

平成 21 年 5 月 14 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590801

研究課題名（和文） 低出力体外衝撃波治療による心筋虚血改善作用の分子機序の解明

研究課題名（英文） Molecular mechanisms for beneficial effects of low-energy shock wave therapy on myocardial ischemia

研究代表者

伊藤 健太（ITO KENTA）

東北大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50375086

研究成果の概要：

私達は、低出力の衝撃波を体外から虚血心筋に照射すると冠動脈の血管新生が効率よく誘導され心筋虚血が改善されることを報告している。本研究により、低出力衝撃波治療が、培養血管内皮細胞において各種血管増殖因子・サイトカインを増減させること、またブタ急性心筋梗塞モデルにおいて eNOS 発現を亢進させ梗塞境界領域の毛細血管数を増加することが分かった。本研究により、低出力の衝撃波治療が心筋虚血を改善する機序が明らかになりつつある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：心臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：血管新生、再生医療、虚血性心疾患

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会や糖尿病患者の増加に伴い、従来の治療法（薬物療法、冠動脈カテーテルインターベンション、冠動脈バイパス術）では十分な治療効果が得られないような重症の冠動脈病変を有する虚血性心疾患患者が増加してきている。このような症例では慢性の心筋虚血のため、心機能は低下し心拡大（心室リモデリング）が起こり、最終的には重症の心不全へと病態が進む。軽労作で息切れや胸痛などが出現するため生活の質(QOL)は著しく低下しており、また予後も極めて不良で

あることから、従来の治療法を越える新たな治療法の確立が望まれている。

2. 研究の目的

近年、心室リモデリング抑制と心機能改善を目指して、血管新生促進分子の遺伝子や骨髄単核球細胞・血管内皮前駆細胞などの未分化細胞の心臓への移植が試みられ、一部有効性が報告されている。しかし、これらの治療法では、直視下に遺伝子・細胞を虚血心筋に注入するため、臨床応用する際には、全身麻

酔と開胸手術が必要となり、侵襲性が高く繰り返し行うことは困難である。

体外衝撃波療法は、体内の結石（尿管結石、腎結石、胆石、唾石）破碎治療として広く普及しており保険適応にもなっている安全な治療法であるが、近年、整形外科領域において炎症性病変や骨折の治療にも応用され始めている。研究分担者の下川は、心筋虚血に対する非侵襲性の体外衝撃波療法を開発し、世界で初めて論文報告した（Nishida T, Shimokawa H, et al. *Circulation*. 110:3055-3061, 2004.）。すなわち、尿路結石破碎治療に用いられている出力の約10%の低出力の衝撃波を体外から虚血心筋に照射すると、冠動脈の血管新生が効率よく誘導され心筋虚血が著明に改善されることを、大型動物（ブタ）慢性虚血モデル、次いで重症狭心症患者で既に確認している。また治療に伴う副作用も認めなかった。我々は、東北大学医学部倫理委員会の承認を得て、重症狭心症患者を対象に臨床研究を行っている。

この体外衝撃波治療法は、心臓へ応用するにあたり、開胸手術や全身麻酔など侵襲性の処置を全く必要としない低侵襲性の治療法であることから、臨床応用が期待される有望な治療法である。しかし、その作用機序については、局所血液循環の改善が示唆されているものの詳細な作用機序は不明である。心臓病に対する低侵襲衝撃波治療法を広く普及させるためには、臨床研究のみならず、基礎研究による詳細な作用メカニズムの解明が不可欠と考えられる。低出力衝撃波治療による心筋虚血の改善には、血管内皮に対する急性・慢性効果に加えて、血管平滑筋や心筋に対する効果も考えられる。

本研究では、上記の背景を基に、低出力体外衝撃波治療による心筋虚血改善作用の分子機序の解明を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 培養細胞を用いた in vitro 実験系

培養ヒト培養血管内皮細胞、培養ヒト血管平滑筋細胞、培養ラット心筋細胞をそれぞれ、特殊なチューブ内で24時間培養した後に、チューブを水槽内に入れて衝撃波（0.09 mJ/mm², 500発）を照射する。衝撃波照射6時間後または24時間後にmRNAを抽出してPCRを行い、衝撃波治療が各種の血管新生促進因子の発現に与える効果を評価する。

(2) 大型動物を用いた in vivo 実験系

①ブタ急性心筋梗塞モデルの作成：ブタの左冠動脈前下行枝を経カテーテル的にバルーンで90分間閉塞した後に再灌流することにより、急性心筋梗塞を作成する。

②衝撃波治療：治療群では、再灌流3時間後、

2日後、4日後の3日間、低出力衝撃波（0.09 mJ/mm²）を梗塞境界領域の9カ所に1カ所あたり200発照射する。対照群では、衝撃波照射以外の操作を同様に行う。

③評価：急性期評価群は虚血再灌流5日目に、慢性期評価群は28日目に、心臓カテーテル検査・エコー検査などで心機能を評価した上で、安楽死させ心組織を保存する。

4. 研究成果

(1) 培養細胞を用いた in vitro 実験系

培養ヒト血管内皮細胞(HUVEC)に衝撃波照射した6時間後と24時間後にmRNAを抽出してPCR arrayを施行した結果、VEGFをはじめとした血管増殖因子やサイトカイン、組織の線維化に関与するMMP/TIMPなど多彩な分子の発現が経時的に増減していることが分かった（図1）。これらの各因子について、RT-PCRおよびWestern blotを行い、その意義について検討を進めている。

血管平滑筋細胞・心筋細胞に対する効果については、培養条件や衝撃波照射条件の検討を行った。

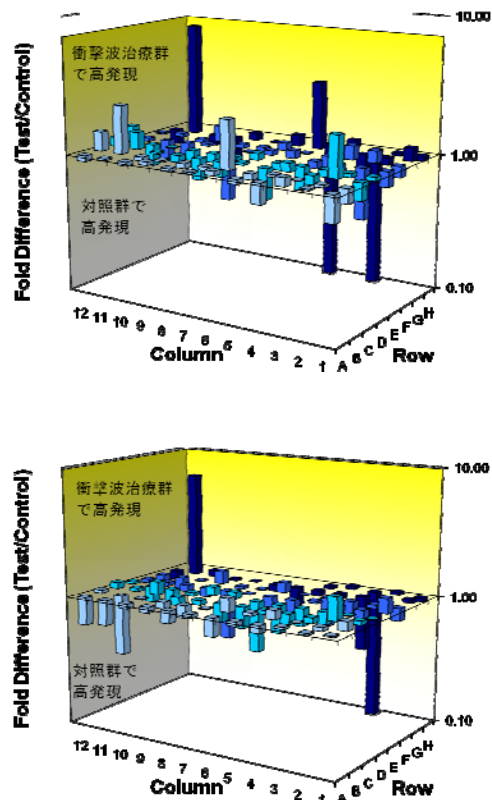


図1. PCR arrayの結果：（上段）衝撃波照射6時間後、（下段）衝撃波照射24時間後。

(2) 大型動物を用いた in vivo 実験系
 ブタ急性心筋梗塞（虚血再灌流モデル）に
 おいて、梗塞作成3時間後に低出力体外衝撃
 波治療を開始し隔日で3回治療を行った。

① 急性期評価群

心筋組織中の eNOS 活性は、衝撃波治療群
 において亢進していた（図2）。

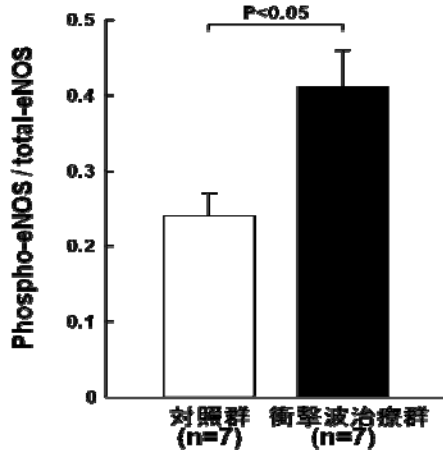


図2. eNOS の活性。

② 慢性期評価群

心臓カテーテル検査・エコー検査の結果、
 対照群に比して、衝撃波治療群において慢性
 期の左室リモデリングが軽減されていた
 （左室拡張末期容積 131±9 vs 100±7 ml,
 P<0.05; 左室駆出率 28±2 vs 36±3 %,
 P<0.05）。

また衝撃波治療群において、梗塞境界領域
 の毛細血管数の増加を認めた（図3）。

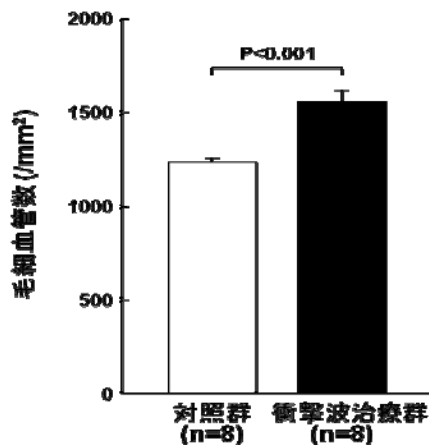


図3. 梗塞境界領域における毛細血管数。

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4件）

- ① 伊藤健太、下川宏明. 現代医学の焦点：
 衝撃波による狭心症治療. *日本臨床* 66:
 2019-2026, 2008. 査読 無.
- ② 伊藤健太、下川宏明. 低出力体外衝撃波
 を用いた血管新生療法. *Vascular
 Medicine* 4: 189-191, 2008. 査読 無.
- ③ Shimokawa H, Ito K, Fukumoto Y, Yasuda
 S. Extracorporeal cardiac shock wave
 therapy for ischemic heart disease.
Shock Waves 8:449-455, 2008. 査読 有.
- ④ Oi K, Fukumoto Y, Ito K, Uwatoku T, Abe
 K, Hizume T, Shimokawa H.
 Extracorporeal shock wave therapy
 ameliorates hindlimb ischemia in
 rabbits. *Tohoku J Exp Med.* 214:151-158,
 2008. 査読 有.

〔学会発表〕（計5件）

- ① Ito Y, Ito K, Shiroto T, Tsuburaya R,
Gao JY, Kikuchi Y, Aizawa K, Takeda M,
Yasuda H, Shimokawa H. Extracorporeal
 cardiac shock wave therapy ameliorates
 left ventricular remodeling after
 myocardial ischemia-reperfusion
 injury in pigs in vivo. **第73回日本循
 環器学会学術集会**（2009年3月21日,
 大阪）.
- ② 伊藤愛剛、伊藤健太、白戸 崇、円谷隆
 治、高 軍毅、武田守彦、福本義弘、安
 田 聡、下川宏明. ブタ心筋虚血再灌流
 傷害後の左室リモデリングに対する体外
 衝撃波治療の抑制効果. **第147回日本循
 環器学会東北地方会**（2009年2月14日,
 仙台）. **YIA最優秀賞受賞**.
- ③ Ito Y, Ito K, Shiroto T, Tsuburaya R,
Gao J, Kikuchi Y, Aizawa K, Takeda M,
Yasuda S, Shimokawa H. Extracorporeal
 cardiac shock wave therapy ameliorates
 left ventricular remodeling after
 myocardial ischemia-reperfusion
 injury in pigs. **American Heart
 Association Scientific Session 2008**.
 （2008年11月9日, 米国ニューオーリン
 ズ）.
- ④ 伊藤健太、福本義弘、安田 聡、下川宏
 明. 低出力体外衝撃波を用いた非侵襲性
 血管新生療法の開発. **第56回日本心臓病
 学会学術集会 シンポジウム「心血管再生
 医療の現状と展望」**.（2008年9月10日,
 東京）.
- ⑤ Ito Y, Ito K, Shiroto T, Tsuburaya R,
Gao JY, Yasuda H, Shimokawa H.

Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates left ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs in vivo. **The European Society of Cardiology Congress 2008.** (2008年8月31日, ドイツ ミュンヘン).

[その他] (計1件)

- ① 体外衝撃波治療のホームページ
<http://www.cardio.med.tohoku.ac.jp/shockwave/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 健太 (ITO KENTA)
東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：50375086

(2) 研究分担者

下川 宏明 (SHIMOKAWA HIROAKI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：00235681

(3) 連携研究者

なし