

主論文の要旨

Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor reduces intimal hyperplasia in rabbit autologous jugular vein graft under poor distal runoff

poor distal runoff 条件下でDPP-4阻害薬はウサギ自家移植静脈グラフトにおいて内膜肥厚を抑制する

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 血管外科学分野

(指導：古森 公浩 教授)

小山 明男

【緒言】

静脈グラフトバイパスは冠動脈や末梢血管の動脈硬化性閉塞疾患の患者に行われる。しかしながら、下肢では5年で30~40%・冠動脈では10年で50%以上に内膜肥厚による晩期閉塞が認められる。自家静脈グラフトは動脈環境下に適応するため、主に血管平滑筋とエラスチン・コラーゲンなどのような細胞外マトリックスからなる新生内膜形成を伴う壁肥厚が形成される。コラーゲンの沈着によりグラフト壁のstiffnessが増加したり、静脈グラフトの内腔の最終口径の重要な要因となる。しかしながら静脈グラフトにおいて、弾性変化とマトリックスの組成とグラフトの大きさとの関連性はいまだ明らかではない。新しい2型糖尿病治療薬であるDPP-4阻害薬はGLP-1濃度を上昇させ、膵臓にてインシュリン分泌の増加・グルカゴン分泌の抑制を行い血糖降下作用をもたらす。また血糖降下作用だけでなく抗動脈硬化作用（抗炎症作用）も報告されている。しかしながら、静脈グラフトに対するDPP-4阻害薬の内膜肥厚抑制効果については明らかにされていない。今回静脈グラフト内膜肥厚に対するDPP-4阻害薬Vildagliptinの効果を検討した。

【方法】

ウサギ(日本白色種・オス・2.5~3.0kg)をVildagliptin投与群と非投与群（Control群）の2群に分けた。Vildagliptin群はVildagliptinを飲水投与（10mg/kg/day）で、手術1週間前からグラフト採取まで投与した。手術は右外頸静脈を約2.0cm採取し、reversed graftにして右総頸動脈に端々吻合にてバイパスを行った。右内頸動脈および右外頸動脈三分枝のうち二分枝を結紮し、内膜肥厚が著明となるpoor run offモデルを作成して実験を行った。一晩絶食としバイパス術後28日目の空腹時に採血を行った。血糖・総コレステロール・中性脂肪・遊離脂肪酸は酵素法で測定した。HDL・LDLは直接法で測定した。インシュリン・GLP-1はELIZAキットで測定した。バイパス術後28日目の凍結切片にて内膜肥厚の評価（EVG染色）、内膜/中膜内のコラーゲン占有率の評価（Masson Trichrome染色）、免疫染色（MMP-2,MMP-9,TIMP-2）を行った。収縮弛緩反応は4週間目のグラフト標本の中央部（約1mm）をリング標本としてKrebs液を満たしたオーガンチャンバーにセットした。アセチルコリン（ACh）による濃度依存性弛緩反応を検討するため、PGF_{2α}で前収縮させた後、AChを投与した(一部の標本では内皮を除去した)。また内皮由来のNOを検討するためL-NNA存在下でも同様に実験を行った。内皮細胞内Ca²⁺濃度測定は4週間目のグラフト標本を37℃に保温したFura 2-AM(5μmol/L)入りKrebs液に4時間インキュベートした後、ACh3μMを90秒投与し6個の内皮細胞のF340/F380比を平均値で測定した。

【結果】

生化学検査で、血糖・HbA1c・インシュリン・脂質系では両群に差がなかったが、Vildagliptin群でGLP-1の上昇を認めた（Table 1.）。バイパス術後28日目のグラフトのEVG染色では両群間で中膜に有意差はなかったが、Vildagliptin群で内膜肥厚は有意に

抑制されていた。またグラフトの内腔はVildagliptin群で有意に拡張していた (Fig 1.)。AChによる内皮依存性弛緩弛緩反応を確認するとControl群に比べ、Vildagliptin群でAChにて有意に弛緩したが内皮除去標本では弛緩せず、Vildagliptinで内皮依存性の弛緩反応を認めた (Fig 2.A)。Vildagliptin群の内皮ありの標本でL-NNA存在下では弛緩が抑制され、内皮由来のNOによる弛緩反応と考えられた (Fig 2.B)。内皮細胞内Ca²⁺濃度を測定するとBaseのCa²⁺濃度はかわらず、また弛緩反応を認めたACh3μM投与下でもCa²⁺の上昇は認めず、Ca²⁺非依存性のNO産生が考えられた (Fig 3.)。Masson Trichrome染色では内膜と中膜でのコラーゲンの占有率はVildagliptin群で有意に低値であった (Fig 4.)。免疫染色ではTIMP-2・MMP-9では主に内皮細胞に散在性にみられたが、両群で有意差はなかった。一方、MMP-2は新生内膜で散在性にみられたがVildagliptin群で少なく、蛍光免疫染色での光度でもVildagliptin群で有意に低値であった (Fig 5.)。

【考察】

DPP-4阻害薬Vildagliptinの長期投与にて血糖・HbA1c・インシュリン濃度は変化せず、血漿中のGLP-1の濃度が上昇した。また、Vildagliptinを投与することでMMP-2の発現を抑制した。そして一番重要なことはVildagliptin投与にて静脈グラフトで内膜肥厚が抑制されたことである。これらの結果よりVildagliptinにて静脈グラフト血管壁のリモデリングが抑制することが示唆された。

Vildagliptinの長期投与した静脈グラフトで、AChにて内皮細胞でのCa²⁺濃度が変化しなかったにもかかわらず、AChにて内皮由来のNOによる弛緩反応を認めた。これらの結果はAChによる内皮由来のNOの放出が、内皮細胞でのCa²⁺濃度上昇と非依存的に行われていることを示している。

Vildagliptin群にて静脈グラフトでコラーゲンと同様に、MMP-2の発現が抑制されていた。NOの相対的な不足が内膜肥厚を増大させたりコラーゲンの産生が増加し、結果として静脈グラフトを硬化させるとされている。Vildagliptinの長期投与にて内皮由来のNOを増加するとともにMMP-2やコラーゲンの発現が抑制され、血管平滑筋の弛緩を促進させると考えられた。

【結語】

DPP-4阻害薬Vildagliptinの長期投与は自家静脈グラフトの内皮由来のNOを増加させ、またMMP-2・コラーゲンの発現を抑制することで、内膜肥厚を抑制するだけでなく血管の硬化を抑制する。これらの結果よりVildagliptinの静脈グラフトへの血管保護作用が示唆された。