



Impaired Cholesterol-Uptake Capacity of HDL Might Promote Target-Lesion Revascularization by Inducing Neoatherosclerosis after Stent Implantation

Nagano, Yuichiro

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7550号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007550>

※ 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。



学位論文の内容要旨

Impaired Cholesterol-Uptake Capacity of HDL Might Promote Target-Lesion Revascularization by Inducing Neoatherosclerosis after Stent Implantation

HDL のコレステロール取り込み能の低下がステント内における新規動脈硬化性病変の発生と標的病変再血行再建に及ぼす影響

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

永野 雄一郎

【背景と目的】

ステントを用いた経皮的冠動脈形成術（PCI）はバルーンによる PCI に比べ、再狭窄の発生率を著しく減少させた。しかし、依然としてステント再狭窄やそれに伴う標的病変再血行再建（TLR）を必要とする症例が残存している。近年、ステント内に生じる新規動脈硬化性病変（neoatherosclerosis: NA）がステント再狭窄の一因として報告されている。我々は低密度リポ蛋白コレステロール（LDL-C）と高感度 CRP（hs CRP）が NA 発症のリスク因子となることを報告しており、積極的脂質低下療法が冠動脈疾患の二次予防として重要であると考えている。

一方で、高密度リポ蛋白（HDL）は動脈壁から余分なコレステロールを除去して肝臓に運搬するコレステロール逆転走作用により、抗動脈硬化作用を有することが知られている。近年、この HDL 機能の低下が心血管イベントの発生と関連することが報告されている。しかし、従来の HDL の機能評価法は培養細胞の使用や放射性同位元素での標識が必要で、日常臨床での評価は困難であった。そのような背景の中我々は、従来の評価法よりも簡便に HDL 機能を評価することが出来る、コレステロール取り込み能（Cholesterol-uptake capacity: CUC）の測定法を開発し、これまでの報告同様、HDL 機能の低下が冠動脈疾患のリスク因子となることを報告した。

今回我々は、CUC を用いて評価した HDL 機能が、ステント内の NA 発生や、ステント再狭窄、TLR に与える影響について検討した。

【方法】

対象

本研究は金属または薬剤溶出性ステントを用いた PCI を施行された患者のうち半年以上後に、光干渉断層撮影 (OCT) によりステント内評価を行った患者群を対象とした、後ろ向き観察研究である。除外基準は (1) うっ血性心不全の状態にある症例; (2) 血清クレアチニン $> 2.0\text{mg/dl}$ である症例; (3) 冠動脈主幹部にステントを留置している症例; (4) OCT の画質が不鮮明で十分な解析対象とならない症例、とした。2011 年 4 月から 2017 年 1 月の期間で 207 症例・207 冠動脈病変が対象となった。

OCT を施行した際に NA の同定と CUC の測定による HDL の機能的評価を行い、その後の臨床的追跡調査にて TLR の有無について観察した。PCI から OCT を施行するまでの期間は中央値で 24.5 ヶ月、PCI から臨床的追跡調査を行った期間は中央値で 42.3 ヶ月であった。

CUC による HDL 機能の評価

HDL 機能を評価するため、蛍光標識したコレステロールを HDL と一緒に培養して HDL に取り込ませ、HDL の主要リポ蛋白であるアポ A-I に対する抗体で HDL を捕捉させた。それらの蛍光強度を測定することで、HDL にどの程度コレステロールが取り込まれたかを測定し、単位血清での HDL 機能の数値として CUC を測定した。

OCT 検査とその解析項目

OCT 検査は C7・C8 機種 (Dragonfly; St Jude Medical, St. Paul, MN) を用いて 20mm/sec で画像を自動取得した。その後、臨床情報を盲検化した状態で、以下の評価項目について OCT 画像解析を行った。

定量解析項目: 最小内腔面積および最小ステント面積の計測、定性解析項目: NA (ステント内にマクロファージの集積と脂質性プラークを呈する、新規動脈硬化性病変) の同定。さらに、NA の部分は 0.2mm 間隔で追加解析を行い、脂質性プラークの全長と平均分布角度の積算により Lipid index を算出した。また、マクロファージの集積の分布角度により 0 から 4 の 5 段階に集積の程度を分類し、その合算値として Macrophage grade を算出した。これらを用いて NA の進展度合いを定量的に評価した。

TLR の判定

ステント留置部の再血行再建の適応においては (1) 血管造影上でステント内に 90%以上の高度狭窄を有する症例; (2) 胸部症状を有し、その原因と考えら

れるステント内狭窄を有する症例; (3) 負荷検査により虚血判定が陽性となり、ステント内狭窄がその主因と考えられる症例と定義した。

【結果】

患者背景と NA の関連性

登録された 207 症例中、37 症例で NA が認められた (NA+群)。NA+群では NA を認めなかった群 (NA-群) に比べ、PCI から OCT を行うまでの期間が有意に長かった。また NA+群では、OCT を行った際の LDL-C や hs CRP の値が有意に高かった。一方 CUC の値は、NA+群は NA-群と比して有意に低値であった (NA+: 18.4 ± 4.30 A.U. vs. NA-: 24.4 ± 6.26 A.U.; $P < 0.001$)。

OCT 所見と NA の関連性

OCT で評価した最小内腔面積および最小ステント面積は、2 群間で有意な差を認めなかった。しかし、NA+群では NA-群に比して有意に多くマクロファージが蓄積していた。

NA のリスク因子

NA 発生の潜在的なリスク因子を明らかにする為、単変量および多変量回帰分析を行った。単変量解析により、PCI から OCT までの期間、LDL-C および hs CRP と NA の発生には正の相関があり、CUC と NA の発生には負の相関があることが明らかになった。さらに、多変量解析では LDL-C と hs CRP が高値であること、CUC が低値であることが NA 発生の独立したリスク因子であることが示された。ROC 曲線を用いて NA 発生に寄与する CUC のカットオフ値を求めたところ、 20.89 A.U. となり、感度は 81.1%、特異度は 70.0%であった (AUC: 0.784, 95% CI: 0.710 - 0.859)。

CUC、NA および TLR の関係性

フォローアップ期間中 (中央値 42.3 ヶ月) 27 症例で TLR を要した。TLR を要した群は TLR を要さなかった群 ($n = 180$ 症例) と比較して、有意に低い CUC 値を示した (TLR+: 19.8 ± 4.34 vs. TLR-: 23.9 ± 6.47 A.U.; $P < 0.001$)。TLR のリスク因子を明らかにする為に多変量解析を行なったところ、金属ステントの使用と CUC が低値であることが TLR の独立したリスク因子であった。また OCT 所見では NA が TLR の独立したリスク因子であることが示された。さらに NA が同定された 37 症例に関して検討したところ、CUC と Lipid index、Macrophage grade の間には各々有意な負の相関が認められた。

【考察】

本研究はステント留置後患者における HDL の機能とステント内新規動脈硬化性病変の関係を示した初めての研究である。加えて、CUC と TLR の関係についても検討し、ステント留置後患者における HDL の機能と長期の臨床転帰の関連についても初めて検討している。本研究の主な結果は以下の通りである。(1) これまでの研究で NA のリスク因子として報告された LDL-C および hs CRP に加えて、新たに CUC が低値であることが NA の独立したリスク因子として示された (OR: 0.799; $P < 0.001$)。 (2) CUC は NA における脂質プラークの進展やマクロファージの集積と有意な負の相関があった。 (3) CUC が低値であることが TLR の独立したリスク因子であった。 (4) これまでの報告と同様に、本研究でも NA が TLR の独立したリスク因子として示された。

冠動脈の動脈壁に LDL-C が蓄積すると LDL-C が酸化され、単球からマクロファージへの分化が誘導される。また、マクロファージは LDL-C を取り込み、アテローム性動脈硬化症の初期段階に特徴的な所見である泡沫細胞へと変化し、動脈硬化の進展に関与していく。HDL はコレステロール逆転走作用により、マクロファージから過剰な LDL-C を取り除き、これらの過程に拮抗しているが、HDL の機能が低下するとこれらの抗動脈硬化作用が低下し、動脈硬化の進展につながると報告されている。本研究では CUC が NA の独立したリスク因子として示された。このことから我々は、NA の進展においても同様の機序が関係していると考えている。また、CUC の値と Lipid index や Macrophage grade に各々負の相関があり、HDL 機能の低下が NA の進展に関与していることから、我々の考えを支持する結果が得られたものと考えている。さらに CUC は TLR の独立したリスク因子として示されており、これらの結果から HDL 機能の低下が、NA の発生を通じて、TLR のリスク因子となる、という可能性が示唆された。

CUC 測定法の開発により従来法よりも簡便かつ短時間で HDL の機能的評価を行うことが可能となった。CUC を用いて HDL の機能的評価をすることで NA の発生、ひいては将来の TLR に対するリスク評価が可能となり、ハイリスク患者に対する早期からの積極的な二次予防につながる可能性がある。観察研究である本研究から得られたこれらの知見をもとに、根本的な機序解明や治療的介入の有効性に関する更なる研究が行われることが期待される。

【結語】

CUC により評価される HDL のコレステロール逆転走能の低下が PCI 後の患者において、ステント内新規動脈硬化性病変の発生を介してステント内狭窄を引き起こす可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2895号	氏 名	永野 雄一郎
論文題目 Title of Dissertation	<p>Impaired Cholesterol-Uptake Capacity of HDL Might Promote Target-Lesion Revascularization by Inducing Neoatherosclerosis after Stent Implantation</p> <p>HDL のコレステロール取り込み能の低下がステント内における新規動脈硬化性病変の発生と標的病変再血行再建に及ぼす影響</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 河野 誠司 Chief Examiner</p> <p>副 査 小川 渉 Vice-examiner</p> <p>副 査 見玉 裕三 Vice-examiner</p>		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

【目的と背景】ステントを用いた経皮的冠動脈形成術 (PCI) には依然としてステント再狭窄やそれに伴う標的病変再血行再建 (TLR) を必要とする症例が残存している。近年、ステント内に生じる新規動脈硬化性病変 (neoatherosclerosis: NA) がステント再狭窄の一因として報告されている。本研究では従来よりも簡便に高密度リポ蛋白 HDL 機能を評価することが出来る、コレステロール取り込み能 (Cholesterol-uptake capacity: CUC) の測定法を開発し、CUC を用いて評価した HDL 機能が、ステント内の NA 発生や、ステント再狭窄、TLR に与える影響について検討した。

【対象と方法】金属または薬剤溶出性ステントを用いた PCI を施行された患者のうち半年以上後に、光干渉断層撮影 (OCT) によりステント内評価を行った患者群を対象とした後ろ向き観察研究を行った。(1) うっ血性心不全；(2) 血清 Cr > 2.0mg/dl；(3) 冠動脈主幹部にステントを留置；(4) OCT の画質が不鮮明、の例を除外基準とした。2011 年から 2017 年の期間で 207 症例・207 冠動脈病変が対象となった。OCT の際に NA の同定と CUC の測定による HDL の機能的評価を行い、その後の追跡調査にて TLR の有無について観察した。PCI から OCT を施行するまでの期間は中央値で 24.5 ヶ月、PCI から臨床的追跡調査を行った期間は中央値で 42.3 ヶ月であった。OCT 検査では、定量解析項目：最小内腔面積および最小ステント面積、定性解析項目：NA の同定。さらに、NA の部分は 0.2mm 間隔で追加解析を行い、脂質性プラークの全長と平均分布角度の積算により Lipid index を算出した。また、マクロファージの集積の分布角度により 5 段階に集積の程度を分類し、その合算値として Macrophage grade を算出した。これらを用いて NA の進展度合いを定量的に評価した。TLR の判定には (1) 血管造影上でステント内に 90% 以上の高度狭窄を有する症例；(2) 胸部症状があり原因と考えられるステント内狭窄を有する症例；(3) 負荷検査により虚血判定が陽性でステント内狭窄がその主因と考えられる症例、と定義した。

【結果】登録された 207 症例中、37 症例で NA が認められた (NA+群)。NA+群では NA を認めなかった群 (NA-群) に比べ、PCI から OCT を行うまでの期間が有意に長かった。また NA+群では、OCT を行った際の LDL-C や hs CRP の値が有意に高かった。一方 CUC の値は、NA+群は NA-群と比して有意に低値であった。OCT で評価した最小内腔面積および最小ステント面積は、2 群間で有意な差を認めなかったが、NA+群では NA-群に比して有意に多くマクロファージが蓄積していた。単変量解析により、PCI から OCT までの期間、LDL-C および hs CRP と NA の発生には正の相関があり、CUC と NA の発生には負の相関があった。多変量解析では LDL-C と hs CRP の高値、CUC の低値が NA 発生の独立したリスク因子であった。ROC 曲線を用いると NA 発生に寄与する CUC のカットオフ値は、20.89 A.U. となり、感度は 81.1%、特異度は 70.0% であった。フォローアップ期間中 (中央値 42.3 ヶ月) 27 症例で TLR を要した。TLR を要した群は TLR を要さなかった群 (n = 180 症例) と比較して、有意に低い CUC 値を示した (TLR+: 19.8 ± 4.34 vs. TLR-: 23.9 ± 6.47 A.U.; P < 0.001)。金属ステントの使用と CUC が低値であることが TLR の独立したリスク因子であった。また OCT 所見では NA が TLR の独立したリスク因子であった。さらに NA の 37 症例に関しては、CUC と Lipid index、Macrophage grade の間には各々有意な負の相関が認められた。

【考察】

本研究はステント留置後患者における HDL の機能とステント内新規動脈硬化性病変の関係を示した初めての研究である。加えて、CUC と TLR の関係についても検討し、ステント留置後患者における HDL の機能と長期の臨床転帰の関連についても初めて検討している。

HDL はコレステロール逆転送作用により、マクロファージから過剰な LDL-C を取り除くが、HDL の機能が低下すると抗動脈硬化作用が低下し、動脈硬化の進展につながる。本研究では CUC が NA の独立したリスク因子として示され、NA の進展においても同様の機序が関係していると考えられる。また、CUC の値と Lipid index や Macrophage grade に各々負の相関があり、HDL 機能の低下が NA の進展に関与していることを支持する結果である。さらに CUC は TLR の独立したリスク因子として示されており、HDL 機能の低下が NA の発生を通じて TLR のリスク因子となる、という可能性が示唆された。

CUC 測定法の開発により従来法よりも簡便かつ短時間で HDL の機能的評価を行うことが可能となった。CUC を用いて HDL の機能的評価をすることで NA の発生、ひいては将来の TLR に対するリスク評価が可能となり、ハイリスク患者に対する早期からの積極的な二次予防につながる可能性がある。

【結語】

CUC により評価される HDL のコレステロール逆転送能の低下が、PCI 後の患者においてステント内新規動脈硬化性病変の発生を介してステント内狭窄を引き起こす可能性が示唆されたことは重要な知見である。よって、本研究は、博士（医学）の授与にふさわしいと判断する。