



Tranilast suppresses intimal hyperplasia after photochemically induced endothelial injury in the rat

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード: 作成者: 菊池, 伸次 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1536">http://hdl.handle.net/10271/1536</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 259号	学位授与年月日	平成 9年12月26日
氏名	菊池伸次		
論文題目	Tranilast suppresses intimal hyperplasia after photochemically induced endothelial injury in the rat (光増感反応により誘発したラット血管内皮傷害後の血管内膜肥厚に対するトラニラストの抑制作用)		

博士(医学) 菊池伸次

## 論文題目

Tranilast suppresses intimal hyperplasia after photochemically induced endothelial injury in the rat  
(光増感反応により誘発したラット血管内皮傷害後の血管内膜肥厚に対するトラニラストの抑制作用)

## 論文内容の要旨

〔はじめに〕

経皮的冠状動脈形成術 (PTCA) は、冠動脈硬化による狭心症や心筋梗塞に対する治療法の一つとしてその有効性が確立されて以来広く普及されている。しかしこの治療法における最大の問題点は、術後6ヶ月以内に拡張した病変部を中心として起こる再狭窄である。再狭窄発症には血小板の活性化による血栓形成、血管平滑筋細胞の増殖・遊走による内膜肥厚および細胞外マトリックスの増生と血管のリモデリングなどが関与していることが明らかにされつつあるが、いまだに有効な治療法は確立されていない。

トラニラストは、経口抗アレルギー薬として広く臨床で使用されているが、近年、本薬剤がケロイドの病的線維芽細胞の増殖やコラーゲン合成の抑制などの様々な作用により、ケロイドや肥厚性瘢痕のような増殖性疾患を抑制することが報告されている。このような背景から我々は、PTCAにより傷害された血管の過剰な修復反応の結果生じる再狭窄に対しても本薬剤の効果が期待できるものと考え、ラットの大腿動脈に作製した内膜肥厚に対するトラニラストの効果について検討した。

〔材料ならびに方法〕

血管内膜肥厚は、ローズベンガル (10mg/kg) の静脈内投与と540nmの緑色光の照射による光増感反応を利用した血栓モデル (photochemically-induced thrombosis:PIT) を応用し、自然発症高血圧ラット (SHR) の大腿動脈に作製した。トラニラストは0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し、PIT施行2日前より1日1回経口投与した。対照群には同量の0.5% CMCを投与した。内皮傷害3週間後に血管を灌流固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色後、画像解析にて内膜および中膜面積を測定した。

SHR由来血管平滑筋細胞は explant 法にて初代培養し、実験には3-4継代目の細胞を使用した。トラニラストの細胞増殖に対する効果は、トリチウムチミジンの取り込みによる DNA 合成を指標に検討した。

〔結果〕

23日間の連続投与によりトラニラストは、内膜面積および内膜/中膜面積比を用量依存的に抑制し、100および300mg/kgの投与により有意な抑制作用を示した。一方、トラニラストは中膜面積には影響を与えなかった。

PIT施行2日前からのトラニラストの前投与は、大腿動脈の血栓形成時間に影響を与えなかった。また、トラニラストは血圧および心拍数の変化に対しても影響を示さなかった。

トラニラストは PDGF-BB (0.3ng/ml)、bFGF (10ng/ml)、IGF-I (30ng/ml) および FBS (1%) 刺激 DNA 合成を用量依存的に抑制した。

## 〔考察〕

本研究において我々は PIT により誘発した血管内膜肥厚に対するトラニラストの効果について検討した。PIT モデルは光増感物質であるローズベンガルと540nm の緑色光間で起こる光化学的反応に基づく血管内皮傷害法である。即ち、ローズベンガルが緑色光により励起されると活性酸素種（特に一重項酸素）を産生し、これが血管内皮を傷害する。その結果、血小板の粘着、凝集およびフィブリン形成による血小板の豊富な動脈血栓が形成される。このモデルは、バルーン傷害モデルとは異なり機械的刺激のない内皮傷害法である。

本モデルにおいて、血栓溶解後、多くの血小板および白血球が内皮の脱落した血管表面に粘着していることが既に報告されている。これらの細胞は血管平滑筋細胞の増殖や遊走を促進する数多くの成長因子（例えば、PDGF や IL-1 $\beta$ ）を分泌し、内膜肥厚の進展に関与していることが報告されている。したがって、本モデルにおける新生内膜形成においてもこれら血小板、白血球および傷害内皮由来の成長因子が寄与しているものと考えられる。

トラニラストは SHR の大腿動脈に作製した内膜肥厚を用量依存的に抑制し、100および300mg/kg の投与により有意な抑制作用を示した。また、各種成長因子による DNA 合成も、動物モデルで有効であった用量で得られる血中濃度とほぼ一致した濃度で、用量依存的かつ有意に抑制した。これらの結果は、本モデルにおけるトラニラスト効果が、血管平滑筋細胞の増殖を抑制したことによるものと推察された。

さらに本研究以外にこれまでの報告から、トラニラストは幾つかの興味深い薬理作用を有している。即ち、活性化白血球からの IL-1 $\beta$  や活性酸素の産生抑制、中膜平滑筋細胞の内膜への遊走およびコラーゲン合成の抑制である。これらの作用もまた、トラニラストによる血管肥厚の抑制に寄与しているものと思われる。

## 〔結論〕

以上の結果より、トラニラストは、血管平滑筋細胞の増殖など内膜肥厚の進展に関わる重要な過程を抑制することにより内膜肥厚を抑制し、PTCA後に起こる再狭窄を防止する可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

近年、経皮的冠状動脈形成術（PTCA）は虚血性心疾患の重要な治療法となっている。しかしながら PTCA には術後3-6ヶ月後に30-40%の病変に生じる再狭窄という今なお未解決の問題が存在し、重症例においては致命的な心事故につながる事もある。このように PTCA 後の再狭窄は、適応拡大の大きな障害となっており、これを予防することのできる薬剤の開発が望まれているが、現在のところ臨床上有効性を示した薬剤はない。

申請者はローズベンガルと540nm の緑色光の照射による血栓モデル（PIT法）を応用し、新規血管内膜肥厚モデルを作製した。PIT による内膜肥厚形成の特徴を精査した後、本モデルを用いて、抗アレルギーおよび抗ケロイド剤であるトラニラスト効果を検討した。さらに培養血管平滑筋細胞を用い、トラニラストの内膜肥厚抑制のメカニズムについても併せて検討した。

その結果、PIT による血管肥厚形成過程において、傷害した血管表面に集積した血小板および白血球が重要な役割を果たしていることを明らかにし、これらの細胞から産生される種々の成長因子が、血管平滑筋細胞の増殖および遊走を促進することを示した。また本モデルを用いてトラニラストの効果について検討したところ、本薬剤が SHR の大腿動脈に作製した内膜肥厚を用量依存的かつ有意に抑制する

ことを明らかにした。さらに、培養平滑筋細胞を用いた実験で本薬剤は、各種成長因子の刺激により増加した DNA 合成も、動物モデルで有効であった用量で得られる血中濃度とほぼ一致した濃度で、同様に有意に抑制することを示した。以上の結果より申請者は、トラニラストの内膜肥厚の抑制作用は、血管平滑筋細胞の増殖抑制に起因すると推論している。さらに既報のトラニラストの薬理作用（活性化白血球からのサイトカインや活性酸素の産生抑制や中膜平滑筋細胞の遊走抑制）もまた本薬剤の効果に寄与していると論じている。

過去に数多くの特異性の高い薬剤（例えば、抗血小板薬やアンジオテンシン変換酵素阻害薬など）による再狭窄の予防が試みられてきたが、未だ臨床上有効な薬剤はない。本研究は、内膜肥厚の進展に関わる幾つかの重要な過程を抑制するトラニラストを用い、動物の内膜肥厚モデルで効果を確認した最初の報告であり、さらにその後報告された多施設、二重盲検形式での臨床試験の成績（プラセボ投与群に比しトラニラスト投与群で再狭窄を有意に抑制）とを考え合わせると、PTCA 後に起こる再狭窄に対しての薬物治療の可能性を示したものであると高く評価された。

審査の過程において、申請者に対し次のような質疑が行われた。

- 1) 内弾性板の損傷を伴わないPIT法がPTCA後再狭窄のモデルとして評価されるかについて
- 2) 新生内膜内の線維芽細胞の局在について
- 3) 新生内膜内に存在するコラーゲンのタイプについて
- 4) トラニラストの異性体の存在について
- 5) トラニラストの抗アレルギー剤としての薬理作用と、血管内膜肥厚抑制作用とのメカニズムの違いについて
- 6) PIT法による新生内膜形成過程において動物種間で差異はあるのか
- 7) トラニラストの血管内膜肥厚抑制作用は、平滑筋細胞の増殖抑制と遊走抑制のどちらが重要か
- 8) トラニラストの活性酸素捕獲作用の有無について
- 9) トラニラストの副作用について
- 10) 他の再狭窄モデル実験との比較
- 11) トラニラストを投与するタイミングについて
- 12) 光増感剤としてローズベンガルを用いた理由について
- 13) 血管内膜肥厚の測定法について
- 14) PIT法で、頸動脈ではなく、大腿動脈を用いた理由について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分に理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 数井 暉久

副査 教授 堀内 健太郎 副査 助教授 浦野 哲盟