

心血管イベントの発生における血栓形成機序の病理形態

Mechanisms of Thrombus Formation in the Onset of Cardiovascular Events

浅 田 祐 士 郎

Yujiro Asada

宮崎大学病理学講座構造機能病態学分野

要 旨 虚血性心疾患や脳梗塞などの心血管イベントは、動脈硬化性プラークの破綻に伴う血栓形成により発症することから、アテローム血栓症と総称される。血栓は血小板と血液凝固反応の最終産物であるフィブリンより成るが、これらの度合いは一様ではなく、血管径や壁の性状、血流や血液凝固能などにより異なっている。動脈の血栓形成では血小板が主役を演じるが、プラーク内には血液凝固系のトリガーである組織因子が発現しているため、凝固系も活性化され、血小板とフィブリンから成る白色血栓が形成される。プラークは、脂質成分や炎症細胞に富んだプラークから、これらに乏しい線維性プラークまで、その病理像は多様である。前者では強い凝固活性を有しており、プラーク破綻に伴い、よりフィブリンが優位なサイズの大きい血栓が形成されやすい。一方、プラーク破綻は無症候性のものが多く、心血管イベントの発症には血栓の成長・増大も要因となる。

キーワード：アテローム血栓症、血小板、組織因子、フィブリン

1. はじめに

我が国ではライフスタイルの欧米化や人口の高齢化に伴い、虚血性心疾患や脳梗塞に代表される心血管イベントの発症率が年々増加してきている。虚血性心疾患と脳血管障害は死因の第2位と第3位に位置し、両者を併せると死因の約3割を占め、第1位の悪性新生物に匹敵することからも極めて重要な疾患と位置付けられている。これらの疾患の多くは、動脈硬化巣（プラーク）を素地として起きる血栓症により発症するもので、「アテローム血栓症」と総称される。また、虚血性心疾患においては、急性心筋梗塞、不安定狭心症と虚血性心臓突然死は、いずれも冠動脈プラークの破綻に伴う血栓形成により、冠動脈閉塞ないしは亜閉塞性をきたす一連の疾患群としてとらえ、急性冠症候群（acute coronary syndromes）と呼ばれている。

血栓の形成は、古来より①血管壁の性状変化、②血流の変化、③血液成分の変化の3つが要因（Virchow's triad）とされており、現在でもこの概念は受け入れられている。しかし、これらの因子がそれぞれ単独では血栓は発生し難い。このためイベント発症においては、複数の因子が相互に関連することにより血栓形成が促進されると考えられる。一般に、動脈の血栓形成では、動脈硬化巣の存在とその破綻が最も重要で、静脈や細小血管では血流の変化（うっ滞、乱流、静止）と血液成分の変化（凝固能の亢進、線溶能の低下）がより重要視

されている。

血栓は血小板と凝固系の活性化により形成されるが、それぞれが独立して作用するものではない（図1）。凝固系因子のトロンビンは強力な血小板活性化因子であり、また凝固反応は活性化された血小板の膜上で効率よく進行する。このように両者は相互に作用し血栓形成が促進される。血小板と凝固系の関与の度合いは一律ではなく、血管の種類や壁の性状、血流、基礎疾患などにより異なってくる。またプラーク破綻は無症候性のものが多く、心血管イベントの発症には破綻部の血栓が内腔を閉塞する大きさにまで増大・成長することが必要である。このため効果的な抗血栓療法には、個々の病態、血栓のステージを考慮した予防・治療薬の選択が重要となる¹⁾。

本稿では、動脈、特に冠動脈を中心に、心血管イベントの発症における血栓の形成機構について病理形態学の立場から概説する。

2. 動脈における血栓形成

内皮細胞はプロスタサイクリン、トロンボモジュリン、一酸化窒素をはじめとする数多くの抗血栓分子を産生・分泌しているため、健全な動脈内で血液が固まることはない。このため動脈では内皮細胞の剥離が血栓形成の引き金となる。また流速の速い動脈においては、凝固因子が活性化されても瞬時に流されるため、凝固反応は進み難い。一方、血小板は血流に抗して内皮下組織に粘着するため、動脈の血栓形成では血小板が主役を演じることになる。事実、動物実験において健全な動脈の内皮細胞を物理的に剥離すると、露呈した内皮下組織に瞬時に血小板が粘着し凝集する像が観察される（図2）。

〒889-1692 宮崎県宮崎市清武町木原 5200
TEL: 0985-85-2810
E-mail: yasada@fc.miyazaki-u.ac.jp
2012年2月9日受付

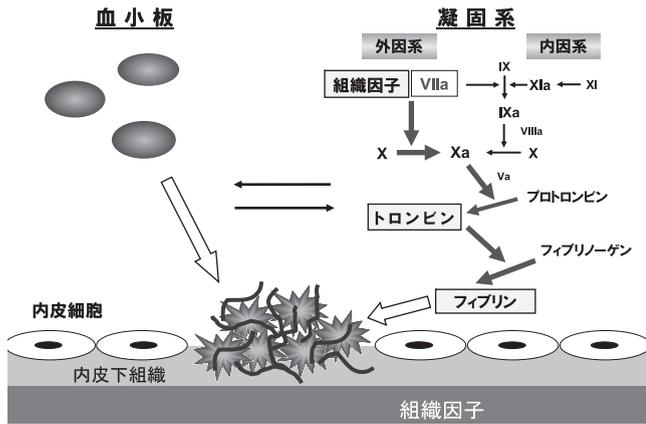


図1 血小板と血液凝固系

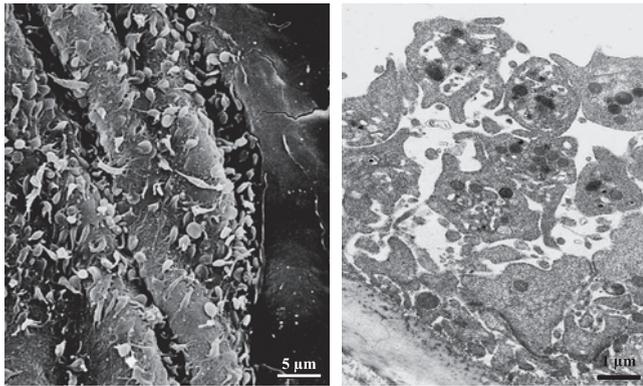


図2 家兎大動脈の内皮細胞剥離部 30 分後の走査電顕像 (左) と透過電顕像 (右)

動脈の血栓形成機序については、これまでに動物実験や *in vitro* フローチャンバー系を用いた数多くの研究結果が報告されてきており、以下の機序で進行することが明らかにされている^{2,3)}。内皮細胞が剥離すると、内皮下のコラーゲンに血中の von Willebrand 因子 (VWF) が速やかに結合し、血小板が膜蛋白 Glycoprotein (GP) Iba を介して VWF に結合する。この結合力は比較的弱く、血小板はコラーゲン上を移動しながら減速する。この間に膜上のコラーゲンレセプター ($\alpha_2\beta_1$ や GP VI) を介し粘着するとともに ADP, トロンボキサン A_2 , セロトニンなどを放出し、自身及び周囲の血小板を活性化する。活性化された血小板は最終的には血小板膜上の GP IIb-IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) を介して VWF やフィブリノーゲンと強く結合し凝集する (図 3)。動脈硬化などにより内腔が狭窄し血流速度・ズリ応力が増加した環境では、フィブリノーゲンよりも VWF を介した凝集機序がより重要とされる⁴⁾。血小板の凝集に続いて活性化血小板の膜上で凝固系の活性化が起こり、血小板間にフィブリンが形成されて、血栓は安定化する。

このように血小板を中心とする動脈血栓の形成機構は広く受け入れられており、心血管イベントの予防には、アスピリンをはじめとした抗血小板剤がファーストチョイスとされ、そのイベント抑制効果は多くの臨床試験で確認されている。しかし、これら抗血小板剤による発症抑制率は 25 ~ 30% に

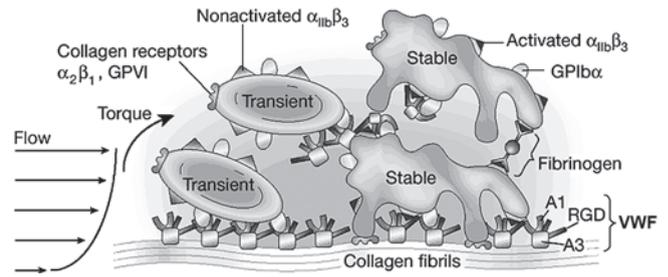


図3 血流下での血小板の粘着・凝集機構 (文献 2 より引用)

とどまり⁵⁾、未だ満足のいく成績には至っていない。これらの臨床試験の結果は、上記の血小板主体の機構ではイベント発症を説明できないことを示唆している。

アテローム血栓症は動脈硬化性プラークを素地として発生する。健全な動脈壁と動脈硬化性プラークの性状は大きく異なっており、この違いが血栓形成に強く作用することが想定される。次に動脈硬化性プラークの病理組織所見と、プラーク破綻の機序について述べる。

3. 動脈硬化巣における血栓形成

動脈硬化巣は、増生した平滑筋細胞とこれが産生したコラーゲンやプロテオグリカンなどの細胞外基質、脂質を取込んだマクロファージの集簇から成っている。通常は深部にこれら成分の壊死組織である脂質コアが存在し、これを平滑筋細胞とコラーゲンを主成分とした線維組織が被覆する構造を呈している。硬化巣のコラーゲンは、健全動脈と異なり、血小板活性化能の強い I 型、III 型が増生し⁶⁾、外因系凝固反応の引き金である組織因子が大量に発現している^{7,8)}。さらに抗血栓作用分子であるトロンボモジュリンやプラスミノゲンアクチベータの発現が減少し、全体として向血栓性に傾いた状態になっている⁹⁾。また進行した動脈硬化巣では内腔の狭窄に伴って、血流速度やズリ応力などの血行力学的因子も複雑に変化している。このためプラーク破綻部では健全動脈とは異なる血栓形成機構が想定される。

3.1 プラークの破綻 (破裂とびらん)

プラークの破綻は、その形状から「破裂」と「びらん」に大別される (図 4)¹⁰⁾。プラーク破裂は、脂質コアを覆う線維性被膜の破綻により、脂質コア成分が血液と直接接触するもので、①脂質コアが大きく、②線維性被膜が薄く、③マクロファージや T リンパ球などの炎症細胞の強い浸潤を伴う、等の特徴を有するプラーク (不安定プラークと呼ばれる) に生じやすい。一方、プラークびらんは、被膜の浅い傷害で、破綻が脂質コアに達しないものを呼ぶ。通常、脂質沈着や炎症細胞浸潤に乏しく、平滑筋細胞とプロテオグリカンに富んだプラークに多く認められる。

急性冠症候群の多くはプラークの破裂により発症する。マクロファージは動脈硬化の促進に作用するが、被膜内ではマトリックス・メタプロテアーゼ等を分泌し、線維性被膜の菲薄化や、細胞周囲マトリックス分解に伴う平滑筋細胞のア

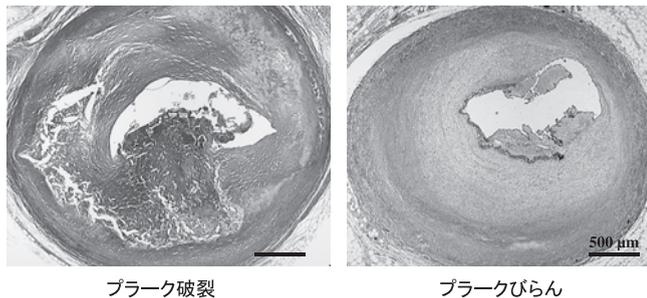


図4 冠動脈のプラーク破裂(左図)とプラークびらん(右図)(文献19より引用)

ポトシスを誘導し、被膜の断裂に繋がると考えられおり、プラーク破裂の機序として炎症・免疫機構の関与が注目されている¹⁰。これを踏まえてCRP(C反応性蛋白)など炎症に関連する多くの血液バイオマーカーが検討されてきており、そのいくつかは発症予測や治療評価と関連することが報告されている。筆者らは、狭心症患者の冠動脈病理標本を解析し、CRPやCD10, CD18, IFN- γ など多くの炎症性サイトカインに加えて、プラーク内出血やこれに伴う酸化ストレスの増強がプラーク破裂に関連することを報告してきた^{11~14}。

一方、プラークびらんは、冠疾患死の剖検症例の中で15~30%を占めている^{10,15}。先に述べたように、脂質沈着や炎症細胞浸潤に乏しく、狭窄や石灰化も軽度のプラークに起こり易い。またプラーク破裂に比して、より若い人で、女性に多い。その発生には血管収縮や攣縮の関与が示唆されているが、詳細な機序はまだ明らかにはされていない。

3.2 プラーク破綻と血栓形成

従来、心筋梗塞症例の血栓の病理像は剖検症例でしか観察できず、治療や発症後の時間経過による修飾が加わるため、発症時の病理像を観察することは極めて困難であった。しかし最近では臨床現場で血栓吸引治療が広く行われるようになり、発症早期の血栓像を観察することが可能となっている。図5は急性冠症候群患者の発症早期に吸引採取された血栓の免疫組織像である¹⁶。血栓は、血小板に加えて多量のフィブリンから成ることが見て取れる。これは先に述べた健常動脈の血栓像とは大きく異なるものである。血小板とVWF、組織因子とフィブリンはそれぞれほぼ一致して存在し、これら分子の血栓に占める割合は、発症後の時間経過によっても有意な差は認められないことから、プラーク破綻部では、その初期から、血小板と共に凝固系が強く活性化されていることが示唆される¹⁶。

この凝固系活性化の原因として、プラークでは組織因子(tissue factor: TF)が過剰に発現していることがあげられる。TFは、分子量47,000の膜蛋白質で、細胞表面に発現し、リン脂質層上でVIIa因子と複合体を形成し、VIIa因子の酵素活性を飛躍的に高め、IX因子およびX因子を活性化し、外因系凝固反応を開始させる(図1)。TFは、脳、肺、腎をはじめとした全身の組織に存在しており、血管では外膜に大量

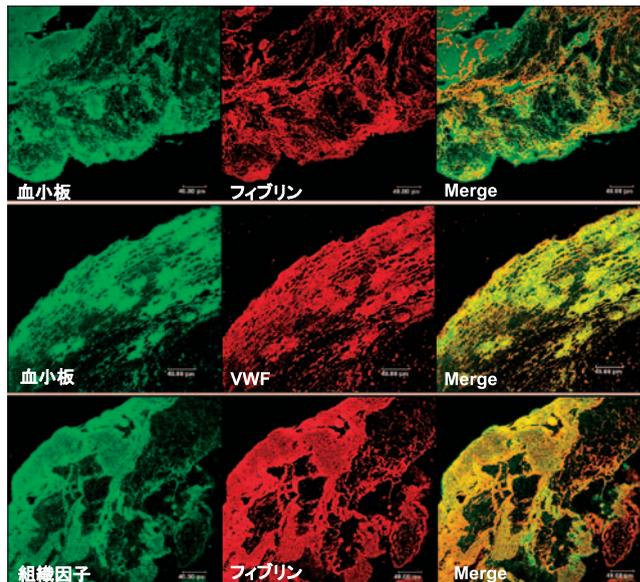


図5 急性心筋梗塞患者から吸引採取された血栓の免疫染色(文献16より引用)

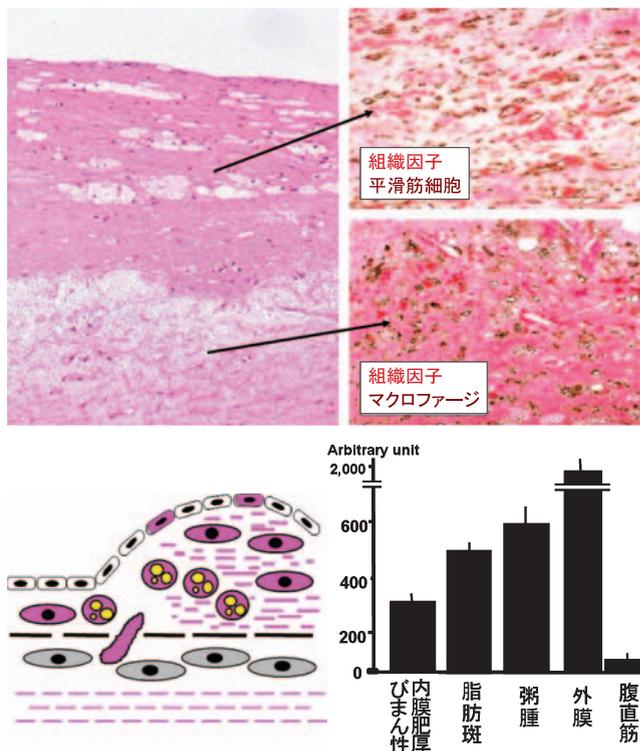


図6 ヒト動脈硬化巣における組織因子の局在(上図右、下図左)と凝固活性能(下図右)(文献8より引用改変)

に存在し、止血機能を担っている¹⁷。一方、プラーク内では、マクロファージや平滑筋細胞で産生され、動脈硬化の進行につれてその発現量は増大している(図6)^{7,8,17,18}。このためプラーク破綻部では血小板に加えて、凝固系の急激な活性化によりトロンビン、フィブリンの生成が進み、血栓形成が促進されると想定される。

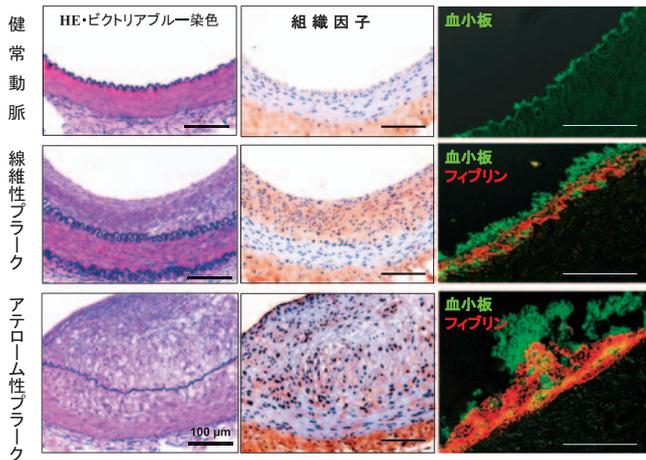


図7 家兎大腿動脈（健常動脈，プラーク）の組織因子免疫染色と内膜傷害15分後の血栓像（文献21より引用改変）

また破裂とびらんでは形成される血栓の組成が多少異なっている。破裂部の血栓はびらん部の血栓に比して、血小板よりもフィブリンの占める割合が有意に高く、血栓のサイズも大きい場合が多い¹⁹⁾。この理由としては、プラーク破裂が脂質コアと炎症細胞浸潤に富み、大量の組織因子を含んだプラークに発生しやすいことに対して、プラークびらんではプラーク表層の傷害のため、組織因子の暴露が少なく、凝固系の活性化が弱いためと推察される。このようなプラーク破綻や血栓の性状の違いは、抗血栓療法の治療効果にも影響すると推察される。

3.3 血管壁内にTFを発現させた動物モデル

以上のヒトのプラーク破綻と血栓の病理像を踏まえて、筆者らは、家兎動脈（腸骨一大腿動脈）にヒトの動脈硬化性プラークと類似の病変を作成し、血栓形成におけるプラーク内凝固活性の重要性と抗凝固療法の可能性を報告してきた²⁰⁾。家兎を用いた理由は、マウスやラットに比べて、家兎の脂質代謝系や血液凝固・線溶系バランスがヒトに近いこと、形成される動脈硬化巣の病理像がヒトに類似していることである。図7に示すように、家兎の健常な大腿動脈では、TFは外膜にのみ発現し、内膜傷害部には血小板からなる小さな血栓が観察される。一方、平滑筋と細胞外マトリックスからなる線維性プラークでは、病巣に一致してTFの発現を認め、傷害後には血小板とフィブリンからなる血栓が形成される。さらに脂質、マクロファージ浸潤を伴ったアテローム性プラークではより強いTF発現を認め、ボリュームのある血栓が形成される²¹⁾。このモデルは、ヒトのアテローム血栓症の病態をよく反映しており、病態解明ならびに新たな抗血栓治療薬の開発に利用されている²²⁾。

4. 血栓の増大とイベント発症

これまで述べてきたように、プラーク破綻に続く血栓形成が心血管イベント発症の引き金となる。しかしプラーク破綻に伴う血栓は、臨床的にサイレントなものが多く、心血管イ

イベントの発症には、血栓が内腔を閉塞する大きさにまで増大・成長することが必要となる。剖検症例の冠動脈を観察していると、冠動脈疾患の既往や症状が認められなかった症例においても、小さな血栓を伴うプラーク破裂やびらん、あるいはその修復像を認めることは稀ではない。これまでの報告では、剖検症例の7～16%にこのような無症候性プラーク破綻が観察されており、筆者らの検討では非冠疾患死症例の15%に認められた^{23,24)}。最近では血管内超音波や血管内視鏡などの画像機器の発達に伴い、より高頻度に存在することが報告され^{25,26)}、無症候性のプラーク破綻は決して稀な現象ではないことが明らかにされている。このようなプラーク破綻の多くは小規模なもので、繰り返すことにより、動脈硬化の進展に繋がるものと推察される。しかし一方では、プラーク破綻が小規模であっても血栓性閉塞をきたす症例がみられることから、破綻部の血栓の増大がイベント発症の重要なプロセスと考えられる。

血栓の増大・成長には、破綻したプラークの形状や組成が重要な因子となるが、加えて血流の変化、血液凝固・線溶能や血小板凝集能などの数多くの因子が関与している^{1,20)}。

5. おわりに

心血管イベント発症における血栓形成の機序について、人体病理像とこれを踏まえた動物実験の結果を中心に述べた。近年、急性冠症候群の分子生物学レベルでの研究が急速に進み、プラーク破綻に関与する分子種、血小板・凝固系の活性化機序が次々に解明され、診断や病態を反映する種々のバイオマーカーが次々に報告されてきている。しかしプラーク破綻や血栓形成の機序は一様ではなく、危険因子の種類や関与の度合い、プラークの性状や周囲環境など様々な因子により変動している。このため個々の病態を踏まえた解析が必須となる。発生現場の観察（形態像）は、個々の病態評価には欠かせないプロセスである。形態像から得られた情報を基に多面的な評価手法を用いた解析が、心血管イベントの予防・治療法の確立と新規治療薬の開発に繋がると期待される。

文 献

- 1) 浅田祐士郎：斎藤英彦（編），血栓形成機序，抗血栓薬の最前線—基礎と臨床—，医薬ジャーナル社，大阪，18-34（2011）
- 2) Ruggeri, Z.M.: *Nat. Med.*, **8**, 1227-1234 (2002)
- 3) Nieswandt, B. and Watson, S.P.: *Blood*, **102**, 449-461 (2003)
- 4) Goto, S., Ikeda, Y., Saldívar, E. and Ruggeri, Z.M.: *J. Clin. Invest.*, **101**, 479-486 (1998)
- 5) Antithrombotic Trialists' Collaboration: *B. M. J.*, **324**, 71-86 (2002)
- 6) Katsuda, S. and Kaji, T.: *J. Atheroscler. Thromb.*, **10**, 267-274 (2003)
- 7) Wilcox, J.N., Smith, K.M., Schwartz, S.M. and Gordon, D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 2839-2843 (1989)
- 8) Hatakeyama, K., Asada, Y., Marutsuka, K., Sato, Y., Kamikubo, Y. and Sumiyoshi, A.: *Atherosclerosis*, **133**, 213-219 (1997)
- 9) Spronk, H.M., van der Voort, D. and Ten Cate, H.: *Thromb. J.*, **2**, 12 (2004)
- 10) Shah, P.K.: *J. Am. Coll. Cardiol.*, **41**, 15S-22S (2003)

- 11) Ishikawa, T., Hatakeyama, K., Imamura, T., Date, H., Shibata, Y., Hikichi, Y., Asada, Y. and Eto, T.: *Am. J. Cardiol.*, **91**, 287–292 (2003)
- 12) Kawamoto, R., Hatakeyama, K., Imamura, T., Ishikawa, T., Date, H., Shibata, Y., Takenaga, M., Asada, Y. and Eto, T.: *Am. J. Cardiol.*, **94**, 104–107 (2004)
- 13) Nishihira, K., Imamura, T., Yamashita, A., Hatakeyama, K., Shibata, Y., Nagatomo, Y., Date, H., Kita, T., Eto, T. and Asada, Y.: *Eur. Heart J.*, **27**, 1685–1689 (2006)
- 14) Nishihira, K., Yamashita, A., Imamura, T., Hatakeyama, K., Sato, Y., Nakamura, H., Yodoi, J., Ogawa, H., Kitamura, K. and Asada, Y.: *Atherosclerosis*, **201**, 360–367 (2008)
- 15) Burke, A.P., Farb, A., Malcom, G.T., Liang, Y.H., Smialek, J. and Virmani, R.: *N. Engl. J. Med.*, **336**, 1276–1282 (1997)
- 16) Yamashita, A., Sumi, T., Goto, S., Hoshiya, Y., Nishihira, K., Kawamoto, R., Hatakeyama, K., Date, H., Imamura, T., Ogawa, H. and Asada, Y.: *Am. J. Cardiol.*, **97**, 26–28 (2006)
- 17) Tilley, R. and Mackman, N.: *Semin. Thromb. Hemost.*, **32**, 5–10 (2006)
- 18) Steffel, J., Luscher, T.F. and Tanner, F.C.: *Circulation*, **113**, 722–731 (2006)
- 19) Sato, Y., Hatakeyama, K., Yamashita, A., Marutsuka, K., Sumiyoshi, A. and Asada, Y.: *Heart*, **91**, 526–530 (2005)
- 20) Yamashita, A. and Asada, Y.: *J. Biomed. Biotechnol.*, **2011**, 424929 (2011)
- 21) Yamashita, A., Matsuda, S., Matsumoto, T., Moriguchi-Goto, S., Takahashi, M., Sugita, C., Sumi, T., Imamura, T., Shima, M., Kitamura, K. and Asada, Y.: *Atherosclerosis*, **206**, 418–426 (2009)
- 22) 山下 篤, 浅田祐士郎: 北 徹, 堀内久徳, 柳田素子, 猪原匡史, 富本秀和, 並河 徹 (編), バルーンカテーテルによる反復傷害血栓モデル, モデル動物利用マニュアル・疾患モデルの作成と利用, 循環器疾患動物, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, 212–217 (2010)
- 23) Arbustini, E., Grasso, M., Diegoli, M., Morbini, P., Aguzzi, A., Fasani, R. and Specchia, G.: *Coron. Artery Dis.*, **4**, 751–759 (1993)
- 24) Sato, Y., Hatakeyama, K., Marutsuka, K. and Asada, Y.: *Thromb. Res.*, **124**, 19–23 (2009)
- 25) Asakura, M., Ueda, Y., Yamaguchi, O., Adachi, T., Hirayama, A., Hori, M. and Kodama, K.: *J. Am. Coll. Cardiol.*, **37**, 1284–1288 (2001)
- 26) Rioufol, G., Finet, G., Ginon, I., André-Fouët, X., Rossi, R., Vialle, E., Desjoyaux, E., Convert, G., Huret, J.F. and Tabib, A.: *Circulation*, **106**, 804–808 (2002)