

氏名(本籍)	たき がわ とも じ 滝川知司(神奈川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第6230号
学位授与年月日	平成24年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	<b>Cilostazol suppression of arterial intimal hyperplasia is associated with decreased expression of sialyl Lewis X homing receptors on mononuclear cells and E-selectin in endothelial cells</b> (シロスタゾールは単核球におけるシアリルルイス X と内皮細胞における E-セレクトインの発現を抑制することで新生内膜増殖を抑制する)
主査	筑波大学教授 医学博士 青沼和隆
副査	筑波大学講師 博士(医学) 坂本裕昭
副査	筑波大学講師 博士(医学) 中馬越清隆
副査	筑波大学助教 博士(理学) 山下年晴

## 論文の内容の要旨

### (目的)

頸動脈ステント留置術(CAS)の施行前後におけるシロスタゾール内服により、CAS施行後の再狭窄の発生率が低減することを臨床研究として報告している(*J Vasc Surg* 2010; 51(1): 51-6)。しかしこの研究では、シロスタゾール以外の薬剤が影響している可能性も否定はできず、シロスタゾール単剤での評価は行えていないことが問題であった。シロスタゾールの再狭窄抑制効果の機序としては、抗血小板作用や血管拡張作用のほかに、血管平滑筋の増殖抑制作用や炎症性細胞の接着・浸潤(ホーミング)の抑制など、多面的な作用の関与が考えられる。

そこで、他の薬剤の影響を排除したシロスタゾール単独による新生内膜肥厚の抑制効果を評価し、その機序のうち、特に炎症性細胞のホーミング初期段階において、炎症性細胞表面に発現する Sialyl Lewis X (SLx) および内皮細胞表面の E-selectin の発現に対するシロスタゾールの作用について検討することとした。

### (対象と方法)

*in vitro* 試験として、ラット単核球とヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を lipopolysaccharide (LPS) に曝露することで、それぞれ SLx と E-selectin の発現を誘導し、シロスタゾール投与群(1、3、10、30 $\mu$ M)および非投与群において SLx、E-selectin の発現に及ぼす影響を評価した。

ラット頸動脈拡張損傷モデル(double injury model)を用い、頸動脈新生内膜増殖モデルを作製した。ラットは通常飼料群と0.1%シロスタゾール入り飼料群に分け、第3日と第10日にバルーン拡張(PTA)を行い、第24日に検体を採取した。新生内膜増殖面積、内膜/中膜面積比、収縮性リモデリング、血管内腔残存率を計測し、更に内膜における E-selectin 発現と浸潤したマクロファージと T リンパ球を染色し蛍光顕微鏡下に観察した。

新生内膜肥厚の内皮細胞を削り取り、E-selectin の mRNA 発現を計測し、更に血管拡張術前と検体採取時

に採血を行い、ラットの単核球を分離し SLX の転写タンパクである FUT7 の mRNA の発現を測定した。

#### (結果)

*in vitro* 試験では、免疫染色上、HUVEC における E-selectin の発現、単核球における SLX の発現はシロスタゾールによって抑制された。また、LPS 刺激によって、E-selectin、FUT7 の mRNA 発現は非暴露群と比較して有意に上昇したが、シロスタゾール群では E-selectin、FUT7 の mRNA 発現は有意に抑制された。ラット頸動脈拡張損傷モデルにおいて、免疫染色上、新生内膜の E-selectin の発現は、シロスタゾール群において著明に減少し、E-selectin mRNA の発現もシロスタゾール群において有意に減少した。更に、免疫染色上、新生内膜内下へ浸潤したマクロファージと T リンパ球総数はシロスタゾール群で有意に少なく、更に FUT7 mRNA の発現も有意に減少を示した。

新生内膜増殖面積、内膜 / 中膜面積比、収縮性リモデリングもシロスタゾール群において有意に抑制され、結果として血管内腔残存率はシロスタゾール群において有意に大きく、狭窄予防効果があると考えられた。

#### (考察)

実験結果より、シロスタゾールは炎症細胞のホーミング初期反応である SLX と E-selectin の発現を抑制することでホーミングを抑制し、それにより血管狭窄を抑制することが示唆された。

シロスタゾールにより細胞内 cAMP が上昇することで E-selectin, SLX, VCAM-1, ICAM-1, の転写因子である cytokine-induced nuclear-factor (NF)- $\kappa$ B を抑制することが知られている。本実験でも NF- $\kappa$ B が抑制され、SLX と E-selectin が抑制されることが推察された。

シロスタゾールは tight binding の抑制や、平滑筋細胞の増殖を抑制することが知られている。本実験で SLX と E-selectin の抑制効果を提示したが、シロスタゾールが新生内膜増殖機序のどの部位に中心的に作用するののかという検討が必要であると思われた。また、本実験ではバルーンによる機械的損傷により新生内膜増殖を作製したが、ヒトの動脈硬化性血管では脆弱プラークの炎症や新生血管の増生を含んでおり、より持続的に起こる可能性がある。更に、SLX は単球において常に発現し、炎症下の状態では、T リンパ球表面に SLX が新たに発現することが知られている。シロスタゾールの炎症下の反応を正確に評価するためには T リンパ球のみを評価する必要がある。

本研究において、シロスタゾールは単核球における SLX の発現と内皮細胞における E-selectin の発現を抑制することで抗炎症作用を示し、それにより血管内膜肥厚を予防する効果をもつことを示した。更に、今後の展望として、シロスタゾールは PTA やステント留置術後の再狭窄を予防する効果を持つのみならず、抗動脈硬化作用を持つ可能性が示唆された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、臨床で認められた頸動脈ステント留置術後のシロスタゾール内服による再狭窄率の改善に対する効果を、ラット頸動脈拡張損傷モデルにおいて検証している。本研究によりシロスタゾールの単核球における SLX の発現と内皮細胞における E-selectin 発現の双方を抑制することで抗炎症作用を示し、それによる血管内膜肥厚を予防する効果をもつことが明確に示された。

平成 23 年 12 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。