

動脈硬化と血栓症

畠山 金太 佐藤勇一郎 山下 篤 浅田祐士郎

要 旨：急性冠症候群の多くは、冠状動脈におけるプラーク破綻と血栓形成により起こると考えられている。しかし、破綻により生じる血栓の大きさを規定する要因については完全には解明されていない。一般的に動脈における血栓の形成には、血管壁の性状変化や血流の変化が重要と考えられている。ヒトおよび動物モデルの動脈硬化巣においては、外因系血液凝固の開始因子である組織因子(TF)が過剰に発現しており、これがプラーク破綻に伴う血栓形成に重要な役割を担っている。また血液中のTF(blood-borne TF と呼ばれる)も血栓形成に関与している可能性が示されている。硬化巣の進展と血栓形成には多くの物質が関与すると考えられているが、それらの中でC-reactive protein, von-Willebrand因子, CD39について概説する。生体内での閉塞性血栓の形成においては、血管壁細胞, 血流および凝固因子が複合的に作用すると考えられ、新たな実験系における多角的な検討が必要である。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003, 43: 707-713)

Key words: Atherosclerosis, Acute coronary syndrome, Thrombosis, CRP, CD39

はじめに

臨床的に重要な血栓症の大部分は動脈硬化巣を基盤に形成される。近年、急性冠症候群(急性心筋梗塞, 不安定狭心症, 心臓性突然死)の多くは、冠状動脈粥状硬化巣の破綻(プラーク破裂あるいはびらん)により血管内腔に血栓が形成され、内腔が閉塞ないし亜閉塞をきたして発症すると考えられている。しかし冠状動脈を閉塞してしまうほどの大きな血栓の形成機序は完全には解明されていない。

血栓の形成には1)血管壁の性状変化, 2)血流の変化, 3)血液成分の変化(特にその過凝固性)が関係していると考えられている。これらの要因は互いに協同して血栓の形成に関与しているが、プラーク破綻に伴う血栓形成においては、血管壁の性状変化, 特にプラーク破綻によるプラーク内組織成分と血液との接触が最も重要と考えられる。

本稿では、ヒトの剖検例, アテレクトミーで得られた標本および動物実験における成績を中心に、動脈硬化と血栓症に関する知見を紹介する。

1. 冠状動脈硬化と血栓形成

ヒトの冠状動脈硬化巣の組織像は多様で、個人差があり、同一冠状動脈枝においても部位によって異なる。

一般的にプラークと呼ばれる病変は、斑状の盛り上がりを示し、中心に粥腫粥を含み、表面は線維性の被膜で覆われる内膜の病変のことである。プラークは、粥腫粥を多量に含むものや平滑筋細胞とコラーゲン等の細胞外マトリックスが主体のものなど、その組織像は多彩で、その成分の多寡によって、コラーゲンに富む線維性プラーク(fibrous plaque, hard plaque)(Fig. 1A)と、脂質に富むプラーク(lipid-rich plaque, soft plaque)(Fig. 1B)に大別される。後者は破裂しやすく不安定プラークとも呼ばれている。一般に動脈硬化巣は脂質に富んだ病変と受け取られているが、われわれの剖検症例の検索¹⁾では、冠状動脈狭窄度が50%以上の病変の63%がlipid-rich plaqueで、50%未満の病変ではfibrous plaqueが88%であった。Daviesら²⁾の報告でも、75%以上の狭窄を示す狭心症症例の冠状動脈においてfibrous plaqueが60%を占めており、冠状動脈硬化は一般に信

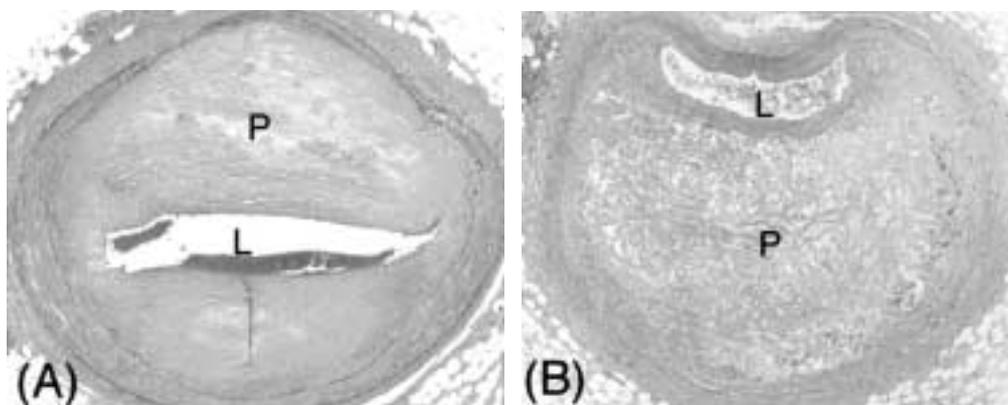


Figure 1 Histopathology of coronary atheromatous plaque. (A) Fibrous plaque. (B) Lipid-rich plaque. L and P indicate lumen and plaque, respectively.

じられているよりは、線維性のものが多いことに留意すべきである。

急性冠症候群の半数以上はプラーク破裂により発症すると考えられている^{3,4)}。プラーク破裂の原因としては、プラーク側の要因(粥腫粥の大きさと成分、線維性被膜の厚さ、被膜の平滑筋細胞数、被膜の炎症細胞浸潤の程度)と外的因子(心拍動、動脈壁への張力、スパズム)の関与が重要視されているが、不明な点が多い⁵⁾。一方、冠動脈血栓による突然死の約40%はプラーク破裂でなく、プラーク表層のびらんによると報告されている⁶⁾。日本人についての報告は少ないが、筆者らの検討では急性心筋梗塞31例中23例に新鮮血栓を認め、このうち18例(78%)でプラーク破裂(Fig. 2A)を伴い、5例(22%)でプラークびらん(Fig. 2B)を認めた。プラーク破裂がlipid-rich plaqueに高頻度に起こるのに対し、プラークびらんはプロテオグリカンに富んだfibrous plaqueに多く認められる。プラーク破裂あるいはプラークびらんのいずれにおいても、冠動脈を閉塞するようなサイズの血栓は、血小板とともに大量のフィブリンの析出を伴う血栓である(Fig. 3)。血栓におけるフィブリンの占める割合は症例により、あるいは病変の部位により異なるが、それを規定する因子は不明である。プラーク破裂部の血栓はフィブリン優位で、プラークびらん部では血小板優位であり、また右冠動脈病変は左冠動脈病変よりもフィブリン優位であることなどから、血栓形成の素地となったプラークの性状や血流が関与すると考えられる。

急性冠症候群においては、閉塞性血栓を生じなくて

も心臓の微小循環が障害されることがある。微小血栓症あるいはno-reflow現象⁷⁾として知られ正確な頻度は不明であるが、20~30%の症例で起こっていると報告されている⁷⁾。原因としてプラーク破裂、びらんあるいはPTCA後に、病変部で生じた血栓やプラーク内容物が下流の心筋内微小血管につまり、局所的な心筋虚血、不整脈、心機能不全を引き起こす病態と考えられている。原因となる硬化巣や生じる血栓の特徴は不明な点が多く、distal protection deviceで採取された組織(Fig. 4)や血液成分の詳細な検討が必要である。

2. 動脈硬化巣における組織因子の発現

フィブリンは、組織因子(TF)を“引き金”とした外因系血液凝固反応の最終産物である。TFは第VIIa因子(FVIIa)の補助因子としTF/FVIIa複合体を形成し、第X因子(FX)を活性化し凝固カスケード反応を開始させる⁸⁾。冠動脈アテレクトミー標本を用いた複数の研究^{9,10)}で、TFの発現と活性が不安定狭心症や心筋梗塞の症例で高いことが示され、TFの発現が急性冠症候群の病態に深く関与することが明らかとなってきた。筆者らの検討でも¹¹⁻¹³⁾、プラーク内のマクロファージや平滑筋細胞にTF蛋白の強い発現が認められ(Fig. 5A)、特に大きな脂質コアを有するプラークでは細胞外基質にも見られた。過剰発現したTFは、プラークの破綻を契機に、急激な凝固カスケード反応を始動させ、閉塞性あるいは亜閉塞性の血栓を形成し、急性冠症候群を発症すると考えられる。動脈硬化巣におけるTFの発現亢進機序の詳細は不明であるが、修飾LDL、PDGF、

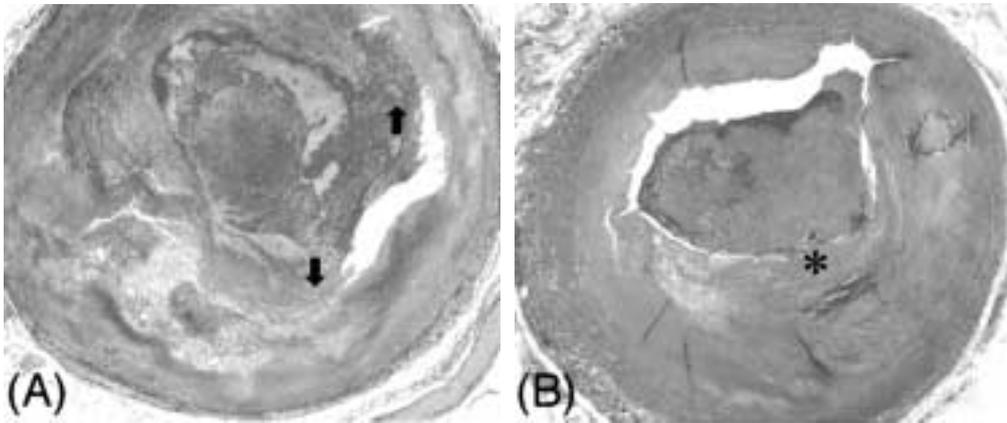


Figure 2 Plaque rupture and erosion.
(A) Plaque rupture () with thrombus formation. Mallory-Azan stain.
(B) Plaque erosion (*) with thrombus formation. Mallory-Azan stain.

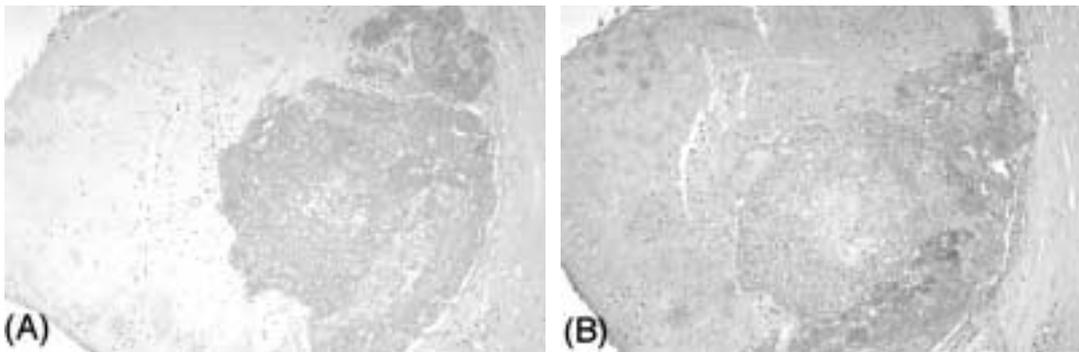


Figure 3 Immunohistochemical staining for fibrin (A) and platelet (B) in coronary thrombus. The thrombus consists of a mixture of fibrin and platelet.

TNF- α , IL-1, アンジオテンシンII, shear stress, Chlamydia pneumoniae感染¹⁴や硬化巣内に発現する炎症のメディエーターであるCD40リガンド(CD154)などにより, マクロファージや平滑筋細胞のTF発現が誘導されることが報告されている¹⁵。また, 急性冠症候群のマーカーとなる可能性が示されているC-reactive protein(CRP)は, 単球のTF産生を促進し凝固活性を70倍以上に増加させることより¹⁶), プラーク内における凝固能の亢進に関与していると考えられる(Fig. 5B)。一方, 血液にも好中球あるいは単球のmicroparticleに由来する活性型TF(blood-borne TFあるいはcircu-



Figure 4 Histopathology of a retrieved material obtained by distal protection device. Thrombus with atheromatous gruel is found.

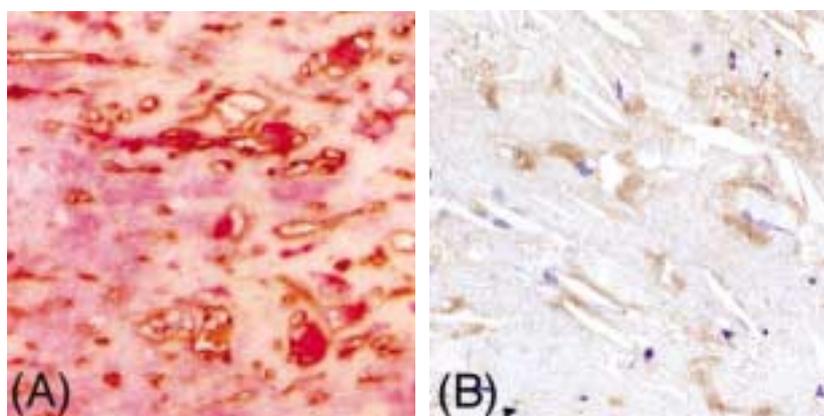


Figure 5 Immunohistochemical staining for tissue factor (A) and CRP (B) in atheromatous plaque. (A) Smooth muscle cells (brown) are positive for TF (red). Extracellular deposits of TF are also found. (B) Many macrophages are positive for CRP (brown).

lating TFと呼ばれている)が存在し、血管壁のTFは血栓形成のinitiationでcirculating TFが血栓の成長(propagation)に重要な役割を果たしていることを示唆する報告もある¹⁷⁾。

3. 冠状動脈硬化巣におけるCRP

CRPは急性相反応物質で単なる炎症のマーカーと考えられていたが、CRPの増加が不安定狭心症の予後不良の兆候であると報告¹⁸⁾されて以来、CRPについての研究が進み、近年では動脈硬化巣での炎症反応の持続に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

CRPは、肝細胞でのみ産生されると考えられていたが、最近では冠状動脈硬化巣のマクロファージや平滑筋細胞においてCRP mRNAおよびその蛋白が発現していることが明らかとなり¹⁹⁾(Fig. 6A), 補体活性化の最終段階で生じる膜侵襲複合体(membrane attack complex: MAC)の形成を伴っていることが報告された²⁰⁾(Fig. 6B)。CRPは、単球のIL-1b, IL-6, TNF- α 産生を促進し、内皮細胞に対してはICAM-1, VCAM-1発現を誘導し、MCP-1発現にも関与している²¹⁾。また、CRPのオプソニン作用により、マクロファージによるLDLの取り込みが促進されることより²²⁾、動脈硬化の発生、進展および血栓性合併症、特に急性冠症候群の発症への関与が注目されている。狭心症患者の冠状動脈アテレクトミー標本を用いた筆者らの検討²³⁾では、CRPはプラークの不安定化に関与し、さらにPTCA後の

再狭窄の予測因子となり得る可能性が示された。血管壁でのCRP発現を増加させる物質を検討するために、筆者らはウサギ大動脈バルーン傷害モデルを用いて、高コレステロール食負荷による血管壁でのCRP蛋白とmRNA発現および肝臓におけるCRP mRNA発現を検討した。高コレステロール食負荷により肥厚内膜内にCRP蛋白の陽性像を認め(Fig. 7A), これは抗酸化剤(プロブコール)投与により著明に減弱した(Fig. 7B)。また肥厚内膜でのCRP mRNA発現は非常に低いことより、硬化巣内に発現しているCRP蛋白は、主に血管壁に沈着した酸化LDLに対して血中CRPが反応性に沈着したものである可能性が大きいと考えられる。

4. 血栓形成とvon-Willebrand因子

プラーク破綻の結果生じる血栓は、すべてが閉塞性血栓へと進展するのではない。破綻血管の性状、血流、凝固線溶系などが、血栓の大きさを規定する重要な要因と考えられる。それらの中で、血管狭窄部でのhigh shear stress下におけるvon-Willebrand因子(vWF), GPIbおよびGPIIb/IIIaを介した血小板の粘着・凝集や、血管壁内に存在する血液凝固促進物質の過剰発現とプラーク破綻に伴う血液との接触が重要と思われる。現在、筆者らは生体における閉塞性血栓症のモデルを作成して、血栓形成の促進因子について検討を進めている。ここではvWFについての検討を簡単に紹介したい。

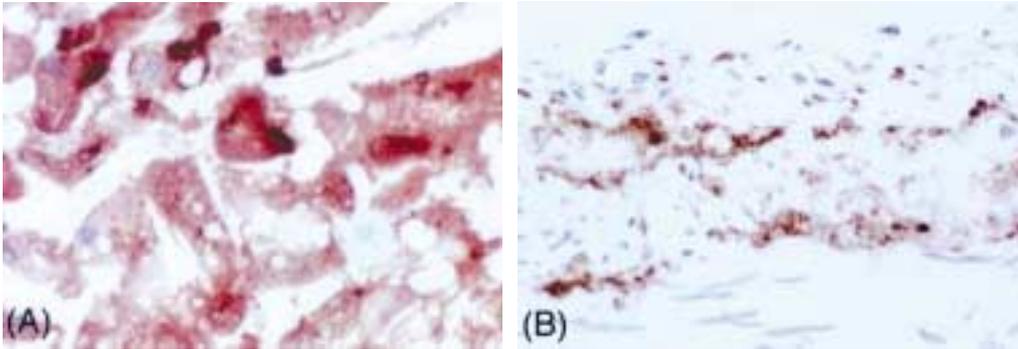


Figure 6 Immunohistochemical staining for CRP (A) and C5b-9 (B) in atheromatous plaque. (A) Many macrophages (brown) are positive for CRP (red). (B) Deposition of C5b-9 (brown) is found in a deep portion of the intima.

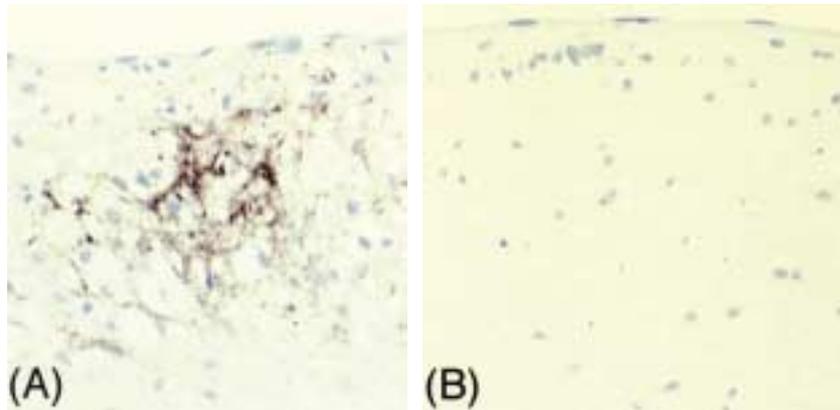


Figure 7 Immunohistochemical staining for CRP in hypercholesterolemic rabbit aorta after balloon injury. (A) CRP is found in the intima. (B) Probucol treatment prevents intimal thickening and CRP deposition.

vWFは血管内皮細胞や骨髄巨核球で産生される巨大糖蛋白質で、循環血中、血小板中や血管内皮下組織に分布し、傷害血管壁から露呈した血管内皮下組織への血小板粘着・凝集反応を促進し血小板血栓の形成に重要な役割をもつと考えられている。ウサギ腸動脈バルーン再傷害モデルによる検討²⁴⁾では、vWFは狭窄血管・高流速下においてフィブリン血栓の形成促進にも関与し、vWFに対する抗体投与により血栓形成および内膜肥厚が抑制されることを明らかにした。本モデルでは血管病変の組成や血流を調節することにより、生体内での血栓形成の検討が可能となり、抗血栓薬の薬理作用について新たな解析が進むことが期待される。最近、vWF切断酵素(vWF-cleaving protease, vWF-CP/ADAMTS 13)が同定され²⁵⁾、血栓性血小板減少性紫斑

病(thrombotic thrombocytopenic purpura)においてADAMTS 13に対する自己抗体の存在や先天的な異常が報告されている²⁶⁾。虚血性心疾患をはじめとした血栓性疾患におけるADAMTS 13酵素活性の検討が待たれる。

5. 動脈硬化、血栓形成とCD39

Ecto-ATPDase(NTPDase1)CD39(CD39⁺)⁷⁾は、血管内皮細胞上に発現し、ATP・ADPを分解する酵素で、血小板の凝集阻止や内皮細胞の活性化抑制に関与する。その発現の多寡は、血栓形成とも深く関連すると推測されるが、その生理活性作用については不明な点が多く、動脈硬化や急性冠症候群との関連性も検討されていない。筆者らは、冠状動脈硬化巣におけるCD39の発

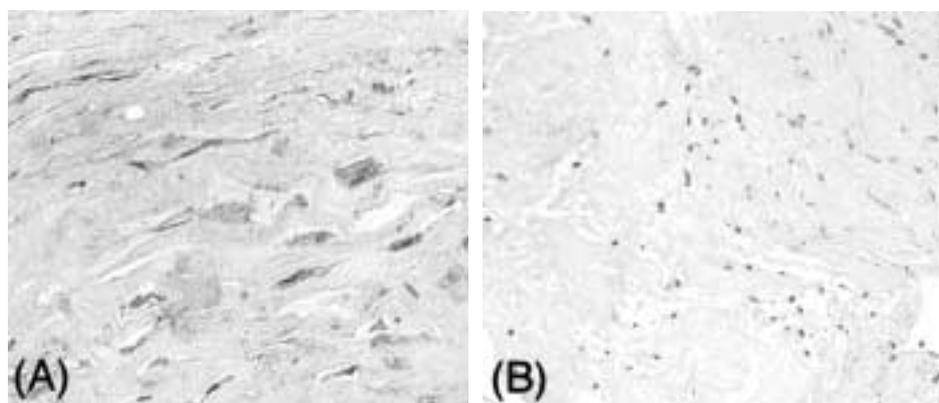


Figure 8 Immunohistochemical staining for CD39 in the directional coronary atherectomy specimen from patients with stable (A) and unstable (B) angina pectoris. Many CD39-positive cells are found in the specimen of stable angina pectoris.

現、活性およびその局在を検討した。CD39蛋白とその酵素活性は中膜・内膜の平滑筋細胞および内皮細胞に観察された。硬化巣の進行度によりあるいは同じ進行度の病変内においても、その局在と発現量に差異を認め、脂質に富むプラークでは発現の低下を認めた。また狭心症患者から採取したアテレクトミー標本において、安定狭心症患者(Fig. 8A)に比して不安定狭心症患者(Fig. 8B)ではCD39発現の低下を認めることより、CD39は急性冠症候群の発症に関与する可能性が示唆された。最近、soluble formの組換え体CD39を用いた基礎研究²⁷⁾が進んでおり、血栓症の新たな治療薬として期待されている。

おわりに

動脈硬化巣における血栓の形成機序について概説した。生体内での閉塞性血栓の形成における血管壁細胞、凝固因子および血流の関与については不明な点が多い。これらの因子が複合的に作用すると考えられ、新たな実験系における多角的な検討が必要である。

文 献

- 1) Kisanuki A, Asada Y, Sato Y et al: Coronary atherosclerosis in youths in Kyushu island, Japan: Histological findings and stenosis. *J Atheroscler Thromb*, 2000, **6**: 55-59.
- 2) Davies MJ: The pathology of Ischaemic heart disease. In *Recent Advances In Histopathology* (Anthony PP and MacSween PNM, ed.), Churchill Livingstone, Edinburgh 1987, pp185-201.

- 3) Burke AP, Farb A, Malcom GT et al: Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med*, 1997, **336**: 1276-1282.
- 4) 羽尾裕之, 由谷親夫: 冠動脈の血栓形成, 進展の病理形態学. 冠動脈の臨床. 新しい診断・治療体系. 日本臨床, 1994, **52**: 121-127.
- 5) Davies MJ: The contribution of thrombosis of the clinical expression of coronary atherosclerosis. *Thromb Res*, 1996, **82**: 1-32.
- 6) Farb A, Burke AP, Tang AL et al: Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core: A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation*, 1996, **93**: 1354-1363.
- 7) Topol EJ, Yadav JS: Recognition of importance of embolization in atherosclerotic vascular disease. *Circulation*, 2000, **101**: 570-580.
- 8) 中村 伸: 組織因子(Tissue Factor)研究の新展開. 血栓止血誌, 1993, **4**: 203-217.
- 9) Annex BH, Denning SM, Channon KM et al: Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation*, 1995, **91**: 619-622.
- 10) Ardissino D, Merlini PA, Ariens R et al: Tissue factor antigen and activity in human coronary atherosclerotic plaques. *Lancet*, 1997, **349**: 769-771.
- 11) Hatakeyama K, Asada Y, Marutsuka K et al: Localization and activity of tissue factor in human aortic atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*, 1997, **133**: 213-219.
- 12) Hatakeyama K, Asada Y, Marutsuka K et al: Expression of tissue factor in the rabbit aorta after balloon injury. *Atherosclerosis*, 1998, **139**: 265-271.

- 13 Asada Y, Hara S, Tsuneyoshi A et al: Fibrin-rich and platelet-rich thrombus formation on neointima: Recombinant tissue factor pathway inhibitor prevents fibrin formation and neointimal development following repeated balloon injury of rabbit aorta. *Thromb Haemost*, 1998, **80**: 506-511.
- 14 Bea F, Puolakkainen MH, McMillen T et al: Chlamydia pneumoniae induces tissue factor expression in mouse macrophages via activation of Egr-1 and the MEK-ERK1/2 pathway. *Circ Res*, 2003, **92**: 394-401.
- 15 Camerer E, Kolst ϕ AB, Prydz H: Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood coagulation. *Thromb Res*, 1996, **81**: 1-41.
- 16 Cermak J, Key NS, Bach RR et al: C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood*, 1993, **82**: 513-520.
- 17 Giesen PLA, Rauch U, Bohrmann B et al: Blood-borne tissue factor: Another view of thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 2311-2315.
- 18 Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR et al: The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med*, 1994, **331**: 417-424.
- 19 Yasojima K, Schwab C, McGeer EG et al: Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*, 2001, **158**: 1039-1051.
- 20 Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE et al: C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18**: 1386-1392.
- 21 Pasceri V, Chang J, Willerson JT et al: Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*, 2001, **103**: 2531-2534.
- 22 Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J et al: C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation*, 2001, **103**: 1194-1197.
- 23 Ishikawa T, Hatakeyama K, Imamura T et al: Involvement of C-reactive protein obtained by directional coronary atherectomy in plaque instability and developing restenosis in patients with stable or unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*, 2003, **91**: 287-292.
- 24 Yamashita A, Asada Y, Sugimura H et al: Contribution of von Willebrand factor to thrombus formation on neointima of rabbit stenotic iliac artery under high blood-flow velocity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23**: 1105-1110.
- 25 Furlan M, Robles R, Lamie B et al: Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood*, 1996, **87**: 4223-4234.
- 26 Levy GG, Nichols WC, Lian EC et al: Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*, 2001, **413**: 488-494.
- 27 Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JHF et al: Metabolic control of excessive extracellular nucleotide accumulation by CD39/ecto-nucleotidase-1: implications for ischemic vascular diseases. *JPET*, 2003, **305**: 9-16.

Atherosclerosis and thrombosis

Kinta Hatakeyama, Yuichiro Sato, Atsushi Yamashita, and Yujiro Asada

First Department of Pathology, Miyazaki Medical College

Key words: Atherosclerosis, Acute coronary syndrome, Thrombosis, CRP, CD39

Clinical and experimental studies have established the role of plaque disruption and acute thrombus formation in the onset of acute coronary syndromes. However, the mechanisms of thrombus propagation have yet to be fully understood. Tissue factor (TF), an initiator of the coagulation cascade, expressed in atherosclerotic plaques and in plasma (blood-borne TF) may play an important role in coronary thrombosis. Furthermore, various substances, such as C-reactive protein, von-Willebrand factor and CD39, expressed in the plaques and/or blood-flow may contribute to propagation of thrombus. A complex interplay of many factors and hemodynamic factor should be evaluated for elucidation of the pathogenesis of acute coronary syndromes. (J. Jpn. Coll. Angiol., 2003, **43**: 707-713)