●総　説●

超音波血管新生療法の最新知見

進藤　智彦，安田　　聡，下川　宏明

要　旨：世界的な高齢化の進展とともに，さまざまな合併症を有する心血管病患者は増加の一途を辿っている。近年，生体において音波の繰り返し刺激が血管内皮細胞を伸展させ，内皮型一酸化窒素合成酵素や血管増殖因子の発現を誘導させることがわかってきた。これを応用し，われわれは音波を用いた低侵襲性血管新生療法を開発し，基礎・臨床の両面で研究を進めてきた。本稿では，音波を用いた血管新生治療の開発について概説する。（J Jpn Coll Angiol 2021; **61**: 131–137）

Key words: shock wave, ultrasound, angiogenesis, mechano-transduction, nitric oxide

受付：2021年9月22日　受理：2021年10月19日　公開：2021年12月10日

はじめに

世界的な超高齢社会の進展とともに，さまざまな合併症を有する高齢の心血管病患者数は増加の一途を辿っている。このような時代のニーズに合わせて，低侵襲性の血管新生療法の開発は着実に進歩を遂げてきた。1989年に血管内皮増殖因子（VEGF）が発見されて以来，血管新生因子の遺伝子導入療法や，幹細胞・内皮前駆細胞の移植治療など，さまざまな方法が開発されてきた。多くの臨床試験はこれら基礎研究の結果に基づいて実施されたが，いずれもまだ標準的治療法としては確立されるまでには至っていない。このような状況において，われわれは音波を用いた低侵襲性血管新生療法を開発し，基礎・臨床の両面で研究開発を進めてきた[1)]。本稿では，音波を用いた血管新生療法の開発について，最新の知見を概説する。

低出力体外衝撃波治療の開発

火山の噴火や雷などで発生する爆発の膨張速度が音速を超えると，爆発の表面に衝撃波が発生する。衝撃波による結石破砕術は30年以上前から尿路結石症の治療に臨床応用されてきた。われわれは，尿路結石破砕に使用されるエネルギーの約10%程度の出力の衝撃波が，ヒト由来培養血管内皮細胞においてVEGFならびに内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）の発現を亢進させることを見出した。さらに，ブタ慢性心筋虚血モデルにおいて生体におけるその血管新生効果を確認した[2–4)]。これらの知見をもとに，経皮的冠動脈インターベンション（PCI）や冠動脈バイパス手術（CABG）の適応困難な重症狭心症患者を対象として最初の臨床試験を実施した[3)]。その結果，衝撃波治療を受けた患者では，心筋負荷シンチグラフィーにおいて虚血領域の心筋虚血の改善とともに症状の改善，硝酸薬使用量の減少を認めた（**Fig. 1**）。また，治療に関連する合併症や副作用は認めず，その安全性も確認することができた。われわれの臨床試験に追従する形で，その後世界中で臨床試験が実施され，症状や心筋虚血の改善効果について再現性のある良好な結果が報告された[5–7)]。その後，低出力体外衝撃波治療は低侵襲性の血管新生療法として，さまざまな疾患への適応拡大が模索されることとなった。

末梢動脈疾患（PAD），とくに重症下肢虚血患者では，虚血性心疾患と関連していることが多く，予後は不良である[8–10)]。われわれは，ウサギ後肢虚血モデルにおける衝撃波治療の有効性を検証し良好な血管新生効果が確認できたことから[11)]，PAD患者を対象とした臨床試験を開始した。その結果，衝撃波治療群では対照群よりも患者の症状，最大歩行距離，末梢灌流が有意に改善されていることが確認された[12)]。続いて，レイノー現象と手指皮膚潰瘍を有する全身性硬化症の患者を対象として低出力体外衝撃波治療の有効性が検証された[13)]。これは，手指皮膚潰瘍の病因として，免疫活性化のみならず，血管内皮損傷と持続性血管痙攣がその背景にあるものと

東北大学医学系研究科循環器内科学
doi: 10.7133/jca.21-00022
BY-NC-ND

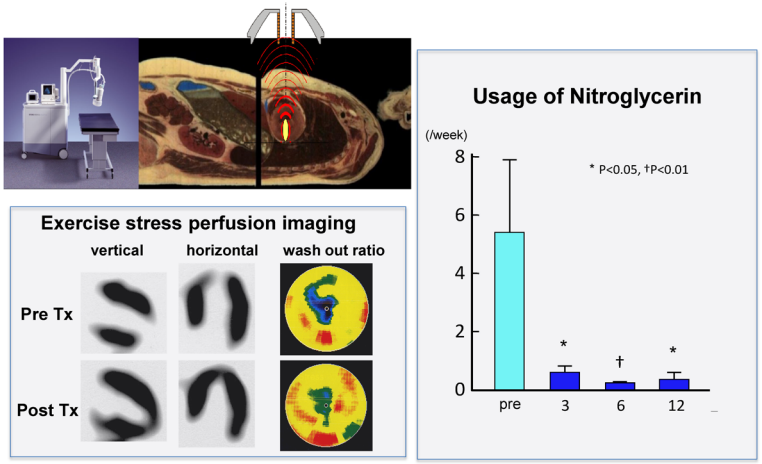

Figure 1 Clinical effects of low-energy extracorporeal shockwave therapy

Low-energy extracorporeal shockwave therapy improved the ischemic area of severe angina patients whose myocardial ischemia has been identified in exercise-loaded myocardial scintigraphy, and significantly reduced the frequency of nitrate use for chest pain[2].

考えられているためである[13]。いくつかの研究報告で，低出力体外衝撃波治療がマウスモデルにおける皮膚潰瘍の局所創傷治癒を促進することが確認されている[14–16]。皮膚潰瘍を有する患者に対して低出力体外衝撃波治療を適用した少数例での臨床試験では，潰瘍の創傷治癒が促進された可能性が示唆されている[17]。また，難治性リンパ浮腫の中には，外科的手術をしても完全に治癒できないものがあり，そのような患者は治療の選択肢が限られている。二次的なリンパ浮腫を示す動物モデルに対して，低出力体外衝撃波治療を適用したところ，治療後にVEGF-CおよびbFGFの発現が有意に増強し，リンパ管の密度が増生することが報告されている[18, 19]。また，整形外科領域では，骨非癒合，カルカレア腱症，上顆炎，踵骨棘などの治療に，抗炎症効果を期待して低出力体外衝撃波治療が応用されている[20–23]。興味深いことに，ラット脊髄損傷モデルに対して低出力体外衝撃波治療を施行した研究では，その運動機能が改善することも報告されている[24]。最近では，肝硬変動物モデル，腎不全動物モデルに対して衝撃波治療を適用し，その有効性を評価した基礎研究も報告されており，今後の臨床応用に期待が寄せられている[25, 26]。このように，低出力体外衝撃波治療はeNOSを介した血管新生効果を発揮することで，さまざまな疾患で改善効果を示すことが期待される。

虚血性心疾患に対する低出力パルス波超音波（LIPUS）治療の開発

近年，低侵襲性治療は新たな局面を迎えようとしており，より簡便で効率的な治療法が国内外で模索されている。われわれは低出力体外衝撃波治療の開発経験をもとに，新たな物理刺激として超音波を用いた血管新生療法の開発も行ってきている。衝撃波と同じく音波の一種である超音波は，同様に体組織（脂肪，筋肉，体液など）を直進することが可能であり，衝撃波と同様の物理的特性を持つと同時に高い汎用性を持つことが知られている。以前より，超音波は腫瘍切除，血栓溶解，骨再生，薬物送達システムなどの治療用途に臨床応用がなされている[27]。われわれは，培養血管内皮細胞を用いた検討において，低出力パルス波超音波（low-intensity pulsed ultrasound: LIPUS）治療が，低出力体外衝撃波治療と同様にVEGFやeNOSの発現を誘導することを確認した[2, 28]。われわれが発見したLIPUS治療の至適照射条件は，心臓用素子を用いた場合に，周波数1.875 MHz，波数32 cycle, Ispta 238 mW/cm^{2}となる特殊なバースト波であり，これが培養血管内皮細胞において最も効率的にVEGFを発現させる照射条件であった[28]。さらに，LIPUS治療がブタ慢性心筋虚血モデルにおいて血管新生を誘導し，心筋虚血を改善することを確認した[28]。また，マウス心筋梗塞モデルでは，LIPUS治療により梗塞後の左室リモデリングが改善され，その死亡率が改善することを示した[29]。これらの結果に基づいて，ヒトにおけるLIPUS治療の有効性と安全性を確認するために，日本の10施設で重症狭心症患者を対象とした二重盲検プラセボ対照比較試験を開始した。本試験の症例登録は既に終了しており，現在解析中である。

LIPUS治療がその治療効果を発揮する上で最も影響を与えうる細胞種は，血管内皮細胞と考えられる。元来，血管内皮細胞は血管の内面を被覆し，血流の変化

に伴うずり応力（機械的刺激）を鋭敏に感知する機構を備えている[30]。内皮細胞の表面に存在する窪み構造であるCaveolaeは，Caveolin-1分子によって裏打ちされる直径40～80 nmのフラスコ状の陥入構造であり[31, 32]，このCaveolaeが超音波の繰り返し刺激（cyclic strain）により刺激されることがLIPUS治療の主な機序の一つと考えられている。Caveolaeは，機械的刺激を細胞内への化学信号に変換しセカンドメッセンジャーへ伝達するMechano-transduction機構を有している[31]。Caveolaeはさまざまな細胞機能と密接に関与しているが，とくにeNOSに関しては，普段はeNOSと結合し抑制的に調節する一方で，必要時にはeNOSによる血管機能の調節に関与するとされる。Caveolin-1自体には細胞外成分はなく，細胞膜上で細胞外成分を含むβ1-integrinと複合体を形成することで細胞外からの機械的刺激や歪みを感知するとされている[33–37]。培養細胞実験による詳細な検討の結果，LIPUSによる物理的刺激が内皮細胞膜上のCaveolaeに歪みを生じさせ，この刺激はCaveolin-1の直下にあるFyn, FAKのリン酸化を介して，Erk1/2およびAktのリン酸化を引き起こし，その結果としてeNOSやVEGFの発現を誘導していると考えている（**Fig. 2**）[29]。

LIPUS治療の慢性心不全への適応

心不全は先進国における主要な死因であり，その患者数は世界で増加の一途を辿っていることから，近年「心不全パンデミック」と称されている[38]。一方，心不全患者の中には，臨床的に心不全の症状・身体所見を有しながらも明らかな心収縮異常のない症例が存在することがわかっており，このような心不全は左室収縮能の保たれた心不全（heart failure with preserved ejection fraction: HFpEF）と呼ばれている。わが国においても，社会の高齢化とともにHFpEFの患者数および心不全全体における割合は急増しており，70%を超えるとの報告もされている。ここ数十年の間，β遮断薬，ACE阻害薬，アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB），ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬（MRA）など，左室駆出率の低下した心不全（heart failure with reduced ejection fraction: HFrEF）を改善する有効な治療法が数多く開発されてきたが，これらの薬剤のいずれもHFpEFに関しては，予後改善効果を示すことはできていない。近年，HFpEFに対する新たな治療薬としてSGLT2阻害薬が注目を集めているが，以前として治療の選択肢は限られており，今後も更なる研究開発が重要とされている。

HFpEFは左室の拡張能障害によって引き起こされ，その主な病態生理は，心筋のstiffnessの増加と弛緩障害によると考えられている[39]。近年，高血圧症，糖尿病，肥満，慢性腎臓病といった併存症に関連して生じる血管

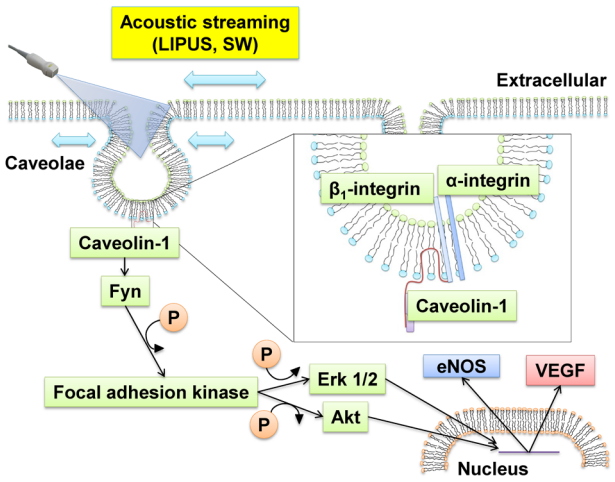

Figure 2　Mechano-transduction mechanism of LIPUS therapy in vascular endothelial cells

LIPUS therapy is thought to activate the mechano-transduction mechanism by stimulating caveolae on the surface of vascular endothelial cells. Caveolin-1 has been known to phosphorylate FAK (focal adhesion kinase) via phosphorylation of Fyn, and further phosphorylate Erk 1/2 and Akt to finally promote molecular expression of eNOS and VEGF[28].

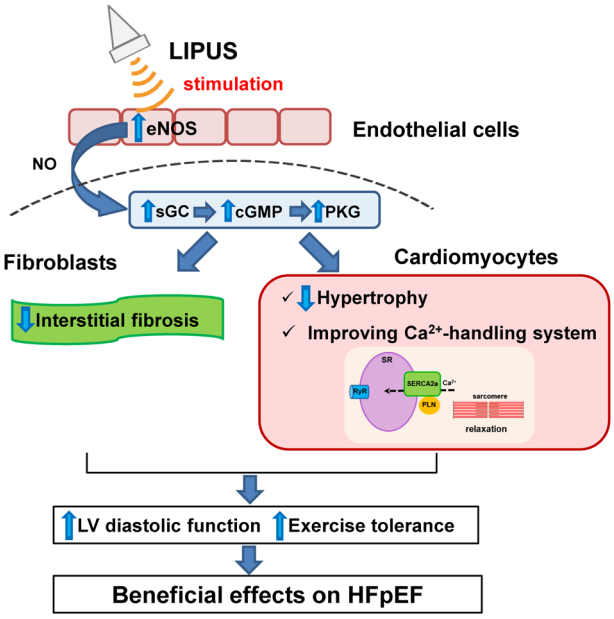

Figure 3　Mechanism of LIPUS therapy on mouse model of HFpEF

LIPUS therapy improved Ca^{2+} handling in cardiomyocytes, suppressed cardiomyocyte hypertrophy, and suppressed myocardial interstitial fibrosis, by inducing the activation of eNOS-NO-cGMP-PKG pathway via stimulating vascular endothelial cells. By bringing these effects, it is considered that the diastolic function of the heart and exercise tolerance can be improved[41].

内皮機能障害がHFpEFの病態生理の根底にあると提唱されており[40]，血管内皮機能の低下，およびそれに引き続くeNOS-NO-cGMP-PKG経路の障害が認められることが報告されている[41]。さらに，eNOS-NO-cGMP-PKG経路の障害は，心筋の肥大や間質の線維化といった心筋のリモデリングを促進することが示されている。われわれは，HFpEFの動物モデルとしてよく知られる肥満2型糖尿病マウスであるLepr$^{db/db}$マウス（db/dbマウス）を使用し，LIPUS治療の有効性を評価した[42]。その結果，LIPUS治療の継続的な介入により左室拡張機能の低下および運動耐容能の低下を抑制すること，またその機序としてeNOS-NO-cGMP-PKG pathwayの活性化およびそれを介した心筋におけるCa^{2+} handlingの改善が関係していることが示された（**Fig. 3**）。これはLIPUS治療がeNOS-NO-cGMP-PKG pathwayに直接的に作用しうることを初めて検証した画期的な研究となった。

LIPUS治療の認知症・脳梗塞への適応

近年，アルツハイマー病の発症機序として脳の微小循環障害，とくにeNOSの機能不全がその病態に深く関与しうることが議論されるようになってきた[43]。LIPUS治療により脳内でeNOSの活性を回復させることができれば，その治療的効果も期待できる可能性がある。そこで，われわれは，認知症のマウスモデルである脳血管性認知症（VaD）モデルマウスとアルツハイマー型認知症（AD）モデルマウスを用いて，LIPUS治療（全脳照射）が認知機能低下の抑制に有効であるかを検討した[44]。VaDモデルとしては両側頸動脈狭窄（BCAS）モデルを使用し，ADモデルとしては5XFADトランスジェニックマウスを使用した[44]。VaDモデルにおいては，Y字迷路試験や受動的回避試験などの認知行動試験でLIPUS治療により認知機能の低下が有意に抑制された。病理学的には，脳虚血部位におけるCD31陽性血管内皮細胞とOlig2陽性オリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）が有意に増加していたことから，脳組織に誘導された血管新生作用が効果的であった可能性が示唆された。さらに，ADモデルの認知行動試験においても，LIPUS治療は有意に認知機能の低下を抑制した。ADモデルにおいては，LIPUS治療後にIba-1陽性ミクログリアを減少させると同時にアミロイド-β（Aβ）の蓄積が抑制されていたことがわかった[44]。RNA sequenceの結果によれば，両モデルにおいてLIPUSがeNOSを含むいくつかの血管内皮関連遺伝子を有意に発現調節していることが示された[44]。また，重要な知見として，LIPUS治療の効果はeNOS遺伝子欠損マウスではほとんど認めることができなかったことから，eNOSの中心的役割が示された。これらの検討結果をもとに，軽度アルツハイマー病患者を対象としたLIPUS治療（全脳照射）の有効性・安全性を検証すべく，単施設二重盲検プラセボ対照試験（医師主導治験）を2018年から東北大学で開始している。

さらに，LIPUS治療が脳梗塞動物モデルにおいて，運動機能を改善しうるかを検討した。脳梗塞の患者数は全世界で年間1300万人を超え[45]，わが国においては，寝たきり，介護導入の主因とされている。脳梗塞の治療戦略の一つとして，梗塞領域と正常領域の境界部で神経細胞の生存が保持されているペナンブラ領域の温存が重要であるとされる。現在，有効な治療方法として確立されている血栓溶解療法およびカテーテル血栓除去療法の適応対象は発症から数時間以内の症例であり，その恩恵を得られる症例は限られている。われわれは，脳梗塞モデルマウスの超急性期においてLIPUS治療を行い，その機能回復に有用であるかを検証した[46]。その結果，マウス中大脳動脈閉塞モデルにおいて，LIPUS治療群で虚血領域における血管密度の増加とともに脳組織萎縮量が減少し，新生神経細胞密度の増加，神経学的機能の改善が認められた[46]。さらに，eNOS欠損マウスではLIPUS治療の効果が消失することも確認した[46]。このことから，LIPUS治療は，脳梗塞においてもeNOSを介した血管新

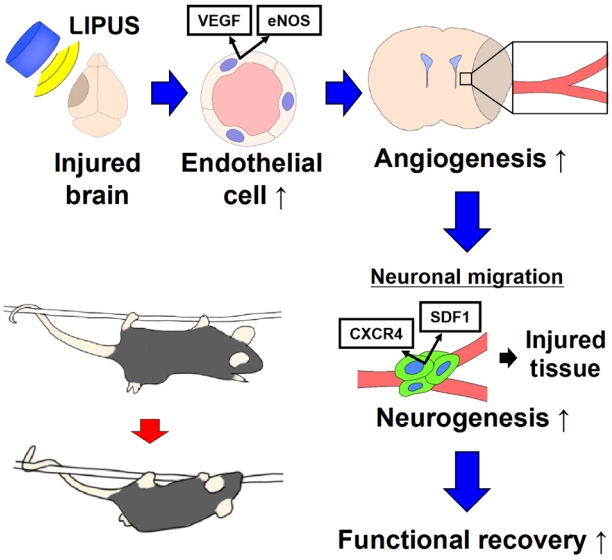

Figure 4 Mechanism of LIPUS therapy on mouse model of cerebral infarction

This figure shows the LIPUS therapy induced angiogenesis and neurogenesis in this order. In this process, it is shown that CXCR4-positive neural progenitor cells migrate toward the lesion site expressing SDF-1 after angiogenesis by eNOS and VEGF. Recently, the new blood vessels are considered to structurally support the migration of nerve cells as a scaffold rails[44].

生効果を発揮し，さらに神経新生の誘導にも寄与しうることが明らかとなった（**Fig. 4**）。

おわりに

音波（衝撃波や超音波）を用いた新しい物理療法は，血管新生療法の新しい可能性を示している。衝撃波は，強いせん断応力を生成する一方で集束した刺激を狭く小さな領域に届けることが特徴である。超音波は，せん断応力が弱く広範囲の組織に連続的に照射することが可能だが，繰り返し周波数により長時間の使用で熱的効果を有する。さらに，衝撃波にはキャビテーション効果があり肺出血のリスクを有するが，低出力パルス波超音波ではキャビテーションを生じることはほとんどなく，肺に照射しても合併症を生じるリスクは少ない。心臓のように組織そのものは強固な筋組織で構成され常に拍動する宿命を背負った臓器もあれば，脳のように厚い頭蓋骨に守られる一方で組織としては非常に脆弱で繊細な臓器もあり，今後，臓器別に最適な治療条件を同定していく必要がある。その一方で，衝撃波と超音波の作用機序に関しては，血管内皮細胞における細胞膜からその下流分子までの共通のMechano-transduction機構が関与している可能性が高い。今後も研究すべきテーマは山積しているが，超高齢社会において，このような低侵襲性の血管新生療法が活躍する場は，今後ますます拡大していくと思われる。

謝　辞

本研究の一部は，国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）「橋渡し研究戦略的推進プログラム（JP19lm0203047）」，同AMED「革新的医療シーズ実用化研究事業（JP19lk1403011）」，日本学術振興会科学研究費助成事業「若手研究（18K15877）」の支援を得て実施した。

利益相反

利益相反はない。

付　記

第61回日本脈管学会総会，会長特別企画（2020年）にて発表した。

文　献

1) Shindo T, Shimokawa H: Therapeutic angiogenesis with sound waves. Ann Vasc Dis 2020; **13**: 116–125
2) Nishida T, Shimokawa H, Oi K, et al: Extracorporeal cardiac shock wave therapy markedly ameliorates ischemia-induced myocardial dysfunction in pigs in vivo. Circulation 2004; **110**: 3055–3061
3) Fukumoto Y, Ito A, Uwatoku T, et al: Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates myocardial ischemia in patients with severe coronary artery disease. Coron Artery Dis 2006; **17**: 63–70
4) Kikuchi Y, Ito K, Ito Y, et al: Double-blind and placebo-controlled study of the effectiveness and safety of extracorporeal cardiac shock wave therapy for severe angina pectoris. Circ J 2010; **74**: 589–591
5) Khattab AA, Brodersen B, Schuermann-Kuchenbrandt D, et al: Extracorporeal cardiac shock wave therapy: first experience in the everyday practice for treatment of chronic refractory angina pectoris. Int J Cardiol 2007; **121**: 84–85
6) Prinz C, Lindner O, Bitter T, et al: Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates clinical symptoms and improves regional myocardial blood flow in a patient with severe coronary artery disease and refractory angina. Case Rep Med 2009; **2009**: doi:10.1155/2009/639594
7) Vasyuk YA, Hadzegova AB, Shkolnik EL, et al: Initial clinical experience with extracorporeal shock wave therapy in treatment of ischemic heart failure. Congest Heart Fail 2010; **16**: 226–230
8) Hiatt WR: Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. N Engl J Med 2001; **344**: 1608–1621
9) Wennberg PW: Approach to the patient with peripheral arterial disease. Circulation 2013; **128**: 2241–2250
10) Jaff MR, White CJ, Hiatt WR, et al: An update on methods for revascularization and expansion of the TASC lesion classification to include below-the-knee arteries: a supplement to the inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II): The TASC steering committee. Catheter Cardiovasc Interv 2015; **86**: 611–625
11) Oi K, Fukumoto Y, Ito K, et al: Extracorporeal shock wave therapy ameliorates hindlimb ischemia in rabbits. Tohoku J Exp Med 2008; **214**: 151–158
12) Serizawa F, Ito K, Kawamura K, et al: Extracorporeal shock wave therapy improves the walking ability of patients with peripheral artery disease and intermittent claudication. Circ J 2012; **76**: 1486–1493
13) Stojadinovic A, Elster EA, Anam K, et al: Angiogenic response to extracorporeal shock wave treatment in murine skin isografts. Angiogenesis 2008; **11**: 369–380
14) Yan X, Zeng B, Chai Y, et al: Improvement of blood flow, expression of nitric oxide, and vascular endothelial growth factor by low-energy shockwave therapy in random-pattern skin flap model. Ann Plast Surg 2008; **61**: 646–653
15) Hayashi D, Kawakami K, Ito K, et al: Low-energy extracor-

poreal shock wave therapy enhances skin wound healing in diabetic mice: a critical role of endothelial nitric oxide synthase. Wound Repair Regen 2012; **20**: 887–895

16) Weihs AM, Fuchs C, Teuschl AH, et al: Shock wave treatment enhances cell proliferation and improves wound healing by ATP release-coupled extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation. J Biol Chem 2014; **289**: 27090–27104

17) Saito S, Ishii T, Kamogawa Y, et al: Extracorporeal shock wave therapy for digital ulcers of systemic sclerosis: a phase 2 pilot study. Tohoku J Exp Med 2016; **238**: 39–47

18) Kubo M, Li TS, Kamota T, et al: Extracorporeal shock wave therapy ameliorates secondary lymphedema by promoting lymphangiogenesis. J Vasc Surg 2010; **52**: 429–434

19) Serizawa F, Ito K, Matsubara M, et al: Extracorporeal shock wave therapy induces therapeutic lymphangiogenesis in a rat model of secondary lymphedema. Eur J Vasc Endovasc Surg 2011; **42**: 254–260

20) Ogden JA, Alvarez RG, Levitt R, et al: Shock wave therapy (Orthotripsy) in musculoskeletal disorders. Clin Orthop Relat Res 2001; **387**: 22–40

21) Birnbaum K, Wirtz DC, Siebert CH, et al: Use of extracorporeal shock-wave therapy (ESWT) in the treatment of nonunions: a review of the literature. Arch Orthop Trauma Surg 2002; **122**: 324–330

22) Wang CJ: Extracorporeal shockwave therapy in musculoskeletal disorders. J Orthop Surg Res 2012; **7**: 11

23) Al-Abbad H, Simon JV: The effectiveness of extracorporeal shock wave therapy on chronic Achilles tendinopathy: a systematic review. Foot Ankle Int 2013; **34**: 33–41

24) Yamaya S, Ozawa H, Kanno H, et al: Low-energy extracorporeal shock wave therapy promotes vascular endothelial growth factor expression and improves locomotor recovery after spinal cord injury. J Neurosurg 2014; **121**: 1514–1525

25) Ujiie N, Nakano T, Yamada M, et al: Low-energy extracorporeal shock wave therapy for a model of liver cirrhosis ameliorates liver fibrosis and liver function. Sci Rep 2020; **10**: 2405

26) Yoshida M, Nakamichi T, Mori T, et al: Low-energy extracorporeal shock wave ameliorates ischemic acute kidney injury in rats. Clin Exp Nephrol 2019; **23**: 597–605

27) Ter Haar G: Therapeutic applications of ultrasound. Prog Biophys Mol Biol 2007; **93**: 111–129

28) Hanawa K, Ito K, Aizawa K, et al: Low-intensity pulsed ultrasound induces angiogenesis and ameliorates left ventricular dysfunction in a porcine model of chronic myocardial ischemia. PLoS One 2014; **9**: e104863

29) Shindo T, Ito K, Ogata T, et al: Low-intensity pulsed ultrasound enhances angiogenesis and ameliorates left ventricular dysfunction in a mouse model of acute myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2016; **36**: 1220–1229

30) Mizrahi N, Seliktar D, Kimmel E: Ultrasound-induced angiogenic response in endothelial cells. Ultrasound Med Biol 2007; **33**: 1818–1829

31) Parton RG: Life without caveolae. Science 2001; **293**: 2404–2405

32) Parton RG, del Pozo MA: Caveolae as plasma membrane sensors, protectors and organizers. Nat Rev Mol Cell Biol 2013; **14**: 98–112

33) Yeo MG, Oh HJ, Cho HS, et al: Phosphorylation of Ser 21 in Fyn regulates its kinase activity, focal adhesion targeting, and is required for cell migration. J Cell Physiol 2011; **226**: 236–247

34) Gervásio OL, Phillips WD, Cole L, et al: Caveolae respond to cell stretch and contribute to stretch-induced signaling. J Cell Sci 2011; **124**: 3581–3590

35) del Pozo MA, Balasubramanian N, Alderson NB, et al: Phospho-caveolin-1 mediates integrin-regulated membrane domain internalization. Nat Cell Biol 2005; **7**: 901–908

36) Zemljic Jokhadar S, Majhenc J, Svetina S, et al: Positioning of integrin β1, caveolin-1 and focal adhesion kinase on the adhered membrane of spreading cells. Cell Biol Int 2013; **37**: 1276–1284

37) Stein CK, Qu P, Epstein J, et al: Removing batch effects from purified plasma cell gene expression microarrays with modified ComBat. BMC Bioinformatics 2015; **16**: 63

38) Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, et al: Lifetime risk for developing congestive heart failure: The Framingham Heart Study. Circulation 2002; **106**: 3068–3072

39) Borlaug BA: The pathophysiology of heart failure with preserved ejection fraction. Nat Rev Cardiol 2014; **11**: 507–515

40) Paulus WJ, Tschope C: A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. J Am Coll Cardiol 2013; **62**: 263–271

41) Crea F, Bairey Merz CN, Beltrame JF, et al; Coronary Vasomotion Disorders International Study Group (COVADIS): The parallel tales of microvascular angina and heart failure with preserved ejection fraction: a paradigm shift. Eur Heart J 2017; **38**: 473–477

42) Monma Y, Shindo T, Eguchi K, et al: Low-intensity pulsed ultrasound ameliorates cardiac diastolic dysfunction in mice: a possible novel therapy for heart failure with preserved left ventricular ejection fraction. Cardiovasc Res 2021; **117**: 1325–1338

43) Katusic ZS, Austin SA: Endothelial nitric oxide: protector of a healthy mind. Eur Heart J 2014; **35**: 888–894

44) Eguchi K, Shindo T, Ito K, et al: Whole-brain low-intensity pulsed ultrasound therapy markedly improves cognitive dysfunctions in mouse models of dementia: crucial roles of endothelial nitric oxide synthase. Brain Stimul 2018; **11**: 959–973

45) Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al; Writing Group Members; American Heart Association Statistics Committee; Stroke Statistics Subcommittee: Heart disease and stroke statistics-2016 update: a report from the American Heart Association. Circulation 2016; **133**: e38–e360
46) Ichijo S, Shindo T, Eguchi K, et al: Low-intensity pulsed ultrasound therapy promotes recovery from stroke by enhancing angio-neurogenesis in mice in vivo. Sci Rep 2021; **11**: 4958

Latest Findings of Ultrasonic Angiogenesis Therapy

Tomohiko Shindo, Satoshi Yasuda, and Hiroaki Shimokawa

Department of Cardiovascular Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine, Miyagi, Japan

Key words: shock wave, ultrasound, angiogenesis, mechano-transduction, nitric oxide

Along with the global aging, the number of patients with cardiovascular disease complicated with various comorbidities is rapidly increasing. It has been demonstrated that repeated stimulation with sound waves stretches vascular endothelial cells and induces the expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and vascular endothelial growth factor (VEGF). Based on these findings, we were able to further demonstrate that physical stimulation by low-intensity shock wave or pulsed ultrasound (LIPUS) enhances phosphorylation of Erk1/2 and Akt via phosphorylation of Fyn and FAK, and subsequently induces the expression of eNOS and VEGF. Furthermore, we were able to develop a minimally invasive angiogenic therapy with sound waves, and have been performing both basic and clinical studies. In this article, we will briefly summarize the progress in our project of developing novel angiogenic therapies with sound waves.

(J Jpn Coll Angiol 2021; **61**: 131–137)

Online publication December 10, 2021