

肝細胞増殖因子よりみたLipoPGE1の効果

緑川 博文¹ 佐藤 晃一² 小川 智弘³ 星野 俊一³

要 旨：肝細胞増殖因子(HGF)による下肢血行再建術に対するLipoPGE1の効果を検討した。下肢血行再建術を施行した40例を対象とし、LipoPGE1投与群20例および非投与群20例に分類した。LipoPGE1投与群は非投与群に比し術後速やかにHGF濃度の低下が認められ、LipoPGE1投与は、なんらかの機序を介して、下肢血行再建術後のHGF濃度の速やかな低下に関与していることが示唆された。(J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 837-841)

Key words: hepatocyte growth factor, peripheral arterial bypass surgery, intimal hyperplasia, lipoprostaglandin E1

はじめに

prostaglandin E1(PGE1)は、血中内皮細胞数の減少、血小板粘着抑制、内皮細胞寿命の延長などの細胞保護効果¹⁾、末梢循環改善作用²⁾、さらに下肢血行再建術後投与は、何らかの機序を通じて細胞増殖刺激を緩和することにより、内皮細胞再生や内膜肥厚抑制に寄与する可能性がある³⁾など、下肢閉塞性動脈硬化症(peripheral arterial disease: PAD)に対し有効な薬剤であると広く認識されている。

しかし、PGE1は1回の肺循環でその大部分が失活してしまう⁴⁾ことから、動脈内投与が行われたが、手技的に困難なこと、繰り返しの投与により動脈壁が傷害されること、また患者の苦痛など問題も多かった。そのため静脈内投与も試みられたが、大量投与が必要のため、注入局所での静脈炎や過量投与による血圧低下などの全身的副作用が問題となっている⁵⁾。

LipoPGE1はこれらの欠点を改良すべく新しく考案されたPGE1製剤である⁶⁾。この薬剤はdrug carrierとしての粒子径約0.2μmのlipid microsphereを用い、PGE1をその中に含有させることによって、lipidの保護で肺での不活化を防ぎ、かつ薬剤を末梢血管傷害部位に選択的に

集中させ、健常部血管の拡張により健常部へのsteal効果も減少させようと考えられている。さらに薬剤の安定化による効果の持続などから、従来のPGE1製剤に比べて、はるかに少量で十分な効果が得られると報告されている⁷⁻¹⁰⁾。

しかし、本薬剤が実際臨床上で内膜肥厚発生を抑制しうるかを証明することは困難である。そこで今回、閉塞性動脈硬化症患者では肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor: HGF)¹¹⁾が血管傷害に起因して増加しているとの報告¹²⁾をもとに、内膜傷害の修復に強く関与するとされるHGFを測定することで、下肢血行再建術における内皮傷害修復にLipoPGE1がどのように関与しているかを検討したので報告する。

対象と方法

当センターにてPADに対処待機血行再建術を施行した40例を対象とした。これらを、十分なインフォームド Consentのもと、封筒法にてLipoPGE1投与群(P+群)20例および非投与群(P-群)20例に分類した。両群間において、年齢・性別・Fontaine分類・術前ankle brachial pressure index(ABPI)・病歴期間・危険因子に有意差は認められなかった(Table 1)。

術前抗血小板剤は原則術1週前に中止し、術後は経口摂取可能な段階で塩酸チクロピジン200mg/日を投与

¹総合南東北病院心臓血管外科

²須賀川病院心臓血管外科

³福島第一病院心臓血管病センター

2006年6月5日受付 2006年11月15日受理

Table 1 Patients characteristics

	P+ group (N = 20)	P- group (N = 20)	
Age (y)	70.8 ± 6.1	68.8 ± 8.4	NS
Men/Women	18/2	18/2	NS
Fontaine classification			
II	11 (55%)	15 (75%)	NS
III	6 (30)	3 (15)	NS
IV	3 (15)	2 (10)	NS
Pre. ABPI	0.42 ± 0.22	0.54 ± 0.18	NS
Contraction period (m)	18.9 ± 19.9	17.7 ± 14.6	NS
Risk factor			
Hypertension	17 (85%)	15 (75%)	NS
DM	5 (25)	9 (45)	NS
Smoking	14 (70)	16 (80)	NS
HL	2 (10)	5 (25)	NS
Obesity	4 (20)	2 (10)	NS

ABPI: ankle brachial pressure index, DM: diabetes mellitus, HL: hyperlipidemia

NS: not significant

した。ワーファリンは腋窩 - 大腿動脈バイパス術のみに追加投与した。ヘパリンは術中投与のみとし、LipoPGE1は術直後より10 μ g/日を連日2週間投与した。HGF測定は、血清1mlを-30°Cにて保存し、HGF「オオツカ」ELISAキットを使用し、ELISA法を用い(正常値0.39ng/ml以下)、術前日、術後2日、7日、1カ月に測定した。

数値は平均値 ± 標準偏差で表示し、統計学的処理はStudent's *t*-test、 χ^2 独立性検定で行い、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

結 果

(1) 初期および遠隔成績 (Table 2)

両群間の手術術式・初期開存率・術後ABPIに統計学的有意差は認められなかった。両群とも皮膚表層の創感染を1例ずつ認めた。遠隔成績では、両群間では観察期間に統計学的差異は認められなかった。P-群に2例グラフト閉塞を認めたが、遠隔開存において統計学的有意差は認められなかった。

(2) HGF変化 (Fig. 1)

P+群では、術前0.25 ± 0.08 (ng/ml)、術後2日0.41 ± 0.12、術後7日0.26 ± 0.06、術後30日0.22 ± 0.06と、術前値に比し術後2日のみ統計学的有意($p < 0.001$)に

上昇した。P-群は、術前0.23 ± 0.04、術後2日0.40 ± 0.15、術後7日0.33 ± 0.10、術後30日0.31 ± 0.06と、術前値に比し術後2、7、30日で統計学的有意($p < 0.001$)に上昇した。両群間の比較では術後7日($p < 0.05$)、術後30日($p < 0.01$)においてP-群において統計学的有意に高値であった。

考 察

下肢血行再建術後における吻合部内膜肥厚は、その成績を最も左右する重要な問題である。吻合部内膜肥厚の要因は、手術に伴う組織損傷、グラフト血栓付着、内膜形成不全、吻合部の血流変化、グラフトと宿主動脈間の機械的不適合などがある¹³⁻¹⁶が、その本体は中膜平滑筋細胞の能動的増殖であると報告¹⁵されている。しかし、多くの研究がなされてきたが、いまだ吻合部内膜肥厚の要因および対策は解決していないのが現状である。

LipoPGE1は、本邦において開発され、PADの症状改善や、血行再建術後の成績向上を目的に広く臨床使用されてきた⁶⁻¹⁰。しかし、実際臨床では、どのように作用して血行再建術成績向上に寄与するかは明確に証明されてはいない。そこで今回、内膜傷害の修復に強く関与するとされるHGF^{11,12}を測定することで、下肢血行再建術後内膜修復に対しLipoPGE1がどのように

Table 2 Initial and long-term results

	P+ group (N = 20)	P- group (N = 20)	
Initial			
Procedures			
Ao-F bypass	5 (25%)	6 (30%)	NS
Ax-F	2 (10)	2 (10)	NS
F-F	5 (25)	6 (30)	NS
F-P	8 (40)	6 (30)	NS
Patency rate	100%	100%	NS
Post. ABPI	0.83 ± 0.22	0.95 ± 0.20	NS
Complication	Wound infection 1 (5%)	Wound infection 1 (5%)	NS
Long-term			
Follow-up periods (m)	22.8 ± 9.4	22.3 ± 10.5	NS
Occlusion	—	2 (10%)	NS

Ao-F: aorto-femoral, Ax-F: axillo-femoral, F-F: femoro-femoral, F-P: femoro-popliteal, ABPI: ankle brachial pressure index, NS: not significant

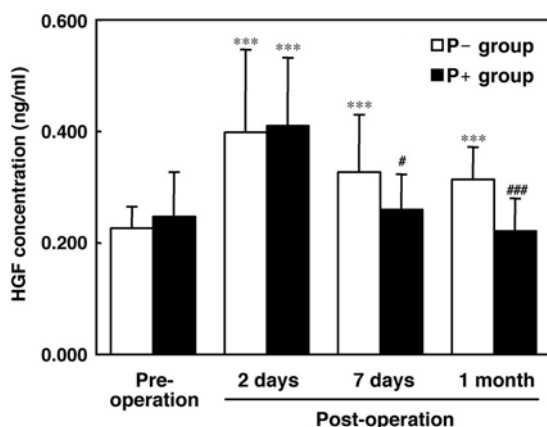


Figure 1 Changes of HGF level between P+ group and P- group.
*** : p < 0.001 vs Pre-operation, #: p < 0.05, ### : p < 0.001 vs P- group

影響しているかを検討した。

HGFは、1984年、中村によって肝再生を促進に行っているラットの血清中より発見され¹¹⁾、近年basic fibroblast growth factor (bFGF)やvascular endothelial growth factor (VEGF)などの血管新生作用および内皮細胞再生作用より強力であることが解明されてきた¹⁷⁾。西村ら¹⁸⁾は、細動脈硬化や冠動脈硬化の存在時に、HGF産生促進物質が傷害部位において産生され、傷害局所におけるHGF産生を促し、産生されたHGFが局所においてパラクライン的に作用すると報告している。さらに、循

環血液中に放出されたHGF産生促進物質が肝臓、腎臓、肺、脾臓などに働いてHGF産生を増やし、循環血液中に増加したHGFが傷害部位に内分泌的に作用すると報告しており、HGFが内膜傷害の修復に積極的に関与している可能性が示唆される。

本検討では、両群とも術後2日にHGF濃度は上昇し、術後7日、1カ月と低下が認められた。この機序としては、PADでは、下肢動脈が乱流性の低いlow shear stressによって内皮細胞機能障害を生じるためと思われる。したがって、傷害局所で産生されたHGFが循環血液中に放出され術後高値を示し、shear stressの改善によって内皮細胞の遊走・増殖の刺激で内膜修復・再生が促進され、HGF濃度が低下したものと考えられた¹⁹⁾。つまり、LipoPGE1投与群の非投与群に比較した術後速やかなHGF濃度の低下は、LipoPGE1投与群では内膜修復が速やかに行われた可能性が示唆された。内皮細胞が完全に修復した後は、異常血流条件を付加しても内膜肥厚は起こらないとの報告¹⁵⁾もあり、血行再建術成績向上には速やかな内膜修復は重要な要素であり、LipoPGE1の有効性を証明しうるものと考えられた。

しかし、本検討のようなHGF濃度の検討が内膜修復に本当に相関するのか、また実際臨床でのHGFがどこで産生誘導され、傷害局所に作用するのかなど不明な点が多いのも事実である。また、LipoPGE1が内膜修復に直接的に影響しているのか、レオロジーの改善や抗血小板作用などを介した間接的作用なのかは不明で

あること、また術後2週間の投与のみで遠隔成績向上に本当に寄与しうるかなどの問題も多く、今後基礎的研究に加え、遠隔成績を検討していく必要があると考えられた。

一方、本研究の結果から、血管新生作用を同様に有するbFGFやVEGFに比し、HGFは安価で容易に測定しうることから、臨床予知が困難な内膜修復・再生、また損傷再発などを予測しうる因子としても有用である可能性が示唆された。

おわりに

下肢血行再建術前後におけるLipoPGE1投与の有無におけるHGF濃度変化を検討した。LipoPGE1投与群は、非投与群に比し術後速やかにHGF濃度の低下が認められた。LipoPGE1投与は、なんらかの機序を介して、下肢血行再建術後のHGF濃度の速やかな低下に関与していることが示唆された。

文 献

- 1) Sinzinger H, O'Grady J, Fische P et al: Comparable effect of prostaglandin E1 in decreasing *in vivo* platelet deposition on human lesion sites after intravenous and intraarterial application. *Thromb Res*, 1988, 50: 749-755.
- 2) Scheffler P, de la Hamette D, Leipnitz G: Therapeutic efficacy of intravenously applied prostaglandin E1. *Vasa Suppl*, 1989, 28: 19-25.
- 3) 久保良彦, 笹嶋唯博, 稲葉雅史 他: 下肢血行再建術における静脈グラフトの遠隔成績とPGE1. *現代医療*, 1995, 27: 2025-2032.
- 4) Robertson RP: Differential *in vivo* pulmonary degradation of prostaglandin E1, B1 and A1. *Am J Physiol*, 1975, 228: 68-70.
- 5) 杉田 進, 辻 高明, 森福研一 他: 慢性動脈閉塞症に対するLipo PGE1ショット静注療法の検討. *基礎と臨床*, 1986, 20: 3329-3332.
- 6) Mizushima Y, Yanagawa A, Hoshi K: Prostaglandin E1 is more effective, when incorporated in lipid microspheres, for treatment of peripheral vascular diseases in man. *J Pharm Pharmacol*, 1983, 35: 666-667.
- 7) 地野之浩, 皆川俊哉: パルクス注 - 血管奏効部位集積性に関する最近の研究. *Bioclinica*, 2001, 16: 533-536.
- 8) Chino Y, Minagawa T, Khouno Y et al: Uptake by vascular smooth muscle cells plays an important role in targeting of lipid microspheres incorporating prostaglandin E1 into a thickened intima. *Life Sci*, 2001, 68: 933-942.
- 9) 大河内真之, 上田和毅, 梶川明義 他: リボプロスタグランジンE1の血管吻合部における集積についての実験的検討. *日形会誌*, 2004, 24: 634-640.
- 10) 武田 惇, 山本政勝: 慢性動脈閉塞症に伴う動脈血行再建術後の血流改善に対するLipoPGE1の効果. *臨床と研究*, 1986, 63: 2775-2785.
- 11) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M et al: Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature*, 1989, 342: 440-443.
- 12) Morishita R, Nakayama S, Hayashi S, et al: Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy. *Hypertension*, 1999, 33: 1379-1384.
- 13) 久保良彦, 笹嶋唯博, 西岡 洋 他: 末梢動脈. *脈管学*, 1987, 27: 567-571.
- 14) 合島雄治: 動脈硬化家兎の血管吻合部の病理学的研究 - 特に内膜の治癒過程について -. *脈管学*, 1989, 29: 295-304.
- 15) 岡留健一郎, 福田篤志, 杉町圭蔵: 血流波形解析よりみた下肢動脈血行再建術の遠隔成績と問題点 - 移植片内膜肥厚の検討 -. *脈管学*, 1989, 29: 1159-1163.
- 16) 星野俊一, 緑川博文: 血管吻合部内膜過形成の病態とその抑制. *Bioclinica*, 1996, 11: 51-53.
- 17) Morishita R, Nakamura S, Hayashi S et al: Contribution of a vascular modulator, hepatocyte growth factor (HGF), to the pathogenesis of cardiovascular disease. *J Atheroscler Thromb*, 1998, 4: 128-134.
- 18) 西村真人, 聲山正二, 南部 昭 他: 血管内皮修飾因子と動脈硬化症 - 血管病変の血清生化学的診断マーカーとしての肝細胞増殖因子(HGF) -. *臨床病理*, 1998, 46: 671-677.
- 19) 緑川博文, 小川智弘, 佐藤晃一 他: 下肢血行再建術前後における肝細胞増殖因子の検討. *脈管学*, 2003, 43: 767-770.

The Effects of Lipoprostagrandin E1 (LipoPGE1) Examined by Hepatocyte Growth Factor for Peripheral Arterial Bypass Surgery

Hirofumi Midorikawa,¹ Kouichi Satou,² Tomohiro Ogawa,³ and Shunichi Hoshino³

¹Cardiovascular Surgery, Southern Tohoku General Hospital, Fukushima, Japan

²Cardiovascular Surgery, Sukagawa Hospital, Fukushima, Japan

³Cardiovascular Center, Fukushima Daiichi Hospital, Fukushima, Japan

Key words: hepatocyte growth factor, peripheral arterial bypass surgery, intimal hyperplasia, lipoprostaglandin E1

We examined the effects of lipoprostagrandin E1 (LipoPGE1) by hepatocyte growth factor (HGF) for peripheral arterial bypass surgery. We compared the changes in HGF before and after surgery between 20 cases with LipoPGE1 (P+ group) and 20 cases without LipoPGE1 (P- group). After bypass surgery, the HGF level of the P+ group rapidly decreased in comparison with that of P- group. The data demonstrated that decreases in the postoperative HGF level may be related to the administration of LipoPGE1. (J Jpn Coll Angiol, 2006, **46**: 837-841)