

総説 (教授就任記念講演)

冠動脈疾患の病態解明と新しい診断治療技術の開発

佐田 政隆

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部器官病態修復医学講座循環器内科学分野

(平成22年11月2日受付)

(平成22年11月10日受理)

はじめに

従来、心筋梗塞は動脈硬化によって高度に狭窄した病変が閉塞することで生じると考えられていた。しかし、最近の画像診断学の進歩により、半数以上の心筋梗塞は内腔の有意狭窄を伴わず虚血を引き起こさないような軽度の病変が原因として生じていることが明らかとなった¹⁾。また、ヒトの動脈硬化は幼少期から始まっており、生活習慣の悪化と共に進行するものの、病変は当初外側に広がり(ポジティブリモデリング)血管内腔の血流が保たれるため症状が出にくいことも解明されてきた²⁾。つまり、急性心筋梗塞や不安定狭心症といった急性冠症候群の多くは、無症状のうちに進行して動脈硬化病変に破裂やびらんが生じ、急性血栓性閉塞を引き起こすことによって突然生じる。そのため、イベントを未然に防ぐためには、動脈硬化病変が破綻してイベントを引き起こしそうな不安定プラークを検出しなければならない。しかし、現在、利用可能なイメージング技術、血液マーカーで正確に予知することは困難であるのが現状である。そのため、安定プラークが不安定化する機序を理解して、プラーク破綻を防ぐための治療が必要になる。このような臨床的なニーズに応えるため、われわれは、プラーク破綻の分子機構の解明に努めている。

動脈硬化病変に認められる炎症細胞と VEGF 発現

動脈硬化巣に炎症細胞が認められ、その多くが活性化されている。炎症細胞の浸潤経路としては、内腔側の血管内皮に接着したのち内皮下へ遊走するという経路が目されてきた。最近の血管生物学の進歩によって、外膜

から新生血管がプラーク内に侵入して炎症細胞の浸潤やプラークの性状決定に関与していることが報告された。急性心筋梗塞患者の破綻したプラークでは外膜の炎症が認められ、マクロファージによるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-2, -9 の発現が亢進している^{3,4)}。血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は、虚血臓器で誘導される重要な血管新生因子の一つである。動脈硬化病変においては VEGF の発現が亢進しているが、これが、傷害された管腔側内皮の修復を促しているのか、なんらかの機序で動脈硬化を悪化させているのかと解釈は分かれ、その病理学的意義は controversial であった。

血管新生とプラーク不安定化

Vasa Vasorum は脈管壁周囲にある微小な栄養血管のことであり、解剖学的には古くから知られていた。中膜外側への血流の多くは Vasa Vasorum を介しており高血圧や生理活性物質に反応して血流が増加する。動脈硬化部位では血流量が増加していることから、動脈硬化の進展に伴い Vasa Vasorum が発達すると推定されていた。実際、高脂肪食の投与により、冠動脈における VEGF の発現が亢進し外膜周囲において新生血管が発達することがイメージング技術で明らかにされた⁵⁾。ヒトの動脈硬化部位においても同様の所見が認められることが報告されている。

外膜における炎症は Vasa Vasorum の血管新生をともしない、赤血球の浸潤、泡沫細胞形成、脂質コアの増大を惹起すると考えられている(図1)。また、Vasa Vasorum は栄養や酸素を供給し、マクロファージや平滑筋細胞の増殖や活性化の原因となる。破綻したプラーク

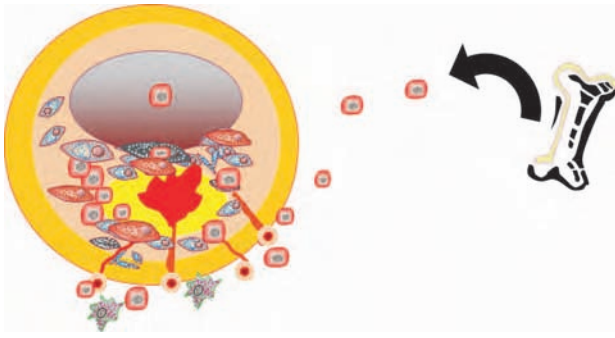


図1 新生血管によるプラークの不安定化

外膜の炎症などを契機に新生血管がプラーク内へ進展する。新生血管はプラーク構成細胞へ酸素や栄養を供給すると同時に、炎症細胞や赤血球、血小板の浸潤、微小出血を惹起してプラークの不安定化の原因となる。

では微小血管密度が亢進しており、炎症細胞浸潤、プラーク内出血、線維性被膜の菲薄化と相関している。糖尿病患者の動脈硬化病変では、Vasa Vasorum の数、炎症細胞浸潤、プラーク内出血頻度が増加していることが報告されている³⁾。また、急性冠症候群患者の血中マーカーの測定結果において、血管新生物質の血中濃度の高い人ほど予後が悪かったことから、血管新生はプラークの進展と不安定化を促進している可能性が高い。このことは、血管新生阻害物質であるアンジオスタチンや TNP-470 の投与によって、プラークの進展抑制、安定化が認められることから支持される。

プラーク破綻におけるアンジオテンシン II の役割

アンジオテンシン II は、血圧の上昇作用以外に、接着因子やケモカインの発現、マクロファージの泡沫化、凝固能の亢進、外膜の血管新生などの病的反応を促進することで、動脈硬化の発症と進展において重要な役割を演ずる (図2)。また、骨髄に作用して動脈硬化に関与する前駆細胞を血中に増加させる作用もあるようである⁶⁾。

実際に、遺伝子操作や薬物を用いてアンジオテンシン II 1 型受容体の機能を阻害すると、高脂血症による動脈硬化の進展が抑制された (図3)⁷⁾。また、プラークの脂質蓄積の減少、平滑筋細胞数とコラーゲン成分の増加をともなった。プラークの進展と破綻にアンジオテンシン II-アンジオテンシン II 1 型受容体を介した系が関与すると考えられる。また、骨髄移植を用いた実験からも、血管壁のみならず、骨髄細胞におけるアンジオテン II 1 型受容体も重要であることが明らかになった⁷⁻⁹⁾。

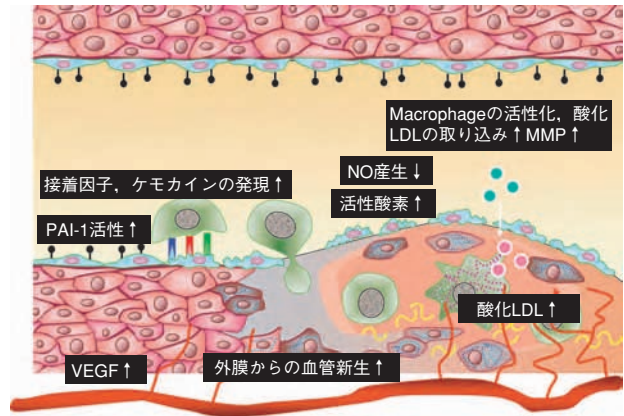


図2 アンジオテンシン II の動脈硬化促進作用

アンジオテンシン II は内皮細胞に対して NO 合成能を抑制し、活性酸素の産生を増加させて内皮機能障害をもたらす。また、接着因子や MCP-1 などのケモカインを発現させ単球の接着、浸潤を促進させる。また、LDL の酸化やマクロファージの泡沫化を亢進させ脂質の沈着を増加させる。また、プラーク内マクロファージを活性化して、各種アポトーシス誘導因子による平滑筋細胞死、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) によるコラーゲン融解によってプラークを脆弱化させる。アンジオテンシン II は内皮増殖因子 (VEGF) の発現と外膜血管新生を促進する。

ApoE^{-/-} AT1aR^{+/+}



ApoE^{-/-} AT1aR^{-/-}



図3 アンジオテンシン受容体欠損による動脈硬化の進展抑制
遺伝子操作により、アンジオテンシン II 1 型受容体を欠損させると、ApoE 欠損マウスにおける動脈硬化の進展が抑制された。(文献7より引用)

アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) は強力な降圧薬として臨床的に広く使用されるようになったが、降圧効果を超えた ARB の臓器保護作用が期待されている。ARB が血管新生を抑制する作用があることも報告されている¹⁰⁾。アンジオテンシン II の動脈硬化促進作用を阻害することができれば、生活習慣病の合併症予防効

果が期待される。実際、ヒト頸動脈狭窄病変を有する患者で内膜摘出術前に利尿薬クロタリドンもしくはARBによる降圧療法を6ヵ月間施行し、摘出したサンプルを検討した研究が報告されている。ARB治療群では、炎症細胞の浸潤が減弱し、不安定化に関与すると考えられるシクロオキシゲナーゼ2 (COX-2) やMMP-2, -9の発現が低下し、病変の安定化が認められた¹¹⁾。レニン-アンジオテンシン系の活性化が動脈硬化をはじめとする生活習慣病に伴う臓器障害に関与している。心血管イベント抑制に向けてレニン-アンジオテンシン系の阻害薬の意義は大きく、その臨床的有効性は数々の大規模臨床試験で確認されつつある。基礎的な研究で解明された薬効が、大規模臨床研究で確認され、新しい治療法として確立され、当該患者の予後の改善に貢献している。

血管リモデリングにおける周囲脂肪組織の役割

血管周囲脂肪組織は全身の血管の周囲をおおっているが、これまで単なる支持組織にすぎないと考えられてきた。しかし、最近、液性因子を放出して、血管の収縮性を調節している可能性があることが報告された¹²⁾。われわれは、血管周囲脂肪組織の炎症と血管リモデリングとの関係について検討している^{13,14)}。

野生型マウス (C57BL/6) マウスに、標準 (STD) 食または高脂肪高蔗糖 (HF/HS) 食を投与した。HF/HS食によって野生型マウスの体重は54%増加した。HF/HS食により、血管外脂肪組織にはマクロファージの浸潤が有意に多く認められた (図4 A)。これらと相関するように、肥満マウスにおいて、アディポネクチンの発現は低下し、炎症性サイトカインの発現は有意に増加してい

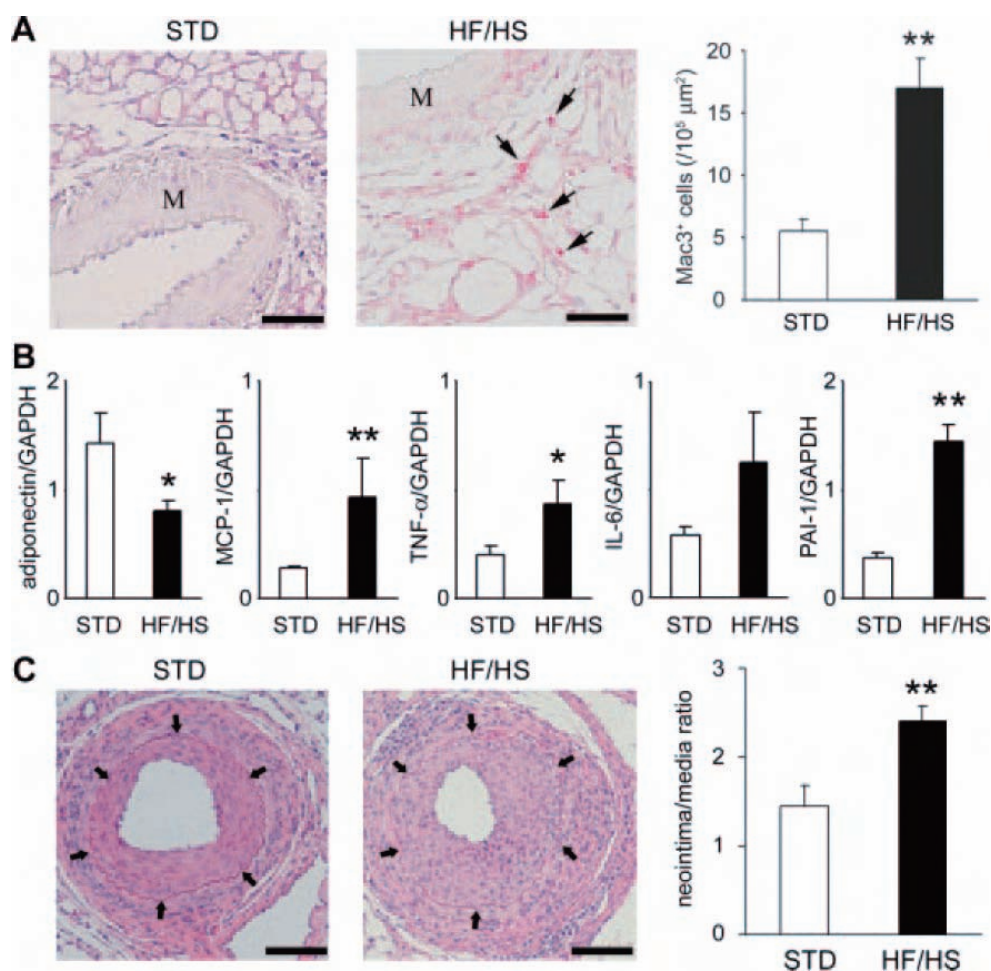


図4 肥満が血管周囲脂肪組織炎症と新生内膜形成におよぼす影響

C57BL/6マウスに通常食 (STD) もしくは高脂肪高蔗糖食 (HF/HS) を投与した。高脂肪高蔗糖食は肥満を誘導した。

(A) 肥満によって大腿動脈周囲脂肪組織へのマクロファージの浸潤が増強された。(Bar: 50 μm)

(B) 肥満によって、血管周囲脂肪組織でのアディポネクチンの発現が現弱し、各種炎症サイトカインの発現が増強した。

(C) 肥満によって、血管障害後の内膜増殖が増強した (Bar: 100 μm)

(文献13より引用)

た(図4B)。ワイヤーによる傷害により拡張された血管は、次第に内膜増殖によって狭小化するが、この病変形成は、肥満マウスにおいて有意に増強されていた(図4C)。

さらに、血管周囲脂肪組織の形質の、傷害後内膜増殖への影響を検討した。まず、内因性の血管周囲脂肪組織を除去し、その後、外来性脂肪組織を移植した。まず、GFP(緑色蛍光タンパク)トランスジェニックマウスの皮下脂肪を移植した血管では、移植後1週間経過してもGFPシグナルが観察され、移植脂肪組織が生着してい

ることが確認できた(図5A)。標準食血管周囲の脂肪組織を除去するとワイヤー血管傷害後の内膜増殖は増悪した(図5B, C)が、通常マウスの皮下脂肪を移植するとその反応が抑制された。しかし、肥満マウスからの脂肪の移植では、その効果が認められなかった。

肥満により血管周囲脂肪組織に生ずる変化のなかでも、アディポネクチンの発現低下にわれわれは注目し、その意義をアディポネクチン欠損マウス(APN-KO)を用いて検討した。APN-KOでは、血管傷害後の病変形成が増強していた(図5D, E)。さらにAPN-KOマウスで、

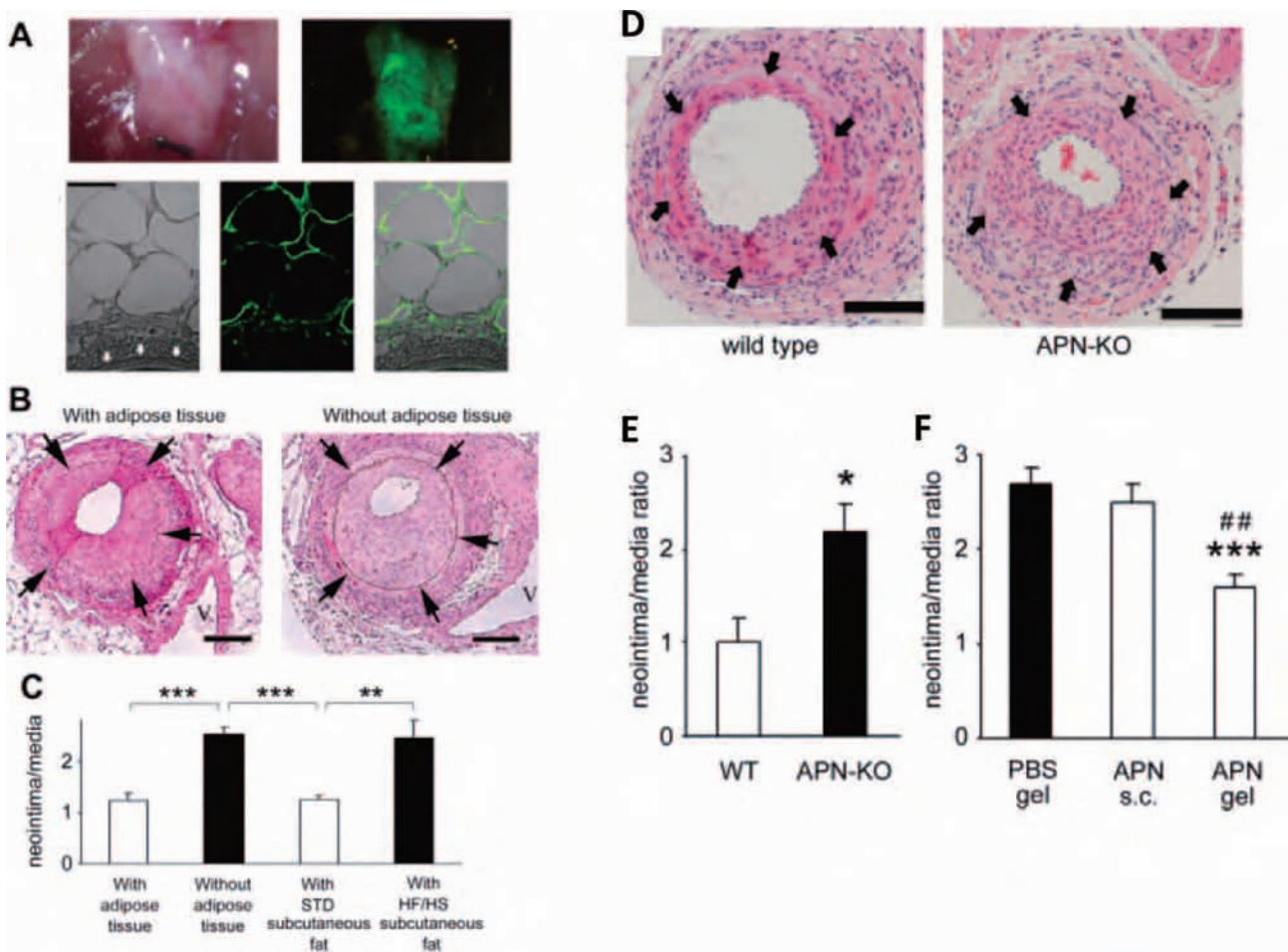


図5 野生型マウスの皮下脂肪移植によって、病変形成が抑制された。

- (A) 移植後1週間の時点における、移植されたGFPトランスジェニックマウス由来の皮下脂肪移植片。1週間後の時点でもGFPシグナルが確認される。
- (B) 血管周囲の脂肪組織を除去(without adipose tissue)すると脂肪組織温存(with adipose tissue)の場合と比較して、血管のワイヤー傷害後の内膜増殖が増強していた。
- (C) 脂肪組織移植による内膜増殖の変化。通常食で飼育された痩せたマウス由来の皮下脂肪を移植すると病変形成は抑制された。肥満マウスからの外来性の皮下脂肪では抑制効果がみられなかった。
- (D, E) アディポネクチンノックアウトマウス(APN-KO)では野生型(WT)マウスと比較して血管傷害後の病変形成が増強していた(Bar: 100 μ m)。
- (F) アディポネクチン投与の内膜増殖への影響。徐放剤を用いたアディポネクチンの血管周囲への投与(APN gel)では内膜増殖は抑制されたが、皮下投与による全身投与(APN s.c.)では抑制されなかった。(文献13より引用)

アディポネクチンを gel を用いて局所投与 (APN gel) したところ皮下脂肪移植と同様の効果が認められた (図 5 F)。一方, 皮下注射にて全身に投与したところ (APN s.c.) 抑制効果がなかった。血管周囲局所から供給されるアディポネクチンが病変形成を直接効果的に抑制することが明らかとなった。

以上の研究結果から, 健全な状態においては, 血管周囲脂肪は血管障害後の内膜新生を抑制するものの, 肥満によって血管外脂肪組織の炎症が増強された場合には, 血管病変の形成を増悪させることが示唆された。特に, 血管周囲の脂肪組織から分泌されるアディポネクチンは, 傷害後の内膜増殖を抑制し, その発現低下は過剰な病変形成に結びつくと考えられた。

心臓周囲脂肪組織と冠動脈硬化

ヒトの心臓周囲脂肪組織は, 近接した冠動脈壁に豊富にサイトカインを放出していると考えられる¹⁵⁾。例えば, 冠動脈バイパス手術を受ける患者の心臓周囲脂肪は, 皮下脂肪に比べて, IL-1 β ・IL-6・TNF α ・MCP-1などの遺伝子発現が著明に増加していたことが報告されている¹⁶⁾。また, adiponectin が心臓周囲脂肪で低下しているという報告もあり¹⁷⁾, 冠動脈の動脈硬化病変形成に周囲脂肪組織が直接影響を及ぼしていることが示唆されている¹⁵⁾。われわれは, ヒトにおいても同様の血管周囲脂肪の役割が認められるか, 現在検討を進めている。

おわりに

近年の, 動脈硬化プラークの進展と破綻の機序に関する研究の進歩にはめざましいものがあるが, イベント発症を予知して未然に防ぐための, バイオマーカーやイメージング技術が確立するまでには至っていない。われわれは, 今後も冠動脈疾患の病態解明に関する研究を継続し, 新規診断法, 治療法の開発に繋げていくように努めていく所存である。

文 献

- 1) Falk, E., Shah, P. K., Fuster, V.: Coronary plaque disruption. *Circulation*, 92 : 657-671, 1995
- 2) Tuzcu, E. M., Kapadia, S. R., Tutar, E., Ziada, K. M., *et al.* : High prevalence of coronary atherosclerosis

in asymptomatic teenagers and young adults : evidence from intravascular ultrasound. *Circulation*, 103 : 2705-2710, 2001

- 3) Moreno, P. R., Purushothaman, K. R., Fuster, V., Echeverri, D., *et al.* : Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta : implications for plaque vulnerability. *Circulation*, 110 : 2032-2038, 2004
- 4) Barger, A. C., Beeuwkes, R., 3rd, Lainey, L. L., Silverman, K. J. : Hypothesis : vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 310 : 175-177, 1984
- 5) Wilson, S. H., Herrmann, J., Lerman, L. O., Holmes, D. R., Jr., *et al.* : Simvastatin preserves the structure of coronary adventitial vasa vasorum in experimental hypercholesterolemia independent of lipid lowering. *Circulation*, 105 : 415-418, 2002
- 6) Haznedaroglu, I. C., Ozturk, M. A. : Towards the understanding of the local hematopoietic bone marrow renin-angiotensin system. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 35 : 867-880, 2003
- 7) Fukuda, D., Sata, M., Ishizaka, N., Nagai, R. : Critical role of bone marrow angiotensin II type 1 receptor in the pathogenesis of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 28 : 90-96, 2008
- 8) Fukuda, D., Sata, M. : Role of bone marrow renin-angiotensin system in the pathogenesis of atherosclerosis. *Pharmacol. Ther.*, 118 : 268-276, 2008
- 9) Sata, M., Fukuda, D. : Crucial role of renin-angiotensin system in the pathogenesis of atherosclerosis. *J. Med. Invest.*, 57 : 12-25, 2010
- 10) Sasaki, K., Murohara, T., Ikeda, H., Sugaya, T., *et al.* : Evidence for the importance of angiotensin II type 1 receptor in ischemia-induced angiogenesis. *J. Clin. Invest.*, 109 : 603-611, 2002
- 11) Cipollone, F., Fazio, M., Iezzi, A., Pini, B., *et al.* : Blockade of the angiotensin II type 1 receptor stabilizes atherosclerotic plaques in humans by inhibiting prostaglandin E2-dependent matrix metalloproteinase activity. *Circulation*, 109 : 1482-1488, 2004
- 12) Lohn, M., Dubrovska, G., Lauterbach, B., Luft, F. C.,

- et al.* : Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *Faseb J.*, **16** : 1057-1063, 2002
- 13) Takaoka, M., Nagata, D., Kihara, S., Shimomura, I., *et al.* : Periadventitial adipose tissue plays a critical role in vascular remodeling. *Circ. Res.*, **105** : 906-911, 2009
- 14) Takaoka, M., Suzuki, H., Shioda, S., Sekikawa, K., *et al.* : Endovascular injury induces rapid phenotypic changes in perivascular adipose tissue. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **30** : 1576-1582, 2010
- 15) Sacks, H. S., Fain, J. N. : Human epicardial adipose tissue : a review. *Am. Heart J.*, **153** : 907-917, 2007
- 16) Mazurek, T., Zhang, L., Zalewski, A., Mannion, J. D., *et al.* : Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation*, **108** : 2460-2466, 2003
- 17) Baker, A. R., Silva, N. F., Quinn, D. W., Harte, A. L., *et al.* : Human epicardial adipose tissue expresses a pathogenic profile of adipocytokines in patients with cardiovascular disease. *Cardiovasc. Diabetol.*, **5** : 1, 2006

Pathogenesis of coronary artery diseases

Masataka Sata

Department of Cardiovascular Medicine, Institute of Health Biosciences, the University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

SUMMARY

Recent evidence suggests that acute coronary syndrome (ACS) results from plaque rupture in most of the cases. Vulnerable plaques are characterized by thinning of fibrous cap, increased lipid content, decreased smooth muscle cell content, and enhanced infiltration of inflammatory cells. However, the molecular mechanism of plaque destabilization is not fully understood. Thus, there is no established method to predict and prevent ACS.

We have been studying the pathogenesis of plaque progression and destabilization, using animal models and clinical specimen. ApoE-deficient mice showed exaggerated atherosclerotic lesions with aging. Accumulation of macrophages in adventitia was first detected prior to plaque formation. Proliferation of vasa vasorum was observed only after atherosclerotic lesion formation. Local delivery of an angiogenic growth factor promoted lesion formation with enhanced neovascularization in the adventitia.

Periadventitial fat is distributed ubiquitously around arteries. By using fat transplantation method, we found that periadventitial fat may protect against neointimal formation after angioplasty under physiological conditions and that inflammatory changes in the periadventitial fat may play a crucial role in the pathogenesis of vascular disease accelerated by obesity.

Elucidation of the pathogenesis of coronary artery diseases leads to development of new strategies to diagnose and treat acute coronary syndrome.

Key words : coronary artery disease, epicardial adipose tissue, angiogenesis, inflammation, obesity