



Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism on intra-stent thrombi and lesion outcome after everolimus-eluting stent implantation compared to that after first----

Konishi, Akihide

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2015-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6272号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006272>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(過程博士関係)

学位論文内容要旨

Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism on intra-stent thrombi and lesion outcome after everolimus-eluting stent implantation compared to that after first-generation drug-eluting stent implantation

エベロリムス溶出性ステント留置後慢性期のステント内血栓形成と病変予後
に対する Cytochrome P450 2C19 遺伝子多型の影響についての検討
(第一世代薬剤溶出性ステントとの比較)

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
循環器内科学

(指導教員：平田健一教授)

小 西 明 英

【背景と目的】

現在、抗血小板薬であるアスピリン、クロピドグレルの 2 剤併用療法は薬剤溶出性ステント (DES: drug-eluting stent) 留置後のステント血栓症を予防するための確立した治療法である。クロピドグレルはプロドラッグであり、肝臓で代謝されその活性代謝産物が血小板に作用し、抗血小板薬としての役割を果たす。チトクローム P450 (cytochromeP450: CYP) 2C19 はその代謝酵素として重要であるが、CYP2C19 には酵素活性を規定する遺伝子多型が知られている。CYP2C19*1 は wild type、CYP2C19*2、*3 が機能低下遺伝子多型 (reduced function polymorphism) とされる。初期の (第一世代) DES 留置患者において、*2、*3 遺伝子多型は、ステント血栓症の危険因子となり、血小板凝集抑制が不十分であると、DES 留置後の臨床的予後が悪化すると考えられてきた。

一方、第 2 世代 DES であるエベロリムス溶出性ステント (EES: everolimus-eluting stent) はストラットが薄く、生体適合性の高い抗血栓性のポリマーを有し、第一世代 DES と比較して、留置後より早期に、均一なステント留置部位の血管治癒をもたらし、ステント内の血栓形成も少ないことが報告されている。また、EES は第一世代 DES と比較して、再狭窄率が低いとされる。第一世代 DES において CYP 2C19 の遺伝子多型はステント内血栓と臨床的予後に関連があるが、EES については不明である。今回我々は、第一世代 DES と比較して、EES における CYP 2C19 遺伝子多型影響について検討した。

【方法】

対象

2008 年から 2011 年に、当院で第一世代 DES または EES を用いて経皮的冠動脈形成術 (PCI: percutaneous coronary intervention) を行った 685 人のうち 252 人において、PCI の 8-10 カ月後に光干渉断層法 (OCT: optical coherence tomography) による治療部位の評価を行った。OCT 検査時にクロピドグレルを継続内服しており、CYP2C19 遺伝子多型の測定に同意し

た 196 人をこの研究の対象とした。

光干渉断層法検査

0.016 インチの光干渉断層法のカテーテル（タイムドメイン OCT）を病変部よりも遠位部に進め、病変の近位部で冠動脈閉塞用バルーンを拡張、血流を遮断し、先端より乳酸リンゲル液を 0.5mL/秒でフラッシュし、血球を除去して観察を行った。OCT の解析は 1mm 間隔のスライス毎に行った。ストラットは新生内膜に覆われていなければ uncovered strut（内膜非被覆ストラット）、内膜で覆われていれば covered strut（内膜被覆ストラット）と定義した。新生内膜厚はストラットの中心から被覆された内膜の辺縁までの距離と定義した。血管壁からステントストラットまでの距離を測定し、malapposed strut（圧着不良ストラット）を同定した。血栓は血管内に突出する mass で、辺縁が不整で、後方に減衰を伴うものを血栓と定義した。

遺伝子解析及びクロピドグレル反応性試験

追跡冠動脈造影検査時に採血を行い、PCR 法により機能低下遺伝子多型である CYP2C19*2 及び、CYP2C19*3 を特定した。2 つの対立遺伝子のうち、その組み合わせにより 3 群に分類した。CYP2C19*2 も CYP2C19*3 も持たない正常な機能をもつ CYP2C19*1/*1 を extensive metabolizer（EM）と定義した。また 2 つの対立遺伝子のうち、1 つの遺伝子において機能低下遺伝子多型を持つもの（CYP2C19*1/*2 または *1/*3）を intermediate metabolizer（IM）と定義した。両方の対立遺伝子において機能低下遺伝子多型を認めるもの（CYP2C19*2/*2 または *3/*3 または *2/*3）を poor metabolizer（PM）と定義した。また、それぞれの群のクロピドグレル反応性を VerifyNow assay にて評価した。VerifyNow は簡易の adenosine diphosphate（ADP）凝集検査であり、クロピドグレル活性物による P2Y₁₂ 受容体占有率を P2Y₁₂ reaction unit（PRU）値として計測する。PRU 値が高いとクロピドグレルによる血小板凝集抑制効果が低いと判定する。

臨床的予後評価

PCI 後、1 年以上最大 2 年間の臨床的予後の評価を行った。評価項目として心臓死、標的病変血行再建（TLR: target lesion revascularization）、標的血管血行再建（TVR: target lesion revascularization）、ステント血栓症を観察した。

【結果】

第一世代 DES と EES との比較

第一世代 DES、EES 間で、患者背景、病変形態、治療手段においては有意差を認めなかったが、第一世代 DES は EES と比較して uncovered strut の頻度が有意に多く、更にステント内の血栓の頻度が有意に高かった。臨床的予後として、第一世代 DES は EES と比較して TLR、TVR が有意に多かった。

第一世代 DES、EES における EM、IM、PM 間での比較

第一世代 DES 群、EES 群共に、患者背景、病変形態、治療手段、ステント内血栓以外の OCT 所見において EM、IM、PM 間で差を認めなかった。第一世代 DES 群、EES 群共に PRU は EM と比較して IM、IM と比較して PM は有意に高かった。第一世代 DES ではステント内血栓が EM、IM と比較して PM において高頻度に認められた。しかし、EES では 3 群間で段階的な増加傾向はあるものの有意差は認めなかった。ステント内血栓に対する単変量解析により、第一世代 DES 群、EES 群共に PRU が危険因子であることが示された。ROC 曲線によるステント内血栓の PRU のカットオフ値を求めたところ、第一世代 DES 群では 234、EES 群では 256 であった。多変量解析の結果、第一世代 DES 群では PM はステント内血栓の独立した危険因子であることが示されたが、EES 群では PM はステント内血栓の危険因子として残らなかった。

臨床的予後では、第一世代 DES、EES 共にステント内で血栓を認めた群はステント内血栓を認めなかった群と比較して、有意に TLR が高かった。多変量解析の結果、第一世代 DES、EES 共に、ステント内血栓が TLR に対する独立した危険因子であることが示された。

遺伝子多型の患者における血栓形成のリスクを部分的に克服している可能性が示された。

【考察】

本研究において CYP2C19 遺伝子多型ごとに検討すると、第一世代 DES、EES の両群同様に EM、IM に比し PM 群でクロピドグレルの効果は減弱していた。第一世代 DES では EM、IM、PM 間でステント内血栓が有意に増加しているが、一方、EES では段階的な増加の傾向はあるものの有意な増加は認められなかった。さらに、多変量解析を行ったところ、第一世代 DES 群では、PM はステント内血栓の独立した危険因子であったが、EES 群では PM はステント内血栓の危険因子として残らなかった。また、第一世代 DES、EES 共にステント内に血栓を認める症例では TLR の発生が高い結果であった。

EES は第一世代 DES と比較して、ストラットが薄く、生体適合性の高い抗血栓性のポリマーを有しており、より速い、均一なステント留置後の血管の治癒をもたらすことが報告されており、実際、本研究においても EES は第一世代 DES と比較して、uncovered strut が有意に少なく、良好な内膜被覆を認めていた。したがって、EES は第一世代 DES と比較してクロピドグレルの効果が減弱している生体環境下においても血栓形成を防いでいる可能性が考えられた。

一方、有意差はないものの、EES 群においても血栓の頻度は EM、IM、PM 間で段階的に増加する傾向があり、単変量解析においても、PRU は血栓形成の危険因子であった。この結果から、より高い血小板凝集抑制作用を有するプラスグレルやチカグレルなどの薬剤はクロピドグレル抵抗性の問題を解決しうる薬剤で、ステント留置後の臨床成績を改善させる可能性があると考えられた。

【結論】

第一世代 DES 留置後、CYP2C19 遺伝子多型は慢性期のステント内血栓に関連しているが、EES 留置後ではこの関連は明らかではなかった。EES はクロピドグレル内服中の CYP2C19

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2472 号	氏 名	小西 明英
論文題目 Title of Dissertation	<p>Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism on intra-stent thrombi and lesion outcome after everolimus-eluting stent implantation compared to that after first-generation drug-eluting stent implantation</p> <p>エベロリムス溶出性ステント留置後慢性期のステント内血栓形成と病変予後に対する Cytochrome P450 2C19 遺伝子多型の影響についての検討 (第一世代薬剤溶出性ステントとの比較)</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 西村 善博 Chief Examiner</p> <p>副 査 栗 健 Vice-examiner</p> <p>副 査 平井みどり Vice-examiner</p>		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

抗血小板薬であるアスピリン、クロピドグレルの 2 剤併用療法は薬剤溶出性ステント (DES: drug-eluting stent) 留置後のステント内血栓症予防のための確立した治療法である。クロピドグレルはプロドラッグであり、肝臓で代謝されその活性代謝産物が血小板に作用する。チトクローム P450 (cytochrome P450: CYP) 2C19 はその代謝酵素として重要であるが、CYP2C19 には酵素活性を規定する遺伝子多型が知られている。CYP2C19*1 は wild type、CYP2C19*2、*3 が機能低下遺伝子多型 (reduced function polymorphism) とされる。第一世代 DES 留置患者において、*2、*3 遺伝子多型はステント内血栓症の危険因子となり、血小板凝集抑制が不十分であると予後が悪化すると考えられてきた。一方、第 2 世代 DES であるエベロリムス溶出性ステント (EES: everolimus-eluting stent) はストラットが薄く、生体適合性の高い抗血栓性のポリマーを有し、第一世代 DES と比較して留置後より早期に、均一なステント留置部位の血管治癒をもたらし、ステント内血栓形成の少ないことが報告されている。また、EES は第一世代 DES と比較して再狭窄率が低いとされる。EES については CYP 2C19 の遺伝子多型がステント内血栓と臨床的予後に関連があるか不明であり、本研究からは EES における CYP 2C19 遺伝子多型の影響について検討した。

2008 年から 2011 年に神戸大学医学部附属病院で第一世代 DES または EES を用いて経皮的冠動脈形成術 (PCI: percutaneous coronary intervention) を行った 685 人の内、252 人に対して、PCI の 8-10 カ月後に光干渉断層法 (OCT: optical coherence tomography) による治療部位の評価を行った。これら 252 人の対象者の内 OCT 検査時にクロピドグレルを継続内服しており、研究に同意の得られた 196 人について検討した。

OCT の解析は 1mm 間隔のスライス毎に行い、ストラットが新生内膜に覆われていなければ uncovered strut (内膜非被覆ストラット)、内膜で覆われていれば covered strut (内膜被覆ストラット) と定義した。新生内膜厚はストラットの中心から被覆された内膜の辺縁までの距離とした。血管壁からステントストラットまでの距離を測定し、malapposed strut (圧着不良ストラット) を同定した。血栓は血管内に突出する mass で、辺縁が不整で、後方に減衰を伴うものを血栓と定義した。

追跡冠動脈造影検査時に採血を行い、PCR 法により機能低下遺伝子多型である CYP2C19*2 及び、CYP2C19*3 を特定した。2 つの対立遺伝子のうち、その組み合わせにより 3 群に分類した。CYP2C19*2 も CYP2C19*3 も持たない正常な機能をもつ CYP2C19*1/*1 を extensive metabolizer (EM)、2 つの対立遺伝子の内、1 つの遺伝子において機能低下遺伝子多型を持つもの (CYP2C19*1/*2 または *1/*3) を intermediate metabolizer (IM)、両方の対立遺伝子において機能低下遺伝子多型を認めるもの (CYP2C19*2/*2 または *3/*3 または *2/*3) を poor metabolizer (PM) と定義した。それぞれの群のクロピドグレル反応性を VerifyNow assay にて評価した。VerifyNow は簡易の

ADP 凝集検査であり、クロピドグレル活性物による P2Y₁₂ 受容体占有率を P2Y₁₂ reaction unit (PRU)値として計測し、PRU 値が高いとクロピドグレルによる血小板凝集抑制効果が低いと判定した。

PCI 後、1 年以上最大 2 年間の臨床的予後の評価を行った。評価項目として心臓死、標的病変血行再建 (TLR: target lesion revascularization)、標的血管血行再建 (TVR: target vessel revascularization)、ステント内血栓症を観察した。

第一世代 DES、EES 間で、患者背景、病変形態、治療手段においては有意差を認めなかったが、第一世代 DES は EES と比較して uncovered strut の頻度が有意に多く、ステント内血栓の頻度が有意に高かった。臨床的予後として、第一世代 DES は EES と比較して TLR、TVR が有意に多かった。

第一世代 DES 群、EES 群共に PRU は EM と比較して IM、IM と比較して PM は有意に高かった。第一世代 DES ではステント内血栓が EM、IM と比較して PM において高頻度に認められた。しかし、EES では 3 群間で段階的な増加傾向はあるものの有意差は認められなかった。ステント内血栓に対する単変量解析により、第一世代 DES 群、EES 群共に PRU が危険因子であることが示された。ROC 曲線によるステント内血栓の PRU のカットオフ値は、第一世代 DES 群では 234、EES 群では 256 であった。多変量解析では、第一世代 DES 群では PM はステント内血栓の独立した危険因子であることが示されたが、EES 群では PM はステント内血栓の危険因子として残らなかった。

臨床的予後では、第一世代 DES、EES 共にステント内血栓を認めた群は認めなかった群と比較して、有意に TLR が高かった。多変量解析の結果、第一世代 DES、EES 共に、ステント内血栓が TLR に対する独立した危険因子であることが示された。

EES は第一世代 DES と比較して、uncovered strut が有意に少なく、良好な内膜被覆を認めた。EES は第一世代 DES と比較してクロピドグレルの効果が減弱している生体環境下においても血栓形成を防いでいる可能性が考えられた。しかし、有意差はないものの、EES 群においても血栓の頻度は EM、IM、PM 間で段階的に増加する傾向があり、単変量解析においても、PRU は血栓形成の危険因子であった。

本研究は、第 2 世代薬剤溶出性ステントが、従来問題となっていた CYP2C19 遺伝子多型によるステント内血栓症のリスクを克服したことを証明したものであり、ステント治療後の抗血小板薬使用方法の標準化に向けて価値ある知見を得た重要な成果であると認める。よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。