

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04290

研究課題名(和文) EDHFをターゲットとした新しい血管病の探索研究 血管内膜肥厚とEDHFの関連

研究課題名(英文) Functions of Nitric Oxide and Endothelium-derived Hyperpolarizing Factor are impaired in Poor Run-off Autogenous Rabbit Arterial Grafts

研究代表者

古森 公浩 (KOMORI, Kimihiro)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：40225587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：内皮細胞はNitric Oxide(NO)と内皮由来過分極因子(EDHF)を介して平滑筋を弛緩させることが知られている。静脈グラフトではNOとEDHFの反応がともに障害され高度な内膜肥厚を来すことを我々は既に報告している。今回の研究は異常血流動脈グラフトと正常血流動脈グラフトにおけるNOとEDHFの機能変化を比較した最初の研究である。正常血流グラフトではEDHFは低下しNOの産生が増強する。一方、異常血流グラフトではNOは低下する傾向にあり、EDHFの反応も低下していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の結果より内皮由来過分極因子(EDHF)と血管内膜肥厚との関連が示唆され、EDHFをターゲットとした新しい治療戦略への発展が期待される。EDHFとグラフト内膜肥厚への関与、さらにはステント再狭窄との関連の研究は、閉塞性動脈硬化症だけではなく虚血性心血管病患者の晩期障害となる自家静脈、自家動脈グラフトの狭窄・閉塞、ステント再狭窄の病態解明を企図するもので、EDHFをターゲットとした新たな心血管病治療の可能性示唆し臨床的にも有用な結果であると思われた。

研究成果の概要(英文)：Background: Vascular endothelium induces smooth muscle cell (SMC) relaxation mainly mediated by endothelium-derived nitric oxide (EDNO) and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). The present study was undertaken to determine whether the functions of EDNO and EDHF might be altered in poor run-off artery graft compared to "non-occluded graft". Methods: The carotid artery was excised and implanted in its original position as an autogenous graft ("non-occluded graft"), and the most inferior branch of the external carotid artery served as the only outflow for the present conditions ("poor run-off graft"). Conclusions: The functions of both EDNO and EDHF are impaired in poor run-off artery grafts.

研究分野：血管外科学

キーワード：内膜肥厚 EDHF 異常血流モデル 内皮機能

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

内皮細胞は Nitric Oxide(NO)と内皮由来過分極因子(EDHF)を介して平滑筋を弛緩させることが知られている。内皮由来の NO は自発的またはアセチルコリン(ACh)や shear stress などの各種刺激により産生される。NO は cGMP を増加させ、平滑筋細胞の弛緩が起こる。また、それらの各種刺激は内皮細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇させ、Ca<sup>2+</sup>依存性の K<sup>+</sup>チャネルを活性化させることにより EDHF が発生し平滑筋細胞の過分極と弛緩を引き起こすことが知られている。静脈グラフトでは血管内皮細胞の NO と EDHF の反応がともに障害され高度な内膜肥厚を来す一方で、動脈グラフトでは EDHF は障害されるものの内皮細胞由来の NO の産生が増強し内膜肥厚を抑えることを我々は報告しているが、異常血流条件下での動脈グラフトの NO と EDHF について詳細な検討はない。

## 2. 研究の目的

今回、ウサギ自家動脈異常血流グラフトモデルを用いて、動脈グラフトの内膜肥厚および内皮依存性弛緩反応について NO と EDHF に注目して検討した。

## 3. 研究の方法

オスの日本白色種ウサギ(体重 2.5-3.0kg)を用いて、全身麻酔下に頸部を切開し、右総頸動脈を 2.5cm 摘出した。内腔をヘパリン化生理食塩水で洗浄後、元の部位に戻し、淡々吻合を行い、総頸動脈グラフトとし、異常血流モデルは内頸動脈および外頸動脈三分枝のうち二分枝を結紮した。全身麻酔下での総頸動脈グラフトの血流量、血圧、脈拍を測定した。

術後 28 日目に右総頸動脈グラフト(異常血流モデル:P 群、正常血流モデル:N 群)と左総頸動脈を摘出した。HE 染色、EVG 染色を行い内膜肥厚の有無、中膜の厚さ、細胞数、内腔の大きさを評価した。それぞれの血管をリング標本(1mm)とし、ACh による内皮依存性弛緩反応を測定した。EDHF 評価の為に微小電極法で ACh 投与下の平滑筋細胞の膜電位を測定した。

## 4. 研究成果

動脈グラフトウサギの血流量は、それぞれ P 群で  $2.8 \pm 0.8$  ml/min、N 群で  $24.1 \pm 1.3$  ml/min(n=5、 $P < 0.001$ )で P 群は N 群に比較し低下した。

グラフトの内腔は P 群で N 群よりも有意に狭く、中膜は P 群で N 群よりも有意に厚かったが、内膜肥厚、中膜の細胞数は、両群で有意差を認めなかった(図 1)。

血管リング標本の ACh 投与による内皮依存性弛緩反応は、P 群で N 群に比較し減弱する傾向にあった(図 2)。また、NO 合成阻害薬である L-NNA の存在下では、P 群は N 群と比較し減弱した。(この弛緩反応は、非選択的 K<sub>Ca</sub>3.1 阻害剤であるサリブドトキシンと K<sub>Ca</sub>2.3 阻害剤であるアパミンの存在下において、P 群、N 群ともさらに減弱した。ACh による内皮依存性弛緩反応は、N 群では対側動脈と比較し増大する傾向である一方、P 群では対側動脈と比較し減弱する傾向があった。この弛緩反応は、L-NNA 存在下では、P 群、N 群ともに減弱した。この弛緩反応は、サリブドトキシン、アパミンの存在下において P 群、N 群ともに、さらにより減弱した。

静止膜電位は両群で有意差を認めなかった(図 3A)。ACh 投与による平滑筋細胞の過分極反応の実際の記録を示す(図 3B)。P 群で N 群と比較し有意に低下したが、EC50 は P 群、N 群で有意差を認めなかった。

#### 【考察】

本研究では異常血流動脈グラフトの ACh による弛緩反応は、正常血流動脈グラフトと比較して減弱し、NO 阻害薬存在下でも減弱していた。また、非選択的 KCa3.1 阻害剤と KCa2.3 阻害剤の存在下ではさらに弛緩反応はそれぞれ減弱した。

ACh による内皮依存性弛緩反応は、正常血流の動脈グラフトでは内皮由来の NO 産生が増強する一方、血流が低下したグラフトでは、NO 産生が低下していることが考えられた。また、NO 合成阻害薬存在下での ACh による内皮依存性弛緩反応は、血流が低下したグラフトは正常血流グラフトと比較し減弱しており、ACh 投与による平滑筋細胞の過分極反応も低下していることから、EDHF の反応も低下していると考えられた。

今までの我々の研究では静脈グラフトは NO と EDHF の反応が著しく低下または消失し、高度の内膜肥厚をきたすこと、正常血流動脈グラフトでは、EDHF の反応は低下する一方で NO の産生が増強することがわかっている。今回の研究では血流が低下した動脈グラフトでは NO の反応が低下し、EDHF も低下することが示された。

#### 【結論】

本研究は異常血流動脈グラフトと正常血流動脈グラフトにおける NO と EDHF の機能変化を比較した最初の研究である。正常血流動脈グラフトでは EDHF は低下し NO の産生が増強する一方で、異常血流動脈グラフトでは NO は低下する傾向にあり、EDHF の反応も低下していると考えられた。

図 1 内膜肥厚: 動脈グラフト

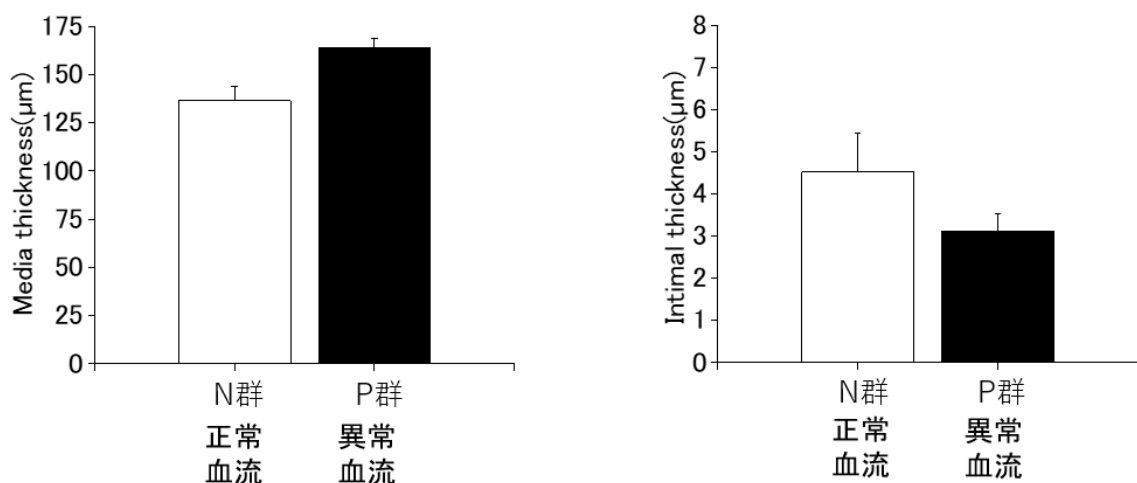


図2 Ach による内皮依存性弛緩反応:動脈グラフト

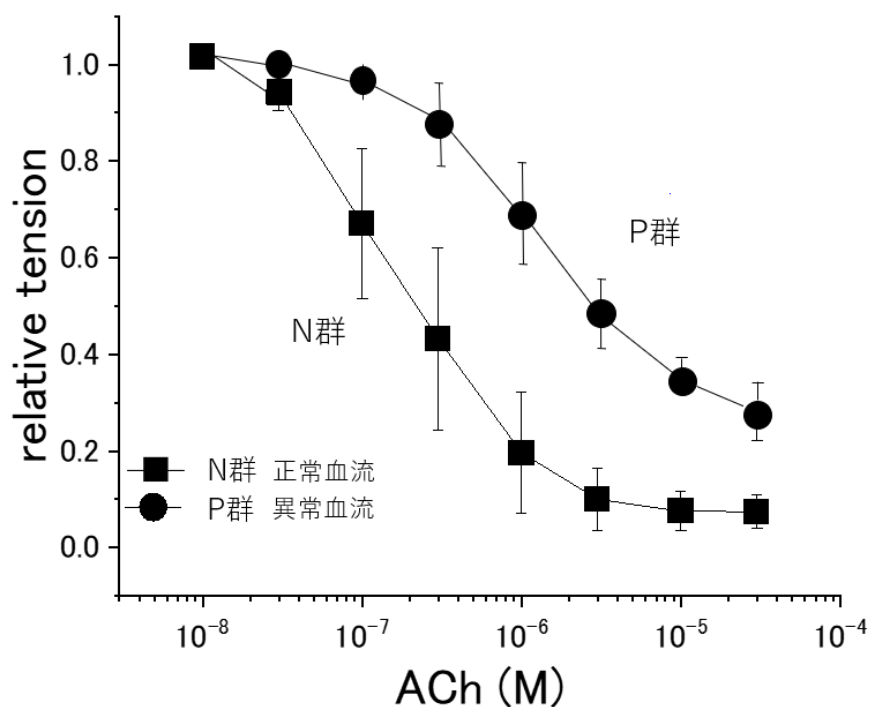
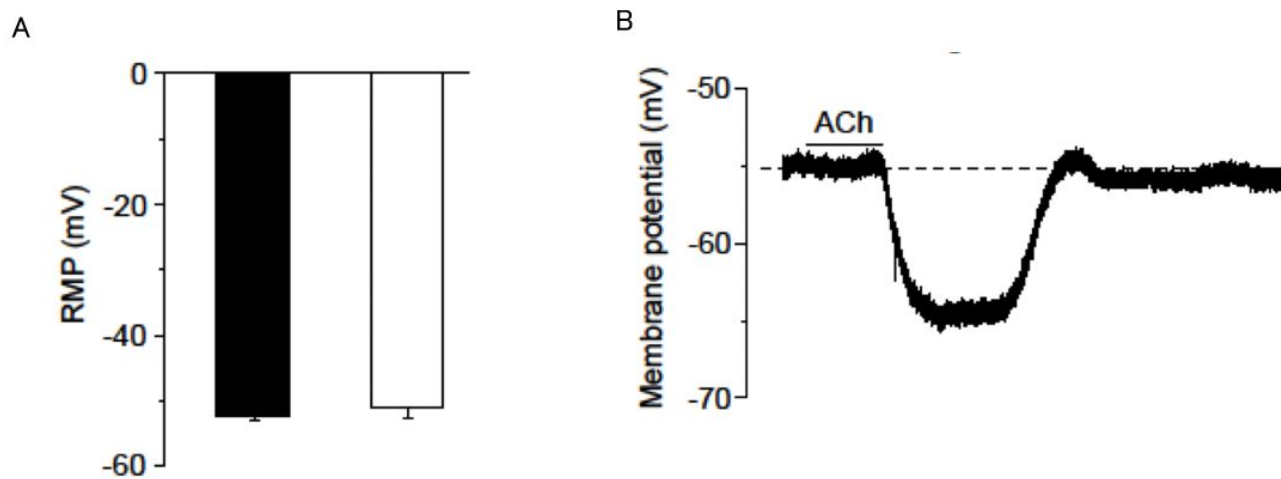


図3 膜電位:動脈グラフト



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tabata K, Komori K, Otsuka R, Kajikuri J, Itoh T	4. 巻 81(8)
2. 論文標題 Enhancement of Nitric Oxide Production Is Responsible for Minimal Intimal Hyperplasia of Autogenous Rabbit Arterial Grafts.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Circ J	6. 最初と最後の頁 1222-1230
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-17-0034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sugimoto M, Takahashi N, Niimi K, Kodama A, Banno H, Komori K	4. 巻 67(4)
2. 論文標題 Long-term fate of renal function after open surgery for juxtarenal and pararenal aortic aneurysm.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 1042-1050
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jvs.2017.07.121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kodama A, Takahashi N, Sugimoto M, Niimi K, Banno H, Komori K	4. 巻 4(3)
2. 論文標題 Three cases of dorsal metatarsal artery bypass in patients with Buerger disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Vasc Surg Cases Innov Tech	6. 最初と最後の頁 185-188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jvscit.2018.03.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hoshina K, Ishimaru S, Sasabuchi Y, Yasunaga H, Komori K	4. 巻 269(3)
2. 論文標題 Outcomes of Endovascular Repair for Abdominal Aortic Aneurysms: A Nationwide Survey in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Surg	6. 最初と最後の頁 564-573
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/SLA.0000000000002508	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kodama A, Takahashi N, Sugimoto M, Niimi K, Banno H, Komori K	4. 巻 70(5)
2. 論文標題 Associations of nutritional status and muscle size with mortality after open aortic aneurysm repair.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Vasc Surg	6. 最初と最後の頁 1585-1593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jvs.2019.01.049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawai Y, Narita Y, Yamawaki-Ogata A, Usui A, Komori K	4. 巻 -
2. 論文標題 Montelukast, a Cysteinyl Leukotriene Receptor 1 Antagonist, Induces M2 Macrophage Polarization and Inhibits Murine Aortic Aneurysm Formation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomed Res Int.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/9104680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto M, Takahashi N, Niimi K, Kodama A, Banno H, Komori K	4. 巻 83(9)
2. 論文標題 Effect of Intraoperative Division of the Left Renal Vein on the Fate of Renal Function and Left Renal Volume After Open Repair of Para- and Juxtarenal Aortic Aneurysm.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 1844-1850
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-19-0383	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii T, Banno H, Kodama A, Sugimoto M, Akita N, Tsuruoka T, Sakakibara M, Komori K	4. 巻 -
2. 論文標題 Aneurysm Sac Thrombus Volume Predicts Aneurysm Expansion with Type II Endoleak After Endovascular Aneurysm Repair.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.avsg.2019.11.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 児玉章朗, 秋田直宏, 藤井孝之, 榊原昌志, 田畑光紀, 小山明男, 杉本昌之, 坂野比呂志, 古森公浩
2. 発表標題 透析例重症虚血肢バイパス術後大切断回避生存率予測因子の検討 ~ frailty, 栄養評価スコアを含めて ~
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川井陽平、藤井孝之、秋田直宏、鶴岡琢也、榊原昌志、高橋範子、杉本昌之、新美清章、児玉章朗、坂野比呂志、古森公浩
2. 発表標題 大腿膝窩動脈領域TASC C,D跛行肢に対する治療の検討
3. 学会等名 第58回日本脈管学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉本昌之、川井陽平、藤井孝之、秋田直宏、鶴岡琢也、榊原昌志、高橋範子、新美清章、坂野比呂志、古森公浩
2. 発表標題 当科におけるEVAR遠隔期追加治療の検討
3. 学会等名 第48回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古森公浩
2. 発表標題 Tips and Techniques for Challenging Situations in Endovascular Aneurysm Repair
3. 学会等名 第82回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古森公浩
2. 発表標題 腹部大動脈瘤ステントグラフト治療の現状 ステントグラフト実施委員会からの報告
3. 学会等名 第27回教育セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 児玉章朗、池田修太、川井陽平、藤井孝之、秋田直宏、鶴岡琢也、榊原昌志、飯井克明、高橋範子、杉本昌之、新美清章、坂野比呂志、古森公浩
2. 発表標題 Burger病に対し背側中足動脈バイパスを施行した3例
3. 学会等名 第49回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古森公浩
2. 発表標題 重症虚血肢-外科治療の限界への挑戦-
3. 学会等名 第119回日本外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 児玉章朗、池田脩太、川井陽平、藤井孝之、榊原昌志、飯井克明、高橋範子、杉本昌之、新美清章、坂野比呂志、古森公浩
2. 発表標題 重症虚血肢鼠径靱帯以下バイパス後創傷治癒，生存率に関わる因子の検討
3. 学会等名 第47回日本血管外科学会学術総会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 古森公浩
2. 発表標題 血管炎症候群の診療ガイドライン パーリジャー病について
3. 学会等名 第67回日本心臓病学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>名古屋大学 血管外科  <a href="http://www.vasc Surg.jp/">http://www.vasc Surg.jp/</a>          名古屋大学医学系研究科・医学部医学科 血管外科（第一外科）  <a href="https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_J/laboratory/clinical-med/surgery/vascular-surg/">https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_J/laboratory/clinical-med/surgery/vascular-surg/</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	室原 豊明  (MUROHARA Toyoaki)  (90299503)	名古屋大学・医学系研究科・教授    (13901)	
研究分担者	坂野 比呂志  (BANNO Hiroshi)  (80584721)	名古屋大学・医学部附属病院・講師    (13901)	
研究分担者	児玉 章朗  (KODAMA Akio)  (10528748)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師    (13901)	削除：平成29年10月18日

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	杉本 昌之  (SIGIMOTO Masayuki)  (00447814)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師    (13901)	
研究 分 担 者	伊藤 猛雄  (ITO Takeo)  (70159888)	名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員    (23903)	