

平成22年 5月31日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19300197
 研究課題名（和文） 血管内一酸化窒素濃度の実時間計測に基づく血管リハビリテーション法の開発
 研究課題名（英文） DEVELOPMENT OF A VASCULAR REHABILITATION METHOD BASED ON REAL-TIME MEASUREMENT OF PLASMA NITRIC OXIDE CONCENTRATION
 研究代表者
 望月 精一（MOCHIZUKI SEIICHI）
 川崎医療福祉大学・医療技術学部・教授
 研究者番号：60259596

研究成果の概要（和文）：我が国の主な死因である虚血性心疾患や脳血管障害を抱えている患者は、動脈硬化による血管機能不全状態に陥っており、これらの患者の血管リハビリテーションと再発防止は重要である。一酸化窒素（NO）は血流による刺激で血管組織から生成し、血管の弛緩による血圧・血流を制御、動脈硬化の抑制などの様々な作用を有している。本研究では、血流中NOをリアルタイムに計測し、血管リハビリテーション法の定量的な評価方法の開発を試みた。その結果、計測法の開発とともにメタボリック症候群の血管機能評価、その他の生体機能を評価できるまでの成果を上げた。

研究成果の概要（英文）：The patients with ischemic heart diseases and cerebrovascular dysfunctions (major causes of death of the Japanese) suffer from vascular dysfunctions due to atherosclerotic development, and thus it is important to develop vascular rehabilitation methods as well as preventative methods for such vascular diseases. Nitric oxide (NO) is synthesized from endothelial cells in response to changes in blood flow and exerts various physiological functions such as vascular dilatation (controlling blood pressure and blood flow) and anti-atherosclerosis. In this study, we aimed at i) elaborating simultaneous measurement of in vivo NO concentration in the blood stream together with blood pressure and blood flow velocity on a real-time basis and ii) developing a quantitative analytical method for vascular rehabilitation. We were successful not only in developing a measurement technique but also in confirming the applicability of this technique to a quantitative analysis of i) vascular functions of the subjects with metabolic syndrome and ii) other biological functions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：生体医工学、医用化学工学

科研費の分科・細目：人間医工学／リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：循環器・高血圧、血管生理学、血管リハビリテーション、メタボリック症候群、一酸化窒素（NO）、血管機能

1. 研究開始当初の背景

我が国の死因の上位を占める虚血性心疾患や脳血管障害に罹患した患者は、動脈硬化に伴う血管機能不全を有しており、これらの患者のリハビリテーションでは、血管機能できるだけ健全な状態に誘導して維持することが、障害を受けた臓器の機能回復、血管疾患の再発防止の観点から重要である。そのためには、まずリハビリテーションの諸動作が血管機能に及ぼす影響を明らかにする必要がある。その際、常時血流に接触する血管の内側を覆っている血管内皮細胞が、動脈硬化の初期から血管機能不全に至るまでの全ての過程で重要な役割を担うことから、血管内皮機能を定量的に評価することが必要である。

血管内皮細胞は、血流による力学的刺激（ずり応力）を受けることで、その内部に有している一酸化窒素（NO）合成酵素が活性化されて、NOを産生する。そして、NOは血管機能を正常に保ち、新たな血管病変を防ぐためのキーファクターである。しかし、NOは血圧の上昇などに伴って発生する活性酸素種（ROS）と瞬時に反応して、生理的活性を失うことが知られている。リハビリテーションの諸動作は血流や血圧の変化を生じ、また直接外力を血管に与えるため、リハビリテーションに伴うこれらの力学的因子は血管機能に著しい影響を及ぼし、長期的には血管構築変化（リモデリング）の過程も修飾すると考えられる。

このような観点から、リハビリテーションに伴う諸動作が血管内皮機能に及ぼす影響を評価する必要があり、その結果を基にして、血管機能を正常化して維持するためのリハビリテーションプログラムを開発することが合理的と考えられる。しかし、最近まで、血管機能のキーファクターであるNOの濃度を血管内で計測する技術が開発されていなかったことから、リハビリテーションに伴う諸動作が血管内皮機能に及ぼす影響を直接、定量的に評価することは不可能であった。

この点に関して、我々は、大動脈や冠循環などの血管内でNO濃度を直接計測することができるカテーテル型NOセンサを世界に先駆けて開発し、従来、不可能であった血管内皮機能のin vivoリアルタイム評価を可能にした（BBRC, 2003;306:505-508；特許：第3691036号；PNAS 2005;102:11456-11461；特許：第3771553号）。

以上のような背景と、研究・技術開発をもとに、リハビリテーションが血管機能に及ぼす影響の直接的な評価と、血管機能を正常な

状態に誘導して維持するために最適なリハビリテーションプログラムの開発へと研究を進展させようと計画するに至った。具体的な検討対象として、健常モデル群、高脂肪食摂取による病態モデル群、関連病態群（腹膜透析）に注目した。

2. 研究の目的

以下の3点について、血管機能の定量的な評価を目的に実験を行い、本方法の有用性を検討した。

（1）血管内NO濃度のリアルタイム計測：血流中（血管内皮由来）NO計測と同時に血圧、血流速度を計測し、血管内皮機能の詳細かつ定量的な評価方法としての基礎的な検討を行った。

（2）血管機能への影響が考えられる病態における血管機能の変化の定量的評価：高脂肪食を摂取させた病態モデルにおける血管機能評価を試み、健常群と比較して、その差異を定量的に評価可能であるかどうかを検討した。

（3）血管機能の変化が推測されるその他の病態への応用：血管機能の低下が知られている慢性腎不全患者の治療として持続携帯型腹膜透析（CAPD）が知られているが、CAPDにおいて、NOは血管機能以外に腹膜の物質透過性調節や腹膜機能の保護効果も有していると推測されている。そこで、腹膜透析液中のNO量と腹膜機能との関連の評価も試みた。

3. 研究の方法

（1）血管内NO濃度のリアルタイム計測：麻酔下の実験モデル動物（イヌ）において、カテーテル型NOセンサによる血圧（観血式血圧計）・血流速度（ドップラー・ガイド・ワイヤー）との同時計測について検討した。内皮由来のNO産生を誘導する方法として、アセチルコリン（ACh；0.1, 0.4 μg/kg）を用いた。

（2）血管機能への影響が考えられる病態における血管機能の変化の定量的評価：健常群に対して、病態群のモデル動物の血管機能評価を試みた。高脂肪食（120 kcal/(kg・day)）を8ヶ月間与えたメタボリック症候群モデル動物（イヌ）において、ACh誘導性血管内皮由来NO産生能を測定した。

（3）血管機能の変化が推測されるその他の病態への応用：本システムの応用の対応として、糖尿病などが原因として発症する慢性腎不全患者の治療法としてQOLの面からも注目されているCAPD患者に注目した。CAPDにおいて、NOは一般的な血管機能への様々な生理

作用が考えられているのみならず、腹膜機能そのものの保護効果も推測されており、透析液中 NO 濃度の計測を試みた。

4. 研究成果

(1) 血流中でのリアルタイムな計測についての検討を行った結果、NO 濃度の安定した計測が可能であることが確認された。血圧・血流速度との同時計測が可能であり、時間応答、応答速度などの詳細なレベルから、血管機能の総合的な評価への組み込みまで、応用可能性であると考えられた。さらに血管リハビリテーションによって、血圧や血流に対して改善が見られた場合の血管機能の定量的な評価法となり得ると考えられた。

(2) コントロール群と比較して、メタボリック症候群のモデルは、インスリン抵抗性を示し、アセチルコリンによる血管内皮由来 NO 産生能は有意に低下していた。しかし、血流速度には有意な変化は見られなかった。従って、病態の初期段階、すなわち血管機能の低下が始まった段階においても本方法は、血管機能変化を鋭敏に検出できる可能性があることが示された。

(3) CAPD の使用済み透析液中に計測されるレベルの NO が存在することが明らかとなり、しかも患者毎に NO 濃度が異なり、その範囲も広範囲に及んでいたことから、恐らく治療期間や状態によって、変動し得るものと推測された。また、NO 合成の補酵素であり、NO 産生能調節の重要因子であるテトラヒドロビオプテリン (BH4) の透析液中量と NO 量との間に有意な正の相関が認められ、BH4 量の変動が何らかの影響を与えているものと示唆された。また、BH4 の酸化物である BH2 との比、すなわち BH4/BH2 と NO 量との間にも正の相関が求められ、酸化ストレスレベルの違いが、重要因子である可能性が示唆された。

以上のことから、本方法が血管機能の変動の初期段階で、機能変化を検出できたことから、血管機能の鋭敏な評価方法になり得る可能性が示され、血管リハビリテーション、あるいは血管機能保護を目指したプログラムの開発などにおいて、その効果の定量的な評価手段と成り得ると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Mochizuki S, Takayama A, Sasaki T, Yada T, Endo K, Horike H, Kashihara N, Ogasawara Y, Kajiya F: Clear correlation of tetrahydrobiopterin with nitric oxide bioavailability in

CAPD, Blood Purif, 査読有, 2010, 印刷中.

- ② 茅野功, 望月精一, 小笠原康夫: 中間周波磁界曝露によるラット小動脈血管径への影響評価, 生体医工学, 査読有, 47(6), 2009, 508-513.
- ③ Mochizuki S, Takayama A, Sasaki T, Horike H, Kashihara N, Ogasawara Y, Kajiya F, Kitawaki T, Oka H: Direct measurement of nitric oxide concentration in CAPD dialysate, Perit. Dial. Int., 査読有, 29(1), 2009, 111-114.
- ④ Kume T, Kawamoto T, Okura H, Neishi Y, Hashimoto K, Hayashida A, Watanabe N, Kanda Y, Mochizuki S, Goto M, Yoshida K: Evaluation of coronary endothelial function by catheter-type NO sensor in high-fat-diet-induced obese dogs, Circ J, 査読有, 73(3), 2009: 562-567.
- ⑤ Goto M, Mochizuki S: Plasma detection of NO by a catheter, Med Biol Eng Comput, 査読有, 46(5), 2008, 509-516.

[学会発表] (計 6 件)

- ① 茅野功: 小動脈血管に対する中間周波磁界曝露の影響評価, 日本生体医工学会・専門別研究会バイオメカニクス研究会・第 133 回研究会, 2009 年 12 月 25 日, 倉敷市.
- ② 望月精一, 高山綾, 矢田豊隆, 小笠原康夫, 梶谷文彦, 佐々木環: 腹膜透析と血液透析における生体組織由来一酸化窒素の動態解析, 第 41 回化学工学会秋季大会, 「在宅医療の化学工学」シンポジウム, 2009 年 9 月 16 日, 東広島市.
- ③ 望月精一, 小野淳一, 佐々木環, 高山綾, 矢田豊隆, 小笠原康夫, 梶谷文彦: 腹膜透析と血液透析の併用療法における NO と酸化ストレスの関与, 第 32 回日本バイオレオロジー学会年会, 2009 年 6 月 4 日, 桐生市.
- ④ 望月精一, 後藤真己, 高山綾, 矢田豊隆, 小笠原康夫, 梶谷文彦, 今西敏雄, 赤阪隆史, 佐々木環, 岡久雄: NO センサによる生体内 NO の計測, 第 47 回日本生体医工学会大会オーガナイズドセッション「血流と血管に関するトピックス 2008」, 2008 年 5 月 9 日, 神戸市.

⑤ Goto M, Mochizuki S, Ogasawara Y, Kajiya F: Physiological regulation of NO release in the cardiovascular system in vivo, International Symposium on Resistance Arteries, 2008年2月19日, オーストラリア・ハミルトン島.

⑥ Goto M, Mochizuki S, Ogasawara Y, Neishi Y, Kume T, Kawamoto T, Yoshida K: Evaluation of nitric oxide bioavailability in coronary vessels of the beating heart, International Symposium on Biological and Physiological Engineering/The 22nd SICE Symposium on Biological and Physiological Engineering, 2008年1月13日, 中華人民共和国・ハルビン市.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

2007～2008年度

後藤 真己 (GOTO MASAMI)

川崎医療福祉大学・医療技術学部・教授

研究者番号：50148699

2009年度

望月 精一 (MOCHIZUKI SEIICHI)

川崎医療福祉大学・医療技術学部・教授

研究者番号：60259596

(2) 研究分担者

2007～2008年度

望月 精一 (MOCHIZUKI SEIICHI)

川崎医療福祉大学・医療技術学部・教授

研究者番号：60259596

2007～2009年度

茅野 功 (KAYANO ISAO)

川崎医療福祉大学・医療技術学部・講師

研究者番号：70390242