

動脈瘤の発生・進展に関する
実験的検討

折口 信人

①

動脈瘤の発生・進展に関する
実験的検討

折 口 信 人

1. 緒言

動脈瘤は、動脈硬化・感染・血管炎（大動脈炎症候群や巨細胞動脈炎）・Behcet 病・結合織疾患（Ehlers-Danlos 症候群や Marfan 症候群）・外傷などによる血管壁の抗張力低下を原因として動脈内径が拡張し、最終的には破裂により死に至ることの多い重篤な疾患である。超音波検査等による早期診断・経皮的人工血管挿入術を含めた外科的治療の進歩にもかかわらず動脈瘤破裂による死亡症例は多数存在しており、アメリカでは年間約1万5千人が腹部大動脈瘤破裂により死亡している¹⁾。動脈瘤は中膜弾性線維の高度な破壊・消失をその病理組織学的特徴としていることから、瘤壁内のエラスターゼ²⁾や各種マトリックスメタロプロテアーゼ（以下、MMP）³⁻⁸⁾濃度の上昇により中膜弾性線維が破壊されて内径が拡張すると考えられているが、瘤形成に至る詳細な機序は不明である。

そこで著者は、瘤壁中に MMP の存在を確認した後、外膜側からのエラスターゼ投与による動物モデルを開発して⁹⁾実験的検討を行った。従来の生理的な動物モデルとしては、Anidjar らにより報告された内腔側からのエラスターゼ投与モデル¹⁰⁾が存在するのみであった。彼らはラットの腹部大動脈に内腔側からエラスターゼを2時間持続注入して瘤を作製したが、ラットでは動脈径が小さいため実験が煩雑であり、また、ウサギに対して同様の手技を行うと脊髄への血行障害から両下肢の麻痺を発生する¹¹⁾。これに対して、著者のモデルは手技的に容易に瘤を作製する事が可能であり、また、ウサギにおいても下肢麻痺等の合併症の頻度は非常に少なく、貴重なモデルであると考えられる。

2. 動脈硬化性動脈瘤壁における MMP の発現

[対象]

平成7年5・6月に東京大学第一外科において手術された通常の動脈硬化性腹部大動脈瘤3例（それぞれ74歳、67歳、70歳の男性）を対象として、瘤の最大拡張部および起始部近傍（中枢）より動脈壁を採取し、以下の検討を行った。

[方法]

（A）ゼラチンザイモグラフィー

採取した瘤壁をトリスの緩衝液で洗浄して瘤壁周囲に付着した血液を除去した後、液体窒素により瞬間冷凍し、マイナス80℃に保存した。これをホモジナイズした後、ゼラチンゲル上に電気泳動（105 V・56 mA・2時間）してゼラチンザイモグラフィーを施行した。なお、各種 MMP の潜在型および活性型の分子量は以下の通りである。

	MMP-2	MMP-3	MMP-9	
潜在型	72	57	92	
活性型	67	45, 28	83, 66	（単位 kDa）

（B）病理組織学的・免疫組織学的検討

採取した動脈壁を酢酸アルコール固定・パラフィン包埋した後、Hematoxylin and Eosin 染色・Elastic van Gieson 染色・Azan 染色を施行した。

さらに、各標本を Retrieval solution（DAKO）中で煮沸処理した後 DAKO LSAB Kit を用いて MMP-1・2・3・9 のモノクローナル抗体（富士薬品）に対する免疫染色を施行し、Hematoxylin により核染色を行った。この他、HAM-56¹²⁾（抗マクロファージ・モノクローナル抗体）を用いて免疫染色を

施行し、MMP 陽性細胞の同定に役立てた。なお、本染色に用いた一次抗体の希釈倍率は以下の通りであった。

MMP-1: 50 倍, MMP-2: 50 倍, MMP-3: 10 倍, MMP-9: 100 倍
HAM-56: 2000 倍

[結果]

(A) ゼラチンゼイモグラフィー (図 1)

拡張部と起始部近傍のいずれにおいても 66 kDa と 83 kDa に MMP-9 と考えられるバンドが認められた。なお、症例 1 の拡張部は硬化が強くホモジナイズが困難であったために MMP の検出が弱かったものと思われる。

(B) 病理組織学的・免疫組織学的検討 (図 2)

3 症例とも、最大拡張部では中膜弾性線維の高度な破壊を認め、一方、起始部近傍にも中膜弾性線維の断裂・消失が認められた。

免疫染色の結果、MMP-1 は菲薄化した中膜を中心として瘤壁全体の間葉系細胞やマクロファージに陽性であったが、MMP-2, 3 は陰性であった。MMP-9 は、外膜に散在する好中球やマクロファージ等の小円形炎症細胞に陽性であった。

3. 動物モデルを用いた実験的検討⁹⁾

3-1 予備実験：至適条件の設定

(A) 外膜側からのエラスターゼ投与モデル（以下、外膜モデル）における至適投与濃度の決定

雄性 New Zealand white rabbit (2.0-2.5 kg) 7 匹を対象として、静脈麻酔下に腎動脈分岐部以下の腹部大動脈を約 1.5 cm 露出してその中央約 1 cm の部分をガーゼにより被包した。各濃度のエラスターゼ (type IV, Sigma) (3.0 mg/ml 以外に 1.0・5.0・10.0 mg/ml) を外膜側より 30 分毎に計 5 回ガーゼ上に滴下し、最終滴下から 30 分（エラスターゼ投与開始後 3 時間）でガーゼを除去した。腹部大動脈をカルノフスキー固定液（2.5 % グルタルアルデヒド、2 % パラホルムアルデヒド、0.1 M カコジル酸、pH 7.3）で約 1.5 m の高さから自然滴下により灌流固定した。術直後に標本を採取する場合を除いて大動脈壁は周囲結合組織との癒着が高度であるため、灌流固定後に約 1 mm 間隔で大動脈を切離し、ノギスを用いてその最大横径を実測して大動脈径とした。

その結果（表 1）、エラスターゼ投与前と灌流固定後の大動脈径を比較すると（以下、“拡張度”とする）、1.0 mg/ml では動脈径はあまり拡張せず、また、5.0 mg/ml では 3 例中 2 例が破裂、10.0 mg/ml では 2 例とも破裂したため、外膜側から投与するエラスターゼの濃度は 3.0 mg/ml が適当であると判断した。

(B) 内腔側からのエラスターゼ投与モデル（以下、内腔モデル）における至適投与速度・時間の決定

雄性 New Zealand white rabbit (2.0-2.5 kg) 5 匹を対象として、静脈麻酔下に腎動脈分岐部以下の腹部大動脈を露出した。次に、腰動脈 1 本を含む約 1.5

cmの腹部大動脈の上下両端をブルドッグ鉗子でクランプした後、その腰動脈内に18 G サーフローカテーテルを留置した。さらに、同カテーテルより持続注入機を用いて、エラスターゼ (type IV, Sigma) (3.0 mg/ml) を 1.0 あるいは 2.0 ml/hr の割合で 1 あるいは 2 時間持続注入した。

その結果、Anidjar らと同じ条件の 1.0 ml/hr・2 時間の持続投与では 2 匹とも大動脈は破裂し、2.0 ml/hr・1 時間の持続投与では 3 匹中 1 匹に大動脈破裂、残る 2 匹には両下肢の麻痺が発症した。

以上より、内腔からのエラスターゼ投与には 1.0 ml/hr・1 時間の持続注入が最適であると判断した。

3—(2) 対象と方法

(A) 外膜モデル (図 3a)

雄性 New Zealand white rabbit (2.0-2.5 kg) 24 匹 (実験群 18 匹、対照群 6 匹) を対象として、先の予備実験と同様の手技にて、静脈麻酔下に腎動脈分岐部以下の腹部大動脈を約 1.5 cm 露出してその中央約 1 cm の部分をガーゼにより被包した。エラスターゼ (type IV, Sigma) (3.0 mg/ml) を外膜側より 30 分毎に計 5 回ガーゼ上に滴下し、最終滴下から 30 分 (エラスターゼ投与開始後 3 時間) でガーゼを除去した。なお、対照群では、エラスターゼの代わりに生理食塩水を滴下した。

実験当日 ($n=6$)、3 日後 ($n=3$)、2 週後 ($n=2$)、4 週後 ($n=2$)、6 週後 ($n=2$)、3 ヶ月後 ($n=3$) に腹部大動脈を前述の予備実験と同様に、カルノフスキー固定液で灌流固定した後、ノギスを用いてエラスターゼを投与した部分の腹部大動脈の最大横径を実測し、光顕的・電顕的に観察した。なお、光顕的には、パラフィン包埋標本に対して Hematoxylin and eosin 染色・Elastic van Gieson 染色を施行し、透過電顕による観察では、Epon 812 に包埋した後 0.5% ウーロン茶抽出液 (OTE 溶液)¹³⁾ により弾性線維に対

する染色性を増加させ、ウラニル酢酸とクエン酸鉛で染色した。

(B) 内腔モデル (図 3b)

雄性 New Zealand white rabbit (2.0-2.5 kg) 11 匹 (実験群 10 匹、対照群 1 匹) を対象として、先の予備実験と同様の手技にて、静脈麻酔下に腎動脈分岐部以下の腹部大動脈を露出した。次に、腰動脈 1 本を含む約 1.5 cm の腹部大動脈の上下両端をブルドッグ鉗子でクランプした後、その腰動脈内に 18 G サーフローカテーテルを留置した。さらに、同カテーテルより持続注入機を用いて、エラスターゼ (type IV, Sigma) (3.0 mg/ml) を 1 ml/hr の割合で 1 時間持続注入した。なお、対照群では、エラスターゼの代わりに生理食塩水を注入した。

実験当日 ($n=7$)、6 週後 ($n=1$)、3 ヶ月後 ($n=2$) に前述のカルノフスキー固定液で外膜モデルの時と同様に灌流固定した後、ノギスを用いてエラスターゼ投与部の腹部大動脈の最大横径を実測し、光顕的・電顕的に観察した。

3—(3) 結果

(A) 外膜モデル

(肉眼的観察)

対照群の大動脈径はカルノフスキー灌流固定により固定前の 0.79 ± 0.05 倍に収縮した (表 2)。

実験群において (表 3)、大動脈はエラスターゼ投与約 1 時間後より発赤・拡張を始めた。実験途中で 2 匹が破裂し、残る 4 匹には実験終了時において平均 1.62 ± 0.14 倍の径の拡張が認められた。また、実験 3 日後、2 週後、4 週後、6 週後および 3 ヶ月後の大動脈径は平均してエラスターゼ投与前の実測値の 1.59 ± 0.29 、 1.35 ± 0.21 、 1.52 ± 0.01 、 0.97 および 0.84 ± 0.12 倍とな

った。対照群では灌流固定により大動脈は平均 0.79 倍に収縮したことから、各実験群の“拡張度”を 0.79 で除した“拡張率”は、実験終了時（当日） 2.06 ± 0.18 、3 日後 2.01 ± 0.37 、2 週後 1.71 ± 0.27 、4 週後 1.93 ± 0.01 、6 週後 1.23 および 3 ヶ月後 1.07 ± 0.15 倍であった（図 4a）。

〈光顕所見〉

実験当日、大動脈壁の中膜は著明に菲薄化し（図 5）、中膜弾性板はほぼ完全に消失していた（図 6）。部位により赤血球が菲薄化した大動脈壁を透過して外膜に浸潤している像も認められた。外膜に好中球やリンパ球の浸潤はほとんど認められなかった。

3 日後の大動脈壁は依然として菲薄で、中膜弾性板は高度に破壊されていた。内膜肥厚は認められなかった（図 7a）。

2 週後には中膜弾性板の再生が始まって中膜の厚さが漸増している。また、内膜肥厚の出現も認められた（図 7b）。

3 ヶ月後には中膜の厚さは実験前のレベルまでほぼ回復し、中膜弾性板の再生も認められた（図 8）。内膜肥厚は 2 週間後に比して、著明な減少が見られた。

〈電顕所見〉

実験当日には、対照群で認められたような弾性板（図 9）は消失していた。また、中膜平滑筋細胞は著明に変性して、壊死に近い所見を呈していた。すなわち、外形は不規則となり、核濃縮・ミトコンドリアの腫大・細胞質内の小空泡形成等が認められた（図 10・11）。さらに、内皮細胞の破壊により緻密帯は解離し、血漿成分の透過性は亢進した。膠原線維は平滑筋細胞の周囲に散在して認められた。

3 日後には中膜弾性板はまだほとんど存在せず、中膜平滑筋細胞の細胞内

小器官（粗面小胞体）は増加して筋線維は減少し、合成型平滑筋細胞^{14,15)}の所見であった（図12）。また、中には、細胞突起を認め可動性を示す平滑筋細胞も認められた。

3ヶ月後には中膜弾性板の再生が認められた（図13）。また、中膜平滑筋細胞内の筋線維は増加して細胞内小器官は減少し、収縮型平滑筋細胞^{14,15)}の所見であった。

（B）内腔モデル（表4）

（肉眼的観察）

エラストマーゼ注入中の大動脈破裂により2匹が死亡した。実験当日に標本を採取した5匹の拡張度は、 1.53 ± 0.24 倍であった。また、大動脈径は6週後には1.56倍、3ヶ月後には 2.21 ± 0.33 倍と実験3ヶ月後の時点まで拡張は継続しており、拡張率は各々 1.91 ± 0.30 、1.93、 2.73 ± 0.41 倍（対照群0.80倍）であった（図4b）。なお、実験3ヶ月後のうち1匹では、大動脈は紡錘状ではなく嚢状に拡張していた。

（光顕所見）

実験当日、血管壁は著明に菲薄化し、中膜弾性板は高度に断裂・消失していた（図14）。

実験6週後の動脈内腔は拡張し、血管壁は菲薄化して中膜弾性板の消失・減少が認められた。内膜肥厚はほとんど認められなかった（図15）。

実験3ヶ月後においても動脈内腔は拡張し、血管壁は菲薄化して中膜弾性板の減少が認められた。内膜肥厚はほとんど認められなかった（図16）。

（電顕所見）

実験当日、中膜弾性板は高度に消失し、中膜平滑筋の変性（核の変形およ

び細胞内小器官の増加)が認められた(図17)。

実験6週後においても中膜弾性板はあまり存在せず、また、中膜平滑筋の変性(細胞内小器官の増加と筋線維の減少)(合成型平滑筋細胞への形質変換)が認められた(図18)。

実験3ヶ月後において拡張部と移行部の電顕所見を比較すると、拡張部では弾性線維はまばらで中膜弾性板は形成されず、また、中膜平滑筋は依然として変性が強く、細胞内小器官の増加と筋線維に減少を認め、合成型平滑筋の像を呈していた(図19)。一方、移行部では中膜弾性板は軽度に再生し、また、平滑筋は細胞内小器官が減少して筋線維が増加し、収縮型平滑筋に形質変換していた(図20)。

4. 考察

動脈瘤の一部は家族性に発症^{16,17)}し、これまでに瘤家系における III 型コラーゲンの遺伝子異常が数例報告されている¹⁸⁻²⁰⁾。しかし、Tromp^ら²¹⁾は、大動脈瘤家系における III 型コラーゲンの遺伝子異常の頻度は 2%と低く、他の因子の存在を予想している。

弾性線維はエラスチンと呼ばれる中央の無構造物質とそのまわりを取り囲む微細線維（マイクロフィブリル）から構成されている。弾性線維は線維芽細胞・平滑筋細胞・血管内皮細胞・弾性軟骨の軟骨細胞などにより形成され、弾性型動脈の中膜では、エラスチンは層状をなして弾性板となり、動脈壁に弾性を与える役割を担っている。弾性板は胎児期前期に急速に形成され、新生児にはほぼ完成されている^{22,23)}。エラスチンは通常の電顕像では染色されず抜けた像として観察されるが、松並らによりウーロン茶から抽出された OTE 溶液¹³⁾により染色すると濃染して観察される。そして、動脈瘤では、この弾性線維の高度な破壊が最大の病理組織学的特徴とされている。

MMP はセリンプロテアーゼとともにエラスチンやコラーゲン等の細胞外マトリックスを分解する中性プロテアーゼの一種であり、現在までに 14 種類の分子種が知られている。このうち、動脈瘤壁には MMP-1・2・3・9 の存在が報告されている³⁻⁸⁾。

MMP-1（組織コラゲナーゼ）は線維芽細胞・マクロファージ・内皮細胞等により産生され、I 型・II 型および III 型コラーゲンを主として分解する。

MMP-2（ゼラチナーゼ A）は、線維芽細胞・マクロファージ・内皮細胞等により産生され、ゼラチン・IV 型および V 型コラーゲン・ラミニン・フィブロネクチン・エラスチン等を分解する。

MMP-3（ストロムライシン 1）は線維芽細胞等により産生され、プロテオ

グリカン・III型・IV型およびIX型コラーゲン・ラミニン・フィブロネクチン・ゼラチン等を分解し、最も広い基質特異性を持つ。なお、本研究では症例2・拡張部のゼラチンザイモグラフィーにおいて45 kDaのバンドが検出され、MMP-3の存在を示す所見であるのに対し、免疫染色では瘤壁にMMP-3の存在は確認されなかった。これは、瘤壁中におけるMMP-3の濃度が極少量であるために、ゼラチンザイモグラフィーと免疫染色との測定感度の差により生じた所見の相違であると考えられた。

MMP-9（ゼラチナーゼB）は好中球・マクロファージ等により産生され、ゼラチン・I型コラーゲン $\alpha 2$ 鎖・III型・IV型およびV型コラーゲン・エラスチン等を分解する。従来エラスターゼと呼ばれていた酵素の一部は、現在では、MMP-2（ゼラチナーゼA）あるいはMMP-9（ゼラチナーゼB）に属すると考えられている。

動脈瘤に対する実験的動物モデルの報告は少ない²⁴⁾。大腸菌エンドトキシン²⁵⁾や塩化カルシウム²⁶⁾投与により瘤が形成されるとの報告があるが、これらの方法はいずれも非生理的な薬剤を使用した動物モデルである。これに対して、瘤壁中に高濃度に存在する²⁾と報告されているエラスターゼをラットの腹部大動脈内腔に投与して瘤の作製に成功したAnidjarらの動物モデル¹⁰⁾は画期的なものであった。

動脈瘤の成因の中で大部分を占める動脈硬化性動脈瘤は、動脈硬化性変化による内膜の変性が中膜にまで及び、中膜弾性線維が破壊されて瘤を形成する、すなわち、内膜の変化が瘤の初期病変であるとの考え方が優勢である。一方、Whiteら²⁷⁾は外膜における弾性線維の変性が瘤の初期像であると報告しており、血栓内膜摘除術では、肥厚した内膜とともに中膜の内側3分の2を切除しても必ずしも術後に瘤を形成しないことから、この外膜の変性が瘤形成の初期病変であるとの説もある。そこで、著者は外膜側からのエラスターゼ投与による動脈瘤モデルを作製し⁹⁾、本研究において、著者の外膜モ

デルと Anidjar らの内腔モデルとを比較することにより、瘤の発生・進展にとって、内膜側の変化と外膜側の変化のいずれがより重要であるかを検討した。

実験当日には、外膜モデル・内腔モデルともに動脈壁の高度破壊により瘤の形成は可能であり、瘤の発生には両者の間に差は認められなかった。藤山ら²⁸⁾は lipopolysaccharide を幼若ウサギの外膜側から投与して動脈瘤モデルを作製し、中膜筋層の 70% 以上の広汎な傷害により壁の収縮機能を失うことが瘤形成のポイントであると述べている。

外膜モデルの実験 3 日目において、中膜平滑筋細胞は筋線維が減少して細胞内小器官が増加し、合成型平滑筋細胞の像を呈していた。通常中膜に存在する平滑筋細胞は収縮型と呼ばれ、細胞質には筋線維が豊富で、血管の収縮に関与している。これに対して、動脈硬化により肥厚した内膜に存在する平滑筋細胞は、筋線維が減少して代わりに粗面小胞体等の細胞内小器官が増加し、合成型と呼ばれている（図 21）。合成型平滑筋細胞は、泡沫化したマクロファージ等の刺激を受けて収縮型平滑筋細胞が形質変換したものであり、分裂・増殖を繰り返すとともに各種の増殖因子を放出して血管壁障害部の修復や内膜肥厚の増悪に関与している。

外膜モデルでは、大動脈径は実験 4 週後まで拡張していたが 6 週以降漸減し、3 ヶ月後にはほぼ実験前のレベルにまで退縮するとともに弾性板や収縮型平滑筋細胞の再生が認められた。これは、弾性線維はそれ自身により再生することはなく平滑筋細胞により産生されることを考慮すると、変性を受けた中膜平滑筋細胞が合成型として再生するとともに弾性板を産生し、その後再び収縮型に形質変換したものであると思われる。これまでの実験的動脈硬化病変では弾性線維は形成されるが層状を呈する（弾性板を形成する）ことはなく、今回の外膜モデルにおける弾性板の再生は新しい発見であると思われる。

一方、内腔モデルでは 3 ヶ月後においても大動脈径は 2.21 倍と瘤は進展し、

電顕的に拡張部では移行部に比して中膜弾性板の破壊は依然として高度で、平滑筋の変性も高度であった。外膜モデルでは内側よりも外側の変化が強く、その逆に、内腔モデルでは内側の方が外側よりも変化が強かったことから、瘤の進展には中膜内側の平滑筋の不可逆的な変性が重要であると考えられた。

Dobrin ら²⁹⁻³¹⁾ はエラスターゼ投与により動脈内径は軽度に拡張するが破裂せず、コラゲナーゼ投与では内径はより拡張し破裂したと報告しているが、これは、彼らの実験に使われたエラスターゼの濃度が8あるいは40 units/ml であるのに対して、著者の実験では3 mg/dl (270 units/ml) と高濃度のエラスターゼを用いており、彼らの使用した濃度では弾性線維があまり破壊されなかったものと思われる。なお、今回の実験では弾性線維だけでなく平滑筋にも強い変化が認められたが、その機序として、高濃度のエラスターゼによる直接作用、あるいは、弾性線維の破壊に伴うマトリックス環境の変化が及ぼした二次的な影響が考えられる。

今回の研究の問題点として、第一に、外膜モデルも内腔モデルも、どちらも急性モデルであることが挙げられる。ヒトにおいて発生する動脈硬化性動脈瘤は50年以上の歳月を経て発生・進展することが多く、慢性的な発生過程においては、外膜側からの刺激でも瘤が進展する可能性は否定できない。著者は、瘤の慢性モデルを作製すべくこれまでエラスターゼやコラゲナーゼを2週間持続投与する実験モデルを試みてきたが、いずれも瘤を形成するに至らず、今後の課題と言えよう。

第2に、著者のモデルでは非常に高濃度のエラスターゼを使用して初めて瘤の形成が可能であり、この点では非生理的であることは否めない。従って、人体では全く異なる機序により弾性線維や平滑筋細胞が障害されていることも考えられる。

5. まとめ

外膜側からのエラスターゼ投与により、手技的に非常に容易な瘤の動物モデルの確立に成功した。すなわち、外膜モデル・内腔モデルの両者とも実験当日には瘤を形成し、内膜側からであれ外膜側からであれ、血管壁の障害が高度な場合には、瘤の発生は可能であった。

実験3ヶ月後には、外膜モデルでは中膜弾性板および平滑筋細胞の再生とともに瘤は退縮したが、内腔モデルでは瘤の継続が認められたことから、瘤の進展には、弾性線維の破壊だけでなく、中膜内側の平滑筋の変性が重要であると考えられた。

6. 参考文献

- (1) National Center for Health Statistics and Graves EJ: Detailed diagnosis and procedures, National Hospital Discharge Survey, 1988 Vital and Health Statistics, Series 13. No. 107. Washington, DC; Government Printing Office, 1991. (DHHS publication no. (PHS) 91-1768).
- (2) Busuttil RW, Rinderbriecht H, Flesher A, Carmack C: Elastase activity: the role of elastase in aortic aneurysm formation. *J Surg Res* 1982;32:214-217.
- (3) Vine N, Powell JT: Metalloproteinases in degenerative aortic disease. *Clin Sci* 1991;81:233-239.
- (4) Herron GS, Unemori E, Wong M, Rapp JH, Hibbs MH, Stoney RJ: Connective tissue proteinases and inhibitors in abdominal aortic aneurysms. Involvement of the vasa vasorum in the pathogenesis of aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1667-1677.
- (5) Newman KM, Malon AM, Shin RD, Scholes JV, Ramey WG, Tilson MD: Matrix metalloproteinases in abdominal aortic aneurysm: characterization, purification, and their possible sources. *Connect Tissue Res* 1994;30:265-276.
- (6) Newman KM, Ogata Y, Malon AM, Irizarry E, Gandhi RH, Nagase H, Tilson MD: Identification of matrix metalloproteinases 3 (stromelysin-1) and 9 (gelatinase B) in abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1315-1320.
- (7) Newman KM, Jean-Claude J, Li H, Scholes JV, Ogata Y, Nagase H, Tilson MD: Cellular localization of matrix metalloproteinases in the abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg* 1994;20:814-820.

- (8) McMillan WD, Patterson BK, Keen RR, Pearce WH: In situ localization and quantification of seventy-two-kilodalton type IV collagenase in aneurysmal, occlusive, and normal aorta. *J Vasc Surg* 1995;22:295-305.
- (9) Origuchi N, Shigematsu H, Izumiyama N, Nakamura K, Toku A, Muto T: Aneurysm induced by periarterial application of elastase heals spontaneously. *Int Angiol* 1998;17:113-119.
- (10) Anidjar S, Salzmänn J-L, Gentric D, Lagneau P, Camilleri J-P, Michel J-B: Elastase-induced experimental aneurysms in rats. *Circulation* 1990;82:973-981.
- (11) Zivin JA, DeGirolami U. Spinal cord infarction: a highly reproducible stroke model. *Stroke* 1980;11:200-202.
- (12) Gown AM, Tsukada T, Ross R: Human atherosclerosis: II. Immunocytochemical analysis of the cellular composition of human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1986;125:191-207.
- (13) 松並平晋, 佐藤茂: ウーロン茶抽出物質 (OTE) を用いた結合組織線維電子染色. *病理と臨床* 1994;12:991-994.
- (14) Campbell GR, Campbell JH, Manderson JA, Horrigan S, Rennick RE: Arterial smooth muscle: A multifunctional mesenchymal cell. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:977-986.
- (15) Nakamura H, Ohtsubo K: Ultrastructure appearance of atherosclerosis in human and experimentally induced animal models. *Electron Microsc Rev* 1992;5:129-170.

(16) 折口信人, 重松 宏, 重松邦広, 久保淑幸, 小見山高士, 新本春夫, 畠山卓弥, 布川雅雄, 安原 洋, 武藤徹一郎: 家族内に発症した動脈硬化性腹部大動脈瘤について. 日血外会誌 1994;3:463-468.

(17) Origuchi N, Shigematsu H, Hatakeyama T, Nunokawa M, Yasuhara H, Muto T: A clinicopathological study of familial abdominal aortic aneurysms. *Int Angiol* 1996;15:26-32.

(18) Kontusaari S, Tromp G, Kuivaniemi H, Romanic AM, Prockop DJ: A mutation in the gene for type III procollagen (COL3A1) in a family with aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1990;86:1465-1473.

(19) Kontusaari S, Tromp G, Kuivaniemi H, Ladda RL, Prockop DJ: Inheritance of an RNA splicing mutation ($G^{+11VS20}$) in the type III procollagen gene (COL3A1) in a family having aortic aneurysms and easy bruisability: phenotypic overlap between familial arterial aneurysms and Ehlers-Danlos syndrome type IV. *Am J Hum Genet* 1990;47:112-120.

(20) Deak SB, Ricotta JJ, Mariani TJ, Deak S, Zatina MA, Mackenzie JW, Boyd CD: Abnormalities in the biosynthesis of type III procollagen in cultured skin fibroblasts from two patients with multiple aneurysms. *Matrix* 1992;12:92-100.

(21) Tromp G, Wu Y, Prockop DJ, Madhathi SL, Kleinert C, Earley JJ, Zhuang J, Norrgard O, Darling RC, Abbott WM, Cole CW, Jaakkola P, Ryynanen M, Pearce WH, Yao JST, Majamaa K, Smullens SN, Gatalica Z, Ferrelli RE, Jimenez SA, Jackson CE, Michels VV, Kaye M, Kuivaniemi H: Sequencing of cDNA from 50 unrelated patients reveals that mutations in the triple-helical domain of type III procollagen are an infrequent cause of aortic aneurysms. *J Clin Invest*

1993;91:2539-2545.

(22) Nakamura H: Electron microscopic study of the prenatal development of the thoracic aorta in the rat. *Am J Anat* 1988;181:406-418.

(23) Toda T, Tsuda N, Nishimori I, Leszczynski DE, Kummerow FA: Morphometric analysis of the aging process in human arteries and aorta. *Acta Anat* 1980;106:35-44.

(24) Powell J: Models of arterial aneurysm: for the investigation of pathogenesis and pharmacotherapy - a review. *Atherosclerosis* 1991;87:93-102.

(25) 京極方久: 多発動脈炎. 現代病理学体系 11B 心臓・脈管 II p200.

(26) Gertz SD, Kurgan A, Eisenberg D: Aneurysm of the rabbit common carotid artery induced by periarterial application of calcium chloride in vivo. *J Clin Invest* 1988;81:649-656.

(27) White JV, Haas K, Phillips S, Comerota AJ: Adventitial elastolysis is a primary event in aneurysm formation. *J Vasc Surg* 1993;17:371-381.

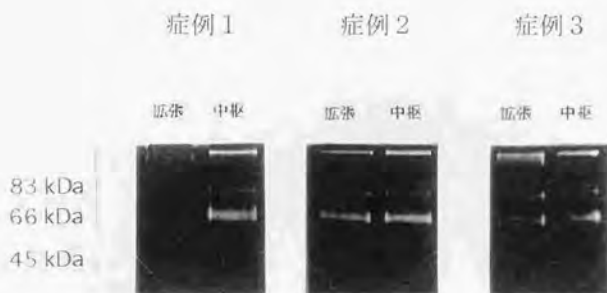
(28) 藤山純一, 尾形寛, 沢井高志, 京極方久: 動脈炎の予後を左右する因子に関する実験病理学的研究—LPS 動脈炎から川崎病動脈炎への外挿の試み—. *日小循環誌* 1986;2:230-237.

(29) Dobrin PB, Baker WH, Gley WC: Elastolytic and collagenolytic studies of arteries: implications for the mechanical properties of aneurysms. *Arch Surg* 1984;119:405-409.

(30) Dobrin PB, Anidjar S: Pathophysiology of arterial aneurysms. Arch Mal Coeur Vaiss 1991;84:57-62.

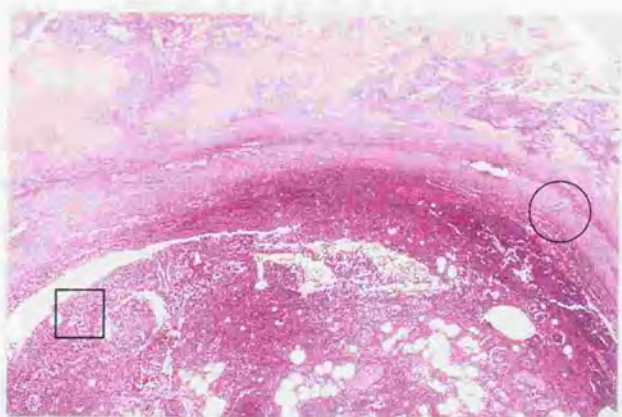
(31) Dobrin PB, Mrkvicka R: Failure of elastin or collagen as possible critical connective tissue alterations underlying aneurysmal dilatation. Cardiovasc Surg 1994;2:484-488.

図 1 : 動脈硬化性瘤壁のゼラチンゼイモグラフィー



拡張部・起始部（中枢）ともに MMP-9
(83, 66 kDa) の活性が認められる。

図 2 : 動脈硬化性瘤壁における MMP の発現



【a】中膜の高度な破壊・消失が認められる（Hematoxylin and Eosin 染色、x 10 倍）（上が内腔側）。



【b】 MMP-1 の免疫染色（図 a ○ 部分の拡大図）。菲薄化した中膜を中心として、間葉系細胞およびマクロファージに陽性細胞が存在する（矢印）（x 100 倍）。



【c】 MMP-9 の免疫染色（図 a □ 部分の拡大図）。外側中に散在する好中球・マクロファージ等の小円形炎症細胞に陽性細胞が認められる（矢印）（x 100 倍）。

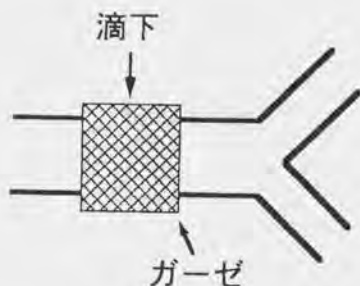
表 1 : 外膜モデル (予備実験の結果)

Case	エラストマーゼ の濃度 (mg/ml)	投与前の 大動脈径 (mm)	固定後の 大動脈径 (mm)	拡張度 (倍)	備考
1	1.0	2.1	2.5	1.19	
2	1.0	2.5	3.5	1.40	
3	5.0	3.2	5.0	1.56	
4	5.0	3.2			破裂
5	5.0	3.0			破裂
6	10.0	3.1			破裂
7	10.0	3.1			破裂

図 3 : 動脈瘤モデル実験のシエーマ

(a) 外膜側からのエラスターゼ投与モデル

腹部大動脈の中央約 1 cm の部分をガーゼにより被包し、エラスターゼ (3.0 mg/ml) を外膜側より 30 分毎に計 5 回 (合計 3 時間) ガーゼ上に滴下



(b) 内腔側からのエラスターゼ投与モデル

約 1.5 cm の腹部大動脈をクランプした後、腰動脈から持続注入機により、エラスターゼ (3.0 mg/ml) を 1 ml/hr の割合で 1 時間注入

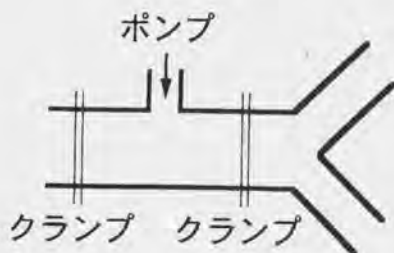


表 2 : 外膜モデル (対照群の結果)

Case	固定前の 大動脈径 (mm)	固定後の 大動脈径 (mm)	拡張度 (倍)
1	3.7	2.7	0.73
2	2.9	2.2	0.76
3	2.7	2.1	0.78
4	3.0	2.4	0.80
5	3.0	2.4	0.80
6	2.8	2.5	0.89

表 3 : 外膜モデル (実験群の結果)

Case	投与期間	投与前の 動脈径 (mm)	固定後の 動脈径 (mm)	拡張度 (倍)	拡張率 (倍)	備考
1	当日	2.7				破裂
2	当日	3.2				破裂
3	当日	3.7	5.7	1.54	1.95	
4	当日	2.5	3.9	1.56	1.97	
5	当日	3.6	5.6	1.56	1.97	
6	当日	3.1	5.7	1.84	2.33	
7	3日間	2.5	3.4	1.36	1.72	
8	3日間	2.9	4.3	1.48	1.87	
9	3日間	2.4	4.6	1.92	2.43	
10	2週間	3.5	4.2	1.20	1.52	
11	2週間	3.4	5.1	1.50	1.90	
12	4週間	3.3	5.0	1.52	1.92	
13	4週間	3.2	4.9	1.53	1.94	
14	6週間	3.5	3.4	0.97	1.23	
15	6週間	3.6	3.5	0.97	1.23	
16	3ヶ月	3.8	2.8	0.74	0.94	
17	3ヶ月	3.4	2.8	0.82	1.04	
18	3ヶ月	3.4	3.3	0.97	1.23	

図 4 : 大動脈径の推移

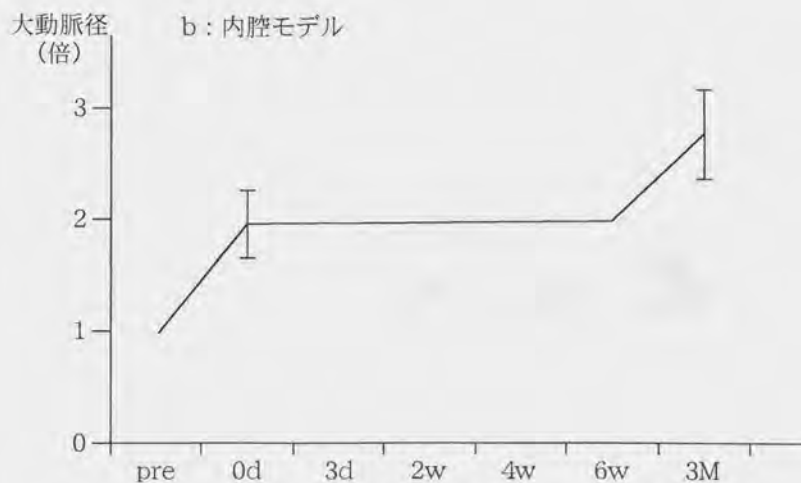
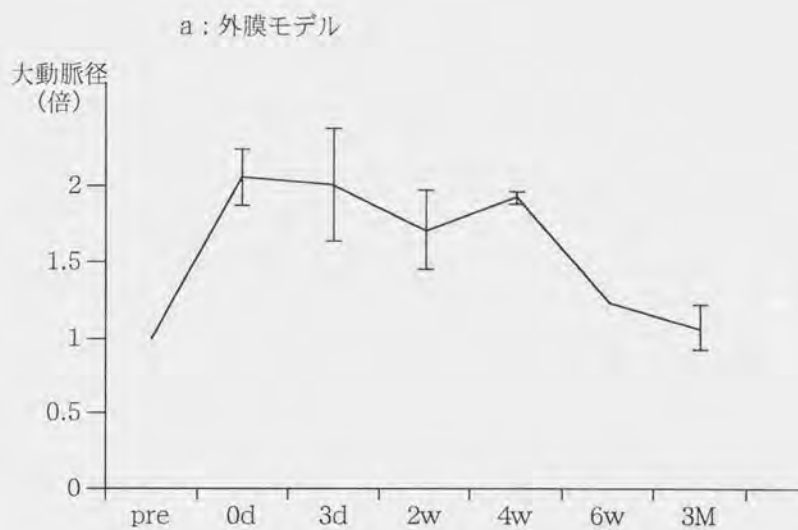
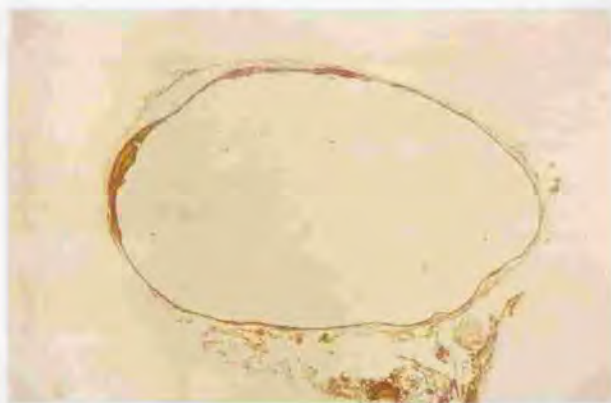


図 5 : 外膜モデル (実験前および実験当日の光顕像)

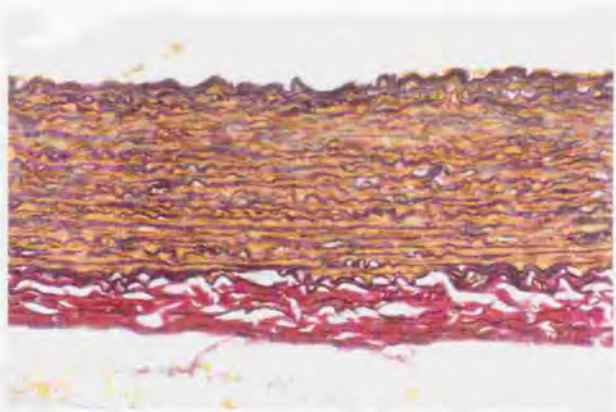


【a】 未処理の大動脈像 (Elastic van Gieson 染色、x 5 倍)。

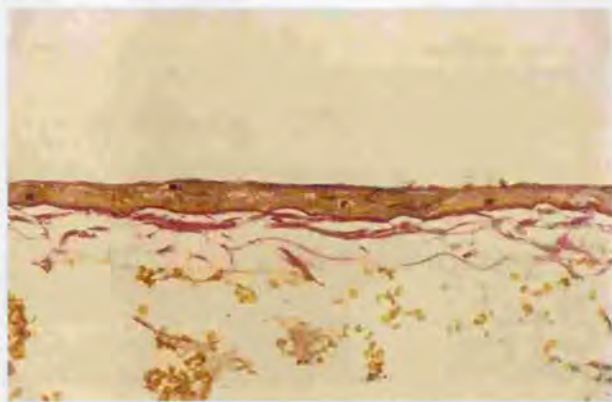


【b】 実験当日の大動脈壁は著明に菲薄化し、平均 2.06 倍に拡張している (Elastic van Gieson 染色、x 5 倍)。

図 6 : 外膜モデル (実験前および実験当日の光顕像)



【a】 実験前の正常な腹部大動脈には約 20 層の中膜弾性板が認められる (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

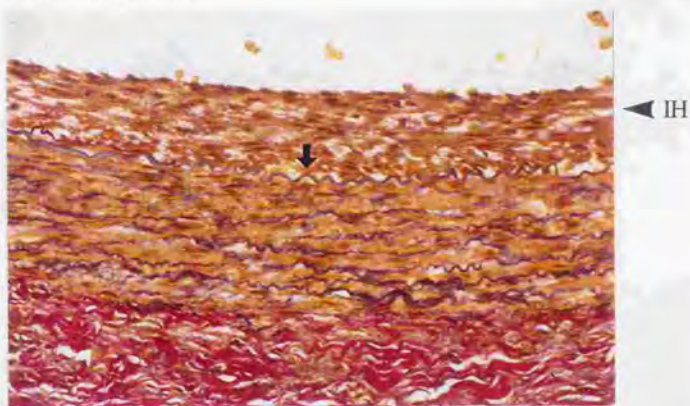


【b】 実験当日の中膜弾性板は高度に消失している (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

図 7 : 外膜モデル (実験 3 日後および 2 週後の光顕像)



【a】実験 3 日後の大動脈壁の厚さは依然として薄く、中膜弾性板は高度に破壊されている。内膜肥厚は認められない (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

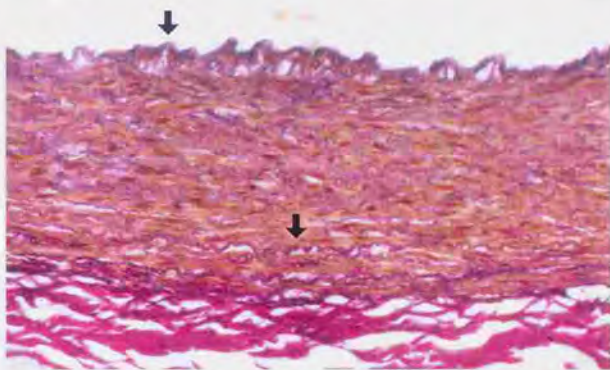


【b】実験 2 週後の大動脈は依然として拡張しているが、中膜弾性板の再生 (矢印) が認められる。また、内膜肥厚 (IH) が形成されている (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

図 8 : 外膜モデル (実験 3 ヶ月後の光顕像)



【a】大動脈径は実験前のレベルにまでほぼ回復し、動脈壁の厚さも回復している (Elastic van Gieson 染色、x 5 倍)。



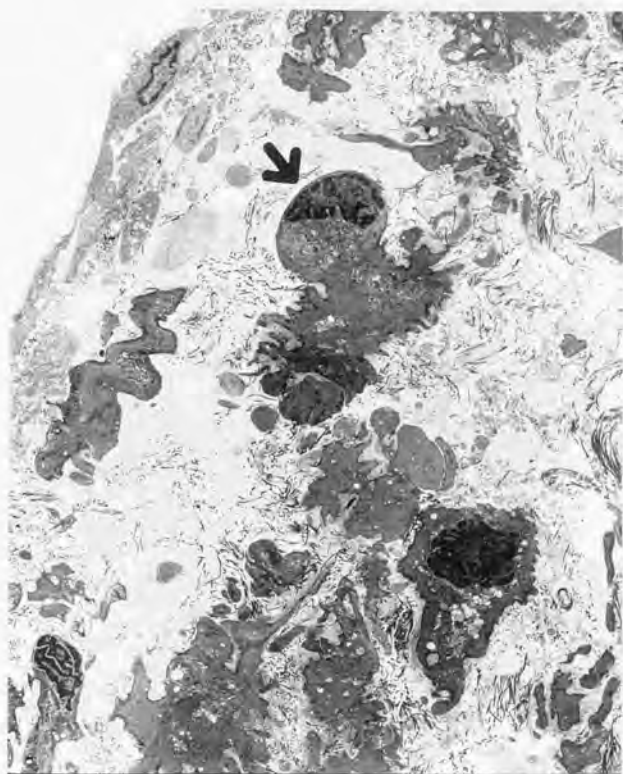
【b】中膜弾性板の再生 (矢印) がすすんでいる (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

図 9 : 外膜モデル (対照群の中膜内側の透過電顕像)



帯状に濃染する中膜弾性板 (矢印) が観察される (x 2000 倍)。

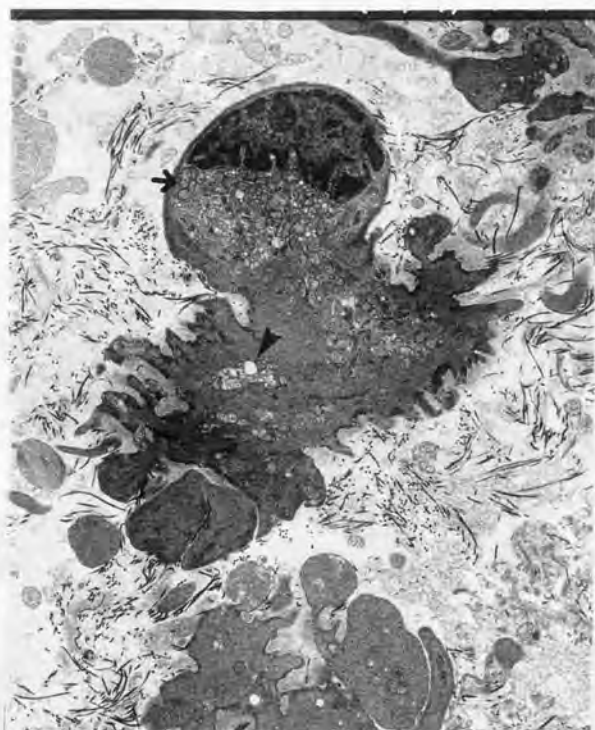
図 10：外膜モデル（実験当日の中膜内側の透過電顕像）



3.0 μm

中膜弾性板は高度に破壊・消失し、外観が不規則となり高度に変性した平滑筋細胞（矢印）が認められる。内皮細胞も不規則となって緻密帯が解離し、平滑筋細胞の周囲には膠原線維が散在している。左上が内腔である（x 2500 倍）。

図 11：外膜モデル（図 10 平滑筋細胞の拡大図）



2.0 μm

核濃縮・ミトコンドリアの腫大（矢印）・細胞質内の小空泡形成（矢頭）が認められる（x 5000 倍）。

図 12：外膜モデル（実験3日後の中膜内側の透過電顕像）



3.0 μm

中膜弾性板は依然として粗なままである。平滑筋細胞内には筋線維の減少と細胞内小器官の増加を認め、合成型平滑筋細胞への形質変換と診断された（ $\times 3000$ 倍）。

図 13: 外膜モデル (実験 3 ヶ月後の中膜内側の透過電顕像)

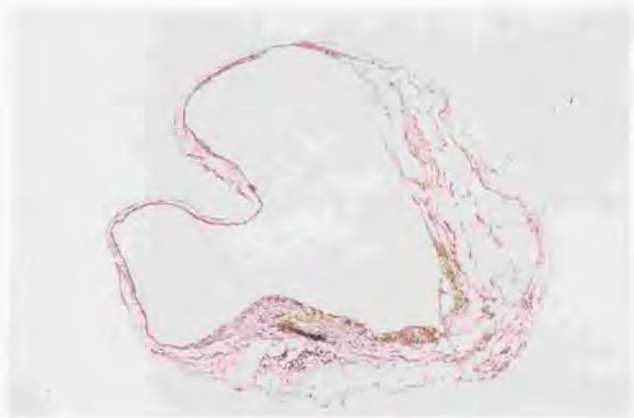


中膜弾性線維の再生が進み、成熟した弾性板（矢印）が黒く染色されて認められる。平滑筋細胞内には豊富な筋線維と粗な細胞内小器官を認め、収縮型平滑筋細胞への再生像と診断された（x 2500 倍）。

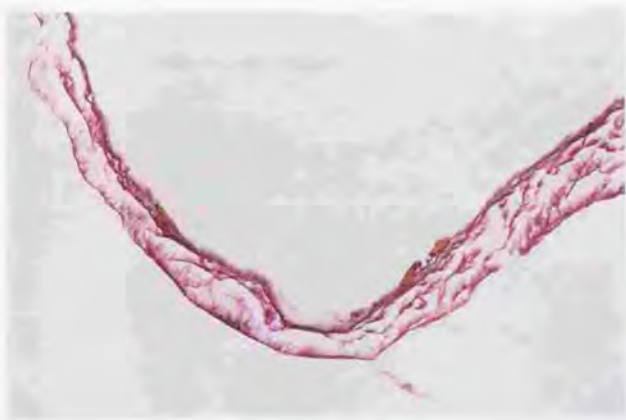
表 4 : 内腔モデルの結果

Case	投与期間	投与前の 動脈径 (mm)	固定後の 動脈径 (mm)	拡張度 (倍)	拡張率 (倍)	備考
1	当日	2.2				破裂
2	当日	2.3				破裂
3	当日	2.4	3.2	1.33	1.69	
4	当日	2.5	3.4	1.36	1.72	
5	当日	2.7	3.8	1.41	1.78	
6	当日	2.0	3.3	1.65	2.09	
7	当日	2.1	4.0	1.90	2.41	
8	6 週間	2.7	4.2	1.56	1.97	
9	3 ヶ月	2.3	4.5	1.96	2.48	
10	3 ヶ月	2.4	5.8	2.42	3.06	
11	対照群	3.0	2.4	0.80	1	

図 14: 内腔モデル (実験当日の光顕像)

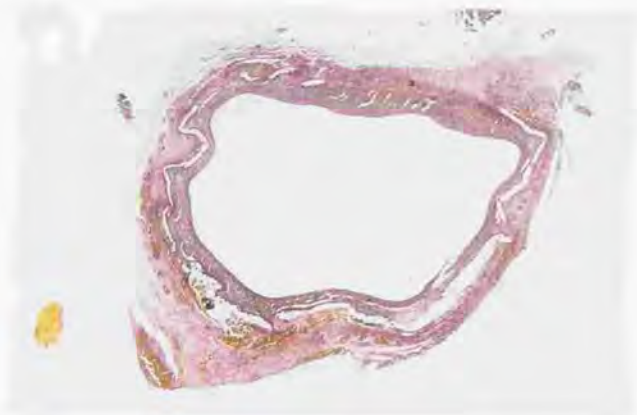


【a】大動脈壁は菲薄となり、中膜弾性板の消失が認められる (Elastic van Gieson 染色、x 5 倍)。

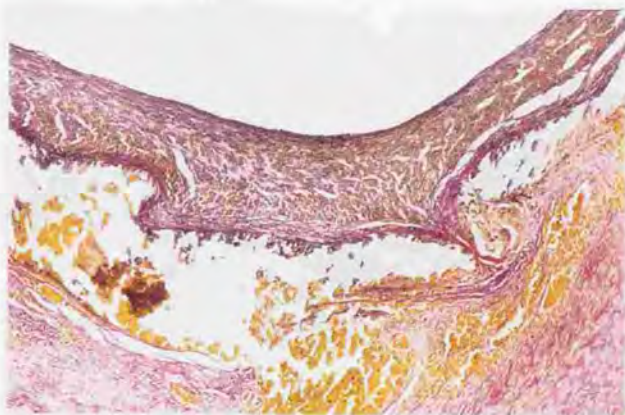


【b】中膜弾性板の破壊は高度で、内膜・中膜との境界は不明である (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

図 15 : 内腔モデル (実験 6 週後の光顕像)

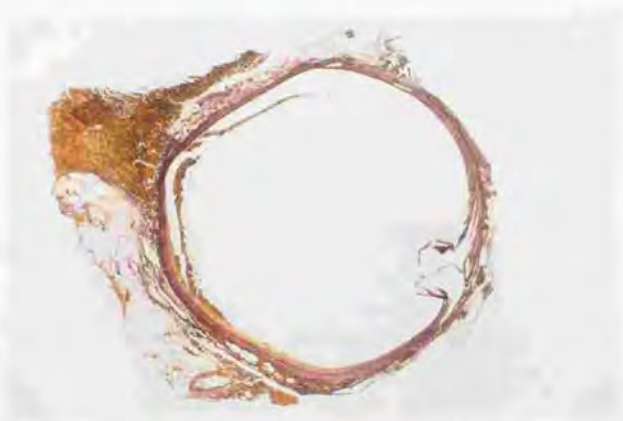


【a】動脈壁の厚さは実験当日に比較すると厚くなっているが、中膜弾性板は消失している (Elastic van Gieson 染色、x 5 倍)。

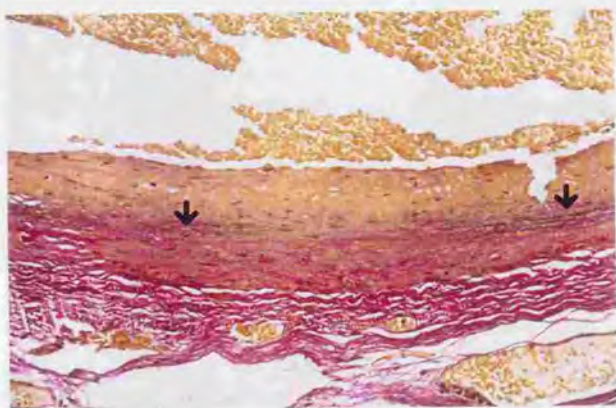


【b】中膜弾性板の破壊は依然として高度で、内膜・中膜との境界は不明である (Elastic van Gieson 染色、x 100 倍)。

図 16 : 内腔モデル（実験 3 ヶ月後拡張部の光顕像）

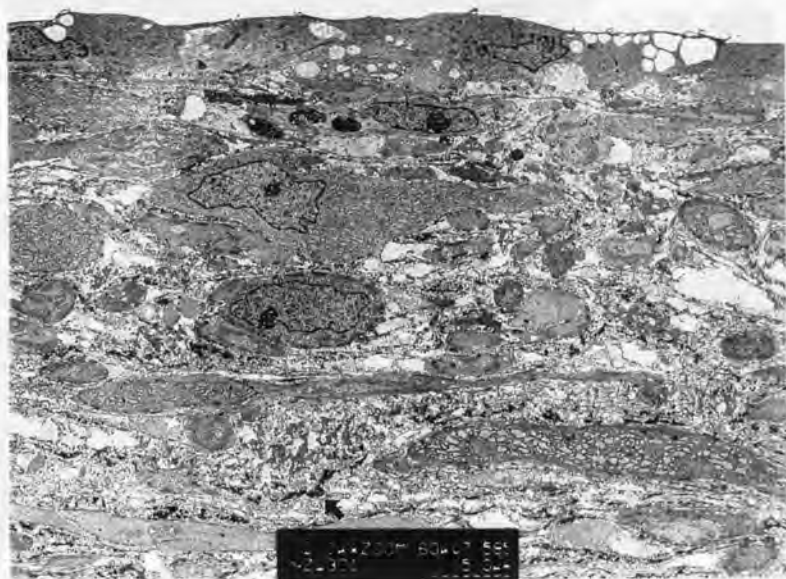


【a】大動脈壁の厚さは増加している（Elastic van Gieson 染色、x 5 倍）。



【b】中膜弾性板の破壊は依然として高度で内膜・中膜との境界は不明であるが、所々に弾性板の再生（矢印）が認められる（Elastic van Gieson 染色、x 100 倍）。

図 17：内腔モデル（実験当日における中膜内側の透過電顕像）



中膜弾性線維はまばらであり（矢印）、平滑筋細胞の変性（核の変形・細胞内小器官の増加）が認められる（x 2000 倍）。

図 18：内腔モデル（実験6週後における中膜内側の透過電顕像）



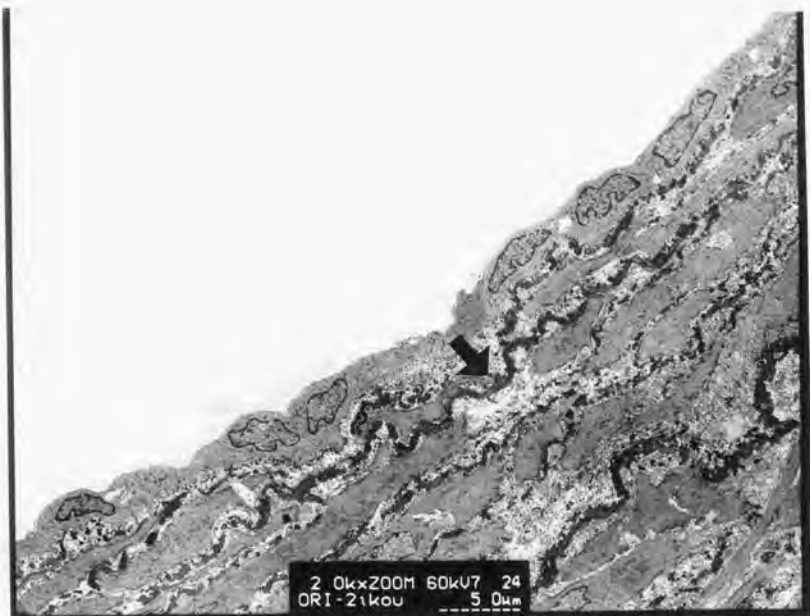
依然として中膜弾性板はまばらなままである（矢印）。平滑筋細胞内の筋線維は減少して細胞内小器官が増加し、合成型への形質変換と診断された（x 2000 倍）。

図 19：内腔モデル（実験3ヶ月後の囊状拡張部における中膜内側の透過電顕像）



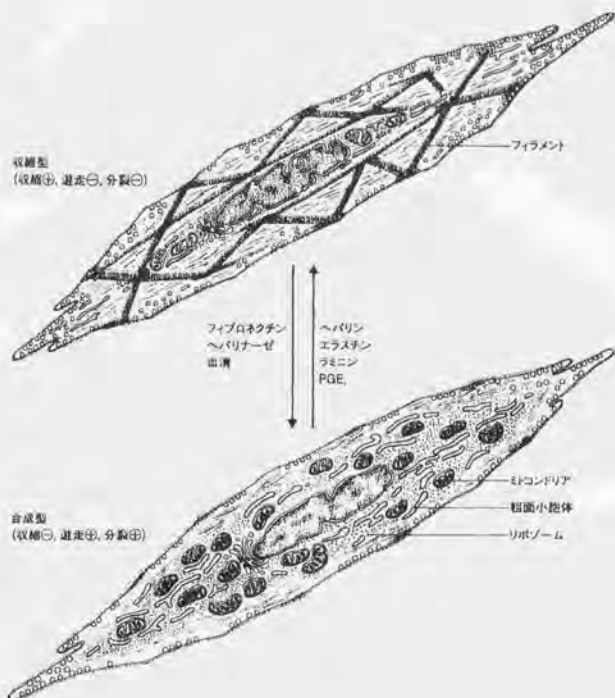
中膜弾性線維ははまばらで（矢印）弾性板は存在せず、平滑筋は依然として合成型の像を呈している（x 2000 倍）。

図 20：内腔モデル（実験3ヶ月後の移行部における中膜内側の透過電顕像）



再生した弾性板が認められる（矢印）。平滑筋細胞は、筋線維が増加して細胞内小器官が減少し、収縮型の像を呈している（x 2000 倍）。

図 21: 平滑筋細胞の形質変換のシエーマ



収縮型平滑筋細胞内の筋線維は豊富で、細胞内小器官は乏しくなっている。これに対し、合成型平滑筋細胞内の筋線維は減少し、細胞内小器官は増加している。

