

平成 21 年 6 月 2 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007～2008
課題番号：19590843
研究課題名 (和文) 心筋梗塞後重症心不全に対する最新薬物治療法の開発
研究課題名 (英文) A new pharmacotherapy for chronic heart failure after myocardial infarction
研究代表者 李 梅花 (LI MEIHUA) 国立循環器病センター・循環動態機能部・派遣研究員 研究者番号：60443496

研究成果の概要：アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬（ロサルタン）とアセチルコリンエステラーゼ阻害薬（塩酸ドネペジル）長期併用投与が心筋梗塞後心不全ラットの神経液性因子、心機能、心臓リモデリングに及ぼす効果を検討した。その結果、ロサルタン単独投与に比べて、ロサルタンと塩酸ドネペジルの併用投与によって、心筋梗塞後心不全ラットの神経液性因子レベル、心機能、心臓リモデリングに更なる改善効果があることを明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心臓病態学

## 1. 研究開始当初の背景

心不全は高度な現代医療をもってしてもなお予後不良の疾患で、5年間生存率で50%程度とされている。生存率は重症度によっても異なり、重症心不全では2年間の生存率は約

50%である。心不全の薬物療法として大規模臨床研究から治療効果が明らかになっている薬剤には、アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (ACEI) / アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬 (ARB)、血管拡張薬、βアドレナリン受容体

遮断薬、スピロラク톤の4種類があるが、いずれも、予後改善効果は十分ではない。重症心不全の最終的な治療法としてわが国でも心臓移植が行われるようになったが、心不全の患者数の多さや高齢化に伴う患者数の増加を考えると、心臓ドナー数の不足は明らかであり、さらに画期的な新しい治療法の創出が必要である。

近年、心不全は心臓だけの病気ではなく、循環調節系の異常に伴う迷走神経活動の低下や交感神経活動の亢進が、予後を規定する重要な因子であることが分かってきた。そこで、我々は異常な循環調節系に人工的に介入することで心不全の進行や重症化を阻止するバイオニック治療法を開発した。これまでにバイオニックブレインを用いた迷走神経の電気刺激によって、心筋梗塞後の慢性心不全ラットの心臓リモデリングが抑制され、長期生存率が著しく改善することを示した。しかし、このような迷走神経の電気刺激を行うバイオニック治療を臨床応用するには、安全性や経済性などの面から解決しなければならない問題があり、短期間での臨床展開が難しい。そこで、我々は薬物療法によって迷走神経の電気刺激と同等の治療効果を再現できないかと考え、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬ドネペジル（アルツハイマの治療薬）を投与して、薬理的に迷走神経刺激状態を作る治療実験を行った。その結果、ドネペジル投与で心筋梗塞後重症心不全ラットの心臓リモデリングが抑制され、長期生存率が著しく改善されることを証明した（心筋梗塞面積>50%の重症度で、140日の生存率は非治療群30%に対して治療群54%）。この成績は $\beta$ 遮断薬やACEI/ARBの治療効果を上回った。

以上の背景をもとに、本研究ではドネペジルの有効性を確立するために、ロサルタン投

与でレニン-アンジオテンシン系を十分に抑制した上でドネペジルを併用投与して、さらなる治療効果の向上が得られるかどうかを調べた。そのために、ロサルタン単独投与群とロサルタンとドネペジルの併用投与群で心不全の経過を比較し、心臓リモデリング、心機能、長期生存率からみた治療効果を検討した。本研究は、新しい薬物治療法による心不全治療効果の解明や今後のバイオニック治療法の臨床展開に大きく貢献すると考える。

## 2. 研究の目的

(1) 心不全の新しい治療方法を確立するために、アンジオテンシンII受容体拮抗薬（ロサルタン）投与でレニン-アンジオテンシン系を抑制した上に、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬（ドネペジル）を併用投与して、心筋梗塞後重症心不全ラットの心機能、心臓リモデリングを検討した。

(2) ドネペジルの有効性の機序を解明するために、心筋梗塞後の重症心不全ラットにおいてドネペジルによる心臓保護作用に対する $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体（ $\alpha 7$  nAChR）の役割を検討した。

## 3. 研究の方法

(1) 8週令のオスSDラットを用いた。ラットを1.5%ハロセン麻酔下に開胸し、左冠状動脈の基部から2~3mmの部位をナイロン糸で結紮して急性心筋梗塞を作成した。心筋梗塞作成1週間後、生き残ったラットに再び1.5%ハロセン麻酔を施し、腹部大動脈に無線の血圧テレメトリ装置を植え込むか、皮下に心電図テレメトリ装置を植え込んで、リアルタイムに血圧・心拍数と心電図を計測し、データ記録用のコンピュータに保存した。テレメトリの植え込み手術から一週間回復後、

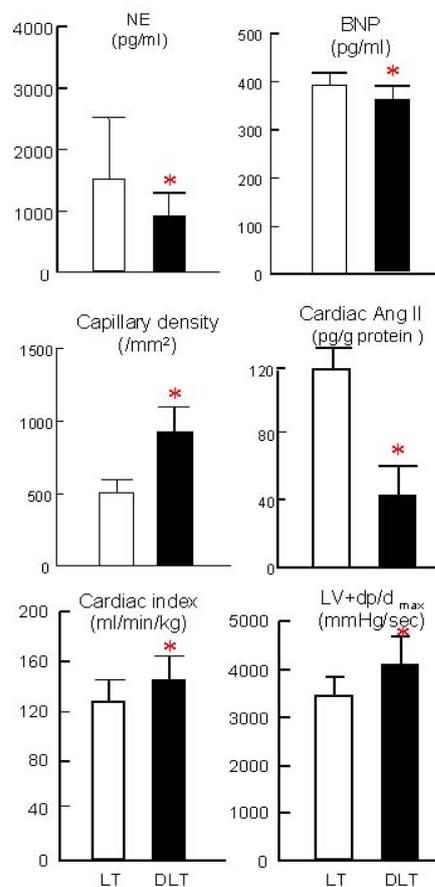
ラットを無作為に2群に分け、一方の群をロサルタン単独治療群 (LT)、他方をロサルタンとドネペジル併用治療群 (DLT) として、6週間の心不全治療を行った。ドネペジルの投与量は5 mg/kg/dayとした。この投与量で心不全ラットの心拍数は約10% (20~30 bpm) 低下した。ロサルタンの投与量は最初の2週間は10 mg/kg/dayに、その後30 mg/kg/dayまで増量した。6週間の治療終了後、1.5%ハロセン麻酔下にすべてのラットに急性実験を行い、左心室圧、右房圧、心拍出量等の血行動態を測定し、最後に採血を行った。実験終了後、ラットを安楽死させて心臓を取り出し、ウェスタンブロットと免疫組織化学分析方法で心筋内のアンジオテンシンIIとアンジオテンシンII受容体とを測定した。さらに血中アルギニンバゾプレッシン(AVP)、脳性ナトリウムペプチド(BNP)、カテコラミンなどの神経液性因子を分析した。最後に、血行動態、神経液性因子レベル、受容体レベル、組織検査等の結果から総合的に心臓リモデリングや心臓ポンプ機能を評価した。

(2) 方法(1)と同じ手順で、8週令のオスSDラットを用い、1.5%ハロセン麻酔下に左冠状動脈を結紮し、急性心筋梗塞を作成した。その後12日間生存したラットに対して、麻酔下に心電図のテレメトリ装置を植え込み、ランダムに生食水または $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 ( $\alpha 7$  nAChR) の遮断薬 (methyllycaconitine) を徐放するようにミニポンプを植え込んだ。2日回復させたラットにドネペジルを投与して、ドネペジル単独治療群(DT)、 $\alpha 7$  nAChR 遮断薬とドネペジル併用治療群 ( $\alpha 7$ DT)に分けた。ドネペジルの投与量は5 mg/kg/dayとした。 $\alpha 7$  nAChR 遮断薬の投与量は5  $\mu$ g/kg/dayとした。4週間の治療終了後、血行動態、神経液性因子、炎症因子、心重量と心筋組織の線維化や血管

新生などの結果から、心臓リモデリングの状態および心機能を評価した。

#### 4. 研究成果

(1) ロサルタン投与で心不全の病態に重要な役割を果たすレニン-アンジオテンシン系を十分に抑制した上に、ドネペジルを投与することにより、低下した迷走神経活動を薬理的に刺激した。その結果、破綻した自律神経系のバランスを正常化させることによって、ロサルタン単独投与に比べて、心不全の重症度を反映する血中ノルエピネフリンとBNPは有



意に低下、心筋内のアンジオテンシンII濃度は有意に低下、心筋内の血管新生は有意に促進し、心筋梗塞後重症心不全ラットの心機能、心臓リモデリングの更なる改善効果が示された (上の図)。ロサルタンとドネペジル併用投与は慢性心不全に対する新たな薬物治療法となる可能性が明らかとなり、臨床においても更なる治療効果が得られることが期

待できる。

(2)DT群と $\alpha$ 7DT群で心筋梗塞の大きさ(断面積中の梗塞領域)には有意差がなかった(47 $\pm$ 3% vs 49 $\pm$ 3%)が、DT群は $\alpha$ 7DT群に比べて、心重量は有意に小さく(2.74 $\pm$ 0.24 vs 3.02 $\pm$ 0.28 g/kg、 $p < 0.01$ )、左室拡張末期圧は有意に低く(20 $\pm$ 3 vs. 29 $\pm$ 3 mmHg、 $p < 0.01$ )、心係数は有意に高く(128 $\pm$ 29 vs. 65 $\pm$ 12 ml/min/kg、 $p < 0.01$ )、左心室圧微分最大値も有意に高かった(3956 $\pm$ 714 vs. 2582 $\pm$ 260 mmHg/sec、 $p < 0.01$ )。また、DT群において心不全の重症度を反映する血中BNP(461 $\pm$ 99 vs. 655 $\pm$ 209pg/ml、 $p < 0.01$ )とノルエピネフリン(669 $\pm$ 203 vs. 2648 $\pm$ 771pg/ml、 $p < 0.05$ )は有意に低値を示した。これらの結果から、心筋梗塞後重症心不全における薬物を用いたコリン性治療で、 $\alpha$ 7 nAChRが重要な役割を果たす可能性が示唆された。今後、ドネペジルと同等の慢性心不全治療効果を持つ、さらに選択的な新しい薬物を開発する可能性が示された。

#### 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4件)

1. Uemura K, Li M, Tsutsumi T, Yamazaki T, Kawada T, Kamiya A, Inagaki M, Sunagawa K, Sugimachi M. Efferent vagal nerve stimulation induces tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rabbit. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007 Oct;293(4):H2254-61. Epub 2007 Aug 10. (査読有り)
2. Sugimachi M, Kawada T, Kamiya A, Li M, Zheng C, Sunagawa K, Electrical

acupuncture modifies autonomic balance by resetting the neural arc of arterial baroreflex system. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2007;2007:5334-7. (査読有り).

3. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Zheng C, Shishido T, Mori H, Sugimachi M. Angiotensin II attenuates myocardial interstitial acetylcholine release in response to vagal stimulation. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007 Oct;293(4):H2516-22. Epub 2007 Jul 20. (査読有り).
4. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Kitagawa H, Shimizu S, Mizuno M, Li M, Sugimachi M. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial myoglobin release. Life Sci. 2008 Sep 26;83(13-14):490-5. Epub 2008 Jul 31. (査読有り).

[学会発表] (計10件)

1. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Restoration of vagal tone by donepezil markedly prevents progression of ventricular remodeling and dysfunction in rats after myocardial infarction. JACC. 2007; 49(9): Supplement A. ACC 56<sup>th</sup> Annual Scientific sessions March 24-27, 2007.
2. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Restoration of vagal tone by donepezil markedly improves long-term survival in rats with incurably severe heart failure. THE FASEB JOURNAL. 2007; 21(6): Part II(726-13). Experimental Biology, 2007.
3. Li M, Masashi Inagaki, Zheng C, Kawada T,

- Uemura T, Nagaya N, Sugimachi M. Chronic vagal stimulation enhances survival of transplanted mesenchymal stem cells and its therapeutic potency in a rat model of myocardial infarction. *Circulation*. 2007; 116(19): Supplement IV. American Heart Association, Scientific sessions 2007.
4. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Restoration of vagal tone by donepezil markedly improves long-term survival in rats with incurably severe heart failure. *Circulation Journal*. 2007; 71(Supplement I). 第71回日本循環器学会総会・学術総会.
5. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Donepezil exerts its preventive effect on ventricular dysfunction on top of losartan in rats with extensive myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2007; 71 (Supplement I). 第71回日本循環器学会総会・学術総会.
6. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、佐藤 隆幸、杉町 勝 アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬（ロサルタン）とアセチルコリンエステラーゼ阻害薬（ドネペジル）の併用投与による心筋梗塞後重症心不全ラットの心機能、心臓リモデリングの改善作用. 第29回日本循環制御医学会総会. 2008.
7. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Both acute and chronic-phase vagal stimulation markedly suppressed arrhythmic death and prevented remodeling in rats after large myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2008; 72 (Supplement I). 第72回日本循環器学会総会・学術集会.
8. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、佐藤 隆幸、杉町 勝 アセチルコリンエステラーゼ阻害薬とアンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬の併用投与による心筋梗塞後重症心不全ラットの心機能、心臓リモデリングの改善作用. 第9回日本neurocardiology研究会. 2008.
9. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Addition of acetylcholinesterase inhibitor, donepezil improves neurohumoral states further than losartan alone in rats with extensive myocardial infarction. *Circulation Journal* 2008; 72 (Supplement I). 第72回日本循環器学会総会・学術集会.
10. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Akiyama T, Sugimachi M. Blockade of  $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors attenuates cardio-protective effects of donepezil in rats with extensive myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2009; 73 (Supplement I). 第73回日本循環器学会総会・学術集会.

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

日本国内：

タイトル：心不全治療薬

出願日：2005.9.30

出願番号：特願 2005-286284

公開番号：

特開 2007-91685 (P2007-91685A)

公開日：2007.4.12

発明者：杉町 勝・李 梅花・鄭 燦・佐藤 隆幸・砂川 賢二

6. 研究組織

(1) 研究代表者

李 梅花

(2) 研究分担者

川田 徹

(3) 連携研究者

鄭 燦