

様式 C-19

科学研究費助成事業(科学研究費補助金)研究成果報告書

平成 24年 5月 11日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590898

研究課題名(和文) 動脈硬化評価のための血管機能総合診断システムの構築

研究課題名(英文) Development of Diagnostic System of Vascular Function for Assessment of Atherosclerosis

研究代表者

東 幸仁(HIGASHI YUKIHITO)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授

研究者番号：40346490

研究成果の概要(和文)：

血管超音波やプレチスモグラフィを用いた血管内皮機能、脈波伝播速度や上肢下肢血圧比測定による血管弾性、バイオマーカー、遺伝子診断のデータベース化を実施した。新たなコンセプトを用いた簡便で低侵襲な血管内機能測定装置を開発した。本研究課題で蓄積した血管内皮機能、血管弾性、バイオマーカー、遺伝子診断のデータベースを基に、血管機能を総合的に診断するシステムのための基本ソフトを開発中である。

研究成果の概要(英文)：

We built a database for assessment of grade of atherosclerosis using measurement of endothelial function, including vascular ultrasound and plethysmography, measurement of arterial stiffness, including pulse-wave velocity and ankle-brachial pressure index, measurement of chemical biomarkers, and analysis of gene. In addition, we developed a new device for assessment of endothelial function. We are developing the analytic system software for diagnosis of grade of atherosclerosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

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：血管内皮機能、血管弾性、バイオマーカー、動脈硬化、血管状態測定装置

1. 研究開始当初の背景

高血圧、高脂血症、糖尿病といった生活習慣病あるいは喫煙、加齢、肥満といった危険因子、さらにはこれらが重なり合ったメタボリック症候群においては、血管機能が低下している。血管(特に血管内皮機能)異常を機転として動脈硬化を発症、進展し、最終段階として心筋梗塞、脳梗塞、突然死

に至る。実際、我が国においては、これらの疾患が近年増加の一途を辿っている。また、多くのインターベンションが血管機能異常を改善することが知られている。血管機能障害を改善することは将来的に心、脳血管障害発症を抑制し、生命予後を改善する可能性があり、臨床的意義深い。従って、早期に血管機能に介入して、最終段階の心

血管合併症を予防することが重要である。血管機能は動脈硬化の治療ターゲットとしてあるいは心血管イベント発症のサロゲートエンドポイントとしての可能性も大いに期待できる。さらに、平成 20 年 4 月よりメタボリック症候群への対策を企業、健保組合に義務付ける法令が施行され、これにより血管機能測定の重要性もさらに高まると考えられる。研究代表者らはライフワークとして血管内皮機能の評価法を確立し、血管内皮機能、血管弾性やバイオマーカー測定の意義を動脈硬化発症・維持・進展において明らかにしてきた (N Engl J Med. 2002, Circulation. 1999, 2000, 研究業績参照)。従来の血管機能測定は、1 装置につき 1 つの指標を測定するといった断片的なものであり、より正確な血管機能診断には、多数の診断装置による測定の体系化が必要である。合わせて、血管機能診断のための遺伝子診断や新たなバイオマーカーを組み合わせてより特異的な血管機能診断が可能になる。さらに、新規の有効な血管機能測定装置の開発が待たれている。血管機能測定を 1) 再現性がある、2) 普遍性が担保される、3) 機序を説明可能であることを条件に検査として確立することは重要な責務である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、動脈硬化評価のために施行されている一般検査、血管内皮機能検査、血管弾性検査、遺伝子診断や各種バイオマーカーの測定を体系化して血管機能を総合的に診断するためのシステムを構築することである。合わせて、新たな血管機能測定装置や解析ソフトの開発、新規バイオマーカーの有用性についても検討する。動脈硬化を反映する種々の測定結果の関連性を明らかにすることより、動脈硬化進展メカニズムが解明される可能性がある。血管病変発症前のマーカーが検出できれば、予防医学につながることを期待できる。

3. 研究の方法

I. 後ろ向き検討

対象研究集団は、1994 年から 2008 年度に広島大学病院を受診して、各種血管機能検査を受けた受診者 (約 2000 例) とする。いずれの受診者も、プレチスモグラフ、血管超音波、脈派伝達速度、遺伝子診断、バイオマーカー測定の全て、あるいは複数の検査を受けている。受診者のデータは、各種測定結果や質問表の郵送あるいは直接の聞

き取りによる主要アウトカム (心筋梗塞、狭心症、脳梗塞) を含めて多面的な解析を行う。データベースの管理は外部との接続のない専用のコンピューターによって研究代表者東と研究分担者木原が行う。平成 21 年度中に解析を終了する。

II. 前向き検討のための対象登録および血管機能測定

III. 血管機能測定システムの開発

新規血管機能測定装置ならびに解析ソフトの開発

研究代表者ならびに分担研究者は新規の血管機能測定装置の原型となる血管状態測定装置、制御プログラム、記録媒体を開発しており、新たなコンセプトを加えて新規の血管機能測定装置 (血管壁インピーダンスを測定する血管粘弾性測定装置や反応性充血による血流量変化や血管径変化を同時測定できるレーザー血流計) を開発する。後ろ向き検討による各種測定項目の正常値設定、疾患ごとの検査値比較、動脈硬化重症度との関連、測定項目の相互関係等を詳細に解析する。これらの解析を基に、血管機能診断のための基本ソフトを作製する。これらを統合して血管機能診断システムの開発を行う。血管機能解析ソフトおよび血管機能診断システムに関しては、既存の測定装置にも対応できるものとする。

4. 研究成果

広島大学で、各種血管機能検査を受けた受診者 (2980 例) の血管超音波やプレチスモグラフィを用いた血管内皮機能、脈波伝播速度や ABPI 測定による血管弾性、バイオマーカー、遺伝子診断のデータベース化を行った。データベース化の過程で、末梢血管疾患患者における血管内皮機能と新規バイオマーカーとしての血管内皮前駆細胞数・機能との関連 (Hypertension)、歯周病が冠動脈硬化の血管内皮機能に与える影響 (Atherosclerosis)、喫煙とプレコンディショニングの関連 (Hypertension)、低 HDL コレステロール血症が単独で血管機能の危険因子となり得ること (Am J Physiol)、重症下肢虚血における血管再生とバイオマーカーの関連 (JCVP)、新規バイオマーカーである Rho kinase 活性が喫煙者で亢進していること (Hypertens Res)、血清 P 濃度と血管内皮機能の関連 (J Am Soc Nephrol)、低 HDL コレステロール血症が単独で血管機能の危険因子となり得ること (Am J Physiol)、血清尿酸値が血管内皮機能の障害因子であること (Am J Hypertens)、Buerger 病患者に認められるコークスクリュー型側副血行路の内皮機能が保たれていること (J Vas

Surg)、新規バイオマーカーであるRho kinase 活性が高血圧患者で亢進していること (Clin Pharmacol & Therapeut) や動脈硬化進展への役割(Arterioscler Thromb Vasc Biol)、重症下肢虚血における血管再生とバイオマーカーの関連 (JCVP) や血管再生後の予後規定因子としての血管内皮前駆細胞の役割 (Circulation: Cardiovasc Inter)、新規バイオマーカーであるRho kinase活性が喫煙者で亢進していること (Hypertens Res) や動脈硬化進展への役割 (J Hypertens, Atherosclerosis)、各種酸化ストレスマーカーと動脈硬化の関連 (Circ J, EOP, Atherosclerosis) 等の動脈硬化と血管機能、各種バイオマーカーとの関連を見いだした。さらに、マクロファージのキサンチンオキシダーゼが動脈硬化進展にはたす役割 (Arterioscler Thromb Vasc Biol)、ゲラニルゲラニルアセトンによるHsp90/AMPK/eNOS/NO pathway活性化機構を解明した (Arterioscler Thromb Vasc Biol)。

さらに、薬剤介入や前向き観察研究を行うための対象者の登録および血管機能検査を実施した。合わせて、新たなコンセプトを用いた簡便で低侵襲な血管内機能測定装置の開発に取り組んだ (特願2010-212533)。かかる新規装置を用いて、既存の血管内皮測定装置との整合性や他の動脈硬化評価法との比較検討を行って、データの蓄積を行った。

既存あるいは新規装置を用いた解析を基に、血管機能診断のための基本ソフト開発に取りかかった。血管機能検査の体系化により血管機能を総合的に診断するためのシステムが構築できることが期待される。

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32件 全て査読あり)

1. Fujimura N, Jitsuiki D, Goto C, Soga J, Hidaka T, Umemura T, Nishioka K, Oshima T, Chayama K, Higashi Y. Geranylgeranylacetone, Hsp90/AMPK/eNOS/NO pathway, and endothelial function in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 153-160.
2. Kushiya A, Zhang J, Sakoda H, Kikuchi T, Fujishiro M, Sato H, Kushiya S, Iwashita M, Nishimura F, Fukushima T, Nakatsu Y, Kamata, H, Kikuchi M, Kawazu S, Higashi Y, Kurihara, H, Asano T. Xanthine oxidoreductase is involved in macrophage foam cell formation and atherosclerosis development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 291-298.
3. Suzuki T, Tomiyama H, Higashi Y. Vascular dysfunction even after 20 years in children exposed to passive smoking: alarming results and need for awareness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 841-842.
4. Fujimura N, Hata T, Soga J, Hidaka T, Idei N, Fujii Y, Mikami S, Maruhashi T, Iwamoto Y, Kihara Y, Chayama K, Kato H, Noma K, Liao JK, Higashi Y. Selective mineralocorticoid receptor blocker eplerenone improves endothelial function and inhibits Rho-associated kinase activity in patients with essential hypertension. *Clin Pharmacol & Therapeut.* 2012; 91: 289-297.
5. Tomiyama H, Kohro T, Higashi Y, Takase B, Suzuki T, Ishizu T, Ueda S, Yamazaki T, Furumoto T, Kario K, Inoue T, Koba S, Watanabe K, Takemoto Y, Hano T, Sata M, Ishibashi Y, Node K, Maemura K, Ohya Y, Furukawa T, Ito H, Yamashina A. A study design of multi-center study to evaluate the clinical usefulness of semi-automatic measurement of flow-mediated vasodilatation of the brachial artery in Japan (FMD-J study). *Int Heart J.* 2012; (in press).
6. Ohtsubo S, Ishikawa M, Kamei N, Kijima Y, Suzuki O, Sunagawa T, Higashi Y, Masuda H, Asahara T, Ochi M. The therapeutic potential of ex vivo expanded CD133+ cells derived from human peripheral blood for peripheral nerve injuries. *J Neurosurg.* 2012; (in press).
7. Higashi Y, Noma K. Endothelial function and hypertension in aging (review). *Hypertens Res.* 2012; (in press).
8. Noma K, Kihara Y, Higashi Y. Strings of ROCK activity and endothelial function (review). *J Cardiol.* 2012; (in press).
9. Idei N, Nishioka K, Soga J, Hidaka T, Hata T, Fujii Y, Fujimura N, Maruhashi T, Mikami S, Teragawa H, Kihara Y, Noma K, Chayama K, Higashi Y. Vascular function and circulating progenitor cell in thromboangiitis obliterans (Buerger

- disease) and atherosclerosis obliterans. *Hypertension*. 2011; 57: 70-78.
10. Idei N, Chowdhury M, Soga J, Hata T, Fujii Y, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Nishioka K, Hidaka T, Kihara Y, Noma K, Taguchi A, Chayama K, Sueda T, Higashi Y. Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation reduces long-term major amputation risk in patients with critical limb ischemia: a comparison of atherosclerotic peripheral arterial disease and Buerger disease. *Circulation: Cardiovascular Intervention*. 2011; 4: 15-25.
 11. Idei N, Chowdhury M, Soga J, Hata T, Fujii Y, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Nishioka K, Hidaka T, Kihara Y, Noma K, Taguchi A, Chayama K, Sueda T, Higashi Y. Response to Letter Regarding Article, Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation reduces long-term major amputation risk in patients with critical limb ischemia: a comparison of atherosclerotic peripheral arterial disease and Buerger disease. *Circulation: Cardiovascular Intervention*. 2011; 4: e13.
 12. Hata T, Soga J, Hidaka T, Idei N, Fujii Y, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Kihara Y, Chayama K, Kato H, Noma K, Liao JK, Higashi Y. Calcium channel blocker and rho-associated kinase activity in patients with hypertension. *J Hypertens*. 2011; 29: 373-379.
 13. Hata T, Soga J, Hidaka T, Idei N, Fujii Y, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Liao JK, Higashi Y. Measurement of Rho-associated kinase (ROCK) activity in humans: a comparison of leukocyte p-MBS/t-MBS and forearm blood flow response to fasudil. *Atherosclerosis*. 2011; 241: 117-121.
 14. Soga J, Hata T, Hidaka T, Fujii Y, Idei N, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Kihara Y, Chayama K, Kato H, Noma K, Liao JK, Higashi Y. Rho-associated kinase (ROCK) activity, endothelial function and cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 2353-2359.
 15. Fujii Y, Soga J, Hidaka T, Hata T, Idei N, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Noma K, Kihara Y, Higashi Y. Color Doppler flows of corkscrew collaterals in thromboangiitis obliterans (Buerger disease) using color duplex ultrasonography. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 57: 2539.
 16. Fujii Y, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Higashi Y. Flow-mediated vasodilation is augmented in corkscrew collateral artery compared with that in a native artery in patients with thromboangiitis obliterans (Buerger disease). *J Vas Surg*. 2011; 54: 1689-1697.
 17. Higashi Y. Is cell therapy promising or lost in translation in patients with acute myocardial infarction? *Circ J*. 2011; 75: 546-547.
 18. Tomiyama H, Higashi Y, Takase B, Node K, Sata M, Inoue T, Ishibashi Y, Ueda S, Yamashina A. Relationship among hyperuricemia, metabolic syndrome, and endothelial dysfunction. *Am J Hypertens*. 2011; 24: 770-774.
 19. Higashi Y, Miyazaki M, Goto C, Sanada H, Chayama K, Sueda T. Sarpogrelate, a selective 5-HT_{2A} antagonist, augments autologous bone-marrow mononuclear cell implantation-induced improvement in endothelium-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2010; 55: 56-61.
 20. Hidaka T, Hata T, Soga J, Nakamura S, Fujii Y, Idei N, Fujimura N, Nishioka K, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Liao JK, Higashi Y. Increased leukocyte Rho kinase (ROCK) and endothelial dysfunction in cigarette smokers. *Hypertens Res*. 2010; 33: 354-359.
 21. Hidaka T, Nakagawa K, Goto C, Soga J, Fujii Y, Hata T, Idei N, Fujimura N, Chayama K, Kihara Y, Higashi Y. Pioglitazone improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensive patients with impaired glucose tolerance through a decrease in oxidative stress. *Atherosclerosis*. 2010; 210: 521-524.
 22. Higashi Y, Matsuoka H, Umei H, Sugano R, Soga J, Fujii Y, Chayama K, Kihara Y, Imaizumi T. Endothelial function in subjects with isolated low HDL cholesterol: role of nitric oxide and circulating progenitor cells. *Am J*

- Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 298: E202-209.
23. Fujii Y, Nishioka K, Nakamura S, Hidaka T, Soga J, Hata T, Idei N, Fujimura N, Chayama K, Kihara Y, Higashi Y. Classification of corkscrew collaterals in thromboangiitis obliterans (Buerger's disease): relationship between corkscrew type and prevalence of ischemic ulcers. *Circ J.* 2010; 74: 1684-1688.
24. Morishita R, Komuro I, Horiuchi M, Nakagami H, Minamino T, Higashi Y. Anti-Aging Medicine in Cardiovascular Disease (review). *Anti-Aging Medicine.* 2010; 7: 45-49.
25. Teragawa H, Mitsuba N, Nishioka K, Ueda K, Kono S, Higashi Y, Chayama K, Kihara Y. Impaired coronary microvascular endothelial function in men with metabolic syndrome. *World J Cardiol.* 2010; 2: 205-210.
26. Shinagawa K, Kitadai Y, Tanaka M, Sumida T, Kodama M, Higashi Y, Tanaka S, Yasui W, Chayama K. Mesenchymal stem cells enhance growth and metastasis of colon cancer. *Int J Cancer.* 2010; 127: 2323-2333.
27. Higashi Y, Fujita M, Origasa H, Naritomi H, Matsuo H, Miyata T, Shigematsu H, on the behalf of the SEASON investigators. Study design of SEASON registry: prospective Surveillance of vascular Events in antiplatelet-treated ArterioSclerosis Obliterans patients in JapaN (SEASON). *Int Heart J.* 2010; 51: 337-342.
28. Nakamura S, Kimura M, Goto C, Kensuke N, Yoshizumi M, Chayama K, Kihara Y, Higashi Y. Cigarette smoking abolished ischemic preconditioning-induced augmentation of endothelium-dependent vasodilation. *Hypertension.* 2009; 53: 674-681.
29. Higashi Y. Edaravone for Extending the therapeutic time window and rescue of ischemic penumbra in acute cerebral infarction: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress (review). *Expert Opin Pharmacol.* 2009; 10: 323-331.
30. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. Oxidative stress and endothelial function in cardiovascular diseases (review). *Circ J.* 2009; 73: 411-418.
31. Shuto E, Taketani Y, Tanaka R, Harada N, Isshiki M, Sato M, Nashiki K, Amo K, Yamamoto H, Higashi Y, Nakaya N, Takeda E. Dietary Phosphorus Acutely Impairs Endothelial Function. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20: 1504-1512.
32. Higashi Y, Goto C, Hidaka T, Soga J, Nakamura S, Fujii Y, Hata T, Idei N, Fujimura N, Chayama K, Kihara Y, Taguchi A. Oral infection-inflammatory pathway, periodontitis, is a risk factor for endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2009; 206: 604-610.
- [学会発表] (計89件 海外18件、国内71件)
1. Yukihito Higashi. Assessment for Endothelial Function: Flow-mediated vasodilation (FMD). 第76回日本循環器学会総会 福岡 2012年3月17日
 2. 東 幸仁. 「血管内皮機能を捉える」第11回動脈硬化学会教育フォーラム 東京 2011年2月6日
 3. Yukihito Higashi. How to Measure Endothelial Function in Patients with Hypertension: from Plethysmography, FMD, and Biomarkers to a New Device. 第75回日本循環器学会総会 横浜 2011年3月19日
 4. 東 幸仁. 「FMD測定とNADPH oxidase欠損症患者からの教訓」第11回日本NO学会 東京 2011年5月14日
 5. 東 幸仁. 「心臓が動脈・血管に与える影響 (FMD): 心不全とFMD」第84回日本超音波学会 東京 2011年5月28日
 6. 東 幸仁. 「内皮機能評価: その実際と意義」第59回日本心臓病学会 神戸 2011年9月23日
 7. 東 幸仁. 「歯周病と血管内皮機能」第54回日本歯周病学会 下関 2011年9月24日
 8. Shinsuke Mikami, Yukihito Higashi, Yuichi Fujii, Naomi Idei, Noritaka Fujimura, Takayuki Hidaka, Tatsuya Maruhashi, Yumiko Iwamoto, Yasuki Kihara. Rho-Associated Kinase (ROCK) Activity and Left Ventricular Hypertrophy in Patients with Essential Hypertension. 80th Scientific Sessions, American Heart

- Association, November 14, 2011.
Orlando, FA. USA.
9. Noritaka Fujimura, Yukihito Higashi, Yumiko Iwamoto, Tatsuya Maruhashi, Shinsuke Mikami, Naomi Idei, Takayuki Hidaka, Kensuke Noma, James K Liao, Yasuki Kihara. Effects of Selective Mineralocorticoid Receptor Blocker Eplerenone on Endothelial Function and the Activity of Rho-Associated Kinase in Patients with Essential Hypertension. 80th Scientific Sessions, American Heart Association, November 13, 2011. Orlando, FA. USA.
 10. Yukihito Higashi. Oxidative Stress and NO in Cardiovascular Disease. The 10th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, June 17, 2010. Kyoto, Japan.
 11. Yukihito Higashi. Role of Endothelial Function in Atherosclerosis. The 18th Annual Meeting of the Japanese Vascular Biology and Medicine Organization, The 8th Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology, December 3, 2010. Osaka, Japan
 12. Yukihito Higashi. Therapeutic Strategy for Peripheral Arterial Disease: Pharmacological Therapy and Angiogenesis -Roles of serotonin and nitric oxide- 10th International Symposium on Mechanisms on Vasodilation, June 1, 2009. Matsushima, Japan.
 13. Yukihito Higashi, Junko Soga, Noritaka Fujimura, Masao Kobayashi. Endothelial Function and Oxidative Stress in X-Linked, gp91phox Deficiency, Chronic Granulomatous Disease. 79th Scientific Sessions, American Heart Association, November 14, 2010. Chicago, IL. USA.

〔産業財産権〕

○出願状況（計3件）

名称：PGC-1 の発現制御装置、並びに虚血性疾患の治療装置及び治療方法
 発明者：東 幸仁、久保 裕嗣、隅田 潔、西村 嘉博、新実 信夫
 権利者：国立大学法人広島大学、日本シグマックス株式会社
 種類：特許

番号：PCT/JP2009/006025
 出願年月日：2009年11月11日
 国内外の別：国際特許

名称：血管壁モニタリング装置、血管壁モニタリング用プログラム及びコンピュータ読み込み可能な記録媒体
 発明者：辻 敏夫、吉栖 正雄、河本 昌志、東 幸仁、佐伯 昇、中村 隆治、アブドゲニク トュルク、河野 曜暢、堀内 徹也、鶴川 貞二
 権利者：日本光電株式会社、国立大学法人広島大学
 種類：特許
 番号：09P10448
 出願年月日：2009年11月26日
 国内外の別：国際特許分類：A61B 5/02

名称：血管内皮機能評価装置
 発明者：辻 敏夫、吉栖 正雄、東 幸仁、河本 昌志、小沢 秀夫、鶴川 貞二、高柳 恒夫、森本 陽香、久保 諒祐
 権利者：日本光電株式会社、国立大学法人広島大学
 種類：特許
 番号：P10636NK
 出願年月日：2011年12月19日
 国内外の別：国際特許分類：A61B 5/0205

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東 幸仁 (HIGASHI YUKIHITO)
 広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授
 研究者番号：40346490

(2) 研究分担者

木原 康樹 (KIHARSA YASUKI)
 広島大学・医歯薬学総合研究科・教授
 研究者番号：40214853

辻 敏夫 (TSUJI TOSHIO)
 広島大学・工学研究院・教授
 研究者番号：90179995

(3) 連携研究者

()

研究者番号：