

動脈硬化性血栓の成長における血流の関与

山下 篤

要 旨：急性心筋梗塞は動脈硬化巣の破綻に伴う閉塞性血栓の形成により発症するが、動脈硬化性血栓の成長機序は明らかではない。家兎大腿動脈の動脈硬化性血栓モデルを用いて、組織因子活性の増加した肥厚内膜に形成される血栓は血小板とフィブリンから成ること、その血栓の成長に血流の減少が重要であることを明らかにした。また、その過程に接着分子であるフォンウィルブランド因子が関与していることを示した。(J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 621-625)

Key words: thrombus propagation, blood flow, tissue factor, von Willebrand factor

はじめに

急性心筋梗塞をはじめとする動脈硬化性血栓症は、動脈硬化巣(プラーク)の破綻に伴う閉塞性血栓の形成により発症するとされている。しかし、プラーク破綻が必ずしも閉塞性血栓の形成に繋がるわけではなく、責任血管以外の冠状動脈に壁血栓を伴ったプラーク破綻を認めることは少なくない¹⁾。このことは、プラーク破綻は動脈硬化巣において稀な現象ではなく、その多くが臨床的にサイレントに発症している可能性を示唆しており、プラーク破綻後の血栓の成長とサイズがイベント発症を決定すると考えられる。

血栓形成に関して、血管壁の変化、血流の変化、血液成分の変化の3つが要因(Virchow's triad)とされているが、動脈硬化性血栓が成長し閉塞に至る機序は明らかではない。冠状動脈では、径数mmの内腔を閉塞する血栓が形成される。これまでの動脈血栓モデルは健常動脈における壁血栓、あるいは遺伝子改変動物の径数十 μ mの小動脈での検討がほとんどで、動脈硬化性血栓症の病態を理解することは困難であると考えられる。本稿では、家兎大腿動脈のバルーン傷害血栓モデルを用いて、動脈血栓の形成における血管壁の性状と血流に関して検討した^{2,3)}。

冠動脈血栓と家兎血栓モデル

当教室ではこれまでに、健常血管では外膜にのみ局

在する組織因子(tissue factor: TF, 血液凝固の開始因子)がプラークに局在し、動脈硬化病変の進展に伴ってその凝固活性も亢進することを報告してきた^{4,5)}。また、心筋梗塞症例の冠動脈血栓は、発症早期より血小板とフィブリンから成り、フォンウィルブランド因子(von Willebrand factor: VWF, 血小板粘着凝集の開始因子)とTFはそれぞれ血小板とフィブリンにほぼ一致して存在することを明らかにした⁶⁾。そのプラークや血栓の性状を踏まえて、ヒトの病態に類似した動脈血栓モデルの作成を試みた。TFを発現する肥厚内膜を形成する目的で、家兎の頸動脈よりバルーンカテーテルを挿入し大腿動脈を傷害した。傷害側では、肥厚内膜の形成により約50%の内腔狭窄を認めた。TFは外膜と肥厚内膜に局在し、TF活性は傷害側の血管で有意に増加していた(Fig. 1)。これらはヒトのプラークと類似した結果である⁴⁾。

血栓の成長における血管壁のTFと血流の関与

プラーク破綻後では、微小血栓や血管攣縮、プラークの急激な形状変化などにより局所血流が変化することが想定されるが、この血流の変化がどのように血栓の成長に作用するかについては詳細に検討されていない。家兎大腿動脈血栓モデルを用いて、局所血流の減少による血栓の成長を検討した。

血栓の成長は、健常動脈にバルーン傷害を行った群(single balloon injury group)と肥厚内膜にバルーン傷害

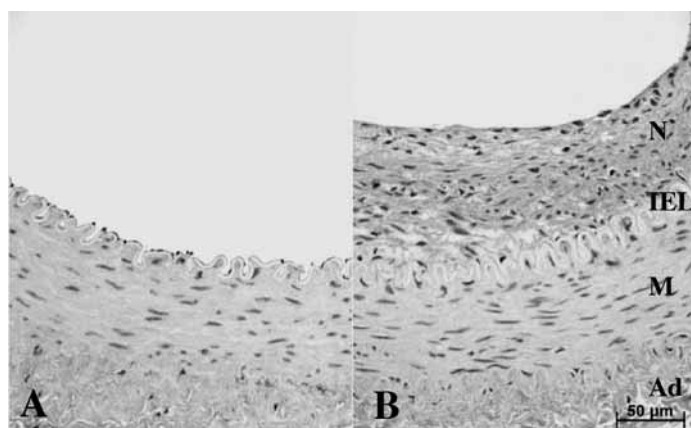


Figure 1 TF expression. Immunoreactivity for TF is positive in neointima and adventitia.
A: Normal femoral artery.
B: Injured femoral artery.
N: neointima, IEL: internal elastic lamina, M: media, Ad: adventitia
Based on reference 3.

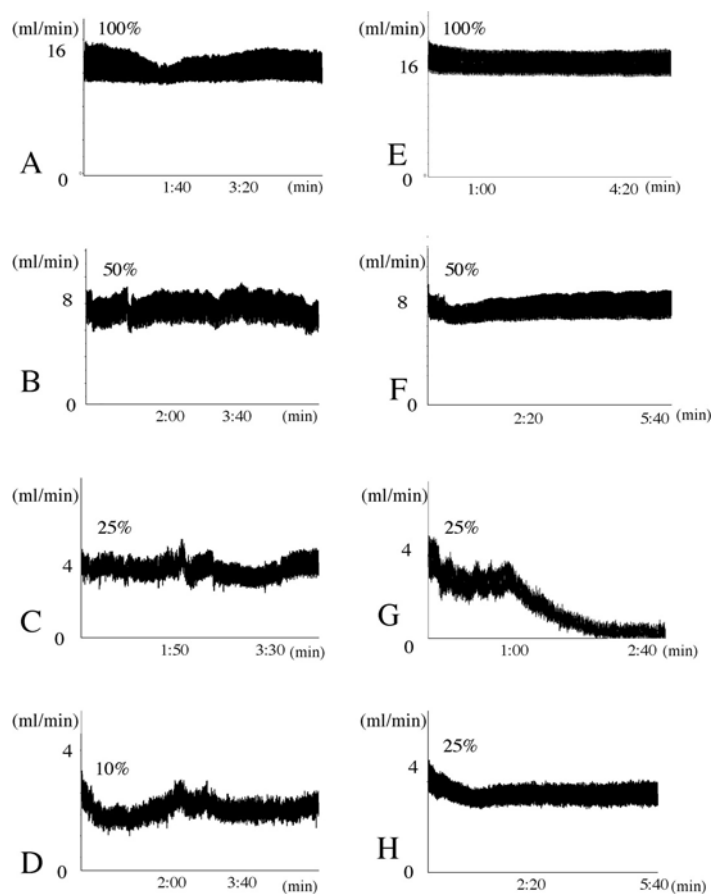


Figure 2 Representative recordings of blood flow. Blood flow in single injury group without (A) and with reduction to 50% (B), 25% (C) and 10% (D), and in repeated injury group without (E) and with reduction to 50% (F), 25% (G, H). Repeated injury with 75% blood flow reduction induced further decline in blood flow to zero (G). Bolus injection of anti-VWF antibody (AJW200) inhibited decline in blood flow (H).
Based on reference 3.

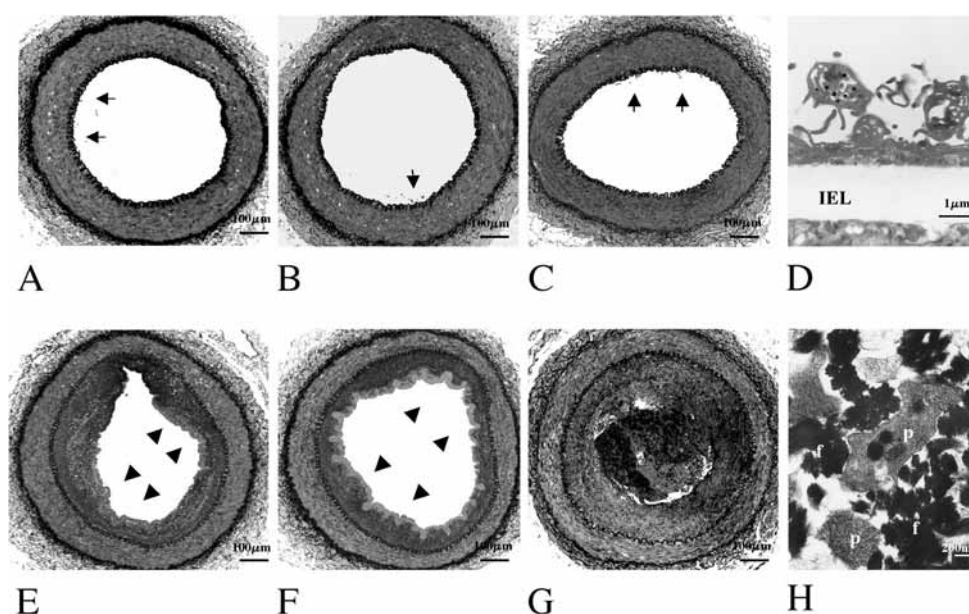
を行った群 (repeated balloon injury group) で検討した。いずれの群においても、バルーン傷害直後に末梢大腿動脈をオクルーダで狭窄することにより、血流量を傷害前の50%、25%、10%(各n=5)に減少させた。血栓

形成による血流量の変動を大腿動脈に設置した血流量計により測定した。健常動脈の血栓モデルでは、いずれの血流量減少においても血流の途絶は観察されなかった (Fig. 2A-D, Table 1)。一方、肥厚内膜の血栓モ

Table 1 Occlusive rate (%) and time to occlusion after injury of femoral artery

Femoral artery blood flow (BF)	100%	50%	25%	10%
Single balloon injury (SI) (n = 5 each)	0%	0%	0%	0%
Repeated balloon injury (RI) (n = 5 each)	0%	0%	80% [†]	100% [‡]
(time to occlusion, seconds)			(160±18)*	(71±17)
Repeated balloon injury (RI)				
+ AJW200 (1.0 mg/kg iv) (n = 5 each)	ND	ND	0%	0%

*: Data from 4 occluded vessels, ND: not done, [†]: p < 0.05 (vs SI with 25% BF, RI with 50% BF, RI + AJW200 with 25% BF), [‡]: p < 0.01 (vs SI with 10% BF, RI + AJW200 with 10% BF) Based on reference 3.

**Figure 3** Light and transmission electron micrographs of thrombi.

Small thrombi (arrows) are induced by single injury without (A) or with blood flow reduction to 50% (B) or 25% (C). Transmission electron micrograph (D) shows that thrombi consist of aggregated platelets. Fibrin-rich mural thrombi (arrow heads) arose due to repeated injury (E) and repeated injury with blood flow reduced to 50% (F). Moreover, repeated injury with blood flow reduced to 25% caused occlusive thrombus formation (G). Transmission electron micrograph (H) shows that these thrombi are composed of abundant fibrin strands (f) admixed with platelets (p).

IEL: internal elastic lamina
Based on reference 3.

デルでは、血流量25%以下の状態において、血栓の成長により血流が徐々に減少し、血流は途絶した(Fig. 2E-G, Table 1)。健常動脈に形成された血栓はいずれも血小板から成る小さな壁に血栓でフィブリンの形成は認められなかった(Fig. 3A-D)。肥厚内膜に形成された血栓は、血小板とフィブリンから成る血栓で(Fig. 3E, F, H), 血流量25%以下では閉塞性血栓に成長した(Fig.

3G)。この閉塞性血栓は血小板とフィブリンから成り、VWFとTFの存在も確認された(Fig. 4)。これらの結果から、動脈硬化性血栓の成長には血流量の減少が必要であると考えられた。また、健常動脈血栓モデルでは血流量減少においてもフィブリンが形成されなかったことより、動脈におけるフィブリンの形成には血流変化よりも肥厚内膜でのTFの発現(凝固活性の亢進)が重要

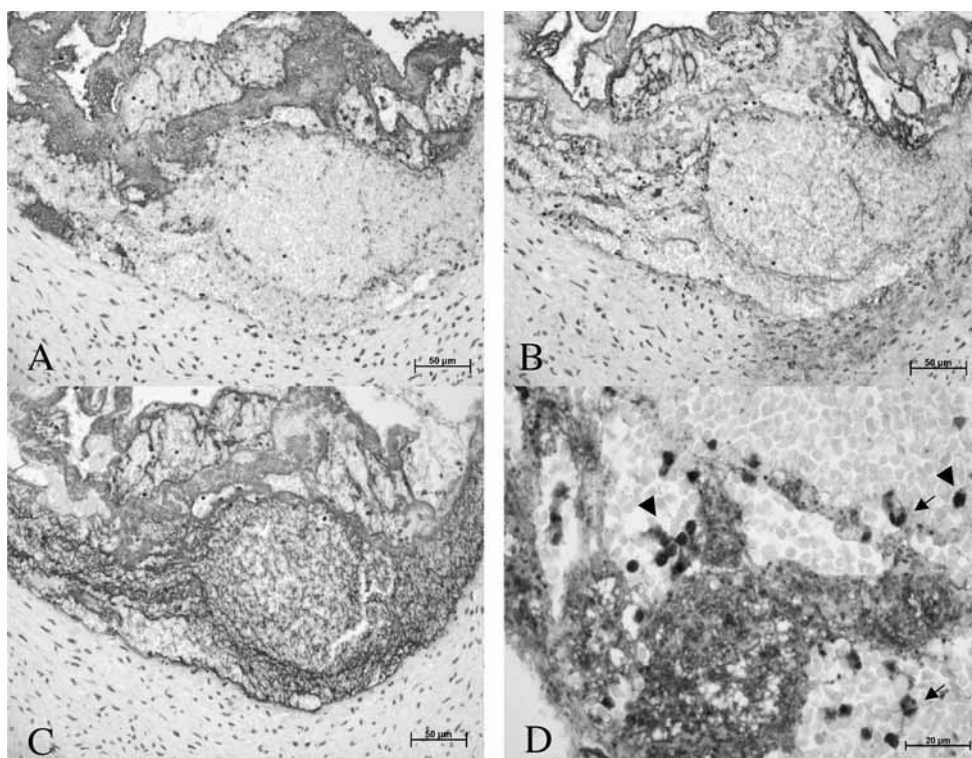


Figure 4 Immunohistochemistry of occlusive thrombus. Occlusive thrombus is immunopositive for GPIIb-IIIa (A), VWF (B), fibrin (C) and TF (D). Injured neointima is also immunopositive for VWF (B). Neutrophils (arrows) and mononuclear cells (arrow heads) in thrombus are also TF positive. The all occlusive thrombi (n = 9) showed similar immunohistochemical findings. Based on reference 3.

であることが示唆された。血栓形成におけるTFについて、最近の研究では流血中のTFの重要性が報告されている⁷⁾。本モデルにおいても血栓に介在する白血球にTFの局在を認めたことから(Fig. 4D), その関与が示唆されるが、健常動脈の血栓モデルではフィブリン形成がほとんどみられないこと、血栓も成長しないことから、肥厚内膜由来のTFがより重要であると考えられる。

血栓の成長とVWF

血栓が成長するにあたり、血小板の供給を担う血中の接着分子が必要である。その候補としてVWF、フィブリノーゲン、ファイブロンネクチン等が挙げられる。その中でVWFは血小板の接着の開始因子であり、血液凝固反応の増幅系に働く第VIII凝固因子を供給する。ヒトの冠状動脈血栓、家兔の閉塞性血栓のいずれにおいてもVWFの局在を認めたことより、血栓成長への関

与が示唆された。家兔動脈硬化性血栓モデルにおいて抗VWF抗体(AJW200, 1.0mg/kg)の投与により閉塞性血栓の形成は完全に抑制され、VWFが血栓の成長に関与していることが示唆された(Fig. 2H, Table 1)。

おわりに

家兔大腿動脈バルーン再傷害血栓モデルを用いた解析から、動脈硬化性血栓の成長には血流の減少が重要であることが考えられた。臨床的には、プラーク破綻後の微小塞栓、血管攣縮により局所血流が変化することが報告されている^{8,9)}。また、破綻やプラーク内出血に伴うプラークの形状の急激な変化や血栓自体による乱流の発生など複数の要因が考えられる。以上のことから、プラーク破綻後に血流の減少や乱流状態が加わることで、血栓は成長イベント発症に繋がる可能性が推察される。

文 献

- 1)Hong MK, Mintz GS, Lee CW et al: Comparison of coronary plaque rupture between stable angina and acute myocardial infarction: a three-vessel intravascular ultrasound study in 235 patients. *Circulation*, 2004, **110**: 928–933.
- 2)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.
- 3)Yamashita A, Furukoji E, Marutsuka K et al: Increased vascular wall thrombogenicity combined with reduced blood flow promotes occlusive thrombus formation in rabbit femoral artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**: 2420–2424.
- 4)Hatakeyama K, Asada Y, Marutsuka K et al: Localization and activity of tissue factor in human aortic atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*, 1997, **133**: 213–219.
- 5)Sato Y, Hatakeyama K, Yamashita A et al: Proportion of fibrin and platelets differs in thrombi on ruptured or eroded coronary atherosclerotic plaque in humans. *Heart*, 2005, **91**: 526–530.
- 6)Yamashita A, Sumi T, Goto S et al: Detection of von Willebrand factor and tissue factor in platelet-fibrin rich coronary thrombi in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 2006, **97**: 26–28.
- 7)Chou J, Mackman N, Merrill-Skoloff G et al: Hematopoietic cell-derived microparticle tissue factor contributes to fibrin formation during thrombus propagation. *Blood*, 2004, **104**: 3190–3197.
- 8)Kotani J, Nanto S, Mintz GS et al: Plaque gruel of atheromatous coronary lesion may contribute to the no-reflow phenomenon in patients with acute coronary syndrome. *Circulation*, 2002, **106**: 1672–1677.
- 9)Marzilli M, Sambucetti G, Fedele S et al: Coronary microcirculatory vasoconstriction during ischemia in patients with unstable angina. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **35**: 327–334.

Vascular Wall Tissue Factor and Blood Flow in Arterial Thrombus Growth

Atsushi Yamashita

Department of Pathology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan

Key words: thrombus propagation, blood flow, tissue factor, von Willebrand factor

Obstructive thrombus formation on disrupted atherosclerotic coronary artery is a critical event of acute myocardial infarction. Yet, mechanisms of thrombus propagation remain unclear. To determine the contribution of vascular wall tissue factor (TF), blood flow, and von Willebrand factor (VWF) to thrombus propagation, we used a rabbit atherothrombosis model with repeated balloon injury in femoral arteries. At three weeks of the first balloon injury in femoral artery, neointima with TF expression developed and TF activity increased. Mural thrombi, which was induced by repeated balloon injury in neointima, were composed of platelet and fibrin, and became obstructive due to more than 75% reduction in blood flow. Anti-VWF antibody prevented obstructive thrombus formation. Fibrin and occlusive thrombi were not caused on normal femoral arteries by balloon injury and blood flow reduction. These findings suggest that increased vascular wall thrombogenicity combined with reduced blood flow contribute to occlusive thrombus formation, and that fibrin formation depend on arterial wall TF rather than blood flow reduction. On the basis of our findings, VWF may affect thrombus growth.

(J Jpn Coll Angiol, 2006, **46**: 621–625)