

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：13903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650295

研究課題名(和文) 血圧測定時の内皮傷害? カフ圧迫後の内皮機能低下現象の解明と動脈硬化診断への応用

研究課題名(英文) Endothelial damage caused by blood pressure measurement? Study on decrease in endothelium function following cuff occlusion and its application to diagnosis of atherosclerosis

研究代表者

松本 健郎 (Matsumoto, Takeo)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30209639

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：一般的な血圧測定では上腕にカフを巻き、血圧以上に加圧して上腕動脈を閉塞し、その後、徐々に減圧する際の血流回復の様子を計測して血圧を知る。この際、血管が圧平されることが血管壁にどのような影響を与えるのか調べるため、上腕動脈の内皮機能を臨床で頻用されるFMD法で計測、平滑筋機能を我々が開発したPMC法で計測し、血管圧平の影響を調べた。その結果、血管圧平により内皮機能が低下するが、平滑筋機能は変化しないこと、また、内皮機能の回復は若年者ほど早い可能性が示唆された。また、この現象を動物で再現する実験系の確立も進めた。

研究成果の概要(英文)：In ordinal blood pressure measurement, a cuff attached to the upper arm is first pressurized to stop blood flow in the brachial artery and then depressurized to observe the process of blood flow restoration. During this process, the brachial artery is occluded. To know the effects of the occlusion on the brachial artery, endothelial and smooth muscle functions were measured with the FMD method that is frequently used in clinical practice and a PMC method developed in our laboratory, respectively, before and after the occlusion. The results indicate that endothelial function but not smooth muscle function decreased following blood vessel occlusion, and recovery from this damage is faster in younger subjects. We also developed an animal model to reproduce this phenomenon.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：バイオメカニクス 動脈硬化 血管内皮細胞 血管平滑筋細胞 FMD

1. 研究開始当初の背景

通常の血圧の間接計測（聴診法）では，腕を加圧して上腕動脈を一旦圧平した後，徐々に減圧した際に発生するコロトコフ音を利用している．コロトコフ音発生時には血管壁の内面同士が衝突を繰り返す中，血流が高速の乱流となって断続的に流れている．このような環境では血管内皮細胞が何らかのダメージを受ける可能性がある（図1）．しかし，このような観点からの研究は調べた範囲では見つからない．そこで我々は実際に血圧測定後の上腕動脈で FMD 検査を行い，血圧測定後は血管内皮機能（FMD 値）が実際に低下する結果を得た．一方，我々が開発を進める平滑筋機能検査（PMC 検査）で計測した平滑筋機能には有意な低下は見られず，動脈の圧平が内皮細胞に直接的に何らかのダメージをもたらしている可能性が高い．次に低下した内皮機能の回復過程を調べた結果，FMD の回復は若年者より中高年で遅かった．これは内皮機能の回復能が加齢と共に低下することを意味し，内皮の機能回復能を動脈硬化性疾患発生リスクの指標とする可能性に思い至った．

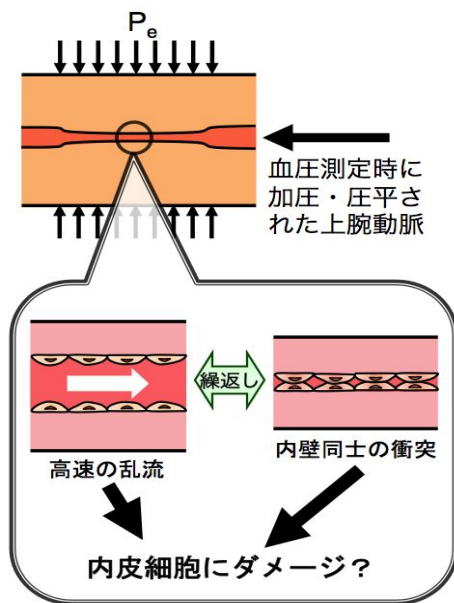


図1 血圧測定による内皮障害？ 血圧測定ではカフ圧 P_e を血圧より高いレベルから徐々に下げていくが， P_e が最高/最低血圧の間にある場合，血管は1心拍中で閉塞と開通を繰り返す．これが内腔面にある内皮細胞に傷害を与える可能性がある．

2. 研究の目的

以上より，本研究では血圧測定後の内皮機能低下現象の解明と，その後の内皮機能回復過程の動脈硬化診断への応用を目的とした．具体的には，ヒト上腕動脈を対象とし，まず，血圧測定前後での内皮・平滑筋の機能変化データと蓄積し，この現象の普遍性を確かめた．次に，様々な年齢の被検者で血管機能の回復の様子を調べ，年齢との相関を調べた．

また，この現象の原因を探るため，血管圧

平が内皮や平滑筋細胞に及ぼす影響を検討する実験系の確立を目的とした．具体的には，動物の血管で FMD 現象を再現する系の確立，FMD 現象，PMC 現象の解析に必要な血管壁の力学特性の非侵襲計測法や血管壁の細胞レベルの応力・ひずみ分布を知るための微視的レベルの力学解析を行った．

3. 研究の方法

(1) 血管圧平後の血管機能変化の計測

ヒト上腕動脈を対象とし，様々な年齢・性別の被検者について，現有する FMD/PMC 計測装置を用い，内皮機能の指標として FMD 値，平滑筋機能の指標として PMC 値を計測（FMD，PMC の詳細については下記コラム参照），血圧測定前後での両者の変化を調べ，血管圧平により内皮機能と平滑筋機能がどの程度変化するのか確認した．即ち，上腕に FMD/PMC 計測装置の密閉容器を装着し，末梢の前腕部をカフで5分間駆血し，血流を再開した後の上腕動脈の径拡張量を測定した（FMD 計測）．次に密閉容器内に陰圧をステップ状に負荷して上腕動脈を拡張させた後，上腕動脈の径収縮量を計測した（PMC 計測）．この後，一旦，密閉容器を取り外し，上腕部にカフを巻いて血圧測定を模擬した血管圧平を行った．その後，再び容器を装着して FMD 計測と PMC 計測を行った．以上より，血管圧平前後での FMD 値，PMC 値の変化を比較した．

また，これらの変化がどのようにして回復していくのか，幅広い年齢の被験者について FMD 値と PMC 値を 24 時間おきに計測し，年齢や動脈硬化パラメータと内皮機能回復能との関係を調べた．

—.....コラム.....—

《FMD (flow mediated dilation)とは》

血流の増加によって血管径が増加する現象のことである．即ち，血管壁には内腔を一面に被う血管内皮細胞と壁の大部分を占める中膜を構成する平滑筋細胞の2種類の細胞があるが，このうち，血管内皮細胞は血栓形成の防止や血中物質の血管壁内への浸透の制御をしており，動脈硬化と密接な関係があることが知られている．内皮細胞は血流に応じて NO（一酸化窒素）を分泌し，これが血管平滑筋に作用して血管を拡張させるが，この NO の分泌能が内皮細胞の健全さを示す指標として注目されている．そこで，例えば上腕動脈の直径を超音波プローブで計測しつつ，末梢側（前腕）にカフを巻いて駆血し，5分経過後した後で駆血を解除し血流を再開させると，血流の急激な増加により NO が産生され，その結果，平滑筋が弛緩して動脈が拡張する．この拡張量が FMD であり，この値が大きいほど内皮細胞の機能が健全であると考えられている．

《PMC (pressure mediated contraction)とは》

FMD 法は血管内皮細胞の機能を知ることができる方法として盛んに用いられるように

なっているが、血管拡張は内皮細胞の NO 分泌能と平滑筋細胞の弛緩能の両方が正常で初めて生じるものである。即ち、FMD の低下は内皮細胞の機能低下だけでなく、平滑筋細胞の機能低下でも起こり得る。そこで、平滑筋細胞の機能(運動能)を評価するために我々が開発を進めているのが PMC 法である。PMC 計測の際には、上腕に血管径測定用の超音波プローブが取り付けられた密閉容器(図 2)を装着し、容器内に陰圧を負荷する。腕の周囲が陰圧に曝されると経壁圧が増加することにより、上腕動脈が拡張する。ところで血管平滑筋には、引張られると逆に収縮する性質(ペイリス効果)があるので、一旦、拡張した血管は徐々に径が収縮する。この収縮量を平滑筋機能の指標とするのが PMC 法である。我々の予備的検討では、PMC が加齢により有意に低下することが示されている。

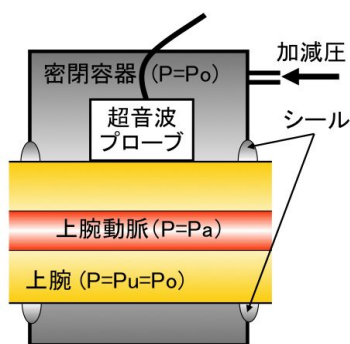


図 2 PMC 法で使用する密閉容器。上腕に気密容器を装着し内部を減圧する。すると血管周囲の圧力も低下するので等価的に血圧が上昇した状態になり血管が拡張する。

(2)血管圧平後の血管機能変化原因の検討

家兎総頸動脈を対象とし、血管圧平が内皮機能に及ぼす影響を調べた後、血管を摘出し、圧平が血管内皮細胞に与える影響を調べた。具体的には、麻酔下に頸部皮膚を切開して総頸動脈を露出させ、血管周囲を 37 の生理食塩水で満たした後、直径を光学的にモニタしつつ、末梢側を 5 分間駆血後再灌流して、FMD 応答を調べた。次に直径計測部位の血管を圧平し、再び FMD 応答を観察した。その後、血管を摘出し、血管壁へのエバンスブルーの取り込み(内皮細胞が剥離したところは壁が青染される)や走査型電子顕微鏡などを用いて内皮細胞の剥離状況を調べた。

また、FMD 現象、PMC 現象の詳細な解析には、生理状態の動脈壁のマクロな力学特性、血管壁内の微視的応力・ひずみ分布を知ることも必要となる。このため、ヒト上腕動脈の内圧-径関係の非侵襲計測法の確立に関して、上記 PMC 法を応用し、密閉容器内圧を徐々に変化させた際の、血管径変化を超音波プローブで計測し、血管の内圧-径関係を求める方法、オシロメトリック法を応用し、上腕に巻いたカフの内圧変化から内圧-径関係を求

める方法を検討した。また、血管壁の応力・ひずみ分布の微視的計測に関しては、動脈硬化血管のひずみ分布の周方向分布を計測したほか、血管壁内の平滑筋、エラスチン、コラーゲンの分布と周方向引張に伴う変形の様子を詳細に計測した。

4. 研究成果

血管圧平前後での FMD 値、PMC 値の変化を比較したところ、何れの被験者でも、FMD 値は血管圧平により半減したが、20 歳代の学生では 24 時間後に元のレベルに戻っていた。一方、回復の程度は加齢により低下し、50 歳代では回復に 4 日以上を要することが判った。一方、PMC 値については血管圧平に伴う変化は見られなかった。これより血管圧平により FMD 値が低下すること、この回復には年齢により差があることが示めされた。

また、家兎総頸動脈で in situ にて FMD を再現する実験系の確立については、血管を周辺組織から剥離して血管径を明瞭に観察する方法、血管を動かさずに血流を途絶・再開させる方法、血管にカフを巻いて圧平する方法などを確立し、更に血管周囲を満たす生理食塩水の温度が低下しないよう加温系を工夫するとともに、この中に希薄ノルアドレナリンを加えることで FMD 現象を生じさせることに成功した。また、血圧計測を模擬した血管の圧平により、FMD が有意に低下しおよそ 1/2 になることも明らかとなった。更に、FMD が低下した総頸動脈の内面をエバンスブルー染色により観察したところ、内皮細胞が剥がれることによる青染部分は圧平部位の 5%以下しか観察されず、FMD 低下の原因が血管圧平に伴う内皮細胞の剥離により生じるものではない可能性が示された。

また、PMC 法、オシロメトリック法を応用した血管の圧-径関係の計測が行えることを確認したほか、加圧に伴う血管壁の変形が動脈硬化血管ではマクロ(周方向位置の差)で見ても不均質であるし、ミクロに見ると正常血管でも変形が極めて不均質であることなどが明らかとなった。

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 7 件、全て査読有り)

Matsumoto T, Nagayama K: Tensile properties of vascular smooth muscle cells: Bridging vascular and cellular biomechanics (Review), J Biomech 45-5, 745-55 (2012) DOI: 10.1016/j.jbiomech.2011.11.014

杉田修啓, 松本健郎, 増田弘毅, 佐藤正明: 動脈硬化病変を有するヒト冠動脈の血管周方向ひずみ分布計測, 日本機械学会誌A編 79-798, 177-187 (2013) DOI: 10.1299/kikaia.79.177

Sugita S, Matsumoto T: Quantitative

measurement of the distribution and alignment of collagen fibers in unfixed aortic tissues, *J Biomechanics* 46-7, 1403-7 (2013) DOI: 10.1016/j.jbiomech.2013.02.003
杉田修啓, 松本健郎, 佐藤正明: 動脈硬化病変を有する家兎胸大動脈の血管周方向ひずみ分布計測, *ライフサポート* 25-2, 56-62 (2013) DOI: 10.5136/lifesupport.25.56
松本健郎, 梅田宗紀, 西林秀郎, 石塚繁廣, 高橋慎一: オシロメトリック法を用いた上腕動脈内圧-断面積関係の非侵襲計測: 装置の開発と検証, *日本生体医工学学会誌* 51-4, 261-267 (2013) DOI: 10.11239/jsmbe.51.261
Sugita S, Matsumoto T: Heterogeneity of deformation of aortic wall at the microscopic level: Contribution of heterogeneous distribution of collagen fibers in the wall, *Bio-medical Materials and Engineering* 23-6, 447-461 (2013) DOI: 10.3233/BME-130771
矢口俊之, 武澤健司, 長山和亮, 益田博之, 松本健郎: ヒト橈骨動脈の力学特性の非侵襲計測法の確立と力学特性に対する平滑筋収縮状態の影響評価, *ライフサポート* 25-4, 143-150 (2013/12) DOI: 10.5136/lifesupport.25.143

〔学会発表〕(計 18 件)

松本健郎: 血管壁のバイオメカニクス, 第2回豊橋ライブデモンストラーションコース (2012/5/24-6, 豊橋) 【招待講演】

Matsumoto T: Tensile Properties of Vascular Smooth Muscle Cells: Bridging Tissue and Cell Biomechanics, *バイオフロンティアシンポジウム2012* (2012/10/5, 弘前) 【Keynote Lecture】

飯島慎太郎, 長山和亮, 中村佐紀子, 横田秀夫, 松本健郎: 3次元内部構造顕微鏡を用いた家兎胸大動脈壁内微細構造の観察, *日本機械学会第23回バイオフロンティア講演会* (2012/10/5-6, 弘前)

Matsumoto T, Uno Y, Nagayama K: Heterogeneity in Microscopic Deformation of Aortic Wall during Circumferential Stretch, *BMES 2012 Annual Meeting* (10/24-27/12, Atlanta, GA, USA)

矢口俊之, 武澤健司, 長山和亮, 益田博之, 松本健郎: ヒト腕動脈内圧-径関係の非侵襲計測の試み, *生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会2012* (2012/11/2-4, 名古屋)

Matsumoto T: Multifaceted evaluation of artery function through its mechanical response: For early-stage diagnosis of

atherosclerosis, *東北大学医工学研究科シンポジウム International Symposium on Biomedical Engineering Interface* (2013/3/14-5, Sendai, Japan) 【招待講演】
Matsumoto T: Heterogeneity in Microscopic Residual Stress in the Aortic Wall, *2013 SEM Annual Conference & Exposition on Experimental & Applied Mechanics* (2013/6/3-6, Lombard, IL, USA) 【Invited symposium】

Matsumoto T: A novel instrument for the multifaceted evaluation of artery function: Toward early-stage diagnosis of atherosclerosis, *International Workshop of SENSORS* (2013/7/1, Nagoya) 【Invited Workshop】

Matsumoto T, Yaguchi T, Shimo K, Kurokawa T, Nagayama K, Tsukahara H, Masuda H: Multifaceted Evaluation of Arterial Function through Transmural Pressure Manipulation, *24th Congress of the International Society of Biomechanics* (2013/8/4-9, Natal, Brazil)

Matsumoto T: Effects of microscopic heterogeneity on the mechanical behavior of the elastic arteries, *The 7th Asian Pacific Conference on Biomechanics* (2013/8/29-31, Seoul, Korea) 【Invited lecture】

矢口俊之, 長山和亮, 塚原弘政, 益田博之, 松本健郎: 経壁圧制御によるヒト上腕動脈の経壁圧-血管径関係の非侵襲計測, *日本機械学会2013年度年次大会* (2013/9/9-11, 岡山)

矢口俊之, 長山和亮, 塚原弘政, 益田博之, 松本健郎: 経壁圧操作により求めたヒト上腕動脈圧-径関係の再現性に関する検討, *平成25年度日本生体医工学学会東海支部学術集会* (2013/10/19, 名古屋)

河口磨紀, 矢口俊之, 長山和亮, 松本健郎: 家兎頸動脈を用いたFMD再現系の確立と血管圧平が血管に与える影響の解析, *日本機械学会第24回バイオフロンティア講演会* (2013/11/1-2, 京都)

Yaguchi T, Nagayama K, Tsukahara H, Masuda H, Matsumoto T: Development of a non-invasive multifaceted evaluation system for arterial function under transmural pressure manipulation, *Int. Symp. on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS2013)* (2013/11/10-13, Nagoya)

Matsumoto T, Uno Y, Nagayama K: Heterogeneity in the intramural mechanical environment of the aorta: Estimation of stress applied to elastic laminae in a physiological state, *The 15th International Conference on Biomedical Engineering (ICBME 2013)* (2013/12/4-7, Singapore)

Iijima S, Nakamura S, Yokota H, Nagayama K, Matsumoto T: Three-dimensional

observation of microscopic structure of the aortas reveals their heterogeneous deformation, The 15th International Conference on Biomedical Engineering (2013/12/4-7, Singapore)

高橋結宗, 長山和亮, 松本健郎: 血管内皮細胞糖鎖層の流れに伴う変形計測の試み, 日本機械学会第26回バイオエンジニアリング講演会 (2014/1/11-12, 仙台)

下 兼司, 矢口俊之, 長山和亮, 塚原弘政, 益田博之, 松本健郎: 血圧測定時の血管圧平がヒト上腕動脈の内皮機能に及ぼす影響, 日本機械学会第26回バイオエンジニアリング講演会 (2014/1/11-12, 仙台)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 健郎 (MATSUMOTO, Takeo)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 30209639

(2) 研究分担者

長山 和亮 (NAGAYAMA, Kazuaki)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 10359763

杉田 修啓 (SUGITA, Shukei)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号: 20532104

矢口 俊之 (YAGUCHI, Toshiyuki)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・研究員
研究者番号: 70385483