

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09441

研究課題名(和文)自律神経均衡の破綻が招く心筋梗塞病態の増悪機序の解明と積極的是正による病態制御

研究課題名(英文) A study of the exacerbation mechanism caused by unbalanced autonomic nervous system in the pathology of myocardial infarction

研究代表者

有川 幹彦(Arikawa, Mikihiro)

高知大学・教育研究部自然科学系理工学部門・准教授

研究者番号：20432817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では「心不全病態における自律神経均衡の破綻が予後不良の主因である」という仮説のもと、破綻した自律神経均衡を積極的に是正することによる心不全病態の改善を目指した。顕微手術または薬剤投与により、心臓特異的コリン作動系非働化マウスと心臓特異的コリン作動系賦活化マウスを準備し、それぞれにおいて心筋梗塞モデルを作製して急性期、および慢性期に病態評価を行った。しかしながら、安静時心拍数、心重量比、心破裂による死亡率、および長期生存率において、実験群間での有意な差は認められなかった。研究目的に合う実験モデルとはなり得ておらず、モデル作成法の再検討が必要であると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成功により、副交感神経活動の抗心不全作用を分子・細胞レベルで説明することができる。さらに、自律神経均衡の新規治療標的としての可能性、および心不全治療戦略としての将来性を組織・個体レベルで評価することにより、虚血性心疾患に対する新規治療法の開発および予防対策の確立のための新しいエビデンスを得ることができる。これらのことから、破綻した自律神経均衡を積極的に是正することによる心筋梗塞病態の改善を目指す本研究は、高齢化の進む現代社会と発展する循環器医療の未来に強く貢献すると期待でき、基礎・臨床研究において非常に学術的価値が高い。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we aimed to improve the pathology of heart failure by positively correcting the unbalanced autonomic nervous system. A mouse model of myocardial infarction (MI) of which heart-specific cholinergic system was activated or inactivated by microsurgery or drug administration was prepared, and the pathology in acute and chronic phases of MI was evaluated. However, there were no significant differences among the experimental groups in resting heart rate, heart weight-to-body weight ratio, mortality by cardiac rupture, and long-term survival rate. Since it cannot be an experimental model suitable for the purpose of the present study, it seems necessary to reexamine the model creation method.

研究分野：医歯薬学

キーワード：生体機能利用 心機能保護 自律神経均衡 心筋梗塞

1. 研究開始当初の背景

現代の高齢化社会において、死因第二位とされる虚血性心疾患の治療法開発および予防対策は、循環器領域の基礎・臨床研究における重要克服課題のひとつである。申請者が所属する研究グループでは、これまでに、心臓迷走神経(副交感神経)活動の活性化による心不全病態改善効果を新たに見出した。後に行われた臨床試験においても、心不全患者に対する長期間の心臓迷走神経刺激の安全性と有効性が示された。これらの研究結果を受け、様々な循環器疾患の病態における副交感神経活動の役割とその意義、および作用機序を分子レベルで明らかにすることが急務とされた。将来的な臨床医学への応用を見据えて、副交感神経系への直接介入による心疾患に対する新規治療法の開発が期待され、それを目標とした基礎研究の遂行と成功が必要とされる。

近年の心不全治療では、ACEI や ARB あるいは β 遮断薬などの単独または併用投与が基本的な治療法として広く認識されている。しかしながら、これらの薬剤の、我が国での心不全治療におけるエビデンスは欧米諸国に比べて極めて乏しい。さらには、心筋梗塞発症後の心臓リモデリングや心機能低下は不可避な生命現象であり、標的選択性の高い薬物で個々の生理活性を強制的に制御する治療法では、その反動的副作用の可能性を完全には否定し難い。

これまでの研究成果および予備実験において、心不全モデル動物に ACh 分解酵素阻害剤を投与して内在性 ACh レベルの上昇を促した結果、心不全病態と生命予後の改善が認められた。その際、不全心筋組織内において、心筋エネルギー代謝の効率化、炎症促進性酵素活性の低下、および線維癒痕化による組織脆弱化の抑制が観察された。以上のことから、副交感神経活動の活性化は、心臓リモデリングの遅延と心臓収縮機能減衰の抑制、さらには病因性炎症反応と癒痕化を含む創傷治癒過程の制御・治療に有効である可能性が示唆された。これにより、副交感神経活動の心不全病態における重要性、および病態改善作用の分子機序解明の必要性を強く感じ、本研究課題の着想に至った。

2. 研究の目的

心臓ポンプ機能は自律神経(交感神経と副交感神経)の二重支配を受ける。心不全病態においては、交感神経の活性化、および副交感神経の不活性化が起こり、それらは予後不良の主因と考えられる。すなわち、交感神経活動の過剰亢進が機能の低下した心臓に更なる負荷を強いると同時に、副交感神経活動の減弱化が交感神経活動を更に助長させて心不全病態を悪化させるといふ、自律神経活動の不均衡化による悪循環に陥る。心不全病態における交感神経活動の亢進は最低限の心拍出を確保するために必要な生体に備わる代償機構である。しかし、その代償機構により心不全の病態悪化に拍車がかかっているのである。

上述したように、心臓迷走神経刺激は心不全の予後を改善する。その効果は臨床試験にて実証済みであるが、作用機序は未だ明らかにされていない。我々の研究グループでは、迷走神経刺激によって神経末端より放出されるアセチルコリン(ACh)が心筋細胞および心臓に対して短期的な、あるいは不全心を持つ個体に対して長期的な保護作用を持つことを明らかにしてきた。裏を返せば、心不全病態において副交感神経活動が減弱することにより、ACh 誘導性のストレス防御機構が働かないこと、あるいは ACh が有する心臓リモデリング予防効果と心機能温存効果を発揮できないことが、心不全病態の悪化につながるのであろう。

そこで本研究では、心不全モデル動物を用いて自律神経均衡の破綻した病態を再現し、病態増悪のメカニズムを明らかにすること、さらには、破綻した自律神経均衡を積極的に是正することによって病態の改善を狙い、その作用機序を明らかにすることにより自律神経均衡の治療標的としての可能性を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

3.1. モデル作製とその有用性の評価

本研究では「自律神経均衡の破綻が心不全病態増悪機序の主因である」と仮説を立てた。さらには、自律神経均衡の破綻を積極的に是正することで心不全の予後を改善させることを目的とした。それを検証するための動物モデルとして以下の3実験群を作製する。

- ・正常マウス(wild type, WT)
- ・心臓迷走神経切除による心臓特異的コリン作動系非働化マウス(vagotomized mouse, VM)
- ・心臓迷走神経電気刺激による心臓特異的コリン作動系賦活化マウス(vagal nerve stimulated mouse, VNSM)

続いて、作製したモデルの有用性を検証する。心臓迷走神経への介入後に、tail cuff 法による安静時心拍数の測定および心臓迷走神経活動の記録を行うことにより、各実験群における神経機能を評価する。また、術後7日間の死亡率も確認する。

3.2. 心筋梗塞急性期および慢性期における心機能の多角的評価

各実験群において、左冠動脈結紮による心筋梗塞 (myocardial infarction, MI) モデルを作製し、以下の点について群間で比較する。

急性期実験： 術後1日目から術後7日目まで。左冠動脈結紮により左心室の大部分が虚血になり、心筋細胞の壊死および炎症反応を経て、将来的な梗塞領域が決定する時期。

1) 術前術後の血圧および心拍数、2) 心筋リモデリング、3) 左心室自由壁破裂 (心破裂) による死亡率。

慢性期実験： 術後7日目から術後2ヶ月目まで。梗塞領域の線維瘢痕化が完成し、残存心筋の構造的・機能的リモデリングが起こり、さらには代償機構が働いて、徐々に心不全症状を呈する時期。

1) 長期生存率、2) 左心室機能、3) 心筋リモデリング、4) 心室性不整脈の有無。

研究遂行上の問題と対応：

心筋梗塞モデル作製後に迷走神経に介入すると、そこで現れる変化が心筋梗塞に起因するものなのか迷走神経への介入に起因するものか区別をつけることが困難である。したがって、研究計画1では、各実験群における迷走神経活動の記録を心筋梗塞モデル作製前に行うことでモデルの有用性を正しく評価する。

心臓迷走神経の切除および電気刺激による自律神経活動の制御が困難な場合は、ACh 受容体阻害薬投与によるコリン作動性神経活動の抑制、あるいは ACh 分解酵素阻害薬投与によるコリン作動性神経活動の活性化により研究目的の達成に適した実験群を得る。我々が作製した ACh 合成酵素の心臓特異的過剰発現マウス (Choline acetyltransferase transgenic mouse, ChAT Tgm) も有用である。

4. 研究成果

研究計画に従い、以下の3実験群を作製し、それらの有用性の検証を行った。

- ・正常マウス (wild type, WT)
- ・心臓迷走神経切除による心臓特異的コリン作動系非働化マウス (vagotomized mouse, VM)
- ・心臓迷走神経電気刺激による心臓特異的コリン作動系賦活化マウス (vagal nerve stimulated mouse, VNSM)

VM 作成直後の安静時心拍数が WT に比べて有意に増加することが確認されたが、その再現性は乏しかかった。モデルが正しく作製されていることを安静時心拍数以外で評価することが必要であると思われた。また、WT および VM における心筋梗塞 (MI) モデル作製後の心不全病態に大きな差は認められなかった。特に、WT では MI モデル作成後1週間の間に心破裂により高い死亡率を示すことを明らかにしており、それに対して心臓迷走神経切除の影響を検討する目的で、VM における MI 術後1週間の経過を観察したが、MI モデル作成後1週間の間の心破裂による死亡率に有意な差は認められなかった。したがって、実験群の有用性の検証を行った結果、研究目的に適う実験モデルとはなり得ていないと結論づけた。そこで、研究計画・方法の「研究遂行上の問題と対応」に記したように、薬剤投与により研究目的の達成に適した実験群を得たうえで、心筋梗塞急性期および慢性期における心機能の多角的評価を実施することとした。

研究計画に従い、以下の3実験群を作製した。

- ・正常マウス
- ・アセチルコリン受容体阻害剤 (Atropine) 投与によるコリン作動系非働化マウス
- ・アセチルコリン分解酵素阻害剤 (Donepezil) 投与によるコリン作動系賦活化マウス

それぞれの実験群において心筋梗塞モデルを作製し、急性期および慢性期において心不全病態を評価し、それを比較した。しかしながら、急性期における体重、心重量、心重量比、および心破裂による死亡率において実験群間に大きな差は認められなかった。また、慢性期における体重、心重量、心重量比、および長期生存率においても実験群間に大きな差は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawano N, Funadani R, Arikawa M, Harada T, Suizu F, Matsuoka K, Matsuoka T.	4. 巻 56
2. 論文標題 Photoreponse in the Ciliated Protozoan Colpoda cucullus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acta Protozoologica	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4467/16890027AP.17.001.6965	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 有川幹彦・松岡達臣	4. 巻 65
2. 論文標題 繊毛虫コルポダにおけるクリプトピオシスの分子機構	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Jpn. J. Phycol.	6. 最初と最後の頁 103-104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Funadani R, Sogame Y, Kojima K, Takeshita T, Yamamoto K, Tsujizono T, Suizu F, Miyata S, Yagyū K, Suzuki T, Arikawa M, Matsuoka T.	4. 巻 363
2. 論文標題 Morphogenetic and molecular analyses of cyst wall components in the ciliated protozoan Colpoda cucullus Nag-1.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 FEMS Microbiol Lett.	6. 最初と最後の頁 fnw203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/femsle/fnw203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Arikawa M, Kakinuma Y, Noguchi T, Todaka H, Sato T.	4. 巻 789
2. 論文標題 Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW 264.7 through inhibition of nuclear factor kappa B translocation.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Eur J Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 17-26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2016.06.053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chikuda Y, Shimada Y, Hasegawa Y, Matsuoka T, Arikawa M.	4. 巻
2. 論文標題 Characterization of enhanced ethanol tolerance in Paramecium caudatum after exposure to low ethanol concentrations.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Protistology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamane S, Watanabe M, Funadani R, Miyazaki R, Hasegawa Y, Arikawa M, Suizu M, Matsuoka K, Matsuoka T.	4. 巻
2. 論文標題 Tolerance of Colpoda cucullus Nag-1 resting cysts and presumed structure for protection against UV light.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Protozoologica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Arikawa M, Chikuda Y, Matsuoka T.
2. 発表標題 The stress-induced stress tolerance acquisition in ciliated protozoan Paramecium caudatum
3. 学会等名 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Todaka H, Arikawa M, Noguchi T, Ichikawa A, Sato T.
2. 発表標題 Acetylcholinesterase inhibitor accelerates muscle differentiation in C2C12 myoblasts
3. 学会等名 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Otani S, Nagano K, Arikawa M, Suzaki T.
2. 発表標題 Structure and function of the siliceous scales in the centrohelid heliozoan <i>Raphidiophrys contractilis</i>
3. 学会等名 Joint Meeting of the Japan Society of Protistology and the Korean Society of Protozoologists (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸高寛・有川幹彦・野口達哉・市川厚・佐藤隆幸.
2. 発表標題 コリンエステラーゼ阻害剤を用いた筋再生機構の解明
3. 学会等名 第70回日本生理学会中国四国地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 島田雄斗・松岡達臣・有川幹彦.
2. 発表標題 繊毛虫Colpoda cucullusの休眠シスト形成に対する温度の影響
3. 学会等名 第51回日本原生生物学会松江大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 洲崎敏伸・大谷咲会・長尾賢杜・有川幹彦.
2. 発表標題 有中心粒太陽虫 <i>Raphidiophrys contractilis</i> のケイ酸質被殻の機能
3. 学会等名 第51回日本原生生物学会松江大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 有川幹彦
2. 発表標題 コルポータにおけるクリプトピオシス
3. 学会等名 日本動物学会大88回大会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戸高寛・有川幹彦・市川厚・野口達哉・佐藤隆幸
2. 発表標題 心臓における虚血再灌流刺激は抗アポトーシス作用を有するAcetylcholinesterase-Rの発現量を増加させる
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 有川幹彦
2. 発表標題 海洋深層水由来飲料水の細胞寿命延命効果
3. 学会等名 第110回土佐生物学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 舟谷亮二・十亀陽一郎・小嶋克彦・竹下敏一・山本圭祐・辻園智哉・水津太・宮田清司・矢生健一・鈴木智彦・有川幹彦・松岡達臣
2. 発表標題 繊毛虫コルポータColpoda cucullusにおける休眠シスト壁形成に関する研究
3. 学会等名 第49回日本原生生物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 有川幹彦・松岡達臣.
2. 発表標題 繊毛虫コルポータにおけるクリプトピオシスの分子機構.
3. 学会等名 日本藻類学会第41回大会.
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戸高寛・有川幹彦・市川厚・野口達哉・佐藤隆幸.
2. 発表標題 虚血誘導性アポトーシスは心アセチルコリンエステラーゼの発現量を増加させる.
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会.
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 有川幹彦・戸高寛・柿沼由彦・野口達哉・佐藤隆幸.
2. 発表標題 マウス心筋梗塞モデルにおいて、心線維芽細胞に認められる非神経性コリン作動系は虚血刺激により活性化する.
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会.
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Todaka, Takuma Higuchi, Keiko Morisawa, Takeshi Miwa, Lai Sylvia Chin See, Masayuki Tsuda, Yasunori Sugiyama, Mikihiro Arikawa, Takayuki Sato, Shuji Sakamoto.
2. 発表標題 Elucidation of the role of the double-stranded RNA binding protein NF90-NF45 complex in muscular regeneration.
3. 学会等名 RNA 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Shimada Y, Matsuoka T, Arikawa M.
2. 発表標題 Effect of temperature on resting cyst formation in ciliated protozoan Colpoda cucullus
3. 学会等名 10th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (ICCPB 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Todaka H, Arikawa M, Noguchi T, Ichikawa A, Sato T.
2. 発表標題 Donepezil, anti-Alzheimer drug, enhances myogenesis in C2C12 myoblasts
3. 学会等名 10th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (ICCPB 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有川幹彦・築田靖崇・松岡達臣
2. 発表標題 ゾウリムシにおける低濃度エタノール前処理によるエタノール耐性の増強について
3. 学会等名 第52回日本原生生物学会水戸大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考