

論文の内容の要旨

Clinical implication of endothelial function in disease of aorta and aortic valve

(大動脈および大動脈弁疾患における内皮機能の臨床的意義)

高田宗典

血管内皮細胞は循環血流と周辺組織との境界をなす一層の細胞群である。内皮細胞は、プロスタグランジンや一酸化窒素(nitric oxide: NO)など血管調節因子を産生し、抗凝固、抗血栓性の維持・血管のホメオスタシス維持に重要である。血管内皮機能障害とは、これらの機能が障害されることであり、動脈硬化のリスクを表現する重要なパラメータであると報告されている。

高血圧・高脂血症・糖尿病・加齢・喫煙といった冠動脈危険因子などによって引き起こされる血管内皮機能障害は、動脈硬化の発生・進展に大きく関わって、心血管疾患、脳血管疾患、腎不全などの原因となる。このように、動脈硬化性疾患の内皮機能障害の関与については十分に確立しており、血管内皮機能を評価することでそれらの疾患のリスクを評価することが可能である。

しかし、一方で血管に関連する疾患のうち大動脈疾患及び大動脈弁疾患の内皮機能障害との関連について、まだ明らかになっていない部分が多い。本研究の目的としては大動脈疾患および大動脈弁疾患と血管内皮機能との関連を、3つの検討を通じて明らかにすることを試みた。

今回の検討において血管内皮機能の評価方法として血管拡張物質である NO の生理的動態を反映する血流依存性血管拡張反応(flow mediated dilation: FMD)法を用いた。血管内壁にかかるずり応力による、血管内皮型 NO 合成酵素(endothelial nitric oxide synthase: eNOS)を介し産生される NO の生理学的利用能を、上腕血管径の拡張度合いで評価する方法であり、内皮機能障害で FMD 値は下がる。この血管反応を評価することにより血管内皮機能について評価することが可能となり、FMD 法は現在における血管内皮機能評価法の最も有力な一つとして広く行われているものである。

まず大動脈瘤などを含め大動脈拡張において内皮機能との関連がないかを検討した。この検討においては動脈硬化因子の伴わない Marfan 症候群患者における大動脈の拡張に注目した。Marfan 症候群では微小 fibrin 蛋白の遺伝子異常から結合組織に異常をもたらす結果として全身に様々な症状を呈する。その中でも最も生命予後に直結するのは、血管拡張がもたらす破裂・解離に代表される血管イベントである。この Marfan 症候群における血管イベントの最も端的な表現型は血管拡張であり、血管拡張に血管内皮障害が関係してい

るか、Marfan 症候群の患者 39 例を用いて検討した。

今回の検討では心臓超音波検査で計測された上行血管径の 4 部位(大動脈基部、バルサルバ洞、ST ジャンクション、上行大動脈)径を体表面積で補正をかけ、内皮機能を反映する FMD 値との相関を検討した。その結果、大動脈基部やバルサルバ洞、ST ジャンクションでは関連がなかったものの、上行大動脈/体表面積において FMD 値との有意な相関(R = -0.39, p = 0.013)を確認し、多変量解析の結果、年齢などの影響からも独立した寄与因子であることが確認された。

次に、大動脈弁狭窄症(aortic stenosis: AS)における血管内皮機能の臨床的意義について検討することとした。AS における弁の変性は、動脈硬化性疾患と類似しており、また狭窄した弁により増大する圧負荷は過剰な左室負荷となり左心不全を起こす一方、狭窄を通過した血流の乱流化・低下が血管機能にも影響をおよぼすとされている。実際に AS の患者は健常人より血管機能が低下し、高血圧になりやすいことが知られており、また低下した血管機能から動脈硬化性変化も進行しやすいとされている。AS は大動脈弁置換術(aortic valve replacement: AVR)により循環の障害である弁の狭窄が除かれることで左心機能ならびに全身の血行動態は劇的に変化する。今まで、大動脈弁硬化を有する患者で心・血管イベントが多いという報告や、大動脈弁狭窄症を有する高齢者の方が、有さない高齢者より冠動脈イベントのリスクが高いという報告もあったが、AVR 術前後での血行動態の変化とともにどのように血管機能に変化するかについては不明であった。そこで、第三章では、連続 20 症例の大動脈弁狭窄症患者において AVR 術前術後の FMD および上腕動脈径を検討することで、大動脈弁狭窄の存在がどのように血管機能に関わっているかを解明することを試みた。AVR により上腕動脈径は術前後で変化しなかったものの、FMD は有意に改善を示した($3.1 \pm 1.8\% \rightarrow 6.0 \pm 2.7\%$, $p < 0.0001$)。更に、FMD がより改善した群 10 例(FMD 改善 3%以上)と、あまり改善しなかった群 10 例(FMD 改善 3%未満)の比較を行ったところ、年齢や血圧、術前の大動脈弁の圧較差において差は認めなかったが、両群の術前の上腕動脈径は前者と後者で有意差があり($3.7 \pm 0.7\text{mm}$ 対 $4.3 \pm 0.7\text{mm}$, $p = 0.03$)、術前に血管リモデリングが起こっている群においては AVR による内皮機能の改善効果が乏しいことが確認された。また、術前血管径について ROC 曲線を作成することで、cut off 値が 4.28 mm (70% sensitivity, 80% specificity)であることが判明した。即ち、本検討により AS における血管内皮機能障害が弁狭窄によるのか、血管リモデリングなどの血管そのものの障害によるかは血管径を計測することで予測できることが示された。

最後に弁の内皮細胞について着目した。元来、正常弁組織は胎生期に左室内皮から連続する疎な海綿部と、大動脈内皮から連続する密な線維性組織と両者の間にある弁間質細胞(valvular intercellular cells: VICs)の相互作用による弁リモデリングにより形成される。正常弁には通常血管組織は存在せず、弁内皮細胞(valvular endothelial cells: VECs)が先に上げた組織への酸素・栄養供給を行っている。弁の変性においても VECs は VICs に様々な伝達物質を供給しており、弁変性の色々な特徴である新生血管の増生、炎症細胞の浸潤、石灰化沈着

などに関わっているとされる。弁の変性の程度や変性の仕方については同じ圧較差をとる大動脈弁狭窄症でも様々であり、それが弁の内皮機能と関連してどのような調整されているかは明らかになっていない。そこで第4章では、52症例のAVRを施行された患者の切除された弁の組織を用いて、弁の内皮機能がどのような形で弁の変性に影響しているか、弁の内皮機能、血管の内皮機能、弁の変性の関係について組織学的に検討した。 弁内皮細胞でのeNOSの発現は免疫染色法を用いて確認した。弁内皮でeNOS発現を認めた群(n=10)と、非発現群(n=42)では、Brinkman index、LDL-コレステロールがeNOS非発現群で有意に高く、喫煙や脂質異常の影響が弁内皮細胞でのeNOSの発現に影響を及ぼしていることが示唆された。弁の変性については、切除弁断面積および石灰化面積を算出し、この割合によって弁の変性が石灰化主体の変性(severely calcified 群 n=33)か、線維化主体(mildly calcified 群 n=19)の変性かの二群に分類した。severely calcified 群と mildly calcified 群の両群間で、mildly calcified を呈する方が若年であったが、術前心エコー検査での大動脈弁圧格差について有意差は認めなかった。その内、16例で術前にFMDを行っており、severely calcified 群9例と mildly calcified 群7例では mildly calcified 群で有意にFMDが高かった(4.7 ± 2.7 対 $2.3 \pm 1.6\%$, $p=0.0235$)。一方で、弁内皮でのeNOSの発現はseverely calcified 群で有意に多かった($n = 9$ (25.7%) 対 $n = 1$ (5.3%), $p = 0.0452$)。左室駆出率はseverely calcified 群で mildly calcified 群に比べ低下しており($63.8 \pm 14.7\%$ 対 $70.8 \pm 10.3\%$, $p = 0.0464$)、BNPはseverely calcified 群で高くなっていた(377.5 ± 532.1 pg/ml 対 135.6 ± 117.9 pg/ml, $p=0.018$)。これは、左室拡張期充満圧の上昇や左室コンプライアンスの低下が severely calcified 群でより顕著であることを示唆しているかもしれない。

各患者の弁の組織においては、活性窒素(reactive nitrogen species: RNS)のマーカである3-nitrotyrosin 陽性細胞数はseverely calcified 群で mildly calcified 群に比べ増加していた(36.2 ± 17.3 対 27.1 ± 14.1 /HPF, $p=0.0271$)。severely calcified 群のみでの検討においても3-nitrotyrosine 陽性細胞数と石灰化面積の割合に有意な正の相関($R = 0.38$, $p = 0.029$)が確認され、活性窒素と石灰化の関連が示唆された。すなわち、severely calcified 群では弁の内皮機能が保たれていたにも関わらず、血管機能は mildly calcified 群に比べ低下し、左室内腔圧の上昇にもつながり、酸化ストレスも増加していた。mildly calcified 群では、弁内皮機能が障害され、そのことが弁の線維化につながっていることも示唆された。

今回の3つの検討で、内皮機能と血管拡張や大動脈弁疾患との関わりについて一部を解明する一助とはなったが、個々の疾患や病態において血管内皮の関わりは多様であり、それぞれの状況において、その関わりを検討することは、より病態の理解につながり、また新たな治療法の創出において有益な知見となり得ると考えられる。