

平成 21 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790262
 研究課題名（和文） 日本人の冠状動脈硬化症における糖尿病合併の病理学的意義 - 久山町疫学研究との連携
 研究課題名（英文） Pathophysiological roles of diabetes in Japanese coronary atherosclerosis: the Hisayama study.
 研究代表者
 住吉 真治 (SUMIYOSHI SHINJI)
 京都大学・医学研究科・医員
 研究者番号：00423541

研究成果の概要：

久山町健診で剖検となった症例のうち 461 例の冠状動脈の粥状硬化病変を、病理組織学的手法を用いて評価し、健診の臨床データと比較して検討した。冠状動脈の内膜肥厚・粥状硬化病変の進展には、糖尿病と高血圧いずれもが関与し、特に両方が合併した場合内腔狭窄や石灰化を強くすることが示された。この糖尿病高血圧合併群の有意な狭窄と進展には血清脂質の高値も関与していると考えられ、メタボリック・シンドロームの各構成要素が粥状硬化症の進展関与することが病理形態学的に示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	0	1,900,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：循環器、動脈硬化症、病理組織学、糖尿病、高血圧症

1. 研究開始当初の背景

(1) 生活習慣病としての動脈硬化とその関連疾患である虚血性心疾患は増加の一途をたどり、日本人の主要な死亡原因の一つとなっている。その病態解明は現在非常に重要な課題である。動脈硬化症と炎症・炎症関連因

子との関わりを支持する知見が、近年徐々に蓄積されてきてはいるが、実際のヒトの病巣においては十分には証明されてきてはいない。

(2) 同じく主要な生活習慣病の一つである糖尿病患者においては、臨床的に明らかな冠

動脈疾患を発症していない症例でも心疾患による死亡率が高く、冠動脈疾患を発症した非糖尿病症例と同程度と考えられている。主に臨床的な報告から糖尿病が粥状硬化症を増悪させることは広く認識されているが、糖尿病合併の有無による粥状硬化病変の差異、特に病巣の病理学的、形態学的な特徴についての検討報告は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、主要な生活習慣病の一つである糖尿病合併の有無による冠状動脈の変化、特に動脈硬化巣の質や炎症の程度を剖検例の冠状動脈を用い、組織学的・免疫組織化学的に検索し、久山町健診の疫学データと比較することによりヒトの症例において糖尿病合併例の動脈硬化巣の病理学的特性を究明することを目的とした。糖尿病は本邦でも増加しつづけている疾患であり、糖尿病症例の虚血性心疾患の予防・治療につながるとともに、動脈硬化・粥状硬化の増悪のメカニズムについても知見が得られると考えられた。

3. 研究の方法

(1) 材料

1988年の久山町健診を受診した症例群のうち、臨床データが揃っており、かつ剖検となった合計461例（糖尿病のみ：36例（男女比26:10，以下D群）、糖尿病+高血圧合併：32例（男女比15:17，以下DH群）、高血圧のみ：148例（男女比71:77，以下H群）、糖尿病/高血圧の合併無し：245例（男女比133:112，以下N群））を対象とした。

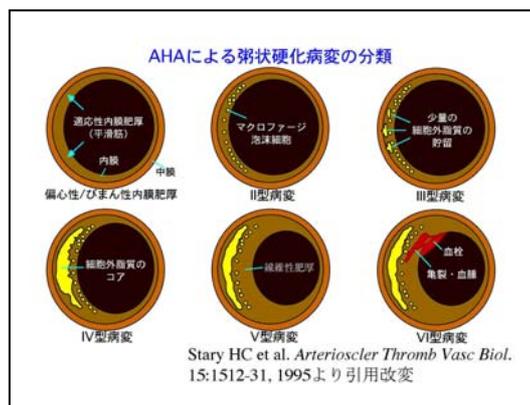
剖検心から、冠状動脈を右冠状動脈、左冠状動脈前下行枝および回旋枝から各2箇所、計6箇所を切り出し、組織パラフィンブロックとした（合計2766箇所）。

本研究に用いた臨床データのうち主なも

のは、年齢、性別、血圧（仰臥位/座位）、心電図所見、喫煙、飲酒、高血圧、コレステロール値、血糖値、ヘモグロビンA1cなどであった。

(2) 形態学的検討

上記ブロックを薄切後、HE, Elastica van Gieson (EVG), Masson Trichrome (MT)の各種染色で形態を観察した。動脈硬化の質的評価の基準としてAHAの提唱する粥状硬化症の分類に従って各病変をびまん性内膜肥厚からI型からVI型病変に分類した（図1）。



(図1)

動脈硬化の進行度を量的(数值的)に比較するための指標として、内腔狭窄率(%)を求め用いた。また、日本人には欧米の報告と比して石灰化が目立つ症例が多いことから、石灰化の有無が各群間で差があるかを検討した。

(2) 免疫組織化学的検討

冠状動脈の内膜における炎症細胞浸潤の程度とその細胞種を検索するため、以下の免疫組織化学的染色を行った。ブロックは全て連続切片とし、各種陽性細胞を比較した。マクロファージ：CD68、リンパ球：CD45、Tリンパ球：CD3、CD45RO、Bリンパ球：CD20。さらに動脈硬化巣での発現の検索を目的として、酸化LDL：DLH3、ヘムオキシゲナーゼ：HO-1の染色も行った。光学顕微鏡で鏡検した際、数の計測が可能なもの（CD45、CD3、CD45RO、CD20、HO-1）については各切片の内

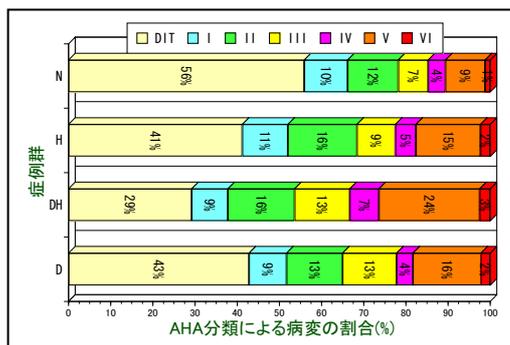
膜内の陽性細胞数を計測し密度を計算し比較に用いた。一方細胞境界が不明瞭になりやすく、鏡検では正確な数の計測が困難なマクロファージや、細胞だけでなく間質にも陽性となる酸化LDLについては、陽性率(%)を計算し比較した。

(3) 統計学的検定

各群間の計測値の比較は、Kruskal-Wallis rank test および Mann-Whitney's U test などにより行った。

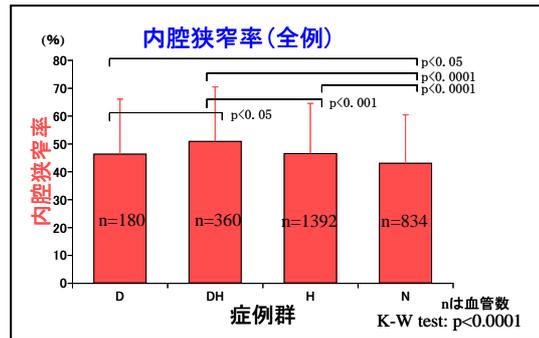
4. 研究成果

(1) 症例群別のAHA分類の内訳を図2に示す。合併症のある群では粥状硬化病変の割合が60%を超え、特にDH群ではIV型以上の進行病変が34%と高かった。D群とH群の間に有意差は無かったが、その他の群の間には全て有意差を認めた。



(図2)

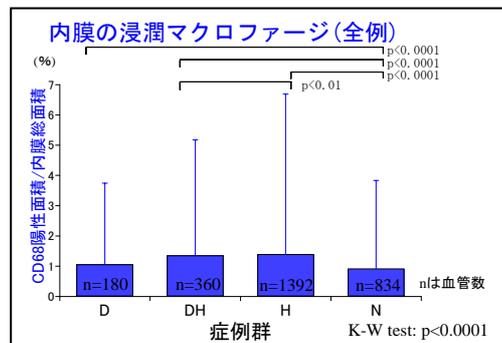
(2) 冠状動脈の内腔狭窄率はN群に比して他の三群全てで有意に狭窄が強かった。また他の三群の間でもDH群が最も強い狭窄を示した(図3)。糖尿病と高血圧両方が動脈の内腔狭窄に関わっていることが示唆された。



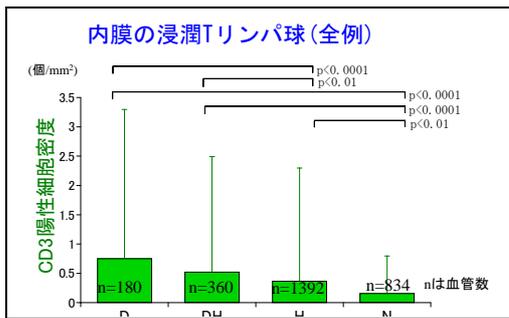
(図3) 症例群別の内腔狭窄率

(3) N群に比して他の三群全てが有意に石灰化が強く、またDH群が最も強かった。糖尿病と高血圧の両方が影響している可能性が考えられた。

(4) 内膜におけるマクロファージ陽性面積の割合はN群に比して他の三群全てが有意に高かった(図4)。CD3を指標としたTリンパ球の密度はN群で有意に少なく、またD群で高かった(図5)。リンパ球の指標であるCD45, CD45RO陽性細胞密度もともに似た傾向を示した。CD20を指標としたBリンパ球の密度は糖尿病のある二群で有意に高かった。



(図4) 症例群別の内膜における浸潤マクロファージの陽性面積



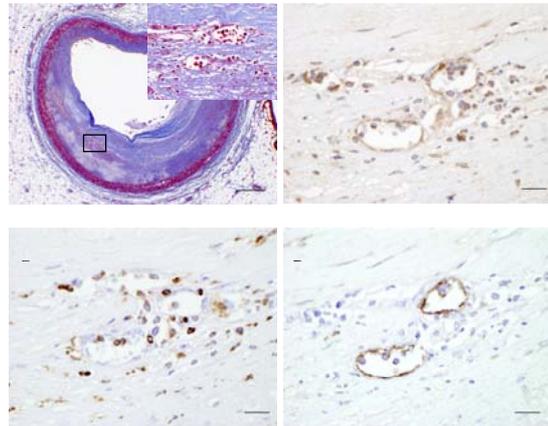
(図5) 症例群別の内膜におけるTリンパ球の密度

(5) DLH3を用いた酸化LDL陽性面積を検討したところ、糖尿病のある二群で有意に広く、またH群とN群との間にも有意差を認めた。
 (6) 比較した4群ではH群の年齢が有意に高かったため、加齢による影響を考慮し、症例数の少ないD群とDH群の症例に年齢をマッチさせて比較した。内腔狭窄率と石灰化は全例で行ったときとほぼ同様にDH群が最も強かった。マクロファージ陽性面積の割合は、全例で解析したときに比して、H群の割合が低くなり、Tリンパ球数は糖尿病のある群で有意に高いという結果が得られた。

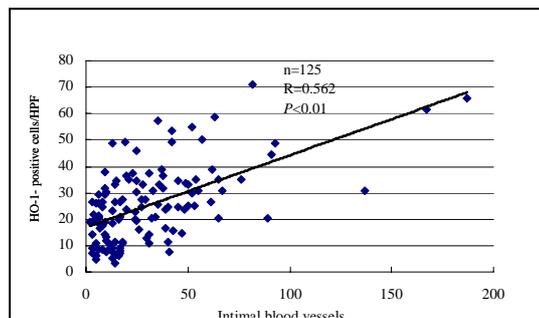
また、この年齢マッチング後の群で血清脂質を参照したところ、DH群がN群に対して、総コレステロールと中性脂肪とが高かった。これらの糖尿病高血圧合併群の有意な動脈硬化の狭窄と進展には血清脂質の高値も関与していると考えられ、メタボリック・シンドロームの各構成要素が粥状硬化症の進展に密接に関わっていることが病理形態学的に示唆された。

(7) HO-1の発現の検討では、ヒト粥状硬化病変では、マクロファージと内皮細胞にHO-1が発現しており(図6)、特に糖尿病群でその発現が高かった。また、進行病変になるほど発現が強くなることや、糖尿病群において内膜の新生血管に発現がみられること、動脈の内膜における新生血管の数と発現が相関す

ること(図7)などが示された。ヘムオキシゲナーゼが動脈硬化の進展を多面的に制御している可能性が示唆された。



(図6) 動脈硬化巣内の血管内皮におけるHO-1の発現(免疫組織化学)



同様に蓄積されてきた剖検診断データおよび保存された臓器・標本の存在も重要な意味を持っている。剖検心臓を用いた糖尿病症例の動脈硬化症の病理学的報告は、国内外でいくつみられるが、本研究のように詳細な臨床データと合わせた報告はほとんどない。本研究により、主題である糖尿病症例における動脈硬化症の特徴、日本人の動脈硬化症の病理形態学的特徴と各種臨床的な危険因子との関連を示すことができたと考える。

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1件)

Jingyu Song, Shinji Sumiyoshi, et al.

Overexpression of heme oxygenase-1 in coronary atherosclerosis of Japanese autopsies with diabetes mellitus: Hisayama study. *Atherosclerosis*, 202: 573-581, 2009, 査読有.

〔学会発表〕 (計 1 件)

住吉真治、久山町健診剖検例における冠状動脈動脈硬化の病理組織学的研究 糖尿病および高血圧の病態学的意義、第 39 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、2007 年 7 月 13 日、大阪国際会議場.

〔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〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

住吉 真治 (SUMIYOSHI SHINJI)

京都大学・医学部医学研究科・医員

研究者番号 : 00423541

(2) 研究協力者

宋 京郁 (SONG JINGYU)

九州大学・医学研究科

居石克夫 (SUEISHI KATSUO)

九州大学・医学研究科・前教授

研究者番号 : 70108710

中島 豊 (NAKASHIMA YUTAKA)

福岡赤十字病院・病理部部长

土井 康文 (DOI YASUFUMI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号 : 70108710

清原 裕 (KIYOHARA YUTAKA)

九州大学・医学研究科・教授

研究者番号 : 80161602

