

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15983

研究課題名(和文) 微小血管狭心症の病態機序における内皮由来過分極因子の重要性の解明

研究課題名(英文) Elucidating the importance of endothelium-dependent hyperpolarization in the pathogenesis of microvascular angina

研究代表者

白戸 崇 (Shiroto, Takashi)

東北大学・大学病院・特任准教授

研究者番号：40647567

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：血管内皮は内皮由来弛緩因子(EDRF)を産生し血管の収縮性を調節しており、微小血管では主に内皮由来過分極因子(EDHF)が生理的調節を担っていることから、微小血管狭心症の病態機序にEDHFを介した弛緩反応の障害が関与しているとの仮説の下、既に微小血管狭心症と診断されている患者を対象に検討を行った。

指尖細動脈の拡張反応をEndo-PATで測定すると、ブラジキニンに対する内皮依存性拡張反応は患者でほぼ消失していた。また、EDRFのうち一酸化窒素とEDHFによる内皮依存性拡張反応が顕著に低下していることを見出した。微小血管狭心症は全身性の微小血管内皮機能障害の一部を反映している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓の表面を走行する冠動脈に器質的及び機能的狭窄を有さない微小血管狭心症は未だ有効な治療法が確立されていないことから、患者の生活の質の低下だけでなく、社会医療経済学的にも問題となっている。

本研究は、微小血管狭心症患者で指尖細動脈における血管拡張因子を介した内皮依存性拡張反応が著明に低下しており、末梢微小血管障害を起こしていることを明らかにした。

本研究は、微小血管狭心症患者における末梢微小血管の内皮機能障害を世界で初めて明らかにした重要な報告であり、微小血管狭心症患者に対する新たな治療方法への応用へとつながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Vascular endothelium produces endothelium-derived relaxing factors (EDRFs) that modulates vascular tone. Among EDRFs, endothelium-derived hyperpolarization factor (EDHF) is mainly responsible for physiological regulation in microvessels. Thus, present study explored the hypothesis that impaired EDHF-mediated relaxation is involved in the pathogenesis of microvascular angina (MVA).

In patients with MVA, endothelium-dependent vasodilatation of fingertip arterioles to bradykinin was almost absent as assessed by peripheral arterial tonometry (Endo-PAT). Mechanistically, among EDRFs, both nitric oxide (NO)-mediated and EDHF-mediated digital vasodilatations were markedly impaired in MVA patients. The results of the present study suggest that MVA is a cardiac manifestation of the systemic small artery disease.

研究分野：循環器内科学

キーワード：内皮機能障害 微小血管狭心症 内皮由来弛緩因子 内皮由来過分極因子 EDHF

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 微小血管狭心症

心臓の表面を走行する冠動脈における高度な器質的狭窄(粥状動脈硬化)や機能的狭窄(冠攣縮)の存在は心筋虚血を引き起こし、多くの狭心症患者の胸痛の原因となる。しかし、これらのいずれも有さない狭心症患者も数多く存在し、微小血管狭心症と呼ばれている。微小血管狭心症の臨床像としては、1)女性(特に閉経後)に多い、2)胸痛の性状や心電図変化では古典的な狭心症と区別することができない、3)労作以外に安静時にも共通を生じることが多い、4)胸痛の持続時間は10分以上のことがまれでない、5)即効性硝酸薬が有効な症例は50%以下、6)カルシウム拮抗薬などの抗攣縮薬に治療抵抗性の症例がまれでない、などの特徴があり、未だ有効な治療法が確立されていないことから、狭心症症状の増悪やそのための再入院がまれでなく、患者のQOLの低下だけでなく、社会医療経済学的にも問題である。微小血管狭心症患者では冠血流予備能が低下しており、その病態機序には冠微小血管の拡張能の低下や冠微小血管攣縮が関与している可能性が指摘されているが、未だ不明な点が多かった。

#### (2) 内皮由来過分極因子(EDHF)と微小血管狭心症

血管内皮細胞は血管平滑筋層の内側を覆う一層の細胞群であり、血管平滑筋細胞と多くの相互作用を有し、血管機能制御の根幹を形成している。血管内皮は「内皮由来弛緩因子(endothelium-derived relaxing factors: EDRFs)」と総称される弛緩因子を産生し、血管トーン(緊張)を調節し、心血管系の恒常性維持に極めて重要な働きをしている。このEDRFsにはプロスタサイクリン(PGI<sub>2</sub>)・一酸化窒素(NO)・内皮由来過分極因子(endothelium-derived hyperpolarizing factor: EDHF)の3種類が存在し、既にPGI<sub>2</sub>とNOは心血管疾患の治療に一部臨床応用されている。これら3種類のEDRFsの内皮依存性弛緩反応への寄与度は血管径によって異なり、太い血管(導管血管)ではNOが、微小血管(抵抗血管)ではEDHFが主となることで生理的なバランスが取られている。内因性のEDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は冠循環においても重要な役割を有すると報告され、微小血管狭心症の病態機序にEDHFを介した弛緩反応の障害が関与している可能性が想定されたものの、研究開始当初は、微小血管狭心症の病態解析に適した動物モデルは存在しないため、ヒトにおいて病態機序の検討が必要であった。

#### (3) 血管内皮機能検査(RH-PAT、FMD)とEDHF、微小血管狭心症

反応性充血末梢動脈圧測定(reactive hyperemia peripheral arterial tonometry: RH-PAT)は、駆血解除後の反応性充血時の血流増加を指先の微小血管で評価する方法で、RH-PATで得られる反応性充血指数(reactive hyperemia index: RHI)は、冠動脈に有意狭窄がある患者群と微小血管狭心症を含む冠攣縮性狭心症患者群で、ともに対照群と比べて有意に低下していたとの報告や、心血管イベントのハイリスク患者群においてRHIが心血管イベントの発症に関連するとの報告があり、冠循環の評価法としてのRHIの有用性が示されていた。微小血管狭心症におけるRHIは、微小血管機能調節に重要なEDHFの機能評価に有用である可能性があるが、これまでに検討されていなかった。一方、血流依存性拡張反応(flow-mediated dilation: FMD)は、駆血解除に起因する血流速度の増加で生じた、ずり応力を介した血管拡張を上腕動脈で評価する方法であり、主に導管血管レベルの血管内皮機能の評価に用いられる。RH-PATとFMDの同時測定は可能であることが知られていたものの、微小血管狭心症の患者において、太さの異なる血管(導管血管・微小血管)の内皮機能を同時に、かつ、PGI<sub>2</sub>阻害薬(アスピリン)、NO合成酵素阻害薬(NG monomethyl-L-arginine: L-NMMA)などの阻害薬を用いて、EDRFsの成分に着目して評価した研究はなく、学術的意義があった。

### 2. 研究の目的

本研究では、微小血管狭心症の病態機序にEDHFを介した弛緩反応の障害が関与しているとの作業仮説のもと、末梢血管床を用いた検討により、微小血管狭心症の病態機序におけるEDHFの重要性を明らかにするとともに、多面的な検討により微小血管狭心症の病勢評価のためのサロゲートマーカーを探索する。

### 3. 研究の方法

狭心症症状を有し、待機的な心臓カテーテル検査目的で東北大学病院に入院する研究対象者について、心臓カテーテル検査前に研究内容について十分な説明を行い、書面にて同意取得を得たうえで、冠動脈造影にて有意狭窄を認めない患者(狭窄度<50%)に対して、以下の検討を実施する。

研究1. 微小血管狭心症症例における心臓カテーテル検査を用いた検討: 心臓カテーテル検査において、冠攣縮誘発試験による冠微小血管攣縮の検討、プレッシャーワイヤーによる冠血管予備能や微小血管抵抗の計測、血中バイオマーカー解析(窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)、アディポネクチン、非対称性ジメチルアルギニン(AMDA)など)を実施する。

研究2. RH-PAT、FMD同時測定によるEDHF及びEDRFsの検討: RH-PATとFMDの同時測

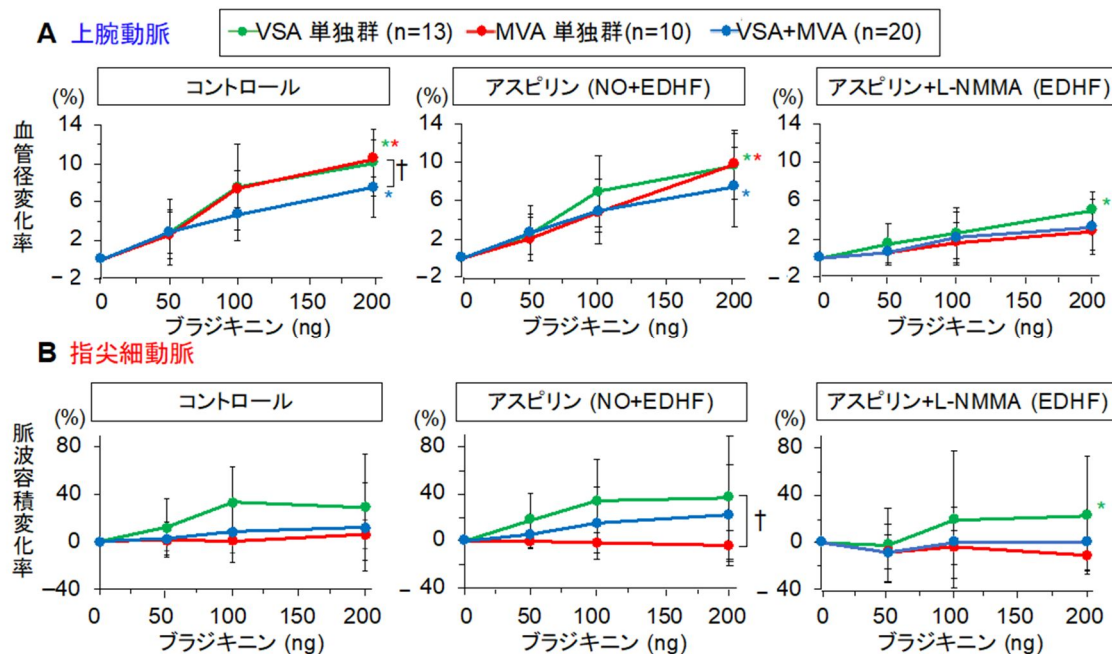
定による EDHF 及び EDRFs を検討し、内皮依存性弛緩反応と内皮非依存性弛緩反応を評価し、微小血管狭心症における EHDF の重要性を明らかにする。測定に当たっては、アスピリン、L-NMMA を使用し、EDRFs の成分に着目して血管弛緩反応を評価する。

以上により、多面的に微小血管狭心症の病態機序を検討することにより、微小血管狭心症患者の胸痛や心電図変化と相関する病勢評価のためのサロゲートマーカーを探索する。

#### 4. 研究成果

RH-PAT、FMD 同時測定による EDHF 及び EDRFs の検討、および微小血管狭心症症例における心臓カテーテル検査を用いた検討については、平成 29 年 11 月 28 日付で倫理委員会の研究計画（微小血管狭心症及び冠攣縮性狭心症患者における内皮依存性過分極を評価する探索的臨床研究：UMIN000030269）に従い研究を実施した。具体的には、狭心症症状を有し、待機的心臓カテーテル検査目的で東北大学病院に入院した症例、および過去に既に冠攣縮誘発試験により微小血管狭心症及び冠攣縮性狭心症と診断され同院における心臓カテーテル検査において冠微小血管攣縮の有無が検討され、かつ、冠血管予備能や微小血管抵抗の計測を行った症例を対象として、正常例を含む計 47 人で RH-PAT、FMD 同時測定を実施した。測定結果については、冠攣縮性狭心症（VSA）単独群 13 例、微小血管狭心症（MVA）単独群 10 例、両者合併（VSA + MVA）群 20 例に分類し検討を行った。

検討の結果、FMD で評価される上腕動脈においては、3 群ともにブラジキニン（BK）の用量に応じた内皮依存性拡張反応の上昇を認めた。一方、RH-PAT で評価される指尖の微小血管においては、BK に対する内皮依存性拡張反応は VSA 単独群では保持されていたが、MVA 単独群でほぼ消失していた（ $P < 0.05$ ）。さらに、NO と EDHF による内皮依存性拡張反応は MVA 単独群において著明に低下していた（下図）。



ニトログリセリンに対する内皮非依存性拡張反応は 3 群で同程度であった。血漿バイオマーカーに関しては、可溶性 VCAM-1 の濃度は VSA 単独群と比較して MVA 単独群において有意に上昇していた。

以上から、抵抗血管における NO 及び EDHF による内皮依存性拡張反応は MVA 単独群で著明に低下しており、微小血管狭心症は全身性の微小血管内皮機能障害の一部を反映している可能性が示唆された。

上記については、2020 年 4 月 2 日に *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 誌に掲載された (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40:1400-1412. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313704.)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ohura-Kajitani Shoko, Shiroto Takashi, Godo Shigeo, Ikumi Yosuke, Ito Akiyo, Tanaka Shuhei, Sato Koichi, Sugisawa Jun, Tsuchiya Satoshi, Suda Akira, Shindo Tomohiko, Ikeda Shohei, Hao Kiyotaka, Kikuchi Yoku, Nochioka Kotaro, Matsumoto Yasuharu, Takahashi Jun, Miyata Satoshi, Shimokawa Hiroaki	4. 巻 40
2. 論文標題 Marked Impairment of Endothelium-Dependent Digital Vasodilatations in Patients With Microvascular Angina	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 1400 ~ 1412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313704	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Shoko Kajitani, Takashi Shiroto, Shigeo Godo, Akiyo Ito, Yosuke Ikumi, Koichi Sato, Jun Sugisawa, Satoshi Tsuchiya, Akira Suda, Tomohiko Shindo, Shohei Ikeda, Kiyotaka Hao, Yoku Kikuchi, Kotaro Nochioka, Yasuharu Matsumoto, Jun Takahashi, Hiroaki Shimokawa
2. 発表標題 Marked impairment of endothelium-dependent digital vasodilatations in patients with microvascular angina compared with those with vasospastic angina
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shoko Kajitani, Takashi Shiroto, Shigeo Godo, Akiyo Ito, Yosuke Ikumi, Koichi Sato, Jun Sugisawa, Satoshi Tsuchiya, Akira Suda, Tomohiko Shindo, Shohei Ikeda, Kiyotaka Hao, Yoku Kikuchi, Kotaro Nochioka, Yasuharu Matsumoto, Jun Takahashi, Hiroaki Shimokawa
2. 発表標題 Marked Impairment of Endothelium-dependent Digital Vasodilatations in Patients with Microvascular Angina -Possible Manifestation of Systemic Small Artery Disease-
3. 学会等名 AHA Scientific Sessions 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shoko Kajitani, Takashi Shiroto, Shigeo Godo, Akiyo Ito, Yosuke Ikumi, Koichi Sato, Jun Sugisawa, Satoshi Tsuchiya, Akira Suda, Tomohiko Shindo, Shohei Ikeda, Kiyotaka Hao, Yoku Kikuchi, Kotaro Nochioka, Yasuharu Matsumoto, Jun Takahashi, Hiroaki Shimokawa
2. 発表標題 Marked impairment of endothelium-dependent digital vasodilatations in patients with microvascular angina compared with those with vasospastic angina
3. 学会等名 ESC Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shoko Kajitani, Takashi Shiroto, Shigeo Godo, Akiyo Ito, Yosuke Ikumi, Koichi Sato, Jun Sugisawa, Satoshi Tsuchiya, Akira Suda, Tomohiko Shindo, Shohei Ikeda, Kiyotaka Hao, Yoku Kikuchi, Kotaro Nochioka, Yasuharu Matsumoto, Jun Takahashi, Hiroaki Shimokawa
2. 発表標題 Marked impairment of endothelium-dependent digital vasodilatations in patients with microvascular angina compared with those with vasospastic angina
3. 学会等名 13th International Symposium on Mechanisms Of VasoDilatation, 7th International Symposium on Endothelium-Dependent Hyperpolarization (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梶谷 翔子、白戸 崇、神戸 茂雄、須田 彬、池田 尚平、羽尾 清貴、菊地 翼、松本 泰治、高橋 潤、下川 宏明
2. 発表標題 微小血管狭心症患者における抵抗血管内皮依存性血管拡張の著明な障害 冠攣縮性狭心症患者との比較検討
3. 学会等名 第19回日本N0学会学術集会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	下川 宏明  (Shimokawa Hiroaki)  (00235681)	東北大学・医学系研究科循環器内科学・教授    (11301)	