

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：17601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893210

研究課題名(和文) 虚血性心疾患の再発予防に向けた冠動脈血栓および動脈硬化巣の組織性状の解析

研究課題名(英文) Histopathological analysis of coronary materials of patients with acute coronary syndrome to prevent the recurrence

研究代表者

西平 賢作 (Nishihira, Kensaku)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：60736312

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：心筋梗塞患者の冠動脈からカテーテル治療の際採取された血栓と動脈硬化巣の組織標本を病理学的に検討し、患者背景や予後との関連性を検討した。274例の治療中に得られた吸引物を免疫組織化学的に評価した結果、冠動脈吸引物には石灰沈着を16%に認め、冠危険因子との明らかな関連は認めなかった。その一方、性別と多枝病変が石灰沈着の独立した危険因子であることを明らかにした。さらには、石灰沈着と院内死亡には関連はないものの、石灰沈着がある場合はカテーテル治療を行っても良好な血流を得られない傾向にあった。これらのことから、吸引物内の石灰沈着は、患者背景や臨床像により異なる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Calcification is frequent in human coronary arteries. We investigated the prevalence of calcification of materials aspirated during percutaneous coronary intervention (PCI) in patients with acute myocardial infarction (AMI), and assessed whether calcification is related to the clinical characteristics. In this study, coronary materials were obtained during PCI from 274 AMI patients. The presence of calcification in aspirated materials was morphologically assessed. Calcification was found in 44 (16%) of 274 patients, and it was not related to in-hospital death. Multivariate analysis identified multivessel coronary artery disease and female as independent predictors of the calcified deposition in culprit lesions. Additionally, final Thrombolysis in Myocardial Infarction flow grade tended to be lower in patients with calcification. These findings might provide an insight into the pathophysiology of AMI.

研究分野：循環器病学

キーワード：急性冠症候群 免疫組織化学

## 1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞や不安定狭心症といった虚血性心疾患は死因の上位を占め、その病態の解明と予防・治療法の確立は医学のみならず社会的にも急務の課題となっている。これらの疾患は冠動脈硬化巣（プラーク）の破綻に伴う血栓形成により発症する。このため予防には抗血栓薬（抗血小板薬、抗凝固薬など）が広く用いられているが、その臨床像や予防効果は一様ではない。この理由として、血栓やプラークの性状が患者個々により異なること、糖尿病、脂質異常症、高血圧症などの冠危険因子の有無や重複が血栓の形成に強く影響すること、などが挙げられている。

申請者は、虚血性心疾患の中でも特に急性冠症候群（不安定狭心症・急性心筋梗塞）の病態解明を目標に臨床・病理学的な立場から研究を進めてきた。

その結果、

(1) 急性冠症候群患者のプラーク破綻部位には各種炎症性サイトカインや酸化ストレスが強く発現し、血栓形成・増大に関与し、病勢を反映すること（引用文献、）

(2) 急性心筋梗塞患者の血栓は、経時的にその構成成分が変わること（引用文献、）

(3) 冠動脈の吸引血栓の性状が、院内死亡の予測因子となり得ること（引用文献、）

(4) また予備的検討であるが、糖尿病合併の急性心筋梗塞患者においては血栓の構成成分が異なること（引用文献、）

などを報告してきた。

これらの研究結果から、急性冠症候群発症時の冠動脈血栓およびプラークの組織性状は極めて多様であり、この多様さが、発症機序、急性期の臨床像や冠危険因子、薬剤（抗血栓薬や抗動脈硬化薬）に対する予防・治療効果、さらには再発リスクや予後に大きく関与していると推察される。

これまでに冠動脈血栓の標本を用いた研究はいくつか報告されているが、

(1) 虚血性心疾患の発症時の血栓と動脈硬化巣の性状について詳細な検討は少なく、

(2) プラークや血栓の構成成分と冠危険因子の種類やその罹患歴との関連性の検討はない。また

(3) 服用している抗血栓薬・抗動脈硬化薬との関連と、予後との相関についてはまだ明らかにされていない。

本研究は、これらを検討することにより、虚血性心疾患の再発予防法の確立を目指した臨床病理学的研究である。

## 2. 研究の目的

上記の背景をふまえ、以下の2つの目標を掲げ、本研究を行った。

(1) ヒトの病理組織標本を用いた解析  
不安定狭心症患者および心筋梗塞患者の冠

動脈から採取された吸引血栓を用いて、プラーク・非プラークおよび血栓における血小板膜蛋白、凝固因子、さらには炎症性サイトカインや動脈硬化関連因子の蛋白発現の局在とその程度を検討した。

## (2) 臨床データとの対比

(1)の結果と、

臨床所見を比較検討し、病理組織学的所見  
冠危険因子(糖尿病、高血圧、脂質異常症、喫煙歴、家族歴、高尿酸血症など)の種類  
や罹患歴

服用している抗血栓薬・抗動脈硬化薬の内  
服状況や、それらへの反応性

患者の短期・長期予後との関連

について検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

宮崎大学医学部附属病院、およびその教育関連施設で施行された、急性心筋梗塞・不安定狭心症といった急性冠症候群に対する冠動脈血管内治療（カテーテル治療）の過程で採取された冠動脈の吸引血栓や動脈硬化巣の病理組織検体を用いた。

### (2) 方法・評価項目

得られた組織検体は、免疫組織学的手法や画像解析装置を用い、病理組織学的にそれらの組成を解析するとともに、必要に応じて血栓形成に主要な蛋白（GPIIb/IIIa、フィブリン、組織因子など）や炎症性サイトカインの遺伝子発現をウエスタンブロットやPCR法を用い定量解析を行った。併せて、採血検体の血栓性因子や炎症性サイトカイン、動脈硬化関連因子をELISA法で測定した。

上記の結果と、臨床データや冠動脈造影の所見、特に糖尿病・脂質異常症・高血圧症を主とした冠危険因子の種類や罹患歴、および服用している抗血栓薬・抗動脈硬化薬との関連性を検討した。さらに追跡調査を行い、病理組織所見と患者の予後との関連もあわせて検討した。

## 4. 研究成果

(1) 宮崎大学医学部附属病院、および、その教育関連施設において、症状出現から24時間以内に緊急冠動脈血管内治療（血栓吸引、カテーテル治療）を施行し、病理組織学的に評価可能な十分な血栓・動脈硬化巣の量（ $>1\text{mm}^2$ ）が得られた急性冠症候群患者、計274症例を対象とした。

(2) 得られた吸引内容物（血栓・動脈硬化巣）の病理組織標本をHE染色で評価し概要を確認するとともに、GPIIb/IIIa、フィブリン、組織因子、フォン・ビルブランド因子、T細胞、好中球およびマクロファージなどの

免疫組織化学的染色を施行した。その結果、冠動脈血栓は血小板のマーカー (GP IIb/IIIa) のみならず組織因子やフィブリン、フォン・ビルブランド因子も豊富であることや、リンパ球や好中球などさまざまな炎症細胞が存在しており、その存在様式は極めて多彩であることを確認した (図1)。

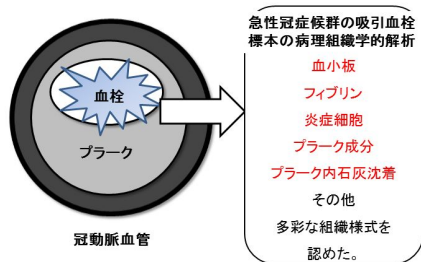


図1 冠動脈血管内治療で得られた、血栓およびプラークの組織性状の解析

また、吸引内容物の約4割に泡沫細胞やその他の炎症細胞、コレステリン結晶や壊死性コアなどを含む動脈硬化巣の成分が存在し、さらには全体の16%に石灰沈着を認めた (図2)。

近年、冠動脈内の各種イメージングデバイスを用いた臨床研究にて、冠動脈内の石灰沈着と臨床像や予後との関連性や、心筋梗塞症例にも微細な石灰沈着を散見することや冠血流獲得との関連性が複数報告されているが、病理学的な観点からは少ないためこれに着目した。

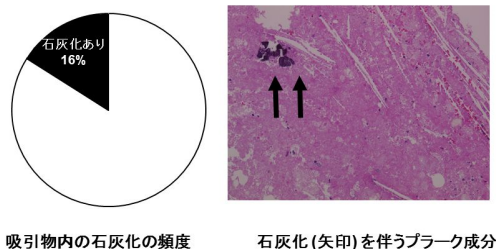


図2 冠動脈吸引物内の石灰化とその頻度

吸引物内の石灰沈着は、来院時の年齢、糖尿病・高血圧・脂質異常症・腎機能障害・喫煙歴など冠危険因子の種類や罹患歴、心筋傷

害のバイオマーカー (クレアチンキナーゼ)、抗血栓薬や抗コレステロール薬 (スタチン)、さらには冠動脈造影上の病変位置や病変形態との関連性は認めなかった。また、院内死亡との関連も見いだせなかった。

しかし、その一方で、性別・多枝病変 (臨床上、重症患者に多い) は石灰沈着の独立した予測因子であった (図3)。

	オッズ比	95% 信頼区間	P
男性	0.3	0.15 - 0.59	<0.01
スタチン (抗コレステロール薬)	1.87	0.82 - 4.25	0.14
多枝病変	2.71	1.33 - 5.52	<0.01

単解析でP<0.1のものを、ロジスティック回帰解析した。

図3 冠動脈吸引物における石灰沈着の予測因子

さらには、吸引物内に石灰沈着を認めた群では、カテーテル治療後の最終TIMI flow grade (冠血流指標) が低く、治療を行っても良好な冠血流を得られない傾向にあった (図4)。

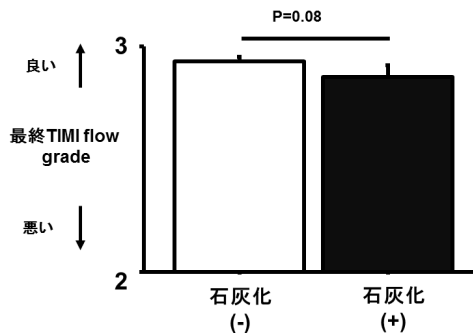


図4 カテーテル治療直後の冠血流

本研究では、外膜側の血管深層や大きい石灰沈着が吸引できなかった可能性や、各種冠動脈内イメージングデバイスとの対比を行っていないなどの問題点やリミテーションはあるものの、吸引内容物内の石灰沈着は、患者背景や臨床像により異なることを明らかにした。また本研究では石灰沈着の存在と院内死亡 (短期予後) との間には明らかな関連は認めなかったが、カテーテル治療を行っても良好な血流を得られない傾向にあるため、中・長期的な予後予測因子となる可能性

が示唆された。

今後の予後調査を継続し、これらの点を検討する予定である。

<引用文献>

西平 賢作 他、Thioredoxin in coronary culprit lesions: Possible relationship to oxidative stress and intraplaque hemorrhage. *Atherosclerosis*, 201 巻、2008、360-7

西平 賢作 他、Increased expression of interleukin-10 in unstable plaque obtained by directional coronary atherectomy. *Eur Heart J*, 27 巻、2006、1685-89

西平 賢作 他、Organized thrombus in aspirated coronary materials can predict in-hospital mortality of patients with acute myocardial infarction. *Circ J*, 77 巻、2013、1275-80

山下 篤、西平 賢作 他、Paucity of CD34-positive cells and increased expression of high-mobility group box 1 in coronary thrombus with type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis*, 224 巻、2012、511-4

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 1 件)

西平賢作 他

Prevalence of calcification in aspirated coronary materials of patients with acute myocardial infarction

第 79 回日本循環器学会学術集会

2015 年 4 月 24 日 ~ 2015 年 4 月 26 日

大阪国際会議場 (大阪府・大阪市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

特になし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

西平 賢作 (NISHIHIRA, Kensaku)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号 : 60736312

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし

(4)研究協力者  
なし