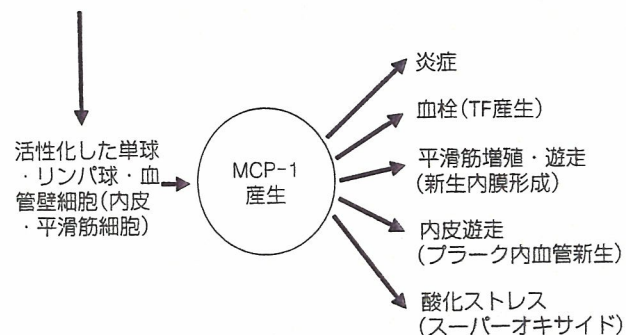
DES による大規模臨床試験で有望な結果は、局所への薬物運搬により、局所での薬物濃度を上げることが今後の再狭窄抑制への研究として1つの戦略となることを支持する。一方で、再狭窄の機序やコーティングステントによる再狭窄抑制機序は不明の点が多く残され、新たな問題も生じている。

現行の DES の臨床的問題点として、長期間の抗血小板治療が必要で、稀ではあるが過敏反応に起因する冠動脈内血栓による死亡や、抗血小板薬中止後の冠動脈内血栓症が報告されていること⁵⁾、再狭窄率は減少させたが、心血管イベントや総死亡は従来のステント治療と変わらないこと⁶⁾、糖尿病患者や細い病変、長い病変では再狭窄を起こしやすいこと、ステントにコーティングするポリマーに対する過敏反応が起こること⁷⁾、再内皮化遅延による遅発性再狭窄や冠動脈瘤発生などが起こる可能性があること⁸⁾⁹⁾長期予後が不明なこと、が挙げられる。

とくに剖検報告では、ステントストラッド周囲の著明な炎症と血栓が観察されており、また、血管内視鏡による検討では、数ヵ月後でも再内皮化されず、血管内腔に剥き出しになったステントが観察されている。また、前臨床試験(動物冠動脈)では、不十分な血管修復反応(炎症の持続、内皮再生障害など)、血栓形成、遠隔期での効果の消失などの問題が指摘されている。

したがって、現行の DES には解決すべき臨床上の重大な問題点があり、今後安全性と有効性においてよりすぐれた革新的ステントの開発が期待されている。

冠動脈インターベンション



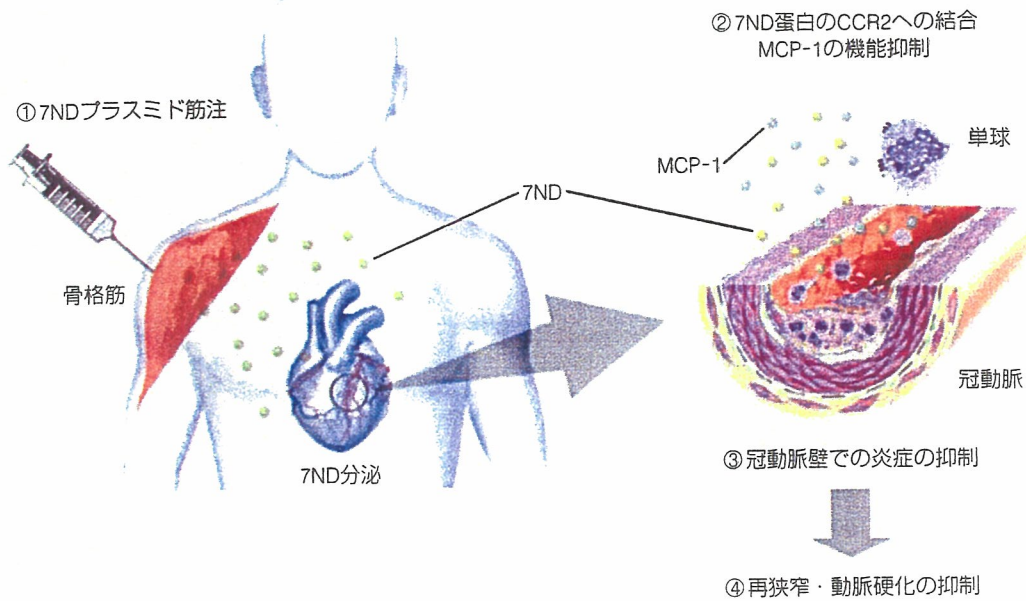
図① 動脈硬化/再狭窄の成因における MCP-1 の多面的機能 (筆者作成)

■ Ⅱ. 再狭窄の機序には炎症が大きくかわる

ステント内再狭窄は平滑筋遊走・増殖に起因する新生内膜肥厚が主因であり、その分子機序にはステントに対する異物反応としての炎症や組織傷害後の修復反応が重要な役割を果たしていることが示されている¹⁰⁾¹¹⁾。組織学的検討ではバルーン拡張術と比較し、ステント留置術では慢性的にステント部への単球・マクロファージの浸潤がより強く認められる¹²⁾。ステント部周囲のマクロファージを中心とする炎症細胞の浸潤程度と新生内膜形成は相関し、再狭窄病変では炎症細胞の浸潤が多いことが報告されている¹³⁾。

■ Ⅲ. 再狭窄の機序には単球, MCP-1 により惹起される炎症がかかわる

PCI により血管壁が損傷を受けると、単球・マクロファージの浸潤を伴う炎症性反応が惹起される。PCI 施行後の患者の血管局所もしくは全身の炎症の度合いが、再狭窄に大きくかわることが知られている¹⁴⁾。ステント留置後の末梢血での単球数や冠状静脈洞での炎症細胞の表面抗原 Mac-1 の活性化が新生内膜の大きさと相関するという報告もある。単球・マクロファージの浸潤や機能調節には、MCP-1 が必須の役割を果たすため、MCP-1 が PCI 後炎症を制御しうることが予想される。後に再狭窄を起こす患者では、再狭窄を起こさない患者



図② 変異型 MCP-1 (7ND) 遺伝子導入による遺伝子治療戦略
骨格筋に 7ND 遺伝子を導入し発現させた。7ND は血中を循環し、冠動脈壁における MCP-1/CCR2 シグナルを阻止することにより炎症を抑制し、再狭窄・動脈硬化を抑制することが期待される。
(筆者作成)

と比較し、PCI 後の血漿 MCP-1 濃度が高く、また遷延するという報告がある¹⁵⁾。また急性冠症候群 (acute coronary syndrome : ACS) の患者の血中 MCP-1 濃度が高いほうが、その後の予後は悪いという報告もある。組織化学的検討では再狭窄病変では MCP-1 の発現増強がみられ、マクロファージの浸潤が多いことが知られている。これらより、局所および全身的なマクロファージの活性化が新生内膜形成に大きくかかわっていることが示唆され¹³⁾¹⁶⁾、MCP-1 は血管再狭窄の重要な治療標的と考えられる。

MCP-1 はその受容体である CCR2 に結合することにより効力を発揮する。MCP-1 と CCR2 は正常血管壁ではほとんど発現していないが、血管が障害されると、その早期からほとんどすべての血管壁細胞で発現が増加し、炎症反応を増幅させ、新生内膜形成へと進む(図①)。

■ IV. 変異型 MCP-1 遺伝子導入による抗 MCP-1 遺伝子治療

われわれは MCP-1 の受容体の拮抗作用を有する変異

型 MCP-1 (MCP-1 の N 末端 2~8 番目のアミノ酸を欠損したもの、7ND と呼ぶ) 遺伝子を用いて、MCP-1 活性を生体レベルで効率よく阻止できる遺伝子治療を開発した。すなわち、変異型 MCP-1 遺伝子の骨格筋注入により遺伝子発現が生じ蛋白が循環血中に分泌されること、分泌され蛋白は MCP-1 受容体に結合し、受容体シグナルを抑制すること、また遠隔臓器での MCP-1 による単球浸潤を抑制できることを明らかにした¹⁷⁾(図②)。霊長類を使用した毒性試験では、明らかな副作用(急性毒性、抗原性、免疫異常、アレルギー)は認めなかった。

■ V. 変異型 MCP-1 遺伝子導入により実験的再狭窄が抑制された

われわれはこれまで、変異型 MCP-1 (7ND) の遺伝子導入により、実験的再狭窄(バルーン傷害、外膜傷害、ステント留置)が抑制できることを、霊長類を含む実験動物を用いて明らかにしてきた^{18)~20)}。高コレステロール食負荷ウサギとカニクイザルの腸骨動脈にステントを留置したモデルでは 7ND 遺伝子プラスミドの骨格筋導入

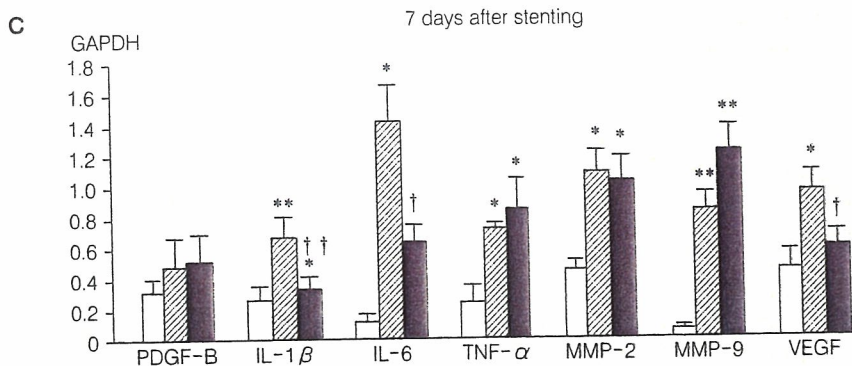
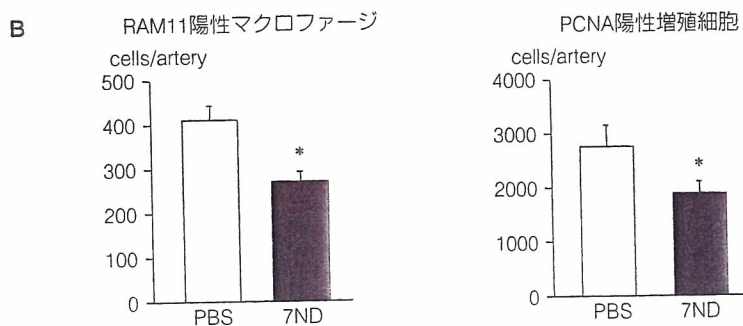
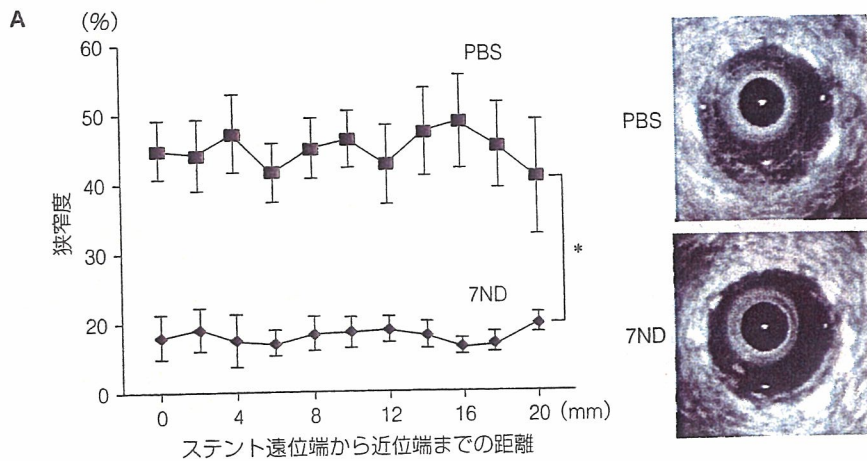


図3 スtent留置モデルにおける全身性7ND遺伝子導入の効果

A: ウサギ外腸骨動脈へのstent留置28日後の新生内膜形成の血管内エコー (IVUS) による解析結果. 7ND遺伝子導入により, 新生内膜形成が抑制された. * $p < 0.01$ vs. PBS

B: ウサギstent留置外腸骨動脈 (7日後) における抗マクロファージ抗体 (RAM 11) 陽性細胞, 抗PCNA陽性増殖細胞染色による解析結果. 7ND遺伝子導入によりstent留置血管での浸潤マクロファージ数, 増殖細胞数の減少が観察された. * $p < 0.01$ vs. PBS

C: ウサギstent留置外腸骨動脈 (7日後) における遺伝子発現の解析結果. 7ND遺伝子導入により, 炎症および増殖関連遺伝子の発現抑制を認めた. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. control (no injury), † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ vs. the PBS group

(筆者作成)

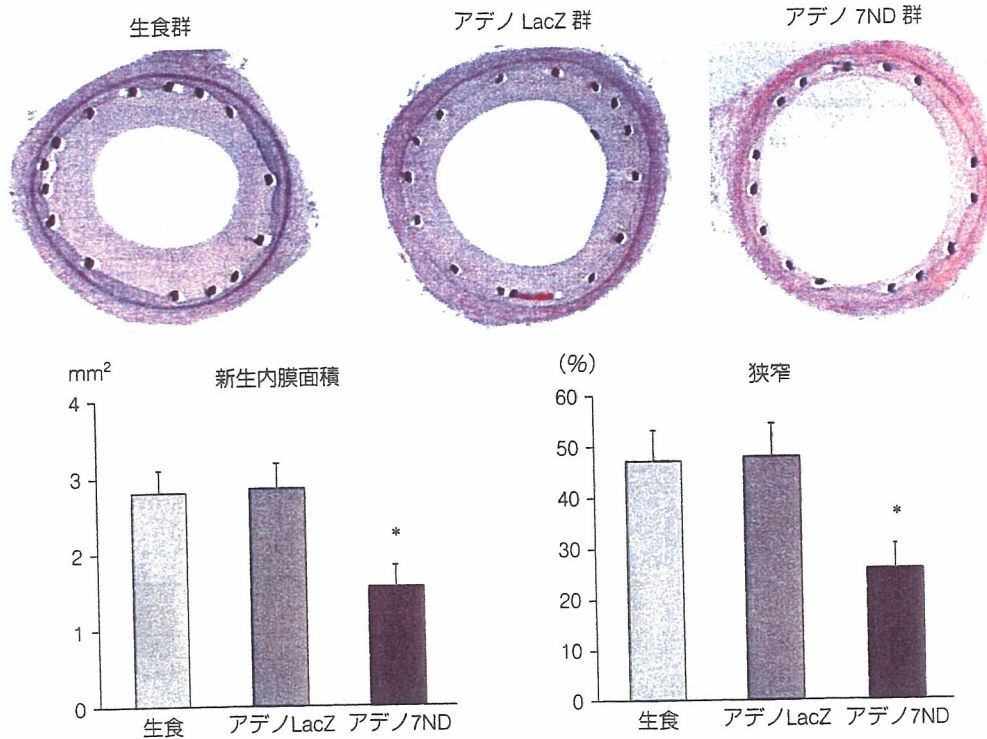


図4 スtent留置モデルにおける局所7ND遺伝子導入の効果
 カニクイザル外腸骨動脈へのstent留置28日後の新生内膜形成の組織標本による解析結果。7ND遺伝子の血管内強発現群は、生食群、アデノLacZ遺伝子群とくらべ、有意に新生内膜形成を抑制した。* $p < 0.01$ vs. normal saline (筆者作成)

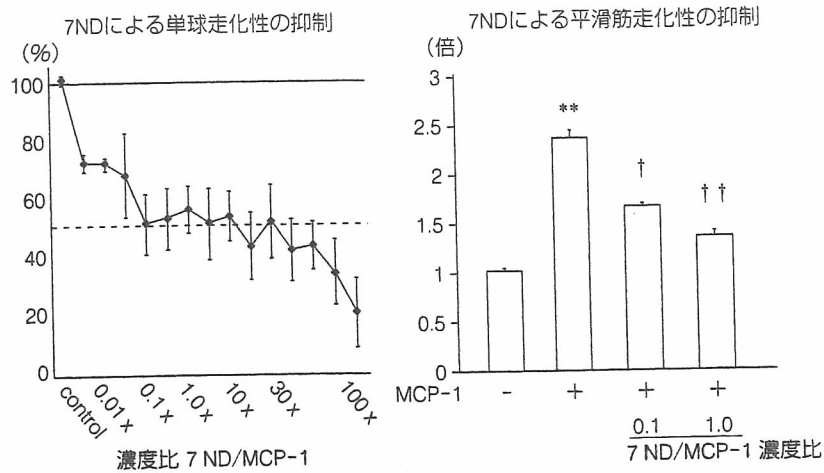


図5 7NDによる単球・平滑筋遊走能の特異的抑制
 MCP-1による単球走化性(左,%抑制),平滑筋走化性(右,倍抑制)
 7NDは単球遊走および平滑筋走化性を低濃度(0.1倍)から抑制した。
 ** $p < 0.01$ vs. MCP-1 ⊖, † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ vs. MCP-1 ⊕ 7ND ⊖
 (筆者作成)

による全身的效果によって、血管局所でのマクロファージの浸潤減少や増殖細胞の減少、炎症性・増殖性サイトカインの減少がもたらされ、新生内膜の形成抑制がみら

れた(図3)。

また、7ND遺伝子導入によって動脈硬化プラークの進行抑制(退縮)ならびにプラーク安定化がもたらされ

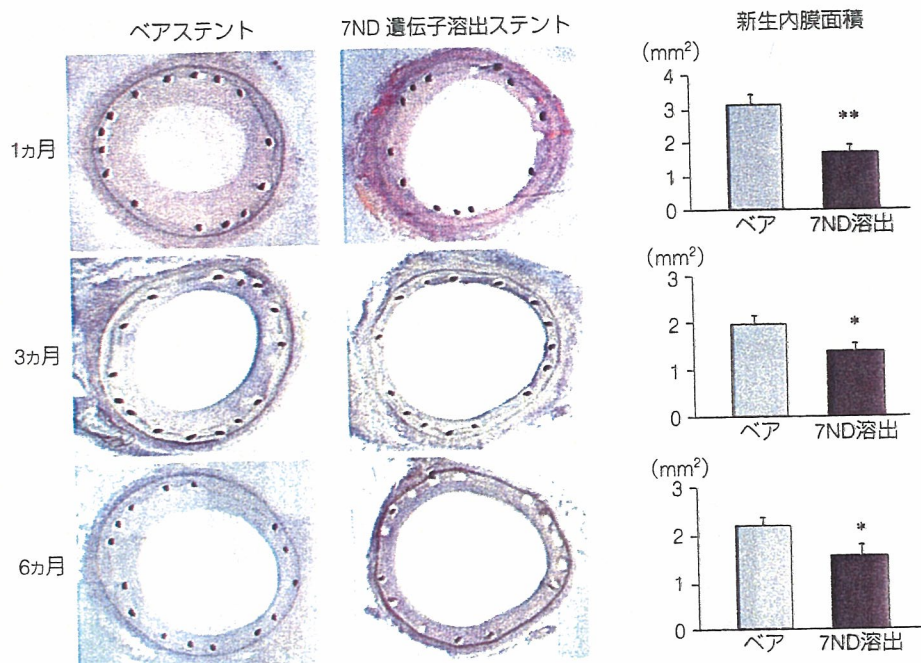


図6 7ND 遺伝子溶出性ステントによる再狭窄（新生内膜形成）の抑制
 カニクイザル外腸骨動脈へのステント留置1ヵ月、3ヵ月、6ヵ月後の新生内膜形成の組織標本による解析結果。7ND 遺伝子溶出性ステントはベアメタルステントにくらべ、有意に新生内膜形成を抑制し、その効果は6ヵ月後まで持続した。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. ベアメタルステント (筆者作成)

ることをマウスや霊長類のモデルを用いて明らかにした。このことは、7NDによる抗MCP-1療法がプラーク安定化をもたらすことを示唆する。

さらにわれわれは局所療法の有用性を明らかにするために、アデノウイルスベクターを用いて7ND遺伝子ステント留置部位に局所導入したカニクイザルモデルの実験を実施した。その結果、遺伝子プラスミドの骨格筋導入よりさらに強力に新生内膜形成の抑制が達成された(図4, 未発表)。

また、7ND蛋白を用いた培養細胞における実験では、7NDは単球の遊走抑制だけでなく、平滑筋の遊走・増殖を抑制した(図5, 未発表)。内皮細胞の再生は抑制しないことが明らかになった。このことは、7NDは新生内膜形成の原因である単球や平滑筋細胞の機能を抑制する一方で、血管の修復過程に必要な再内皮化は抑制せず、7NDを局所に送達することができれば再狭窄がより安全かつ効果的に抑制される可能性が示唆された。

■ VI. 7ND 遺伝子溶出性ステントを作製し、前臨床試験を実施している

これらの基礎ならびに臨床研究成績を基盤にして、7ND 遺伝子溶出性ステントを作製し、前臨床試験を実施した。7ND 遺伝子プラスミドを水溶性高分子ポリマーに溶解しステンレスステントにコートし、*in vitro*での放出試験では、放出された遺伝子は適正に機能することを確認した。また、ウサギ腸骨動脈において生体レベルでの遺伝子導入を確認した。7ND 遺伝子プラスミドコーティングステントによって対照ステントと比較し、炎症、平滑筋増殖、サイトカイン産生などが抑制され、その結果、新生内膜形成が抑制された。新生内膜抑制効果は1ヵ月後だけでなく、3、6ヵ月後にも観察された(図5)。

7ND 遺伝子溶出性ステントを用いることにより、先行の抗癌剤、免疫抑制薬のコーティングステントの前臨床試験の遠隔期にみられた組織修復反応の障害(再内皮化の遷延、炎症の持続)は克服できることが期待される。

さらに、重要なこととしてプラーク安定化がもたらされる可能性がある。

■ おわりに

現行の薬剤溶出性ステントは再狭窄率を劇的に減少させることに成功したが、そこで新たな課題も出てきた。再狭窄に対する取り組みはこれで終わりではなく、その課題を克服する第二、第三世代の薬剤溶出性ステントの開発が進んでいる。MCP-1は炎症だけでなく、さまざまな機序を介して再狭窄の機序に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。われわれは、7ND遺伝子局所導入によってさらに強力な新生内膜抑制効果が得られることを、明らかにした。ラパマイシンやタキソールを用いた現行の薬剤溶出性ステントの前臨床試験では、すでに述べたように、3ヵ月以降の効果の消失、炎症の遷延、内皮再生の遅延が観察され問題視されている。本研究では、このような問題点が観察されなかった点は臨床応用を目指すという観点から強調すべきすぐれた点といえる。抗MCP-1療法により再狭窄がより安全かつ効果的に抑制される可能性が示唆されることから、抗MCP-1療法は、よりすぐれた再狭窄・不安定化プラークの治療法となる可能性がある。



文献

- Morice MC *et al* : A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med* 346 : 1773-1780, 2002
- Moses JW *et al* : Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med* 349 : 1315-1323, 2003
- Stone GW *et al* : A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 350 : 221-231, 2004
- Park SJ *et al* : A paclitaxel-eluting stent for the prevention of coronary restenosis. *N Engl J Med* 348 : 1537-1545, 2003
- McFadden EP *et al* : Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. *Lancet* 364 : 1519-1521, 2004
- Holmes DR Jr. *et al* : Analysis of 1-year clinical outcomes in the SIRIUS trial : a randomized trial of a sirolimus-eluting stent versus a standard stent in patients at high risk for coronary restenosis. *Circulation* 109 : 634-640, 2004
- Virmani R *et al* : Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent : should we be cautious? *Circulation* 109 : 701-705, 2004
- Fukuda D *et al* : Potent inhibitory effect of sirolimus on circulating vascular progenitor cells. *Circulation* 111 : 926-931, 2005
- Farb A *et al* : Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent. *Circulation* 104 : 473-479, 2001
- Farb A *et al* : Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation* 99 : 44-52, 1999
- Kornowski R *et al* : In-stent restenosis : contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol* 31 : 224-230, 1998
- Horvath C *et al* : Targeting CCR2 or CD18 inhibits experimental in-stent restenosis in primates : inhibitory potential depends on type of injury and leukocytes targeted. *Circ Res* 90 : 488-494, 2002
- Farb A *et al* : Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. *Circulation* 105 : 2974-2980, 2002
- Almagor M *et al* : Increased C-reactive protein level after coronary stent implantation in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J* 145 : 248-253, 2003
- Cipollone F *et al* : Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21 : 327-334., 2001
- Moreno PR *et al* : Macrophage infiltration predicts restenosis after coronary intervention in patients with unstable angina. *Circulation* 94 : 3098-3102, 1996
- Egashira K *et al* : Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy inhibits vascular remodeling in rats : blockade of MCP-1 activity after intramuscular transfer of a mutant gene inhibits vascular remodeling induced by chronic blockade of NO synthesis. *FASEB J* 14 : 1974-1978, 2000
- Mori E *et al* : Essential role of monocyte chemoattractant protein-1 in development of restenotic changes (neointimal hyperplasia and constrictive remodeling)

- ling) after balloon angioplasty in hypercholesterolemic rabbits. *Circulation* 105 : 2905-2910, 2002
- 19) Usui M *et al* : Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy inhibits restenotic changes (neointimal hyperplasia) after balloon injury in rats and monkeys. *Faseb J* 16 : 1838-1840, 2002
- 20) Ohtani K *et al* : Antimonocyte chemoattractant protein-1 gene therapy reduces experimental in-stent restenosis in hypercholesterolemic rabbits and monkeys. *Gene Ther* 11 : 1273-1282, 2004

OHTANI Kisho

済生会福岡総合病院循環器内科

九州大学大学院医学研究院循環器内科学

おおたに・きしよ

1998年、九州大学医学部医学科卒業。

九州大学医学部循環器内科入局。

2001年、九州大学大学院医学研究院循環器内科学入学。

2004年、九州大学病院学術研究員。

2005年より現職。

専門：循環器内科。

研究テーマ：動脈硬化の機序解明と新しい治療法の開発。

ステント内再狭窄の分子機構と生体吸収性ナノ粒子電着による 遺伝子溶出ステントがもたらす新たな治療戦略

船越 公太, 江頭 健輔

要約：我々はステント内再狭窄に炎症が重要な役割を果たしていることに注目し、単球走化因子 (MCP-1) のステント内再狭窄での関わりを明らかにした。そして変異型 MCP-1 タンパク (7ND タンパク) の遺伝子導入はステント内新生内膜形成を有意に抑制した。我々は電着塗装の応用でポリ乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子をステントにコーティングする技術を開発した。緑色蛍光タンパク (GFP) 遺伝子プラスミドを封入したナノ粒子をコーティングしたステントをブタ冠動脈に留置したところ、28日後にも発現が確認された。我々は単球走化因子 (MCP-1) のステント内再狭窄での関わりを明らかにし、変異型 MCP-1 タンパク (7ND タンパク) の遺伝子導入はステント内新生内膜形成を有意に抑制することを明らかにしてきた。次には 7ND 遺伝子プラスミドを封入したナノ粒子を用いた遺伝子プラスミド溶出ステントを作製し、有効性を評価する予定である。

1. はじめに

我々は数年前にプラスミド溶出ステントの開発に取りかかり、7ND プラスミド溶出ステントの作成に成功した。しかし不十分な点がいくつかあり、臨床応用を考えた時、未完成であった。そこで新たなテクノロジーを導入して、新たなプラスミド溶出ステントに着手した。我々はこの新しいプラスミド溶出ステントは非常に画期的なステントになると考えている。

この総説ではまず動脈硬化病変 (とくにステント内再狭窄) における炎症と単球走化因子 (Monocyte Chemoattractant Protein-1, MCP-1) の役割について概説し、次に MCP-1 をターゲットとした治療戦略に

ついて紹介する。そして最後に臨床応用のための医療器具へどのようにシステムを構築するのか概説する。

2. 炎症はステント内再狭窄にいかにかかわるのか

1) 経皮的冠動脈インターベンションの問題点

冠動脈疾患とは冠動脈の狭窄・閉塞による急性・慢性心筋虚血である。したがって、この狭窄・閉塞部位をカテーテルと呼ばれる細い管を用いて再開通させる経皮的冠動脈インターベンション (Percutaneous Coronary Intervention, PCI) という治療戦略が最も有用となる。バルーンによる血管形成術 (Plain Old Balloon Angioplasty, POBA) では、血管自体の弾力による初期の縮み (弾性リコイル) や晩期における外膜の線維化による血管外からの収縮機転 (血管リモデリング) により、4-5割の患者において再狭窄という現象が認められる。

2) ステント内再狭窄とは新生内膜過形成である

そこで、この再狭窄を防ごうとして用いられるのが POBA 後に血管内に留置されるステントという薄い金属のメッシュ様支持構造物である。

しかしこのステント治療後にも再狭窄が 2-3割の患者に認められ、薬剤溶出ステントの出現まで、非常に大きな医学的課題であった。

ステント内再狭窄では POBA 後の再狭窄とは異なり、ステント内に形成される新生内膜が再狭窄の原因である。新生内膜は POBA 後にも認められるが、ステント留置後にはさらに強い新生内膜形成が生じ、これが再狭窄を引き起す (1, 2)。

新生内膜の形成についてはヒトの病理組織像の観察

キーワード：ステント内再狭窄、薬剤溶出ステント、単球走化因子 (MCP-1)、変異型 MCP-1 タンパク (7ND タンパク)、ポリ乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子

九州大学大学院医学研究院 循環器内科学 (〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1)

e-mail: funakoshi@cardiol.med.kyushu-u.ac.jp egashira@cardiol.med.kyushu-u.ac.jp

原稿受領日：2006年11月29日、会誌編集委員会依頼原稿

Title: Molecular mechanism of in-stent restenosis and novel treatment strategy of gene-eluting stent developed with bioabsorbable nano-particle electrodeposition. Author: Kouta Funakoshi, Kensuke Egashira

により、次のような経過で起きることが明らかとなっている。

まずステント留置直後からステントストラット表面に血小板の付着とフィブリンの析出が認められる。

そして好中球の接着・浸潤と引き続いて単球の接着・浸潤が起きる。

2週間を過ぎると、この微小血栓を置き換えるように、遊走してきた平滑筋細胞が増殖し、初期の新生内膜を形成する。

それ以後、平滑筋細胞が糖タンパクやプロテオグリカンといった細胞外基質を産生し、新生内膜が増殖していく。

ステント植え込み後4-5カ月を過ぎても、POBAとは異なり、炎症反応が持続する。すなわちストラット周囲のマクロファージとT細胞の浸潤である。またストラット表面にはマクロファージを起源とする多核の異物巨細胞が見られる。また毛細血管の新生が認められる。

ステント植え込み後の新生内膜の形成は約6カ月でピークに達する。

その後は細胞外基質が徐々に糖タンパクやプロテオグリカンからコラーゲンに置換され、ステント植え込み後の組織修復反応が完成する。

なお新生内膜の平滑筋細胞の由来に関しては中膜平滑筋細胞が脱分化して遊走するとの説が広く認められているが、骨髄由来の平滑筋幹細胞とする説(3)もあり、未だ議論の余地がある。

3) ステント内再狭窄におけるマクロファージの役割

ヒトの病理像による観察から単球・マクロファージがステント内再狭窄に何らかの役割を果たしていることが推定される(4)。

しかも、動物モデルにおいて、ステントストラット周囲の単球・マクロファージの浸潤の程度が新生内膜面積に相関するという報告(5)や、ヒトにおいてステント留置後早期の流血中の単球の増加が新生内膜量に相関する(6)、あるいは単球・マクロファージの浸潤の程度が新生内膜面積に相関する(7)との報告もあることから、単球・マクロファージが実際に中心的な役割を果たしていると考えられる。

この浸潤した単球・マクロファージが何をしていた、どのように再狭窄にかかわっているのかに関しては次のようなものが考えられる。

a. マス効果

初期病変においては多数の単球・マクロファージが新生内膜に浸潤しており、浸潤した単球・マクロファージの体積により新生内膜の体積が増加する。

b. 生理活性物質の産生による効果(表1)

単球・マクロファージはさまざまな炎症性疾患で中心的な役割を果たすことが知られている。単球は100以上の生理活性物質を産生することが知られており、このうち主要なものを表1にまとめた。

b-1. 中膜平滑筋細胞への作用

活性化した単球・マクロファージはさまざまな増殖因子を産生する。この増殖因子が中膜平滑筋細胞の遊走・増殖、血管新生を引き起こすと考えられる。また活性酸素種の産生を介して、増殖因子・サイトカインの産生を引き起こす(表1)。

b-2. 細胞外基質の消化

細胞外基質は細胞の遊走を妨げる障壁の役割を果たしている。さまざまなタンパク分解酵素(e.g. 細胞外基質分解酵素群)が単球・マクロファージにより産生され、これによって単球・マクロファージ自身の浸潤・遊走と平滑筋細胞の遊走が促進される。

表1 単球・マクロファージによって産生される生理活性物質

補体
凝固因子(ビタミンK依存の第VII因子, 第X因子, 第V因子およびプロトロンビン, フィブリノーゲン, 組織因子)
プロスタグランジン
ロイコトリエン
増殖因子(PDGF, TGF- β , MCSF, GCSF)
サイトカイン(TNF- α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, INF- γ)
PAF, lyso-PC
ケモカイン(MCP-1, -2, -3, IL-8, RANTES, ELC, PARC, MIP-1, eotaxin, MDC, TARC, LARC)
活性酸素種(ROS)
タンパク分解酵素(エラスターゼ, カテプシンG, MMPs)

PDGF, platelet-derived growth factor; TGF- β , transforming growth factor; MCSF, monocyte/macrophage colony stimulating factor; GCSF, granulocyte colony stimulating factors; PAF, platelet activating factor; lyso-PC, lysophosphatidylcholine; MCP, monocyte chemoattractant protein; RANTES, regulated upon activation, normal T-cell expressed; ELC, EB11-ligand chemokine; PARC, pulmonary and activation regulated chemokine; MIP, macrophage inflammatory protein; MDC, macrophage-derived chemokine; TARC, thymus and activation-regulated chemokine; LARC, liver and activation-regulated chemokine; IL, interleukin; INF, interferon; TNF, tumor necrosis factor