原 著

頸部内頸動脈狭窄病変のプラークの形成・増大・発症の機序 —病理所見と血液マーカーによる検討—

西川 節¹, 國廣 譽世², 有馬 大紀³, 中西 勇太¹,
長濱 篤文², 高 沙野², 田上 雄大¹, 生野 弘道¹

Pathogenesis of Plaque in the Internal Carotid Artery and Development of Symptoms: Histological Findings and Serum Markers

Misao NISHIKAWA, M.D., Ph.D.¹, Noritsugu KUNIHIRO, M.D.², Hironori ARIMA, M.D.³,
Yuta NAKANISHI, M.D.¹, Atsufumi NAGAHAMA, M.D.², Saya KOH, M.D.², Yuta TANOUE, M.D.¹, and
Hiromichi IKUNO, M.D.¹

¹Department of Neurosurgery, Moriguchi-Ikuno Memorial Hospital, Moriguchi, ²Department of
Neurosurgery, Osaka City General Hospital, and ³Department of Neurosurgery, Osaka City
University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

Summary: Purpose: This study examined the histological findings of plaque, the mechanism of plaque development, and the appearance of neurological symptoms.

Materials and Methods: We evaluated 30 patients who underwent carotid endarterectomy (CEA) and carotid artery stent placement (CAS) for stenosis. Specimens of carotid plaque were examined histologically. Serum neopterin and myeloperoxidase were measured before and after surgery.

Results: Histological findings clearly demonstrated a fibrous cap, hemorrhage, neovascularization, and lipoprotein in plaque. The levels of neopterin and myeloperoxidase were significantly higher in symptomatic cases, and decreased after surgery.

Conclusion: This study suggested the potential for a systemic approach in the study of atheromatous plaque using histology and serum markers (neopterin and myeloperoxidase). These findings clarified the development of carotid artery plaque and mechanisms of symptom development. The results suggested that an inflammatory cascade participated in the development of plaque.

Key words:

- ・ carotid artery stenosis
- ・ carotid plaque
- ・ histology
- ・ neopterin
- ・ myeloperoxidase

Surg Cereb Stroke
(Jpn) 46: 363-368, 2018

はじめに

頸動脈狭窄病変におけるプラークは、脳虚血・脳梗塞の重大な原因であるため、血管の画像診断において、血管内腔の狭窄率とプラークの性状を診断し、脳虚血・脳梗塞の

発症を未然に予防、治療することが重要となった⁶⁾⁷⁾¹²⁾¹³⁾¹⁶⁾。そこで、頸動脈狭窄病変におけるプラークの性状の画像診断について多く報告されるようになった²⁾⁻⁷⁾¹⁰⁾⁻¹³⁾¹⁹⁾²⁰⁾。MRI 所見の輝度から、症候性プラークと無症候性プラークを判定している報告も散見される⁹⁾¹⁶⁾¹⁹⁾²⁰⁾。しかし、頸

¹守口生野記念病院 脳神経外科, ²大阪市立総合医療センター 脳神経外科, ³大阪市立大学大学院 脳神経外科(受稿日 2017. 8. 28)(脱稿日 2017. 12. 12)[連絡先: 〒570-0002 大阪府守口市佐太中町 6-17-33 社会医療法人弘道会 守口生野記念病院 脳神経外科 西川 節]
[Address correspondence: Misao NISHIKAWA, M.D., Ph.D., Department of Neurosurgery, Moriguchi-Ikuno Memorial Hospital, 6-17-33 Satanakamachi, Moriguchi, Osaka 570-0002, Japan]

動脈狭窄におけるプラークの詳細な病理所見、プラークの形成・増大のメカニズムまで検討した報告は少ない¹⁴⁾¹⁵⁾。一方、冠動脈におけるプラーク形成の要因として、炎症とその修復過程によるものととらえる報告がある¹⁾⁸⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。その中には炎症とその修復過程において、血中に放出される因子を計測している報告もみられる¹⁷⁾¹⁸⁾。

著者らは、手術により摘出したプラークの病理学的所見を症候性と無症候性に分けて検討した。また、内頸動脈においても、プラークの形成・増大に炎症反応がかかわっているのではないかとの見地から、術前後に炎症反応の血液マーカーである血中ネオプテリン濃度、血中ミエロペロキシダーゼ濃度を計測した¹⁸⁾¹⁹⁾。これらの結果から、プラークの形成・増大・発症のメカニズムを考察した。

対象と方法

対象は2010-2016年に経験した頸部内頸動脈狭窄症のうち、内膜剝離術(carotid endo-arterectomy: CEA)を行った22例と頸動脈ステント留置術(carotid artery stent placement: CAS)を行った8例の計30例〔男性18例、女性12例、65-81歳(平均年齢72.2歳±9)〕であった。症候性: 24例(CEA: 20例, CAS: 4例)、無症候性: 6例(CEA: 2例, CAS: 4例)であった。外科治療前に2次元造影CT scanにおいて、冠動脈プラーク、上行大動脈、胸部大動脈、腹部大動脈に解離性動脈瘤のないことを確認した。

症候のあった症例のプラークを症候性プラーク(24例)、無症候な症例のプラークを無症候性プラーク(6例)とした¹⁰⁾¹⁶⁾。

CEAの際に摘出した病変(プラーク)は、摘出後、矢状断と横断を写真撮影した。症候性プラークが20例、無症候性プラークが2例であった。写真撮影後、凍結保存し、Hematoxylin-Eosin染色、Elastica van Gieson stain染色、RBC染色、ネオプテリン染色、macrophage(CD-58)染色、platelet(GP II B/IIIa)染色を施した¹⁾⁸⁾。

術前1週間以内と術後3カ月に血中ネオプテリン濃度、血中ミエロペロキシダーゼ濃度を計測した。頸動脈病変、冠動脈病変、大動脈に動脈硬化性病変をもたないコントロール群24例で、同様に血中ネオプテリン濃度、血中ミエロペロキシダーゼ濃度を計測した¹⁸⁾¹⁹⁾。統計処理としては、2群間の平均値の比較にはMann-Whitney検定を、3群間以上の比較にはKruskal-Wallis検定を用いて評価し、 $p < 0.01$ を有意差があるとした。

ネオプテリン、ミエロペロキシダーゼ(Fig. 1)¹⁷⁾¹⁸⁾

ネオプテリンは、さまざまな炎症性プロセスの中心的サイトカインであるインターフェロン γ の刺激により活性化

マクロファージから産生、分泌される7,8-dihydroneopterinの酸化産物である。炎症の際に種々の細胞から産生される活性酸素の酸化能を増強する。また、不安定プラークを有する不安定狭心症では高値を示すことが報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。

ミエロペロキシダーゼは、インターフェロンなどによって炎症局所に引き寄せられた好中球や一部の単球内にあって、過酸化水素水(H_2O_2)から次亜塩素酸($HOCl$)を産生する。この次亜塩素酸は強力な酸化作用を有しており、炎症局所の酸化反応を促進させる。中でも、7,8-dihydroneopterinの酸化反応を促進している。このミエロペロキシダーゼも冠動脈の不安定性プラークで高値を示すことが報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。

結 果

病理組織所見の特徴は、プラーク表面の弾性線維で形成されたfibrous cap、プラーク内の脂肪タンパク成分に富んだlipid core、マクロファージ、好中球、T-cellの浸潤、新生血管、出血であった。症候性プラークでは、プラーク内に出血を認めた例や、fibrous capが断裂して、血管腔内にlipid coreから続いてlipoproteinが進入していたり、出血が血管腔に及んでいる例(20例中17例)が多かった(症例, Fig. 2)。残る症候性プラークの3例ではいずれもプラーク表面は分厚いfibrous capに覆われており、断裂、プラークが破裂したような部分は見当たらなかった。また、プラークが大きく、血管内腔断面積の80%以上を占めていた。一方、CEAで病理組織の得られた無症候性プラークの2例ではいずれもプラーク表面は分厚いfibrous capに覆われており、断裂、プラークが破裂したような部分は見当たらなかった。また、プラークは血管内腔断面積の60%程度を占めるのみであった。

頸動脈狭窄群では、血中ネオプテリン値はコントロール群に比べて有意に高く、症候性頸動脈狭窄群($n=24$)は、無症候性頸動脈狭窄群($n=6$)より有意に高かった。また血中ミエロペロキシダーゼ値もコントロール群に比べて有意に高く、症候性頸動脈狭窄群($n=24$)は、無症候性頸動脈狭窄群($n=6$)より有意に高かった。血中ネオプテリン値、血中ミエロペロキシダーゼ値ともに、術後は術前に比べて有意に低下した(Fig. 3)。

症 例

71歳の男性で、左片麻痺で発症した。右大脳半球に脳梗塞巣を認めた。発症より3週間後に内頸動脈内膜剝離術を行った。その際に採取したプラークの病理組織では、薄いfibrous capに覆われたlipid coreは一部破裂しており、血管腔内にプラーク内のlipid coreから続いて脂肪成

Fig. 1 Molecular cascade in inflammation.
Neopterin (D-erythro-1', 2', 3'-trihydroxypropylpterin)¹⁸⁾⁽¹⁹⁾.

分が存在していた(**Fig. 2A, B**)。また、プラーク内には血小板、赤血球が存在しており、出血成分があった(**Fig. 2C-E**)。T cell 染色では、T cell がみられた(**Fig. 2F**)。マクロファージ、ネオプテリン染色ではいずれも著明に染色された(**Fig. 2G-I**)。血中ネオプテリン値は 15.6 nmol/L、血中ミエロペロキシダーゼ値は 37.8 ng/L であった。

考 察

頸部内頸動脈狭窄病変のプラークの病理組織所見では fibrous cap, lipid core, 出血, 血管新生を観察することができた¹⁴⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁰⁾。症候性のプラークは、lipoprotein や出血の成分を多く含んだプラークであった。一部にマクロファージの浸潤、血管新生がみられた。さらに症候性プラーク症例では、fibrous cap が断裂し、血管腔内に lipoprotein が進出している例や、プラーク内の出血が fibrous cap を破って、血管腔内にまで及んでいる例が多かった(症例)(**Fig. 2**)。これらのことから、プラークの破綻によって、lipoprotein や出血が血管内腔に入り、これらが原因となって、血管を閉塞したり、塞栓源となって症候が出現することが示唆された。残る症候性プラークの 2 例ではいずれもプラークが大きく、血管内腔断面積の 80% 以上を占めていた。一方、無症候性のプラークは、プラーク内に lipoprotein, lipid core を認めるものの、分厚い fibrous cap に覆われている例が多く、fibrous cap が断裂した部分

は見当たらなかった。病理組織で示されたこれらの所見がいかんして生じるのかについての定説はない。今回の検討においては、無症候性プラークが 6 例と少なく、このような所見の区別が常にいえるとはまでは言明できない。もう 1 つの神経症状発症の機序として推察されるのは、プラークが徐々に増大し、血管腔の大部分を占めるにいたった例では、狭窄局所での血流停滞によって血栓が生じて塞栓となったり、血圧の変動による血行動態の変化によって脳虚血神経症状が出現することも推察できた。

頸部内頸動脈のプラークでみられる病理組織所見は冠動脈における血栓形成においてみられる所見と類似していることから、頸部内頸動脈のプラークの形成・増大は、冠動脈におけるそれらと類似していると考えられた¹⁵⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。そこで、冠動脈における炎症反応の血液マーカーであるネオプテリンとミエロペロキシダーゼを術前後で測定したところ、両者は術前に上昇しており術後正常化していた¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。このことから、頸部内頸動脈のプラークも同様に、その形成、増大には、炎症反応が関与していると考えられた。すなわち、なんらかのストレス(shear stress, 酸化ストレス, 他)による血管内膜の損傷を修復するための炎症反応における脂肪タンパクの沈着、血管新生と、その血管の破綻による出血がプラークを形成、増大させると考えられた¹⁸⁾⁽¹⁹⁾。一方で、ストレスは内膜内の弾性線維を刺激し増生させ、fibrous cap を形成している。プラークの破綻す

Fig. 2 Illustrative case, histopathological findings.

A	B	C
D	E	F
G	H	I

A: Axial section of a surgical specimen showing ruptured plaque (arrow).

B: Axial section of specimen with Elastica van Gieson stain (×40) showing a fibrous cap, lipid core in the plaque, and plaque rupture point (asterisk).

C: Axial section of the specimen with H.E. stain (×40) showing the plaque and plaque rupture point (asterisk).

D: Axial section of stained specimen (×100) showing RBCs in the plaque and intravascular space.

E: Axial section of glycoprotein IIb/IIIa stained specimen (×100) showing platelets and platelet thrombus.

F: Axial section of stained specimen (×100) showing T cell invasion (blue dots).

G: Axial section of stained specimen (×40) showing macrophage invasion (brown).

H: Axial section of stained specimen (×100) showing neopterin (brown).

I: Axial section of double-stained specimen (×100) showing plaque consisting of many cells with both neopterin (violet) and macrophages (blue).

H.E.: Hematoxylin and Eosin, RBC: red blood cell, MPO: myeloperoxidase

なわちプラーク内出血によるプラーク内圧の急激な上昇から、fibrous capの脆弱な部分の断裂によって血管内腔に露出したプラーク内容物が直接血管を閉塞したり、塞栓源となって脳血管を閉塞させるために脳虚血神経症状が出現するものと推察された。Yuanら²⁰⁾は、MRI画像で、一過性脳虚血発作をきたした症例のプラークのfibrous capが断裂していることを示した。

冠動脈プラーク、大動脈解離のないことは確認しているが、全身の血管の動脈硬化性変化を除外できているわけではない。したがって、今回の結果から、炎症反応の血液マーカーの上昇が、頸部内頸動脈局所の影響であると断定するまでにはいたらない。また、症候性プラークの症例と無症候性プラークの症例の血液マーカーの値には有意差を認めたが、無症候性の症例は6例と少なく、コントロール

Fig. 3 Quantitative analysis of neopterin and myeloperoxidase in controls and patients, before and after surgery.

A: The mean level of neopterin in controls was 8.7 nmol/L (standard deviation [S.D.] 2.7), with 17.8 nmol/L (S.D. 4.5) in symptomatic patients and 12.8 nmol/L (S.D. 4.3) in asymptomatic patients. The level of neopterin was significantly higher in patients than in controls ($p < 0.001$). The level of neopterin in symptomatic patients was significantly higher than in asymptomatic patients ($p < 0.01$).

B: The mean level of MPO in controls was 16.5 ng/mL (S.D. 2.8), with 47.8 ng/mL (S.D. 15.4) in symptomatic patients and 39.6 ng/mL (S.D. 14.4) in asymptomatic patients. The level of MPO in patients was significantly higher than in controls ($p < 0.001$). The level of MPO in symptomatic patients was significantly higher than in asymptomatic patients ($p < 0.01$).

C: The mean level of neopterin before surgery was 15.2 nmol/L (S.D. 4.2), with 11.2 nmol/L (S.D. 3.3) after surgery. The level of neopterin was significantly decreased after surgery ($p < 0.01$).

D: The mean level of MPO before surgery was 44.8 ng/mL (S.D. 12.3), with 22.5 ng/mL (S.D. 8.4) after surgery. The level of MPO was significantly decreased after surgery ($p < 0.001$).

MPO: myeloperoxidase

群, 症候性プラーク群, 無症候性プラーク群の間で閾値, オッズ比を示すまでにはいたらなかった.

ま と め

プラークの形成・増大には炎症反応とその修復過程, 出血が関与していることが示唆された. 症状の発現にはプラーク内の出血, fibrous cap の断裂, 破綻が原因であると考えられた.

文 献

- 1) Adachi T, Naruko T, Itoh A, *et al*: Neopterin is associated with plaque inflammation and destabilisation in human coronary atherosclerotic lesions. *Heart* 93: 1537-1541, 2007
- 2) Cai JM, Hatsukami TS, Ferguson MS, *et al*: Classification of human carotid atherosclerotic lesions with in vivo multicontrast magnetic resonance imaging. *Circulation* 106: 1368-1373, 2002
- 3) Chu B, Kampschulte A, Ferguson MS, *et al*: Hemorrhage in the atherosclerotic carotid plaque: a high resolution MRI study. *Stroke* 35: 1079-1084, 2004
- 4) Cappendijk VC, Cleutjens KB, Kessels AG, *et al*: Assessment of human atherosclerotic carotid plaque components with multisequence MR imaging: initial experience. *Radiology* 234: 487-492, 2005
- 5) Fayad ZA, Fuster V, Nikolaou K, *et al*: Computed tomography and magnetic resonance imaging for noninvasive coronary angiography and plaque imaging: current and potential future concepts. *Circulation* 106: 2026-2034, 2002
- 6) Grønholdt ML: Ultrasound and lipoproteins as predictors of lipid-rich, rupture-prone plaques in the carotid artery. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol* 19: 2-13, 1999
- 7) Hatsukami TS, Ross R, Polissar NL, *et al*: Visualization of fibrous cap thickness and rupture in human atherosclerotic carotid plaque in vivo with high-resolution magnetic resonance imaging. *Circulation* 102: 959-964, 2000
- 8) Ikuta T, Naruko T, Ikura Y, *et al*: Immunolocalization of platelet glycoprotein IIb/IIIa and P-selection, and neutrophil-platelet interaction coronary unstable plaque. *Int J Mol Med* 15: 573-577, 2005
- 9) Kramer CM: Magnetic resonance imaging to identify the high-risk plaque. *Am J Cardiol* 90: 15L-17L, 2002
- 10) Meairs S, Hennerici M: Four-dimensional ultrasonographic characterization of plaque surface motion in patients with symptomatic and asymptomatic carotid artery stenosis. *Stroke* 30: 1807-1813, 1999
- 11) Mitsumori LM, Hatsukami TS, Ferguson MS, *et al*: In vivo accuracy of multisequence MR imaging for identifying unstable fibrous caps in advanced human carotid plaques. *J Magnetic Reson Imaging* 17: 410-420, 2003
- 12) Moody AR, Murphy RE, Morgan PS, *et al*: Characterization of complicated carotid plaque with magnetic resonance direct thrombus imaging in patients with cerebral ischemia. *Circulation* 107: 3047-3052, 2003
- 13) Murphy RE, Moody AR, Morgan PS, *et al*: Prevalence of complicated carotid atheroma as detected by magnetic resonance direct thrombus imaging in patients with suspected carotid artery stenosis and previous acute cerebral ischemia. *Circulation* 107: 3053-3058, 2003
- 14) 西川 節, 西尾明正, 高見俊宏, ほか: 頸部内頸動脈狭窄病変におけるプラークの画像所見と病理所見の検討. 脳卒中の外科 34: 199-205, 2006
- 15) Saito A, Sasaki M, Ogasawara K, *et al*: Carotid plaque signal differences among four kinds of T1 weighted magnetic resonance imaging techniques: a histopathological correlation study. *Neuroradiology* 54: 1187-1194, 2012
- 16) Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, *et al*: A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 92: 1355-1374, 1995
- 17) Sugioka K, Naruko T, Hozumi T, *et al*: Elevated levels of neopterin are associated with carotid plaques with complex morphology in patients with stable angina pectoris. *Atherosclerosis* 208: 524-530, 2010
- 18) Sugioka K, Naruko T, Matsumura Y, *et al*: Neopterin and atherosclerotic plaque instability in coronary and carotid arteries. *J Atheroscler Thromb* 17: 1115-1121, 2010
- 19) Yuan C, Mitsumori LM, Ferguson MS, *et al*: In vivo accuracy of multispectral magnetic resonance imaging for identifying lipid-rich necrotic cores and intraplaque hemorrhage in advanced human carotid plaque. *Circulation* 104: 2051-2056, 2001
- 20) Yuan C, Zhang SX, Polissar NL, *et al*: Identification of fibrous cap rupture with magnetic resonance imaging is highly associated with recent transient ischemic stroke. *Circulation* 105: 181-185, 2002