

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462158

研究課題名(和文)慢性血栓塞栓性肺高血圧症における血栓器質化機序解明と新しい画像診断法の確立

研究課題名(英文)Mechanism of organized thrombus in CTEPH and relation to clinical outcomes

研究代表者

石田 敬一 (ISHIDA, Keiichi)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・特任准教授

研究者番号：40375671

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：(目的)慢性血栓塞栓性肺高血圧症の器質化血栓における細胞外マトリックス分解酵素MMPについて検討し、血栓の性状と手術成績、術前検査との関連を調べた。(方法)手術で摘出された血栓に免疫染色を行い、術前造影検査、手術成績との関連を調べた。(結果)末梢側の血栓には多数の再血管疎通像および膠原線維、弾性線維を認め、MMPやウロキナーゼの発現は低かった。弾性線維や再血管疎通像に乏しい血栓は脆弱であり、血栓残存による遺残肺高血圧を合併した。しかし、術前造影検査所見と血栓の性状の関連は明らかではなかった。(結論)器質化血栓の性状は手術成績に影響したが、術前造影検査では血栓の性状を予測することは困難であった。

研究成果の概要(英文)：(objective)We sought to reveal a role of matrix metalloprotease in organized thrombus of chronic thromboembolic pulmonary hypertension, and an association between a property of the thrombus and surgical outcomes or preoperative image findings.(results)A lot of revascularization with collagen and elastic fibers were found in organized thrombus from the distal arteries. However, matrix metalloprotease or urokinase was not found in most of the specimens. The organized thrombus with little revascularization and poor elastic fibers was quite fragile, resulting in incomplete endarterectomy. There was no association between these findings and preoperative image findings.(conclusion)A property of organized thrombus affected on surgical outcomes. However, there was no correlation to preoperative image findings.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：慢性血栓塞栓性肺高血圧症 器質化血栓 心臓血管外科

## 1. 研究開始当初の背景

慢性血栓塞栓性肺高血圧症は血栓が溶解せず器質化し、肺動脈を狭窄・閉塞する疾患である。肺動脈内膜摘除術は肺動脈中膜を内弾性版直下で全周性に剥離し器質化血栓を摘出する外科治療であり、治療効果が高く慢性血栓塞栓性肺高血圧症治療の第一選択である。しかしながら、血栓の摘出には高度な技術を必要とし、遺残肺高血圧症などの合併症により周術期の死亡率は他の心臓手術と比較し高いといえる。我々の経験では脆弱な器質化血栓は摘出が困難であり、それらを術前に画像診断できれば外科治療成績に向上すると考えられた。本疾患における血栓器質化機序は不明であり、血液凝固異常症や慢性炎症が修飾因子として考えられる。小動物下大静脈血栓作成実験モデルにおける血栓溶解機序によれば、血管壁から進入した中膜平滑筋細胞を含む炎症細胞がサイトカインや増殖因子を放出し、膠原線維や弾性線維が産生され、マクロファージが凝血を貪食し器質化が進行する。血栓内には新生血管が出現し再疎通血管として発達し、拡大することで血栓は消失する。慢性血栓塞栓性肺高血圧症の器質化血栓には再血管疎通像がみられ、膠原線維や弾性線維が存在する。これらの線維は細胞外マトリックス分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) が分解する。また、ウロキナーゼは血栓溶解過程において重要な役割を果たし、MMP を活性化する。慢性血栓塞栓性肺高血圧症においてこれら細胞外マトリックス分解酵素について果たす役割については解明されていない。

## 2. 研究の目的

本研究では摘出された器質化血栓を研究試料として、器質化血栓の性状を検討し、特に MMP やウロキナーゼの発現を明らかにすることで器質化血栓における細胞外マトリックス分解酵素の役割を明らかにし、器質化血栓の性状と手術成績の関係や、術前画像診断所見との関連を明らかにすることを目的とした。

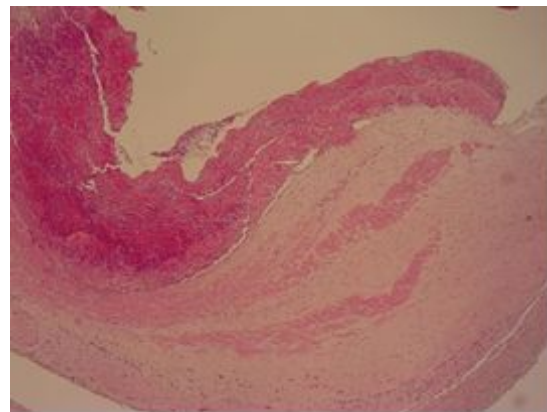
## 3. 研究の方法

当院にて肺動脈内膜摘除術を施行し、研究参加の承諾が得られた例を対象とした。術後に心電図同期 CT 検査、肺動脈造影検査、右心カテーテル検査を施行した。肺動脈内膜摘除術により摘出した器質化血栓を免疫染色 (MMP-2,9, urokinase) H-E 染色、Elastica Van Gieson 染色を行った。器質化血栓は中枢と末梢 (区域枝以遠) にわけて標本とした。

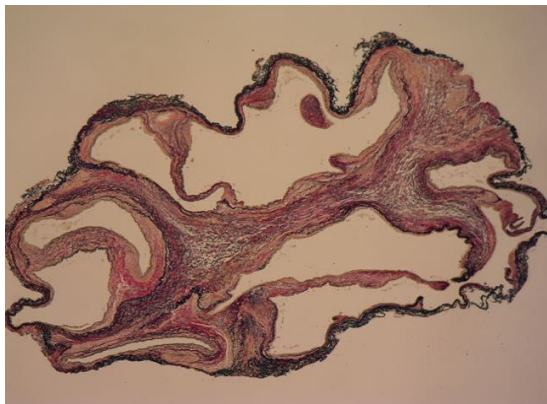
## 4. 研究成果

### (1) H-E 染色、Elastica Van Gieson 染色

中枢側の標本は、膠原線維を主体とした線維成分と紡錘形の細胞成分が錯綜しており、再血管疎通像に乏しい。内腔に新鮮血栓を認める症例も存在した (下図)。



一方、末梢側の標本は、内弾性版を含む硝子中膜層で周囲を囲まれ、再血管疎通像を多く認めた（下図）。



Elastica Van Gieson 染色で、多くの標本では膠原線維だけでなく、弾性線維が多く含まれていた。しかし、弾性線維が非常に少ない症例が2例存在した（下図）。



これらの症例は手術所見として、血栓が脆弱であり器質化血栓遺残による術後遺残肺高血圧症を合併した。

#### （2）MMP-2,9、ウロキナーゼ

MMP-2 は全ての摘出された器質化血栓で、発現がみられなかった。一方、MMP-9 は末梢側の一部で発現がみられた。ウロキナーゼはMMP-9 より多く発現がみられた。

#### （3）術前画像検査

心電図同期 CT 検査や肺動脈検査によって末梢側（区域枝・亜区域枝）の病変（再血管

疎通の程度や性状）を予測することは困難であった。術前画像検査は摘出可能な器質化血栓を過小評価することが多かった。しかしながら、本疾患に特徴的とされる web や band は画像検査によって抽出可能であり、これらは実際の手術によって摘出が可能であった。

#### （4）考察

本研究により肺動脈内膜摘除術により摘出された器質化血栓の性状が手術成績に影響することが明らかとなった。区域枝の器質化血栓に再血管疎通像がなく、弾性線維が少ない場合、器質化血栓が脆弱となり、血栓が残存し遺残肺高血圧症を合併する危険性がある。器質化血栓内に再開通した新生血管がこれらの線維の割合に影響した可能性は考えられるが、多くの標本で細胞外マトリックス分解酵素である MMP やウロキナーゼは発現が乏しかった。慢性血栓塞栓性肺高血圧症で手術となる症例は、手術までに初期イベントである急性肺塞栓症からかなり時間が経過していたため、発症早期での関与が考えられた。

また、術前画像検査から摘出標本の性状を判断することは困難であったが、慢性血栓塞栓性肺高血圧症に特徴的な所見である web/band を区域枝に指摘することは可能であった。また、これらの手術時に摘出することが容易であり手術適応を判断するうえでの重要な所見であると考えられた。

#### （5）結論

慢性血栓塞栓性肺高血圧症の器質化血栓において MMP、ウロキナーゼの発現は低かった。弾性線維および再疎通血管に乏しい器質化血栓は脆弱であり、器質化血栓の性状が手術成績に影響することが明らかとなった。これらは術前画像検査で診断することは困難であった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権](計 0 件)

[その他](計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石田 敬一 (ISHIDA, Keiichi)  
千葉大学・大学院医学研究院・  
特任准教授  
研究者番号：40375671

### (2) 研究分担者

松宮 護郎 (MATSUMIYA, Goro)  
千葉大学・大学院医学研究院・教授  
研究者番号：20314312

黄野 皓木 (KOUNO, Hiroki)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：40375803

石坂 透 (ISHIZAKA, Toru)  
千葉大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：10372616

(2013 年度まで研究分担者として参画)