

## 血管機能評価のためのカテーテル法の開発

後 藤 真 己

### Development of Catheter-type Devices for Evaluation of Vascular Functions

Masami GOTO

キーワード：カテーテル法，冠循環，ドブラガイドワイヤー，一酸化窒素，NO カテーテル

#### 概 要

心筋梗塞などの心血管系疾患は，わが国を含む先進諸国に共通して多くの生命を奪う致死性の国民病であるが，開発途上国における社会構造，ライフスタイルの変化にともなって，心血管疾患の死亡率が今後急増することが予測されており，その征圧は今世紀初頭に人類が克服すべき医学上の緊急課題である．そこで，心血管の状態の詳細で客観的な理解が求められるが，これには医用工学領域における技術開発が大きく貢献してきた．その中で，Forssmann らの心臓カテーテル法の開発に端を発する心血管系の形態・機能評価法の発展には目を見張るものがある．本稿では，著者が開発に関与したガイドワイヤー型ドブラ血流速計，Nitric Oxide (NO) カテーテルに焦点をあてて，開発の背景と意義について概説した．

#### はじめに

心筋梗塞などの心血管系疾患は，わが国を含む先進諸国に共通して多くの生命を奪う致死性の国民病である．さらに，近年，世界的に，開発途上国の社会構造やライフスタイルが急速に“先進諸国型”に変貌し，これらの国々の疾病構造も心血管疾患を中心とした“先進諸国型”疾病構造に移行していることから，2020年には1990年と比較して，開発途上国における虚血性心疾患，脳血管障害の死亡率は約110~140%増加することが予測されている<sup>1)</sup>．したがって，医療経済の側面も含めて，心血管疾患の征圧は今世紀初頭に人類が克服すべき医学上の緊急課題であると言える．

心血管疾患の征圧のためには，その発症に通じる危険因子の影響を含めて，心血管の状態の詳細で客観的な理解が求められる．すなわち，これらの心血管疾患の多くは，運動不足や食生活の欧米化，喫煙など生活習慣上のリスクを背景として，動脈硬化，高血圧，糖尿病などの進行とともに生じる血管機能障害を基盤として発症するため，致死性の循環障害が発生する以前に，血管機能を評価して，将来の循環障害の発症を予測し，

的確な予防・治療法を選択することが重要である．

このような目的のために，医用工学領域における技術開発が大きく貢献してきたことは周知のところであるが，その中で，1956年にノーベル生理学・医学賞を受賞することになる，Werner Forssmann らの心臓カテーテル法の開発に端を発する心血管系の形態・機能評価法の発展には目を見張るものがある．

本稿では，筆者が直接開発に携わったカテーテル検査法を中心に，研究の背景と現状について概説する．

#### 1. カテーテル法の歴史

心臓に初めてカテーテルを挿入した人物はフランスの Claude Bernard であり，1844年に頸動脈から左心室へ，頸静脈から右心室にガラス製温度計を挿入して肺で熱発生がないことを証明し，次に中空の管を挿入して両心室の圧を測定した．そして，ついに人体を対象とした心臓カテーテルへの挑戦がなされ，1929年にドイツの Werner Forssmann が尿管カテーテルを自分の腕の静脈から挿入して右房まで進めX線写真を記録した<sup>2)</sup>．この研究は後に米国の André Cournand と Dickinson Richards によって発展され<sup>3)</sup>，1956年に心臓カテーテル法の開発に対して，Forssmann, Cournand, Richards の三人に対してノーベル生理学医学賞が授与された<sup>4)</sup>．

その後，心臓カテーテル法は心血管造影，心腔内心

(平成15年10月8日受理)

川崎医療短期大学 臨床工学科

Department of Medical Engineering, Kawasaki College of Allied Health Professions

電図記録などの基盤技術として発展し、心臓のライフラインである冠循環へのアプローチとしても利用されることになった。

## 2. 冠循環に対するカテーテル検査

冠循環に対するカテーテル検査法は、選択的冠動脈造影法によって冠動脈の狭窄病変を評価して治療方針を決定する検査法として普及し、循環器内科医と心臓外科医との連携による冠疾患の診断治療システムを著しく進歩させた。選択的冠動脈造影法は1958年10月30日、米国クリーブランド・クリニックにおいて、F. Mason Sones, Jr が26歳のリウマチ性心疾患の患者の大動脈基部で造影剤を注入した際、偶然右冠動脈にカテーテルが入って選択的冠動脈造影像が得られたことに始まる<sup>5)</sup>。この後、冠動脈の形態的異常の評価にとどまっていた冠循環のカテーテル検査法は、冠循環生理学の進歩<sup>6,7)</sup>と歩調をあわせるように発達し、冠血流の計測に基づいた機能的冠循環評価法へと大きく飛躍した。また、形態的な冠動脈狭窄病変の評価についても、先端に高周波超音波振動子を装着したカテーテルを血管内に挿入して血管の断層像を得る血管内超音波法 (intravascular ultrasound : IVUS) の出現によって、現在では、造影法による血管内シルエットの評価に加えて、血管断層についての詳細な描出が可能となっている。

冠循環の機能評価に立脚した診断・治療体系を理解するためには、冠血管の解剖学的評価法だけでなく、冠血流調節の特殊性について理解し、冠血流調節機能を評価することが重要である。

冠循環の特徴は、これが灌流する心筋が絶えず収縮と弛緩を繰り返すために酸素需要が高いにも拘わらず、冠血管が心筋内を走行することから心筋収縮に伴う力学的作用を直接受け、血流が阻害されることにある。たとえば、イヌで拍動心と停止心とを比較すると、心拍動によって酸素消費量は1.5ml/min/100gから8—15ml/min/100gに増加するにも拘わらず、冠動脈血流量は50—90%に減少する(心拍数150—60bpm)<sup>8,9)</sup>。したがって心拍数、圧仕事、心筋収縮性の増加など心筋のメカニカルストレスの増強を伴う酸素需要の増大に対して、冠循環はさらに強まる力学的血流阻害作用に抗しつつ血流を増加させなければならない。すなわち、冠循環は極めて不利な循環条件において心筋が要求する十分な血流を保証しなければならない。全身循環のポンプである心臓のライフラインである冠血流の不足は直ちに、ポンプ機能の不全、すなわち全身の循環機

能の破綻に結びつく。

しかし、このような不利な条件を克服するため、冠循環は個々の心筋細胞近傍の毛細血管まで血流を保つことができるようによく発達した血流路が構築されている。さらに、灌流圧の変化や心筋酸素需給の変化に対して血流を増減させる精巧な代謝性血流調節機能を有している。前者を自己調節 (autoregulation)、後者を代謝性調節 (metabolic regulation または metabolic adaptation) という<sup>5)</sup>。このような冠血管の血流調節には、血行路の長軸方向に各血管部位が役割を分担しながら調節するしくみと、近接する血行路間の横の調節も行われている。したがって、冠血管は空間的な多様な血流調節能を複合することによって、心筋細胞との間で“mechanoenergetic interaction”を保ちながら、個々の心筋細胞に不足なく血流を分布させる調節性に富んだ血管ネットワークであるということが出来る。

冠循環の機能を評価する方法としては、冠血管が冠血流をどこまで増加させうるかという冠血流予備能 (coronary flow reserve : CFR) が指標とされ、例えば、冠動脈狭窄が存在すると、これによる圧力損失で灌流圧が低下し、予備が減少する。また、心拍毎に変化する冠動脈血流の拍動特性も評価される。すなわち、収縮期には、大動脈から心筋内に向かう冠動脈血流が阻害されるだけでなく、心筋内から心外膜側冠動脈へ向かう逆流が存在する。収縮期冠動脈逆流成分の存在は、拡張期に心筋内血管に一旦流入して貯えられた血液の一部が次の収縮期に再び心筋外に搾り戻される無駄な血液の動きを示し、スロッシュ現象と呼ばれる<sup>10,11)</sup>。冠スロッシュ現象は冠動脈狭窄が生じるとさらに増強され、心筋灌流にとって不利な血流パターンとなる。その機序としては、冠動脈狭窄の程度が強くなるにつれて冠動脈圧が低下し、収縮期逆流に対する下流圧が低下することが挙げられる。

上述のような冠循環生理学的な背景から、冠血流の評価には、時間平均的な血流を対象とした冠予備能とともに、心拍ごとの変化も重要である。すなわち、心周期における冠動脈血流パターンには、心筋収縮が冠動脈血流を阻害する機序である心筋内血管の圧迫、心筋内圧の上昇、心筋内血管容量の変化に加えて、冠動脈狭窄、血管内皮機能、微小循環機能が影響するため、冠動脈血流の拍動パターンを分析することで冠循環の状態を考察することができる。

このような冠循環の評価をヒトで実現するために、冠動脈血流を計測するドプラガイドワイヤーが開発さ

れ、今日、広く世界中で使用されている<sup>12)</sup>。

### 3. ドプラガイドワイヤーによる冠動脈血流の評価

図1は著者らが初めて開発研究したガイドワイヤー型ドプラ血流速度計（ドプラガイドワイヤー）を用いて動物実験を行っているところの写真である（共同研究者の Doucette 博士の指先にある小さなワイヤーがプロトタイプ）。ドプラガイドワイヤーは直径0.014インチのガイドワイヤーの先端に超音波探触子を装着して、前方方向に超音波を発信し、超音波探触子に向かってくる血流の速度を計測するもので、経皮的冠動脈インターベンションのガイドワイヤーとして用いることができるために、冠狭窄や冠閉塞に対するカテーテルによる冠インターベンションにおいてルーチン・ワークとして導入することができ、病変の重症度やインターベンションの評価法として威力を発揮する。

本法で計測された時間平均血流速度と冠動脈断面積とから血流量を算出することができるが、臨床的には、冠血流速度で代用して CFR が評価されている。CFR は本来、一定の冠灌流圧において自己調節下の冠血流量と冠血管拡張薬の冠動脈内投与などで得られる最大冠血流量との差を単位心筋重量当たりで求めるものであるが、臨床的には、冠血管拡張薬の冠動脈内投与によって得られる最大冠動脈血流速度と安静時冠動脈血流速度の比から CFR が評価されている。CFR が冠動脈の狭窄率を反映することから、従来、形態学的評価にのみ立脚してきた、冠狭窄の重症度評価に機能的な評価が加わることになり、今日ではドプラガイドワイヤーは冠動脈疾患に対する診断と治療に無くてはならない検査法になっている。

また、ドプラガイドワイヤーでは、心拍毎の冠動脈血流の拍動パターンを詳細に分析することも可能である。図2はこの方法で初めて記録された冠動脈血流波形であるが、光ファイバ型レーザドプラ血流速度計<sup>13)</sup>や超音波法<sup>14)</sup>など、他の方法で計測された場合と同様、拡張期優位の拍動流パターンがよく捉えられている<sup>12)</sup>。すなわち、冠循環の灌流圧は冠動脈が分枝する大動脈起始部の圧であり、収縮期に上昇するが、上述した心筋収縮による機械的血流障害作用によって冠動脈血流はほとんど流れない。すなわち、冠循環では、他の臓器循環とは著しく異なり、灌流圧が低下する拡張期に冠動脈血流のほとんどが流れることがわかる。そこで、拡張期冠動脈圧が冠循環にとって重要であることが理解されるが、拡張期冠動脈圧は、大動脈弁閉鎖不全、

冠動脈狭窄などで低下し、心筋虚血の関与などで冠血管がすでに拡張状態となり、血流が灌流圧依存的になっている場合には、拡張期冠動脈圧の低下は直ちに血流量の減少をもたらす。灌流圧とともに拡張期冠血流の駆動圧を規定する有効下流圧は血管外圧迫力の影響を受けることが知られており、これには左室拡張期圧だけでなく心周囲圧も関与する<sup>15)</sup>。

心拍数は冠動脈圧とともに冠血流を規定する重要な因子である。心拍数の増加は心筋の酸素消費量を増加させるとともに冠血流を障害する頻度を増加させるが、これとともに、単位時間あたりの拡張期時間、すなわち実質的な冠灌流時間を減少させ、その際、心周期に

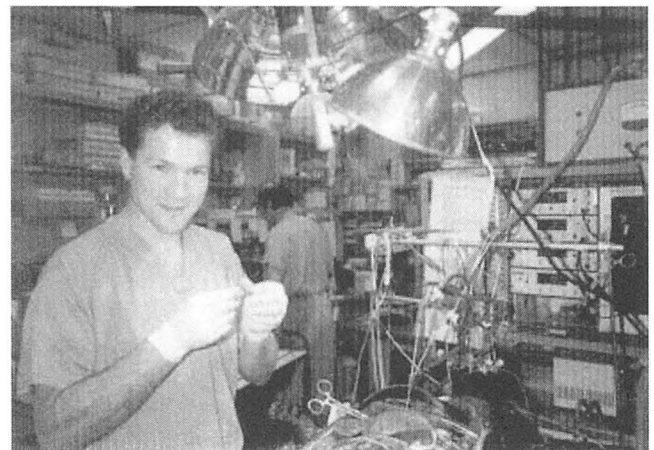


図1 著者らが初めて開発研究したガイドワイヤー型ドプラ血流速度計を用いて動物実験を行っているところ（共同研究者の Doucette 博士の指先にある小さなワイヤーがドプラガイドワイヤーのプロトタイプ）。（著者撮影）

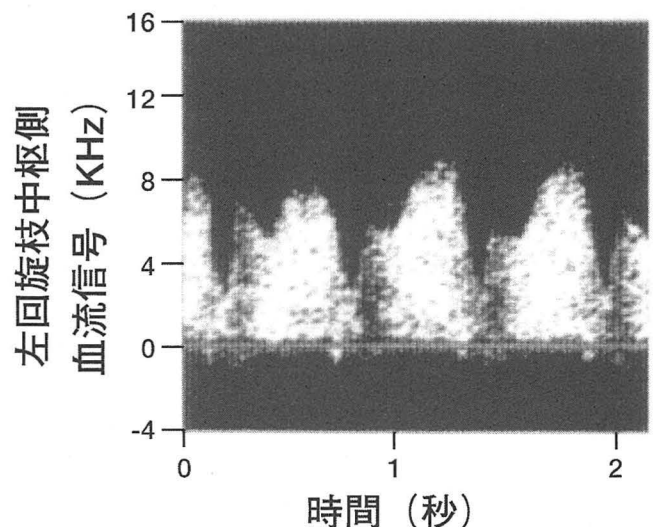


図2 ドプラガイドワイヤーで初めて記録された拡張期優位の冠動脈血流波形（文献12）

占める拡張期時間の割合 (Diastolic Time Fraction : DTF) も心拍数依存的に減少する。しかし、最近、冠血流量の減少が DTF を増加させることが明らかになり、冠血流量低下時に心筋灌流を保護する機序として注目されている<sup>16)</sup>。

このような冠循環の機能を多角的に評価するために、今後もドプラガイドワイヤーが重要な役割を担うことが期待される。

#### 4. Nitric oxide (NO) カテーテルによる血管内皮機能の評価

血管内皮細胞は血管の内側を覆う一層構造の細胞集団で、一酸化窒素 (nitric oxide : NO), 内皮由来過分極因子 (endothelium-derived hyperpolarizing factor : EDHF) などの内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factor : EDRF) を産生する。冠循環においてもこれらが階層的、補完的に作用して循環調節に関与することが明らかになってきた<sup>17,18)</sup>。また、血管内皮細胞の機能異常が動脈硬化の進展やさらに循環調節の破綻の基盤になることが知られている。すなわち、高血圧、高脂血症、糖尿病などは血管内皮機能を障害し、動脈硬化、微小血管障害など広範な血管障害を合併するが、その発生・進展過程に、活性酸素種 (oxygen radical species : ROS) による酸化ストレスが関与することが明らかになっている<sup>19~22)</sup>。ROS は、スーパーオキシド、過酸化水素などであり、これらが血管内皮機能障害や動脈硬化を発生・進展させ、さらに諸臓器の機能不全を引き起こす重要な因子と考えられている<sup>23~25)</sup>。

一方、生体組織中の一酸化窒素合成酵素によって L-アルギニンから生成される NO は、血管弛緩作用、血小板凝集抑制作用、白血球成分の内皮細胞への接着抑制作用など血管を保護する様々な作用を有する<sup>26)</sup>。しかし、酸化ストレスが亢進した状態においては、産生された NO がスーパーオキシドなどと反応して失活するために、NO の bioavailability が低下する<sup>20)</sup>。すなわち、NO と活性酸素種のバランスが崩れることになり、血管障害に起因した病態の進展につながるものと考えられている。すなわち、多くの血管系の疾患や危険因子において、血管内皮細胞で産生・放出される NO の bioavailability の低下が問題となる<sup>27)</sup>。

NO は生理的状态において、血流が内皮細胞に与えるずり応力が引き金となってアルギニンから一酸化窒素合成酵素 (Nitric Oxide Synthase : NOS) の働き

によって産生されるガスで、内皮細胞から血管平滑筋と血管内腔に向かって拡散され、血管平滑筋に到達した NO は血管を拡張させて血圧上昇を防ぎ、組織灌流に資する。一方、血管の内腔、すなわち血流に到達した NO は、血小板の凝集、白血球の血管壁への進入を防ぎ、動脈硬化の進行を抑制する<sup>26)</sup>。したがって、内皮細胞から放出される NO を評価することは、血管内皮障害と血管機能異常を理解するうえで重要である。

しかし、最近まで、血管内皮細胞から放出された NO を血管の中で直接評価計測する方法は開発されておらず、臨床的には、反応性充血など血管内皮由来弛緩因子である NO の産生を増加させるプロトコルを行い、NO によると考えられる血管径変化や血流増加反応を超音波法で計測する方法が用いられてきた<sup>28)</sup>。しかし、これらは NO 産生能の評価法としては間接的な方法であり、必ずしも NO 産生のみを評価しているわけではない。すなわち、血管内皮由来弛緩因子として NO 以外にもプロスタグランディン類、EDHF などがある<sup>29)</sup>。さらに、動物実験では、NOS の阻害薬を用いて、血管拡張反応などにおける NO の関与を評価する方法が用いられてきたが、後述するように、NOS の阻害薬では、1) 完全には NO の産生を阻害できないと考えられること、2) 非 NOS 由来の NO の関与を評価できないこと、3) NO 以外の生理活性物質の代償的な機能変化の影響を受けることなどの問題点があった。

血中での NO の直接評価法が長らく開発されなかった一因は、従来、血中に放出された NO が前述のように血小板凝集抑制などの生理活性は示すものの、極めて短時間で酸化・失活し、生理作用は放出部の近傍に限られると考えられてきたためである。しかし、最近、血液中でも、血液が流れている状態では、NO の半減期が著しく長くなること、さらに体外から動脈内、あるいは静脈内に投与された NO が NO のまま、あるいは血球、血漿成分にニトロ化合物などとして捕捉、輸送され遠隔部位で再び放出されて血管拡張 (remote vasodilation) などの生理作用を発揮することが示され、血中で直接、実時間で NO 濃度を計測することの意義が認識されつつある<sup>30)</sup>。

そこで、我々は、カテーテル型 NO センサーを開発して、冠循環など血中 NO の bioavailability を評価することに成功した (図 3)<sup>31)</sup>。図 4 はイヌの胸部大動脈内にセンサー感知部を留置して、血管内皮由来 NO 産生の刺激因子であるアセチルコリン (10 µg/kg) を左室内に投与した場合の記録で、アセチルコリンの投与



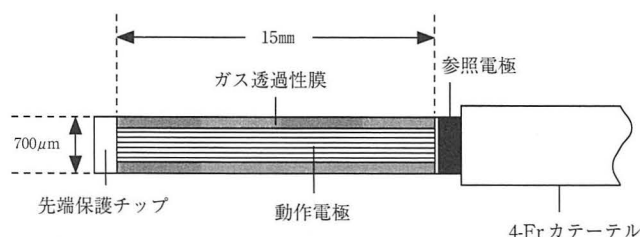


図3 NO カテーテルの基本構造 (文献31)

NO センサーは、NO の不対電子が電極側に移動、すなわち NO が酸化される時の酸化電流値を計測する

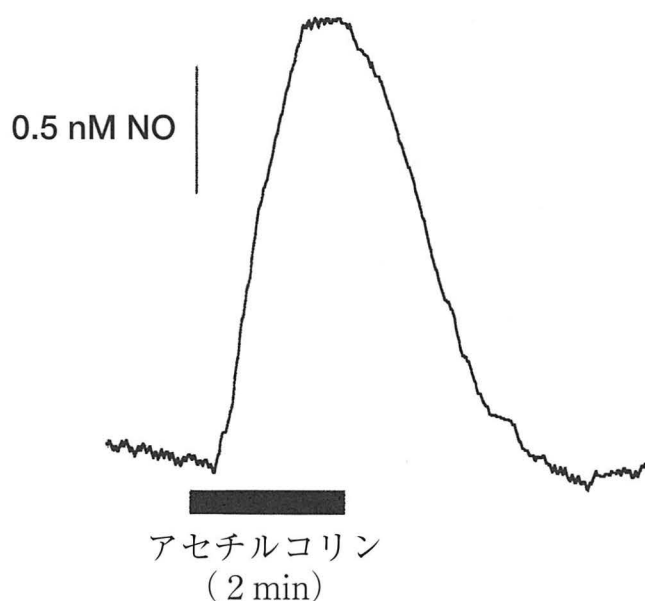


図4 NO カテーテルで初めて記録された血管内皮由来 NO  
アセチルコリンの投与により、血中 NO 濃度の著しい上昇を認める (文献31)

により、血中 NO 濃度の著しい上昇を認めた。その際、血中 NO 濃度の変化に応じて一過性の血圧低下を認め、生理活性を有する NO を定量的に評価することが可能になった。NO カテーテルは現在、冠循環に適用することができるモデルも開発中で、今後は臨床における新たなカテーテル検査法として心血管疾患の理解と診断・治療に貢献するものと期待される。

### おわりに

心血管疾患の理解と診断・治療のために多くの医用工学技術が開発されたが、その中で、カテーテル法の開発は心血管造影、心電図検査、圧力測定、血液ガス分析など、様々な循環器検査の基盤を成してきた。本稿では、著者が開発に関与したガイドワイヤー型ドブラ血流速計、NO カテーテルに焦点をあてて、開発の背景と意義について概説した。このような医用工学的

研究は循環機能の理解とともに実際の診療にも大きく貢献するものであり、今後の新たな展開が期待される。

### 文 献

- 1) Yusuf S, Reddy S, Ôunpuu S, Sonia Anand S : Global burden of cardiovascular diseases : part I : general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization, *Circulation* 104 : 2746—2753, 2001.
- 2) Forssmann W and Otto T : Die Sondierung des rechten Herzens, *Klin. Wochenschr.* 8 : 2086—2087, 2287, 1929.
- 3) Cournand A : Cardiac catheterization ; Development of the technique, its contributions to experimental medicine and its initial application in man, *Scta. Med. Scand.* 579 : 3—32, 1975.
- 4) Comroe JH Jr : Exploring the Heart. Discoveries in Heart Disease and High Blood Pressure, New York : W. W. Norton & Company, pp. 121—128, 1983.
- 5) Sones FM Jr, Shirey EK : Cine coronary arteriography, *Mod. Concepts Cardiovasc. Dis.* 31 : 735—738, 1962.
- 6) Hoffman JIE, Spaan JAE : Pressure-flow relations in coronary circulation, *Physiol. Rev.* 70 : 331—390, 1990.
- 7) Kajiya F, Goto M : Integrative physiology of coronary microcirculation, *Jpn. J. Physiol.* 49 : 229—241, 1999.
- 8) Ganz P, Braunwald E : Coronary blood flow and myocardial ischemia, In : Heart Disease : A Textbook of Cardiovascular Medicine Fifth Edition. (Braunwald E, ed) Philadelphia : WB Saunders Company, pp. 1161—1183, 1997.
- 9) Flynn AE, Coggins DL, Goto M, Aldea GS, Austin RE, Doucette JW, Hussein W, Hoffman JIE : Does systolic subepicardial perfusion come from retrograde subendocardial flow? *Am. J. Physiol.* 262 : H1759—H1769, 1992.
- 10) Kimura A, Hiramatsu O, Yamamoto T, Ogasawara Y, Yada T, Goto M, Tsujioka K, Kajiya F : Effect of coronary stenosis on phasic pattern of septal artery in dogs, *Am. J. Physiol.* 262 : H1690—H1698, 1992.
- 11) Goto M, Flynn AE, Doucette JW, Kimura A, Hiramatsu O, Yamamoto T, Ogasawara Y, Tsujioka K, Hoffman JIE, Kajiya F : Effect of intracoronary nitroglycerin administration on phasic pattern and transmural distribution of flow during coronary artery stenosis, *Circulation* 85 : 2296—2304, 1992.
- 12) Doucette JW, Corl PD, Payne HM, Flynn AE, Goto M, Nassi M, Segal J : Validation of a Doppler guide wire for intravascular measurement of coronary artery flow velocity, *Circulation* 85 : 1899—1911, 1992.
- 13) Kajiya F, Tomonaga G, Tsujioka K, Ogasawara Y, Nishihara H : Evaluation of local blood flow velocity in proximal and distal coronary arteries by laser Doppler method, *J. Biomed. Eng.* 107 : 10—15, 1985.

- 14) Fujiwara T, Kajiya F, Kanazawa S, Matsuoka S, Wada Y, Hiramatsu O, Kagiya M, Ogasawara Y, Tsujioka K, Katsumura T : Comparison of blood-flow-velocity waveforms in different coronary artery bypass grafts, *Circulation* 78 : 1210—1217, 1988.
- 15) Uhlig PN, Baer RW, Vlahakes GJ, Hanley FL, Messina LM, Hoffman JIE : Arterial and venous coronary pressure-flow relations in anesthetized dogs. Evidence for a vascular waterfall in epicardial coronary veins, *Circ. Res.* 55 : 238—248, 1984.
- 16) Merkus D, Kajiya F, Vink H, Vergroesen I, Dankelman J, Goto M, Spaan JAE : Prolonged diastolic time fraction protects myocardial perfusion when coronary blood flow is reduced, *Circulation* 100 : 75—81, 1999.
- 17) Pinsky DJ, Patton S, Mesaros S : Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart, *Circ. Res.* 81 : 372—379, 1997.
- 18) Smith TP, Canty JM Jr : Modulation of coronary autor-regulatory responses by nitric oxide : evidence for flow-dependent resistance adjustments in conscious dogs, *Circ. Res.* 73 : 232—240, 1993.
- 19) Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG : Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide production, *J. Clin. Invest.* 91 : 2546—2551, 1993.
- 20) Grunfeld S, Hamilton CA, Mesaros S, McClain SW, Dominiczak AF, Bohr DF, Malinski T : Role of superoxide in the depressed nitric oxide production by the endothelium of genetically hypertensive rats, *Hypertension* 26 (pt 1) : 854—857, 1995.
- 21) Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK, Harrison DG. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation, *J Clin Invest.* 1996 ; 97 : 1916-1923.
- 22) Z. Ungvari, A. Csizsar, A. Huang, P. M. Kaminski, M. S. Wolin, and A. Koller : High Pressure Induces Superoxide Production in Isolated Arteries Via Protein Kinase C-Dependent Activation of NAD(P)H Oxidase, *Circulation* 108 : 1253-1258, 2003.
- 23) Nava E, Noll G, Lüscher TF : Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension, *Circulation* 91 : 2310—2313, 1995.
- 24) Bouloumié A, Bauersachs J, Linz W, Schölkens BA, Wiemer G, Fleming I, Busse R : Endothelial dysfunction coincides with an enhanced NO synthase expression and superoxide anion production, *Hypertension* 30 : 934—941, 1997.
- 25) Belch JJF, Bridges AB, Scott N, Chopra M : Oxygen free radicals and congestive heart failure, *Br. Heart. J.* 65 : 245—248, 1991.
- 26) Behrendt D, Ganz P : Endothelial function : From vascular biology to clinical applications, *Am. J. Cardiol.* 90 : 40L—48L, 2002.
- 27) Kojda G, David Harrison D : Interactions between NO and reactive oxygen species : pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure, *Cardiovasc. Res.* 43 : 562—571, 2003.
- 28) Kuvin JT, Karas RH : Clinical Utility of Endothelial Function Testing : Ready for Prime Time? *Circulation* 107 : 3243—3247, 2003.
- 29) Mombouli J-V, Vanhoutte PM : Endothelial dysfunction : from physiology to therapy, *J. Moll. Cell. Cardiol.* 31 : 61—74, 1999.
- 30) Rassaf T, Preik M, Kleinbongard P, Thomas Lauer, HeiB C, Strauer B, Feelisch M, Kelm M : Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma, *J. Clin. Invest.* 109 : 1241—1248, 2002.
- 31) Mochizuki S, Miyasaka T, Goto M, Ogasawara Y, Yada T, Akiyama M, Neishi Y, Toyoda T, Tomita J, Koyama Y, Tsujioka K, Kajiya F, Akasaka T, Yoshida K : Measurement of acetylcholine-induced endothelium-derived nitric oxide in aorta using a newly developed catheter-type nitric oxide sensor, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 306 : 505—508, 2003.