

該当なし。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

心筋微小血管造影装置を用いた肺高血圧症例における肺微小血管閉塞の同定と予後との関係

分担研究者 越後茂之 国立循環器病センター臨床栄養部長（小児科）

**研究要旨：**小児で著明な肺高血圧を示す症例として、先天性心疾患に合併した肺高血圧、原発性血管性肺高血圧のほか、新生児遷延性肺高血圧などがある。新生児遷延性肺高血圧は感染症、羊水吸引、先天性肺低形成、横隔膜ヘルニアなど種々の原因によって起こるが、我々は既報の原因いずれでも説明できない特異な病態を有した乳児例に対して、肺血管の病態を把握して適切な治療法を選択しようとした。しかし、有効な診断法の一つである肺生検は侵襲的方法であるためいっそう病状を悪化させる懸念から実施できず、これに代わる方法として心筋微小血管造影装置を用いる肺血管の病態評価を計画した。心筋微小血管造影装置は、通常的心血管造影装置に比して遙かに径が小さい血管の造影が可能とされているが、肺血管について臨床例に使用された経験はこれまでなかった。本年度は、心筋微小血管造影装置を用いた初めての臨床例に対する肺血管造影像について、上記の乳児例に用いた分析結果を報告する。

#### A. 研究目的

心筋微小血管造影装置を用いた血管造影像の対象となった生後2か月の乳児は、新生児遷延性肺高血圧と診断された。新生児遷延性肺高血圧は感染症、羊水吸引、先天性肺低形成、横隔膜ヘルニアなど種々の原因によって起こるが、本患者の遷延性肺高血圧は、既報の原因のいずれでも説明できない特異な病態を示し、生後2か月の段階でも、人工呼吸管理、エポプロステノール持続注入等の濃厚治療にも関わらず肺高血圧の改善は見られず、一酸化窒素の持続吸入時のみ肺血圧の低下が認められた。病状の改善を得るためには原因の究明が必要不可欠と考えられた。通常的心血管造影装置による肺血管造影を施行したが異常所見は認められず、さらなる病因の追求には肺生検が必要であると考えられたが、侵襲が極めて強いため患者の病状を勘案すると生命に関わる危険性が危惧された。

心筋微小血管造影装置は、通常的心血管造影装置に比して遙かに径が小さい血管の造影が可能とされており、これによって肺血管系の微小血管障害の評価が可能であれば、末梢血管の精密な分析から新生児遷延性肺高血圧の診断に有用となる可能性がある。今回の研究の目的は、臨床例に対する心筋微小血管造影装置による肺動脈血管造影から、肺動脈微小血管の造影像の有用性とその安全性を検討することにある。

#### B. 研究方法

新エネルギー産業技術総合開発機構(NEDO)の支援のもと、浜松ホトニクス(株)を中心に、NHK エンジニアリングサービス、国立循環器病センター研究所、東海大学医学部等が協力して開発された病院設置型の微小血管造影装置は、高出力のCT用X線源とハイビジョンの高感度撮像系により構成され、

50 $\mu$ m 程度の血管まで評価可能となっている。安全性について、実際の撮影では測定位置は X 線管から約 100cm の距離にあり、皮膚吸収線量は 10 秒照射で 300mSv の被爆量となる。また、散乱線はファントムより水平に 100cm 離れた位置で、10 秒照射時に 0.1mSv の被爆量である。

この病院設置型微小血管造影装置を使用した肺動脈造影による新生児遷延性肺高血圧症例に対する微小血管障害の評価に関する臨床研究は、臨床例に対する初の肺動脈造影であるため、国立循環器病センターの倫理委員会に研究の承認申請を行い、承認後に肺動脈造影を実施する。

対象は、新生児遷延性肺高血圧と診断された生後 2 か月の男児である。

両親からインフォームドコンセントを得た後、末梢肺動脈疾患の評価と微小循環造影法を行う。微小血管造影は心臓カテーテル検査室にて肺動脈にカテーテルを留置した後に透視装置で再度カテーテル先端の位置を確認して肺動脈造影を施行する。同時に、放射線の照射線量と吸収線量の測定を行う。また、併せて皮膚の状態を評価し、放射線障害について検討する。造影剤の投与により肺高血圧が増悪することがあり、検査中は血圧と心電図変化の観察を行う。

撮影方法について、撮影部位は肺野の辺縁部に近い部位とし、前後像とする。視野の広さは 5cm 四方とする。また、撮影部位内に 100 $\mu$ m のワイヤーを留置して、血管径と比較する。造影剤は市販のヨード造影剤を使用して、造影用のカテーテルを肺動脈に挿入して造影を行う。微小血管造影法による撮影は、10 秒間撮影デジタルビデオ画像として記録する。

微小血管については、最小及び最大血管径などを計測する。

安全性についての検討項目として、放射線量並びに吸収線量を測定するほか、造影後に、発赤などの皮膚障害の有無を調べる。さらに、半年後に末梢血球の検査を行ってこれらに対する影響も調査する。

## C. 研究結果

### (1) 入院前の経過

臨床研究の対象患者は、自然分娩にて出生した。生後 6 時間後からチアノーゼに気付かれ、上下肢の経皮的酸素飽和度（以下 SpO<sub>2</sub>）に差異が認められ、先天性心疾患が疑われて当センターに搬送されて入院した。

### (2) 入院後の経過

入院時の呼吸数は 60 回/分で、多呼吸と陥没呼吸があり、酸素投与のない状態で SpO<sub>2</sub> は上肢で 90% 前半、下肢で 80% 後半であった。心エコーにて動脈管開存、卵円孔開存、高度の肺高血圧と診断した。SpO<sub>2</sub> の上下肢差は収縮期に動脈管からの右左短絡によるもので、酸素投与によって上下肢差はなくなり、SpO<sub>2</sub> 100% となった。

日齢 1 に啼泣後に肺高血圧クライシスが生じ、人工呼吸管理および一酸化窒素 (NO) の吸入 (20 ppm) を開始した。肺血圧は体血圧を凌駕していたが、NO 吸入により動脈管は右左短絡のみから両方向性となった。しかし NO を 28 ppm にまで増量しても再び肺高血圧が進行してくるため、日齢 3 からエポプロステノルの持続静注を開始した。エポプロステノルの投与は 2.4 ng/kg/min から開始したが、その 10 分後には心エコー検査にて三尖弁逆流の血流速が 4.4 m/s から 3.7 m/s へと減少し、肺高血圧は軽減した。しかし、肺高血圧は再び増強しして、血圧、SpO<sub>2</sub> とも低下したため、エポプロステノルを徐々に増量した。

日齢 3 から四肢に浮腫を認め、日齢 5 には全身浮腫に進展した。高サイトカイン血症の関与による浮腫と考え、日齢 8、9 に交換輸血を施行した。尿量が増加し、浮腫は軽減した。日齢 13 から緑膿菌性肺炎により、心嚢液貯留、浮腫の増強を再び認めたため、日齢 14 に 3 回目の交換輸血を行い、浮腫は改善した。

日齢 3~34 にかけてエポプロステノルを増量した。日齢 35 の胸部 CT にて中枢領域の肺動脈陰影は伴走の気管支と同程度の太さであるが、血管成分自体は

肺野末梢まで認めていた。肺循環末梢域での毛細血管性の異常が疑われ、エポプロステノルン 51 ng/kg/min を維持とした。

肺高血圧の評価と薬剤の効果を判定するため、日齢 85 に心臓カテーテル検査を施行した。人工呼吸管理中で、このとき治療していたエポプロステノル 51 ng/kg/min、NO 28 ppm、FiO<sub>2</sub> 0.3 で肺血管抵抗 2.86 units×m<sup>2</sup>、主肺動脈圧 46/17/31 mmHgであったが、左房圧 8 mmHg、左右肺動脈楔入圧はそれぞれ 10、13 mmHg とこの間に圧差を認めた。また NO と酸素減量とともに肺血管抵抗、肺高血圧が上昇し、NO 中止時には肺血圧は体血圧を凌駕し、血圧、SpO<sub>2</sub> が低下したため NO を再開して改善した。またこのとき肺動脈造影検査も施行したが、肺血管の末梢域での変化は認めず、血流も流入、流出とも良好であった。

CT、心臓カテーテル検査から肺循環末梢域での毛細血管性の異常が考えられた。通常の血管造影検査では 200 μm 程度の血管までしか描出することができず、その血管は 200 μm よりも小さな血管であることが示唆された。倫理委員会の承認後に(日齢 116) に病院設置型の微小血管造影装置による肺動脈造影を施行することにして、国立循環器病センター倫理委員会に「新生児遷延性肺高血圧症例に対する微小血管障害の評価のための肺動脈造影を含む臨床研究」の審査を申請して承認された。

### (3) 微小肺血管造影

微小肺血管造影時の体重は 4.5 kg であった。まず、心臓カテーテル検査室で右肺動脈にカテーテルを留置した。

微小肺血管造影は、以下の条件下で施行した。

- ① 呼吸は人工換気で、フローラン 51 ng/kg/min 持続投与した。
- ② NO と FiO<sub>2</sub> の値は以下のように変更した。
  - i NO 28 ppm、FiO<sub>2</sub> 0.3 (治療量)
  - ii NO 中止、FiO<sub>2</sub> 0.3
  - iii NO 40 ppm、FiO<sub>2</sub> 1.0

NO 中止時に肺血圧は体血圧を凌駕し、NO 40ppm にした後肺高血圧は軽減した。

撮影方向については、体厚 8 cm の家兎の前面に 10 cm アクリル板を配置した状態でも肺血管が観察できた経験から、患児の胸壁の高さは 7 cm であるため正面撮影で十分観察可能と考えて施行した。

NO 中止時と NO 40 ppm の造影を比較すると、50～100 μm の末梢肺血管像が NO 40 ppm のときに多く認められた。NO によりこのレベルの肺血管が拡張したためと考えた。

1 回造影当たりの被爆放射線量は、病院設置型の微小血管造影装置で 170 mSv、通常の造影検査装置による 20-30 mSv に比して高値であった。造影後、発赤等の皮膚の変化は認められなかった。

### E. 結論

心筋微小血管造影装置を用いた肺動脈造影は、少なくとも 4.5 kg の体重の小児については、50-100 μm の末梢肺血管像の分析が可能であった。この結果から、シルデナフィルの投与を治療として選択することになった。微小血管造影装置による肺動脈微小血管造影の被爆放射線量は通常の造影検査装置によるものより多かったが、造影回数を限定するなどすれば、肺高血圧を合併する先天性心疾患に対する適切な治療方針決定に有用な方法となる可能性がある。

### G. 研究発表

#### 【論文発表】

1. Ohuchi H, Hayashi T, Yamada O, Echigo S: Change in plasma volume during peak exercise in patients with cyanotic congenital heart disease after definitive operation. *Int J Cardiol*, 108(2): 216-223, 2006.
2. Ohuchi H, Miyazaki A, Watanabe T, Yamada O, Yagihara T, Echigo S: Hemodynamic deterioration

during simulated supraventricular tachycardia in patients after the Fontan operation. Int J Cardiol, 2006.

3. Suzuki H, Ohuchi H, Hiraumi Y, Yasuda K, Echigo S: Effects of postural change on oxygen saturation and respiration in patients after the Fontan operation: platypnea and orthodeoxia. Int J Cardiol, 106(2): 211-217, 2006.

#### 【学会発表】

1. Ohuchi H: " Impact of systemic ventricular morphology on long-term cardiac status in Fontan patients: Management of failing ventricles in adult wit congenital heart disease special reference to systemic right ventricle and post Fontan procedures", 8th Annual Meeting of Japanese Adult Congenital Heart Disease, Tokyo, 2006.01.06.
2. Yamada O, Matsuo M, Watanabe K, Echigo S: "Hemodynamic change with bosentan in pediatric pulmonary hypertensive patients", 2nd Scientific Symposium Dual ERA-From Scientific Innovation to Cornerstone Therapy, Tokyo, 2006.06.26.
3. 渡辺健, 山田修, 越後茂之: "窒素ガス吸入療法導入による左心低形成症候群に対する術前管理の変遷 ", 日本小児科学会学術集会 (第 109 回), 金沢, 2006.
4. 渡辺健, 山田修, 越後茂之: "肺血流増加型心疾患に対する低酸素濃度ガス吸入療法の肺血管抵抗に及ぼす影響 ", 第 42 回日本小児循環器学会総会, 名古屋, 2006.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

無し。

磁気共鳴法による心筋微小循環障害へのアプローチ

分担研究者 後藤 葉一 国立循環器病センター心臓血管内科部長

研究要旨：たこつぼ心筋障害は、急性心筋梗塞を思わせる胸痛と心電図変化を呈する急性疾患であり、磁気共鳴法(MRI)所見から心筋微小循環障害の存在が推測される。この病態の発症機序は依然として不明であり、その解明のために心筋微小血管造影法の臨床応用が望まれる。

A. 研究目的

近年、たこつぼ心筋障害 (Takotsubo cardiomyopathy, Apical ballooning syndrome) と呼ばれる病態が注目を集めている。たこつぼ心筋障害とは、急性心筋梗塞を思わせる突然の胸痛、心電図における急性心筋梗塞様の ST 上昇と回復期の巨大陰性 T 波、左室造影における左室心尖部に限局した「たこつぼ」様の収縮低下といった急性冠症候群に類似した特徴を有するものの、冠動脈造影において心表面の太い冠動脈に狭窄・閉塞病変を認めず、発症機序が依然として不明な病態をさす。

冠動脈疾患の標準的診断法として広く用いられている冠動脈造影法は、径 200 $\mu$ m 以上の冠動脈しか評価できないとされる。たこつぼ心筋障害では、冠動脈造影法による評価では心表面の太い冠動脈には狭窄病変が無く、心筋内の径 200 $\mu$ m 以下の細い冠動脈に何らかの異常が存在すると想定されているため、旧来の冠動脈造影法では発症機序にアプローチすることができない。

本研究では、心筋微小循環障害が病因や病態に関与すると想定されているたこつぼ心筋障害患者を対象として、造影磁気共鳴法(MRI)を用いて病態および病因へのアプローチを試みた。

B. 研究方法

国立循環器病センターに入院し、臨床症状、心電図、心エコー検査、冠動脈造影、左室造影などから診断されたたこつぼ心筋障害患者 8 例と対照群 5 例を対象とし、ガドリニウム(Gd)を用いた造影 MRI による心筋造影像を解析した。画像解析として、左室前壁の心尖部寄りと心基部に関心領域を設定し Gd 注入 2 分～20 分後の信号強度を評価するとともに、T2(横緩和)強調画像を評価した。撮像は、発症 1 週間後および 1、3、6 ヶ月後に施行した。

(倫理面への配慮)

個人情報保護に十分配慮し、個人を特定できる臨床情報を同意なく公表あるいは施設外へ提供しない。

C. 研究結果

対照群と比較してたこつぼ心筋障害患者では、左室壁運動異常部位に一致して Gd 造影後早期の信号強度の上昇が認められた(Gd 造影 2 分後の心基部に対する心尖部の信号強度比: 正常群 1.1 vs たこつぼ心筋障害群 2.5,  $p < 0.01$ )。Gd 造影におけるこの早期信号強度上昇所見は、発症 1 週間後から 3 ヶ月後まで持続し、その後徐々に減弱した。また T2 強調画像

では、左室壁運動異常部位に一致して貫壁性に信号強度上昇が認められ、心筋浮腫の存在が示唆された。さらに、たこつぼ心筋障害では、心筋梗塞症例で通常認められる遅延造影での信号強度上昇は認められず、心筋壊死巣がないことが確認できた。

#### D. 考察

本研究の結果、たこつぼ心筋障害では心筋壊死巣は存在せず、MRI 所見は心筋梗塞とは大きく異なること、それにもかかわらず組織障害の結果と推測される心筋浮腫所見が発症 1 週後も残存していることが示された。Gd 造影における早期信号強度上昇の病態生理学的意義は未確立であるが、心筋微小循環における透過性亢進、心筋間質における浮腫および Gd の洗い出し低下などを反映すると推測されている。これらを併せて考えると、たこつぼ心筋障害では、心筋壊死には至らないが、急性期の強い微小循環障害による心筋間質の浮腫状態が長期間残存することが示唆される。

前述のとおり、たこつぼ心筋障害ではその発症機序に冠微小循環障害が関与すると考えられている。しかし、現時点で冠微小循環の異常を直接証明する臨床的な手段がないために、原因は依然として不明である。今後病因・病態の解明に心筋微小血管造影の応用が必要と考えられる。

#### E. 結論

たこつぼ心筋障害は発症機序が不明な病態であり、病因・病態の解明のために心筋微小循環造影法の臨床応用が期待される。

研究協力医師： 野口輝夫(国立循環器病センター心臓血管内科)

#### G. 研究発表

##### 【論文発表】

1. Iwai N, Kajimoto K, Kokubo Y, Okayama A, Miyazaki S, Nonogi H, Goto Y, Tomoike H:

Assessment of genetic effects of polymorphisms in the MCP-1 gene on serum MCP-1 levels and myocardial infarction in Japanese. *Circ J*, 70(7): 805-809, 2006.

2. Takaki H, Sakuragi S, Nagaya N, Suzuki S, Goto Y, Sato T, Sunagawa K: Postexercise VO2 "Hump" phenomenon as an indicator for inducible myocardial ischemia in patients with acute anterior myocardial infarction. *Int J Cardiol*, 111(1): 67-74, 2006.
3. Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, Goto Y, Suzuki M, Harano Y, Nonogi H: Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Eur Heart J*, 27(10): 1159-1165, 2006.
4. Goto Y, Saito M, Iwasaka T, Daida H, Kohzuki M, Ueshima K, Makita S, Adachi H, Yokoi H, Omiya K, Mikouchi H, Yokoyama H: Poor implementation of cardiac rehabilitation despite broad dissemination of coronary interventions for acute myocardial infarction in Japan. *Circ J*, 71(2): 173-179, 2007.
5. Yasuda S, Miyazaki S, Kinoshita H, Nagaya N, Kanda M, Goto Y, Nonogi H: Enhanced cardiac production of matrix metalloproteinase-2 and -9 and its attenuation associated with pravastatin treatment in patients with acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond)*, 112(1): 43-49, 2007.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

無し。

脳再生血管の可視化

分担研究者 田口 明彦 国立循環器病センター研究所 循環動態機能部室長

研究要旨：糖尿病は心筋の微小循環障害だけでなく、脳循環を含む全身のあらゆる臓器の微小循環障害を惹起する。本研究においては、Spring8の放射光施設を用いて障害脳における微小血管構築を撮像するとともに、SPECTなどにより機能的脳血流量装置を用いた評価を総合することにより、細胞移植による血管再生に関する治療効果と病院設置型の微小血管造影法の技術目標を明らかにした。

A. 研究目的

糖尿病に起因する脳微小循環障害は脳血管性痴呆症などとの関連が示唆されているが、脳微小循環を適切に評価する撮像装置がないため、形態学的な脳微小循環障害の診断は臨床的に非常に困難である。本研究では脳梗塞動物モデルを用いて障害血管、再生血管および障害領域での血流評価を行うことにより、脳微小循環障害の可視化と技術目標の設定を目的とした研究を行った。

B. 研究方法

(1) 放射光を用いた微小血管の評価

SCID マウスを用いて脳梗塞モデルを作成し、細胞移植群においては脳梗塞 48 時間後に骨髄単核球移植を経静脈的に行った。脳梗塞 9 日後にハロタン吸入麻酔下でマウス頸部を正中切開し、両側頸動脈を露出した後に外頸動脈を結紮、PE-10 カテーテルを両側頸動脈に挿入し、micro-injector から 50 $\mu$ l/20sec で 370Img ヨード造影剤を注入し、Spring8 による放射光を用いて cine-microangiography 撮像し、障害された脳微小循環の循環動態に関する評価を行った。

(2) SPECT を用いた脳血流の評価

SCID マウスを用いて中大脳動脈塞栓後 9 日目で

ハロタン吸入麻酔下にて 123I-IMP 0.3 mCi を尾静脈より静注し、約 15 分後にジエチルエーテルにて安楽死させ直ちに開頭し脳標本を取り出した。摘出された脳標本は 1mm ピンホールコリメーターを用いた micro-SPECT(東芝 GCA7200)にて撮像した。撮像条件は 90 view (10sec/view) にて 360° 収集した。

(3) 障害脳微小循環の組織学的検討

脳梗塞 9 日後において脳梗塞周囲巣における血管内における白血球の浸潤や微小血管の構築などに関して組織学的な検討を行った。

C. 研究結果

(1) 放射光を用いた微小血管の評価

放射光における撮像では視野が非常に狭いこと、および顔面へ分布する外頸動脈へも造影剤が流出したことなどにより、脳梗塞領域がどの側副路から造影されるのかは判別できなかったが、コントロール群では梗塞領域の血管がほとんど描出されずに脳実質の造影効果が増強するのに対し、治療群では梗塞領域の血管がある程度描出されて数分経過した後に脳実質の造影効果が見られた。これらの結果からどちらの群でも脳血管関門の障害が存在するものの、コントロール群に比して治療群ではその障害程度が



軽度である可能性を示唆するものと考えている。

## (2) SPECT を用いた脳血流の評価

放射光を用いた微小血管の解剖学的評価と機能的脳血流との関連を検討するために SPECT による脳血流定量を行った。脳梗塞の中心領域においては細胞投与群およびコントロール群では同程度の血流低下が観察されたが、虚血の周辺領域における血流の定量的評価においては細胞投与群で有意な血流の増加が観察された。これらの結果は放射光における解剖学的な血管構築を反映しており、微小血管造影で得られた知見が機能的脳血流ともよく相関していることを示唆しているものと考えている。

## (3) 障害脳微小循環の組織学的検討

組織学的検討ではコントロール群においては、微小血管における白血球の著明な浸潤と破壊像が観察されたが、細胞治療群においては障害の程度は軽減されており、脳梗塞周辺部位での微小血管は比較的よく保たれていた。これらの微小血管で最小のものは直径が約 10 $\mu$ m であり、放射光で観察された血管よりさらに細い血管であると考えられた。また造影剤漏出範囲と microglia の浸潤範囲がほぼ一致しており、脳梗塞後における脳梗塞周囲の 2 次的な障害として脳血管閉塞障害が microglia 浸潤を来とし、脳萎縮を促進させる可能性が示唆された。

## D. 考察

本研究では放射光や SPECT および組織学的検討を通じて、脳梗塞後の血管血球系幹細胞移植が血管の保護作用や新生作用を有すること、血流の機能的な増加を促進すること、およびこれらの血管血球系幹細胞移植の作用部位は主に脳微小循環であることを明らかにした。糖尿病患者における微小循環障害と末梢血中に存在する血管血球系幹細胞の減少との関連を我々は既に明らかにしているが(Taguchi et al. *Circulation*, 2004)、今回の研究で得られた知見とよく合致していると考えている。また、直径 50-100 $\mu$ m 程度の解像度を持つ血管造影では毛細血管網の造影

は直接はできないものの、それらの血管の還流領域における微小血管機能を十分反映し、その評価は微小循環障害の可視化につながるものと考えている。

## E. 結論

放射光における脳血管造影の分解能は動画撮影では 50-100 $\mu$ m 程度であったが、それらの血管造影で得られた情報は、末梢のさらに微小な血管構築や機能をよく反映しており、既存の血管造影装置よりさらに解像度の高い機器の開発、臨床応用は糖尿病に起因する脳微小循環障害の可視化に非常に重要な意義を有していると考えている。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 【原 著】

1. Kikuchi-Taura A, Soma T, Matsuyama T, Stern D, Taguchi A: Quantifying CD34+ Cells in Peripheral Blood of the Patients With Cardiovascular Disease. *Texas Heart Institute Journal*, 33: 427-429, 2006.
2. Myojin K, Taguchi A, Umetani K, Fukushima K, Nishiura N, Matsuyama T, Kimura H, Stern DM, Imai Y, Mori H: Visualization of intracerebral arteries by synchrotron radiation microangiography. *American journal of neuroradiology (AJNR)*, 2007.
3. Yosihara T, Ohta M, Itokazu Y, Matsumoto N, Dezawa M, Suzuki Y, Taguchi A, Watanabe Y, Adachi Y, Ikehara S, Sugimoto H, Ide C: Neuroprotective Effect of Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells Promoting Functional Recovery from Spinal Cord Injury. *J. of Neurotrauma*, 2007(in press).

### 【総 説】

1. Taguchi A, Myojin K, Matsuyama T: 脳卒中に対

する再生医療的技術を用いた治療法の開発に関する研究. 脳卒中, 28(3): 433-436, 2006.

**【シンポジウム・講演】**

2. 田口明彦: "脳血管障害と再生医療 (講演)", 北海道大学工学部第2回生物機能高分子セミナー, 札幌, 2006.12.19.
3. 田口明彦: "脳血管障害に対する普遍的な治療法の確立 (講演)", 東牟婁郡医師会講演会, 和歌山, 2006.10.14.
4. 田口明彦: "脳血管障害に対する普遍的な再生医療の確立 (講演)", 東北大学 "中枢神経系の再生医療最前線" 講演会, 仙台, 2006.07.20.

**【学会発表】**

1. 田口明彦: "脳梗塞後の骨髄単核球移植による脳微小血管網保護を介した神経機能回復 (学会発表)", 脳卒中学会総会, 福岡, 2007.03.23.

H. 知的財産の申請

なし

再生医療技術の開発

分担研究者 福山 直人 東海大学 講師

研究要旨：本研究における分担研究者の役割は、微小血管造影の開発に伴う微小血管障害の可視化における実際の動物実験モデル作成及び新たな再生医療技術の開発である。本年度は前年に引き続き微小血管造影装置開発に伴うファントムの作成を行うだけでなく、特に糖尿病患者に多く認められる虚血性心疾患の中でも急性心筋梗塞に焦点を当て、その動物実験モデルを作成し、今回新たに開発中である微小血管撮影造影装置が現存する血管造影装置より血管新生を証明するために有用であることを明らかにし、今研究で開発された血管造影装置が様々な微小血管障害を引き起こす疾患の診断に有用であることを示す研究を行った。

A. 研究目的

本研究課題は、通常の血管造影では撮影することのできない微小血管を造影しうる新たな微小血管造影装置を開発することである。そのため、分担研究者は現在開発中である微小血管造影装置が有用であることを示すため、ファントムの撮影を行うための動物実験モデルを作成した。また、糖尿病のような血管障害を発生する疾患で生命予後に深く関与する虚血性心疾患モデルを利用し、その微小血管障害の描出に、今回新たに開発された微小血管造影装置が有用であることを明らかにし、さらに従来の血管造影では描出困難であった大腸癌モデルにおいても腫瘍による新生血管の描出が可能であることを明らかにし今後本研究課題で開発された血管造影装置が広く応用されるための礎となる研究を行った。

B. 研究方法

ファントムの作成に関しては、ネンプタールを用いた全身麻酔下で犬の冠動脈や脳血管に対してカテーテルを用いて選択的にヨードマイクロスフ

ェア-を充てんすることにより作製を行った。

ラット虚血性心疾患モデルの作製は、フォーレンを用いた全身吸入麻酔下においてラットの大腿動脈を結紮切離するモデルを利用し、微小血管描出の評価を行った。また既に我々は、虚血性心疾患における血管新生に iNOS が関与していることを明らかにしており、iNOS が関与する微小血管新生に関しても併せて評価を行った。

マウス大腸癌モデルの作製は、フォーレンを用いた全身吸入麻酔下においてマウスの大腸に腫瘍細胞を移植するモデルを利用し、微小血管描出の評価を行った。

（倫理面への配慮）

1. 動物実験に関しては、東海大学医学部の動物実験規定に従い研究を遂行した。
2. 遺伝子組み換え生物や遺伝子の使用による研究に関しては、東海大学医学部の動物実験委員会および倫理委員会の承諾のもと研究を遂行した。

### C. 研究結果

作成したファントムは、国立循環器病センターや日立メディコに搬送し、代表研究者や他の分担研究者らにより開発中の微小血管造影装置が 5 μm 程度の微小血管を造影することができることが明らかとなり、さらに 3次元での描出も可能であった。

虚血性心疾患モデルを用いた検討においては、従来の血管造影法では新たに新生する微小血管を造影することはできなかったが、本研究で開発中の微小血管造影装置を用いることにより、新生血管をはっきりと描出することができることが明らかとなった。FITCゲルを用いた微小血管造影と比較検討も行ったが、本研究で開発中の微小血管造影装置による描出は有意差をもって優れていた。本検討の中で iNOS 遺伝子による虚血性心疾患における血管新生の抑制が明らかとなったが、この知見は、従来の血管造影法では、見いだすことはできなかったことである。

また、マウス大腸癌モデルの検討においても本研究で開発された血管造影装置を用いることにより従来描出することができなかった腫瘍による血管新生を描出することが可能であることが明らかとなり、他の疾患における微小血管の描出にも有用であることが明らかとなった。

### D. 考察

本研究で、動物モデルを用いた検討において、新たに開発された微小血管造影装置の開発は今まで映し出すことができなかった細かい血管を描出することができ充分臨床応用が可能であることが明らかとなった。さらに、iNOS 遺伝子をターゲットとした新たな血管新生療法や抗血管新生療法の開発の可能性が示され、今後の臨床応用が期待される。

### E. 結論

本研究で解像度の優れた新たな微小血管造影装置の開発が行われ、実験動物レベルでは既存の血管造影法に比較し、有意な微小血管の撮影を行うことが可能であり、3次元で描出可能であることが示唆された。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 【論文発表】

1. Fukuyama N, Onuma T, Jujo S, Tamai Y, Suzuki T, Sugio Y, Tabata Y, Ishihara Y, Takano J, Mori H: Efficient preparation of cationized gelatin for gene transduction. Tokai J Exp Clin Med, 31(2): 49-52, 2006.
2. Goto T, Fukuyama N, Aki A, Kanabuchi K, Kimura K, Taira H, Tanaka E, Wakana N, Mori H, Inoue H: Search for appropriate experimental methods to create stable hind-limb ischemia in mouse. Tokai J Exp Clin Med, 31(3): 128-132, 2006.
3. Kimura K, Goto T, Yagi K, Furuya H, Jujo S, Itoh J, Sawamura S, Koide S, Mori H, Fukuyama N: Biphasic of inducible nitric oxide synthase in a hind limb ischemia model. J.Clin.Biochem.Nutr., 38(2): 1-8, 2006.
4. Kimura K, Shinozaki Y, Jujo S, Shizuma T, Fukuyama N, Nakazawa H: Triiodothyronine acutely increases blood flow in the ventricles and kidneys of anesthetized rabbits. Thyroid, 16(4): 357-360, 2006.
5. Fukuyama N, Tanaka E, Tabata Y, Fujikura H, Hagihara M, Sakamoto H, Ando K, Nakazawa H, Mori H: Intravenous injection of phagocytes transfected ex vivo with FGF4 DNA/biodegradable gelatin complex promotes

angiogenesis in a rat myocardial  
ischemia/reperfusion injury model. Basic Res  
Cardiol, 2006 online.

6. Fukuyama N, Jujo S, Ito I, Shizuma T, Myojin K,  
Ishiwata K, Nagano M, Nakazawa H, Mori H:  
Kurozu moromimatsu inhibits tumor growth of  
Lovo cells in a mouse model in vivo. Nutrition,  
23(1): 81-86, 2007.

【学会発表】

1. 静間徹, 重城志緒, 石渡一夫, 中澤博江, 盛  
英三, 長野正信, 福山直人: "DSS 誘発性大腸  
炎マウスにおける黒酢の効果", 第 22 回日本  
静脈経腸栄養学会, 愛媛, 2007.2.

- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 別紙 4

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

	著者名	タイトル	書籍全体編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1	竹下聡	VEGF/VEGF-E (末梢動脈疾患)	松本邦夫, 田畑泰彦	細胞増殖因子 と再生医療	メディカルビ ュー社	大阪	2006	304-308

## 雑誌

	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
1	Fukuyama N, Tanaka E, Tabata Y, Fujikura H, Hagihara M, Sakamoto H, Ando K, Nakazawa H, Mori H	Intravenous injection of phagocytes transfected ex vivo with FGF4 DNA/biodegradable gelatin complex promotes angiogenesis in a rat myocardial ischemia/reperfusion injury model	Basic Res Cardiol		8	2006 online
2	Goto Y, Saito M, Iwasaka T, Daida H, Kohzuki M, Ueshima K, Makita S, Adachi H, Yokoi H, Omiya K, Mikouchi H, Yokoyama H	Poor implementation of cardiac rehabilitation despite broad dissemination of coronary interventions for acute myocardial infarction in Japan	Circ J.	71 (2)	173-179	2007
3	Yasuda S, Miyazaki S, Kinoshita H, Nagaya N, Kanda M, Goto Y, Nonogi H	Enhanced cardiac production of matrix metalloproteinase-2 and -9 and its attenuation associated with pravastatin treatment in patients with acute myocardial infarction	Clin Sci (Lond)	112 (1)	43-49	2007
4	Igarashi T, Oishi Y, Araki S, Mori H, Takeda S	Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of two vascular apoptosis-inducing proteins (VAPs) from Crotalus atrox venom	Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun	62 (Pt 7)	688-691	2006
5	Sato E, Hayasi Y, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Ido H	K-edge angiography utilizing a tungsten plasma x-ray generator in conjunction with gadolinium-based contrast media	Rad.Phys.Che m.	75	1841-18 49	2006
6	Amino M, Yoshioka K, Tanabe T, Tanaka E, Mori H, Furusawa Y, Zareba W, Yamazaki M, Nakagawa H, Honjo H, Yasui K, Kamiya K, Kodama I	Heavy ion radiation up-regulates Cx43 and ameliorates arrhythmogenic substrates in hearts after myocardial infarction	Cardiovasc Res	72 (3)	412-421	2006
7	Ben Ammar Y, Takeda S, Hisamitsu T, Mori H, Wakabayashi S	Crystal structure of CHP2 complexed with NHE1-cytosolic region and an implication for pH regulation	Embo J	25 (11)	2315-23 25	2006

8	Enomoto T, Sato E, Sumiyama Y, Aizawa K, Watanabe M, Tanaka E, Mori H, Kawakami H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S	Enhanced magnification angiography using 20-um-focus tungsten tube	Jpn. J. Appl. Phys.	45	8005-8009	2006
9	Fukuyama N, Onuma T, Jujo S, Tamai Y, Suzuki T, Sugio Y, Tabata Y, Ishihara Y, Takano J, Mori H	Efficient preparation of cationized gelatin for gene transduction	Tokai J Exp Clin Med	31 (2)	39-42	2006
10	Goto T, Fukuyama N, Aki A, Kanabuchi K, Kimura K, Taira H, Tanaka E, Wakana N, Mori H, Inoue H	Search for appropriate experimental methods to create stable hind-limb ischemia in mouse	Tokai Journal	31	128-132	2006
11	Hirata A, Minamino T, Asanuma H, Fujita M, Wakeno M, Myoishi M, Tsukamoto O, Okada K, Koyama H, Komamura K, Takashima S, Shinozaki Y, Mori H, Shiraga M, Kitakaze M, Hori M	Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs	J Am Coll Cardiol	48 (1)	176-184	2006
12	Iwai N, Kajimoto K, Kokubo Y, Okayama A, Miyazaki S, Nonogi H, Goto Y, Tomoike H	Assessment of genetic effects of polymorphisms in the MCP-1 gene on serum MCP-1 levels and myocardial infarction in Japanese	Circ J	70 (7)	805-809	2006
13	Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M	Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release	Life Sci	78 (8)	882-887	2006
14	Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Uemura K, Kamiya A, Shishido T, Mori H, Sugimachi M	Effects of Ca <sup>2+</sup> channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291 (5)	H2187-2191	2006
15	Kikuchi-Taura A, Soma T, Matsuyama T, Stern D, Taguchi A	Quantifying CD34+ Cells in Peripheral Blood of the Patients With Cardiovascular Disease	Texas Heart Institute Journal	33	427-429	2006
16	Kimura K, Goto T, Yagi K, Furuya H, Jujo S, Itoh J, Sawamura S, Koide S, Mori H, Fukuyama N	Biphasic of inducible nitric oxide synthase in a hind limb ischemia model	J.Clin.Biochem.Nutr.	38 (2)	1-8	2006

17	Kimura K, Shinozaki Y, Jujo S, Shizuma T, Fukuyama N, Nakazawa H	Triiodothyronine acutely increases blood flow in the ventricles and kidneys of anesthetized rabbits	Thyroid	16 (4)	357-36 0	2006
18	Kuroko Y, Tokunaga N, Yamazaki T, Akiyama T, Ishino K, Sano S, Mori H	Effect of sustained limb ischemia on norepinephrine release from skeletal muscle sympathetic nerve endings	Neurochem Int	49	448-453	2006
19	Masuda M, Takeda S, Sone M, Ohki T, Mori H, Kamioka Y, Mochizuki N	Endophilin BAR domain drives membrane curvature by two newly identified structure-based mechanisms	Embo J		1-9	2006
20	Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, Yanagawa B, Tanaka K, Hao H, Ishino K, Ishida H, Shimizu T, Kangawa K, Sano S, Okano T, Kitamura S, Mori H	Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction	Nat Med	12 (4)	459-465	2006
21	Miyahara Y, Ohnishi S, Obata H, Ishino K, Sano S, Mori H, Kangawa K, Kitamura S, Nagaya N	Beraprost sodium enhances neovascularization in ischemic myocardium by mobilizing bone marrow cells in rats	Biochem Biophys Res Commun	349 (4)	1242-12 49	2006
22	Miyamoto K, Nishigami K, Nagaya N, Akutsu K, Chiku M, Kamei M, Soma T, Miyata S, Higashi M, Tanaka R, Nakatani T, Nonogi H, Takeshita S	Unblinded pilot study of autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells in patients with thromboangiitis obliterans	Circulation	114 (24)	2679-26 84	2006
23	Sato E, Hayashi Y, Germer R, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J	X-ray Spectra from Weakly Ionized Linear Copper Plasma	Japanese Journal of Applied Physics	45 (6A)	5301-53 06	2006
24	Sato E, Hayasi Y, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J, Ido H.	Preliminary study for producing higher harmonic hard x-rays from weakly ionized nickel plasma	Rad.Phys.Che m.	75	1812-18 18	2006
25	Sato E, Sugiyama H, Ando M, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Takayama K, Onagawa J, Ido H	Tunable narrow-photon-energy x-ray generator utilizing a tungsten-target tube	Rad. Phys. Chem.	75	2008-20 13	2006



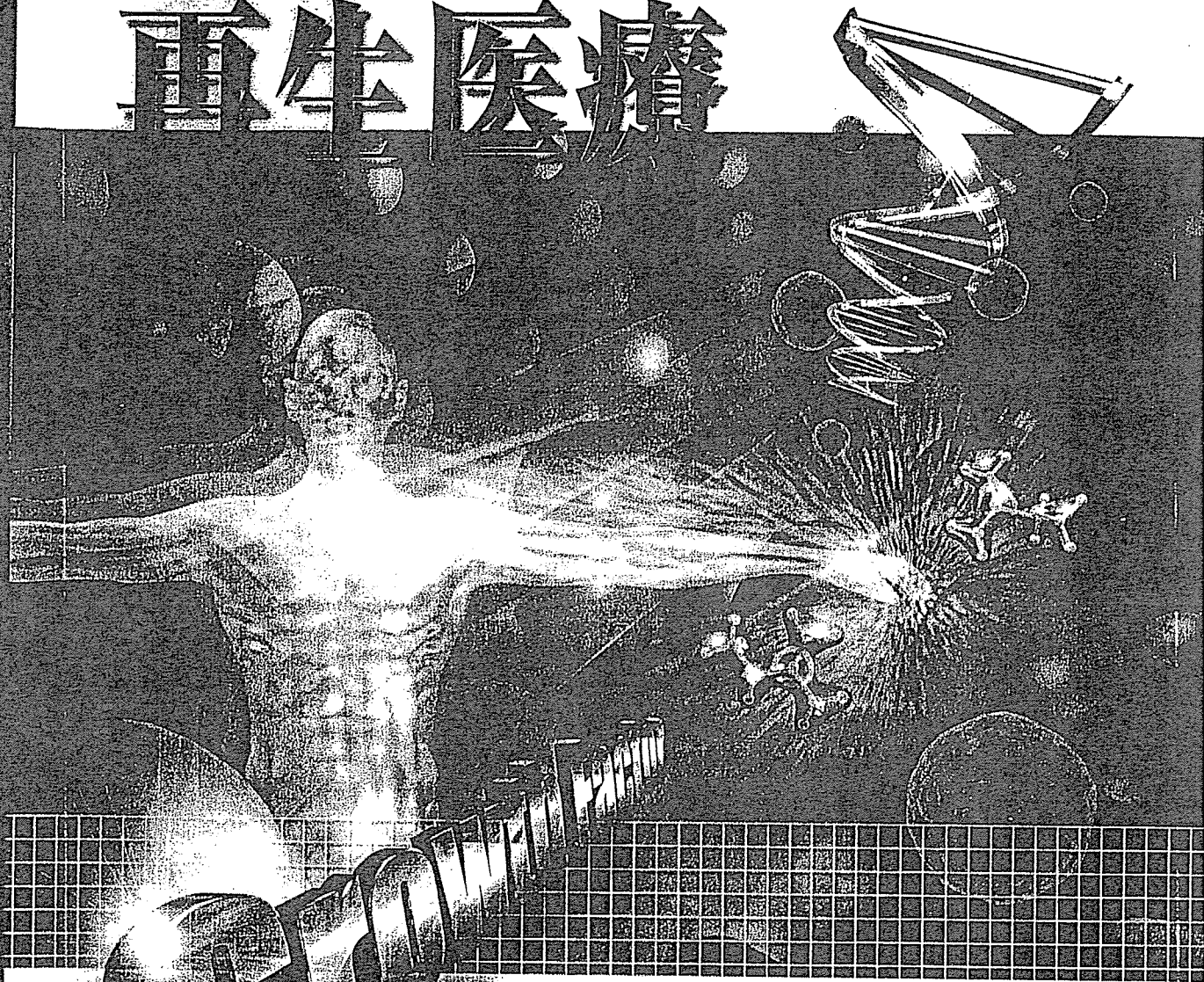
26	Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K	Enhanced real-time magnification angiography utilizing a 100- $\mu$ m-focus x-ray generator in conjunction with an image intensifier	SPIE	6319 (63190J)	1-7	2006
27	Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K	Super-characteristic x-ray generator utilizing a pipe and rod target	SPIE	6319 (63190Q)	1-6	2006
28	Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K	Demonstration of enhanced K-edge angiography using a samarium target x-ray generator	SPIE	6319 (63190L)	1-6	2006
29	Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J	Characteristic X-ray Generator Utilizing Angle Dependence of Bremsstrahlung X-ray Distribution	Japanese Journal of Applied Physics	45 (No. 4A)	2845-2849	2006
30	Takahama H, Minamino T, Hirata A, Ogai A, Asanuma H, Fujita M, Wakeno M, Tsukamoto O, Okada K, Komamura K, Takashima S, Shinozaki Y, Mori H, Mochizuki N, Kitakaze M	Granulocyte colony-stimulating factor mediates cardioprotection against ischemia/reperfusion injury via phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway in canine hearts	Cardiovasc Drugs Ther	20 (3)	159-165	2006
31	Suenaga M, Kaneko Y, Kadokawa J, Nishikawa T, Mori H, Tabata M	Amphiphilic poly(N-propargylamide) with galactose and lauryloyl groups: synthesis and properties	Macromol Biosci	6 (12)	1009-1018	2006
32	Takaki H, Sakuragi S, Nagaya N, Suzuki S, Goto Y, Sato T, Sunagawa K	Postexercise VO <sub>2</sub> "Hump" phenomenon as an indicator for inducible myocardial ischemia in patients with acute anterior myocardial infarction	Int J Cardiol	111 (1)	67-74	2006
33	Takeda S, Igarashi T, Mori H, Araki S	Crystal structures of VAP1 reveal ADAMs' MDC domain architecture and its unique C-shaped scaffold	Embo J	25 (11)	2388-2396	2006
34	Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Haruna Y, Morita Y, Kashiwara N, Shinozaki Y, Mori H, Goto M,	Cardioprotective role of endogenous hydrogen peroxide during ischemia-reperfusion injury in canine coronary microcirculation in vivo	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291 (3)	H1138-1146	2006

	Ogasawara Y, Kajiya F					
35	Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, Goto Y, Suzuki M, Harano Y, Nonogi H	Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase	Eur Heart J	27 (10)	1159-1165	2006
36	Taguchi A, Myojin K, Matsuyama T	脳卒中に対する再生医療的技術を用いた治療法の開発に関する研究	脳卒中	28 (3)	433-436	2006
37	竹下聡	閉塞性動脈硬化症、循環器疾患の早期発見の最前線	モダンフィジシャン	26	782	2006
38	竹下聡, 知久正明	微小血管造影－新生血管描出への応用－	Cardiac Practice	17	387-390	2006
39	菅弘之, 盛英三, 馬場嘉信, 杉町勝	ナノメディシン・プロジェクト－厚生労働省指定型ナノメディシン・プロジェクトを中心にして－	分子心血管病	7(4)	327-339	2006
40	盛英三, 武田壮一, 五十嵐智子, 柴田洋之	特発性心筋症の原因解明と治療法開発に向けた構造生物学的アプローチ	医学のあゆみ	217 (8)	819-824	2006
41	盛英三, 武田壮一, 若林繁夫, 井上裕康, ユーセフベンアマー, 松原孝宜, 五十嵐智子, 柴田洋之	疾患関連蛋白のサブナノ構造イメージングと分子標的薬剤の開発；ナノイメージング構造	分子心血管病	7(4)	340-346	2006
42	盛英三, 望月直樹, 武田壮一, 井上裕康, 中村俊, 土屋利江	特集：ナノテクノロジーと医療ナノレベルイメージングによる分子構造と機能の解析	日本臨床	64	358-364	2006

# 細胞増殖因子と

GROWTH FACTOR & REGENERATIVE MEDICINE

# 再生医療



細胞増殖因子と再生医療

編集

松本 邦夫  
田畑 泰彦

メディカルレビュー社

編集

松本 邦夫

大阪大学大学院医学系研究科分子再生医学 助教授

田畑 泰彦

京都大学再生医科学研究所 生体組織工学研究部門 生体材料科学分野 教授

メディカルレビュー社

## 8. VEGF/VEGF-E

## 末梢動脈疾患

竹下 聡 TAKESHITA Satoshi

国立循環器病センター 心臓血管内科


**末梢動脈疾患とは**

末梢動脈疾患 (peripheral artery disease : PAD) とは、末梢動脈の狭窄や閉塞によって、四肢をはじめとする末梢組織に虚血をきたすような疾患を指す。末梢動脈疾患には、閉塞性動脈硬化症、閉塞性血栓性血管炎 (Buerger病)、膠原病に伴う血管炎などが含まれるが、その中でも最も多いのは閉塞性動脈硬化症である。閉塞性動脈硬化症では、末梢動脈の粥状動脈硬化により血管内腔の狭窄が進行し下肢に虚血が生じる。これに伴い、しびれ、冷感、間歇性跛行 (後述)、疼痛、潰瘍、壊疽などのさまざまな症状が出現する。欧米における罹患率は人口の数%程度とされているが、わが国における確立された疫学データは残念ながら存在しない。自覚症状による病期分類としてFontaine分類が代表的である (表)。Fontaine I度の軽症患者に対しては、禁煙指導や糖尿病・高血圧など動脈硬化の危険因子をコントロールしながら経過観察するのが通常である。病状が進行してくると、Fontaine II度にもみられるような間歇性跛行が出現する。間歇性跛行とは、一定距離の歩行後に下肢の疼痛が出現するが、休息により痛みは消失し、再び歩行可能

表 Fontaine分類

グレード	症状
I	なし (しびれ, 冷感)
II	間歇性跛行
III	安静時疼痛
IV	皮膚潰瘍, 壊疽