

◎文献

- 1) Shuchman M : Trading restenosis for thrombosis? New questions about drug-eluting stents. *N Engl J Med* **355** : 1949-1952, 2006
- 2) Farb A, Boam AB : Stent thrombosis redux – the FDA perspective. *N Engl J Med* **356** : 984-987, 2007
- 3) Laskey WK, Yancy CW, Maisel WH : Thrombosis in coronary drug-eluting stents : report from the meeting of the Circulatory System Medical Devices Advisory Panel of the Food and Drug Administration Center for Devices and Radiologic Health, December 7-8, 2006. *Circulation* **115** : 2352-2357, 2007
- 4) Serruys PW, Kutryk MJ, Ong AT : Coronary-artery stents. *N Engl J Med* **354** : 483-495, 2006
- 5) van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, et al : Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation* **94** : 1690-1697, 1996
- 6) Luscher TF, Steffel J, Eberli FR, et al : Drug-eluting stent and coronary thrombosis : biological mechanisms and clinical implications. *Circulation* **115** : 1051-1058, 2007
- 7) Finn AV, Nakazawa G, Joner M, et al : Vascular responses to drug eluting stents : importance of delayed healing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **27** : 1500-1510, 2007
- 8) Finn AV, Joner M, Nakazawa G, et al : Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis : strut coverage as a marker of endothelialization. *Circulation* **115** : 2435-2441, 2007
- 9) Joner M, Finn AV, Farb A, et al : Pathology of drug-eluting stents in humans : delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol* **48** : 193-202, 2006
- 10) Muni NI, Gross TP : Problems with drug-eluting coronary stents – the FDA perspective. *N Engl J Med* **351** : 1593-1595, 2004
- 11) Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, et al : Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med* **356** : 1503-1516, 2007

血管生物医学の視点： DES 遅発性血栓症の衝撃と分子機序

九州大学大学院医学研究院循環器内科学

中野 覚
Kaku Nakano

月江教昭
Noriaki Tsukie

増田征剛
Seigo Masuda

江頭健輔
Kensuke Egashira

SUMMARY

薬剤溶出ステント(DES)の開発成功により、冠インターベンションのアクセス腫であった再狭窄の問題が解決され、爆発的にDESが普及し、現在までに600万人以上に使用されてきた。しかし、昨年以降、ステント内血栓症の問題がクローズアップされ、DESの過剰な使用に関して警鐘が鳴らされた。ステント内血栓症の分子機序には、薬剤に起因する組織因子の発現亢進と、そこから起こる外因系凝固の開始、ステント金属そのものに起因するもの、あるいは薬剤を保持するポリマーに起因する炎症などが示唆されている。DESを乱用するのではなく、その特徴とリスクを十分に考慮し、適切に使用していく時期が来たといえる。

はじめに

経皮的冠動脈形成術(PTCA)は、日本国内で年間20万例、世界的に年間200万例以上実施されている。その大部分(8~9割)はステント留置術である。通常のステント(ベアメタルステント；BMS)では、いったん拡張した血管内腔が再び狭くなり、狭心症の再発を来す再狭窄が20~30%に生じることが問題であった。この再狭窄の問題は、免疫抑制剤シロリムスをコーティングした薬剤溶出ステント(DES)のCypher(日本では2004年3月承認、Cordis, Johnson and Johnson)や抗癌剤パクリタキセルをコーティングしたTaxus(日本では2007年3月承認、Boston Scientific)の開発成功により、ほぼ解決されたかに思われた。実際、CypherおよびTaxusが、米国食品医薬品局(U.S. Food and Drug Administration；FDA)から

BMSより有効であると承認を受けた臨床試験のデータでは、再狭窄、標的病変部血行再建術(target-lesion revascularization；TLR)および標的血管血行再建術(target-vessel revascularization；TVR)が10%以下に抑えられることが示され¹⁾²⁾、2003年以降、爆発的に普及している。しかし、2004年にMcFaddenらは、CypherあるいはTaxus留置から335日以上経過した後、外科手術などにより抗血小板療法を中止した数日後にステント内血栓症が生じた4症例についてLancetに報告し³⁾、また、病理学者であるVirmaniらによる血栓症に関する有害事象の報告があったが⁴⁾⁵⁾、一部で話題にはなったものの、あまり省みられることはなく、現在までに600万人以上にDESが留置されてきた。

しかし、昨年来、DESの安全性に関する懸念がクローズアップされている。特に、晩期に生ずるステント内血栓症は、いったん生じた場合、死亡やQ波心筋梗塞が50%以上生ずるため、たとえステント内血栓症の発生率が低くても見過ごすわけにはいかない、臨床的に重要な問題である。そこで本稿では、近年示された臨床試験の結果およびステント内血栓症の分子機序について概説する。

KEY WORDS

- 薬剤溶出ステント
- 遅発性ステント内血栓症
- 組織因子
- メタ解析

ステント内遅発性血栓症の衝撃と警鐘 (メタ解析の結果より)

最初に DES の血栓症が大きな注目を浴びたのは、2006 年に American College of Cardiology (ACC) の学術集会において、Pfisterer らが BASKET-LATE (Basel Stent Cost-effectiveness Trial-Late Thrombotic Events)⁸⁾ 試験の結果を報告したことに端を発する。BASKET-LATE は BMS と DES を無作為に割り当てた BASKET の追跡観察試験になり、6 ヶ月後に抗血小板薬であるクロピドグレル(商品名: プラビックス, 日本では虚血性脳血管障害にのみ適応)の内服を中止し、アスピリンのみ継続した症例をさらに 1 年間追跡調査を行ったものである。その結果, BMS を留置した患者と比較し DES を留置した患者では, 死亡, 心筋梗塞および非致死的心筋梗塞が約 3~4 倍増加することが示され, 全世界に大きな波紋を投げかけた(図 1)。また, 2006 年 9 月に欧州心臓学会議で報告された Cypher と Taxus を対象に行った臨床試験

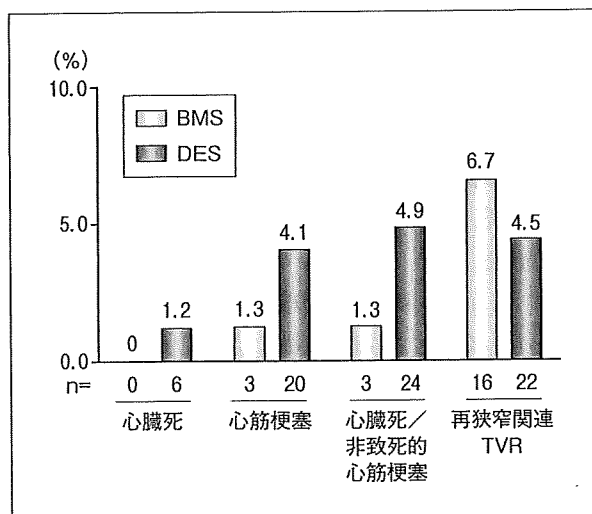


図 1. BASKET-LATE 試験の結果

抗血小板薬クロピドグレルを何らかの理由で中止すると, 心筋梗塞と死亡率が BMS に比べ有意に上昇する。TVR: target-vessel revascularization. (文献 6 より改変して引用)

のメタ解析によると, 心筋梗塞あるいは死亡といったハードエンドポイントは, 薬剤溶出ステントを留置された方が高いという驚くべき結果であった⁷⁾。

これらの研究報告を受け, 2006 年 12 月, FDA がメーカーおよび専門家を招聘し, 諮問委員会を開催した。FDA は, 適応内での DES の使用は安全であるといえるが, 適応外(リスクの高い患者, 病変)での使用は BMS の適応外の使用と同様にリスクが増加する可能性が高いと結論づけた⁸⁾。

2006 年以降に報告された, DES の晩期血栓症に関するメタ解析の結果を表に示した。いずれの解析においても, 1 年以降生じた遅発性ステント内血栓症は, Cypher で 0.36~2.8%, Taxus で 0.59~0.7% で, BMS と比較して有意に高いことが示された。

コロンビア大学の Stone らは, シロリムス溶出ステント (SES) の 4 つの臨床試験 (RAVEL, SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS) およびパクリタキセル溶出ステント (PES) の 5 つの臨床試験 (TAXUS-I, TAXUS-II, TAXUS-IV, TAXUS-V, TAXUS-VI) のメタ解析を行った⁹⁾。その結果, TLR, TVR は DES で著明に減少したが, DES 留置 1~4 年後のステント内血栓症は DES でより多く認められることが明らかになった。なお, 心筋梗塞, 死亡, 循環器疾患による死亡, 心筋梗塞での死亡は有意差を認めなかった。Bavry らによる DES と BMS を直接比較した 14 の臨床試験 (6,675 名) のメタ解析では, 後期ステント血栓症が DES で有意に高いことが示された¹⁰⁾。この他にも多くのメタ解析が行われ, 晩期に生ずるステント内血栓症は, BMS と比し DES で高いと結論づけるのは早急であるかもしれないが, DES の過剰な使用に対して警鐘が鳴らされたのは間違いのない事実であり, その使用を考える時期が来たといえる。しかし, その発症メカニズムにはいまだ不明な点も多い。

Real world での DES

承認を得るために行われた臨床試験では, 患者の選択が厳密になされており, 比較的低リスクの低い患者に

表 1. DES の晩期血栓症を示す臨床試験(メタ解析)

筆頭筆者	対象となった臨床試験	ステント	> 1 年血栓症発生率
A. Kastrati ¹⁶⁾	BASKET, C-SIRIUS, DECODE, DIABETES, E-SIRIUS, PRISON II, RAVEL, RRISC, SCANDSTENT, SCORPIUS, SES-SMART, SESAMI, SIRIUS, STRATEGY, TYPHOON	SES vs BMS	0.6% vs 0.05% (p=0.02)
C. Spaulding ¹⁷⁾	RAVEL, SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS	SES vs BMS	2.8% vs 1.7% (p=0.14)
L. Mauri ¹⁸⁾	RAVEL, SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS, TAXUS-I, II, IV, V	SES vs BMS PES vs BMS	0.6% vs 0% 0.6% vs 0.2%
G.W. Stone ⁹⁾	RAVEL, SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS, TAXUS-I, II, IV, V, VI	SES vs BMS PES vs BMS	0.6% vs 0% (p=0.025) 0.7% vs 0.2% (p=0.028)
P.W. Serruys ¹⁹⁾	RAVEL, SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS	SES vs BMS	2.6% vs 1.6% (p=0.18)
A.A. Bavry ¹⁰⁾	SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS, RAVEL, SES-SMART, SCANDSTENT, DIABETES, TRATEGY, TAXUS-I, II, IV, V, VI	DES vs BMS SES vs BMS PES vs BMS	0.5% vs 0% (p=0.02) 0.36% vs 0% (p=0.022) 0.59% vs 0.2% (p=0.049)

SES : Sirolimus eluting stent, BMS : Bare metal stent, PES : Paclitaxel eluting stent.

のみステントを留置している。実際の臨床の現場 (real-world) では、多くの危険因子(糖尿病、腎不全、再狭窄後)を持つ患者や複雑病変(分岐部、入口部、左主幹部、長い病変、小血管、多枝病変)に対しても DES を使用せざるを得ない状況にあり、実際、適応外 (off-label) の症例が 60~70% 以上と報告されている。

Wenaweser らは、ベルン・ロッテルダムコホート試験において、2002 年 4 月~2005 年 12 月までにベルンとロッテルダムのアカデミックセンターにおいて、DES を留置された 8,146 例 (SES 3,823 例, PES 4,323 例; 計 8,146 例; off-label での使用も含まれる)のうち、ステント内血栓症(血管造影での確認、急性虚血症状、心電図の虚血性変化、バイオマーカー上昇のうち、いずれか)を示した症例は 152 例であり、留置後 31 日目~3 年目までの発症率は低下することなく、年間 0.6% ずつリニアに増加するというものであった¹¹⁾(図 2)。彼らの報告では、ステント内血栓症は血管造影上による評価であり、追跡調査が不十分である(1 年後 28%, 3 年後 81%)ため、ステント内血栓

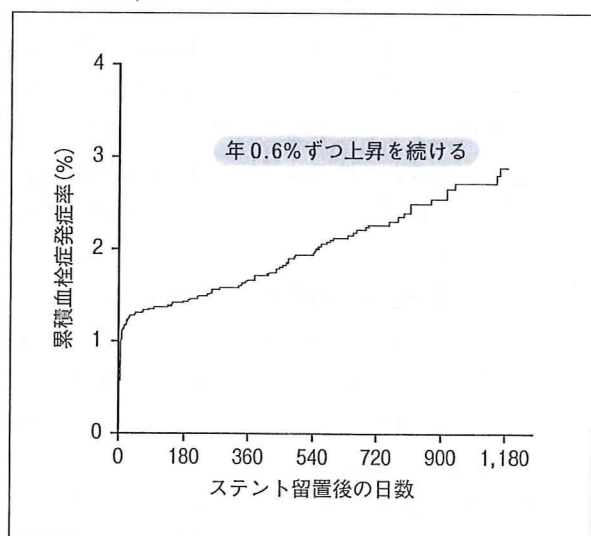


図 2. ベルン・ロッテルダムのコホート試験の結果 30 日以降から 3 年間の追跡調査を行ったところ、年率 0.6% ずつリニアにステント内血栓症の発症率は増加する。(文献 11 より改変して引用)

症の発症率が必ずしもリニアに増加するとは結論づけられないとしているが、今後の臨床でのDESの使用を考えるうえで、非常に重要なデータであろう。

日本で行われているレジストリー研究、J-Cypherにおいては、ステント内血栓症の発症率は1年時点が0.51%、2年時点が0.63%であり、30日～1年までの増加は0.2%に留まると中間報告された。上述のベルン・ロッテルダムコホート試験と比較して、日本人の血栓発生率がきわめて低いと考えられる。この結果の差は、人種差、患者背景、抗血小板薬の適切な内服などが含まれていると考えられる。

ステント血栓症の分子機序： シロリムスおよびパクリタキセルは内皮再生を抑制し、 組織因子の産生を促進する

Cypherに使用されているシロリムスは、マクロライド系の抗生剤として開発され、現在は主に米国、欧州で腎移植後の免疫抑制剤として使用されている。シロリムスは血管平滑筋細胞の細胞内受容体であるFK506-binding protein 12(FKBP12)に結合し、mammalian target of rapamycin (mTOR)活性を阻害する。その結果、サイクリン依存性リン酸化酵素阻害を有するp27^{kip1}の分解を促進し、細胞周期を停止する働きを持つ。さらに、シロリムスはp70 S6リン酸化経路を不活化することが知られている。これらの作用により、シロリムス溶出ステントは、新生内膜形成やステント内再狭窄を引き起こす平滑筋の増殖・遊走を抑制すると考えられている。さらに、これらの作用に加えて、炎症細胞の浸潤抑制なども知られている。しかし、これらの有益な作用だけでなく、ステント留置後の内皮再生に必要な内皮細胞の増殖をも阻害すると考えられている。PI3キナーゼとその下流にあるmTORは組織因子の発現を抑制しているが、シロリムスはmTORを阻害することによって、抑制されていた組織因子の発現および膜上組織因子の活性が生ずる¹²⁾(図3)。

Taxusに使用されているパクリタキセルは、イチイ類(*Taxus brevifolia*など)から抽出した天然ジテル

ペノイドを精製したものであり、乳癌、肺癌などに対する抗癌剤として使用されている。再狭窄抑制の作用機序は、チュープリンのβサブユニットに結合し、微小管の重合を促進することにより、細胞の増殖を抑制する。パクリタキセルの微小管の重合促進により、細胞増殖抑制だけでなく細胞の遊走、細胞内蛋白輸送なども阻害すると考えられている。さらに、c-Jun NH₂キナーゼ(JNK)のリン酸化を促進し、組織因子の発現と表面組織因子の活性化を促進する(図3)¹³⁾。

DESに用いられている両薬剤によって発現が亢進する組織因子は、膜結合型の一本鎖糖蛋白であり、組織因子とⅦ因子が1:1の複合体を形成し、Ⅶ因子の活性化を促進するとともに、Ⅶa因子のプロテアーゼ活性を促進する。これらの2つの作用が外因系凝固の開始反応にとって重要な鍵を握る。この組織因子の発現亢進が、ステント内血栓症に重要な因子となっている可能性が示唆されている。

ステント金属に起因する障害と 2種類の血小板療法

現在、DESのプラットフォームに用いられているステントは金属製であり、当然、異物反応が生ずる。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、凝結系の活性化が起こる。血小板の活性化は、留置から30日以上経っても継続している¹⁴⁾。現在、クロピドグレル(日本ではチクロピジン)およびアスピリンの併用が原則である。前述したBASKET-LATEなどの成績からも、ステント留置から遠隔期においても、クロピドグレルの内服を中止した場合、心筋梗塞や死亡のリスクが高まる。現在、日本ではFDAの基準に準じてチクロピジンを最低でも6ヵ月間投与することが推奨されているが、遅発性血栓症のリスクを減少させるためには、患者個々のリスクファクターを十分に考慮したうえで中止時期を決めるのが得策であろう。

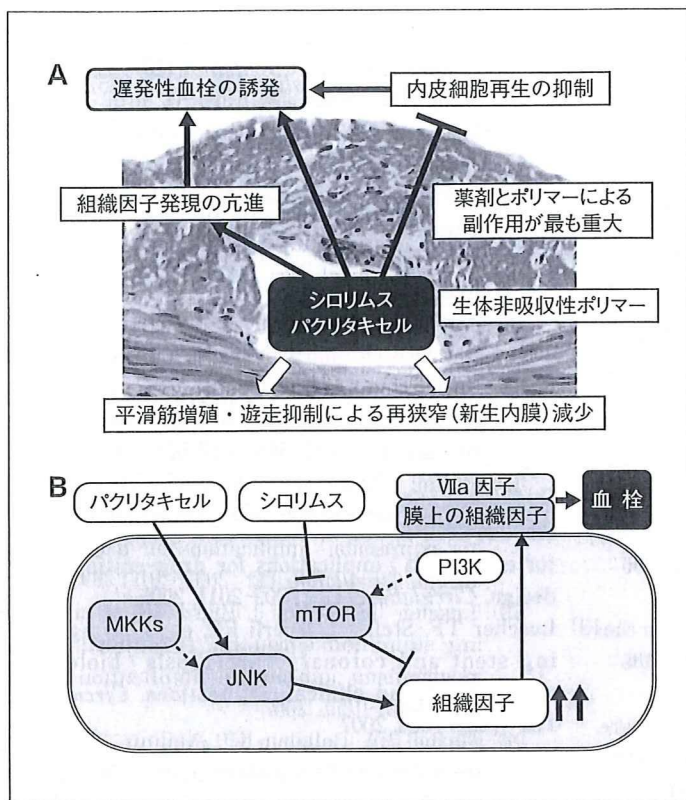


図3. DESの遅発性血栓症のメカニズム

A: シロリムスおよびパクリタキセルは血管平滑筋細胞に作用し、増殖および遊走を抑制することによりステント留置後の再狭窄を抑制する。一方、薬剤およびポリマーの副作用により、組織因子の発現亢進、再内皮化の抑制を引き起こすことにより血栓症を誘発する可能性が示唆される。

B: パクリタキセルは c-Jun NH₂ キナーゼ (JNK) のリン酸化を促進し、組織因子の発現と膜上組織因子の活性化を促進する。PI3 キナーゼとその下流にある mTOR は組織因子の発現を制御しているが、シロリムスは mTOR を阻害することによって制御されていた組織因子の発現、および膜上の組織因子の活性が生ずる。mTOR: mammalian target of rapamycin, MKK: map kinase kinases, PI3K: phosphatidylinositol-3 kinase.

(文献 13 より改変して引用)

の起部から TIMI grade 1 の閉塞が認められた。その後、血圧低下、心停止となり死亡、病理所見をみると、ステントストラットの周囲には平滑筋細胞は認められず、内腔に血栓が認められた。また、新生内腔中および中膜中にはび慢性の炎症が認められ、薬剤を保持する生体非吸収性ポリマーの断片を囲むように巨細胞や好酸球が浸潤していたことから、ポリマーに起因する晩期血栓症も疑われる¹⁵⁾。

ポリマーに起因する障害

Cypher にはシロリムスをステント表面に保持するためにメタクリル酸共重合体(アクリル系樹脂)が、Taxus にはトリブロック共重合体のポリスチレン-イソブチレン-スチレンがキャリアマトリックスとして使用されている。これらはいずれも生体適合性はあるとされているが、生体非吸収性であるため血管壁に永久に残存する。ポリマーの残存は、フィブリンの沈着、アレルギー反応、炎症の惹起、慢性化さらには晩期ステント内血栓症の発症に寄与すると考えられている¹⁵⁾。ステント留置 18 ヶ月後に遅延性血栓性閉塞で死亡した 58 歳男性(喫煙歴、高脂血症はあり、糖尿病、高血圧症はなし)の症例では、左回旋枝に Cypher を留置し、18 ヶ月の時点で胸痛を訴え、急性非 Q 波心筋梗塞で来院、血管造影の結果、Cypher ステント

次世代の DES の開発

everolimus(アボット)、biolimus(テルモ)など、リムス系薬剤を用いた DES の臨床試験が行われているが、シロリムスと比較し内皮細胞への影響はわずかに弱いとされ、再内皮化の遅延は少ないと思われるが、シロリムスと化学構造、作用機序はほぼ同じであるため、同様の問題を抱えている可能性は高い。現行のステント同様、市販後の調査にも注目していく必要がある。さらに、現行の DES、リムス系薬剤を用いた第二世代の DES が最終的なゴールではなく、ステント内狭窄、ステント血栓症の分子機序を理解し、より効果的でより安全な医療機器を開発していく必要がある。

おわりに

このように DES の長期安全性に対する懸念が強ま

り、最もDESの使用に積極的な米国でさえ、DESの市場占有率は減少傾向にある。日本では、経験的にCypherでの成績が良いためか、DESの使用を控える傾向は若干みられる程度である。日本ではCypherが承認されて約2年、Taxusはまだ数ヵ月であり、今後、慎重に観察し、全国規模でデータを蓄積していく必要がある。遅発性血栓を生じさせない次世代型DESが開発されるまで、現行のDESは再狭窄を抑制し、患者のQuality of Life (QOL)を改善する狭心症治療の強力な医療機器であることには変わりはなく、その特性をよく理解し、慎重に使用していくべきであろう。

◎文 献

- 1) Babapulle MN, Eisenberg MJ : Coated stents for the prevention of restenosis : Part I. *Circulation* **106** : 2734-2740, 2002
- 2) Babapulle MN, Eisenberg MJ : Coated stents for the prevention of restenosis : Part II. *Circulation* **106** : 2859-2866, 2002
- 3) McFadden EP, Stabile E, Regar E, et al : Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. *Lancet* **364** : 1519-1521, 2004
- 4) Virmani R, Farb A, Guagliumi G, Kolodgie FD : Drug-eluting stents : caution and concerns for long-term outcome. *Coron Artery Dis* **15** : 313-318, 2004
- 5) Joner M, Finn AV, Farb A, et al : Pathology of drug-eluting stents in humans : delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol* **48** : 193-202, 2006
- 6) Pfisterer M : Late clinical events after clopidogrel discontinuation may limit the benefit of drug-eluting stents : an observation study of drug-eluting versus bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* **48** : 2584-2591, 2006
- 7) Nordmann AJ, Briel M, Bucher HC : Mortality in randomized controlled trials comparing drug-eluting vs. bare metal stents in coronary artery disease : a meta-analysis. *Eur Heart J* **27** : 2784-2814, 2006
- 8) Laskey WK, Yancy CW, Maisel WH : Thrombosis in coronary drug-eluting stents : report from the meeting of the Circulatory System Medical Devices Advisory Panel of the Food and Drug Administration Center for Devices and Radiologic Health, December 7-8, 2006. *Circulation* **115** : 2352-2357, 2007
- 9) Stone GW, Moses JW, Ellis SG, et al : Safety and efficacy of sirolimus-and paclitaxel-eluting coronary stents. *N Engl J Med* **356** : 998-1008, 2007
- 10) Bavry AA, Kumbhani DJ, Helton TJ, et al : Late thrombosis of drug-eluting stents : a meta-analysis of randomized clinical trials. *Am J Med* **119** : 1056-1061, 2006
- 11) Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, et al : Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice : data from a large two-institutional cohort study. *Lancet* **369** : 667-678, 2007
- 12) Steffel J, Latini RA, Akhmedov A, et al : Rapamycin, but not FK-506, increases endothelial tissue factor expression : implications for drug-eluting stent design. *Circulation* **112** : 2002-2011, 2005
- 13) Luscher TF, Steffel J, Eberli FR, et al : Drug-eluting stent and coronary thrombosis : biological mechanisms and clinical implications. *Circulation* **115** : 1051-1058, 2007
- 14) Gurbel PA, Callahan KP, Malinin AI, et al : Could stent design affect platelet activation? Results of the Platelet Activation in STenting (PAST) Study. *J Invasive Cardiol* **14** : 584-589, 2002
- 15) Virmani R, Guagliumi G, Farb A, et al : Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent : should we be cautious? *Circulation* **109** : 701-705, 2004
- 16) Kastrati A, Mehilli J, Pache J, et al : Analysis of 14 trials comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *N Engl J Med* **356** : 1030-1039, 2007
- 17) Spaulding C, Daemen J, Boersma E, et al : A pooled analysis of data comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *N Engl J Med* **356** : 989-997, 2007
- 18) Mauri L, Hsieh WH, Massaro JM, et al : Stent thrombosis in randomized clinical trials of drug-eluting stents. *N Engl J Med* **356** : 1020-1029, 2007
- 19) Serruys PW, Daemen J : Are drug-eluting stents associated with a higher rate of late thrombosis than bare metal stents? Late stent thrombosis : a nuisance in both bare metal and drug-eluting stents. *Circulation* **115** : 1433-1439 ; discussion 1439, 2007

ナノ医工学によるナノ DDS 技術開発に基づく 生体吸収性ナノ粒子コーティングステントの創製

九州大学大学院医学研究院循環器内科学 中野 覚, 江頭 健輔

はじめに

経皮的冠動脈血行再建術は、日本国内でおおむね年間20万例、世界的に年間200万例以上実施されている。その大部分(8~9割)はステント留置術である。通常のベアメタルステント(BMS)では、いったん拡張した血管内腔が再び狭くなり、狭心症の再発をきたす再狭窄が20~30%に生じる。この再狭窄の問題は、免疫抑制薬 sirolimus をコーティングした薬剤溶出ステント Cypher (日本では2004年3月承認, Cordis, Johnson and Johnson) や、抗癌薬 paclitaxel をコーティングした Taxus (日本では2007年3月承認, Boston Scientific) の開発成功により、ほぼ解決されたかに思われた。実際、Cypher および Taxus が米国食品医薬品局から BMS より有意に有効であると承認を受けた臨床試験のデータでは、再狭窄、標的病変部血行再建術(target-lesion revascularization: TLR) および標的血管血行再建術(target-vessel revascularization: TVR) が10%以下に抑えられることが示され¹⁾、2003年の発売開始以降、爆発的に普及し、冠インターベンションの世界を一変させた。

しかし、2004年に McFadden らは、Cypher あるいは Taxus 留置から335日以上経過したのち、外科手術等により抗血小板療法を中止した数日

後にステント内血栓症が生じた4症例について『Lancet』に報告し²⁾、また病理学者である Virmani らによる血栓症に関する有害事象の報告があったが³⁾、一部で話題にはなったもののあまり省みられることはなく、現在までに600万人以上に DES が留置されてきた。だが、昨年来、DES の安全性に関する懸念がクローズアップされている。とくに晩期に生ずるステント内血栓症は、いったん生じた場合、死亡や Q 波心筋梗塞が50%以上生ずるため、たとえステント内血栓症の発生率が低くてもみずごすわけにはいかない臨床的に重要な問題である。

第一世代 DES に用いられている薬剤

Cypher に使用されている sirolimus はマクロライド系の抗菌薬として開発され、現在は主に米国、欧州で腎移植後の免疫抑制薬として使用されている。sirolimus は血管平滑筋細胞の細胞内受容体である FK506-binding protein 12 (FKBP12) に結合し、mammalian target of rapamycin (mTOR) 活性を阻害する。その結果、サイクリン依存性リン酸化酵素阻害を有する p27^{kip1} の分解を促進し、細胞周期を停止する働きをもつ。

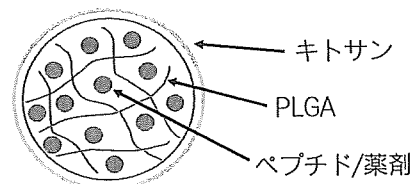
さらに、sirolimus は p70 S6 リン酸化経路を不活化することが知られている。これらの作用によ

[Key words] ドラッグデリバリーシステム, 生体吸収性ナノ粒子, ナノテクノロジー, 次世代型薬剤溶出ステント, 電着コーティングテクノロジー

生体吸収性ナノ粒子がもたらす優れた細胞導入率、細胞内安定性と安全性

- ◆生体吸収性高分子ポリマー (PLGA) 製ナノ粒子：安全
- ◆独自の封入技術：水中エマルジョン溶媒法によって多くの水溶性・脂溶性の薬物/遺伝子を封入可能
- ◆細胞選択性：ナノ粒子のサイズによる選択的導入，表面機能修飾による選択性
- ◆細胞内 DDS：PLGA の分子量を変えることによって細胞内放出時間を制御可能

PLGA ナノ粒子
(径200 nm)



機能性ナノ粒子のモデル図

図1 多機能・生体吸収性 PLGA ナノ粒子の有する特徴

り、Cypher は新生内膜形成やステント内再狭窄を引き起こす平滑筋の増殖・遊走を抑制する。しかし、これらの有益な作用だけでなく、ステント留置後の内皮再生に必要な内皮細胞の増殖をも阻害する。PI3 キナーゼとその下流にある mTOR は組織因子の発現を抑制しているが、sirolimus は mTOR を阻害することによって抑制されていた組織因子の発現および膜上組織因子の活性が生ずる⁴⁾。

Taxus に使用されている paclitaxel は、イチイ類 (*Taxus brevifolia* など) から抽出した天然ジテルペノイドを精製したものであり、乳癌、肺癌などに対する抗癌薬として使用されている。再狭窄抑制の作用機序はチューブリンのベータサブユニットに結合し、微小管の重合を促進することにより、細胞の増殖を抑制する。paclitaxel の微小管の重合促進により細胞増殖抑制だけでなく、細胞の遊走、細胞内蛋白輸送なども阻害すると考えられている。さらに、c-Jun NH₂ キナーゼ (JNK) のリン酸化を促進し、組織因子の発現と膜上組織因子の活性化を促進する⁵⁾。このように、現在の DES に用いられている薬剤は、再狭窄を抑制する血管平滑筋細胞への作用と同時に再内皮化の遅延、血栓症を誘発する組織因子の発現亢進という重大な副作用をもつ、両刃の剣であるといえる。

第一世代 DES に用いられているポリマーに起因する障害

第一世代 DES の薬剤は上記の二種類であり、いずれも脂溶性が高い薬剤である。この高い脂溶性のため、ステントへのコーティングは従来のポリマーを用いたコーティングが可能であった。Cypher には sirolimus をステント表面に保持するためにメタクリル酸共重合体 (アクリル系樹脂) が、Taxus にはトリブロック共重合体のポリスチレン-イソブチレン-スチレンが、キャリアマトリックスとして使用されている。これらは生体非吸収性であるため、血管壁に永久に残存する。ポリマーの残存はフィブリンの沈着、アレルギー反応、炎症の惹起、慢性化さらには晩期ステント内血栓症の発症に寄与すると考えられている⁶⁾。

生体吸収性ナノ粒子の開発

以上のことから第一世代 DES に代わる、より効果的で安全性の高い次世代型 DES の開発が望まれている。すなわち、ステント内新生内膜形成を抑制し、内皮細胞の修復を遅延させない薬剤あるいは遺伝子を、生体吸収性ポリマーを用いてス

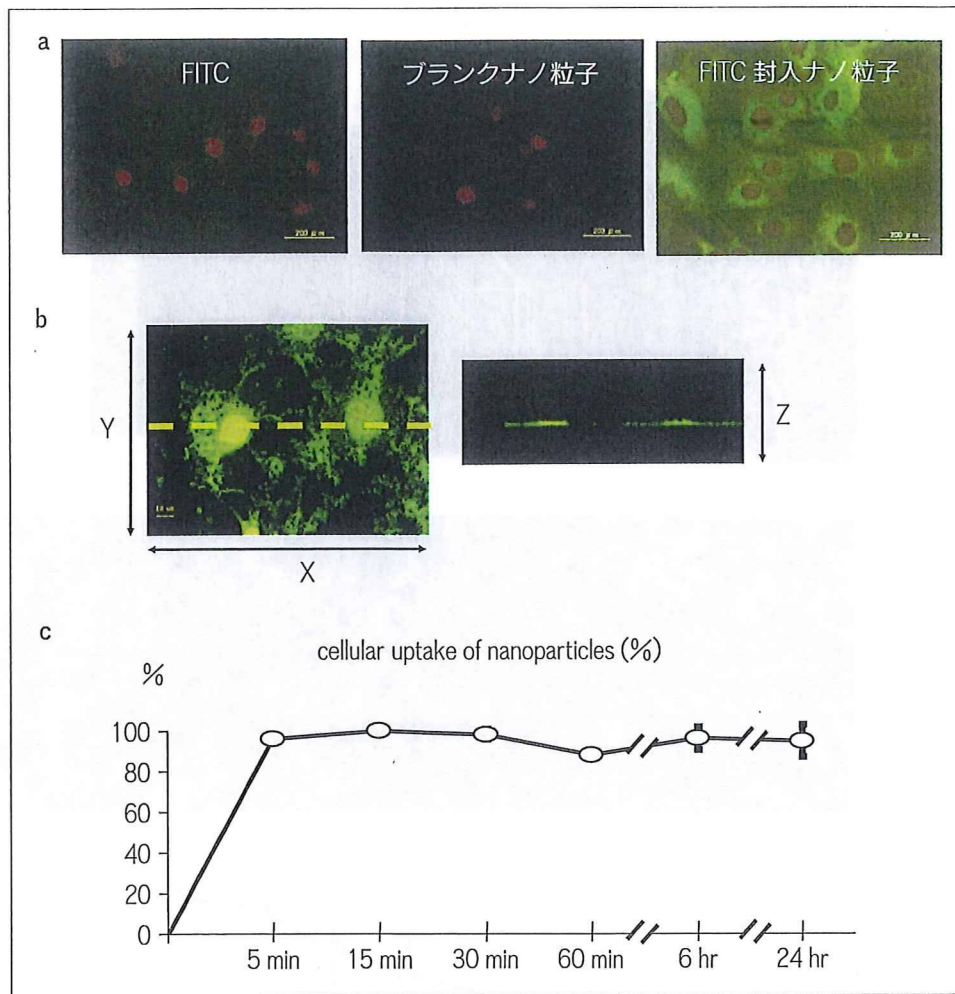


図2 培養ヒト冠動脈平滑筋細胞へのナノ粒子の取り込み

- a: ヒト冠動脈平滑筋細胞へ FITC のみ, ブランクナノ粒子, FITC 封入ナノ粒子を 1 時間インキュベートした. FITC 封入ナノ粒子をインキュベートした細胞のみ強い蛍光が認められた. FITC: 緑, 核: 赤.
- b: 共焦点レーザー顕微鏡で XY 方向および Y 軸方向から観察すると, ナノ粒子は核内および細胞質内に取り込まれたのが明らかになった. scale bar=10 μm.
- c: FITC 封入ナノ粒子の取り込みを経時的に追跡すると, 短時間 (5 分) で多くの細胞に取り込まれ, 24 時間以上安定して停留した (各時間: n=6~8).

テント表面へコーティングする技術を開発していく必要がある.

近年, われわれは生体吸収性, 生体適合性に優れた高分子である乳酸・グリコール酸共重合体 (co-poly-lactic acid/glycolic acid: PLGA) を, 「高分子球形晶析法⁷⁾」によりナノ粒子化するとともに, ペプチドや遺伝子プラスミドなどを封入するナノカプセル化技術を開発した. この方法の優れている点として脂溶性薬剤のみならず, 水溶性薬剤, ペプチドあるいは遺伝子 (核酸) の封入

も可能であることがあげられる. また, PLGA は生体吸収性縫合糸の材料として30年以上臨床で使用されており, さらに, PLGA マイクロ粒子によるリュープリン (酢酸リュープロレリン長期徐放型注射剤) の実績などからも, 生体内での安全性は保障されている.

さらに, PLGA ナノ粒子は, ドラッグデリバリーシステム (DDS) として, 薬物の酵素分解からの保護や薬物の放出制御などの通常の機能に加えて, 生体膜付着性による組織滞留性の向上,

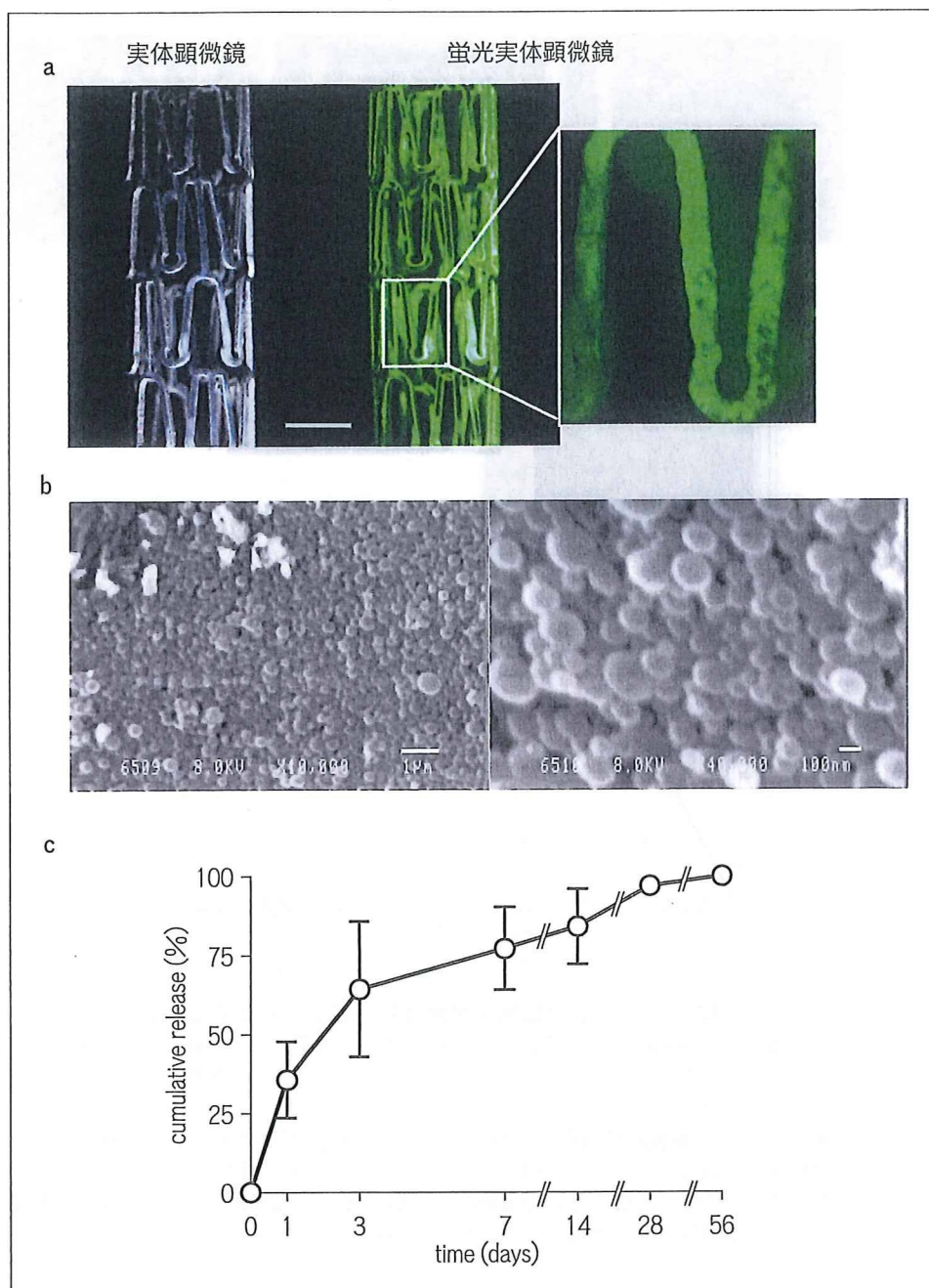


図3 電着コーティングテクノロジーによるナノ粒子溶出ステントの創製
 a: 実体顕微鏡および蛍光実体顕微鏡による, FITC封入ナノ粒子コーティングステント写真. 均一にナノ粒子がコーティングされているのが認められる.
 b: 走査型電子顕微鏡写真 (左: 弱拡, scale bar=1 μ m, 右: 強拡, scale bar=100 nm).
 c: ナノ粒子溶出ステントからの溶出速度の検討 (n=8).

それに起因する薬物の局所濃度の増大による薬物吸収の促進などの諸機能がすでに示されている(図1)⁷⁾.

実際, 蛍光色素 (FITC) を封入したナノ粒子の培養ヒト冠動脈血管平滑筋細胞への取り込みを観

察したところ, ナノ粒子はきわめて効率よく安定して培養細胞に取り込まれることが明らかになった(図2a). ナノ粒子に封入していない FITC では, 蛍光は検出されなかった. また, 共焦点レーザー顕微鏡で三次元的に観察したところ, 核およ

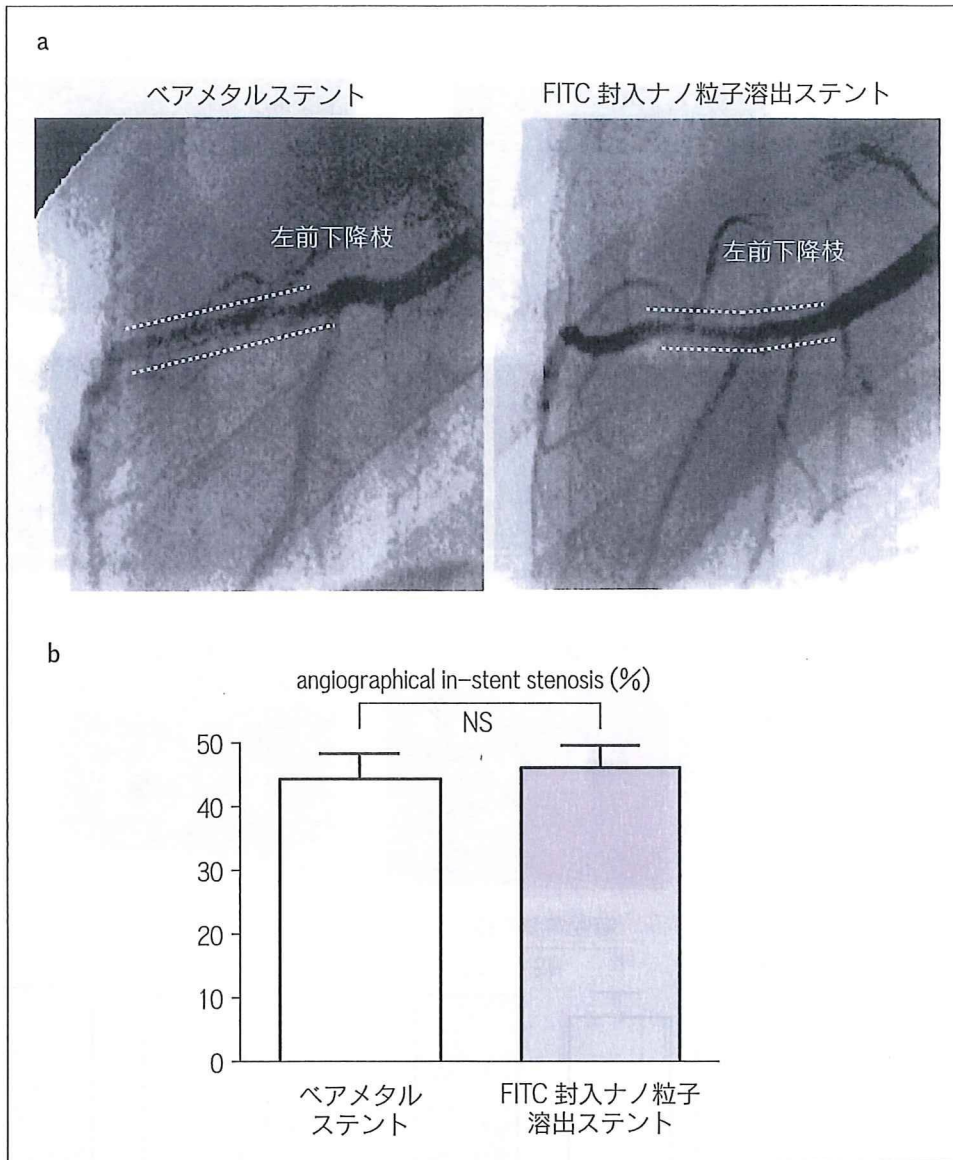


図4 血管造影と狭窄度

- a: ベアメタルステントおよび FITC 封入ナノ粒子溶出ステントをブタ冠動脈に留置し, 28日後の血管造影写真. ステントストラットを白線で強調した.
- b: ベアメタルおよび FITC 封入ナノ粒子溶出ステントの再狭窄率. 両群間で差は認められなかった (各群 n=8).

び細胞質内にナノ粒子が取り込まれていることが認められた (図 2b). 経時的に観察すると, PLGA ナノ粒子は60分以内に90%以上の細胞に取り込まれ, 24時間以上にわたり細胞内に停留することが明らかになった (図 2c).

ステントへの電着コーティング

次に, このナノ粒子をステント表面にコーティングする技術開発を行った. ナノ粒子表面をキトサンで修飾することにより, ナノ粒子表面電化をプラスにチャージすることに成功したことから, 電氣的にステント表面にコーティングするというアイデアに行き着いた.

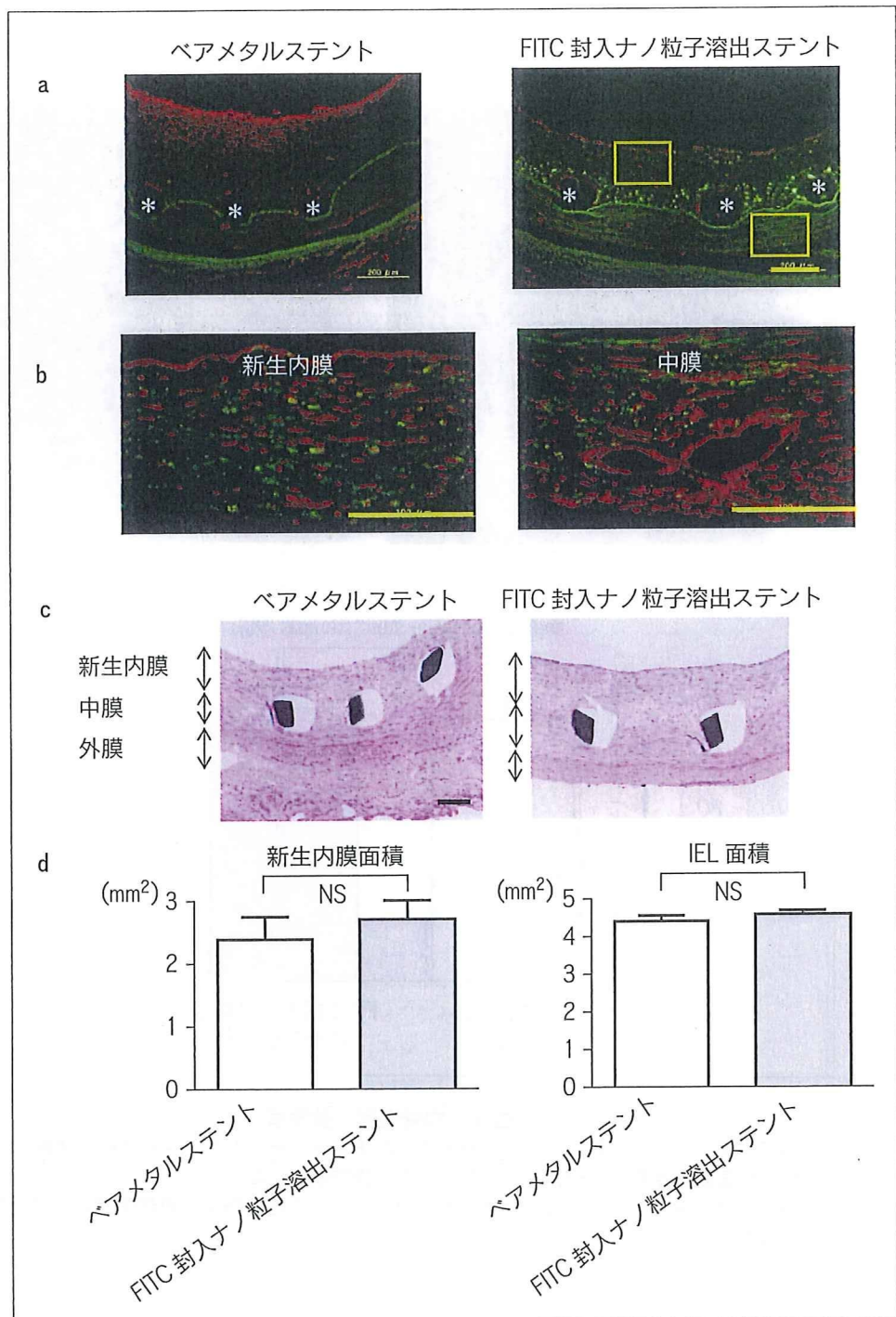


図5 FITC 封入ナノ粒子溶出ステント留置28日後における FITC の組織分布と病理解析結果

- a: ベアメタルステントおよび FITC 封入ナノ粒子溶出ステント留置28日後のステント留置血管の横断像の蛍光顕微鏡写真. *: ステントストラット. scale bar=100 μ m.
- b: a の写真で黄色く囲んだ部分の拡大像. 新生内膜および中膜に FITC が認められた.
- c: ベアメタルステント, および FITC 封入ナノ粒子溶出ステント留置28日後のステント留置血管の HE 染色病理標本. scale bar=500 μ m.
- d: ベアメタルステント, および FITC 封入ナノ粒子溶出ステント留置28日後の新生内膜面積および内弾性板 (IEL) 面積は, 両群間で差は認められなかった.
NS=not significant.

FITC封入キトサン修飾 PLGA ナノ粒子 (0.25 wt%) 懸濁液を作製し、長さ15 mm ステンレス (SUS316L) 製マルチリンク様ステントをステント加工前の内径1.1 mm, 外径1.3 mm のパイプに通し、陰極とした。そして、炭素棒が陽極、ステンレス製パイプが陰極となるように外部電源発生装置および電流計を直列に接続し、電流 5 mA 定電圧を維持するよう電圧を調整して10分間通電し、いわゆる電着コーティングテクノロジーにより、ステント表面にナノ粒子をコーティングした。コーティング後、ステントの表面を実体蛍光顕微鏡で観察すると、FITC封入キトサン修飾ナノ粒子はステント表面に均一にコーティングされているのが認められた (図 3a)。さらに走査型電子顕微鏡によりナノ粒子コーティング後のステント表面を観察したところ、ステント表面にナノ粒子が均一にコーティングされており、粒子の形態的異常は認められなかった (図 3b)。また、通電時間を変えることにより、ステントへの搭載量を任意に調整することも可能であった。

ナノ粒子の溶出速度を測定するために、試験管内溶出試験を行った。FITC封入キトサン修飾 PLGA ナノ粒子コーティングステントを、37°C の Tris-EDTA 緩衝液の擬似体液中に浸漬し、放出された FITC 封入キトサン修飾 PLGA ナノ粒子の蛍光強度を、蛍光マイクロプレートリーダーを用いて経時的に測定した。その結果、約45% のナノ粒子が早期 (24時間以内) に放出されたが、その後、一定量が長期 (28日間) にわたり溶出されることが明らかとなった (図 3c)。

ブタ冠動脈への FITC 封入 PLGA ナノ粒子の留置

実際にブタ冠動脈に FITC 封入 PLGA ナノ粒子コーティングステントを留置し、28日後に血管造影を行ったのち、剖検し組織内ナノ粒子の停留および病理学的な解析を行った。血管造影をしたところ、ベアメタルステントおよび FITC 封入 PLGA ナノ粒子コーティングステントでは狭窄

率は同程度であった (図 4)。また、血管を摘出しステント留置した血管の新生内膜を内腔側から実体蛍光顕微鏡で観察したところ、ステント周囲に強い蛍光が認められた。一方、ステント留置部位末梢には蛍光は認められなかった。

ステントストラットを慎重に外し、凍結切片を作製し蛍光顕微鏡で観察すると、ステントストラット周囲に強い蛍光が認められたほか (図 5a)、内膜直下、中膜にもナノ粒子に起因する蛍光が認められた (図 5b)。28日後の炎症指数は、ベアメタルステント、ナノ粒子コーティングステントでそれぞれ 1.53 ± 0.09 , 1.58 ± 0.16 であり、傷害指数は 1.84 ± 0.06 , 1.81 ± 0.03 であり、いずれも 2 群間に差は認められなかった。また、新生内膜の面積は両群間で同程度であり (図 5d)、ナノ粒子ステントに起因する傷害、炎症の亢進などはないことが明らかになった。

今後の展望

われわれは FITC 封入 PLGA ナノ粒子を作製し、このナノ粒子を均一にステント表面にカチオン電着コーティングする技術を開発した。ステントコーティングのプロセスにおいて、ナノ粒子の形態と機能は温存されていた。培養ヒト冠動脈平滑筋細胞およびブタ冠動脈モデルを用いて、ステント表面から放出されたナノ粒子がきわめて高率に血管壁細胞に導入され、しかも長時間 (28日間以上) 停留することを明らかにした。

また、われわれはすでに抗炎症作用、抗遊走作用をもつ遺伝子や血管平滑筋細胞に特異的に作用する分子標的薬、低分子薬剤のナノ粒子への封入に成功している。今後、このようなステント内再狭窄の病態を理解し、それに則した DDS 機能を有する次世代型 DES の開発を目指している。さらに、再狭窄治療のみならず、急性心筋梗塞や脳卒中を引き起こす不安定化プラークに対する有効性を評価していく予定である。

文 献

- 1) Babapulle MN, Eisenberg MJ: Coated stents for the prevention of restenosis: part I. *Circulation* 2002; **106** (21): 2734-2740
- 2) McFadden EP, Stabile E, Regar E et al: Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. *Lancet* 2004; **364**(9444): 1519-1521
- 3) Virmani R, Farb A, Guagliumi G et al: Drug-eluting stents: caution and concerns for long-term outcome. *Coron Artery Dis* 2004; **15** (6): 313-318
- 4) Steffel J, Latini RA, Akhmedov A et al: Rapamycin, but not FK-506, increases endothelial tissue factor expression: implications for drug-eluting stent design. *Circulation* 2005; **112**(13): 2002-2011
- 5) Luscher TF, Steffel J, Eberli FR et al: Drug-eluting stent and coronary thrombosis: biological mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2007; **115** (8): 1051-1058
- 6) Virmani R, Guagliumi G, Farb A et al: Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious? *Circulation* 2004; **109**(6): 701-705
- 7) Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H et al: Properties of a peptide containing DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods. *Eur J Pharm Biopharm* 1998; **45** (1): 41-48

冠攣縮： DES に関連した冠攣縮の分子細胞学的機序

九州大学大学院医学研究院循環器内科学

的場哲哉 竹本真生 江頭健輔
Tetsuya Matoba Masao Takemoto Kensuke Egashira

SUMMARY

DES 留置後の臨床上的問題点の1つとして、冠攣縮が報告されている。SES 留置大動物モデルにおいて冠攣縮の再現が可能であり、培養内皮細胞においてはシロリムスによる Akt および eNOS のリン酸化抑制が観察され、冠攣縮の機序と考えられた。DES 留置症例で観察される冠攣縮には、急性期の内皮機能障害から派生する平滑筋機能異常などの二次的な機序が介在することが示唆され、DES 留置後の補助薬物療法としてのスタチンの可能性についても論じた。

はじめに

薬剤溶出ステント (drug eluting stent ; DES) (シロリムス溶出ステント : sirolimus eluting stent ; SES, Cypher® およびパクリタクセル溶出ステント : paclitaxel eluting stent ; PES, TAXUS®) がステント留置後の再狭窄を抑制する一方で、安定狭心症患者の予後は改善しないことが 2007 年初頭にかけて発表された臨床研究で明らかとなった¹⁾。その背景として、McFadden らの報告²⁾に端を発した遅発性ステント血栓症の問題や、本稿のテーマである冠攣縮が予後増悪因子となっている可能性が示唆される。

冠攣縮および冠攣縮性狭心症は、臨床的心筋虚血所見に関わらず冠動脈造影検査の際のアセチルコリンやエルゴノピンに対する過収縮反応および心筋虚血所見に基づき確定診断され、その本体は冠動脈内皮機能障

害および冠動脈平滑筋の過剰収縮であると考えられている。本稿では DES に関連した冠攣縮のメカニズムについて、筆者らの知見を含めて概説する。

薬剤溶出ステント(DES)付加薬剤の薬理作用と生体効果

現在、日本で DES に臨床使用されている薬剤はシロリムスとパクリタクセルである。シロリムスはイースター島の土壌で発見されたマクロライド系の抗生物質で、腎移植後の免疫抑制剤としても使用されている。シロリムスは細胞内レセプター FK506 結合タンパクと結合し平滑筋細胞に入った後、網膜芽細胞腫タンパク (retinoblastoma protein) のリン酸化と P27^{Kip1} のダウンレギュレーションを抑制することにより細胞周期の G1 期での停止作用を発現させる事で細胞増殖抑制作用を発現する³⁾。一方、パクリタクセルは北米大陸北西部に生息する針葉樹である Pacific yew tree から精製された抗癌剤で、乳癌、肺癌、卵巣癌などの治療に既に日本でも使用されている。薬理学的作用はその濃度によって異なる。高用量では微小管の脱重合を阻害し細胞周期の G2-M 期を停止させ⁴⁾、低用量では p53 と p21 のダウンレギュレーションを阻害する事により細胞周期の G1~S 期を停止させる⁵⁾。これらの作

KEY WORDS

- 冠動脈疾患
- 冠動脈ステント
- 冠攣縮
- 血管内皮細胞
- 血管平滑筋細胞

用により、パクリタクセルは細胞増殖抑制作用を発現すると考えられている⁶⁾。現在臨床使用されているPESは低用量緩徐放成型である。パクリタクセルは癌細胞に比べて平滑筋細胞に対する感受性が高いとされているが、細胞死に至る用量はむしろ高く、血管内皮細胞に対する増殖抑制効果は低いと報告されている⁷⁾。

これらの薬剤の増殖抑制効果により、DESはベアメタルステント(beremetal stent; BMS)と比較して、動物実験では平滑筋の増殖による血管傷害後の新生内皮形成を有意に抑制し⁸⁾⁹⁾、ヒトでは経皮的冠動脈インターベンション(percutaneous coronary intervention; PCI)後の再狭窄を劇的に抑制した¹⁰⁾ことから臨床使用が急速に広がった。その反面、これらの薬剤は細胞毒性を有することが知られている。全身投与ではシロリムスでは消化器症状、白血球減少、肝機能障害などが、パクリタクセルでは白血球減少、ニューロパシー、催不整脈などの副作用が報告されており、その毒性が問題視されていた。DESによる冠動脈病変への局所投与により、これらの全身投与に関連した副作用の問題は回避された一方、投与局所における問題点も報告されている。

ニュージーランド・ホワイトラビットの腸骨動脈にバルーン傷害を加えた後に3mm径のBMSもしくはSES、PESを留置し、1, 3ヵ月後の病理所見について検討された動物実験では⁸⁾、BMS留置部に比べてDES留置部において有意に多くのフィブリンの沈着、好中球・好酸球の血管壁への浸潤、中膜細胞の欠損が認められた。DES留置後患者の剖検例の検討¹¹⁾¹²⁾では前述の動物実験の所見とほぼ同じ所見がヒトでも認められ、冠動脈内視鏡検査¹³⁾や冠動脈内超音波検査¹⁴⁾でもDES留置後の治癒およびステント部分の新生内皮被覆の遅延が指摘されて、これら

の変化が遅発性ステント血栓症の最も優れた予測因子となるとされている¹¹⁾¹²⁾。

DESに関連した冠攣縮

一方、DES留置後に冠攣縮が生じた臨床例が報告されている。Hofmaら¹⁵⁾は、BMS留置5症例およびSES留置7症例において、留置直後と6ヵ月後の冠動脈内皮機能をアセチルコリンの冠動脈内注入により検討し、SES留置症例ではBMS患者症例では認めない過収縮反応が生じたことを報告している。また、Obataら¹⁶⁾の研究では、急性心筋梗塞に対して左前下行枝にBMSまたはSES留置症例で冠動脈反応を観察し、同様にSES症例でアセチルコリンに対する冠動脈収縮および冠血流量低下反応を認めている。Togniらの研究¹⁷⁾では、SES留置後の患者で冠動脈造影の際に運動負荷を行い、冠攣縮が誘発されることを報告している。

同様の自験例を図1に示す。6ヵ月前に狭心症に対して左冠動脈前下行枝近位部にSESを留置した症例が労作性狭心症の再発で入院したが、冠動脈造影検査では有意狭窄を認めなかった。アセチルコリン50 μ gの冠動脈内投与により、自然発作と同様の胸痛とST

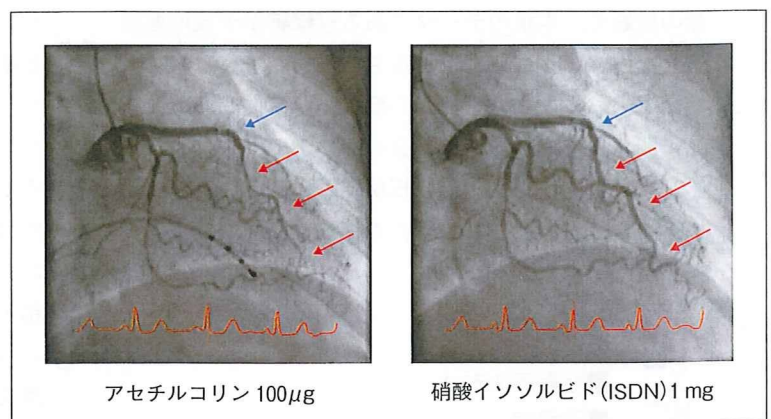
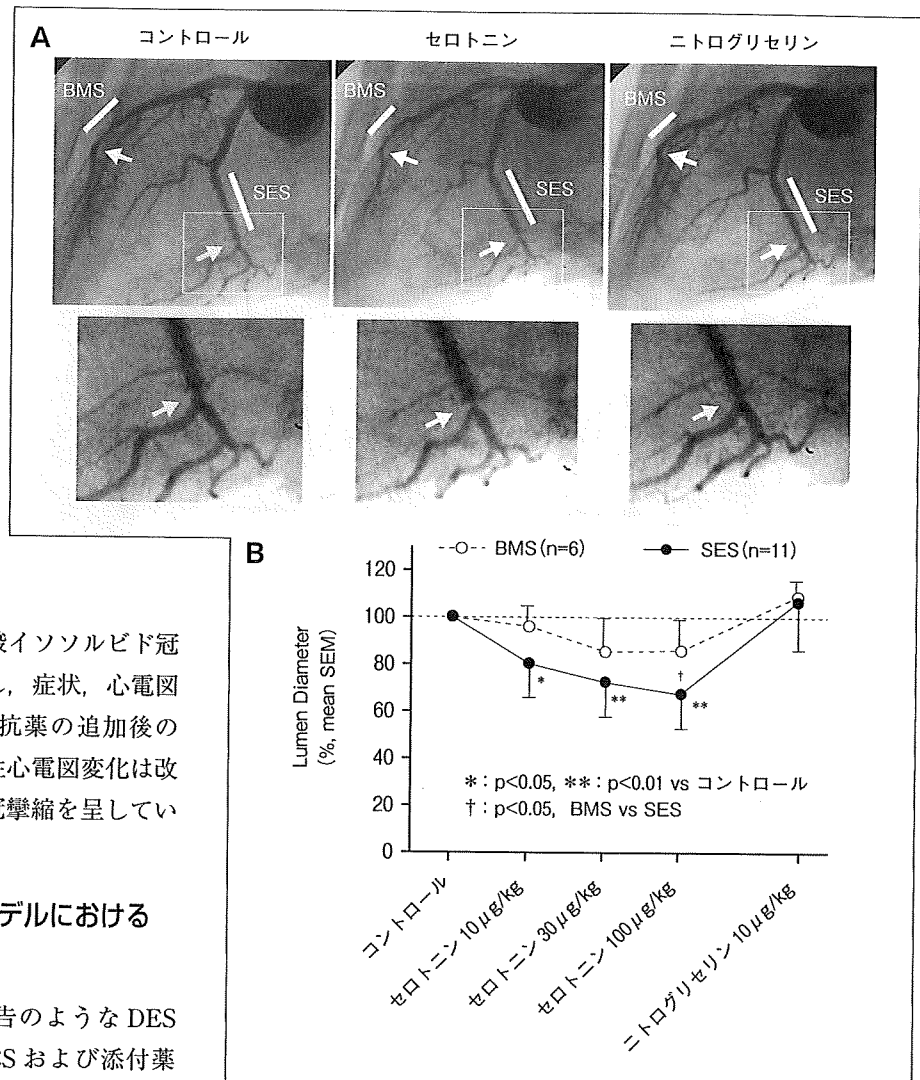


図1. SES留置6ヵ月後に冠攣縮性狭心症を生じた自験例
冠動脈造影では有意狭窄病変を認めず、Ca拮抗薬内服下であったにもかかわらず、アセチルコリン冠動脈内投与により、左冠動脈前下行枝のSES留置部(青矢印)末梢に症状と心電図変化を伴う冠動脈攣縮が誘発(赤矢印)された。

図2. ブタ冠動脈ステント留置モデルにおけるSES留置後の冠攣縮

A: ブタ冠動脈左前下行枝にBMS, 左回旋枝にSESを留置後28日目の冠動脈造影. セロトニン(100 μ g/kg)注入後, SES抹梢側に冠攣縮を生じ, ニトログリセリン注入後に解除された. B: SES留置冠動脈ではステント末梢側にセロトニンに対する収縮反応を認めたが, BMS留置冠動脈では認めなかった.



低下を伴う冠攣縮が生じ, 硝酸イソソルビド冠動脈内投与にて冠攣縮は改善し, 症状, 心電図変化も消失した(図1). Ca拮抗薬の追加後の運動負荷心電図において虚血性心電図変化は改善し, 当症例では運動誘発性冠攣縮を呈していたと考えられた.

ブタ冠動脈ステント留置モデルにおける冠攣縮

我々は, 前述の自験例や報告のようなDES留置に関連した冠攣縮が, DESおよび添付薬剤自体によって誘発されるか否かを検証するため, ブタ正常冠動脈に対するステント留置モデルにおいてDES留置後の冠攣縮が再現できるか検討した. 家畜ブタの左冠動脈前下行枝および回旋枝にSESまたはBMSをステント/血管径比1.2で同等に留置し, 4週間後に冠動脈造影を行った. その際, 血管内皮および血管平滑筋細胞のアゴニストであり, ヒトにおけるアセチルコリンと同様に冠動脈機能を評価できるセロトニン(10~100 μ g/kg)を冠動脈内投与したところ, SES留置遠位部において冠攣縮を認めた. ニトログリセリンに対する拡張反応はBMSとSES

で同等であった(図2). セロトニンに対する冠攣縮はBMS留置血管では認めず, SESもしくはシロリムス自体の作用であると考えられた. ステント遠位端の冠動脈の組織学的検討を行ったところ, SES留置血管中膜には一部炎症細胞浸潤を認めたが内膜層は保たれており(図3A), SES留置ブタ冠動脈の走査電子顕微鏡像では, ステントストラット間の内膜面では内皮細胞の敷石状配列を認め, ストラット上でも内皮細胞による被覆を認めたことから(図3B), 正常ブタ冠動脈

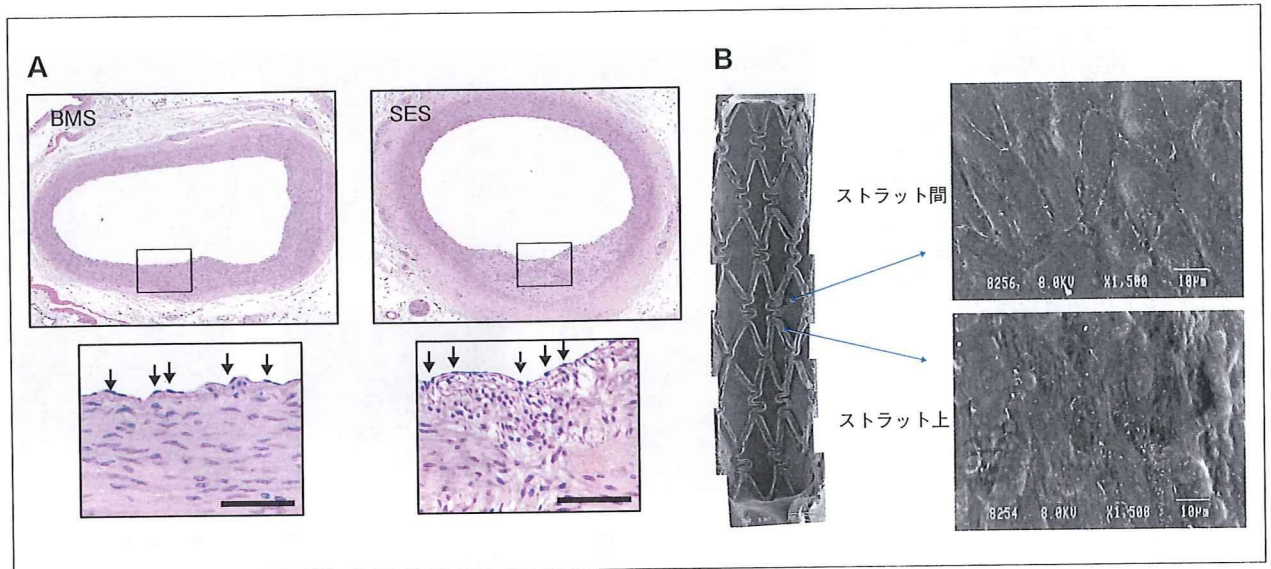


図3. SES 留置冠動脈の病理像

A: ブタ冠動脈 BMS または SES 留置 28 日後のステント遠位部の病理像。SES 留置冠動脈では一部に炎症細胞浸潤を認めるが、内膜面は細胞に被覆されている(矢印)。B: SES 留置部の走査電子顕微鏡像では、ストラット間およびストラット上内膜面に内皮細胞様の敷石状構造を認めた。

では SES 留置後にステント再内皮化は生じるにも関わらず、冠攣縮を生じることが明らかとなった。

シロリムスの血管内皮細胞に対する直接作用

ブタステントモデルにおいて認めた冠攣縮部位においては、内皮由来一酸化窒素(nitric oxide; NO)が主要な内因性冠拡張因子である。シロリムスの血管内皮由来 NO 産生に対する直接効果を検討するため、培養ヒト臍帯静脈内皮細胞(human umbilical vein endothelial cell; HUVEC)を用いて検討を行った。ブラジキニンはヒト血管内皮細胞に作用して、内皮型 NO 合成酵素(endothelial NO synthase; eNOS)のリン酸化を介して NO 産生を惹起することが知られている。ヒトにおける SES (Cypher[®])留置後のシロリムス最大血中濃度は 1.05 ng/mL とされている(www.cordis-labeling.com) ことから、シロリムス 10 ng/mL の HUVEC に対する効果を検討したところ、シロリムス投与 24 時間後に eNOS 発現レベルの低下(-39%, n=4, p<0.05)を認め、ベースラインおよびブラジ

キニン刺激下のリン酸化 eNOS (Ser1177) 発現レベルも低下した(図 4 A)。eNOS (Ser1177) のリン酸化酵素として Akt が知られており、Akt の活性化を制御するリン酸化部位についても検討を行ったところ、シロリムスは Akt の発現レベルには影響を与えなかったが、ベースラインおよびブラジキニン刺激下の Ser473 リン酸化レベルを有意に抑制した(図 4 B)。シロリムスの細胞内標的分子として mTOR (mammalian target of rapamycin) が同定されているが、シロリムスは mTOR, Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR), Sin1 (SAPK-interacting protein), mLST8 (mammalian lethal with sec-13) からなる複合体 mTORC2 (mTOR complex 2) の Rictor と mTOR を解離させることにより、mTORC2 によって制御される Akt リン酸化を抑制することが既に報告されており¹⁸⁾、今回観察されたブラジキニンによる Akt リン酸化の抑制も同様の機序をとっている可能性がある。

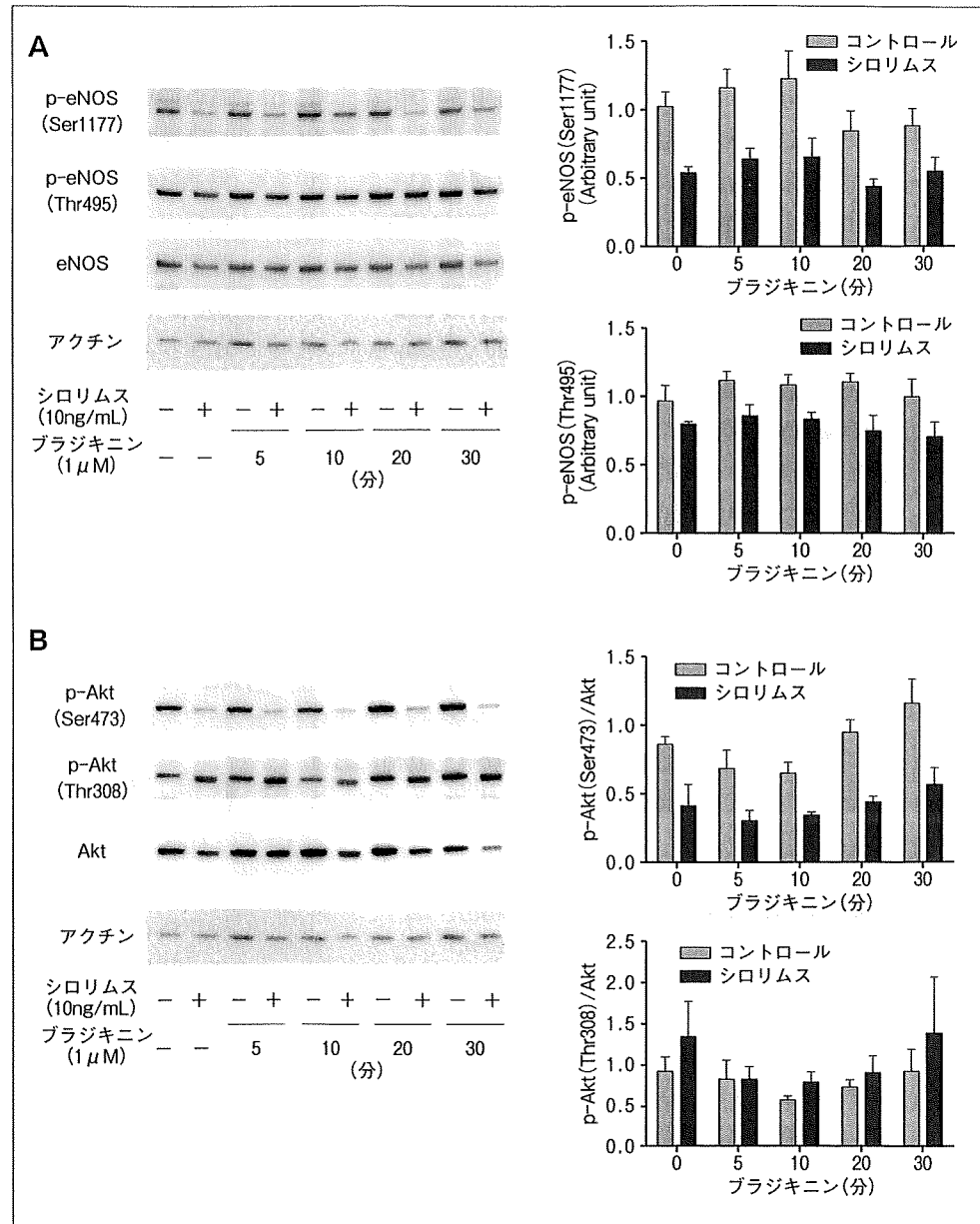


図4. シロリムスの内皮細胞に対する直接作用

ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)にシロリムス(10 ng/mL)を24時間前投与し、ブラジキニン刺激下のeNOSリン酸化(Ser1177およびThr495)(A)およびAktリン酸化(Ser473, Thr308)(B)をウエスタンブロッティング法で検討した。

シロリムスの急性効果とSESの慢性効果

これらの血管内皮細胞に対するシロリムスの直接効果は、SES留置冠動脈においてNO活性の低下を介して内皮依存性冠拡張反応を障害し、冠攣縮の原因の

1つとなり得る。しかしながら、Cypher®からのシロリムス放出の半減期は206時間(8.6日)とされている(www.cordislabeling.com)ことから、自験例も含めて前述の臨床研究において冠攣縮が確認された留置6ヵ月後にはステント上のシロリムスはほぼ消失してい