

微小循環障害からみた虚血性脳血管障害の病態

伊藤 義彰

要 旨：主幹動脈の閉塞により虚血中心部では細動脈から微小循環に至る全レベルの血流が停止し確実に組織障害が進行するが、虚血周辺部（ペナンプラ）では「側副血行路の発達度」や「微小循環障害の程度」など複数の要因により血流低下・組織障害の範囲、重症度に大きな違いが出る。したがって微小循環の改善は治療上、最重要課題の一つといえる。また閉塞した動脈より末梢側では、微小循環障害により、閉塞血管が再開通しても組織への血流が回復しなくなる no reflow 現象がみられる。

(J Jpn Coll Angiol, 2011, **51**: 127-132)

Key words: no reflow phenomenon, penumbra, secondary thrombosis, microembolism, cerebral edema

はじめに

血流再開時の再灌流障害(no reflow 現象)や、脳梗塞周辺部(ペナンプラ)における循環障害など、脳虚血の病態において最終的な脳梗塞巣が形成されていくうえで微小循環障害は極めて重要な要素である。本稿では、まず脳の微小循環を構成する因子を説明し、次に虚血性脳血管障害における微小循環障害の種類を整理し、最後にそれぞれの微小循環障害への治療とその効果を概括する。

脳の微小循環を構成する因子

1) 三つの要素

細動脈から毛細血管を通過し細静脈に至る脳の微小循環を規定する要素は解剖学的構造に基づき、1)血管内因子(レオロジー特性、血小板を含めた血液凝固系因子、単核球・多核球)、2)血管壁因子(血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、周皮細胞、細胞外マトリックス、血管新生)、3)血管外因子(アストロサイト、ニューロン、脳圧、神経性調節)に分類できる。虚血性脳血管障害での微小循環障害では、これらの因子が相互に関与し合いながら脳血流を障害する。

2) 脳微小血管の構造

脳の毛細血管(直径 4.0~7.5 μm)は一層の血管内皮細胞とその外周を取り囲む基底膜(細胞外マトリックス ex-

tracellular matrix; ECM)からなり、そのさらに外側をアストロサイトの endfoot が取り囲んでいる(Fig. 1 左)。アストロサイトと血管内皮細胞は構造的に接しているだけではなく機能的にも連携しており、グリア血管複合体(gliovascular complex)と呼ばれる。このグリア血管複合体はニューロンを含めた一連の構造体 neurovascular unit の一部であり、「ニューロンの活動に応じた血流量の調節」、「エネルギー基質の供給」などの働きがある。

脳の毛細血管内皮細胞は他臓器の血管内皮細胞ではみられない特徴として、1)tight junction で内皮細胞同士が接着している、2)pinocytosis が少ない、3)ミトコンドリアの数が多、4)トランスポーターが発達している、5)アストロサイトの endfoot に囲まれている、などの特徴を有する。こうした解剖学的、機能的特徴を背景に血管内物質の脳への移行をコントロールする血液脳関門(blood brain barrier; BBB)が維持される。

3) グリア血管複合体(gliovascular complex)

最近、グリア血管複合体の骨格を構成し機能する一連のタンパクが明らかとなってきた(Fig. 2)¹⁾。内皮細胞同士の接着には、まず緩い結合である adherence junction があり、分子学的には主要な cadherin の一つである vascular endothelial cadherin (VE-cadherin) が骨格タンパクの α -, β -, γ -catenin, desmoplakin などとともに細胞間の接着を維持する。これに加えて platelet-endothelial cell adhe-

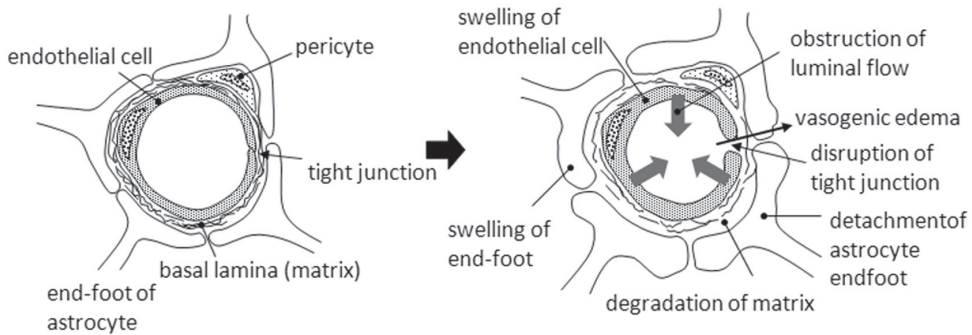


Figure 1 Structure of gliovascular complex changes dynamically from physiological condition (left) to ischemic condition (right). Swelling of endothelial cells as well as glial end-foot narrows the vascular lumen, resulting in obstruction of cerebral blood flow in brain parenchyma.

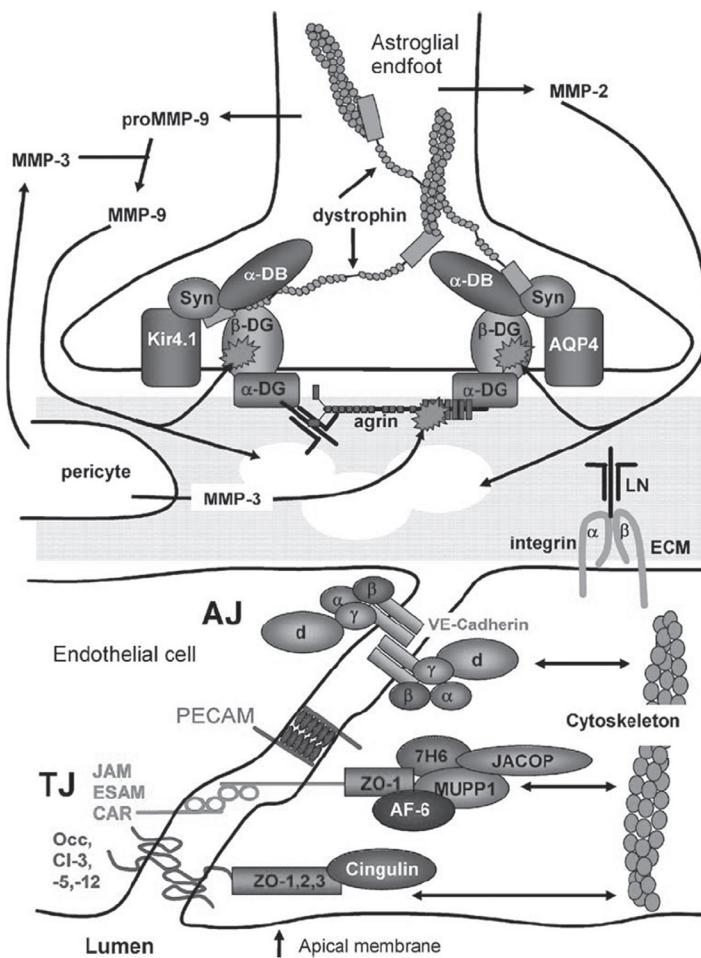


Figure 2 Molecular structure of gliovascular complex. Cerebral ischemia activates MMP-2 and -9, loosening the adhesion between endfoot and extracellular matrix. Impairment of tight junction causes vasogenic edema, in which water passes through aquaporin-4 into brain parenchyma (Wolburg et al.¹¹).

sion molecule(PECAM)が、同種親和性接着 homophilic adhesion として働く。最も強力な結合である tight junction は、occludin, 数種の claudin, および免疫グロブリンスーパーファミリーである coxsackie- and adenovirus receptor(CAR), junctional adhesion molecules(JAMs)および endothelial selective adhesion, molecule(ESAM)などから構成される。これらのタンパクを細胞骨格へとつなぎとめるリンカータンパクには、一次アダプタータンパクとしては PDZ ドメインを有する zonula occludens タンパク 1-3(ZO-1, ZO-2, ZO-3)があげられ、それに続く二次アダプタータンパクとして cingulin, junction-associated coiled-coil protein(JACOP), multi-PDZ-protein 1(MUPP1), afadin/AF6 および 7H6 があげられる。

アストロサイトの endfoot には, dystrophin, α -dystroglycan, β -dystroglycan, α -syntrophin および α -dystrobrevin からなる dystrophin-dystroglycan complex が存在し、細胞骨格を形成している。グリアの膜に存在する α -dystroglycan は、基底膜中の laminin や agrin と結合し、endfoot と基底膜との接着を強固にしている。周皮細胞およびアストロサイトから各種の matrix metalloproteinase が分泌されるが、このうち MMP-2 および MMP-9 は β -dystroglycan に、MMP-3 は agrin に作用して細胞と基質の接着性を減弱させる。

またアストロサイト endfoot の細胞膜には aquaporin-4 およびカリウムチャンネル Kir4.1 が発現しており、dystrophin-dystroglycan complex と結合し、それぞれ脳実質と血管との間での水やカリウムの移動を調節している。とくに脳浮腫の際には aquaporin-4 が主たる水の移動経路となり、微小循環障害に関与する。

4) 血管内皮細胞の抗血栓性／血栓促進性

血管内皮細胞は抗血栓性 antithrombotic と血栓促進性 prothrombotic の相反する両方の機能を備えている。すなわち正常な血管では血小板の抑制および抗凝固作用が優位となっており過剰な止血反応の活性化を抑制しているが、血管の破綻や血流停止により血管内皮細胞は急激に血栓促進性となり止血反応が始まる。

内皮から産生される抗血栓性を有する物質としては、prostacyclin, nitric oxide があり、細胞内の cAMP や cGMP を増加させて血小板活性化を抑制する。また CD39 は ectoADPase とよばれ ADP を分解する物質であり、thrombomodulin はトロンビンの基質特異性を変化させる物質であるが、これら CD39 および thrombomodulin

はアゴニストによる血小板の活性化を抑制する。このほか、heparan sulfate はトロンビンの不活化に関与する物質であり、内在性の tissue plasminogen activator(tPA) はプラスミンを形成しフィブリンの分解を促進する物質であり、いずれも血管内皮細胞から生成される抗血栓性の物質である。

一方で血栓促進性に働く物質としては、von Willebrand factor や P-selectin があげられ、血小板および白血球の接着を介在する。また組織因子はフィブリン産生に至る凝固カスケードを開始させる。また内皮細胞から産生された plasminogen activator inhibitor 1(PAI-1)により、プラスミンの形成を抑制することで血栓溶解を阻害する。

5) 脳微小循環の調節

脳毛細血管には血管平滑筋が存在せず、生理的条件下に血流を調節するとは考えにくい。一方、小動脈では血管壁内に平滑筋が存在し、gliovascular complex としてニューロンの活動性に応じて能動的に血管の収縮・拡張が制御されている。また脳軟膜血管からその分岐血管にかけては直接血管壁を網の目のようにつたわる神経叢があり、また小動脈には脳実質から直接神経が到達していることが報告されている。

虚血性脳血管障害における微小循環障害

1) 虚血時にみられる微小血管の形態変化

虚血後 1~2 時間すると、血液脳関門の障害が始まるのと同時に、血管内皮細胞およびアストロサイト上に発現している構造支持型インテグリン(structural integrin)が減少してくる(Fig. 1 右)。すなわち脳血管内皮細胞膜で発現し細胞外マトリックスと結合する integrin subunit $\alpha 1$ および $\beta 1$ や²⁾、アストロサイトの endfoot にて発現し細胞外マトリックスと結合する integrin $\alpha 6\beta 4$ や $\alpha\beta$ -dystroglycan が虚血後早期から発現低下をきたす³⁾。また血管マトリックスでは主たる組成である laminin, collagen, fibronectin の変性が始まる。Cunningham らは虚血時に endfoot にて生成された MMP-2 および MMP-9 が血管マトリックスの分解に重要であることを報告している⁴⁾。こうして虚血後早期からアストロサイト／血管外マトリックス／血管内皮細胞という gliovascular complex の構造が破綻する。

さらに虚血時間が経過すると、血液脳関門の透過性亢進から脳浮腫をきたし、細胞外マトリックスが失われ、アストロサイト endfoot の膨化と血管からの離脱が生じ

てくる。これに VEGF, 組織や白血球からの蛋白分解酵素, 血漿由来の因子が加わることで, gliovascular complex は構造的にも機能的にも崩壊する⁵⁾。

脳血管内皮細胞の膨化により, 細動脈から毛細管にかけての血管内腔が狭小化し微小循環が障害される。アストロサイト endfoot は毛細管に付着しており, endfoot 同士は connexin などにて結合しているが, 細動脈から毛細管を隙間なく取り囲んでいるわけではないため, 隣り合った複数の endfoot の膨化だけでは, 血管の内腔を虚脱させるだけの圧力は形成されないと考えられる。

2) 脳浮腫と微小循環障害

脳虚血が起きますと, tight junction が緩むため液体および 360 kDa にまでいたる血漿成分(たとえばフィブリノーゲン)の脳実質内移行が起こる。これに加えて, 脳微小循環を構成する血管内皮細胞およびアストロサイトの integrin 受容体の発現が低下する。こうした結果, 脳の血管透過性が亢進し vasogenic brain edema が形成される。先述のように脳の微小血管ではアストロサイトの endfoot 上に aquaporin 4 が発現しており脳浮腫形成に関与する。

脳浮腫による圧排効果が高度になるとペナンプラにある微小血管を押し潰し微小循環障害をきたし, 脳梗塞巣を拡大させる。拡大した脳梗塞はさらに脳浮腫を増悪させ, 悪循環に陥る。

3) 二次血栓, 微小血栓, 内皮障害と微小循環障害

Virchow's Triad を引用するまでもなく, 血管内であっても血流が停止すると血小板・フィブリンが活性化され血栓が形成される(二次血栓)。すなわち閉塞部位よりも末梢の動脈内腔は次第に血栓化する。形成された直後の二次血栓は脆弱であり, 早期に血流が再開した場合には分解されてしまうが, 次第に強固な血栓ができると再開しなくなり no reflow 現象の一因となる。

主幹動脈にて形成された血栓からは, 微小な血栓が次々と剝離して末梢側に流入する場合がある(microembolism 微小血栓)。比較的大きい場合には A to A embolism となり梗塞を生じるが, 小さい場合には微小循環のみが障害され明らかな梗塞巣として検出されない場合もある。末梢への血栓の遊離は経頭蓋ドップラー法にて HITS(high intensity transient signal)として検出する。

虚血時にはさまざまな要因により微小血管内皮細胞が障害される。まず虚血のコアでは血流低下により脳組織と同時に進行する虚血性の血管内皮障害をきたす。血管内皮細胞同士の接着が障害され, 内皮下結合組織が露出

する。またペナンプラでは, Fig. 3 で示すようにさまざまな細胞から活性酸素種の産生が高まり, 内皮細胞障害をきたす。また血管内皮に粘着した単核球, 多核球や脳実質のミクログリアも血管内皮細胞を傷害する。

内皮細胞障害の結果, 露出した内皮下結合組織への血小板血栓の形成, 内皮自身の血栓形成性への転換, 内皮細胞上での白血球接着因子の発現, 血管攣縮 vasospasm, 脳浮腫, などが誘発され, さらに相互に悪影響をおよぼし合って微小循環障害を増悪させていく。

4) 虚血後炎症性変化と微小循環障害

虚血周辺の毛細管から細小静脈にかけては, 単核球を中心とした白血球の粘着が認められる。過去には, これらの白血球自身が血管内で血流を障害する(白血球血栓)可能性が示唆された時期もあったが, 現在では直接の血流障害作用はほとんどないと考えられている。

虚血後, 周辺部から中心部にかけて炎症性細胞浸潤がみられる(postischemic inflammation)。組織に対する障害作用を有し梗塞巣が拡大する一方で, 血管新生の誘導など組織修復に関与する面もあり, 一概に有害な反応とはいえない。微小循環に対しても活性酸素種の産生, 内皮障害など微小循環を傷害する面と, 内皮の修復を誘導する側面との相反する作用がある。

5) フリーラジカルと微小循環障害

脳梗塞急性期に酸化ストレスが大きな障害を引き起こすことは広く認められている (Fig. 3)。脳が他臓器と比較して酸化ストレスの障害を受けやすい susceptible な理由としては, 1) 脳は全体重の 2% に過ぎないが, 全身の酸素の 20% を消費する (156 $\mu\text{mol}/100 \text{ g}/\text{min}$)。2) 脳には保護的な抗酸化物質・酵素が相対的に少ない。3) 脳は, 多不飽和脂肪酸など容易に過酸化される脂質を多く含んでいる。この多不飽和脂肪酸は脳の脂肪酸の 1/3 を占め, とくにアラキドン酸(C20:4 n-6)や docosahexaenoic acid (C22:6 n-3)などの二重結合を有する脂肪酸が多い。4) 脳は多くの部位で鉄に富んでいる, などがあげられる⁶⁾。

フリーラジカルの産生はニューロンを障害するだけでなく, 血管内皮細胞を障害し前述の微小循環障害を引き起こす。

6) no-reflow 現象

ある一定時間が経ってしまうと, 一度虚血に陥った部位に血流を再灌流しても循環が思うように再開しなかったり, 一過性に血流過剰(postischemic hyperemia)となった後に低灌流となったりする現象が知られ, no-reflow 現

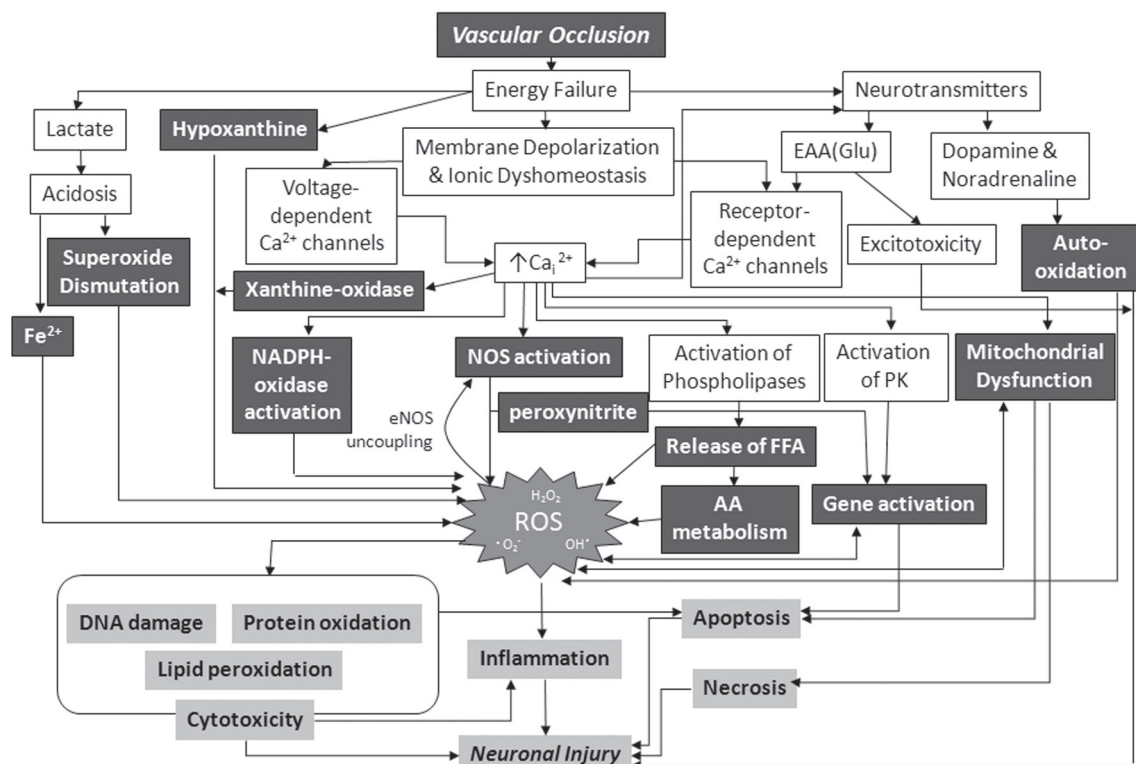


Figure 3 Pathophysiology of tissue damage during cerebral ischemia/reperfusion, in which ROS generation plays a pivotal role.

象と総称される。No-reflow 現象は、Ames らが脳循環について最初に報告した⁷⁾。

No-reflow 現象のメカニズムは多岐にわたるが、微小循環障害が共通する機序となっており、血管内皮障害、組織浮腫、血小板・フィブリン活性化、活性酸素種、白血球・炎症過程、組織線維化、アテローム微小血栓 microemboli などがあげられる。これに関連した病態で、再灌流による組織障害は reperfusion injury と呼ばれ、no-reflow 現象の機序の一つでもある。脳循環では、活性酸素種の関与が大きい、脳浮腫によって脳圧亢進、灌流圧低下をきたしやすい、などの特徴がある。

微小循環障害からみた急性期虚血性脳血管障害の治療

脳梗塞発症 3 時間以内に投与される tPA は、閉塞した血管に作用して再開通を促進するだけでなく、末梢やペナンプラにおいて二次血栓を溶解することで微小循環障害の改善に働くことが推測される。

また主幹動脈の血流を維持するために用いられる抗血小板薬、抗凝固薬も、微小循環の改善に効果が期待できる。すなわち、血流低下部位に形成される二次血栓の抑制に抗凝固薬は有用と考えられるし、破綻したプラークにできる血小板血栓が末梢に遊離していくのを抗血小板剤は抑制する。Thromboxane A₂ の合成阻害薬であるオザグレルナトリウムは抗血小板作用に加え、内皮障害によって血管攣縮をきたした細動脈を拡張させる働きを併有する。

ラジカスカベンジャーであるエダラポンは、虚血部の血管内皮周囲で発生した活性酸素を消去する働きがあり、内皮への保護作用を介して微小循環障害を抑制する。

脳浮腫の治療に用いられるグリセオールは、脳圧を下げて微小循環への圧迫を軽減させるだけではなく、血管内に水分を引き込み微小循環を改善させる働きもあると考えられる。

虚血後炎症をコントロールする目的で、消炎剤、免疫

抑制剤の投与、白血球とりわけT細胞の除去・抑制などが行われ、実験的に梗塞体積縮小効果が認められるものもある。こうした治療法の一部は微小循環改善作用を介していると考えられるが、臨床的な効果は確立していない。

デキストランによる hemodilution 法は、微小循環におけるヘモレオロジー(流体力学的な血液の特性)を改善させ脳梗塞巣を縮小する効果が期待されるが、効果についての臨床的なエビデンスは確立していない。

おわりに

急性期脳梗塞の治療において、閉塞・狭窄した主幹動脈の再開が最も効果的な治療方法であることはいまでもないが、tPAの適応となる症例が5%にも満たない現状では微小循環の改善による脳梗塞巣の縮小は、急性期治療の中心課題の一つといえるであろう。

文 献

- 1) Wolburg H, Noell S, Mack A et al: Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. *Cell Tissue Res*, 2009, **335**: 75–96.
- 2) Tagaya M, Haring HP, Stuijver I et al: Rapid loss of microvascular integrin expression during focal brain ischemia reflects neuron injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, **21**: 835–846.
- 3) del Zoppo GJ: Relationship of neurovascular elements to neuron injury during ischemia. *Cerebrovasc Dis*, 2009, **27** (Suppl 1): 65–76.
- 4) Cunningham LA, Wetzel M, Rosenberg GA: Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia. *Glia*, 2005, **50**: 329–339.
- 5) del Zoppo GJ, Mabuchi T: Cerebral microvessel responses to focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, **23**: 879–894.
- 6) Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC et al: Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med*, 2005, **39**: 841–852.
- 7) Ames A, 3rd, Wright RL, Kowada M et al: Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *Am J Pathol*, 1968, **52**: 437–453.

Microcirculatory Disturbance as a Core Pathophysiology of Cerebral Ischemia

Yoshiaki Itoh

Department of Neurology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Key words: no reflow phenomenon, penumbra, secondary thrombosis, microembolism, cerebral edema

Following the obstruction of a major cerebral artery, cerebral blood flow (CBF) stops all the way from arterioles to microvessels in the ischemic core, while the extent of decrease varies widely in ischemic penumbra, depending on the development of collateral vessels and the severity of microcirculatory disturbance, resulting in wide range of clinical severity. Improvement of microcirculation is, therefore, one of the major critical issues in the treatment of cerebral infarction. Once the microcirculatory disturbance progresses, recanalization of the obstructed artery may not restore CBF, indicating a “no reflow” phenomenon. (*J Jpn Coll Angiol*, 2011, **51**: 127–132)