シンポジウム 1 初期病変からプラーク破綻まで

螺旋型膠原線維と matrix metalloproteinases (MMPs)¹

石川 由起雄² 足羽 紀子³ 伊藤 金次² 石井 壽晴²
赤坂 喜清² 増田 隆夫² 増田 茂³

はじめに

血行力学的因子は動脈硬化症発生に多大な影響をおよぼしており、一般に低ずり応力部位に硬化性病変が好発する¹⁾。ヒトの左冠状動脈前下行枝 (LAD) は、走行途中に心筋組織に被覆されることがあり [心筋架橋, myocardial bridge (MB)], 剖検例では日本人の約 45% に観察され²⁾, MB 下 LAD 内膜は血行力学的に高ずり応力の影響下にあるために動脈硬化性病変が発生しにくく³⁾, MB 下 LAD 壁には、螺旋型膠原線維 [spiraled collagen (SC)] が高頻度かつ高密度に分布している⁴⁾。SC は、縦断面で幅広いねじれたような線維として、横断面では花冠状の形態として観察され (Fig. 1), 正常動脈壁に普遍的に存在する⁴⁾。しかし、MB を有さず外膜下脂肪組織におおわれた LAD 壁では、有意に SC の分布は少なく⁴⁾, MB の有無による LAD 壁内の SC 分布程度の相違は、血管内腔の血行力学的変化が血管壁コラーゲン代謝になんらかの影響をおよぼした可能性を示唆している。

血管壁における間質コラーゲン代謝は、コラーゲン産生と分解により調節されている。平滑筋細胞 (SMC) は、間質コラーゲンを産生する他⁵⁾, コラーゲン分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs), そのインヒビターであ

る tissue inhibitors of MMPs (TIMPs) も産生し、血管壁コラーゲン代謝調節の中心的役割を演じている⁶⁾。さらに、内皮細胞も MMPs や TIMPs を産生し SMC とともにコラーゲン代謝に関与している⁷⁾。

このような背景から、血行力学的に異なる対になる動脈を観察し、血行力学的因子と血管壁コラーゲン代謝との関連を検討し、さらに SC の形成機転に関して考察した。

I. 材料および方法

LAD, 大伏在静脈 (GSV) および門脈 (PV) について、それぞれ内膜病変を有するものとないものを選択した。LAD MB (-) は外膜下脂肪組織におおわれた LAD で、内膜隆起性病変の認められたもの (13 例), LAD MB (+) は MB 下の LAD で動脈硬化性病変のないもの (7 例) である。Varicose GSV は手術摘出された静脈瘤で (17 例), これに対応する正常 GSV を剖検例 (7 例) から採取した。PV LC (+) は肝硬変症を認めかつ内膜肥厚を有する門脈圧亢進例 (11 例), 対照とした PV LC (-) は肝疾患を認めず内膜病変のない例 (9 例) である。

採取した動脈を電顕観察し、それぞれの動脈の内・中膜における SC の分布程度を 4 段階評価し (一〜Ⅲ), 各動脈間で SC 分布程度を比較した。

また、上述の動脈を、MMP-1 (Oncogene Science Inc.), MMP-2, -9, TIMP-1, -2, PH (prolyl 4-hydroxylase) (以上、富士薬品) で免疫組織化学を行い、染色程度を 5 段階評価し (一〜Ⅴ), 各対となる動脈間で比較した。

II. 成績

1) 電顕所見

LAD MB (-) では、全 13 例に内膜隆起性病変を認め、間質には膠原線維が豊富であった。SC は、13 例中 9 例ではまったく認められず、4 例の内・中膜に軽度〜中等度の分布をみるにすぎなかった。一方、LAD MB (+) は 7 例中 4 例に SMC の増生からなる内膜線維細胞性肥厚を認めたが、SC は、全 7 例に中等度〜高度の分布を認め、特に内膜

¹ 1998 年 6 月, 第 30 回日本動脈硬化学会総会 (東京) において発表。

² 東邦大学医学部病理学第二講座

³ 東京医科大学八王子医療センター

Spiraled collagen and matrix metalloproteinases

Yukio Ishikawa², Noriko Asuwa³, Kinji Itoh², Toshiharu Ishii², Yoshikiyo Akasaka², Takao Masuda², and Shigeru Masuda³: ²Department of Pathology, Toho University School of Medicine, Tokyo, Japan, ³Department of Pathology, Hachioji Medical Center, Tokyo Medical University, Tokyo, Japan

Key words: Spiraled collagen, Hemodynamic factor, Matrix metalloproteinases, Atherosclerosis, Vascular remodeling

原稿受取日: 1998 年 7 月 29 日

内に目立った (Fig. 2).

Varicose GSV の内膜は、主に膠原線維からなる豊富な間質を有するが SC を認めなかった。中膜間質にも膠原線維が著増していたが、5 例のみに SC が認められた。正常 GSV には内膜肥厚はなく、SC を認めなかったが、中膜間質には全例に軽度～高度の SC 分布を認めた。

PV LC (+) は全例に高度の内膜肥厚がみられ、2 例のみ内膜間質に SC の軽度分布を認めた。中膜は軽度の膠原線維増加を示し、6 例に SC を認めた。PV LC (-) の全例は内膜肥厚がなく、SC は内膜内には観察されず、中膜では 1 例を除いて高度の分布を認めた。

SC の分布程度および比較を、Table 1 にまとめた。

2) 免疫組織化学的所見 (Fig. 3)

LAD MB (-) には隆起性病変が発生し、脂肪線条 1 例、線維細胞斑 7 例、アテローム 3 例、高度の線維細胞性肥厚 2 例を認めた。MMP-1 は、3 例を除いて内膜内の SMC に陽性、MMP-2 は 8 例の内膜および中膜の SMC に陽性像を認め、MMP-9 は 6 例で軽度陽性であった。TIMP-1 は 8 例で軽度陽性であったが、TIMP-2 は 12 例で中等度陽性、特に

Fig. 1 Spiraled collagens in the aorta. a. Longitudinal sections. b. Cross sections. Bar = 200 nm.

Fig. 2 Electron microscopy of the intima of LADs. a. The intima of LAD MB (-) is thickened with scattered SMC and abundant collagen fibrils. Arrow portion is magnified in Fig. 2-b. (44 yr-old man) Bar = 5 μ m. b. In the intima just above internal elastic lamina, spiraled collagen is not recognized. Bar = 500 nm. c. The intima of LAD MB (+) is intact. Arrow portion is magnified in Fig. 2-d. (43 yr-old man) Bar = 5 μ m. d. There are numerous spiraled collagens in the intima adjacent to internal elastic lamina. Bar = 500 nm.

Table 1 Quantity of spiraled collagen.

			-	+	#	##	
LAD	MB (-)	n=13	0	3	0	10	P<0.01
	MB (+)	n=7	0	0	3	4	
GSV	varicose	n=17	12	3	2	0	P<0.01
	control	n=7	0	3	3	1	
PV	LC (+)	n=11	1	3	4	3	NS
	LC (-)	n=9	1	1	1	6	

Singificance was analyzed by Mann-Whitney's U test.

- : absent, + : small quantity, # : moderate quantity, ## : large quantity

NS : no significant

Table 2 Extent of positive immunoreactivities for MMPs, TIMPs and PH.

MMP-1						
	LAD		GSV		PV	
	MB (-) n=13	MB (+) n=7	varicose n=17	control n=7	LC (+) n=11	LC (-) n=9
≡	3	5	0	2	5	8
≡	1	1	3	1	3	1
≡	2	1	4	3	2	0
+	4	0	6	1	1	0
-	3	0	4	0	0	0
	P<0.05		P<0.05		P<0.05	
MMP-2						
	LAD		GSV		PV	
	MB (-) n=13	MB (+) n=7	varicose n=17	control n=7	LC (+) n=11	LC (-) n=9
≡	0	0	5	2	7	1
≡	1	1	3	0	0	4
≡	3	2	6	4	2	4
+	4	1	3	1	1	0
-	5	3	0	0	1	0
	NS		NS		NS	
MMP-9						
	LAD		GSV		PV	
	MB (-) n=13	MB (+) n=7	varicose n=17	control n=7	LC (+) n=11	LC (-) n=9
≡	0	0	0	0	0	0
≡	0	0	0	0	0	0
≡	1	0	4	0	1	0
+	3	0	9	4	2	3
-	9	7	4	3	8	6
	NS		NS		NS	
TIMP-1						
	LAD		GSV		PV	
	MB (-) n=13	MB (+) n=7	varicose n=17	control n=7	LC (+) n=11	LC (-) n=9
≡	0	0	0	0	2	0
≡	0	1	0	1	0	0
≡	1	2	2	1	3	1
+	6	1	3	3	4	6
-	6	3	12	2	2	2
	NS		NS		NS	
TIMP-2						
	LAD		GSV		PV	
	MB (-) n=13	MB (+) n=7	varicose n=17	control n=7	LC (+) n=11	LC (-) n=9
≡	1	0	7	3	10	8
≡	3	1	2	1	1	1
≡	4	0	2	1	0	0
+	3	2	6	2	0	0
-	2	4	0	0	0	0
	NS		NS		NS	
PH (prolyl 4-hydroxylase)						
	LAD		GSV		PV	
	MB (-) n=13	MB (+) n=7	varicose n=17	control n=7	LC (+) n=11	LC (-) n=9
≡	0	2	1	0	4	0
≡	2	2	0	0	3	0
≡	2	0	3	0	1	1
+	4	1	9	1	2	3
-	5	2	4	6	1	5
	NS		P<0.01		P<0.01	

≡ : diffusely scattered positive cells more than 50%, ≡ : moderate amount of positive cells,
 ≡ : small amount of positive cells, + : scattered positive cells less than 5%, - : negative
 result, NS : no significant. Significance was analyzed by Mann-Whitney's U test.

Fig. 3 Immunohistochemistries for MMP-1 (a and b) and PH (c and d) of LADs. MMP-1 positive cells are numerous present in LAD MB (+) wall (b), while not shown in LAD MB (-) (a). However, PH is expressed in the intimal cells of LAD MB (-) (c), while not shown in LAD MB (+) wall (d). a. $\times 25$, b. $\times 80$, c. $\times 40$, d. $\times 100$.

脂肪線条や線維細胞斑を形成する内膜内の細胞に目立った。PHは9例に軽度～中等度の陽性像を認めた。一方、LAD MB (+) では、4例に軽度の内膜線維細胞性肥厚を認めたが、全例とも動脈硬化性病変を欠いていた。MMP-1は、全例とも内皮細胞や内・中膜 SMC に陽性で、MMP-2は4例で主に SMC に陽性であった。MMP-9は全例陰性、TIMP-1および-2は3例で軽度発現がみられた。PHは5例の内皮細胞および SMC に陽性像が認められた。

同様に、GSV および PV の各免疫組織化学の結果を、上記 LAD とともに Table 2 にまとめた。

III. 考 察

SC は、Ehlers-Danlos 症候群、皮膚弛緩症および骨形成不全症の皮膚真皮や⁸⁾、動脈硬化症、Marfan 症候群に起因する動脈瘤動脈炎、Buerger 病および糖尿病性血管障害の動脈壁、さらに静脈瘤壁にも観察されている⁹⁻¹³⁾。しかし、剖検例の検索では、SC は正常動静脈に高頻度に認められ、必ずしも病的血管のみに出現する特殊なコラーゲン線維ではなく、むしろ正常血管壁に普遍的に存在する間質コラーゲンであると考えられる⁴⁾。今回の観察でも、LAD MB (+) や正常静脈には、対照の病的血管に比較して、SC は有意に高度に分布していた。

LAD MB (+) の内膜は高張り応力の影響下にあり、LAD MB (-) に比して動脈硬化性病変が生じにくく¹⁴⁾、今回の7例の LAD MB (+) にも脂肪線条やアテローム性硬化症は認められず、MMP-1 陽性程度が高かった。MMP-1 は、collagen type I, II, III を分解するが、その機能を抑制する TIMP-1⁶⁾ の分布程度は両 LAD 群間で差がなく、動

脈壁のコラーゲン分解能は、LAD MB (-) で低下していると思われる。しかし、MMP-2 は両群間で差がなく、これまでの報告のごとく⁶⁾、ほぼ一定の産生が保たれていると思われる。また、好中球やマクロファージの産生する MMP-9 も¹⁵⁾、両群に有意差を認めなかった。一方、コラーゲン合成の指標とされる PH は¹⁶⁾、MB の有無により差がなく、LAD 内膜肥厚の主因はコラーゲン合成亢進よりも、むしろコラーゲン分解能低下に起因するものと考えられる。

上述のように、SC は MMP-1 分布の多い LAD MB (+) の壁内に高頻度かつ高密度に観察され、血行力学的変貌が MMP-1 産生に影響し、さらに SC 形成にも関与している可能性が示唆された。そこで、静脈壁においても、血行力学的変化による同様の変化が生じているかを検索した。Varicose GSV は屈曲性変化が強く、内膜は内圧上昇のみならず複雑な血流の影響を受けていると考えられる¹⁷⁾。その肥厚した内・中膜では正常群に比較して MMP-1 が有意に少なく、SC の分布程度も同様に減少しており、コラーゲン合成の指標である PH は増加していた。すなわち、varicose GSV 壁ではコラーゲン合成増加と MMP-1 産生低下により、コラーゲン線維が増加したと考えられた。一方、PV LC (+) は、肝内血管床減少による二次的な門脈内圧亢進が生じており¹⁸⁾、その結果、MMP-1 産生低下および PH の増加がおり、門脈内膜肥厚が生じたと思われる。また、SC は PV LC (+) で少ない傾向が認められ、GSV や PV といった静脈でも、内圧上昇や複雑な血流変化などの血行力学的変化が、壁内のコラーゲン産生・分解能に影響をおよぼし、SC の分布程度にも差異を生じさせたと考えられる。

SC の形成機転に関してはいまだ不明であるが、一般にコラーゲン線維の変性・病的変化、あるいは正常コラーゲン線維の形成過程または分解過程で形成されるものと解釈されている。しかし、SC の形態および MMP-1 産生と SC 分布の平衡関係から、SC はいったん MMP-1 により分解されたあとに形成された denatured collagen fibrils が再重合した線維である可能性が指摘される。

結 論

血管内腔の低張り応力化や内圧上昇などの血行力学的変化は動脈・静脈壁のコラーゲン代謝の変貌に寄与し、正常血管壁にひろく分布する spiraled collagen の出現低下にみるようにコラーゲン線維の質的变化にも関与していると考えられる。

文 献

- 1) Nguyen ND and Haque AK: Effect of hemodynamic

- factors on atherosclerosis in the abdominal aorta. *Atherosclerosis*, 84 : 33-39, 1990
- 2) Ishii T, Hosoda Y, Osaka T, Imai T, Shimada H, and Takami A : The significance of myocardial bridge upon atherosclerosis in the left anterior descending coronary artery. *J Pathol*, 148 : 279-291, 1986
 - 3) Ishii T, Asuwa N, Masuda S, Ishikawa Y, and Shimada K : Atherosclerosis suppression in the left anterior descending coronary artery by the presence of a myocardial bridge : an ultrastructural study. *Mod Pathol*, 4 : 424-431, 1991
 - 4) Ishii T and Asuwa N : Spiraled collagen in the major vessels. *Mod Pathol*, 9 : 843-848, 1996
 - 5) Dollery CM, McEwan JR, and Henney AM : Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res*, 77 : 863-868, 1995
 - 6) Emonard H and Grimaud JA : Matrix metalloproteinases : a review. *Cell Moll Biol*, 36 : 131-153, 1990
 - 7) Herron GS, Banda MJ, Clark EJ, Gavrilovic J, and Werb Z : Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. *J Biol Chem*, 261 : 2814-2818, 1986
 - 8) Holbrook KA and Byers P : Structural abnormalities in the dermal collagen and elastic matrix from the skin of patients with inherited connective tissue disorders. *J Invest Dermatol*, 79 : 7-20, 1982
 - 9) Stehbens WE and Martin BJ : Ultrastructural alterations of collagen fibrils in blood vessel walls. *Connect Tissue Res*, 29 : 319-331, 1993
 - 10) Scheck M, Siegel RC, Parker J, Chang Y, and Fu JCC : Aortic aneurysm in Marfan's syndrome : changes in the ultra structure and composition of collagen. *J Anat*, 129 : 645-657, 1979
 - 11) Staubesand J and Fisher N : The ultra structural characteristics of abnormal collagen fibrils in various organs. *Connect Tissue Res*, 7 : 213-217, 1980
 - 12) Peracchica C and Vassallo C : Alterations in collagen in the arteries of thromboangitic patients. *Angiology*, 17 : 451-459, 1966
 - 13) Grobety J and Bouvier CA : Studies on normal and varicose human saphenous veins. *Bibl Anat*, 16 : 298-300, 1977
 - 14) Ishii T, Asuwa N, Masuda S, and Ishikawa Y : The effects of a myocardial bridge on coronary atherosclerosis and ischemia. *J Pathol*, 185 : 4-9, 1998
 - 15) Katsuda S, Okada Y, Okada Y, Imai K, and Nakanishi I : Matrix metalloproteinase-9 (92-kd gelatinase/type IV collagenase equals gelatinase B) can degrade arterial elastin. *Am J Pathol*, 145 : 1208-1218, 1994
 - 16) Bai Y, Muragami Y, Obata K, Iwata K, and Ooshima A : Immunological properties of monoclonal antibodies to human and rat prolyl 4-hydroxylase. *J Biochem*, 99 : 1563-1570, 1986
 - 17) Ross SS and Ahmed A : Some thoughts on the etiology of varicose veins. *J Cardiovasc Surg*, 27 : 534-544, 1986
 - 18) Groszmann RJ and Atterbury CE : The pathophysiology of portal hypertension : a basis of classification. *Semi Liver Dis*, 2 : 177-186, 1982