

令和 7 年 5 月 29 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K08922

研究課題名（和文）大伏在静脈グラフトに長期開存をもたらす、周囲脂肪組織の血管保護作用に関する研究

研究課題名（英文）Study of perivascular adipose tissue in saphenous vein graft

研究代表者

美甘 章仁（MIKAMO, Akihito）

山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：30372709

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：血管周囲組織を剥離した伏在静脈グラフトと血管周囲組織を残した伏在静脈グラフトのNOx産生を解析したところ、血管周囲組織を剥離した伏在静脈グラフトはアセチルコリンを添加して培養してもNOx産生は上昇しなかったが、血管周囲組織を残した伏在静脈グラフトは、アセチルコリンを添加して培養すると、NOx産生が上昇した。また、血管周囲組織を剥離した伏在静脈グラフトと血管周囲組織を共存下で、アセチルコリンを添加して培養すると、NOx産生が上昇した。NOSが関与する代謝経路の一つであるASS1を解析すると、血管周囲組織においてASS1のタンパク発現レベルは高く、ASS1の阻害はNOx産生を抑制する結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

冠動脈バイパス術は虚血性心疾患に対する標準治療法の一つである。冠動脈バイパス術で使用されるグラフトは内胸動脈グラフトであり、次に頻用される伏在静脈グラフトSVG（saphenous vein graft）は動脈グラフトである。近年、血管周囲組織を剥離した従来のSVGではなく、血管周囲組織を維持したSVG（NT-SVG：no-touch technique）は、動脈グラフトと同様のレベルまで長期開存率が改善することが報告されている。その機序を解明するために、本研究は、SVGにおける血管周囲組織は、NO産生を上昇させることに重要な役割があることを解明し、NT-SVGの有用性を裏付けるものである。

研究成果の概要（英文）：Although CV-SVG (conventional preparation saphenous vein graft without perivascular adipose tissue) did not respond to acetylcholine, NT-SVG (no-touch technique saphenous vein graft with perivascular adipose tissue increased NOx in the presence of acetylcholine. CV-SVG increased NOx in the presence of PVAT and acetylcholine. ASS1 protein level was the highest in PVAT compared to CV-SVG and internal thoracic artery (ITA). Inhibitor of ASS1 suppressed NOx production in NT-SVG.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：大伏在静脈グラフト

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会である本邦において慢性心不全の増加は喫緊の課題である。原疾患として虚血性心疾患の割合が増加し、約半数となる。CABG (Coronary Artery Bypass Grafting: 冠動脈バイパス術) は PCI (Percutaneous Coronary Intervention: 経皮的冠動脈形成術) と並ぶ虚血性心疾患に対する標準治療法であり、その技術的革新は極めて重要である。

ITA (internal thoracic artery: 内胸動脈) グラフトに次いで適したグラフト血管は未だ定まっておらず、頻用される伏在静脈グラフト (saphenous vein graft: SVG) は動脈グラフトと比較して長期開存率が劣るとされた。要因として、高い動脈圧に晒されて動脈硬化を来す可能性、従来の採取法 CV 法: 「SVG の周囲組織を剥離した CV (conventional preparation)」の用手的圧拡張が内皮細胞を障害する可能性、血管周囲組織の剥奪が動脈硬化を悪化させる可能性などが指摘されていた。その状況で近年、用手的圧拡張を省略して血管周囲組織 perivascular adipose tissue: PVAT) を残す採取法 NT 法 (no-touch technique) により、SVG の動脈硬化が抑制され、動脈グラフトと同様のレベルまで長期開存率が改善することが報告された。

この要因の解明にあたり、CV 法と NT 法を比較した検証は未だ乏しく、不明な点が多い。NT 法による動脈硬化の抑制機序を解明できれば、それを標的とした介入が可能となり、CABG のみならず血管疾患全般のグラフト採取法に技術的革新をもたらす可能性がある。

NT 法により SVG の長期開存率が改善するのは何故なのか? 一般的に動脈硬化の抑制において内皮細胞が果たす役割は大きい。CV 法と NT 法を比較して内皮細胞の形態や機能に差があるのか? 内皮以外の要因に差があるのか? が端緒の疑問となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、NT 法により SVG の動脈硬化が抑制されて長期開存率が改善する、分子機構を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) NO の測定

伏在静脈 (saphenous vein: SV) は、4mm で切断され、リング形態とされた。そのリングを、24-well plate の 1 ウェルに、リグンを 1 つ入れた。この時、1 ウェルには、抗生物質を添加した IMDM 培地を 0.7mL 入れて 24 時間培養した。また、培地には、アセチルコリン (acetylcholine: Ach) (10^{-6} M)、L-NAME (L arginine methyl ester hydrochloride) (10^{-4} M)、MDLA (methyl DL aspartic acid) (10^{-3} M) を添加して培養した。培養液中の NOx は、QuantiChrom Nitric Oxide Assay Kit (BioAssay Systems) で測定された。

(2) ウェスタンブロッティング

CV 法で採取した伏在静脈、血管周囲組織 PVAT、内胸動脈 ITA からタンパク質が抽出された。1 次抗体として、抗 ASS1 抗体 (#70720, Cell Signaling Technology)、抗 eNOS 抗体 (#sc-376751 Santa Cruz Biotechnology)、Adipogenesis Marker Antibody Sampler Kit (#12589T, Cell Signaling Technology)、抗 GAPDH 抗体 (#5174, Cell Signaling Technology) が使用された。2 次抗体として anti-rabbit IgG HRP-linked antibody (#7074, Cell Signaling Technology)、anti-mouse IgG HRP-linked antibody (#7076 Cell Signaling Technology) が使用された。

4. 研究成果

(1) 伏在静脈リングのアセチルコリンに対する NOx 産生

CV 法と NT 法で採取した SV における NO 産生を解析するために、4mm サイズのリングにされた伏在静脈を、アセチルコリンの有無、そして、NOS 阻害剤である L-NAME の添加条件下で、24 時間培養後の、培養液中に含まれている NOx が測定された。

CV 法で採取した伏在静脈のリングでは、アセチルコリンを添加して培養した NOx の値は、アセチルコリンを添加していない時と同じ水準であった。NT 法で採取した伏在静脈のリングでは、アセチルコリンを添加して培養した NOx の値は、アセチルコリンを添加していない時と比較して、値が上昇し、そして、NOS 阻害剤である L-NAME を添加することで、アセチルコリン添加による NOx の産生が打ち消される結果であった (図 1)。

(2) 血管周囲組織 PVAT の有無による伏在静脈リングのアセチルコリンに対する NOx 産生

血管周囲組織 PVAT による NO 産生の関与を解析するために、CV 法で採取した伏在静脈のリングと血管周囲組織 PVAT の共存下にアセチルコリンの有無で培養した。CV 法で採取した伏在静脈

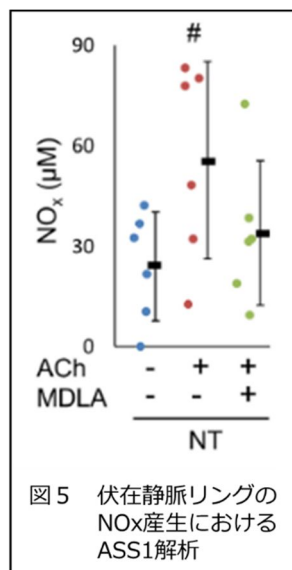
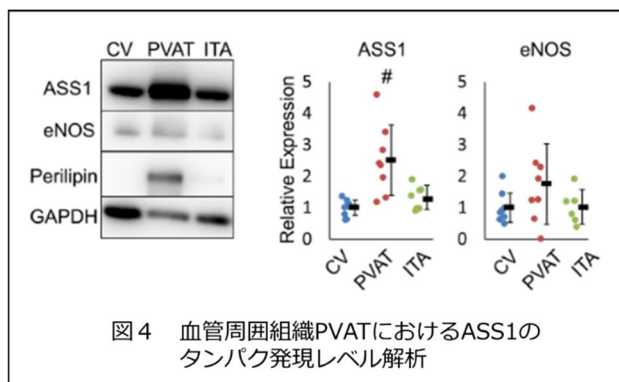
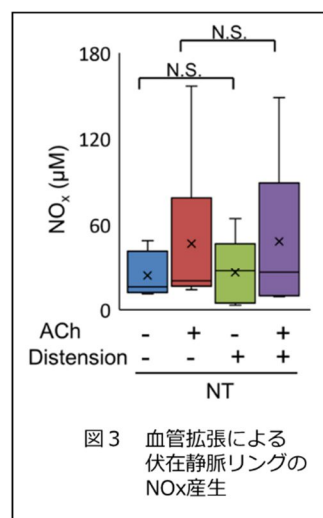
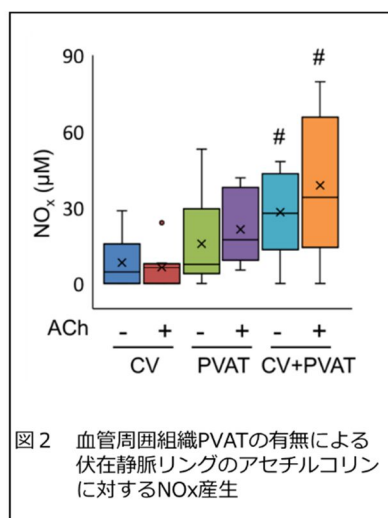
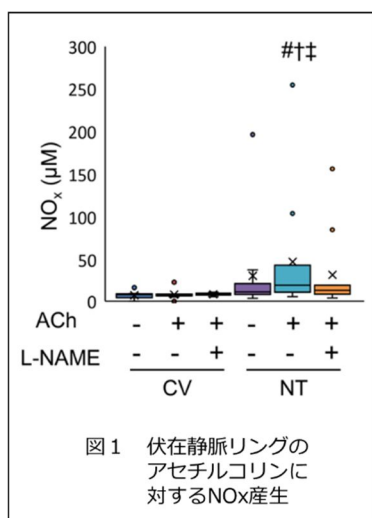
のリングと血管周囲組織 PVAT の共培養では、アセチルコリンが添加されていなくても、CV 法で採取した伏在静脈のリングのみと比較して、NOx の値は有意に高い結果であった。また、CV 法で採取した伏在静脈のリングと血管周囲組織 PVAT の共存下でアセチルコリンを添加した場合、CV 法で採取した伏在静脈のリングのみと比較して、NOx の値はさらに高い結果であった (図 2)。

(3) 血管拡張による伏在静脈リングの NOx 産生

伏在静脈採取時の血管拡張の影響を調べるために、NT 法で採取した SV に、従来法による血管拡張を比較的低下である 300 mmHg で血管拡張後に、伏在静脈リングをアセチルコリンの添加の有無で培養し、NOx が測定された。コントロールとして、NT 法で採取して血管拡張をしていない伏在静脈リングはアセチルコリンの添加により、アセチルコリンを添加していない時と比較して、NOx の値は上昇する結果であった。次に、NT 法で採取して血管拡張をした伏在静脈リングはアセチルコリンの添加により、アセチルコリンを添加していない時と比較して、NOx の値は上昇する結果であり、血管拡張の有無が、NOx の値には影響しなかったことから、NOx の産生には、内皮細胞よりも血管周囲組織 PVAT が影響していることが示唆された (図 3)。

(4) 血管周囲組織 PVAT における ASS1 解析

NOS はアルギニンシトルリンに変換する触媒として作用し、シトルリンは ASS1 (argininosuccinate synthase 1 : アルギニノコハク酸合成酵素-1) により、アルギニノコハク酸に変換され、アルギニノコハク酸はアルギニンとなる分子回路となっている。CV 法で採取した伏在静脈、血管周囲組織 PVAT、内胸動脈 ITA からタンパク質を抽出し、ASS1、eNOS のタンパク質レベルを比較する為に、ウェスタンブロッティングを実施した。血管周囲組織 PVAT における、ASS1 のタンパク質発現レベルは、CV 法で採取した伏在静脈および内胸動脈 ITA と比較し、有意に高い結果であった (図 4)。次に、ASS1 の阻害剤である MDLA を NT 法で採取した伏在静脈リングに添加して培養したところ、NT 法で採取した伏在静脈リングのアセチルコリンによる NOx 産生の上昇を、ASS1 阻害剤である MDLA は打ち消す結果であった (図 5)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kurazumi Hiroshi, Suzuki Ryo, Ikenaga Shigeru, Ito Hiroshi, Mikamo Akihito, Gohra Hidenori, Hamano Kimikazu	4. 巻 29
2. 論文標題 Early and Late Surgical Outcomes after Geometrical Infarct Exclusion for Post-Infarct Ventricular Septal Perforation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 299 ~ 306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5761/atcs.oa.23-00058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Toshiro, Kurazumi Hiroshi, Suzuki Ryo, Matsunaga Kazumasa, Tsubone Sarii, Lv Bochao, Kobayashi Sei, Nagase Takashi, Mizoguchi Takahiro, Samura Makoto, Suehiro Kotaro, Harada Takasuke, Morikage Noriyasu, Mikamo Akihito, Hamano Kimikazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Perivascular Adipose Tissue Is a Major Source of Nitric Oxide in Saphenous Vein Grafts Harvested via the No Touch Technique	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e020637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.120.020637	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurazumi Hiroshi, Suzuki Ryo, Nawata Ryosuke, Yokoyama Toshiki, Tsubone Sarii, Mikamo Akihito, Hamano Kimikazu	4. 巻 15
2. 論文標題 Impact of the no-touch harvesting technique on the vessel diameter of saphenous vein grafts for coronary artery bypass grafting	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JTCVS Techniques	6. 最初と最後の頁 87 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xjtc.2022.07.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木亮、美甘章仁、横山俊貴、松永一真、藏澄宏之、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 弓部大動脈全置換術施行時のElephant trunk+double pledget法による確実な末梢側吻合
3. 学会等名 第53回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藏澄宏之、美甘章仁、横山俊貴、松永一真、鈴木亮、池永茂、小林俊郎、伊東博史、郷良秀典、濱野公一
2. 発表標題 心室中隔穿孔に対する外科治療～AMI発症から手術までの時間と治療成績の検討
3. 学会等名 第53回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松永一真、美甘章仁、横山俊貴、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 先天性二尖弁に対するAVR後上行大動脈の行方
3. 学会等名 第53回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 横山俊貴、美甘章仁、松永一真、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 Malperfusion合併急性大動脈解離に対する腋窩同葉送血・central repairでの手術成績
3. 学会等名 第53回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木亮、美甘章仁、横山俊貴、松永一真、藏澄宏之、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 経カテーテル大動脈弁置換（TAVI）施行時の術前栄養状態（PNI）は長期予後に影響する
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 縄田良祐、美甘章仁、松永一真、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 上行弓部大動脈人工血管置換・冠動脈バイパス術後の僧帽弁感染性心内膜炎に対する右小開胸心膜外アプローチ手術
3. 学会等名 第66回関西胸部外科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藏澄宏之、美甘章仁、縄田良祐、松永一真、鈴木亮、濱野公一
2. 発表標題 エコーによる大伏在静脈の術前評価と intact SVG を用いた CABG の成績
3. 学会等名 第27回日本冠動脈外科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木亮、美甘章仁、縄田良祐、松永一真、藏澄宏之、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 当院における糖尿病合併症例に対する単独冠動脈バイパス 術の治療成績
3. 学会等名 第27回日本冠動脈外科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 縄田良祐、美甘章仁、松永一真、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 上行弓部大動脈人工血管置換・冠動脈バイパス術後の僧帽弁感染性心内膜炎に対する右小開胸心膜外アプローチ手術
3. 学会等名 第76回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 縄田良祐、美甘章仁、松永一真、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 当科でのIMHに対する治療戦略
3. 学会等名 第76回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藏澄宏之、美甘章仁、縄田良祐、松永一真、鈴木亮、濱野公一
2. 発表標題 サルコペニアを合併した高齢患者に対する大動脈弁置換術の早期・遠隔期成績
3. 学会等名 第76回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松永一真、美甘章仁、縄田良祐、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 Stanford B型急性大動脈解離の転帰
3. 学会等名 第76回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木亮、美甘章仁、縄田良祐、松永一真、藏澄宏之、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 急性大動脈解離手術時の両側腋窩動脈直接送血の有用性とその合併症
3. 学会等名 第76回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藏澄宏之、上野耕司、縄田良祐、松永一真、鈴木亮、美甘章仁、濱野公一
2. 発表標題 No-touch SVGにおける血管周囲脂肪量とNO分泌量の検討
3. 学会等名 第36回日本冠疾患学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松永一真、美甘章仁、縄田良祐、藏澄宏之、鈴木亮、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 No-touch法による大伏在静脈採取は冠動脈バイパス手術時のグラフト血流速度に影響を与える
3. 学会等名 第36回日本冠疾患学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木亮、美甘章仁、横山俊貴、松永一真、藏澄宏之、白澤文吾、濱野公一
2. 発表標題 No-touch法による大伏在静脈採取は冠動脈バイパス手術時のグラフト血流速度に影響を与える
3. 学会等名 第25回日本冠動脈外科学会学術集会
4. 発表年 2022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
研究分担者	鈴木 亮 (SUZUKI Ryo) (10570319)	山口大学・大学院医学系研究科・助教 (15501)	

6. 研究組織（つづき）

	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	藏澄 宏之 (KURAZUMI Hiroshi) (50645116)	山口大学・大学院医学系研究科・助教 (15501)	
研究分担者	濱野 公一 (HAMANO Kimikazu) (60263787)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	
研究分担者	齊藤 寿郎 (SAITO Toshiro) (60648484)	山口大学・医学部附属病院・助教 (15501)	削除：2022年12月31日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関