

心臓移植後冠動脈病変の病理と予防

鈴木 淳一 磯部 光章

要 旨：心臓移植後の血管病変 (GAD) は、病態が不明かつ有効な予防法がない。GADの内膜肥厚において、未分化な平滑筋様細胞がびまん性に増殖していることが明らかとなった。実験的に細胞周期遺伝子や炎症に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを移植心に導入することにより、GADの進展を予防することが可能となった。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003, 43: 127-129)

Key words: Cardiac transplantation, Coronary artery, Gene therapy, Cell cycle, Inflammation

I. はじめに

心臓移植は現在までに全世界で約 6 万例が実施され、現在でも年間約3,000例のペースで推移している。すなわち、心臓移植は末期心臓病患者に対する治療として重要な選択肢の一つであるが、予後については未だ十分に満足のものとはなっていない。急性拒絶に対する優れた免疫抑制剤の登場で、1 年生存率は80%を超えているのに対し、慢性拒絶である心臓移植後の血管病変 (Graft arterial disease, GAD) に対しては、その病態が十分に解明されていないため、有効な治療法がなく、心臓移植を受けた患者の長期予後改善に対する障壁となっている¹⁾。

II. GADの病態

GADは、冠動脈内に内膜肥厚がびまん性に認められるのが病理学的特徴であり、時に血管炎の所見が認められることから、GADの進展には炎症が関与している²⁾。GADの内膜肥厚において平滑筋細胞が増殖するが、その過程で細胞の形質が変換していることを、われわれはラットおよびニホンザル心臓移植モデルを用いて明らかにした。間葉系細胞の未分化な形質を示すSMembが、拒絶の進展により動脈肥厚内膜に強く発現しており、免疫電子顕微鏡の観察から、これらは未分化な分泌型平滑筋細胞であることが分かった³⁾。最近、清水や佐田らは、このGADを形成する細胞の多くがレシピエント由来であることを明らかにした^{4,5)}。

III. GADの予防

GADの病理学的特徴よりPTCA、ステント、CABGなどの治療はよい適応とはいえず、実施された症例はいずれも特殊であるといえる⁶⁾。根本的な治療は、現在でも再移植しかないが、心不全が発症してから再移植のできる症例は極めてまれである。したがって、GADにおいては治療より予防が重要である。カルシウム拮抗剤が内膜肥厚の進行予防に有効であるとの報告があるが⁷⁾、実際には同剤が投与されていても、GADは多くの症例で進展する。急性拒絶で用いられている免疫抑制剤でのGAD進展予防効果は、ほとんど認められない⁸⁾が、タクロリムスには効果があるという報告もあり^{9,10)}、明確な結論は出ていない。

実験的には、接着分子の発現を抗体等で中和することにより、特異的にGADの進展を抑制する試みがなされており、効果が認められたという報告も散見されている^{11,12)}。われわれはマウスの心移植モデルを用い、接着分子であるICAM-1とLFA-1に対する抗体を、レシピエントに投与すると冠動脈内膜肥厚が抑制されることを報告した¹³⁾。しかし、臨床で用いられるには中和抗体を全身投与する治療は副作用の点などから問題がある。GADで認められる内膜肥厚の主な病態は、炎症反応による未分化な細胞の異常増殖であるため、この炎症反応または細胞増殖を抑えることが慢性拒絶の本質的な予防になる。より現実的な予防法を確立するため、われわれは、移植心に細胞周期調節遺伝子の効果を抑制する一本鎖DNA (アンチセンスオリゴヌクレオ

チドを導入すると、血管平滑筋細胞の増殖が著明に抑制され、動脈硬化の進展抑制に有効であると仮定して実験を開始した。

まず、GADの進展における細胞周期調節遺伝子の役割を明らかにするために、マウス心臓移植モデルを用いて病理学的かつ分子生物学的に解析した。細胞周期調節遺伝子の一つである cdk2 kinase が移植心の冠動脈に強く発現しており、その進展にcdk2が重要な役割を演じていることが分かった。そのため、cdk2 kinase に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを、HVJ-liposome法により、移植時にex vivoで導入したところ、血管の内膜肥厚が有意に抑制され、細胞周期調節因子の制御が治療上有用であることが明らかとなった¹⁴⁾。さらに、別の細胞周期調節遺伝子である PCNA¹⁵⁾や cdc2 kinase¹⁶⁾に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを同様に導入したところ、血管の内膜肥厚が有意に抑制され、細胞周期調節因子の制御が治療上有用であることが明らかとなった。さらに、細胞死を調節する調節遺伝子である Bcl-xとBaxの発現が移植心の冠動脈では変化しており、その進展に細胞死が重要な役割を演じていることが分かった。そのため、Bcl-xに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入したところ、細胞死の誘導と血管内膜肥厚が有意に抑制され、細胞死のコントロールが治療上有用であることが明らかとなった¹⁷⁾。さらに2本鎖おとり遺伝子(decoy)を用いて、細胞周期遺伝子¹⁸⁾ないし炎症¹⁹⁾を抑制しても、GAD進展抑制に有効であることが明らかとなった。

IV. まとめ

GADは心臓移植を受けた患者の長期予後を左右する重大な要因である。その病態と治療には不明の点が多いが、遺伝子導入を含む新しい治療法の開発により改善される可能性がある。

文 献

- 1) Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, et al: The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Eighteenth official report-2001. J Heart Lung Transplant, 2001, **20**: 805-815.
- 2) Hosenpud JD, Shipley GD, Wagner CR: Cardiac allograft vasculopathy, Current concepts, recent developments, and future directions. J Heart Lung Transplant, 1992, **11**: 9-23.
- 3) Suzuki J, Isobe M, Aikawa M, et al: Nonmuscle and smooth muscle myosin heavy chain expression in rejected cardiac allografts -A study in rat and monkey models-. Circulation, 1996, **94**: 1118-1124.
- 4) Shimizu K, Sugiyama S, Aikawa M, et al: Host bone-marrow cells are a source of donor intimal smooth-muscle-like cells in murine aortic transplant arteriopathy. Nat Med, 2001, **7**: 738-741.
- 5) Sata M, Saiura A, Kunisato A, et al: Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. Nat Med, 2002, **8**: 403-409.
- 6) Copeland JG, Butman SM, Sethi G: Successful coronary artery bypass grafting for high risk left main coronary artery atherosclerosis after cardiac transplantation. Ann Thorac Surg, 1990, **49**: 106-110.
- 7) Pollak R, Fabrega AJ: Diltiazem in the prevention of coronary artery disease in heart-transplant recipients. New Engl J Med, 1993, **328**: 1851-1852.
- 8) Juretsky BF, Murali S, Reddy PS, et al: Development of coronary artery disease in cardiac transplanted patients receiving immunosuppressive therapy with cyclosporine and prednisolone. Circulation, 1987, **76**: 827-834.
- 9) Arai S, Teramoto S, Senoo Y: The impact of FK506 on graft coronary disease of rat cardiac allograft-A comparison with cyclosporine. J Heart Lung Transplant, 1992, **11**: 757-762.
- 10) Morris RE, Huang X, Gregory CR, et al: Studies in experimental models of chronic rejection, Use of rapamycin (sirolimus) and isoxazole derivatives (leflunomide and its analogues) for the suppression of graft vascular disease and obliterative bronchitis. Transplant Proc, 1995, **27**: 2068-2069.
- 11) Sadahiro M, McDonald TO, Allen MD: Reduction in cellular and vascular rejection by blocking leukocyte adhesion molecule receptors. Am J Pathol, 1993, **142**: 675-683.
- 12) Molossi S, Elices M, Arrhenius T, et al: Blockade of very late antigen-4 integrin binding to fibronectin with connecting segment-1 peptide reduces accelerated coronary arteriopathy in rabbit cardiac allografts. J Clin Invest, 1995, **95**: 2601-2610.
- 13) Suzuki J, Isobe M, Yamazaki S, et al: Inhibition of accelerated coronary atherosclerosis with short-term blockade of intercellular adhesion molecule-1 and lymphocyte function-associated antigen-1 in a heterotopic murine model of heart transplantation. J Heart Lung Transplant, 1997, **16**: 1141-1148.
- 14) Suzuki J, Isobe M, Morishita R, et al: Prevention of graft

- coronary arteriosclerosis by antisense cdk2 kinase oligonucleotide. *Nat Med*, 1997, **3**: 900-903.
- 15 〃Suzuki J, Isobe M, Morishita R, et al: Prevention of cardiac allograft arteriosclerosis using antisense proliferating-cell nuclear antigen oligonucleotide. *Transplantation*, 2000, **70**: 398-400.
- 16 〃Miniati DN, Hoyt EG, Feeley BT, et al: Ex vivo antisense oligonucleotides to proliferating cell nuclear antigen and Cdc2 kinase inhibit graft coronary artery disease. *Circulation*, 2000, **102** (19 Suppl 3) : 237-242.
- 17 〃Suzuki J, Isobe M, Morishita R, et al: Antisense bcl-x oligonucleotide induces apoptosis and prevents arterial neointimal formation in murine cardiac allografts. *Cardiovasc Res*, 2000, **45**: 783-787.
- 18 〃Kawauchi M, Suzuki J, Morishita R, et al: Gene therapy for attenuating cardiac allograft arteriopathy using ex vivo E2F decoy transfection by HVJ-AVE-liposome method in mice and nonhuman primates. *Circ Res*, 2000, **87**: 1063-1068.
- 19 〃Suzuki J, Morishita R, Amano J, et al: Decoy against nuclear factor-kappa B attenuates myocardial cell infiltration and arterial neointimal formation in murine cardiac allografts. *Gene Therapy*, 2000, **7**: 1847-1852.

Prevention of Graft Arterial Disease by Antisense Oligodeoxynucleotide

Jun-ichi Suzuki and Mitsuaki Isobe

Department of Cardiovascular Medicine, Tokyo Medical and Dental University

Key words: Cardiac transplantation, Coronary artery, Gene therapy, Cell cycle, Inflammation

Graft arterial disease (GAD), which limits the long-term survival of allograft recipients, is characterized by diffuse intimal thickening comprised of proliferative smooth muscle cells expressing SMemb. To test the effect of antisense oligodeoxynucleotide (ODN) on the inhibition of arterial neointimal formation, we performed in-vivo gene transfer of ODN into murine and primate cardiac allografts. Antisense cdk2 kinase ODN treatment had dramatically inhibited neointimal formation in the allografts. Antisense PCNA ODN, decoy against E2F, and decoy against NF-kB also had the same effect in preventing GAD development. Intraluminal administration of antisense ODN directed to specific cell-cycle regulatory genes or inflammatory factors is effective treatment for preventing GAD.

(*J. Jpn. Coll. Angiol.*, 2003, **43**: 127-129)