

急性心筋梗塞の発症に起因するプラークびらんの病態解明

[1] 組織

代表者：山下 篤

(宮崎大学医学部病理学講座)

対応者：堀内 久徳

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

浅田祐士郎 (宮崎大学医学部病理学講座)

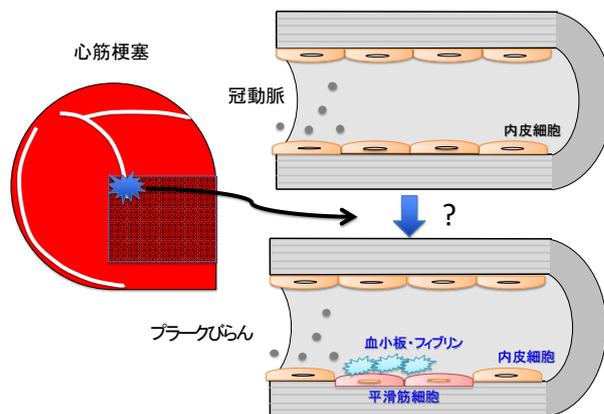
研究費：物件費 15 万

[2] 研究経過

急性心筋梗塞の多くは冠動脈の血管内にコレステロールが蓄積している動脈硬化巣（プラーク）が血管内腔に破綻する、いわゆるプラーク破綻が引き金となり、それに伴う血栓形成により発症する。一方、およそ 30%は、プラークびらんと呼ばれるプラーク部位の内皮細胞の剥離によって心筋梗塞が発症するとされている。プラーク破綻に起因するプラークはスタチンなどの優れた脂質改善薬により安定化させることが可能となってきたが、プラークびらんの病態は明確ではない(図)。プラークびらんの予防や治療法は未だ確立しておらず、その研究は近年ますますその重要性を増している。

そこで本研究では、未だ明らかではないプラークびらんの病態解明、特にびらん性プラークの病理学的特徴や血栓の成長機序の解明を目的として研究を行った。

これまでの研究で、びらん性プラークの病理学的特徴は一貫しておらず病理学的特徴は明確になっていない。動物モデルの検討では平滑筋細胞の凝固活性がびらん性傷害後の血栓形成に重要であることを報告したが血管平滑筋細胞の凝固活性に影響する因子は明確ではない。薬剤溶出性ステントの血栓性合併症は減少しており、平滑筋細胞における mammalian target of rapamycin (mTOR)の凝固活性への影響が予想された。本研究では急性心筋梗塞症例の冠動脈吸引血栓とウサギ動物モデル、培養平滑筋細胞を用いてプラークびらんと病態を検討した。



以下、研究活動状況の概要を記す。

1. 冠動脈吸引血栓 (n=287)でプラーク破綻症例とプラークびらん症例の血栓成分やプラーク成分の違いを病理学的に検討。
2. ウサギ動脈硬化モデルによる mTOR の機能解析。
血管平滑筋の血栓性における mTOR の作用を、everolimus 含有薬剤溶出性ステントを用いて検討した。ウサギ腸骨動脈のバルーン傷害で平滑筋細胞に富む動脈硬化血管を作成し、左右に金属ステントと everolimus 含有薬剤溶出性ステントを挿入、4 週間後に血管壁の組織因子発現、各種代謝産物濃度を測定した。
3. 培養ヒト冠動脈平滑筋細胞を用いて、mTOR、グルタミン代謝と凝固活性の関連を検討した。
なお、本共同研究を行うにあたり、電話、スカイプ等により 2 ヶ月に一度、計 6 回の研究会議を継続した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、急性心筋梗塞症例の冠動脈血栓を病理学的に検討しプラーク破綻とびらんの相違を検討することを目的とした。しかしながら、臨床で施行された冠動脈検査ではプラークびらんの診断精度が想定よりも低く 2 群比較が困難であった。そのため冠動脈プラークの血栓形成機序を検討する目的でプラーク破綻部と血栓の境界を検討することとした。287 例中

73例に血栓形成を伴うプラーク成分が存在した。破裂性プラークと血栓境界部には組織因子を発現する壊死性コア(95%)、マクロファージ(95%)、フィブリン(100%)や von Willebrand 因子(99%)が沈着しており、それらに血小板が粘着・凝集していた。血小板の粘着に重要とされる線維性結合組織を47%に認めたが、いずれも小断片であった。血栓形成に関与するとされる好中球細胞外トラップのプラーク内面積率中央値は0.5%でごくわずかであった。この結果よりプラーク破裂に伴う血小板粘着の足場として線維性基質や好中球細胞外トラップよりもフィブリンや von Willebrand 因子が重要な役割を果たしていると考えられた。そのほか、およそ20%のプラーク内には過去の出血を反映するヘモジデリン沈着やビリルビン沈着を認め、プラーク内出血に伴うヘモグロビン代謝とプラークの不安定化の関連が示唆された(成果資料1)。

第2に、生体内での平滑筋細胞の凝固因子発現と mTOR の関与を検討するために薬剤溶出性ステントを平滑筋細胞に富むウサギ腸骨動脈に挿入した。局所の mTOR 阻害により、肥厚内膜面積、平滑筋細胞面積、増殖細胞数、組織因子陽性面積は対照血管と比して有意に減少した。血管壁のメタボローム解析で、多くの代謝産物濃度が mTOR 阻害血管で増加傾向にあった。23 代謝産物は対照血管と比して1.5倍多く含まれており、それらの15代謝産物はアミノ酸代謝に属し、その他はポリアミン代謝(スペルミジン、プトレスチン)、グルタチオン、ペントースリン酸回路(リブローズ5リン酸)、ピリミジン(シチジン)、プリン(グアノシン、ヒポキサンチン)であった。この結果より mTOR が平滑筋細胞の増殖抑制だけではなく、組織因子発現やアミノ酸代謝に関与することが示唆された。

第3に、動物モデルの実験より mTOR、アミノ酸代謝、組織因子発現の関連が示唆されたため、含有濃度が多いグルタミンに注目して培養実験を行なった。冠動脈平滑筋細胞に evelorimus を添加すると、細胞内のグルタミン濃度、グルタミン・グルタミン酸比が増加、組織因子の遺伝子発現や細胞による血漿凝固時間で測定した凝固活性が有意に低下した。その状況に置いて、グルタミン輸送体である SLC1A5 遺伝子発現は低下し、グルタミンとグルタミン酸の変換酵素であるグルタミナーゼ1とグルタミン合成酵素はいずれも軽度の増加を示しており、細胞内グルタミンの増加が細胞内取り込みの増加よりもグルタミン代謝の偏りと考えられた。次にグルタミンそのものが mTOR 経路や組織因子発現に影響するかを検討した。グルタミンの添加により、細胞内のグルタミン濃度が増加し、mTOR 経路の活性化を反映する S6 のリン酸化が促進

された。また、濃度依存性に組織因子の遺伝子発現が減少し、平滑筋細胞の凝固活性が低下した。ウサギ血液へのグルタミン添加によりトロンボエラストメトリーで測定した全血凝固に影響を与えなかった。

以上の結果より、細胞内のグルタミン濃度が mTOR 活性化非依存性に平滑筋細胞の凝固活性を負に調節することが示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、学外研究者との交流が飛躍的に活性化した。本共同研究で明らかにしようとしている研究成果は、プラークびらんの予防や治療法の開発に結びつくと考えられ、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

(1) Yamashita A, Nishihira K, Gi T, Maekawa K, Hatakeyama K, Horiuchi S, Wada K, Shibata Y, Asada Y. Pathological features of ruptured coronary plaque and thrombus interfaces: Fibrin and von Willebrand factor as platelet scaffolds on rupture sites. *Thromb Haemost.* 2021; 121: 234-241.