

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500857

研究課題名(和文) 心血管内皮を標的とした食物由来成分による心房内血栓形成予防法の開発

研究課題名(英文) Prevention of atrial thrombosis by food-derived bioactive components which act on cardiovascular endothelial cells

研究代表者

馬渡 一論 (MAWATARI, Kazuaki)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・講師

研究者番号：40352372

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：左心房血栓は全身性血栓症の重要な要因となる。本研究は新規に開発した「左心房血栓自然発症モデルラット」の血栓形成と心血管内皮傷害との関連性を明らかにした。本モデル動物には胸部大動脈の内膜肥厚や内皮依存性弛緩反応の減弱がみとめられ、また、一酸化窒素産生能は有意に低下していた。さらに、一酸化窒素の基質であるL-Arginineを投与すると、一酸化窒素産生量が上昇し、血栓サイズが有意に小さくなった。よって、心血管内皮傷害を抑制することは、心房血栓予防に働く可能性が示唆された。さらに、ブルーベリー由来ポリフェノールなどの食物由来成分が血管内皮の傷害予防に働くことをみいだした。

研究成果の概要(英文)：Left atrial (LA) thrombosis is an important cause of systemic embolization. The aim of the present study was to investigate how spontaneous model rats develop LA thrombi. Nitric oxide (NO) produced from cardiovascular endothelial cells plays an important protective role in blood flow, vascular tone, and platelet aggregation. No evidence of atrial fibrillation or hypercoagulability in the model rats regardless of age was found; however, the model rats demonstrated endothelial dysfunction and a decrease of NO production. In addition, endothelial NO synthase activity was significantly decreased in the LA and thoracic aorta endothelia of the model rats. However, L-arginine treatment significantly increased NO production and provided protection from the development of LA thrombi in the model rats. They present study results indicate that NO has an important role in the development of LA thrombus, and endothelial pathways could provide new targets of therapy to prevent LA thrombosis.

研究分野：栄養学

キーワード：血管内皮細胞 心房血栓 一酸化窒素

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の死因第3位を占める脳血管疾患の死亡者数は、約60%が脳梗塞による(平成20年人口動態統計結果)。超高齢化が進行する我が国において、脳梗塞による死亡者や要介護者の数は今後ますます増加すると予想される。その中でも、主に心房内で形成された血栓が原因で引き起こる「心原性脳塞栓症」は発症数が増加傾向にあるとともに、重症化しやすく、死亡率が高いことからその予防法の確立が求められている。

心房内での血栓形成の増悪要素は「凝固性の増加」と「血液のうっ滞」である。心房内の血栓形成は、心臓の拍動リズム調節の不良(心房細動)によるが、両要素が亢進することによる。しかし最近になって、心房や血管の内皮細胞の機能障害と心房内血栓形成の関連性が注目されてきた(Cai H *et al.* *Circulation* 2002)。内皮細胞は血管の張力調節作用のほかに、抗凝固作用を有する一酸化窒素 Nitric Oxide (NO) を産生し、心血管の恒常性維持に働いている。本研究では安全かつ安心である食物または食物由来の成分を用いた予防法に着目した。

### 2. 研究の目的

「心房内血栓自然発症モデルラット」の心房内血栓形成機序を明らかにする。特に、心血管内皮細胞の傷害と血栓形成との関連性について明らかにする。さらに、心血管内皮細胞に作用する食物由来成分を発見し、心房内血栓形成の予防へ応用可能か検討する。

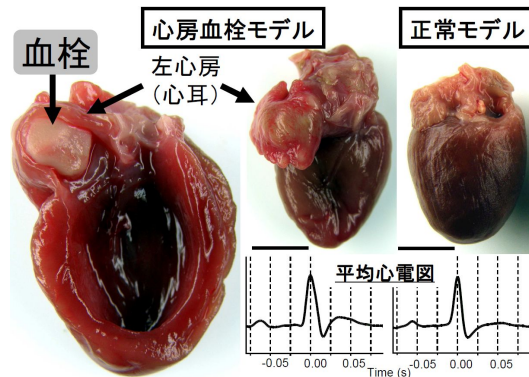
### 3. 研究の方法

「心房内血栓自然発症モデルラット」の血栓形成状況と心血管内皮の形態学的変化と機能低下について評価を行った。また、一酸化窒素の基質である L-arginine を投与した際の心房内血栓形成に与える影響を評価した。さらに、血管内皮に作用する食物由来成分を動物モデルに投与し、内皮機能の変化を観察し、心房内血栓形成の予防に有用であるか考察した。

### 4. 研究成果

図1. 心房内血栓自然発症モデルの血栓形成

生後20、40、60週の血栓形成状況を確認すると、「心房内血栓自然発症モデルラット」では20週より血栓形成がみられ、週齢が進むにつれて大きくなった(図1)。



また、胸部大動脈の組織学的評価を行うと、「心房内血栓自然発症モデルラット(図2B)」の血管内膜が肥厚していた。

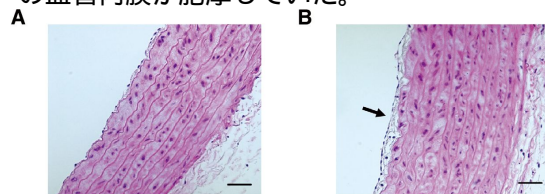


図2. 胸部大動脈の組織学的評価

内皮依存性弛緩反応を評価すると、「心房内血栓自然発症モデルラット」では、有意に内皮依存性弛緩反応が減弱していた(図3)。さらに、内皮機能の評価として、尿中一酸化窒素濃度を測定すると、正常モデルより有意に低値を示した(図4)。以上の結果より、「心房内血栓自然発症モデルラット」では心血管内皮機能が低下していることが分かった。

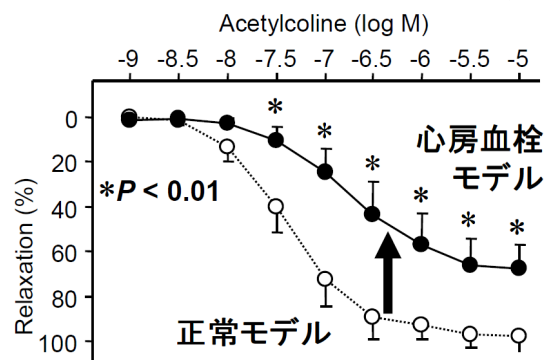


図3. 内皮依存性血管弛緩反応

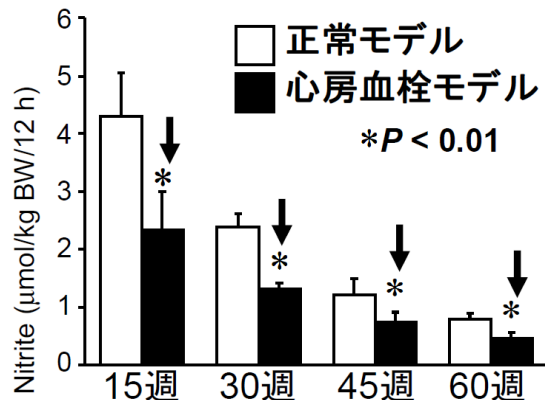


図4. 尿中一酸化窒素濃度

また、「心房血栓自然発症モデルラット」一酸化窒素の基質である L-arginine を投与すると、尿中一酸化窒素量が増加した(図 5)。さらに、心房血栓のサイズを評価すると、投与群では有意に小さくなった(図 6)。よって、心血管内皮の機能を改善することは心房血栓予防に働く可能性が考えられた。

していることが分かった。

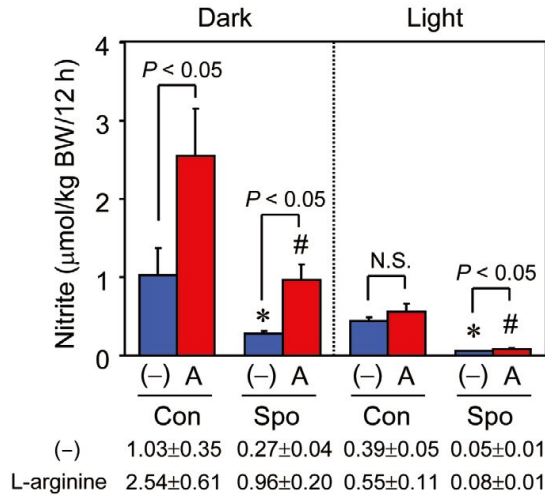


図 5. L-arginine を投与した際の尿中一酸化窒素量の変化

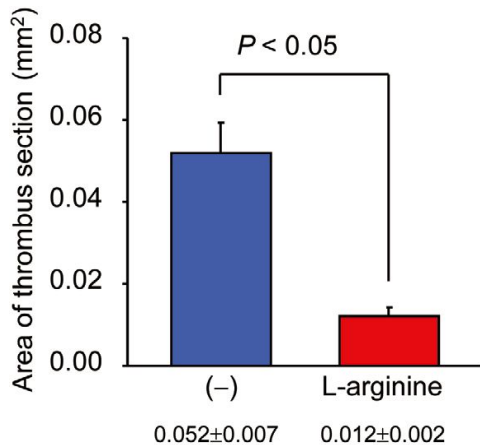
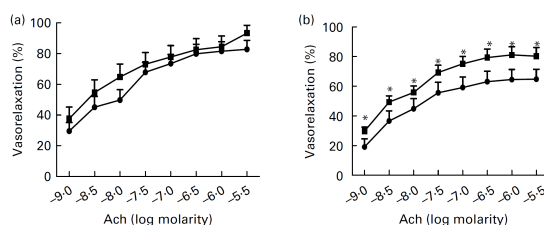


図 6. L-arginine を投与した際の心房血栓サイズの変化

最後に、血管内皮に作用する食物由来成分の候補として、Blueberry polyphenol (BBP) を用いて心血管内皮に対する評価を行った。高脂肪食ラットに BB を投与すると、有意に収縮期血圧の低下と血管内皮機能の改善がみとめられた(図 7)。よって、食物由来成分による心房血栓予防が期待できると考えられた。

図 7. 内皮依存性血管弛緩反応の評価



(a) 普通食、または (b) 高脂肪食ラットに BB 投与 ( ) と非投与 ( ) で比較した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Kazuaki Mawatari, Emiko Yoshioka, Satomi Toda, Sonoko Yasui, Hiroko Furukawa, Takaaki Shimohata, Takamasa Ohnishi, Masaki Morishima, Nagakatsu Harada, Akira Takahashi, Hiroshi Sakaue, Yutaka Nakaya. Enhancement of Endothelial Function Inhibits Left Atrial Thrombi Development in an Animal Model of Spontaneous Left Atrial Thrombosis. *Circulation Journal*, 査読有, Vol. 78, No. 8, pp. 1980-1988 (2014). DOI: 10.1253/circj.CJ-13-1398

Takamasa Ohnishi, Fumiko Hisaoka, Masaki Morishima, Akira Takahashi, Nagakatsu Harada, Kazuaki Mawatari, Hidekazu Arai, Emiko Yoshioka, Satomi Toda, Keisuke Izumi, Yutaka Nakaya. Establishment of model of Spontaneously-Running-Tokushima-Shikoku rats with left atrial thrombosis. *Journal of Toxicologic Pathology*, 査読有, Vol. 27, No. 1, pp. 51-56 (2014). DOI: 10.1293/tox.2012-0032

Makiko Oka, Yasuharu Niwa, Kazuaki Mawatari, Yoshikazu Hiasa, Yutaka Nakaya. A novel peptide of endothelin family, 31 amino-acid length endothelin in patients with acute myocardial infarction. *The Journal of Medical Investigation*, 査読有, Vol. 61, No. 3-4, pp. 298-305 (2014).

Ana Rodriguez-Mateos, Akari Ishisaka, Kazuaki Mawatari, Alberto Vidal-Diez, Jeremy Spencer, Junji Terao. Blueberry intervention improves vascular reactivity and lowers blood pressure in high fat, high cholesterol fed rats. *British Journal of Nutrition*. 査読有, Vol. 109, No. 10, pp. 1746-1754 (2013). DOI: 10.1017/S0007114512003911

〔学会発表〕(計 1 件)

馬渡一諭、吉岡愛美子、戸田聡美、大西隆仁、原田永勝、阪上浩、中屋豊、高自発走行モデル動物 SPORTS rat の左心房血栓形成と発症要因の解析、第 15 回徳島臨床脈管研究会、2013.11.27.、クレメント徳島(徳島県・徳島市)

〔図書〕(計1件)

土江節子、馬渡一諭、橋本弘子、井上久美子、小川万紀子、(他9名)「栄養教育論」, 166 ページ(113-124 ページ), 学文社(2013)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tokushima-u.ac.jp/med/culture/yobokankyoeiyo/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

馬渡 一諭 (MAWATARI, Kazuaki)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・講師  
研究者番号: 40352372

### (2) 研究分担者

下畑 隆明 (SHIMOHATA, Takaaki)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・助教  
研究者番号: 90609687

### (3) 連携研究者

なし