

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09308

研究課題名(和文) グレリンシグナリングを介した六君子湯の心房細動アップストリーム治療の有用性

研究課題名(英文) Effects of Rikkunshito on upstream therapy for atrial fibrillation through a ghrelin signaling

研究代表者

中川 幹子 (Nakagawa, Mikiko)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：50244182

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)：心房細動は発生頻度の高い不整脈であり、その予防法の開発は重要な課題である。消化管に働くペプチドホルモンのグレリンが、心臓においては心房の炎症や線維化を抑制し、心房細動の発症を抑制する可能性が示唆されている。

本研究では、グレリン分泌薬であり一般には胃薬として使用される漢方薬の六君子湯が、昇圧物質のアンギオテンシンにより増強される心房筋の線維化や心房細動の発症を抑制するかどうかをマウスを使って検討した。六君子湯はGHSR-Sirt1 pathwayを介して、アンギオテンシンにより誘発される心房筋の線維化を抑制することにより、心房細動の発症を抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心房細動は発生頻度の高い不整脈であり心原性脳梗塞の原因となるため、その予防法の開発は重要な課題である。消化管に働くペプチドホルモンのグレリンが、心臓においては心房の炎症や線維化を抑制し、心房細動の発症を抑制する可能性が示唆されている。漢方薬の六君子湯はグレリン分泌薬であり、胃薬として広く使用されている。本研究では、六君子湯に心房筋の線維化を抑制し、心房細動の発症を抑制する効果があることを世界で初めて立証した。六君子湯は心房細動の予防薬として、健康長寿を実現する手段の一つとなり得る可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：Atrial fibrillation (AF) is a frequent arrhythmia that is associated with morbidity and mortality. Ghrelin is an acylated peptide hormone secreted by the stomach and includes stimulation of growth hormone secretion and inhibition of inflammation and apoptosis in the hearts. These observations led to a hypothesis that potentiation of ghrelin signaling can attenuate angiotensin II (AngII)-induced AF. Rikkunshito (RKT) is a traditional herbal medicine widely used in patients with gastrointestinal symptoms. It has been reported that RKT potentiates ghrelin signaling and exert anti-inflammatory and anti-fibrotic effects in several organs. This study tested the hypothesis that RKT can suppress AngII-induced inflammatory atrial fibrosis and ameliorate enhanced vulnerability to AF. Our results demonstrated that RKT suppresses atrial inflammatory fibrosis and enhances AF vulnerability in mice induced by continuous subcutaneous AngII infusion by potentiating the GHSR-Sirt1 pathway.

研究分野：循環器内科

キーワード：六君子湯 グレリン 心房細動 心房筋線維化 漢方薬

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

- (1) 心房細動は心原性脳梗塞の原因となる非常に頻度の高い不整脈であり、心房細動の発症予防は健康寿命を伸ばすための重要な課題となる。心房細動の発症機序は未だ完全には解明されておらず、また予防に有効な薬物は開発されていないのが現状である。
- (2) グレリンは成長ホルモン分泌促進因子であるが、近年、心血管系に対する作用があることが明らかになった。しかし、グレリンと不整脈、特に心房細動との関連は不明である。
- (3) 古くより胃薬として頻用されてきた漢方薬の六君子湯は、グレリン分泌薬剤として注目されている。近年、六君子湯が抗炎症作用によって老化モデルマウスの寿命を延長し、心臓の Sirtuin1 活性を上昇して心筋の石灰化、心外膜炎、心筋線維巣状萎縮を有意に改善したことが報告された。

### 2. 研究の目的

グレリンの分泌を促進する薬物である漢方薬の六君子湯に、心臓におけるグレリンシグナリングを介して心房筋の線維化を抑制し、心房細動発症を抑制する効果があるかどうかを検討する。

### 3. 研究の方法

10 週齢の野生型マウス (C57BL/6) に、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (2mg/kg/day) 或いはアンギオテンシン II (Ang II) (2mg/kg/day) を 2 週間皮下投与した。その後、それぞれを 2 群に分け、蒸留水 (water) 或いは六君子湯 (RKT) (1000mg/kg/day) を 2 週間経口投与し、PBS-Water、PBS-RKT、Ang II-Water、Ang II-RKT の 4 群に分類した。経時的に体重、血圧、脈拍数、摂食量の計測を行った。2 週の投与期間の後、①経胸壁心エコー図による心機能評価、②Masson&Trichrome 染色による心房筋線維化の組織学的評価、③免疫組織染色による心房における炎症評価、④PCR による炎症と心房筋リモデリングの評価、⑤経食道バーストペーシング法とランゲンドルフ法による AF 誘発評価、⑥Growth hormone secretagogue receptor (GHSR)-antagonist の効果を検討した。

### 4. 研究成果

- (1) 心エコー図で測定した心機能: Ang II 群は PBS 群に比し、左室壁厚が有意に増加したが、左室内径及び左室駆出率には両群間で有意差を認めなかった。
- (2) 心房筋の線維化: ①Masson&Trichrome 染色: Ang II-Water は PBS-Water に比し有意に左心房の線維化を増強していたが ( $p < 0.01$ )、Ang II-RKT は Ang II-Water に比し線維化を有意に抑制した ( $p < 0.01$ ) (図 1)。
- (3) 心房筋の mRNA expression: Ang II-Water では PBS-Water に比し collagen1, collagen3、TNF- $\alpha$  及び IL-6 の upregulation が認められたが ( $p < 0.01$ )、Ang II-RKT はこれらを有意に抑制した ( $p < 0.05$ )。
- (4) 心房細動誘発率:
  - ① 経食道バーストペーシングによる心房細動誘発率: Ang II-Water は PBS-Water に比し心房細動誘発率は有意に増加したが ( $p < 0.01$ )、Ang II-RKT は Ang II-Water に比し心房細動誘発率及び心房細動持続時間を有意に減少した ( $p < 0.05$ ) (図 2)。
  - ② ランゲンドルフ法での単離心臓では、RKT は Ang II による心房の伝導時間の延長と心房細動誘発率の増加を有意に抑制した。
- (5) Growth hormone secretagogue receptor (GHSR)-antagonist の効果: GHSR-antagonist

投与下では Ang II-RKT の心房線維化抑制効果を有意に減弱し、RKT による心房細動誘発抑制を減弱した。

- (6) Western blot 法と胎生ラット心線維芽細胞を用いた *in vivo* 試験において、Ang II-RKT では Ang II-Water に比し Sirt1 の発現が有意に増加し、GHSR-antagonist 投与下ではこの増加が抑制された。Ang II-RKT では Ang II-Water に比し IκB のリン酸化が有意に抑制され、GHSR-antagonist 投与下ではこの抑制が消失した(図3)。

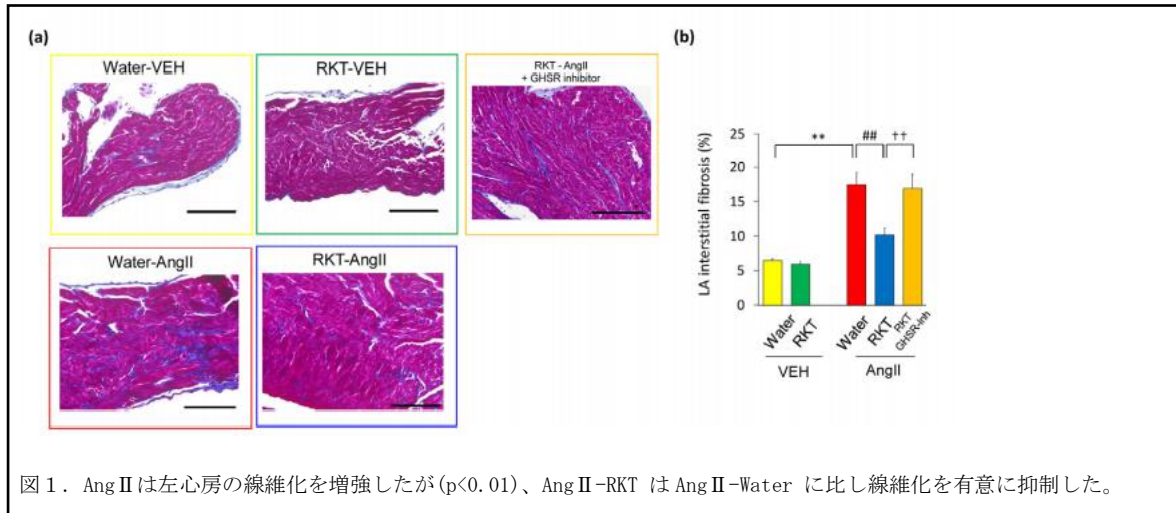


図1. Ang IIは左心房の線維化を増強したが(p<0.01)、Ang II-RKT はAng II-Water に比し線維化を有意に抑制した。

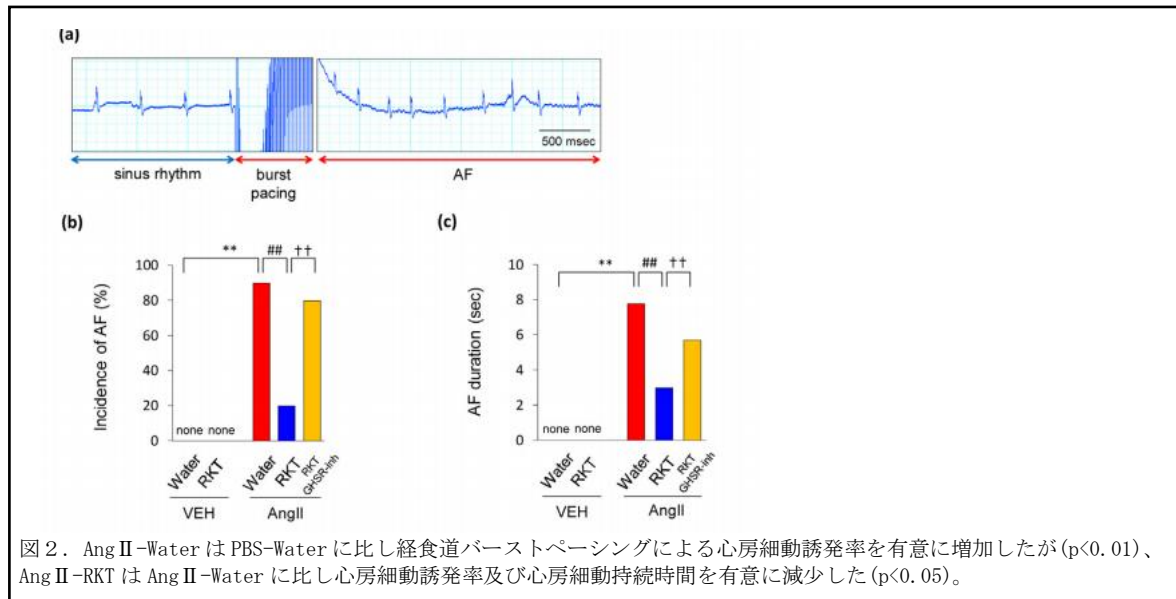
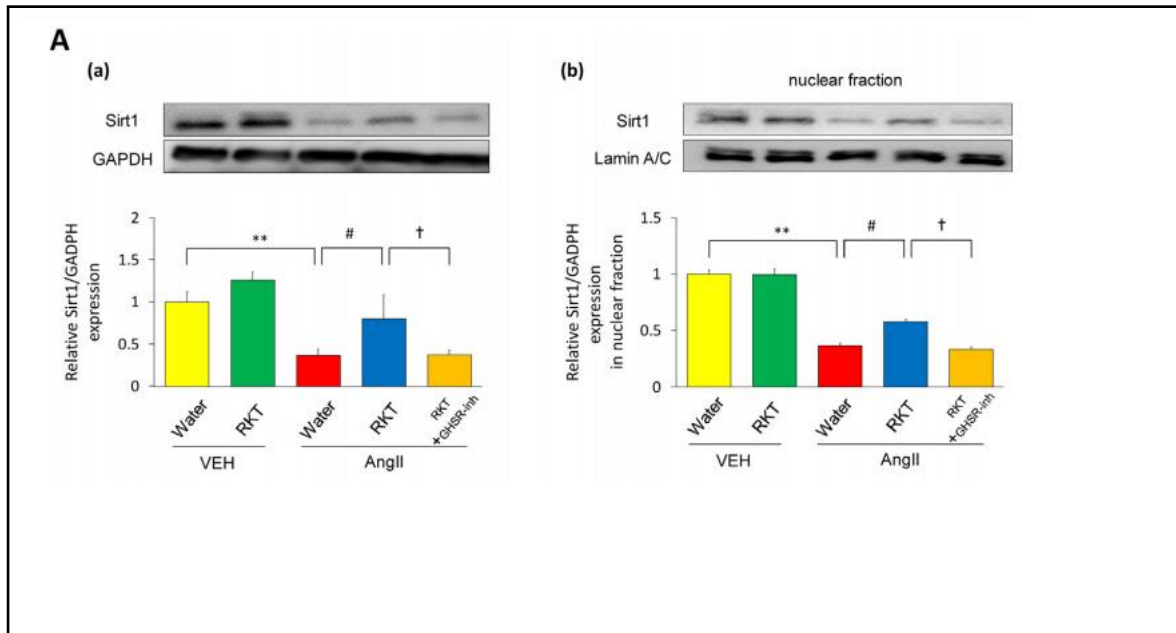


図2. Ang II-Water はPBS-Water に比し経食道バーストペーシングによる心房細動誘発率を有意に増加したが(p<0.01)、Ang II-RKT はAng II-Water に比し心房細動誘発率及び心房細動持続時間を有意に減少した(p<0.05)。



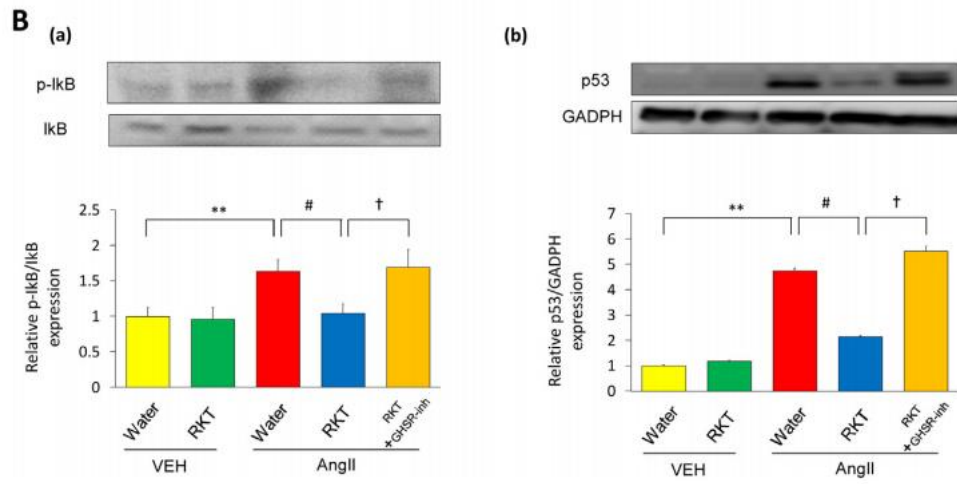


図3. (A) Ang II-RKT では Ang II-Water に比し Sirt1 の発現が有意に増加し、GHSR-antagonist 投与下ではこの増加が抑制された。(B) Ang II-RKT では Ang II-Water に比し IκB のリン酸化が有意に抑制され、GHSR-antagonist 投与下ではこの抑制が消失した

以上より、六君子湯は GHSR-Sirt1 pathway を介して、アンジオテンシン II により誘発される心房筋の線維化を抑制することにより、心房細動の発症を抑制する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Zhan Yinge, Abe Ichitaro, Nakagawa Mikiko, Ishii Yumi, Kira Shintaro, Miyoshi Miho, Oniki Takahiro, Kondo Hidekazu, Teshima Yasushi, Yufu Kunio, Arakane Motoki, Daa Tsutomu, Takahashi Naohiko	4. 巻 76
2. 論文標題 A traditional herbal medicine rikkunshito prevents angiotensin II-Induced atrial fibrosis and fibrillation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 626 ~ 635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2020.07.001	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 I Abe, Z Yinge, M Nakagawa, Y Teshima, T Tanino, T Harada, K Mitarai, K Kawano, Y Ishii, S Yoshimura, MMiyoshi, S Kira, T Oniki, Y Ikebe, R Ayabe, S Saito, H Kondo, A Fukui, H Okada, H Akioka, T Shinohara, K Yufu, T Takahashi
2. 発表標題 Rikkunshito, a Traditional Japanese Medicine, Prevented Angiotensin II Induced Atrial Remodeling and Fibrillation
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 I Abe, Z Yinge, M Nakagawa, Y Teshima, T Tanino, T Harada, K Mitarai, K Kawano, Y Ishii, S Yoshimura, MMiyoshi, S Kira, T Oniki, Y Ikebe, R Ayabe, S Saito, H Kondo, A Fukui, H Okada, H Akioka, T Shinohara, K Yufu, T Takahashi
2. 発表標題 Rikkunshito, a Traditional Japanese Medicine, Prevented Angiotensin II Induced Atrial Remodeling and Fibrillation
3. 学会等名 第65回日本不整脈心電学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川幹子、安部一太郎、Zhan Yinge、手嶋泰之、高橋尚彦
2. 発表標題 六君子湯の心房線維化と心房細動抑制効果 - アンギオテンシン 負荷モデルマウスを用いて -
3. 学会等名 日本東洋医学会 大分県部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ichitaro Abe, Zhan Yinge, Mikiko Nakagawa, Yasushi Teshima, T Tanino, T Harada, K Mitarai, K Kawano, Y Ishii, S Yoshimura, M Fujinami, M Miyoshi, S Kira, T Oniki, Y Ikebe, R Ayabe, S Saito, H Kondo, A Fukui, H Okada, H Akioka, T Shinohara, K Yufu, Naohiko Takahashi
2. 発表標題 Rikkunshito, a Traditional Japanese Medicine, Prevented Angiotensin II Induced Atrial Remodeling and Fibrillation
3. 学会等名 第82回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2018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
研究 分担 者	安部 一太郎	大分大学・医学部・病院特任助教	
	(Abe Ichitaro)		
	(00747595)	(17501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------