トピックス

II. 促進因子 病因と病態

2. 病理面から：冠動脈を中心に

稲葉真由美¹⁾ 杉岡 憲一²⁾ 上田真喜子¹⁾

要 旨

ヒト冠動脈における動脈硬化性プラークでは、内皮細胞の機能障害の進行や、傷害の反復によって炎症細胞の集積が増強し、プラークの不安定化が進行する。破裂性プラークやびらん性プラークは代表的な不安定プラークである。最近、病理学的研究により、ヒトのプラーク不安定化における好中球浸潤やミエロペルオキシダーゼ（MPO）放出の意義が明らかとなり、さらにプラーク内出血や赤血球血栓と酸化ストレス亢進との関連性も明らかにされつつある。

〔日内会誌 102：297～304, 2013〕

Key words 不安定プラーク, プラーク炎症, 酸化ストレス

はじめに

動脈硬化症の予知・予防、および早期診断・治療は、世界の医学・医療の最重要課題の一つとして広く認識されている。わが国でもライフスタイルの欧米化などを背景に、動脈硬化性病変の進展と病的血栓形成を原因とする心血管疾患、脳血管障害の罹患率が増加している。そのため、動脈硬化の進展・不安定化メカニズムの解明や、それに基づいた有効な予知・予防・治療法の開発が重要視されている。本稿では、冠動脈の動脈硬化病変および不安定プラークの形態学的特徴を示すとともに、プラーク不安定化

を促進する種々の因子について概説する。

1. ヒト冠動脈における動脈硬化病変の進展と内皮細胞傷害

血管内腔面に存在する1層の内皮細胞は、血管内血液凝固を起こさないように機能している。しかし、この内皮細胞に機能障害や傷害がもたらされると、接着因子の発現、白血球の遊走・接着、内皮細胞層の透過性亢進などが起こり、単球に由来するマクロファージやTリンパ球などの炎症細胞のプラーク内への浸潤が増加する。

われわれはこれまで、ヒトの冠動脈内皮細胞のテロメア長を測定し、ヒトの冠動脈硬化巣で

¹⁾ 大阪市立大学大学院医学研究科病理病態学, ²⁾ 同 医学研究科循環器病態内科学

Atherosclerosis: Progress in Diagnosis and Treatments. Topics: II. Atherosclerosis-Promoting Factors; Pathogenesis and Pathophysiology; 2. Pathophysiology of coronary atherosclerosis.

Mayumi Inaba¹⁾, Kenichi Sugioka²⁾ and Makiko Ueda¹⁾; ¹⁾ Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine, Japan and ²⁾ Department of Internal Medicine and Cardiology, Osaka City University Graduate School of Medicine, Japan.

トピックス

図 1. 脂質に富むプラークにおけるプラーク破裂
巨大な脂質コア (LC) を被覆する線維性被膜 (FC)
の一部に破裂 (→) が認められる。破裂箇所周囲
には血栓 (T) の形成がみられる。

M=中膜

エラスチカ・ワンギーソン染色。

図 2. プラークびらん部位にみられるマクロ
ファージ集積

内腔 (L) には壁血栓 (→) が形成されており、
プラーク内には多数のマクロファージ (赤) の集
積がみられる。

M=中膜

平滑筋細胞 (青) とマクロファージ (赤) の免疫
二重染色

は内皮細胞のテロメア長が高度に短縮していることを明らかにしている。このことは、ヒト冠動脈では、内皮細胞の反復性傷害が、冠動脈硬化の形成・進展に密接に関与していることを強く示唆している。このように、ヒト冠動脈の動脈硬化性プラークでは、内皮細胞の機能障害 (dys-function) が進行したり、傷害 (injury) が反復性に起こって高度になるに伴い、次第に炎症細胞の集積が増強して、プラークの組織構築の脆弱化や不安定化が進行していくと考えられる。

2. 不安定プラークの組織病理学的特徴

1980 年代の半ば、Daviesらは剖検例を用いて、急性心筋梗塞 (AMI) や不安定狭心症 (UAP) などの冠動脈責任病変を病理学的に検討し、冠動脈責任病変には、脂質に富むプラークの菲薄した線維性被膜の破裂とそれに伴う内腔の血栓形成、いわゆる「プラーク破裂 (plaque rupture)」が認められることを明らかにした。それ以降、破裂を起こしやすいプラークの特徴として、脂質コア (アテローム) が大きく、さらに局所的に菲薄化した線維性被膜を有していることが挙

げられている (図 1)。一方、アムステルダム大学病理学教室のBeckerらのグループは、1994 年、AMIの冠動脈責任病変の病理学的研究について報告し、60% の症例にはプラーク破裂が認められるものの、残りの 40% の症例ではプラーク破裂所見は認められず、むしろ高度な内皮細胞傷害に伴う閉塞性血栓像、すなわち「プラークびらん (plaque erosion)」の所見が認められることを明らかにした¹⁾。このように従来の病理学的研究から、破裂性プラークやびらん性プラークは代表的な不安定プラークであることが明らかにされている。

3. プラーク不安定化におけるプラーク炎症の関与

1) マクロファージ

近年、剖検や冠動脈アテレクトミー材料の免疫組織化学的研究により、不安定プラークでは多数のマクロファージが存在することが明らかにされている (図 2)。マクロファージは、コラ

図3. 酸化LDL陽性の泡沫化マクロファージの集積
不安定プラークには多数の泡沫化マクロファージの集積がみられ、これらの泡沫細胞は酸化LDL陽性である。
抗酸化LDL抗体を用いた免疫単染色

ゲナーゼ、マトリックスメタロプロテアーゼなどの種々の蛋白分解酵素を産生することが明らかにされており、これらの蛋白分解酵素は、線維性被膜に存在する膠原線維その他の細胞外マトリックスに作用して、組織の脆弱化を惹き起こす可能性が示唆されている。また、マクロファージはスカベンジャーレセプターを発現して酸化LDL (low density lipoprotein) をとりこみ、泡沫化マクロファージに変化しうる²⁾(図3)。泡沫化マクロファージが集積すると、細胞外脂質の集積と相まって、次第にアテローム(粥腫)が形成される。さらにマクロファージは、インターフェロン γ の刺激により活性化してネオプテリン(後述)を産生・分泌する働きもある。

2) Tリンパ球

これまでの研究から、ヒト動脈硬化病変では、慢性炎症細胞であるマクロファージとTリンパ球がしばしば密着して共存し、かつ活性化状態を示すことが明らかにされている。CD4を抗原にもつTリンパ球は、Th1とTh2の2つの異なったタイプに分類される。Th1はマクロファージ、

好中球、CD8陽性Tリンパ球を活性化する。一方Th2はBリンパ球の抗体産生亢進を促進する。ヒトの動脈硬化病変には、多数のTh1細胞と少数のTh2細胞が同定されている。これまでの種々の研究からヒトの動脈硬化病変や急性冠症候群(ACS)は、Th1細胞が主体の疾患であることが報告されている³⁾。

不安定プラークにおいては、活性化されたTリンパ球はインターフェロン γ を産生する。このインターフェロン γ は、プラーク内マクロファージを活性化するとともに、活性化されたマクロファージよりネオプテリンを産生・分泌させる働きがある⁴⁾。われわれは最近、不安定プラークではネオプテリン陽性マクロファージが有意($P < 0.001$)に多く、CD3陽性のTリンパ球数と正の相関を示していることを報告している⁵⁾(図4)。ネオプテリンは、炎症の際に種々の細胞から生成される活性酸素種の酸化能を増強することが明らかにされている。また、活性化したTリンパ球は酸化LDLの産生に深く関与していることが報告されている。従って、ヒトの不安定プラークにおけるTリンパ球は、酸化ストレスの増大にも寄与し、プラーク不安定性の進展やひいてはACSの発症に関与していることが強く示唆される。

3) 好中球

われわれは、免疫組織化学的方法を用いて、プラーク破裂やプラークびらんなどの不安定プラークにはマクロファージやTリンパ球などの慢性炎症細胞の集積のみならず、急性炎症細胞である好中球の浸潤が高度に認められることをはじめて明らかにしている⁶⁾(図5)。このように、ヒト不安定プラークにおける好中球の浸潤と活性化、および活性酸素の産生は、プラーク炎症部位局所の酸化ストレスを著明に増強することが強く示唆される。

ミエロペルオキシダーゼ(MPO)は主として好中球に存在する強力な酸化物質であり、抗酸

トピックス

図4. ネオプテリン陽性マクロファージスコアと好中球数, Tリンパ球数との相関

A: ネオプテリン陽性マクロファージスコアは, Tリンパ球数と正の相関を示す. ($r=0.70$, $p<0.001$)

B: ネオプテリン陽性マクロファージスコアは, 好中球数と正の相関を示す. ($r=0.55$, $p<0.001$)

(文献5より引用)

図5. プラークびらん部位にみられる好中球浸潤
プラークびらん部位には, 内腔の血栓部とプラーク内に多数の好中球浸潤がみられる.

抗好中球CD66b抗体を用いた免疫単染色

化物質の多い血液中においてもLDLの酸化を引き起こす能力があることが報告されている⁷⁾. また, MPOは炎症性刺激により活性化好中球から細胞外に放出されることが明らかにされている. われわれはこれまで, AMIやUAPの責任病変に集積した好中球はMPOを発現していることを報告してきている⁶⁾. 不安定プラークに浸潤した好中球からのMPOの脱顆粒は, 局所的に酸化スト

レスをさらに増大させると考えられる.

近年, ACSの発症予知に関連した種々の血液バイオマーカーが明らかにされているが, ACS患者の血中MPO値は, 安定狭心症(stable angina pectoris: SAP)患者に比べ, 有意に高値を示すことが報告されている. 最近われわれも, AMI群やUAP群の血漿中MPO値は, SAP群の血漿中MPO値に比べ, 有意に高値であることを報告している. さらに, UAP群のMPO高値例では血管造影上の複雑病変の頻度やBraunwald分類IIIBの頻度が高いことや, UAP群では血漿中MPO値と責任病変におけるMPO陽性細胞数が正の相関を示していることなども明らかにしている⁸⁾ (図6). これらの研究成果は, 血中MPO値の上昇とプラーク不安定性との密接な関連を強く示唆している.

4. プラーク石灰化とSpotty Calcification

従来からプラークの石灰化は, 病理学的に, 長期間にわたって進行した動脈硬化巣を示す所見として広く考えられてきた. しかし, プラーク

図 6. 冠動脈造影上の複雑病変におけるMPO陽性好中球の集積

- A 同部位にはマクロファージ（赤）の集積が認められる。
平滑筋細胞（青）とマクロファージ（赤）の免疫二重染色
B 同部位にはMPO陽性好中球の浸潤も認められる。
抗MPO抗体を用いた免疫単染色

図 7. 急性心筋梗塞群（AMI）、不安定狭心症群（UAP）、および安定狭心症群（SAP）の冠動脈責任病変に存在する各石灰沈着巣の角度の分布

90度以下の石灰沈着巣の割合は、AMI群とUAP群で多い。（文献9より引用）

ク不安定性と石灰化との関連性については、長い間、論議が分かれていた。たとえばAMIの責任病変では、SAPの責任病変と比較して、病理学的に石灰化の程度や拡がりには少ないという論

文があったり、逆に、心臓突然死例のプラーク破裂部位には、石灰化が高頻度（69％）に認められるという論文などが報告されていた。

我々は、我々自身の長年の病理学的研究を通

トピックス

図 8. 不安定狭心症の責任病変でのプラーク内出血，新生血管の発現，およびヘモグロビンスカベンジャーレセプター CD163 の発現

A 同部位の冠動脈責任病変には，赤血球の膜蛋白であるglycophorin Aの局在が認められる．

抗glycophorin A抗体を用いた免疫単染色

B 同部位には，新生血管の形成が認められる．

抗CD31 抗体を用いた免疫単染色

C ヘモグロビンスカベンジャーレセプター CD163 の発現が認められる．

抗ヘモグロビンスカベンジャーレセプター CD163 抗体を用いた免疫単染色

じ，「ヒト冠動脈のプラーク破裂部位には，小さな石灰沈着巣が多い」との病理所見を得ていたので，これを客観的に検証するために，臨床循環器グループと共同で，AMI群とUAP群，およびSAP群の責任病変を血管内超音波法(IVUS)を用いて詳細に解析した．そして，AMIとUAPの冠動脈責任病変では，90 度以下の小石灰沈着巣が高頻度に認められることを明らかにし，さらに，このような特徴的な小石灰沈着パターンを「spotty calcification」と名づけて報告した⁹⁾(図 7)．

このように，AMI例やUAP例の不安定プラークでは，石灰化が比較的少ないが，全く石灰化がないわけではなく，むしろ小さい斑点状の石

灰沈着であるspotty calcificationが高頻度に認められることが明らかとなった．

5. プラーク内出血の関与

近年，不安定プラークの形成におけるプラーク内出血の意義が注目されている¹⁰⁾．我々は最近，冠動脈アテレクトミー組織材料を用いて，不安定プラークでは，安定プラークより，有意にプラーク内出血やヘモグロビンスカベンジャーレセプターCD163 の発現，および新生血管の頻度が高いことを明らかにしている¹¹⁾(図 8)．さらに，ヘモグロビンスカベンジャーレセプターCD163 の発現の程度は，プラーク内出血や酸化ストレ

図9. 血栓吸引カテーテルにより急性心筋梗塞の冠動脈閉塞部位から得られた赤血球の高度な血栓には、多数のMPO陽性細胞の集積を認める。

A 抗glycophorin A抗体を用いた免疫単染色

B 抗ミエロペルオキシダーゼ抗体（MPO-7）抗体を用いた免疫単染色

スと有意に正相関することも報告している¹¹⁾。これらの結果より、プラーク内新生血管、特にプラーク内に新生した未熟な毛細血管はプラーク内出血の一因を担っていると考えられ、またプラーク内新生血管から由来する炎症細胞の集積は、プラーク局所の酸化ストレスをさらに増強していくものと推測される。

6. 血栓の関与

最近、血栓吸引や末梢保護デバイスの進歩により、AMIの冠動脈責任病変に存在する血栓を病理学的に正確に評価することができるようになってきた。そこで、われわれは、ST上昇型AMIの症例から血栓吸引療法を用いて得られた血栓の病理学的検討を行った。発症12時間以内と比較的早期に来院したST上昇型AMI例では、血栓は血小板主体の白色血栓から赤血球成分に富んだ赤色血栓まで多様性に富んでいた¹²⁾。そして、赤血球成分が高度な血栓では赤血球成分が乏しい血栓と比較して、MPO陽性細胞数が有意に多く認められた（図9）。また赤血球成分が高度な血栓群では好中球の活性化や酸化ストレスの指標となる血漿中MPO値や血漿中酸化LDL値の有

意な上昇が認められた¹²⁾。これらの結果より、ST上昇型AMI例における赤血球成分に富む血栓の存在は、局所の炎症のみならず、全身の好中球の活性化や酸化ストレスの亢進と関連していることが示唆される。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) van der Wal AC, et al: Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 89: 36-44, 1994.
- 2) Kayo S, et al: Oxidized low-density lipoprotein levels circulating in plasma and deposited in the tissues: comparison between *Helicobacter pylori*-associated gastritis and acute myocardial infarction. *Am Heart J* 148: 818-825, 2004.
- 3) Methe H, et al: Enhanced T-helper-1 lymphocyte activation patterns in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 45: 1939-1945, 2005.
- 4) Fuchs D, et al: Neopterin, biochemistry and clinical use as a marker for cellular immune reactions. *Int Arch Allergy Immunol* 101: 1-6, 1993.
- 5) Adachi T, et al: Neopterin is associated with plaque inflammation and destabilisation in human coronary atherosclerotic lesions. *Heart* 93: 1537-1541, 2007.
- 6) Naruko T, et al: Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 106: 2894-2900,

トピックス

- 2002.
- 7) Zhang R, et al : Defects in leukocyte-mediated initiation of lipid peroxidation in plasma as studied in myeloperoxidase-deficient subjects : systematic identification of multiple endogenous diffusible substrates for myeloperoxidase in plasma. *Blood* 99 : 1802-1810, 2002.
 - 8) Naruko T, et al : Increased expression and plasma levels of myeloperoxidase are closely related to the presence of angiographically-detected complex lesion morphology in unstable angina. *Heart* 96 : 1716-1722, 2010.
 - 9) Ehara S, et al : Spotty calcification typifies the culprit plaque in patients with acute myocardial infarction. An intravascular ultrasound study. *Circulation* 110 : 3424-3429, 2004.
 - 10) Kolodgie FD, et al : Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Eng J Med* 349 : 2316-2325, 2003.
 - 11) Yunoki K, et al : Enhanced expression of hemoglobin scavenger receptor in accumulated macrophages of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 30 : 1844-1852, 2009.
 - 12) Yunoki K, et al : Erythrocyte-rich thrombus aspirated from patients with ST-elevation myocardial infarction : association with oxidative stress and its impact on myocardial reperfusion. *Eur Heart J* 33 : 1480-1490, 2012.
-