

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19415

研究課題名(和文)局所的な心臓交感神経介入による急性心不全治療戦略の構築-脳心連関の視点から-

研究課題名(英文)Construction of acute heart failure treatment strategy by local cardiac sympathetic intervention - From the viewpoint of brain heart connection

研究代表者

野寺 穰 (nodera, minoru)

福島県立医科大学・医学部・助手

研究者番号：40769593

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ラットにおいて我々は星状神経節へNeuRetベクターを接種し、蛍光タンパク質を脊髄中間外側核の神経細胞体で発現させ、星状神経節へニューロンを伸ばしている細胞体を同定することができた。またラット心不全モデルにおいて脊髄中間外側核のneural remodeling現象を確認した。今後は同現象に関与する神経栄養因子を明らかにし、これを標的としてNeuRetベクターを用いたタンパク発現によるneural remodelingの制御を試みる予定である。本研究の成果は、慢性心不全における脳心連関への介入による心筋リモデリングや致死性不整脈の抑制という斬新な治療法の開発の基盤となる。

研究成果の概要(英文)：In the rat, we were able to inject the NeuRet vector into the stellate ganglion, express the fluorescent protein in the neuronal cell body of the intermediolateral nucleus of the spinal cord, and identify cell bodies that project to the stellate ganglion. In the rat heart failure model, we confirmed neural remodeling of the intermediolateral nucleus of the spinal cord. We plan to clarify the neurotrophic factors involved in the neural remodeling and to try to control the neural remodeling by using the NeuRet vector to express it. The outcome of this study is the foundation for the development of novel therapeutic methods such as suppression of myocardial remodeling and lethal arrhythmia by intervention in brain heart connection in chronic heart failure.

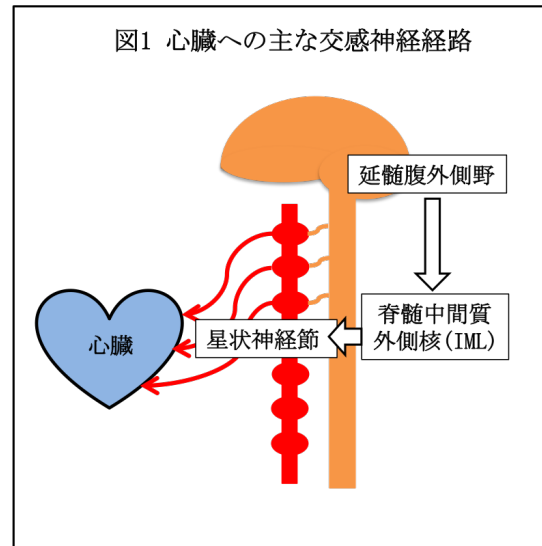
研究分野：Autonomic nervous system

キーワード：脳心連関 交感神経 神経細胞特異的高頻度逆行性遺伝子導入ベクター 急性心不全 neural remodeling 星状神経節 脊髄中間外側核 心筋梗塞

## 1. 研究開始当初の背景

心不全病態では、交感神経活性や、アンジオテンシン II に代表される体液性因子がその予後に影響を与え、遮断薬やアンジオテンシン変換酵素阻害薬が予後改善に有効である。近年の研究により、心不全病態で増加したアンジオテンシン II は脳内受容体を介して交感神経活性を亢進させることで、心不全を更に悪化させる機序が解明され、脳心連関として注目されている(図1)。心臓交感神経は、頭側延髄腹外側野が制御中枢であり、傍脊柱にある複数の交感神経節を経由して心臓を支配している。複数の交感神経節により心臓神経支配が形成されていることから、交感神経節単位で心臓が支配される部位は異なる事が予想されるが、その詳細は明らかではない。近年、本研究連携研究者である小林らがレンチウイルスより神経細胞特異的高頻度逆行性遺伝子導入ベクター(NeuRet ベクター)を開発し、Green fluorescent protein(GFP)や Interleukin-2(IL-2) 受容体を始めとする各種タンパク質を神経細胞体に発現する技術を確立した(Kato S, Kobayashi K, et al. Human Gene Therapy 2011, 22:1511-23)。この技術により、NeuRet ベクターを心筋に接種することで、心臓に分布している交感神経終末から逆行性に遺伝子導入を行い、神経細胞体が存在する神経節に目的タンパクを発現させることで、局所的な交感神経支配領域の同定や交感神経除神経などの介入が行える可能性が開けた。単純な交感神経幹破壊では、心以外の全身臓器に影響を与えてしまうが、本研究を応用すれば心臓のみの交感神経除神経が可能となる。例えば、急性心筋梗塞に代表される虚血性心不全の場合、虚血部位の交感神経除神経を行うことで、その組織変化から、心臓交感神経そのものが虚血再灌流障害、心筋梗塞後組織変化に与える影響を検討することができ、交感神経除神経による脳心連関制御の治

療効果を検討できるようになると考えられる。



## 2. 研究の目的

本研究は以下の3点を中心に検討することで、心臓交感神経支配の詳細を明らかとし、急性心不全病態における脳心連関への介入という新たな心不全治療戦略の構築が目的である。

神経細胞特異的高頻度逆行性遺伝子導入ベクター(NeuRet ベクター)を用いて、心筋局所の交感神経支配部位を、交感神経節単位で明らかとする。

心筋局所交感神経除神経ラットモデルを作成し、交感神経が支配心筋組織に与える生理的効果を明らかとする。

心筋局所交感神経除神経ラットに各種急性心不全モデルを作成し、心臓交感神経への介入による脳心連関の抑制が、急性心不全病態へ与える影響を解明する。

## 3. 研究の方法

本研究では、研究目的を達成するため、以下の点を中心に実験を遂行していく方針とした。

ラット心に NeuRet ベクターを接種し、GFP などの蛍光タンパク遺伝子を交感神経細胞に発現させ、交感神経節とその心臓支配領域の関係を明らかとする。

イムノトキシンを用いた局所的な交感神経除神経を行い、除神経による心筋組織、心筋生理の変化を検討する。

実験 で作成した交感神経除神経モデルに対し、虚血再灌流、心筋梗塞といった急性心不全モデルを作成し、交感神経が心不全病態生理、生命予後に与えるメカニズムを検討する。

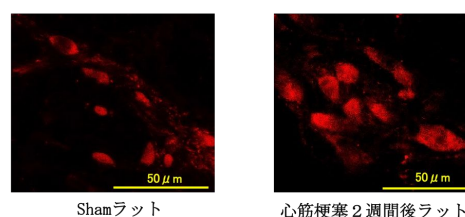
#### 4. 研究成果

GFPもしくはRed fluorescent protein (RFP)遺伝子を融合したNeuRetベクターをラット右心室および左心室の心尖部、中央部、基部の各心筋内に注入し、神経細胞体にGFP/RFPを発現させることで、心筋各部位を支配する交感神経節を同定することを試みた。NeuRetベクターをラット左心室心尖部に注入し、GFPを両側星状神経節における交感神経細胞体に発現させることに成功したが、その他の部位では発現が得られず、また左室心尖部の注入においてもなかなか再現性を持って発現が得られなかった。NeuRetベクターの骨格筋への打ち込みは前例があるが心筋への打ち込みは本実験が初回となる。心筋の交感神経密度や心拍動下での打ち込みなどの要因が影響している可能性を考慮し、ベクターの注入方法や注入量、注入部位の再検討を行なったが再現性は得られなかった。

そこで心臓へのNeuRetベクターの打ち込みは断念し、心臓交感神経系の上流経路への介入実験を考案した。近年星状神経節の神経細胞が肥大するneural remodelingという現象が発見され、交感神経活性亢進の持続性を説明し得る形態学的変化として、その病的意義が注目されている。しかし交感神経系全体におけるneural remodelingの全貌、そしてneural remodelingの分子メカニズムについてはほとんどわかっていない。我々は星状神経節へNeuRetベクターを接種し、蛍光タンパク質を脊髄中間外側核の神経細胞体で発現させ、星状神経節へニューロンを伸ばしている細胞体

を同定することができた。またラット心不全モデルにおいて脊髄中間外側核 (IML) のneural remodeling現象を確認した (図2)。今後は同現象に關与する神経栄養因子を明らかにし、これを標的としてNeuRetベクターを用いたタンパク発現によるneural remodelingの制御を試みる予定である。本研究の成果は、慢性心不全における脳心連関への介入による心筋リモデリングや致死性不整脈の抑制という斬新な治療法の開発の基盤と

図2 IMLにおける神経細胞体の腫大



なる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計2件)

発表標題: Sympathetic Remodeling in Intermediolateral Nuclei after Myocardial Infarction via BDNF-TrkB Axis

発表者名: Minoru Nodera, Masayoshi Oikawa, Kazuhiko Nakazato Takafumi Ishida, Yasuchika Takeishi

学会等名: 第1回日本循環器学会基礎研究フォーラム

発表年: 2018年

発表標題: Sympathetic Nervous Remodeling in the Intermediolateral Nucleus Is Induced after Myocardial Infarction via Activation of BDNF-TrkB Axis

発表者名：Minoru Nodera, Masayoshi Oikawa,  
Kazuhiko Nakazato Takafumi Ishida,  
Yasuchika Takeishi

学会等名：第82回日本循環器学会学術集会

発表年：2018年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

野寺 穰 (NODERA MINORU)

福島県立医科大学・循環器内科学講座・助手

研究者番号：40769593

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

小林 和人 (Kobayashi Kazuto)

福島県立医科大学・生体情報伝達研究所 生

体機能研究部門・教授

研究者番号：90211903

### (4)研究協力者

及川 雅啓 (OIKAWA MASAYOSHI)

福島県立医科大学・循環器内科学講座・助教

研究者番号：30457775