動脈硬化症の成因

Pathogenesis of Atherosclerosis

京都大学大学院医学研究科
臨床生体統御医学講座(成人・老年病病態学)

北 徹

TORU KITA, *Department of Clinical Bio-regulatory Science Division of
Molecular Medicine for Adult and Geriatric Diseases Graduate
School of Medicine, Kyoto University.*

はじめに

狭心症、心筋梗塞といった虚血性心臓病は、粥状動脈硬化症を基盤とし、すでに10歳代から始まった病変が知らず知らずのうちに進行し、血管壁にプラークが形成され、それが進展して、崩壊することによって生じた血栓形成により、発症をみると現在考えられている。プラークの亀裂、あるいは潰瘍形成と血栓との関係が明確に示されており、壁にできた血栓の大きさにより、不安定狭心症、急性心筋梗塞、虚血性の突然死が誘発される。血管造影により、ごくわずかな狭窄を認めるにすぎない小さなプラークが、特に急速に拡大しやすく、高度の狭窄や、完全梗塞まで起こしてくると考えられている。このような血管壁における反応は、不安定狭心症、急性心筋梗塞の原因の約3分の2を占めているとも言われている。近年、血管壁を構成している、細胞、すなわち、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、血球成分としての単球—マクロファージ、リンパ球、白血球および血小板の細胞生物学的、分子生物学的研究が著しく進歩し、それぞれの細胞間でのお互いの連関の詳細が理解されはじめており、またそこに介在する細胞から分泌された成長因子、サイトカイン、血管作動物質などとの関係も徐々に明らかにされてきている。中でも、血管収縮、弛緩因子とみられてきた因子が、血管平滑筋細胞の増殖と制御に関わることが明らかにされ始め、新たな視点からの研究も生まれようとしている。

血管内皮細胞肥厚についても、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞の増殖機構につき研究が進み、成長因子、サイトカイン等との関係で従来進められてきたが、近年は、増殖の本質は、細胞形質の変換であり、その機序についてのアプローチが行われはじめている。ことに細胞形成変換の分子マーカーが同定され

はじめ、それらを用いた研究が遺伝子レベルで可能となってきた。例えば、平滑筋細胞のミオシン重鎖のアイソフォーム(SM1, 2, SMemb)などである。さらに細胞の分裂周期を念頭においた関点から、平滑筋細胞の増殖制御を考える方法の研究もはじまっており、例えば、血球の分化をテーマに研究しているチームからの発表がみられる。米国のRosenbergの研究室からの報告によると、細胞周期のG₁期～S期の移行に必須であるproto-oncogene c-mycの機能を無してやることによりG₁期のままに細胞を留めるというものである。すなわち、c-mycに対するantisense oligo-nucleotideを作製すると、c-mycのmRNAがantisenseに結合して、また遺伝子に結合することにより、その複製ができなくなり、その結果として、血管平滑筋細胞がG₁期のままでストップし、増殖が起らないというアイデアである。事実、ラットの頸動脈の内皮細胞をバルーンカテーテルで剝離すると、約2週間で血管平滑筋細胞の増殖が起こるモデルがある。Rosenbergらは、剝離の際に、あらかじめantisense c-myc oligonucleotideを添加しておき、血管平滑筋細胞の増殖を抑制することに成功した。それ以降、細胞周期を制御しているさまざまな分子を、上記の方法で阻害することにより、血管平滑筋細胞の増殖がおさえられたという報告がされ始めている。この様に、研究の最先端では、遺伝子レベルでの動脈硬化の制御を目指して、研究が続けられており、少なくともPTCA後の再狭窄の制御に関する臨床応用は近い将来、我が国においても進められることが、予想される。

一方、コレステロールが粥状動脈硬化の進展に大きく関与していることが、明らかにされてきているが、事実臨床的にコレステロール値を低下された際に、その効果が検討されてきた。欧米では、大規模

な臨床介入試験が次々に発表され、冠状動脈の退縮の可能な事、疾病の発生率の低下などが示され、より本質にせまった治療や、予防に目が向けられようとしている。本稿では、これらの点を中心に概説したいと考えている。

粥状動脈硬化の病理・成因

冠状動脈の内膜肥厚は乳児期からすでに始まっているが、10歳代にはかなりの内膜肥厚が認められるようになる。20歳代になると、血管壁には、マクロファージ、平滑筋細胞由来の泡沫細胞やコレステロール結晶を中心とした粥腫も認められるようになる。一般的には粥状動脈硬化は、長い年月を経て、進展するわけであるが、その要因は危険因子として、①高コレステロール、②高血圧、③喫煙、④肥満、⑤糖尿病(耐糖能異常)、⑥家族歴の6項目をWHOは、あげている。

粥状動脈硬化病変形成には、個体差があり、2つの経路で動脈内膜に形成される。持続的に血管内腔を浸食し、血流減少の原因となる動脈内膜の非対称性肥厚により、形成される病巣をもつ患者は、臨床症状は進展する。持続的な動脈拡張と実際上わずかな内腔変化を伴うより対称的、求心性の内膜肥厚を形成する病巣を持つ患者では、あったとしても、わずかな臨床症状を呈するにすぎない。粥状動脈硬化の初期病変である脂肪線条は、胎児や幼児にもみとめられ、さらに進行した線維性プラークは、一般的には成人期もしくは、加齢に伴い出現してくる。

1) 脂肪線条の形成

脂肪線条の持続は、脂肪で満たされた平滑筋細胞、マクロファージ由来の泡沫細胞、線維性組織、内膜局所に散在する細胞外脂肪粒子などの集積し層をなしたものをいう。脂肪線条は、通常内膜に付着したままであるが、ほとんど障害を起こすこともなく、また症状を出現しない。

2) 線維性プラークへの移行

前粥腫、粥腫の過程を経て、細胞外脂質、壊死細胞残遺の核を被う平滑筋細胞に富んだ線維筋性層(被覆層)が存在するのが特徴であり、プラークは、非常に硬く、隆起したドーム状で、表面は不透明で光沢があり、内腔に拡張して血流を低下させる。

さらに、複合病変へと進展すると、壊死核に石灰化が起こり、臨床症状を伴うようになる。動脈壁はもろくなり、内膜が破れると動脈瘤が生じ、出血が起こり、プラークが次第に肥厚し、血栓が形成され、内腔が徐々に閉塞され、臓器の機能障害が現れる。プラークの断片が内腔に移動すると動脈塞栓が生じる。冠動脈内腔の直径が著しく減少すると(85%の狭窄)血栓形成、レン縮、あるいはわずかな内腔狭窄により狭心症、急性心筋梗塞、突然死が起こる。

粥状動脈硬化の発生機序

1993年、RossのNatureの総説がわかりやすい。内皮細胞が、高コレステロール(酸化LDL)、糖尿病、高血圧、喫煙、機械的刺激などで障害(活性化)されるとさまざまな反応が起こる。例えば、単球、リンパ球などの接着現象であり、酸化LDL、リゾフォスファチジルコリン(Lyso-pc)による内皮細胞の接着分子の発現誘導がある。泡沫細胞形成の初期反応であり粥状動脈硬化の発症との関連の手がかりとして重要視されている。

一方、ズリ応力に反応して内皮細胞が産生した分子を特異的に結合する遺伝子部位が、ICAM-1、PDGF遺伝子の5'隣接領域に存在することが明らかになり、Shear Stress Responsible Element(SSRE)と呼ばれている。つまり物理的刺激の受容と細胞応答が解明可能になってきた事を意味し、その発展が待たれる。

いずれにしても、粥状動脈硬化の初期病変の代表的な考え方としては、血管内皮細胞に、単球接着分子が発現誘導され、流血中の単球が内膜に侵入し、マクロファージ(M ϕ)に分化し、変性されたLDL(酸化LDL)を、特異的受容体を介して取り込み泡沫化する。(泡沫細胞形成)この集積が脂肪線条である。血小板の接着も引き起こされるが、これら血球細胞のみならず内皮、平滑筋細胞のいずれから、血管平滑筋細胞(SMC)の遊走因子、増殖因子が合成、分泌される結果、中膜からSMCの遊走、増殖が内膜で起こる。この主役は、PDGF、b-FGF、HB-EGFなどが考えられているが、血管作動物質である、angiotensin, TxA₂, endothelinの関与も示唆されている。ラットの頸動脈剥離内膜肥厚モデルがよく用いられるが、抗PDGF抗体、抗b-FGF抗体で前処置したラットでも30~40%しか血管平滑筋の肥厚が抑制されないことから、多くの因子の関与が考えられ、これから解決すべき問題である。

粥状動脈硬化の形成には、長い時間が必要であり、従って、それに関わる反応は複雑で多岐にわたる。そこでSMCの増殖制御の研究は、別の観点からも研究が行われている。

つまり、形質変換である。中膜における血管平滑筋は、収縮型であるが、内膜で増殖する際には、合成型に形質変換している。つまり、この形質変換を知るには、分子マーカーが必要であるが、永井らは、SMCのミオシン重鎖のアイソフォームとして、SM1, SM2, SMembを分離し、構造決定した。この抗体を用いる事により、胎児と成体型が、合成型と収縮型のSMCに一致することが明らかになり、形質変換にかかわる遺伝子の同定が可能になってきた。すでに骨格筋では、Myo Dという転写因子が見出されている。このアプローチが成功すれば、

PTCA 後の再狭窄を含めた動脈硬化の遺伝子治療を含めた治療も夢ではない。

さらに、もう1つの方法が最近使用されるに至った。つまり、SMCの増殖を細胞分裂周期からアプローチしようというものである。その手段として、 $G_0 \rightarrow G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M$ 期の細胞分裂周期を制御する因子の同定と、その抑制である。Rosenberg らは、SMCにおける $G_1 \rightarrow S$ 期への移行には、C-myb という proto oncogene が重要であることに気づいた。それに基づき、C-myb に対する antisense oligonucleotide を作製し、その働きを抑制することにより、SMCの細胞分裂を抑制することを in vitro で確認した。次に、前述のラット頸動脈内皮剝離モデルを用いて、あらかじめ antisense c-myb oligonucleotide を使用した群では、SMCの増殖が抑制されていることを in vivo で確認し、1992年のNatureに発表した。その後、Nabel, Dzau など細胞周期に関与する分子、酵素(cdc2, cdk2 Kinase)あるいは、金田らは転写因子 E2F の block により、SMCの増殖抑制が可能であるという in vivo の成果が発表されている。問題は、目的の箇所に、どの様に antisense oligonucleotide が最も有効か、DNA のベクターは、など解決すべき問題は多々ある。

本年2月号に(New England Journal of Medicine) コレステロール低下剤を用いて、血管内皮細胞機能改善の論文が、2編掲載された。

明らかに、コレステロール低下剤(HMG-CoA Reductase 阻害剤)による、血中 LDL コレステロールの低下により、血管内皮細胞機能の改善がアセチルコリンの反応性から確認された。つまり、高コレステロール血症による、活性酸素の発生が Nitric

Oxide の分解をおこさせることにより血管弛緩反応が低下することによって考えられた。さらに、Anderson らは、同号で、HMG-CoA Reductase 阻害剤に、抗酸化剤である probucol を併用すると、アセチルコリンによる反応性から、冠状動脈の内皮依存性反応の改善が認められ、HMG-CoA Reductase 阻害単独よりも、より効果的であると報告した。私共は、以前より、probucol が LDL の酸化を抑制する結果、マクロファージの泡沫化が抑制されることを報告してきた。さらに家族性高コレステロール血症(FH)モデル WHHL ウサギにプロブコールを投与したところ、病変形成はほぼ完全に抑制された。この本質は抗酸化剤であるプロブコールが LDL の酸化変性を抑制するところにあるとした。酸化 LDL の形成過程で、LDL の膜の主成分であるホスファチジルコリンが、リゾフォスファチジルコリン(Lyso-pc)に一部変化することが知られている。Lyso-pc は、血管内皮細胞に作用し、Nitric Oxide の産生を抑制すること、endothelin 合成を促進することなどが、平田、横山、久木山、泰江らにより報告されている。従って、Anderson らの臨床の成果は、この様な研究成果に裏づけられたものであると解釈できる。この様に、コレステロール低下剤により長期効果である血管内腔の拡大がおこらなくても、コレステロールの多い泡沫細胞に富んだプラークの不安定なものが、コレステロールの低下で安定化すること、又、血管内皮細胞の機能改善、つまり Nitric Oxide の産生改善などの効果が新たに浮きぼりになり、この様な事実は、心、血管 events の発生率の低下にもつながることが大いに期待される。