

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：13903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700495

研究課題名(和文)動脈硬化の見える化：血管内皮・平滑筋機能の独立計測による動脈硬化進行度の定量診断

研究課題名(英文)Visualization of atherosclerosis: Quantitative evaluation of degree of atherosclerosis by separate measurement of endothelial function and smooth muscle function

研究代表者

矢口 俊之 (Yaguchi, Toshiyuki)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：70385483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化の超早期診断を目的とし、血管内皮、平滑筋機能の健康度を独立で評価する方法を検討した。平滑筋は伸展させると収縮するという性質(ベイリス効果)があり、本研究ではこれを平滑筋の健康度と位置付けた。血管内皮機能計測は既存のFMD法を用い、平滑筋機能は試作した計測システムを用いてチョッパ陰圧負荷に対するヒト上腕動脈の能動収縮として計測した。その結果、従来法でのステップ陰圧負荷に比べ、より短時間で、またはより大きく血管収縮を引き起こせることが示唆された。またベイリス効果を詳細に検討するための動物モデルを構築した。提案した平滑筋機能評価法と動物モデルは動脈硬化の診断法の開発に有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：A non-invasive apparatus for evaluation of ultra-early diagnosis of atherosclerosis was studied in which a function of smooth muscle cells (SMCs) and endothelial cells (ECs), respectively. Myogenic response of SMCs which called Bayliss effect are defined as healthiness of SMCs and measured. To evaluate ECs function is used a conventional FMD. The SMCs contractility of human brachial artery was measured by our novel method, i.e., an active contraction of the artery which was induced by loading chopped negative pressure. These results suggest that a time of an arterial contraction is in less time than using our conventional method, i.e., loading a stepwise application of negative pressure for 2 minutes, or an amount of contraction increased while loading chopped negative pressure. In addition, we developed an animal model to understand the Bayliss effect in detail. This study might have a potential to develop a new method for ultra-early diagnosis of atherosclerosis.

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：検査・診断システム 動脈硬化 非侵襲計測 超早期診断

1. 研究開始当初の背景

粥状動脈硬化症は近年、高齢化や食生活の欧米化等により増加傾向にあり、心筋梗塞や脳梗塞などの循環器疾患の要因となる。また脳動脈疾患は寝たきり(要介護度5)の原因の33.8%を占め(H22 国民生活基礎調査)、医療費増大の原因の一つとなっている。動脈硬化の進行プロセスは、まず高血圧や高コレステロール等の危険因子により血管内腔を1層に覆う血管内皮細胞の機能が低下し、内皮細胞に接着分子が発現、血中の単球が接着、内皮細胞下へ侵入する。そしてマクロファージへと分化、成熟しコレステロールを取込み泡沫細胞となり内皮下に蓄積する。その後、平滑筋細胞や弾性繊維の破断・変性、カルシウム沈着などにより血管壁が不可逆的に硬化し、最終的に血管内腔の狭窄・閉塞が生じる。このプロセスは自覚症状も無く進行するので早期発見が困難であり、突然、深刻な事態になることが多い。一方、初期の動脈硬化病変であれば生活習慣の改善などで血管を健康な状態に戻すことが可能である。このため、動脈硬化の初期段階での進行程度を客観的な指標として示す、「動脈硬化の見える化」ができれば、生活習慣改善のインセンティブとなり、動脈硬化の改善、ひいては医療費の削減に大きく貢献することが期待できる。代表的な初期段階の動脈硬化検査法であるFMD (Flow-mediated dilation) 検査は、カフで前腕を駆血した後、解放し、血流の再開によるせん断応力増加に対する内皮細胞のNO(一酸化炭素)産生能を評価する方法である。健康な内皮細胞はせん断応力の増加によりNO産生を増加させ、このNOが平滑筋細胞に作用し、弛緩させることにより血管径が増加する。これを血管径増加率(FMD値)として内皮細胞機能の健康度を評価するものである。糖尿病、喫煙者、高脂血症など動脈硬化因子を持つグループではFMD値が有意に低下することが報告されている一方、測定値のばらつきが大きいことが指摘されており、これが正確な評価を行う妨げとなっている。ところで、FMDの計測値は内皮細胞のNO産生能低下だけでなく、平滑筋細胞の収縮・弛緩能の変化にも影響を受けることが考えられ、これがばらつきの原因である可能性がある。より精密かつ正確な測定のためには、内皮細胞と平滑筋細胞のそれぞれに対し、その機能を測定できる方法が望まれる。そこで申請者が所属する研究室では、新たな動脈硬化検査技術として Pressure-mediated contraction (以下、PMC) 法を提案した(日米で特許出願中)。この方法では、上腕部分を圧力制御可能な密閉容器に挿入し、容器内にステップ陰圧を負荷することにより、上腕動脈周囲の圧力を低下させ、受動的に拡張させる(図1)。一般に血管は拡張させられると能動的に収縮する性質(ベイス効果)を有

するので、受動拡張後、上腕動脈は能動的に収縮する。図2は陰圧として-50mmHgを負荷することにより受動拡張した血管径がベイス効果によって能動的に収縮していく様子を示す。この収縮の大きさを平滑筋運動能ひいては平滑筋健康度の指標とする方法である。

ところで、現在の方法では圧を2分間、継続的に負荷し、その間の血管収縮を計測しているが、陰圧負荷によって上腕動脈が移動し、超音波画像のトラッキングが外れてしまうという問題が明らかになった。また、動脈硬化のスクリーニング法として広く普及させるためには、計測時間の更なる短縮も必要である。

そこで本研究では、陰圧の負荷・除荷を断続的に繰り返す(チョップ圧負荷)ことでベイス効果が誘起でき、除荷時に血管径を計測することで陰圧負荷に伴う血管の移動の影響を抑えることができるのではないかと考えた。そこで、このチョップ圧負荷 PMC (Chopped-pressure mediated contraction, C-PMC)法の装置を試作し、この方法の実現可能性を検討するために、本研究課題を申請した。

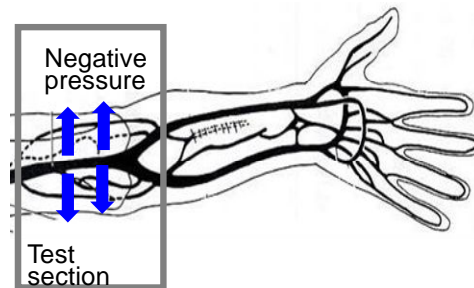


図1 陰圧負荷による血管拡張

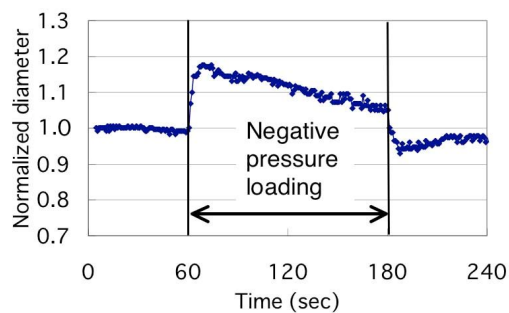


図2 陰圧負荷時の血管径変化

2. 研究の目的

本研究では以下を目的として研究を実施した。

- 1) C-PMC システムの設計および試作
- 2) 健康者ボランティアに対する C-PMC 測定とデータ解析
- 3) ベイス効果検討のための動物モデル構築

3. 研究の方法

C-PMC システム（空圧回路およびその制御プログラム）の設計および試作と性能評価を実施する。また、ヒトの上腕動脈に対する測定を行うための上腕密閉容器（超音波プローブの多次元駆動アクチュエータ装備）の試作を行う。これと C-PMC システム、さらに FMD 測定機器を用いてボランティア被験者への C-PMC/FMD 測定による内皮細胞および平滑筋細胞の機能評価を行うとともに、測定データの解析方法を検討する。また、ベイリス効果を詳細に検討するため、FMD 応答の動物モデルを構築する。

1) C-PMC システムの設計および試作

まずベイリス効果を効率的に誘発・測定することを設計指標とし、C-PMC システムの設計と試作を行う。プログラム制御により、チョッパ圧負荷の周期、振幅、入力波数、陽/陰圧切り替え等を変更可能とする。また、実際の圧波形を測定・評価し、性能を確認する。本システムはベイリス効果を誘起することに特化するため、圧波形の立ち上がりや応答性の正確さが求められる。ハードウェア・ソフトウェアの双方を評価することで問題点を明らかにし、システムの改良を継続的に行ってゆく。

また、被験者の上腕動脈に圧力負荷をするための密閉容器を試作する。本密閉容器はアクリル製であり、上腕と密閉容器の間はゴム製シールを用い、加減圧時の空気漏れを防ぐ構造とする。密閉容器を試作した C-PMC システムに接続し、内部の圧力を制御する。また、内部に多次元アクチュエータを装備し、これに超音波プローブを固定することによって高い自由度で上腕動脈の超音波画像計測を可能とし、この画像より C-PMC/FMD 測定を行う。

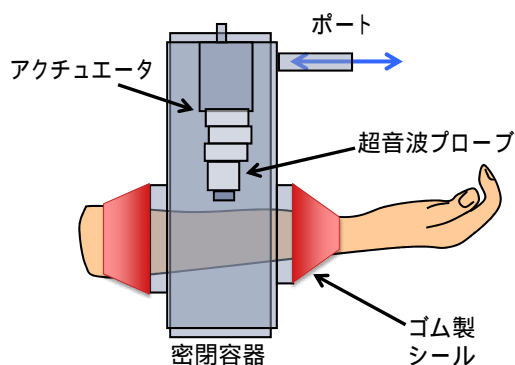


図3 密閉容器

2) 健常者ボランティアに対する C-PMC 測定とデータ解析

健常者ボランティアに対する C-PMC/FMD 測定を行い測定データの蓄積と解析法を検討する。また広く用いられている FMD 測定も行い、比較することにより C-PMC 測定との関連性を検討する。則ち、この実験条件として、末梢側（肘付近）をカフにて駆血し血

流を止め、せん断応力を一時的にゼロにして内皮細胞からの NO 産生を抑え、その際の平滑筋細胞の応答（通常 NO 減収縮）を測定することにより、C-PMC および FMD の測定値が内皮細胞、平滑筋細胞それぞれの機能に対しどのような影響を受けるか検討する。

3) ベイリス効果検討のための動物モデル構築

ベイリス効果を詳細に検討するための動物実験モデルおよび観察系を構築する。まずは FMD 応答の再現を目指して生理的条件に近い実験環境の構築を検討する。FMD 計測を行い、FMD 応答と思われる血管拡張が確認された後、内皮細胞に人工的なダメージを与えて再度 FMD 計測を行うことにより、血管径拡張が内皮細胞の機能に起因することを確認する。また、計測後に血管を摘出し、電子顕微鏡による内皮細胞の形態観察によるダメージの確認をする。

4. 研究成果

1) C-PMC システムの設計および試作

ベイリス効果を効率的に誘発する条件を探索することを設計指標とし、C-PMC システムの設計と試作を行った。圧力制御部のハードウェアとして真空ポンプ、エアタンク、3 方向ソレノイドバルブ、デジタルレギュレータ等を用い、これらをプログラムにて制御を行うことにより、チョッパ陰圧負荷を可能とした。

また、ヒト上腕動脈を計測対象とするため、上腕外周部への圧力負荷用密閉容器を試作した。アクリル製の密閉容器内に 5 自由度のアクチュエータを備え、そこに超音波プローブを取り付け、陰圧負荷中にも外部コントローラによりプローブ位置を調節して明瞭な超音波画像の取得を可能とした。

ベイリス効果を効果的に誘起する条件を検討するためには、圧波形の立ち上がりや応答性の正確さが求められるので、C-PMC システムによる密閉容器内圧波形を評価した。その結果、チョッパ圧負荷に十分な性能であることを確認した。

2) 健常者ボランティアに対する C-PMC 測定とデータ解析

PMC 計測時間の短縮と圧負荷時の血管移動による計測精度低下を解決するため、C-PMC システムを用いて心拍に同期したチョッパ陰圧刺激をボランティアの上腕動脈に対して負荷し、負荷中および負荷後の血管の能動収縮について計測し、動脈の能動収縮を生じさせるのに最適なチョッパ陰圧刺激条件の検討を行った。その結果、従来のステップ陰圧負荷時間である 2 分間に対し、チョッパ陰圧負荷 30 秒でも同程度の血管収縮が生じること、従来と同じ 2 分間のチョッパ陰圧負荷ではより大きな収縮が生じることなどが確認された。さらに圧除荷時に画像取得を行う

ため、従来の PMC 計測で生じていた圧負荷による血管移動の問題も解決できる可能性が示唆された。

今後、広い年代や様々な健康状態の被験者のデータを蓄積し、FMD 計測による内皮機能評価と C-PMC 計測による平滑筋機能評価を併せて、血管健康度の評価方法の検討が必要である。

3) ベイリス効果検討のための動物モデル構築

ベイリス効果を動物で再現するため、実験モデル構築について検討した。家兎(体重 2kg 程度)の頸動脈を対象とし、麻酔下で血管を周辺組織から剥離・露出させ、血管周囲の温度維持や希薄濃度のノルアドレナリンを用いる等の実験環境を整えた。これを用いて観察される FMD 応答が内皮細胞機能によるものかを確認するため、内皮細胞機能を低下させて計測を行った。内皮細胞機能を低下させるために、血管を圧平するための圧平デバイスを用いて物理的なダメージを施し、圧平前後の FMD 応答を計測した。その結果、圧平後は FMD 応答が減弱した。また計測後にこの血管を摘出し、走査型電子顕微鏡で血管内腔を観察した結果、内皮細胞の部分的な剥離や形態変化などが観察され、圧平後の FMD 応答減弱が内皮細胞の受けたダメージによる可能性が示唆された。

今後、本動物モデルを用いて C-PMC 法によるベイリス効果の詳細な検討を行い、さらに FMD 法と併せることで、平滑筋細胞や内皮細胞の機能を明らかにするために有用であると考えられる。

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 1 件)

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) 査読有
DOI: 10.5136/lifesupport.25.143

[学会発表](計 8 件)

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
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-Nano Mechatronics and Human Science

(MHS2013), 2013.11.10-13, Nagoya, Japan

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

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

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 - Rio Grande do Norte, Brazil

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: 血圧測定時の血管圧平が血管に与える影響に関する基礎研究、日本機械学会東海支部第 44 回学生員卒業研究発表講演会、2012.11.2-4, 名古屋

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-径関係の非侵襲的計測の試み、生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会、2013.3.7, 三重

6. 研究組織

(1) 研究協力者

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

益田 博之 (Masuda, Hiroshi)
(株)ユネクス・社長