

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

# 心臓足首血管指数（CAVI）による動脈血管弾性の機能的調節機構の薬理的解析

東邦大学大学院 薬学研究科 薬物治療学研究室

3012004 千葉 達夫 印

## 【背景・目的】

血液が心臓から駆出されると脈波が生じ、それは大動脈を經由して末梢へと伝搬される。大動脈をはじめとする太い動脈の解剖学的特徴は弾性板を有することであり、脈波による衝撃を吸収し、Windkessel効果により左室からの駆出波を定常流に変換する。この効果は効率的な血液循環に寄与し、末梢臓器の保護にも結びつく。一方で、血管に器質的な変化が生じて血管弾性が低下した病態が動脈硬化であり、末梢臓器の機能障害のリスク因子として知られている。これまでに動脈硬化の進展度を血管弾性能として定量化する試みがなされ、心臓足首血管指数（cardio ankle vascular index : CAVI）が近年に臨床応用された。この指標は、ヒト総頸動脈の内圧と径変化から導き出された stiffness parameter  $\beta$  理論に基づいて確立したものであり、高値であるほど血管弾性能の低下を示す。CAVIは、年齢、冠動脈疾患の重篤度、中膜内膜複合体といった動脈硬化パラメータと正相関し、動脈の器質的な変化に関連した血管弾性の変化を定量的に表す指標として位置付けられている。

動脈は血管の構造により大動脈等の弾性動脈、分布動脈、筋性動脈、細動脈等に分類されている。また、動脈には多くの血管平滑筋細胞が存在し、その機能は神経体液性因子により制御されることが知られている。これまでのCAVIを用いた臨床検査では、月単位または年単位で動脈に生じる器質的な変化に着目してきた。しかし、CAVIで検出可能な動脈の血管弾性能は、神経体液性因子の変動で生じる血管の機能的変化も含まれる可能性があり、これらを分単位あるいは秒単位で検出できるかもしれない。また、CAVIは stiffness parameter  $\beta$  理論に基づいているため、総頸動脈をはじめとする弾性動脈の血管弾性能を反映すると考えられるが、その範囲が筋性動脈や細動脈にまで及ぶかについては明らかでない。細動脈の血管緊張性の変化（機能的変化）が血圧値の変動として示されてきたように、動脈血管弾性の機能的変化をCAVI値の変化として表すことができる可能性が考えられる。

本研究ではこれらの点を明らかにするため、ウサギを用いたCAVI計測モデルを新規に構築した。第1章では、2種類の血管拡張薬（ニトログリセリンおよびニカルジピン）がCAVIに与える影響を検討し、CAVIが検出できる動脈血管の特性を薬理的に検討した。第1章の成績をもとに、第2章では血管内皮細胞に由来する一酸化窒素（NO）による動脈血管弾性の機能調節機構を、第3章では交感神経による動脈血管弾性の機能調節機構を薬理的に解析した。

## 【方法】

New Zealand White系ウサギを用いた。ケタミンとキシラジンで麻酔導入し、ハロセンにて維持麻酔された条件で実験を行った。体表面心電図、心音図、上腕および下腿動脈の血圧を同時記録し、これらの生体信号より常法に従ってCAVIを計測した。また、超音波血流計を用いて大腿動脈血流量を測定し、得られた数値より下肢の血管抵抗を算出した。耳介静脈より薬物を投与し、投与開始から20～30分後まで各指標の変化を観察した。

【結果および考察】

第1章 CAVIが検出できる動脈血管の特性に関する薬理的検討

＜目的＞主に筋性動脈に作用するニトログリセリンと主に細動脈に作用するニカルジピンが CAVI に与える作用を比較検討し、CAVI が検出可能な動脈血管の特性を明らかにする。

＜結果＞ニトログリセリンは、CAVI、上腕動脈血圧および下肢血管抵抗を低下させた（図 1）。ニカルジピンは、上腕動脈血圧および下肢血管抵抗を低下させたが、CAVI に影響を与えなかった。

＜考察＞急性投与したニトログリセリンが CAVI を低下させた。この結果より、CAVI が分単位で生じる動脈血管弾性の機能的変化を検出できることが示された。一方、同程度に血圧を低下させるニカルジピンは下肢血管抵抗を低下させたが、CAVI に影響を与えなかった。以上の結果より、CAVI は細動脈における血管抵抗を反映せず、弾性動脈から筋性動脈にかけての動脈血管弾性を反映すると考えられた。

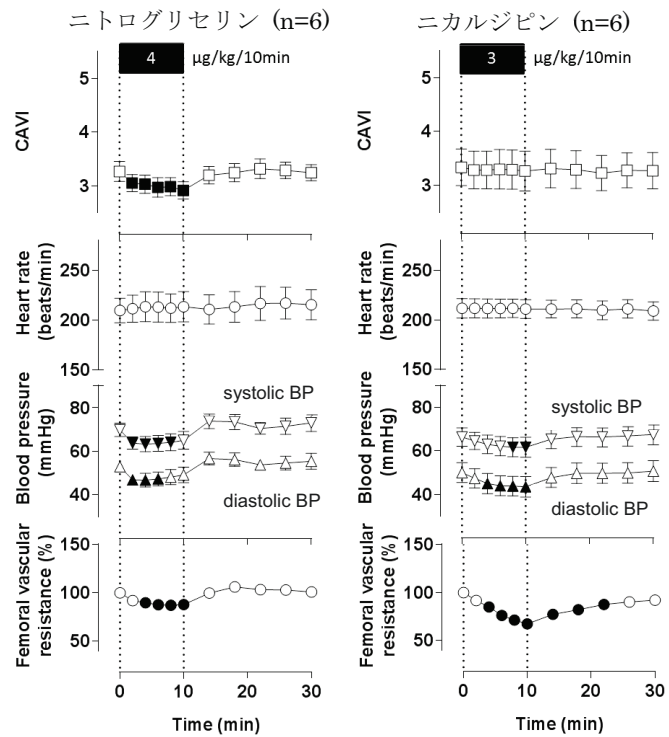


図1 ニトログリセリン 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (左) とニカルジピン 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (右) の CAVI、心拍数、血圧、血管抵抗に対する影響の相違 数値：平均値±標準誤差、黒印： $p<0.05$  (vs control)

第2章 血管内皮細胞由来一酸化窒素による動脈血管弾性の機能調節機構

＜目的＞第1章で、ニトログリセリンにより外因性に供給された NO が CAVI を低下させることが示された。本章では、生体内において血管内皮細胞から遊離する内因性 NO が動脈血管弾性の機能調節に与える影響を明らかにするため、NO 遊離促進作用を有するアセチルコリンと NO 合成阻害薬 L-NAME が CAVI に及ぼす作用を検討した。

＜結果＞アセチルコリンは、CAVI、上腕動脈血圧および血管抵抗を低下させた（図 2）。L-NAME は、上腕動脈血圧、血管抵抗を増加させる作用を示したが、CAVI に影響を与えなかった。

＜考察＞アセチルコリンはニトログリセリンと同様に、CAVI、上腕動脈血圧および下肢血管抵抗を低下させた。アセチルコリンにより血管内皮細胞から遊離した NO (agonist-induced NO) は、細動脈および

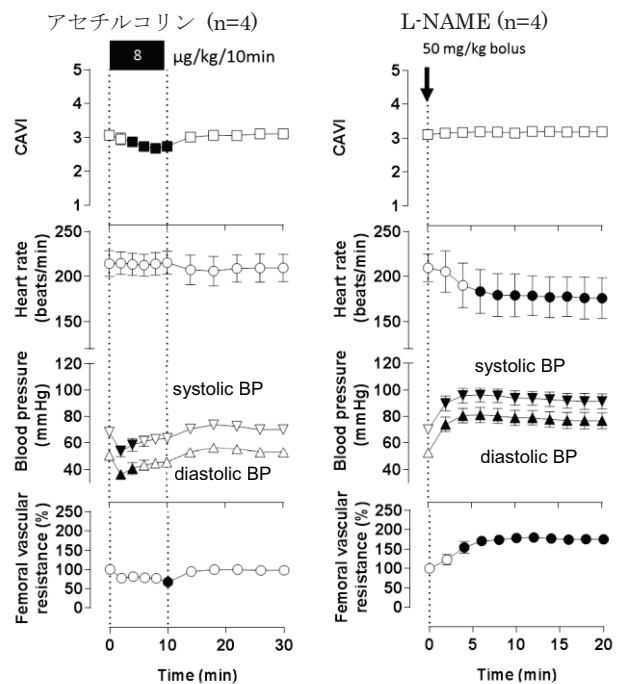


図2 アセチルコリン、L-NAME の CAVI、心拍数、血圧、血管抵抗に対する影響 数値：平均値±標準誤差、黒印： $p<0.05$  (vs control)

び弾性動脈から筋性動脈にかけての血管緊張性に影響を与えると考えられる。

一方で L-NAME は、上腕動脈血圧と下肢血管抵抗を増加させたが、CAVI を変化させなかった。この結果より、血管内皮細胞から恒常的に分泌している NO (constitutive NO) は、細動脈の血管緊張性への寄与は大きい、弾性動脈から筋性動脈にかけての動脈血管弾性の機能的調節への関与は小さいと考えられる。

### 第3章 動脈血管弾性の交感神経による機能調節機構の解析

<目的>交感神経系は血管緊張性を制御する生体内因子の1つであり、一時的あるいは比較的短時間における血管の機能調節に関与する。動脈血管弾性の機能調節における交感神経系の役割を明らかにするため、アドレナリン作動性 $\alpha_1$ 受容体刺激薬フェニレフリン、アドレナリン作動性 $\alpha_1$ 受容体遮断薬ドキサゾシン、アドレナリン作動性 $\beta$ 受容体刺激薬イソプレナリンが CAVI に及ぼす作用を検討した。

<結果>フェニレフリンは、CAVI、上腕動脈血圧を増加させた。また、下肢血管抵抗をわずかに増加させた(図3)。一方、ドキサゾシンは、CAVI、上腕動脈血圧を低下させた。また、下肢血管抵抗をわずかに低下させた。イソプレナリンは、心拍数を増加させ、下肢血管抵抗を低下させた。また、上腕動脈血圧および CAVI をわずかに低下させた。

<考察>フェニレフリンは CAVI、上腕動脈血圧を増加させ、ドキサゾシンはこれらのパラメータを低下させたことから、アドレナリン作動性 $\alpha_1$ 受容体は細動脈の血管緊張性の調節に加えて、弾性動脈から筋性動脈にかけての動脈血管弾性の機能的調節に寄与していると考えられる。また、ドキサゾシンによる CAVI の変化の程度は血圧の変化に比べて小さいことから、弾性動脈から筋性動脈の範囲における動脈血管弾性の機能的調節におけるアドレナリン作動性 $\alpha_1$ 受容体の寄与は細動脈に比較して小さいと考えられる。

イソプレナリンは血管抵抗を有意に低下させ、上腕動脈血圧と CAVI を低下させる傾向を示した。イソプレナリンはアドレナリン作動性 $\beta$ 受容体に対する非選択的作用薬であり、本研究の用量は心拍数上昇作用に加えて血管抵抗低下作用を示したので、血管に分布するアドレナリン作動性 $\beta$ 受容体を刺激したと考えられる。よって、アドレナリン作動性 $\beta$ 受容体は細動脈の血管緊張性の調節に関与するが、弾性動脈から筋性動脈の範囲における血管機能の調節への寄与は小さいと考えられる。ドキサゾシンを用いた実験成績は臨床研究による報告と一致するものであり、麻酔下ウサギを用いた一連の実験結果をヒトに外挿する上での有益な情報が得られたと考えている。

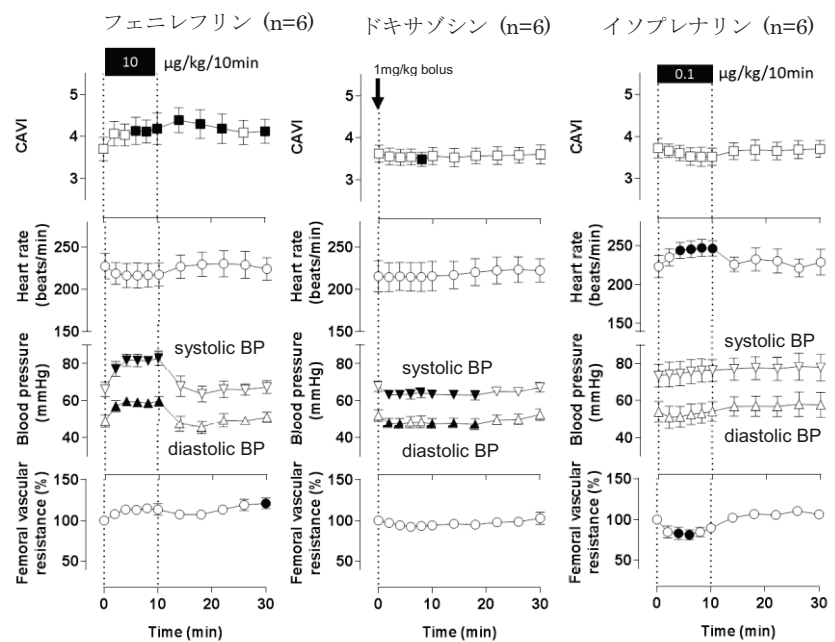


図3 交感神経系作用薬の CAVI、心拍数、血圧、血管抵抗に対する影響 数値：平均値±標準誤差、黒印：p<0.05 (vs control)

### 【総括】

CAVIは筋性動脈の弛緩作用を有するニトログリセリンにより変動し、細動脈の弛緩作用を有するニカルジピンで影響を受けなかったことから、CAVIは弾性動脈から筋性動脈にかけての血管緊張性の変化を検出できると考えられた。また、CAVIが測定可能な範囲の動脈血管弾性に対して影響を与える因子として、外因性およびアセチルコリン誘発によるNOとアドレナリン作動性 $\alpha_1$ 受容体刺激があり、恒常的に分泌されているNOや外因性アドレナリン作動性 $\beta$ 受容体刺激による影響はほとんど観察されなかった。

以上の結果から、CAVIは、従来から知られている動脈の器質的変化に加えて、弾性動脈から筋性動脈の範囲における動脈血管弾性の機能的変化を検出できた。また、血管内皮細胞由来一酸化窒素および交感神経による血管緊張性の制御は、CAVIで測定可能な範囲の動脈と細動脈で異なることが明らかとなった。(図4)

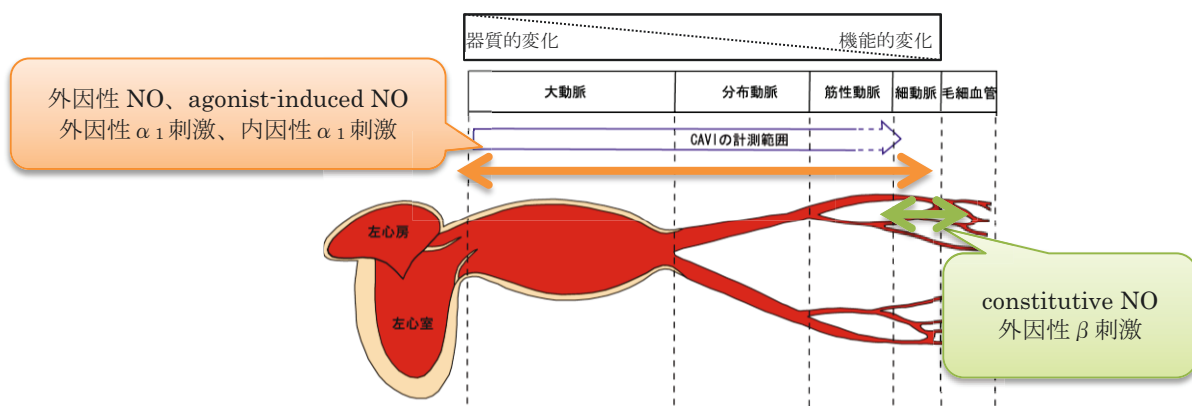


図4 CAVIの測定範囲および一酸化窒素、交感神経系による制御様式

### 【対象論文】

Tatsuo Chiba, Mari Yamanaka, Sachie Takagi, Kazuhiro Shimizu, Mao Takahashi, Kohji Shirai, Akira Takahara. Cardio-ankle vascular index (CAVI) differentiates pharmacological properties of vasodilators nicardipine and nitroglycerin in anesthetized rabbits. *J Pharmacol Sci.* 128 (4) p.185-192, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphs.2015.07.002>

# 論 文 審 査 結 果

千葉達夫氏 学位論文

「心臓足首血管指数（CAVI）による動脈血管弾性の機能的調節機構の薬理的解析」

心臓足首血管指数（cardio ankle vascular index : CAVI）は、動脈の器質的変化により生じる血管弾性の変化を定量的に表す指標として臨床応用されたものである。CAVI は、年齢、冠動脈疾患の重篤度、中膜内膜複合体といった動脈硬化パラメータと正相関することが疫学的データで示されており、動脈機能の変化を中長期的に追跡するという点において臨床的な有用性が確立している。最近の臨床研究では、比較的短期間に CAVI を経時的に複数回計測することも行われるようになり、心因性ストレスにより CAVI の値が上昇する事例も見出されている。これは、CAVI で検出可能な動脈の血管弾性能は、動脈の器質的変化により生じる血管弾性の変化に加えて、神経体液性因子の変動で生じる血管の機能的変化も含まれる可能性を暗示していると言える。動脈は血管の構造により大動脈等の弾性動脈、分布動脈、筋性動脈、細動脈等に分類され、動脈には多くの血管平滑筋細胞が存在し、その機能は神経体液性因子により制御されることが知られている。しかしながら、どのような血管の機能的変化が CAVI 値に影響を与えるかは明らかにされてきていない。千葉氏は New Zealand White 系ウサギを用いた CAVI 計測モデルを新規構築し、血管弾性能を CAVI として計測できる動脈血管の構造学的特性を明らかにすることを本研究の第1目的として、血管作動薬が有する薬理学的特徴を活用して血管の機能的変化と CAVI の関係を第1章で検討した。第1章の成績をもとに、第2章では血管内皮細胞由来する一酸化窒素（NO）による動脈血管弾性の機能調節機構を、第3章では交感神経系による動脈血管弾性の機能調節機構を解析した。

第1章では、血管拡張薬であるニトログリセリンとニカルジピンがウサギの心行動態と CAVI に与える影響を検討している。ニトログリセリンは主に太い導管動脈を拡張させ、一方でニカルジピンは細い抵抗血管を拡張させるとされている。このような動脈への作用部位が異なる2種類の血管拡張薬が CAVI に与える作用を比較検討することを通じ、血管の機能的変化が CAVI に与える影響および CAVI の測定範囲を明らかにすることが期待できる。本実験において、動脈圧波形の重複切痕の高さがニトログリセリンの投与後に低下したことより筋性動脈拡張による反射波の減少を認めたが、ニカルジピンではそのような作用は観察されなかったことより、ウサギを用いた CAVI 計測モデルにおいてもニトログリセリンとニカルジピンの血管における作用点の違いが明確にされている。また本実験モデルにおいて、ニトログリセリンは上腕動脈血圧および下肢血管抵抗とともに CAVI を低下させ、ニカルジピンはニトログリセリンと同様に上腕動脈血圧および下肢血管抵抗を低下させるものの CAVI に影響を与えないことを明確に示している。これらの結果より、千葉氏は CAVI が細動脈における血管抵抗を反映せず、弾性動脈から筋性動脈にかけての動脈血管弾性を反映することを明確にした。各々の血管作動薬が有する薬理学的特徴の違いを活用することにより、CAVI 値が反映する血管領域を明らかにしたユニークな研究成果である。



第2章では、生体内において血管内皮細胞から遊離する内因性 NO が動脈血管弾性の機能調節に与える影響を明らかにするため、NO 遊離促進作用を有するアセチルコリンまたは NO 合成阻害薬 L-NAME をウサギに投与して、CAVI および血圧または血管抵抗に及ぼす作用を検討している。その結果、アセチルコリンはニトログリセリンと同様に、CAVI、上腕動脈血圧および下肢血管抵抗を低下させることが示されている。この結果より、アセチルコリンにより血管内皮細胞から遊離した NO (agonist-induced NO) は、細動脈および弾性動脈から筋性動脈にかけての血管緊張性に影響を与えると考察している。一方、L-NAME は上腕動脈血圧と下肢血管抵抗を増加させたが、CAVI を変化させないことから、血管内皮細胞から恒常的に分泌している NO (constitutive NO) は、細動脈の血管緊張性への寄与は大きい、弾性動脈から筋性動脈にかけての動脈血管弾性の機能的調節への関与は小さいと結論づけている。

第3章では、動脈血管弾性の機能調節における交感神経系の役割を検討している。ウサギにアドレナリン作動性  $\alpha_1$  受容体作動薬であるフェニレフリンを投与したところ、昇圧作用に加えて CAVI の有意な上昇が観察されている。この結果より、アドレナリン作動性  $\alpha_1$  受容体は細動脈の血管緊張性の調節に加えて、弾性動脈から筋性動脈にかけての動脈血管弾性の機能的調節に寄与すると考察している。一方で、アドレナリン作動性  $\alpha_1$  受容体拮抗薬ドキサゾシンをウサギに投与すると、血圧低下作用は観察されたものの CAVI 低下の程度は僅かであったため、麻酔状態のウサギでは弾性動脈から筋性動脈にかけての交感神経系を介した血管緊張性の制御はあまり大きいものではないと考察している。千葉氏はアドレナリン作動性  $\beta$  受容体の弾性動脈から筋性動脈にかけての血管緊張性における関与を調べるため、アドレナリン作動性  $\beta$  受容体イソプレナリンを用いて検討している。イソプレナリンは上腕動脈血圧の低下と下肢血管抵抗の有意な低下を示したが、CAVI の変化は僅かなものであった。千葉氏はフェニレフリンを用いた研究で、フェニレフリンの投与を中止すると血圧は速やかに元の値に戻るが、CAVI 値の上昇はフェニレフリン投与中止後も継続するという興味深い知見を得ている。細動脈の血管緊張性変化と弾性動脈から筋性動脈にかけての血管緊張性変化は独立して生じうる現象であることを示唆しており、交感神経系の関与する病態生理を考察するうえで重要な知見である。

千葉氏による一連の研究成果は、CAVI が弾性動脈から筋性動脈にかけての血管緊張性を反映する指標として利用可能であることを示したものであり、主体となる実験結果は学術論文として公表されている。申請論文の内容は、動脈血管の構造と血管の生理機能や薬理作用との関係性を生体レベルで検討する新たな道筋を切り拓くものであり、臨床生理検査で得られる CAVI 値の変化と病態生理学との関係性を議論する上で新たな情報を提供しており、価値ある知見を与え得るものと考えられる。以上より、千葉氏の申請論文を博士（薬学）の授与に値するものと判断する。

平成 28 年 2 月 17 日

高原 章