

原 著

経皮的冠動脈アテローム切除術による切除冠動脈病変  
の臨床病理学的検討  
—とくに光顕的・免疫組織化学的検討から—

東京女子医科大学 附属日本心臓血圧研究所 循環器内科 (指導: 細田 瑛一 教授)

ケ 生 川 恵 一

(受付 平成5年3月3日)

**Clinicopathological Study of Coronary Artery Lesions Resected by  
Directional Coronary Atherectomy:  
With Special Reference to Histopathological and  
Immunohistochemical Examinations**

**Keiichi KEBUKAWA**

**Department of Cardiology, The Heart Institute of Japan  
Tokyo Women's Medical College**

Seventeen patients who had 17 coronary artery lesions, of which 11 were primary and 6 restenotic, underwent directional coronary atherectomy (DCA).

Resected intimal tissues stained with Masson's trichrome were classified into four groups according to the characteristic fibrous tissue and the amount of proliferative cells: Type I=old dense fibrous tissue, Type II=relatively old fibrous tissue containing many proliferative cells, type III=new loose fibrous tissue containing many proliferative cells, and Type IV=atheromatous plaques. Type III tissues were observed exclusively in the primary lesions from patients with an anginal history of six months or less and in the restenotic lesions. The proliferating cells of the Type II and III tissues stained positive with HHF35. Macrophages were observed in the Type II tissues with proliferating smooth muscle cells. The proliferating cells of the Type III tissues stained positive with anti-SMem and anti-PDGF monoclonal antibody, and some of these cells stained positive with anti-PCNA antibody, especially those in the restenotic lesions. The proliferating cells of the Type II tissues stained negative with anti-SMem antibody, while some cells stained positive with anti-PDGF antibody.

This clinicopathological study of primary and restenotic lesions resected by DCA, with special reference to histopathological and immunohistochemical examinations, shed some light on the natural course of coronary artery lesions.

## 緒 言

Simpsonにより考案された経皮的冠動脈アテローム切除術 (directional coronary atherectomy; DCA)<sup>1)</sup>は、バルーンで冠動脈狭窄部を強制的に拡張する経皮的冠動脈形成術 (percutaneous transluminal coronary angioplasty;

PTCA)とは異なり、冠動脈狭窄性病変を切削除去することにより残存狭窄を少なくし、解離のない平滑な内腔を得て、急性冠閉塞や再狭窄率を減少させようとする方法である。

さらに他の interventionとは異なり、DCAでは、切除標本の病理組織学的検索が可能であるこ

とが最大の特徴である。これまでヒトの冠動脈病変の検討には、冠動脈造影や死後剖検例の病理標本などが用いられてきた<sup>2)3)</sup>が、DCAにより組織的に生体より得られた冠動脈病変の観察が可能になり、病理組織学的、分子生物学的および分子遺伝学的研究面から注目されている。

本稿ではDCAにより切除されたすべての組織を光顕的、免疫組織化学的に検討し、生体より得られた冠動脈狭窄性病変の病理学的所見を各症例の臨床像と比較検討した。

#### 対象および方法

対象はDCAを施行した男性15例、女性2例の連続17例で、平均年齢は57±6歳、狭心症11例、心筋梗塞6例で、PTCA後の再狭窄は6例であった(表1)。標的血管は前下行枝12例、右冠動脈4例およびバイパスグラフト(大伏在静脈)1例であった。DCA施行後、回収された切除標本を肉眼的に観察し、写真撮影を行った後、直ちに10%ホルマリン液で固定しパラフィン包埋、4μmの連続薄切切片を作製し、Masson's trichrome染色、H.

E. 染色、Victoria blue染色を施し光顕にてすべての組織を観察した。

切除組織の内膜、中膜および外膜は以下のように同定した。内膜組織は、Masson's trichrome染色で青く染色される膠原線維、不規則な配列を示す増生細胞およびコレステリン結晶、血栓などを含む粥腫により同定した。中膜組織は、Masson's trichrome染色で桃色に染色される内弾性板により内膜と境され赤紫色に染色される並走する平滑筋細胞により同定した。また同染色で不明瞭な内弾性板はVictoria blue染色により確定した。外膜組織は、中膜と外弾性板で境される粗な膠原線維および少数の線維芽細胞、時に脂肪細胞を含むことにより同定した。

さらに切除組織の細胞成分およびその病態の解析のために、抗筋細胞アクチン抗体(HHF35)(Enzo Biochem, Inc.)、抗PDGF(platelet-derived growth factor)抗体(Collaborative Research, Inc.)、抗SM1(adult type of myosin heavy chain isoform; 204kDa)抗体および抗

表1 経皮的冠動脈アテローム切除術施行例(17例)

症例	診断	病歴	PTCA	DM	HT	HL	SM	標的	血管径(mm)	狭窄度(%)	切除切片(個)	組織	I型(%)	II型(%)	III型(%)	IV型(%)	血栓
1. 41y M	SAP OMI	2 mo	0	-	-	-	+	LAD	3.4	70→0	6	内膜	69	26	3	2	+
2. 53y M	UAP	2 mo	0	-	-	+	+	LAD	3.2	87→-7	13	中膜	39	49	11	1	+
3. 57y M	SAP AMI	2 mo	0	-	+	-	-	LAD	3.5	87→0	8	中膜	47	43	10	0	+
4. 52y F	SAP OMI	3 mo	0	+	+	+	+	RCA	3.1	73→11	3	内膜	-	-	-	-	-
5. 60y M	SAP	3 mo	0	+	+	+	+	RCA	4.6	99→0	13	中膜	31	43	26	0	-
6. 56y M	SAP	3 mo	0	-	+	-	+	LAD	3.1	72→0	8	中膜	30	27	43	0	-
7. 58y M	UAP	5 mo	0	-	-	-	+	LAD	3.0	78→0	5	内膜	48	29	23	0	-
8. 55y M	SAP	8 mo	0	-	+	+	+	LAD	2.9	83→18	8	内膜	80	20	0	0	-
9. 55y M	SAP	1.2 yr	0	-	-	-	+	LAD	4.0	69→13	5	中膜	27	73	0	0	-
10. 63y M	UAP	2 yr	0	-	+	+	+	RCA	5.1	85→15	8	外膜	34	66	0	0	+
11. 56y M	SAP	17 yr	0	+	+	+	+	RCA	3.8	75→18	6	内膜	84	9	0	7	+
12. 58y M	SAP OMI	6 mo	1	-	-	-	-	LAD	4.5	75→0	16	内膜	69	8	14	9	+
13. 49y M	SAP OMI	11 mo	1	+	+	+	+	LAD	3.0	76→0	5	内膜	65	16	19	0	-
14. 67y M	UAP	1 yr	2	-	-	+	+	LAD	3.6	81→0	25	内膜	71	12	17	0	+
15. 67y M	SAP	1.3 yr	2	-	+	-	+	LAD	3.7	78→20	8	外膜	34	18	48	0	-
16. 56y M	SAP OMI	2 yr	1	+	-	-	+	LAD	2.6	81→9	5	中膜	68	21	11	0	-
17. 64y F	SAP	25 yr	1	+	-	-	+	SVG	3.5	91→-	-	-	-	-	-	-	-

狭窄度(%)は、DCA前(左)およびDCA直後(右)の狭窄度を示す。

SAP: stable angina pectoris, UAP: unstable angina pectoris, OMI: old myocardial infarction, AMI: acute myocardial infarction, mo: months, yr: year (s), PTCA: percutaneous transluminal coronary angioplasty, DM: diabetes mellitus, HT: hypertension, HL: hyperlipidemia, SM: smoking, LAD: left anterior descending artery, RCA: right coronary artery, SVG: saphenous vein graft.

SMemb (embryonic vascular smooth muscle myosin heavy chain isoform; 196kDa) 抗体 (東京大学第三内科永井良三講師恵与), 抗 PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 抗体 (Oncogene Science, Inc.) および抗マクロファージ抗体 (HAM56) (Enzo Biochem, Inc.) の 6 種類のモノクローナル抗体を用い免疫組織化学的に検討した。

免疫組織化学染色法は以下に準じた。

① 無染薄切片の脱パラフィン(キシレン処理およびアルコール処理)。

② 切片を内因性ペルオキシダーゼ除去(メタノール150ml+30%過酸化水素1.5mlに10分間浸した)後, 0.01Mリン酸緩衝食水(PBS)に10~15分間浸した, この間PBSを3回交換した。

③ 各第一抗体を切片全体に均等に滴下した。また各第一抗体は以下のように1%牛アルブミン血清加PBSで希釈した。抗PDGF抗体は25倍, HHF35, HAM56および抗PCNA抗体は50倍, 抗SM1抗体および抗SMemb抗体は1,000倍。

④ 染色箱中に室温で6~10時間静置した。

⑤ 検体を前記のようにPBSで洗浄し, ヒストファインSAB-POキット®(ニチレイ)を用いマニュアルに準じ第二抗体および酵素試薬を添加, 反応させた。その後同様にPBSで洗浄した。

⑥ 10%DAB(3,3'-ジアミノベンジジン・四塩酸塩)加0.05Mトリス塩酸緩衝液50mlに30%過酸化水素1滴を加えよく攪拌した基質・色素混合液に浸し, 顕微鏡で観察しながら発色したら蒸留水で反応を停止した。

⑦ ヘマトキシリンにより核染した後, 流水洗し, 脱水後封入した。

## 結 果

### 1. 臨床所見

緊急バイパス術, 死亡, Q波梗塞などの主要合併症を認めず, 実測残存狭窄度が50%未満であるものをDCA成功と定義した。DCA施行17例中16例で成功し, 成功率は94%であった。DCA不成功の1例はバイパスグラフトに対する症例17で, 高度の狭窄に加え狭窄部が屈曲していたためにdevice先端のnose coneが狭窄部を越えること

ができなかったものであり, 同症例はPTCAにより拡張に成功した。DCA成功16例の冠動脈造影上の狭窄度は, DCA前 $79 \pm 8\%$ からDCA後 $6 \pm 9\%$ にまで有意( $p < 0.01$ )に減少し, 残存狭窄は非常に軽度であった。

DCA成功16例の狭心症または心筋梗塞発症後からの病歴は2カ月から17年であった。また, PTCA後の再狭窄6例のPTCA後からDCA施行までの期間は2カ月から10カ月であった。

### 2. 組織学的所見

DCA施行により3~25個/例(平均9個)の標本が切除された。図1Aは症例5より切除されたマクロ標本である。DCA成功例16例中, 内膜のみ切除されたのは8例, 中膜まで切除されたのは6例で, 外膜まで切除されたのは2例であった(表1)。図1Bは症例10より切除された組織であり, 外膜まで切除されたものである。Masson's trichrome染色を施した内膜組織は線維性肥厚の性状および細胞成分の量から光顕的に以下の4型に分類した(図2)。

I型: 青く濃染される膠原線維が主で細胞成分が少ない病変。

II型: 青く濃染される膠原線維に多数の細胞成分が混在する病変。

III型: 薄く染色される膠原線維に多数の細胞成分が混在する病変。

IV型: 粥腫性病変。

切除組織の肉眼的観察で白色の組織が多く認められた症例ではI型の組織が多く, さらにこの白色組織は複数回の切削で後半に切除されるものが多く, 中膜よりの血管壁深層に多く認められた。しかし病歴の長い症例では最初に切除されてくるものも認められた。

中膜まで切除された組織では, 中膜に付着した内膜組織は病歴の長いものではほとんどがI型の内膜組織であり, 病歴の新しいものではII型の内膜組織が多かった。また病歴の短い症例2, 5およびPTCA後の再狭窄の症例13では内弾性板の断裂部より中膜から内膜に移行する平滑筋細胞も認められた。

deviceを複数回deliveryさせ病変を切削した



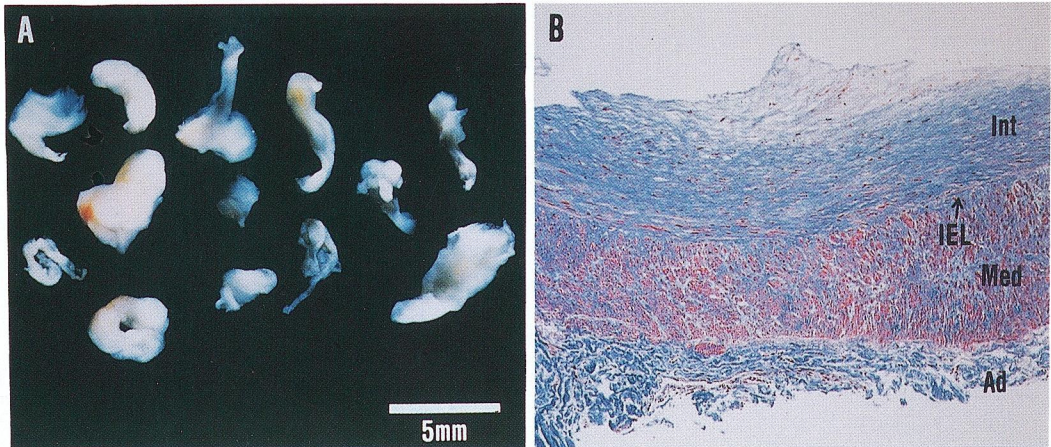


図1 A: 症例5より切除されたマクロ標本, B: 症例10より外膜まで切除された組織 (Masson's trichrome 染色)

Int: intima, IEL: internal elastic lamina, Med: media, Ad: adventitia.

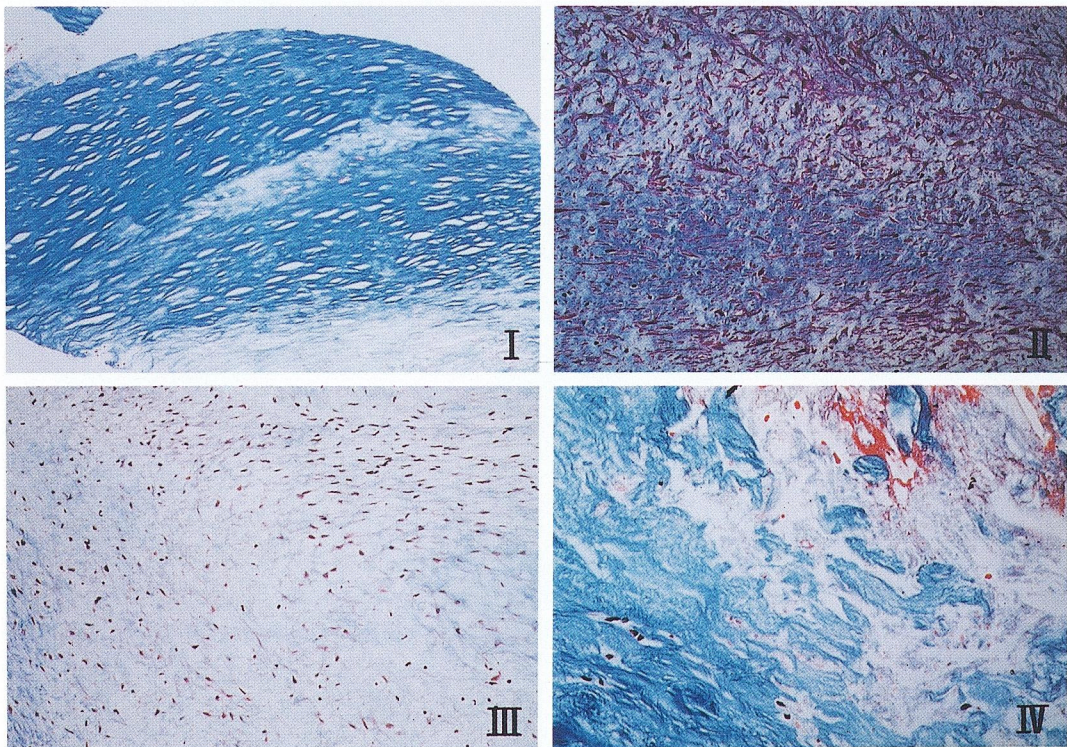


図2 DCAによる切除内膜の組織分類 (Masson's trichrome 染色)

I型: 青く濃染される膠原線維が主で細胞成分が少ない病変, II型: 青く濃染される膠原線維に多数の細胞成分が混在する病変, III型: 薄く染色される膠原線維に多数の細胞成分が混在する病変, IV型: 粥腫性病変.

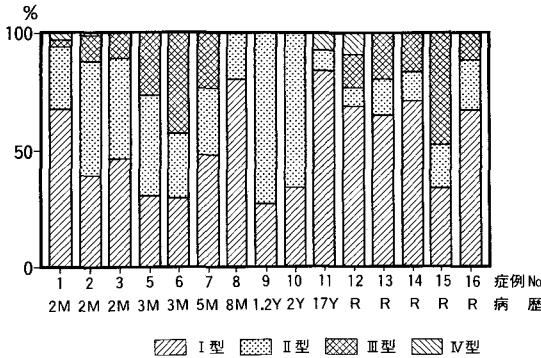


図3 各症例の病歴と内膜の組織型との関係

M: months, Y: years, R: restenosis.

症例では、III型の内膜組織は初回の delivery により得られており、血管壁内腔側より切除されたものであった。

肉眼的に黄色～黄褐色の切除組織が認められた症例ではIV型の内膜組織が存在することが多かった。

また、各組織を100倍の拡大率で観察し、一辺が $5\mu\text{m}$ の正方形を一柵として総柵数を求め、先の分類に従い内膜組織の面積を測定し、各型の面積比と臨床像を検討した(表1)。しかし、症例4では切除組織のすべてを光顕により検討し得なかったため、面積比は16例中15例について検討した(図3)。内膜病変の面積比は、15例全体としてはI型49.7%、II型35.0%、III型14.1%、IV型1.2%であった。

### 3. 免疫組織化学的所見

II型、III型の内膜に増生した細胞の特徴を検出するために、6種類のモノクローナル抗体により免疫組織化学染色を施行した(表2)。II型、III型の細胞成分の増生が著明な内膜組織では紡錘形細胞が主体であり、この紡錘形細胞は免疫組織化学染色によりHHF35陽性の平滑筋細胞であった。II型の内膜組織の中にはHAM56陽性のマクロファージが認められる組織があった。また、III型の内膜組織内にはHAM56陽性のマクロファージは認められなかった。抗SM1抗体による免疫組織化学染色では、II型、III型の内膜組織の細胞は陽性であった。抗SMemb抗体ではIII型の内膜組織

表2 II型、III型の内膜組織の免疫組織化学染色

	II型	III型
HHF35	+	+
HAM56	+/-	-
SM1	+	+
SMemb	-	+
PCNA	-	+/-
PDGF	+/-	+

+: 免疫組織化学染色陽性, -: 免疫組織化学染色陰性, +/-: 免疫組織化学染色陽性および陰性の組織を含む, HHF35: 抗筋細胞アクチン抗体, HAM56: 抗マクロファージ抗体, SM1: 抗SM1(成人型平滑筋ミオシン重鎖アイソフォーム; 204kDa)抗体, SMemb: 抗SMemb(胎児型平滑筋ミオシン重鎖アイソフォーム; 196kDa)抗体, PCNA: 抗PCNA(proliferating cell nuclear antigen)抗体, PDGF: 抗PDGF(platelet-derived growth factor)抗体。

の細胞は陽性であったが、II型の細胞は陰性であった。PCNAはIII型の内膜組織、特に再狭窄病変の一部の平滑筋細胞のみに陽性であった。PDGFの免疫活性は、III型の組織では強陽性であったがII型の組織では陰性～弱陽性であった。

### 4. 内膜の組織像と臨床像の関係

図4に病歴別の各内膜組織の比率を示す。病歴が6カ月以内の6例(図4A)では、多くの細胞成分を含むII型、III型の組織が認められた。病歴が7カ月以上の4例(図4B)ではIII型の組織は認められず内膜病変はI型、II型の組織が主体であった。PTCA後の再狭窄の5例(図4C)では、血管壁内腔側の多数の細胞成分を含む内膜組織においてはIII型の組織が多く認められた。さらに血管壁深層の古い膠原線維が主体のI型の組織とII型またはIII型の組織があたかもPTCAにより再構築されたかのように明瞭に2層性に認められることが特徴的であった。IV型の組織は梗塞関連病変および病歴の長い症例に認められる傾向があった。

免疫組織化学染色によりPCNAが陽性であったIII型の内膜組織はすべて再狭窄病変より切除されたものであった。また、PTCA後の再狭窄の5例中、PCNA陽性の内膜組織が切除されたのは2例(症例12, 14)であり、これらはPTCA後それぞれ6カ月および2カ月後にDCAを施行された症例であった。一方、他の3例はPTCA後8カ月、



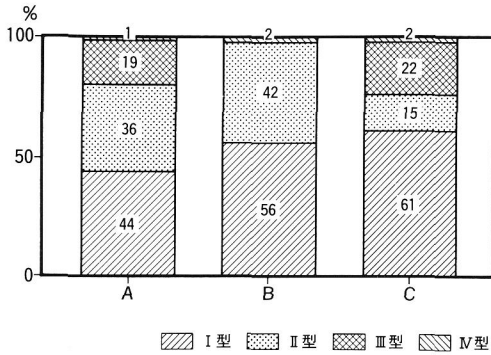


図4 病歴と内膜の組織型との関係

A: 病歴が6カ月以内の6症例, II型, III型の細胞成分を多く含む組織が多く認められる。B: 病歴が7カ月以上の4症例, III型の組織は認められず内膜組織はI型, II型が主体である。C: PTCA後の再狭窄の5例, 細胞成分を含む組織ではIII型の組織が多く認められる。

9カ月および10カ月後にDCAが施行された症例であった。PDGFの免疫活性は、同一症例のII型の内膜組織でも陰性～陽性と様々であったが、病

歴の短い症例の方がPDGFの免疫活性が陽性の組織が多い傾向があり、再狭窄病変より得られたII型の内膜組織ではほとんどがPDGFの免疫活性が陽性であった。

血栓は16例中7例に認められた。その内訳は心筋梗塞3例, 不安定狭心症3例, 安定狭心症1例であった。また, 心筋梗塞6例中3例および不安定狭心症4例中3例に血栓が認められた。

## 5. 病例呈示

### 1) 発症後3カ月の狭心症例(図5, 6)

図5は症例5のDCA前後および6カ月後の冠動脈造影である。著明な偏心性狭窄であったが内腔も平滑に0%まで開大され再狭窄も認められなかった。図6は同症例の組織像である。HHF35陽性の平滑筋細胞の増生が著明なIII型の組織が認められ、それらはPDGF陽性であった。また、本例では平滑筋細胞の中膜から内膜への移行像も認められた。

### 2) 発症後2年の狭心症例(図7)

III型の内膜組織は認められず、内膜病変は細胞

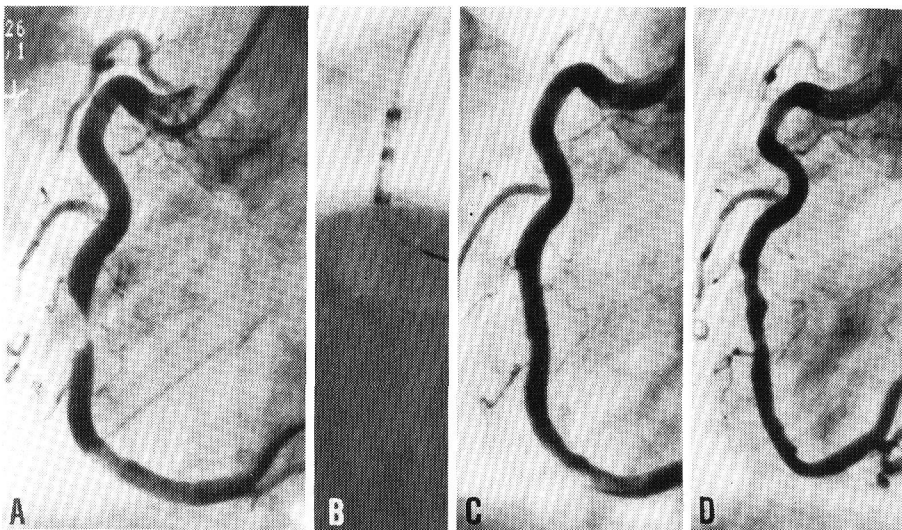


図5 60歳男性, 発症後3カ月の狭心症例

A: 経皮的冠動脈アテローム切除術(DCA)施行前, 右冠動脈segment 2の99%の著明な偏心性狭窄を認める。B: 窓(window)をもったステンレス製の筒(housing)を病変部に位置させ、窓の対側に付着するバルーンを拡張し窓部分を病変部に押しあて、筒内のシリンダー型のカッターを回転、進行させて病変を切削する。切除組織は先端部(nose cone)に回収される。C: DCA施行後, 狭窄は0%まで開大され内腔も平滑である。D: 6カ月後の右冠動脈造影, DCA施行部位に再狭窄は認められない。

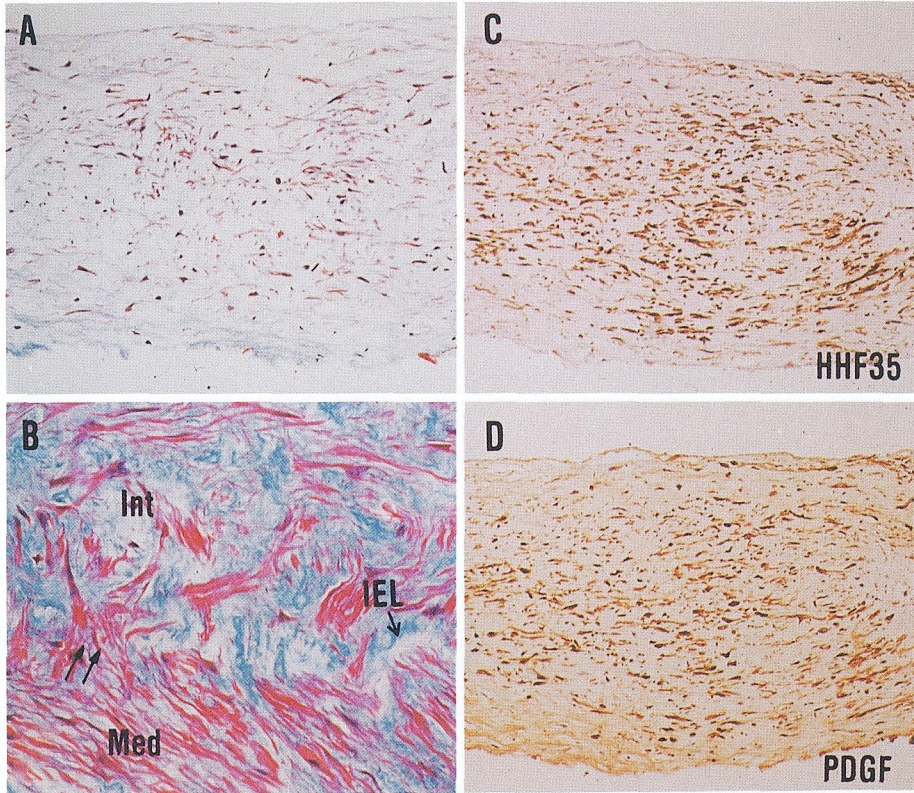


図6 狭心症発症後3カ月の60歳男性(症例5)より切除された内膜組織  
 A: III型の内膜組織(Masson's trichrome 染色), B: 平滑筋細胞が内弾性板(IEL)の断裂部において中膜(Med)から内膜(Int)へ移行する像(↑↑)および内膜での著明な平滑筋細胞の増生像が認められる(Masson's trichrome 染色), C: III型の内膜組織のHHF35による免疫組織化学染色像, D: III型の内膜組織の抗PDGF抗体による免疫組織化学染色像. 増生した紡錘形細胞はHHF35, PDGFともに陽性であった.

成分を含む古い線維性肥厚が主体であった。II型の内膜組織にはHHF35陽性の平滑筋細胞とHHF35陰性の細胞が認められ、HHF35陰性の細胞はHAM56陽性のマクロファージであった。また、同症例のII型の内膜組織にはPDGF陰性の平滑筋細胞が認められた。

### 3) PTCA後の再狭窄例(図8)

再狭窄病変のII型の内膜組織の平滑筋細胞はPDGF陽性のものが多かった。III型の内膜組織は抗SM1抗体および抗SMemb抗体陽性であり、特に再狭窄例のIII型の内膜組織にはPCNA陽性の平滑筋細胞が認められた。

### 考 察

DCAにより切除された冠動脈病変を病理学的

に検討した報告は散見されるが<sup>4)~6)</sup>、各症例の病理組織学的所見を臨床像および予後と詳細に比較検討した報告は見当たらない。我々はDCAを施行した16症例についてその臨床像と病理組織学的特徴を光顕的、免疫組織化学的に分析し比較検討した。

DCA施行により狭窄度は平均79%から平均6%となりこれまでの報告<sup>4)7)</sup>に比べ遜色ないのである。また残存狭窄が非常に少ないことから、このすべての切除組織を検討することによりほぼ明確にその冠動脈病変の病像が把握されることが考えられる。

これまでの報告<sup>4)8)9)</sup>では中膜、外膜はそれぞれ14~67%、26~35%の症例で切除され、冠動脈穿



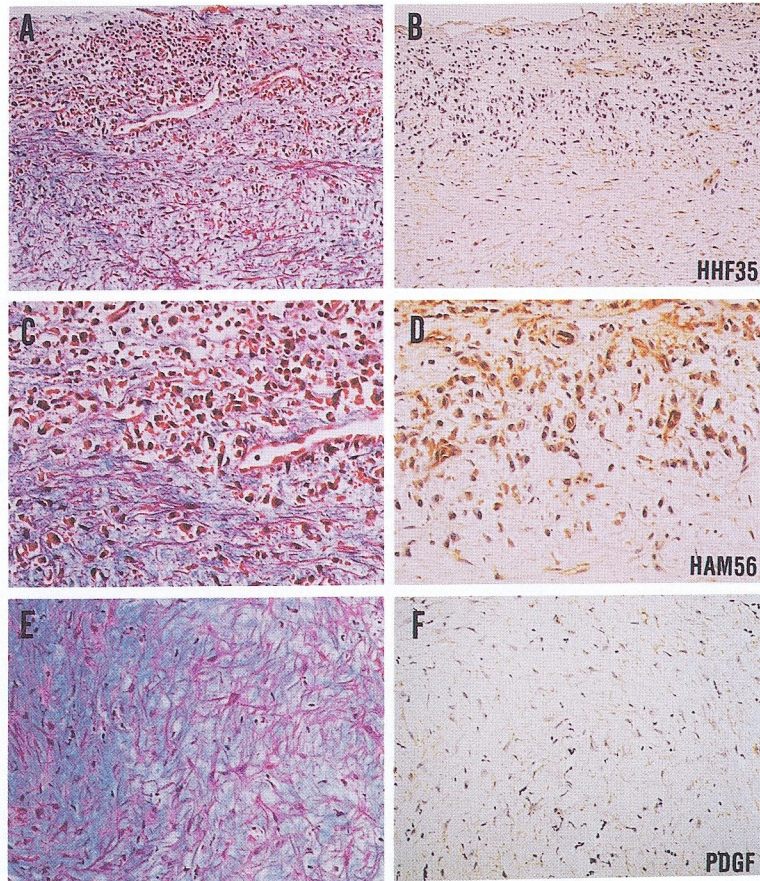


図7 狭心症発症後2年の不安定狭心症例(症例10)より切除された内膜組織  
 A: II型の内膜組織(Masson's trichrome 染色). B: HHF35による図Aの免疫組織化学染色像. 下方はHHF35陽性の平滑筋細胞を示すが, 上方の細胞はHHF35陰性である. C: 組織A上方部の拡大像(Masson's trichrome 染色). D: HAM56による図C(組織A上方部)の免疫組織化学染色像. 図BでHHF35陰性の細胞はHAM56陽性のマクロファージである. E: II型の内膜組織(Masson's trichrome 染色). F: 抗PDGF抗体による組織Eの免疫組織化学染色像. 病歴の長い症例のII型の組織ではPDGF陰性の平滑筋細胞が認められる.

孔が0.8%に認められている<sup>7)</sup>. 当院でも16例中6例で中膜まで, 2例で外膜まで切除されたが, DCA直後の冠動脈造影で冠動脈穿孔が認められたものはなかった.

Dartschら<sup>10)</sup>およびBauriedelら<sup>11)</sup>はDCAによる切除組織には内皮細胞は認められなかったと報告しているが, 我々の検討でも内皮細胞は認められなかった.

切除内膜組織については線維性肥厚の性状と細胞成分の量から4型に分類し, それぞれの面積を

求め, その面積比と臨床像を比較し各内膜組織の臨床的意義を検討した.

### 1. I型の内膜組織

I型の内膜組織は全般的には中膜よりの血管壁深層より切除されてくるものが多かったが, 病歴の長い症例では最初に切除されてくるものも認められ, これらは内膜膠原線維であると考えられた. I型は4つに分類した内膜組織のうちで最も古く形成されたと考えられるが病歴の長さに関係なく各時期に中膜よりの内膜に認められた. 本研究に



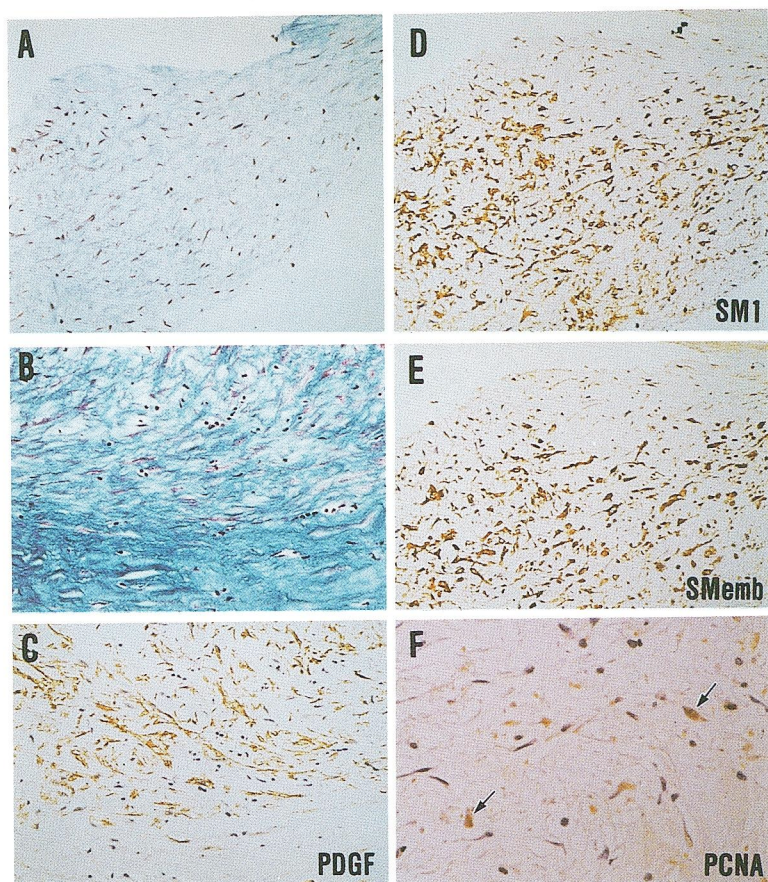


図8 PTCA後の再狭窄例(症例12)より切除された内膜組織  
 A: III型の内膜組織(Masson's trichrome 染色). B: II型(上方), I型(下方)の内膜組織が明瞭に2層性に切除されている(Masson's trichrome 染色). C: 抗PDGF抗体による組織Bの免疫組織化学染色像. II型の組織の平滑筋細胞はPDGF陽性である. D: 抗SM1抗体による組織Aの免疫組織化学染色像. E: 抗SMemb抗体による組織Aの免疫組織化学染色像. III型の組織の平滑筋細胞はSM1, SMemb陽性である. F: 抗PCNA抗体による組織Aの免疫組織化学染色像. 再狭窄病変のIII型の組織にはPCNA陽性の平滑筋細胞が認められる.

においてI型, II型の組織の量は切除される深さに影響されるものであるが, 病歴が短い症例にもI型の組織は存在し, 冠動脈病変のすべてが狭心症の病歴の長さのみと一致するものではなかった.

## 2. II型の内膜組織

II型の内膜組織も各症例に認められた. HHF35は平滑筋細胞を同定<sup>12)</sup>でき, II型の内膜組織に認められる紡錘形細胞はHHF35陽性の平滑筋細胞であった.

病歴の短い症例および再狭窄例では内弾性板の

断裂部より中膜から内膜に移行する平滑筋細胞が認められ, さらに実験的に傷害されたラットの内頸動脈において, 肥厚した内膜における増生平滑筋細胞の90%は中膜由来であった<sup>13)14)</sup>との報告もあり, 中膜平滑筋細胞の内膜への遊走, 内膜での増生はやはり動脈硬化や再狭窄の主要因<sup>15)~17)</sup>であると考えられる.

動脈硬化に関与するサイトカインおよび成長因子は多数報告されているが, 賛否両論があるものの, PDGFは特に中膜平滑筋細胞の内膜への遊走

および内膜での増生に関する成長因子として重要である<sup>15)18)</sup>。本研究における抗 PDGF 抗体による免疫組織化学染色の結果、II型の内膜組織では PDGF の免疫活性はさまざまであった。再狭窄病変ならびに病歴の新しいII型の内膜組織の平滑筋細胞では PDGF の免疫活性は陽性であったことより、これらは冠動脈病変として“活動性のある比較的新しい病変”であると考えられた。一方、PDGF の免疫活性が陰性のII型の内膜組織は、PDGF 陽性のII型の内膜組織に比べ線維性成分をより多く伴うことから中膜平滑筋細胞が内膜へ遊走・増生し、さらに細胞外基質などを合成・分泌している像であると考えられ、PDGF の免疫活性が陽性の組織に比べてより古い組織であると考えられた。このように、II型の内膜組織は平滑筋細胞の PDGF 免疫活性の有無によりさらに2種類に分類可能であった。

### 3. III 型の内膜組織

これまでの DCA の切除組織に関する報告では、Garratt ら<sup>6)</sup>は de novo 病変（初回 DCA 施行例）では“dense intimal fibrosis”が特徴的であり、再狭窄病変では“loose fibroproliferative tissue”の増加が特徴的であると述べている。彼らがいう“dense intimal fibrosis”は我々の分類のI型であり、“loose fibroproliferative tissue”はIII型であると考えられる。我々の検討ではIII型の組織は再狭窄病変に特有のものではなく病歴の新しい冠動脈病変にも同様にみられ血管壁内腔側に存在していたと考えられた。

1986年、Rovner ら<sup>19)</sup>はミオシン重鎖を二本のバンドとして分画（SM1: 204kDa, SM2: 200kDa）し、平滑筋ミオシン重鎖に多様性があることを示唆した。また Kuro-o<sup>20)</sup>らは、SM1は胎児から成長後にいたるまで一貫して発現するが、SM2は胎児期にはほとんど発現せず新生児期以降に初めて発現することを示した。さらに彼らはウサギ胎児大動脈より SM1, SM2とは異なるミオシン重鎖アイソフォームの cDNA（SMemb: 196kDa）を単離し、SMemb は胎児・新生児期に最も強く発現し以後漸減すること、動脈硬化における新生内膜の増生平滑筋細胞に再発現することを実験的に

示した<sup>21)</sup>。PCNA (cyclin) は DNA ポリメラーゼ  $\delta$  結合蛋白で、抗 PCNA 抗体による免疫組織化学染色により G1期後半～S期の細胞を認識し、DNA 合成（細胞の増殖）が起きているか否か検討できる<sup>22)</sup>。

本研究において、III型の内膜組織の平滑筋細胞が SMemb 陽性であったことは、III型の内膜組織の平滑筋細胞が比較的幼若で、III型の内膜は動脈硬化性病変としてはごく新しい病変であることを示している。さらにIII型の内膜組織の平滑筋細胞で強い PDGF の発現があり、その一部に PCNA 陽性の平滑筋細胞が認められたことより、実際にIII型の内膜組織で平滑筋細胞が DNA を合成し増生していることが確認された。臨床的に狭心症を伴う再狭窄は3カ月頃から6カ月以内に出現することが多く12カ月以後はまれであると報告<sup>23)24)</sup>されているが、これらは病歴が6カ月以内の症例および再狭窄病変にのみIII型の内膜組織が認められたことより納得できる。

Bauriedel ら<sup>11)</sup>は DCA による切除組織の培養により平滑筋細胞の遊走性は de novo 病変に比し再狭窄病変で有意に高いことを報告し、また Grünwald ら<sup>25)</sup>、Dartsch ら<sup>26)27)</sup>も再狭窄病変では de novo 病変に比べ、平滑筋細胞の活動性が高く、遊走および増生がより高度に認められたと報告している。一方、Leclerc ら<sup>28)</sup>は in situ hybridization による分析で、nonmuscle myosin heavy chain-B mRNA は de novo 病変よりも再狭窄病変に多く存在することを示し、Gordon ら<sup>29)</sup>は二重免疫染色（抗平滑筋  $\alpha$  アクチン抗体、抗 PCNA 抗体）により、de novo 病変では平滑筋細胞の増生率は少ないと報告している。これらは、本研究において PCNA が de novo 病変のIII型の内膜の平滑筋細胞には認められず、再狭窄例のIII型の内膜病変にのみ認められたことと矛盾しない。

### 4. IV 型の内膜組織

IV型の内膜組織は1.2%に認められ、心筋梗塞の既往のある症例の梗塞関連病変および病歴の長い症例に多く認められた。それだけ心筋梗塞には粥腫の関与が多いと考えられるが、粥腫は冠動脈内膜病変のどこにでも存在するものでありこの



1.2%という数字は少ないと思われる。これはDCAの切除標本は通常の病理解剖の固定標本より得られたものとは異なり、切除の過程で粉碎されてしまうことによると考えられる。従って特に切除組織量の少ない症例では、同定された以上に粥腫を含んでいた可能性があると考えられる。

動脈硬化や再狭窄病変における内膜肥厚には、平滑筋細胞の遊走・増生が重要<sup>15)~17)</sup>であり、平滑筋細胞の増生が再狭窄の本質的な要因と考えられている<sup>16)30)~32)</sup>。さらに本研究にてDCA施行例の臨床像と病理学的所見を光顕的、免疫組織化学的に比較検討することにより平滑筋細胞の動態が具体的に示された。

動脈硬化の初期病変形成には単球やTリンパ球の内皮下への進入、集積という一連の過程の進行が必要であり、さらに単球は活性化されマクロファージとなり泡沫化する<sup>33)</sup>。マクロファージも動脈硬化促進に大きく関与するがHAM56陽性のマクロファージ<sup>34)</sup>が認められたのはII型の内膜組織のみであったことより動脈硬化ならびに再狭窄の進行過程でマクロファージはごく早期の平滑筋細胞の増生が盛んな病変や古い膠原線維のみの病変にはほとんど関与しないと考えられた。しかし動脈硬化性病変は複雑で、先の内膜分類に従い一様に進行するものではなく、すでに存在したII型の内膜病変内のマクロファージが周囲の平滑筋細胞やTリンパ球と相互に関与、サイトカインネットワークによりさらに平滑筋細胞の増生およびIII型の内膜組織の新生を促進していると考えられる。本研究では、病歴の長い症例ではIII型の内膜組織は認められなかったが、このサイトカインネットワークの関与を考えれば病歴の長い症例にもIII型の内膜組織が存在する可能性があると考えられる。その時何が誘因となるかなどは今後の課題であり、その解明が動脈硬化や再狭窄の予防につながると思われる。

本研究では切除組織のすべてを光顕的、免疫組織化学的に検討したが、これにより内膜病変を再構築できるわけではない。粥腫の粉碎や残存狭窄もあり、また中膜あるいは外膜まで切除された症例では切除方向の誤りがあった可能性もある。し

かしDCAは狭窄性病変を血管内腔側より深層へ順に切削除去するものであり、特にIII型の組織は血管壁内腔側より切除されており、本研究において少なくともIII型の組織の有無およびその免疫組織化学的検討には問題がないと考えられる。さらに冠動脈病変の切除様式および残存狭窄をも含めた検討には、DCA後の血管内視鏡および血管内エコーの併用が必要であると考えられる。

## 結 語

1) DCA成功16例中、中膜が切除されたものは6例であり、外膜まで切除されたものは2例であった。

2) 内膜病変は、線維性肥厚の性状および細胞成分の量から4型に分類した。

3) 病歴が6カ月以内の6例およびPTCA後の再狭窄の5例では、多数の平滑筋細胞を含む新しいIII型の内膜肥厚が認められることが特徴的であった。このIII型の内膜組織の平滑筋細胞はSMemb陽性であり、特に再狭窄病変のIII型の内膜組織にはPCNA陽性で増生の盛んな活動性が特に強い平滑筋細胞が認められた。

4) 病歴が長い狭心症例ではIII型の内膜組織は認められず線維性の内膜肥厚が主体であった。マクロファージは平滑筋細胞と混在しII型の内膜組織に認められた。

5) II型の内膜組織はPDGFの免疫活性の有無によりさらに二種類に分類可能であった。

6) 各症例の臨床像とDCAによる切除組織を光顕的、免疫組織化学的に比較検討することにより、動脈硬化性病変および再狭窄病変の経時的変化を具体的に説明することが可能であった。

稿を終えるにあたり、ご指導ご校閲を賜りました循環器内科細田達一教授、堀江俊伸講師に深く感謝いたします。また、免疫組織化学的検討に際し、抗SM1抗体および抗SMemb抗体を提供していただいた東京大学第三内科永井良三講師に深謝いたします。

本研究の要旨は、第39回日本心臓病学会学術集会(1991年、神戸)、第56回日本循環器学会学術集会(1992年、千葉)、第40回日本心臓病学会学術集会(1992年、高松)にて発表した。

## 文 献

- 1) **Simpson JB**: Future interventional techniques. *In* Acute Coronary Care in the Thrombolytic Era. (Califf RM, Mark DB, Wanger GS eds) pp392-404, Year Book Medical, Chicago (1988)
- 2) **Rösch J, Antonovic R, Trenouth RS et al**: The natural history of coronary artery stenosis, a longitudinal angiographic assessment. *Radiology* 119 : 513-520, 1976
- 3) 堀江俊伸: 心筋梗塞—臨床所見と病理所見の対比一. 医学書院, 東京 (1981)
- 4) **Safian RD, Gelbfish JS, Erny RE et al**: Coronary atherectomy; clinical, angiographic, and histological findings and observations regarding potential mechanisms. *Circulation* 82 : 69-79, 1990
- 5) **Garratt KN, Edwards WD, Vlietstra RE et al**: Coronary morphology after percutaneous directional coronary atherectomy in humans: Autopsy analysis of three patients. *J Am Coll Cardiol* 16 : 1432-1436, 1990
- 6) **Garratt KN, Edwards WD, Kaufmann UP et al**: Differential histopathology of primary atherosclerotic and restenotic lesions in coronary arteries and saphenous vein bypass grafts: Analysis of tissue obtained from 73 patients by directional atherectomy. *J Am Coll Cardiol* 17 : 442-448, 1991
- 7) **Hinohara T, Rowe MH, Robertson GC et al**: Effect of lesion characteristics on outcome of directional coronary atherectomy. *J Am Coll Cardiol* 17 : 1112-1120, 1991
- 8) **Garratt KN, Kaufmann UP, Edwards WD et al**: Safety of percutaneous coronary atherectomy with deep arterial resection. *Am J Cardiol* 64 : 538-540, 1989
- 9) **Garratt KN, Holmes DR Jr, Bell MR et al**: Restenosis after directional coronary atherectomy: Differences between primary atheromatous and restenosis lesions and influence of subintimal tissue resection. *J Am Coll Cardiol* 16 : 1665-1671, 1990
- 10) **Dartsch PC, Bauriedel G, Schinko I et al**: Cell constitution and characteristics of human atherosclerotic plaques selectively removed by percutaneous atherectomy. *Atherosclerosis* 80 : 149-157, 1989
- 11) **Bauriedel G, Windstetter U, DeMario SJ Jr et al**: Migratory activity of human smooth muscle cells cultivated from coronary and peripheral primary and restenotic lesions removed by percutaneous atherectomy. *Circulation* 85 : 554-564, 1992
- 12) **Tsukada T, Tippens D, Gordon D et al**: HHF-35, a muscle-actin-specific monoclonal antibody: I. Immunocytochemical and biochemical characterization. *Am J Pathol* 126 : 51-60, 1987
- 13) **Clowes AW, Schwartz SM**: Significance of quiescent smooth muscle migration in the injured rat carotid artery. *Circ Res* 56 : 139-145, 1985
- 14) **Schwartz SM, Campbell GR, Campbell JH**: Replication of smooth muscle cells in vascular disease. *Circ Res* 58 : 427-444, 1986
- 15) **Ross R**: The pathogenesis of atherosclerosis—An update. *N Engl J Med* 314 : 488-500, 1986
- 16) **Liu MW, Roubin GS, King SB III**: Restenosis after coronary angioplasty: Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia. *Circulation* 79 : 1374-1387, 1989
- 17) **Forrester JS, Fishbein M, Helfant R et al**: A paradigm for restenosis based on cell biology: Clues for the development of new preventive therapies. *J Am Coll Cardiol* 17 : 758-769, 1991
- 18) **Fingerle J, Johnson R, Clowes AW et al**: Role of patients in smooth muscle cell proliferation and migration after vascular injury in rat carotid artery. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 8412-8416, 1989
- 19) **Rovner AS, Thompson MM, Murphy RA**: Two different heavy chain are found in smooth muscle myosin. *Am J Physiol* 19 : C861-C870, 1986
- 20) **Kuro-o M, Nagai R, Tsuchimochi H et al**: Developmentally regulated expression of vascular smooth muscle myosin heavy chain isoforms. *J Biol Chem* 264 : 18272-18275, 1989
- 21) **Kuro-o M, Nagai R, Nakahara K et al**: cDNA cloning of a myosin heavy chain isoform in embryonic smooth muscle and its expression during vascular development and in arteriosclerosis. *J Biol Chem* 266 : 3768-3773, 1991
- 22) **Bravo R, Frank R, Blundell PA et al**: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature* 326 : 515-517, 1987
- 23) **Leimgruber PP, Roubin GS, Hollman J et al**: Restenosis after successful coronary angioplasty in patients with single-vessel disease. *Circulation* 73 : 710-717, 1986
- 24) **Ernst SMPG, van der Feltz TA, Bal ET et al**: Long-term angiographic follow-up, cardiac events, and survival in patients undergoing



- percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Br Heart J* 57 : 220-225, 1987
- 25) **Grüwald J, Haudenschild CC** : Intimal injury in vivo activates vascular smooth muscle cell migration and explant outgrowth in vitro. *Arteriosclerosis* 4 : 183-188, 1984
  - 26) **Dartsch PC, Voisard R, Bauriedel G et al** : Growth characteristics and cytoskeletal organization of cultured smooth muscle cells from human primary stenosing and restenosing lesions. *Arteriosclerosis* 10 : 62-75, 1990
  - 27) **Dartsch PC, Voisard R, Betz E** : In vitro growth characteristics of human atherosclerotic plaque cells: Comparison of cells from primary stenosing and restenosing lesions of peripheral and coronary arteries. *Res Exp Med* 190 : 77-87, 1990
  - 28) **Leclerc G, Isner JM, Kearney M et al** : Evidence implicating nonmuscle myosin in restenosis: Use of in situ hybridization to analyze human vascular lesions obtained by directional atherectomy. *Circulation* 85 : 543-553, 1992
  - 29) **Gordon D, Reidy MA, Benditt EP et al** : Cell proliferation in human coronary arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 4600-4604, 1990
  - 30) **Essed CE, van den Brand M, Becker AE** : Transluminal coronary angioplasty and early restenosis: Fibrocellular occlusion after wall laceration. *Br Heart J* 49 : 393-396, 1983
  - 31) **Giraldo AA, Esposito OM, Meis JM** : Intimal hyperplasia as a cause of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Arch Pathol Lab Med* 109 : 173-175, 1985
  - 32) **Austin GE, Ratliff NB, Hollman J et al** : Intimal proliferation of smooth muscle cells as an explantation for recurrent coronary artery stenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 6 : 369-375, 1985
  - 33) **Watanabe T, Tokunaga O, Fan J et al** : Atherosclerosis and macrophages. *Acta Pathol Jpn* 39 : 473-486, 1989
  - 34) **Gown AM, Tsukada T, Ross R et al** : Human atherosclerosis. II. Immunocytochemical analysis of the cellular composition of human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 125 : 191-207, 1986
-