

平成21年 6月22日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19800055
 研究課題名（和文） 心筋梗塞後心不全ラットの予後に関わる自律神経活動の是正と熱ショックタンパクの役割
 研究課題名（英文） **Aortic depressor nerve stimulation markedly improved survival after acute myocardial infarction in rats**
 研究代表者
 有海 秀人（ARIUMI HIDETO）
 城西国際大学 薬学部・助手
 研究者番号：70454874

研究成果の概要：

生体の循環調節では、時々刻々と変化する生体の内外の環境変化や種々のストレスに対して恒常性を維持するために、複雑かつ巧妙な調節が行われている。交感・副交感神経からなる自律神経、特に交感神経による調節は、この循環調節機構において中心的な働きを担うものである。本研究では、交感神経活動の異常亢進や迷走神経活動の低下は、急性心筋梗塞の予後の増悪因子と考えられていることから、大動脈減圧神経（ADN）の刺激で急性心筋梗塞後の生存率が改善するかどうかを検討した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,320,000	0	1,320,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医用生体工学・生体材料学

キーワード：心不全、自律神経、急性心筋梗塞、大動脈減圧神経

1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化に伴い、わが国でも高血圧、糖尿病、脂質代謝異常をはじめとする生活習慣病の予防は重要な課題である。特に、平成18年度厚生労働白書によると、主な死因別の死亡率の心疾患と脳血管疾患がそれぞれ第二位と第三位となっている。また、心疾患や脳血管疾患の発症年齢は比較的中年期が多く、国内ならびに家庭内の経済事情に大きな影響力を及ぼすことも考えられる。血圧や心拍数を代表とする循環動態を制御する多く

の仕組みが知られているが、自律神経がその主役であることは言うまでもない。さらに、急性心筋梗塞後の心不全においても、交感神経の異常興奮が病態の増悪に関わることが推察されているが、その機序は明らかでない。急性心筋梗塞（Acute Myocardial Infarction）の死亡率は20%弱であるが、死亡例の約半数は発症数時間以内に集中しており、そのほとんどが重症不整脈によるものである。また梗塞巣が左室心筋の40%を越えると心原性ショックに陥り、死亡率は7

0～90%にものぼる。すなわち、急性心筋梗塞は、極めて予後ならびに生活の質（QOL）の悪い疾病である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、従来の植え込み型除細動器（ICD）を超える突然死防止効果を持つ装置の開発を念頭において、神経刺激による致死性不整脈の予防的治療法を開発することである。これは神経刺激によって心不全の病態の進展を抑制し、より上流で致死性不整脈の発生を防止しようとするものである。

急性心筋梗塞後の致死性不整脈の発生には、交感神経活動の異常亢進や交感神経活動と迷走神経活動のバランスの崩れが関与していると考えられる。しかし、治療薬としてβ遮断薬が用いられるのみで、積極的に自律神経系に介入することによって、これらの病態を治療する試みは行われてこなかった。そこで、本研究では、自律神経系に直接的に介入することによって、致死性不整脈の発生を予防する治療装置を開発する（図1）。

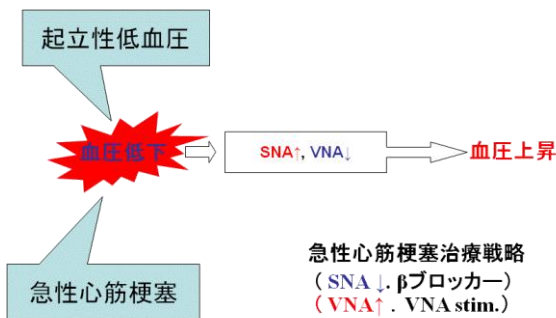


図1 急性心筋梗塞治療戦略

これまでに私たちは迷走神経の直接電気刺激が、ラットにおける急性心筋梗塞や慢性心不全の生存率を大幅に改善することを報告した。しかしながら、迷走神経の電気刺激では交感神経に直接的に介入することにはならない。そこで本実験では、体血圧情報を脳に伝える大動脈減圧神経を刺激して、動脈圧反射による交感神経活動の抑制と迷走神経活動の促進を行い、急性心筋梗塞後の致死性不整脈の発生がどのように変化するかを検討した。

3. 研究の方法

(1) 大動脈減圧神経の電気刺激が心筋梗塞後の生存率に及ぼす影響に関する研究

ハロセン麻酔下の雄性ラット（10週齢：200～250g）を用い、左第3肋間を開胸した。さらに左冠状動脈の閉塞は結紮用のナイロン糸を左冠動脈周囲に用意し、結紮すること

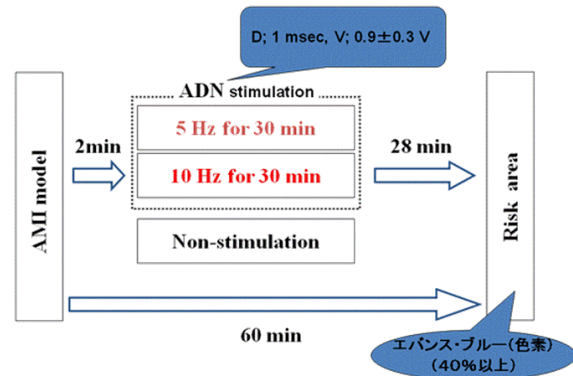


図2 実験スケジュール

で急性心筋梗塞を作製した。また、結紮直後60分間は致死性不整脈が発生しやすいので、その観察を行い、予後を検討した。

① 大動脈減圧神経（ADN）刺激による急性心筋梗塞後予後の影響

ハロセン麻酔下の雄性ラットを用い、血圧及び心電図を記録した。左ADNを剥離して刺激電極を装着した後、任意に交感神経を調節する為大動脈減圧神経を単離・同定し、20Hzの周波数で予備刺激を行い、30秒後に体血圧が約40mmHg低下するように刺激電圧を調整した（ 0.96 ± 0.3 V）。左冠動脈を閉塞（急性心筋梗塞）2分後から30分間ADNを電気刺激（10Hz, 1msecおよび5Hz, 1msec）した群と刺激しない群とで60分後の生存率を比較した（図2）。なお、実験終了後、ラット死亡直後に大動脈弓部を左総頸動脈と右総頸動脈の間で結紮し、右総頸動脈から逆行性にエバンスブルー液を1.5ml注入し、左心室の灌流領域を確認した。60分まで生存したラットについては、60分の時点でペントバルビタール大量投与によりラットを死亡させ、その直後にエバンスブルーを注入し、灌流領域を調べた。血流が保たれていた領域は青く染まり、血流の無かったリスクエリアは染まらずに残る。染色2時間後に左心室を心尖部から心基部に向かって3分割し、各断面において心筋面積全体に占める非染色面積の割合を計算し、その平均値をもってリスクエリアとした。

② 大動脈減圧神経（ADN）刺激による急性心筋梗塞後の血行動態に及ぼす影響

大動脈減圧神経刺激による血行動態の変化を追跡するために、ラットの左大腿動脈より挿入したカテーテル先端型血圧計で体血圧を測定した。また心拍数は体血圧から心拍数計を用いて求めた。非治療群では心筋梗塞作成後約7分から死亡による脱落が生じたので、心筋梗塞作成直後から6分間のデータを

刺激群と非刺激群で比較し、大動脈減圧神経の電気刺激が血圧及び心拍数に及ぼす影響を定量化した。また、治療群において心筋梗塞作成後 60 分まで生存したラットを対象に、大動脈減圧神経の電気刺激が血圧及び心拍数に及ぼす経時的变化を調べた。

③ 大動脈減圧神経 (ADN) 刺激による急性心筋梗塞後の予後改善に対する迷走神経切除 (VAX) の効果

ハロセン麻酔下の迷走神経を外科的に切除した雄性ラットを用い、血圧及び心電図を記録した。左 ADN を剥離して刺激電極を装着した後、左冠動脈を閉塞 (急性心筋梗塞) 2 分後から 30 分間 ADN を電気刺激 (10 Hz, 1 msec) した群と迷走神経を切除しない群とで 60 分後の生存率を比較した (図 2)。なお、実験終了後、エバンスブルーを用いて梗塞面積を算出した。

(2) 大動脈減圧神経の電気刺激が心筋梗塞後の致死性不整脈に及ぼす影響に関する研究

急性心筋梗塞急性期の死亡原因は大きく致死性不整脈 (心室細動等) とポンプ失調に分けられるが、ポンプ失調による低血圧は致死性不整脈の誘引となる。逆に、致死性不整脈が心機能の低下を助長し、ポンプ失調の原因ともなる。そこで、本研究では心電図上で致死性不整脈が発生する直前の体血圧が 40 mmHg 以上であったものを致死性不整脈による死亡、それ以外をポンプ失調による死亡とした。

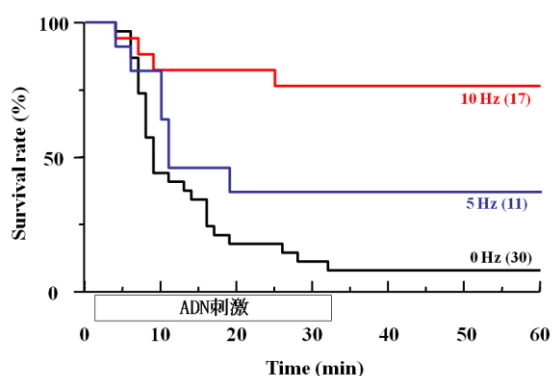


図3 大動脈減圧神経刺激による急性心筋梗塞後の予後改善

4. 研究成果

図 3 に示すように非刺激群においては冠動脈閉塞直後から死亡数が増え、冠動脈閉塞後 60 分での生存率はわずか 5.2% だった。これに対して、大動脈減圧神経の電気刺激による治療群では、20 分以降の死亡が抑制され、冠動脈閉塞後 60 分での生存率は 63.6% に改

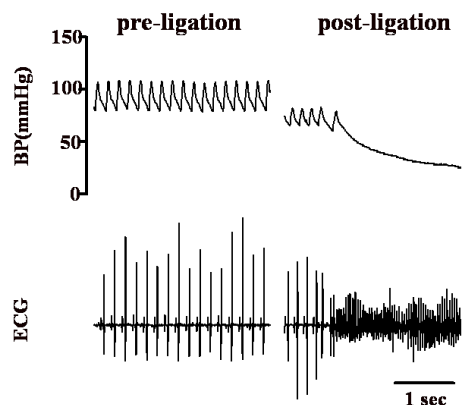


図4 急性心筋梗塞後の致死性不整脈の典型的パターン

善した ($p < 0.01$)。

また、非治療群では死亡したラットの 94.1% が致死性不整脈による死亡であった。治療群では死亡したラットの 40% が致死性不整脈による死亡であった (図 4)。

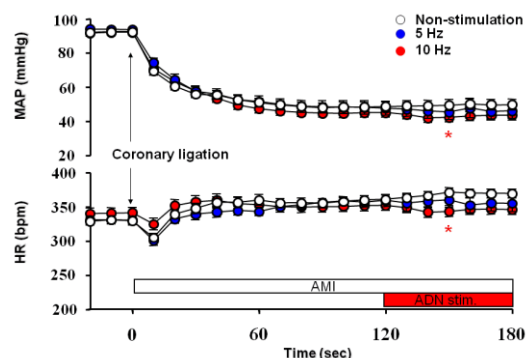


図5 大動脈減圧神経刺激による急性心筋梗塞後の血行動態に及ぼす影響

図 5 に心筋梗塞作成直前から心筋梗塞作成後 3 分までの血圧及び心拍数の変化を示す。非刺激群においては、左冠動脈の閉塞により、体血圧の低下と心拍数の上昇が観察された。刺激群では、大動脈減圧神経の電気刺激の開始と同時に体血圧のさらなる低下と、心拍数の低下が観察された。治療群の心拍数は冠動脈閉塞前のレベルに復した。治療群において 60 分間生存したラットにおいて、冠動脈閉塞によって上昇した心拍数は、大動脈減圧神経の電気刺激で、閉塞前値に復し、大動脈減圧神経の刺激 30 分間はその値を保った。一方、体血圧は冠動脈閉塞によって低下し、大動脈減圧神経の電気刺激を 30 分間で停止すると、閉塞後 60 分の体血圧は 74.9 ± 4.2 mmHg まで上昇した。

図 6 に大動脈減圧神経刺激による生存率の向上に対する迷走神経切除の効果を示す。両頸部迷走神経切除により 10 Hz の ADN 電気

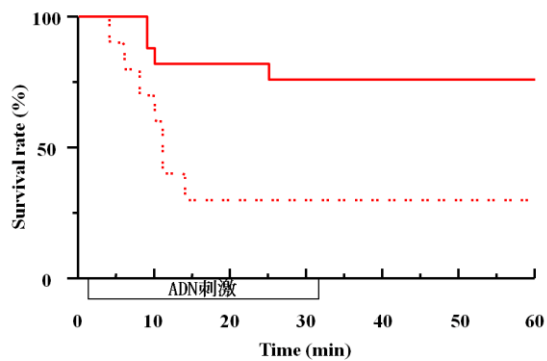


図6 大動脈減圧神経(ADN)刺激による急性心筋梗塞後の予後改善に対する迷走神経切除(VAX)の効果

刺激によるAMI後の生存率の改善が30.0% (3/10)に抑制された。

大動脈減圧神経の刺激治療によって、急性心筋梗塞後の生存率が改善した。大動脈減圧神経の刺激中の平均血圧及び心拍数の低下は、急性心筋梗塞直後でも大動脈減圧神経の刺激で交感神経活動の抑制と迷走神経活動の促進が起こることを示唆する。したがって、大動脈減圧神経を利用して交感神経活動や迷走神経活動を制御するような治療法は、より上流で致死性不整脈の発生を防止する方法の一つになりうる。大動脈減圧神経の電気刺激によって急性心筋梗塞後の致死性不整脈の発生が減少し、生存率が向上したことから、急性心筋梗塞後の生命予後には単に心臓因子だけではなく、心臓を調節する自律神経が大きく関与することが示唆された。これまでの私たちの研究において、迷走神経の直接的な電気刺激が、急性心筋梗塞の予後を改善することが分かっていたが、迷走神経の電気刺激では交感神経活動は直接的には抑制されない。大動脈減圧神経は動脈圧反射を介して交感神経活動を抑制し、迷走神経活動を促進すると考えられるので、大動脈減圧神経の電気刺激による致死性不整脈の抑制には交感神経と迷走神経の両者が寄与している可能性がある。

これまでの研究の結果、麻酔下動物では迷走神経活動が自発性にも反射性にも低下していることが知られている。本研究も麻酔下の動物実験であるので、迷走神経活動はあまり亢進していない可能性がある。交感神経活動の抑制は心収縮性を抑制するとともに、末梢血管抵抗を減少させ、心臓に対する後負荷を減少させる。一方、迷走神経活動の亢進は主に心拍数を低下させ、心臓の仕事量を低下させる。本研究結果が交感神経活動の抑制によるものか、迷走神経活動の促進によるものかを区別するために、大動脈減圧神経の電気

刺激による治療効果が迷走神経を外科的に切断した状態でも観察されるかどうか確認する実験が必要とされる。

急性心筋梗塞の際に心室の化学受容器が刺激されるとBezold-Jarisch反射として知られる心臓迷走神経反射が生じる。また、心臓交感神経の求心路が刺激されると、遠心性の心臓交感神経活動を促進するような心臓反射が惹起される。動脈圧反射以外のこのような心臓反射が惹起される中で、大動脈減圧神経の電気刺激による交感神経活動の抑制と迷走神経活動の促進が可能かどうかは不明であった。また、慢性心不全においては動脈圧反射機能が低下することが、交感神経活動の異常亢進の一因とされている。本実験結果では、心筋梗塞作成2分後においても、大動脈減圧神経の電気刺激で心拍数の低下と体血圧の低下を認めた。したがって、急性心筋梗塞直後であっても、動脈圧反射機能が保たれていることが示唆された。

本研究の急性心筋梗塞モデルでは、非治療群及び治療群のリスクエリアに有意差はなかった。したがって、生存率の差は冠動脈閉塞による心筋梗塞のサイズの違いに由来するものではない。恐らく、大動脈減圧神経の刺激は交感神経活動の抑制によって、致死性不整脈に対する心室の受感性を低下させ、生存率を向上させたものと考えられる。大動脈減圧神経の刺激治療によって、急性心筋梗塞後の生存率が改善した。大動脈減圧神経の刺激中の平均血圧及び心拍数の低下は、急性心筋梗塞直後でも大動脈減圧神経の刺激で交感神経活動の抑制と迷走神経活動の促進が起こることを示唆する。したがって、大動脈減圧神経を利用して交感神経活動や迷走神経活動を制御するような治療法は、より上流で致死性不整脈の発生を防止する方法の一つになりうる。

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 2件)

- ① 有海秀人, 斉藤和幸, 小野俊介, 児玉裕文, 中出 進, 児玉庸夫, 日本人被験者対象の第I相試験における初回投与量—化学療法剤—, 臨床薬理 (査読有), 39, Suppl., pS180
- ② 今田恒生、江見 充、鳥山紗由美、有海秀人他10名, Association of CC chemokine ligand 5 genotype with urinary albumin excretion in the non-diabetic Japanese general

population: the Takahata study., J Hum Genetic (査読有), 53(3), 367-74

[学会発表] (計 9 件)

- ① 有海秀人、日本人被験者対象の第 I 相試験における初回投与量－化学療法剤－、第 29 回臨床薬理学会、平成 20 年 12 月 4 日、京王プラザホテル
- ② 有海秀人、臨床用量・曝露レベルと無毒性量・曝露レベルからみた医薬品の安全性評価－化学療法剤－、第 18 回日本医療薬学会、平成 20 年 9 月 20 日、札幌コンベンションセンター
- ③ 江見 充、日本人集団における CETP 欠損症および同変異保因者の HDL レベルへの関与、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル
- ④ 佐藤秀則、血中ホモシステイン濃度と不活化 SNP の相関:生活習慣病リスク関連新規遺伝子の探索、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル
- ⑤ 児矢野 聡、生活習慣病リスク要因の体系的な不活化 SNP 解析:血清コリンエステラーゼ活性と相関する遺伝子の探索、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル
- ⑥ 飯島 寛、肝臓リパーゼ遺伝子座の多様性は HDL-コレステロール値を規定する、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル
- ⑦ 石井美穂、胃粘膜萎縮・胃がんのリスク遺伝子の探索:住民コホートにおける生活習慣病素因の研究、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル
- ⑧ 有海秀人、血中の抗核抗体と不活化 SNP の相関、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル
- ⑨ 鳥山 紗由美、血漿中脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)レベルと相関する SNP の探索、第 52 回日本人類遺伝学会、平成 19 年 9 月 13 日、京王プラザホテル

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

○取得状況 (計 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有海 秀人 (ARIUMI HIDETO)

城西国際大学・薬学部・助手

研究者番号: 70454874

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者