

急性冠症候群における血管炎症の意義

野出 孝一

要 旨: 急性冠症候群の病態には血管炎症が関与しているが, 血管内皮細胞は, 内皮由来弛緩因子を産生し, それらは抗炎症作用を有することから, 血管内皮細胞機能を改善することが, 急性冠症候群の治療の一つの方法である。血管内皮機能は内皮依存性血管弛緩反応・炎症抑制・接着分子発現抑制・血液線溶系亢進・血管新生作用等があるが, 平滑筋機能低下も含めた血管機能低下¹⁾血管不全²⁾が重要である。(J Jpn Coll Angiol, 2004, 44: 311-317)

Key words: inflammation, vascular inflammation, endothelium dependent relaxation factors, endothelium dependent hyperpolarizing factors, epoxyeicosatrienoic acid, coronary risk factors

序 言

不安定狭心症, 心筋梗塞は急性冠症候群という病態であり, 血管の内膜下にある不安定プラークを覆う皮膜が破裂し, その血栓が心筋梗塞を起こすという概念である。それには, 一番の内層である血管内皮細胞の活性化がキーとなる。Tリンパ球から泡沫細胞に, matrix metalloproteinase (MMP) を出すようなシグナルが出て, 不安定プラークの泡沫細胞から膠原線維分解酵素(コラゲナーゼ), あるいは弾性線維分解酵素(エラスターゼ) が出ることにより, 被膜を構成しているコラーゲン・エラスチンが減り被膜が薄くなることから破裂する。したがって, Tリンパ球・マクロファージなどの炎症細胞はリウマチや免疫疾患にもかかわっていたが, 心筋梗塞, 動脈硬化の進展にもかかわっていることから, 心筋梗塞は炎症, 免疫の病気ではないかと考えられる。

心筋梗塞の発症について炎症細胞が関与しているが, percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) 後ステントを植え込んだ後の再狭窄に関しても炎症の関与が判明してきた。再狭窄が著明ではない例と比較し, stent strutの内層の新生内膜の増殖が著明な例のほうがstrutの内層にマクロファージの浸潤が多いことと, stent strutの間に不安定プラークの張り出しがある。場所によっては不安定プラーク, リビッドコアの

破裂による血栓があることで, ステントの再狭窄に関しても炎症細胞の浸潤, あるいは不安定プラークの形成が関与していることが判明してきた。血中CRPがステントの植え込み前の値が高いほど再狭窄が多いことで, 全身の炎症性反応がステントの再狭窄にも関係し, 心筋梗塞の発症に加えてステントによる再狭窄にも炎症が関与していることが判明してきた。何が炎症を規定しているのかは, 冠危険因子である高脂血症, 糖尿病が炎症を惹起する。それを抑制している因子としては血管内皮細胞がある。Fig. 1 は, 血管内皮機能によってイベントの発症リスクをみたデータであるが, 10年間のフォローをし, 内皮機能が軽度障害群, 中等度障害群, 重度障害群の3群に分ける。上腕動脈の血流依存性の血管拡張反応は血流増加により内皮から一酸化窒素(NO)が出る。それにより平滑筋が弛緩し, この平滑筋弛緩が障害されている重度障害群ほど心血管イベントの非発症率が少ない。血管内皮機能が障害されている群ほど心臓のイベントが多い。すなわち不安定プラークの破裂による心筋梗塞の発症が多かったということである。

なぜ血管の内皮機能によってイベントの発症が変わってくるのかについては, 血管内皮機能がさまざまな作用を有していることが原因である。その一つに内皮依存性の平滑筋弛緩反応があるが, NO, 内皮由来過分極因子(endothelial dependent hyperpolarizing factor:

佐賀大学医学部循環器・腎臓内科

2004年4月13日受理

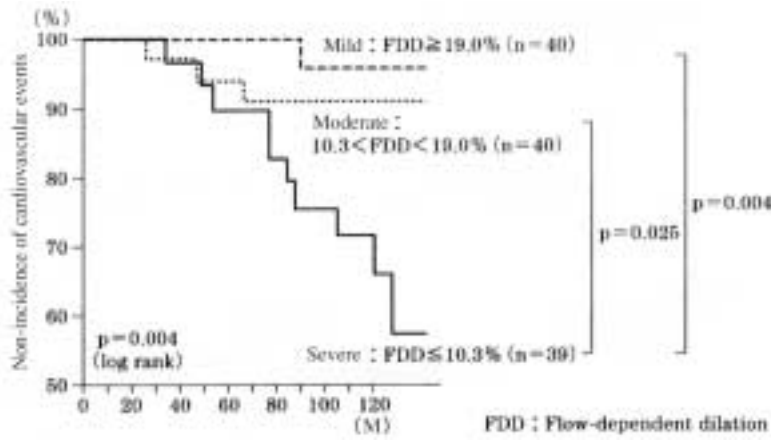


Figure 1 Endothelial function and cardiac events. FDD: flow-dependent dilation (Schahinger V et al: Circulation, 2002, **101**: 1899)

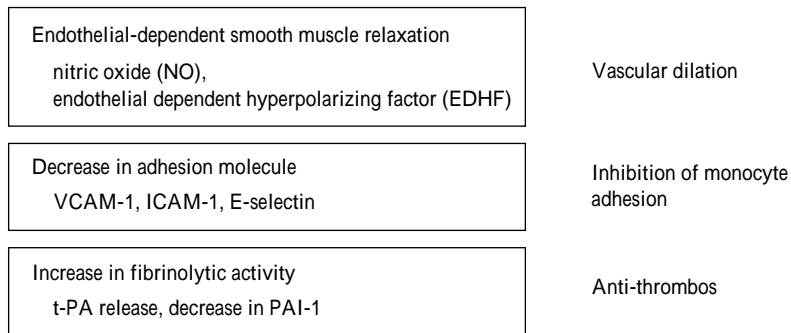


Figure 2 Endothelial function.

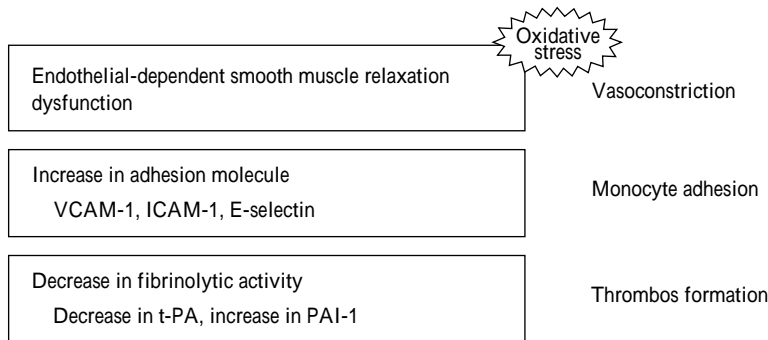


Figure 3 Vascular endothelial dysfunction.

EDHF), これらを内皮が産生して平滑筋を弛緩する。健康な内皮は接着分子を発現せず, 単球の接着を抑制する作用を持つ。また, 血管内皮細胞はt-PA(tissue plasminogen activator)を産生し血栓を抑制, あるいは, 線溶系を低下させるPAI-1 は産生せず, 抗血栓に働いている(Fig. 2)。ところが, リスクファクターなどで酸化ストレスが増加すると, 内皮依存性のNO, あるいはEDHFの産生が減り, 平滑筋弛緩障害が起こり, 血管

が収縮し臓器の血流が低下する。

もう一点は, 接着分子が血管内皮細胞で発現してくる。例えばVCAM-1, ICAM-1, E-セレクチン等の接着分子が発現し, 単球が内皮に接着し不安定プラークの形成につながる。酸化ストレスによって内皮が障害されると, t-PAの産生が減り, 逆にPAI-1 の産生が増える(Fig. 3)。すると不安定プラークの破裂後の血栓が増悪する。したがって, 血管内皮が障害されると, 不安定

プラークの破裂による血栓の増加により心筋梗塞などのイベントが起こりやすくなる。血管内皮機能低下が大きな問題であるが、さらに平滑筋の機能低下、あるいは代謝機能異常も含めた血管不全が動脈硬化の病態をつくると考える。

生活習慣病は血管不全であるといえるが、糖尿病に関しては早期糖尿病といわれる食後高血糖も血管不全の原因である。例えば空腹時血糖値(FBS)が110mg/dl以下で、かつOGTT 2時間値が140~200mg/dlのIGTは、心血管イベントを増加させることがわかっており、この群においては血管内皮機能が低下する。高血圧も血管内皮機能を低下させるが、早朝高血圧等の一過性の血圧上昇も血管内皮機能低下とともにイベント発症につながる。肥満、閉経女性、喫煙も血管内皮機能を低下させる。心不全は血管不全と対極的な言葉であるが、実は慢性心不全は末梢血管の内皮機能低下が合併しており、心不全における運動耐用能の低下は、一部は血管内皮機能の低下に依存しており、心不全のQOLをよくするには血管不全の治療が必要ではないかと考えられている。これらは後天的な血管不全であるが、先天的に血管内皮機能が低下するという病態もある。例えば内皮由来のNO合成酵素の遺伝子多型やEDHFの遺伝子多型などの後天的なものや先天的なものが血管不全の病態をつくっている。血管内皮機能は、血管内皮から出るNO, epoxyicosatrienoic acid (EET)が血管内皮機能の規定をしている。NO, EET自身に抗炎症作用があり、平滑筋細胞抑制作用があることから、この内皮由来弛緩因子に注目してみた。特に新しい血管弛緩因子といわれるEETが内皮由来過分極因子の候補として注目されている(Fig. 4)。

内皮由来の平滑筋弛緩反応に関しては、主にNOとEDHFの二つの因子がかかわる。例えばshear stressとかブラジキニンがeNOSをリン酸化してNOが産生される。NOはcGMPを産生し、cGMPが平滑筋を弛緩する。

EDHF系は、EETの産生酵素であるCYP2J2 やCYP2C8の活性化を介してEETを産生する。EETは、平滑筋にあるGs蛋白を活性化し、cyclic AMP (cAMP)を産生する。cAMPはPKAを介し平滑筋にあるCa依存性Kチャンネルをリン酸化して開口すると、膜電位は過分極をして、Ca²⁺の流入が減って平滑筋が弛緩する(Fig. 5)。NOはcGMPを介する、EDHF・EET系はcAMPを介する経路があると考えられる。この間には相互作用があ

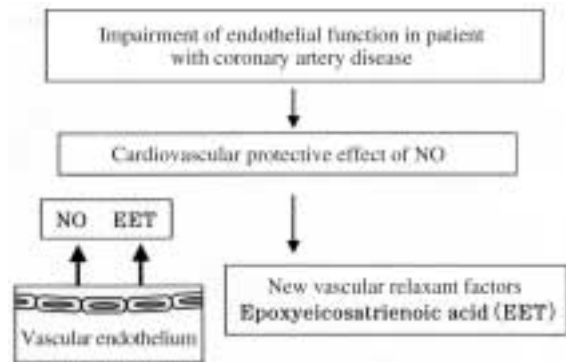


Figure 4

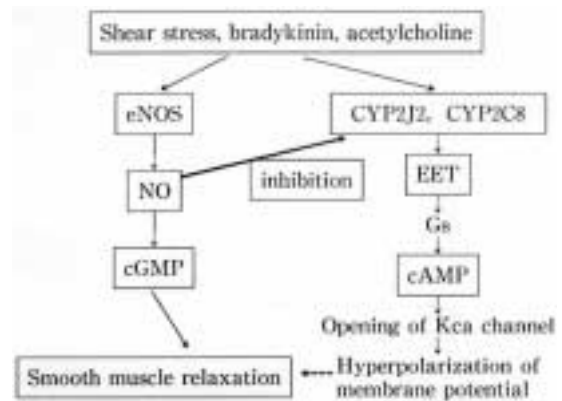


Figure 5 Mechanism of vascular relaxation by NO and EET.

り、NOはEET・EDHF系の産生を抑制することが解明されている。例えば初期の動脈硬化病変では、まずeNOSの活性が低下する。するとNOが減り、バックアップとして、EET産生のCYP2J2の発現が増えて、見かけ上は血管内皮機能が保たれているのである。ところが動脈硬化が進行すると、eNOS系、CYP2J2が両方低下して、見かけ上も血管内皮機能が低下する。よって、EDHF系はNOのバックアップの働きをする。

EETはアラキドン酸の代謝産物であり、アラキドン酸の分解系に関してはシクロオキシゲナーゼによるprostaglandin,あるいはthromboxane系が一つのpasswayで、二つ目のpasswayはリポキシゲナーゼによるleukotriene B4の産生系である。EETは第三のpasswayであるcytochrome P450によって産生される脂肪酸であり、このエポキシサイドの位置によって [5, 6] から [14, 15] まで四つの異性体からなるが、これらが平滑筋を弛

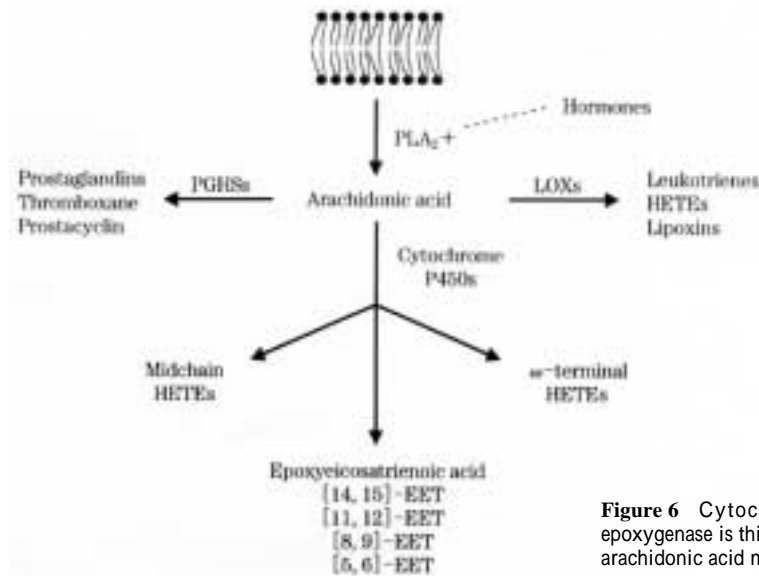


Figure 6 Cytochrome P450 epoxygenase is third passway of arachidonic acid metabolism.

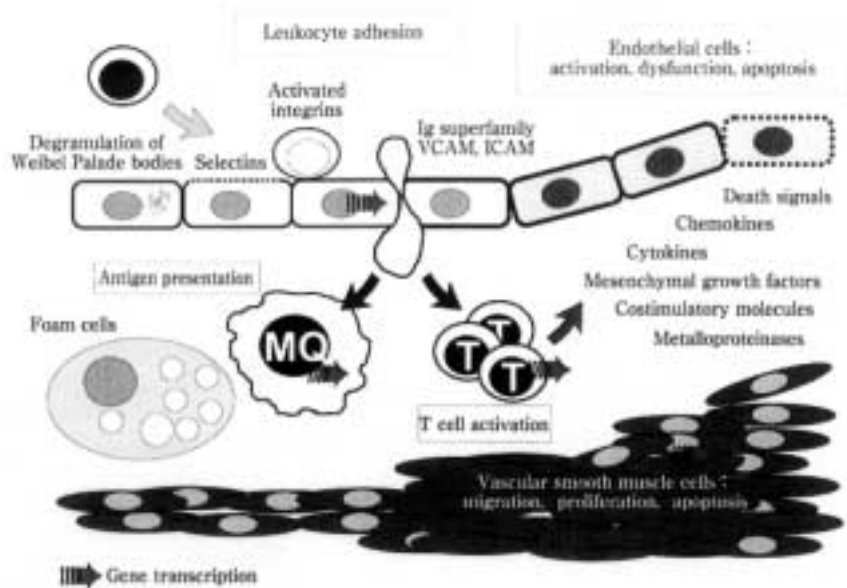


Figure 7

緩する (Fig. 6)

対象と方法・結果

EETが炎症等の免疫反応に対して作用するかは解明されておらず、まず第三のpasswayであるEET系の炎症に対する働きを検討した。動脈硬化では、内皮における接着分子が単球のトラップ、あるいはそれによる内膜への侵入にかかっていることから (Fig. 7), まずその接着分子, VCAM-1 の発現に対してEETが抑制する

かを検討した。

細胞実験により、このEETが血管内皮細胞でVCAM-1 発現を抑制することを検討したが、マウスの頸動脈にサイトカインを投与すると、12時間後にVCAM-1 の発現が血管内皮細胞で増えてくる。それに、EETの一つである [11, 12]-EETを加えておくと、血管内皮細胞のVCAM-1 発現は抑制される。ただ、ほかの異性体である [14, 15]-EETに関してはこの抑制効果はない。このEETが接着分子の発現を抑制する。すなわち血管の炎

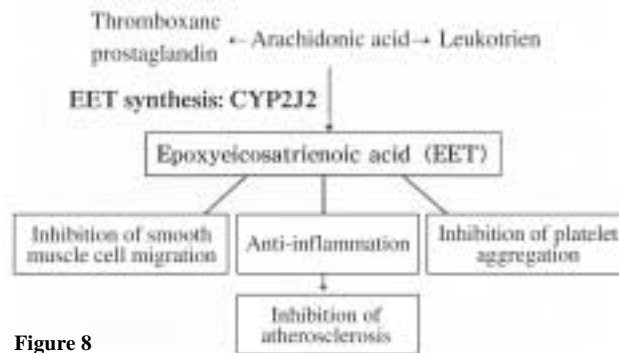


Figure 8

症を抑制しているということがわかった。

どのような機序で抑えるのかというと、VCAM-1等の炎症蛋白の発現にはNF- κ Bという転写因子の活性化が関係している。NF- κ Bは、p50とp65からなるコンポーネントで、これが核内に移行して炎症蛋白の遺伝子のプロモーターにbindingすることで炎症遺伝子の発現を増やすといわれ、NF- κ Bの活性化は、核内への移行が関係している。

この核内移行を抑制している蛋白がI κ B α で、通常I κ B α はp50とp65の二つのコンポーネントを抑え、NF- κ Bの核内移行を抑制している。ところが、例えばサイトカインや刺激を加えると、I κ B α がリン酸化される。リン酸化されると、I κ B α は分解する。分解されたI κ B α はNF- κ Bを保持できなくなる。それにより、NF- κ Bが核内に移行し、I κ B α のリン酸化と分解が一つのNF- κ Bの活性化につながる。

EETがNF- κ Bの活性を抑制する作用機序としてI κ B α のリン酸化にかかわっているか否かを検討すると、血管内皮細胞において、サイトカインを加えると15分後にI κ B α が分解される。EETを加えておくと、I κ B α の分解が抑えられる。[14, 15]-EETはNF- κ Bの抑制をしないので、I κ B α の分解は抑制しない。おそらくI κ B α の分解、リン酸化を抑制して、NF- κ Bの核内移行化を抑えている。I κ B α の上流はI κ B α kinase (IKK) というキナーゼがI κ B α をリン酸化することから、IKKの活性をみると、血管内皮細胞においてサイトカインを加えるとIKKの活性が増加する。[11, 12]-EETを加えておくと、このIKKの活性が抑制されるということで、EETはIKKという上流にある炎症を惹起するようなキナーゼの活性を抑制して、I κ B α の分解を抑えてNF- κ Bの抑制をしている。

内皮由来弛緩因子としてはNOがあり一般的には抗炎

症作用を有しているが、EETとNOの炎症抑制作用に関しては違いがある。NOは、GSNO、NO供与体を投与してもサイトカインによるI κ B α の分解は変わらない。すなわちNOというのはI κ B α の分解を抑制するのではない。NOはI κ B α のmRNAを増やしている。すなわちNF- κ Bの活性化を抑制するI κ B α を誘導することによって炎症を抑制していることで、二つの内皮由来弛緩因子は、炎症抑制作用に関して差がある。

血管内皮機能に関してはt-PAの産生があるが、EETは容量依存性にt-PAのmRNAの発現を増加していることから、血管の線溶系の亢進作用を有することがわかった。

Chenらにより血管内皮細胞のアポトーシスを抑制することもわかってきた。すなわち過酸化水素、酸化ストレスによる血管内皮細胞のアポトーシスを[14, 15]-EETが抑制している。血管新生、あるいは血管のアポトーシスを抑制することにより内皮の保護をしていることがわかった。

次に、平滑筋細胞に関する作用についてEETが平滑筋細胞の増殖を抑制すると考え実験を行った。NOは平滑筋細胞の増殖を抑制するというデータがあり行ったものの増殖度に関しては変化がない。EETの平滑筋細胞の遊走能に対する作用をみると、EETはPDGF、あるいは10%FCSによる平滑筋細胞の遊走能を抑制している。PKAの阻害剤を加えるとリバースされることで、EETがcAMPを産生して、PKAを活性化することにより平滑筋遊走能を抑制する。すなわち、増殖能は変えないが、遊走能は抑制することがわかった。

以上のことから、アラキドン酸の第三のpasswayであるEETは、抗炎症作用、血小板凝集抑制、平滑筋遊走の抑制を介して、抗動脈硬化作用を有していることがわかった (Fig. 8)。

次に、臨床の症例でEET系の遺伝子多型があるかを検討した。動脈硬化疾患がある(coronary artery disease: CAD)群150人と動脈硬化疾患がない(normal)群240人を比較し、CYP2J2 のSNPをみると、転写開始点から73番目にG/T mutationがありnormal群では11%の変異の割合であり、CAD群に15%で、このG/T mutationに有意差があった。

この変異部位が機能的な場所かを検討するために、mutationをつかった遺伝子をつくり、血管内皮細胞に導入したところ、G/T mutationをつかった遺伝子は、CYP2J2 のプロモーター活性が低下しており、このmutationが機能的な部位であり、動脈硬化のリスクとしてこの遺伝子変異があることがわかった。

それでは、多彩な作用を持つEETのレセプターは何か。トロンボキサンプロスタグランジン、ロイコトリエンB4はすべてレセプターがあり、G蛋白カップル型の膜レセプターがあるのではないか。特にGs蛋白を活性化するため、G蛋白のカップル型のレセプターを考えている。

核内受容体のリガンドが最近解明されてきており、特にPPAR α , β , γ という核内受容体が最近注目されている。PPAR γ は、脂肪細胞の分化やインスリン抵抗性の改善作用がある。そしてPPAR α は、リポ蛋白リパーゼ(LPL)の活性化によるトリグリセリドの低下の作用があることで、PPAR α , β , γ の心血管に対する作用がわかってきた。

ほとんどのリガンドは脂肪酸であることから、EETもこのような核内受容体、PPARのリガンドになっているのではないかと考えた。

PPAR α , β は脂肪酸などをリガンドとし、核内の遺伝子の発現を変える。PPAR γ はprostaglandin J_2 ,あるいはグリタゾン I をリガンドにしてインスリン抵抗性を改善し、脂肪細胞の分化を促進する。

GAL4 アッセイを使ったPPAR α , β に対するEETの活性化を検討すると、典型的なリガンドのフィブラートに比べ、PPAR α に関しては、[14, 15]-DHETが強い活性化作用を有する。DHETは、EETがエポキシヒドロレーズによって分解された産物である。あるいはEETも5倍以上の活性化を持つことで、PPAR α に関してはEET, DHETがリガンドになっている。

PPAR γ に関しては、クラシカルリガンドはPG-J $_2$ であるが、これに比べると弱い作用で主にEETはPPAR α と β の活性化を有していることがわかった。

binding アッセイの結果からも、PPAR α に関しては、

[14, 15]-DHETが受容体に対してリガンドになっている。

EETはPPAR α がプロモーターにbindingして活性化するようにリポ蛋白リパーゼの活性を上げるので、EETは抗炎症や抗血栓に加えて、脂質代謝を変え動脈硬化を抑制する可能性もわかってきた。

考 察

膵 β 細胞でGPR40が脂肪酸をリガンドにしてCa $^{2+}$ を上げてインスリンを上げることで、GPR40がインスリン分泌に関与することが報告されて、GPR40は主に膵 β 細胞で発現している。ヒトでどの脂肪酸GPR40のリガンドになっているかを検討されたが、EETが強いリガンドであり、EETは膵 β 細胞のインスリンの分泌にもかかわっていることで、糖尿病の発症にもかかわっている可能性がある。糖尿病の発症に関しては、血管内皮機能が規定しているデータもあり、血管内皮機能が低下するとEETなどの内皮由来弛緩因子が減り、それにより糖尿病の発症が増えることも考えられる。

糖尿病の新規発症に関してARBであるロサルタンは、心血管イベントの発症、脳卒中の発症を抑制するとともに、糖尿病の発症も抑えている。ARBは特に血管内皮、EETなどを増加させることもわかっており、ARBの血管内皮細胞に対する作用が糖尿病の発症抑制にかかわっている可能性がある。

仮説であるが、インスリンは血管でIRS1, 2, 3のような受容体をリン酸化して活性化する。IRSはPI-3 キナーゼを活性化して、AKTを活性化する。AKTはeNOSのリン酸化、あるいはCYP2J2をリン酸化して、これにより平滑筋細胞の血管弛緩とか細胞遊走・増殖を抑える。ところが血管内皮細胞が障害されると、こちらのpasswayがなくなる一方でAKTは平滑筋細胞増殖、平滑筋細胞収縮をする。よって、血管内皮細胞の障害が起こると一方のpasswayのウエイトが大きくなり、インスリンは動脈硬化を進展する。実際にeNOSの多型とインスリン抵抗性を、大阪大学の糖尿病グループの山崎先生らと共同研究を行ったが、eNOSの786T/C多型に関して、インスリン抵抗性NOの産物である血中濃度NOxを測定したが、TCとCCのmutation群は、コントロール(TT)に比べると有意にインスリン抵抗性が下がっている。また、血中のNOxが低下していることで、eNOSの多型がインスリンの抵抗性と関係している。EETをDHETに変換する酵素であるエポキシヒド

レースの多型とインスリン抵抗性も同様に検討した。Non DMに関しては、HOMA Rに有意差はみられなかった。ところが、糖尿病はGAとAAの遺伝子多型群のほうが有意にインスリン抵抗性が低下しているということで、EET変換酵素の遺伝子多型がインスリン抵抗性と関係していることがわかった。この二つから考えると、eNOSとかCYP2J2の多型があると、血管炎症や内皮障害が起こり、NOとかEETの産生が減る。EETが低下すると、膵β細胞からのインスリン分泌が低下し、NOは骨格筋でのグルコーストランスポーター4 (GLUT4)の活性化をする、あるいは、血流が減ればインスリンデリバリーが悪くなることで、インスリン抵抗性を上げる。これにより、高インスリン血症やインスリン抵抗性というのは、血管炎症や血管内皮障害が一つのキーになっていることがわかってきた。

結 論

ヒトは血管から老いるというオスラーの言葉が昔か

らあるように、動脈硬化、生活習慣病は、血管不全、血管炎症を基盤にしている。内皮細胞は再生することから、内皮細胞が血管不全治療のターゲットではないかと考えている。特に内皮由来弛緩因子(NO, EDHF)が内皮機能(血管弛緩, 炎症, 線溶系, 新生)を規定している。またそれが低下することが血管不全の原因であることで、内皮由来弛緩因子を増加させるような生活習慣改善, 運動と薬物療法によって血管不全・血管炎症の治療をして、内皮保護や臓器保護を試みるのが重要であると考えられる。

文 献

- 1) Drexler H, Hornig B: Endothelial dysfunction in human disease. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, **31**: 51–60.
- 2) Campbell WB, Gebremedhin D, Pratt PF et al: Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*, 1996, **78**: 415–423.

Significance of Vascular Inflammation in Acute Coronary Syndrome

Koichi Node

Department of Cardiovascular and Renal Medicine, Saga University Faculty of Medicine, Saga, Japan

Key words: inflammation, vascular inflammation, endothelium dependent relaxation factors, endothelium dependent hyperpolarizing factors, epoxyeicosatrienoic acid, coronary risk factors

Inflammation plays a pivotal role in all stages of atherogenesis, from foam cell to plaque formation to rupture and ultimately to thrombosis. The link between inflammation and atherosclerosis provides a new venue for future pharmacologic agents that may slow the progression of atherosclerosis by inhibiting inflammation. Vascular inflammation is involved in the progression of atherosclerosis, since activation T lymphocyte promote the adhesion of monocyte to endothelial cell and increase the release of collagenase from macrophage.

Incidence of cardiovascular events depends on the vascular endothelial function. Dysfunction of endothelium impairs the endothelial-dependent smooth muscle to relax and to promote the adhesion of monocyte to endothelium. An endothelium dependent relaxation factor, nitric oxide (NO), has the multiple cardiovascular protective effects in addition to the vascular relaxant effect. An endothelium dependent hyperpolarizing factor (EDHF), also relaxes the vascular smooth muscle by hyperpolarizing the membrane potential. Epoxyeicosatrienoic acid (EET) is a candidate of EDHF, and it has anti-inflammatory effect and increases the expression of t-PA. CYP2J2 is the enzyme to produce EET from arachidonic acid and CYP2J2 is localized in the endothelium of coronary resistant artery and cardiomyocyte in human heart. In patients with coronary artery disease, single nucleotide polymorphism is found in the promoter region of CYP2J2. EET also increases the insulin release from pancreatic beta cell by membrane receptor, GPR. EET might be a key factor for progression of coronary risk and atherosclerosis. (J Jpn Coll Angiol, 2004, **44**: 311–317)