

機関番号：16401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20300177

研究課題名（和文） 神経インターフェイス技法にもとづく重症心不全治療法の開発

研究課題名（英文） Neural Interface Therapy for Severe Heart Failure

研究代表者

佐藤 隆幸（SATO TAKAYUKI）

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：90205930

研究成果の概要（和文）：

目的：全く新しい治療戦略として、迷走神経の電気刺激による心不全治療法を提案し、実験的にその効果を検証する。また、本療法の作用機序をあきらかにし、薬物によるVNS療法の代替療法を開発する。

結論：塩酸ドネペジルは心筋梗塞後心不全のリモデリングを防止し、心機能を改善する。これらの作用は、VNS療法と同様であった。したがって、塩酸ドネペジルは、VNSの代替的薬物療法の有力な候補と考えられる。

研究成果の概要（英文）： We previously reported that electric vagal nerve stimulation markedly improved long-term survival after chronic heart failure (CHF) in rats through cardioprotective effects of acetylcholine, independent of the heart rate-slowing mechanism. However, such an approach is invasive and its safety is unknown in clinical settings. To develop a noninvasive neural interface therapy with a clinically available drug, we examined the chronic effect of oral donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor against Alzheimer's disease, on cardiac remodeling and survival with a murine model of volume-overloaded CHF. Oral donepezil treatment improves survival of CHF mice through prevention of pumping failure and cardiac remodeling.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2009年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2010年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：循環器・高血圧、トランスレーショナルリサーチ、神経インターフェース

1. 研究開始当初の背景

人口の老齢化や生活様式の変化にともなう増加の一途をたどる慢性心不全は、わが国をはじめとする先進諸国にとって、深刻な医療問題である。最新の病態に関する研究に

より、心不全の重要な予後規定因子として、循環調節機構の破綻が上げられている。当初は、心機能低下の代償機転として適応的にはたらいっていた交感神経系の活性化と副交感神経系の活動低下やレニン・アンジオテンシ

ン系の活性化がしだいに心臓リモデリングを進展・悪化させ、循環調節系と心臓の間で、悪循環を形成し、最終的には調節破綻に陥ると考えられるようになってきた。さらに、大規模臨床試験により、心臓迷走神経活動の低下や心拍数の増加が予後不良因子であることが確認されるにいたった。

申請者は、「慢性心不全が、ポンプ機能障害を起点とする循環調節の失調・破綻によって悪化していく」とする仮説に着目した。特に、心臓迷走神経活動の低下による心拍数増加が予後を悪化させることを示した Schwartzらの一連の研究結果に注目した。

迷走神経終末の神経伝達物質であるアセチルコリンが、in vitro 実験系で血管新生作用を有することが報告されていることから、迷走神経の電気刺激により、不全心における微小循環改善作用も期待される (Circulation 2003; 107: 604-11, J Clin Invest 2002; 110: 527-36)。以上のようなことから、迷走神経の電気刺激が予後の改善につながる可能性があるという作業仮説を立てるに至った。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、前述したように臨床で行われた観察研究における知見を、より直接的に検証し、新しい治療法を開発する第一歩として、迷走神経の電気刺激療法が心不全の病態や予後にどのような影響を与えるかを動物実験で検討する。すなわち、全く新しい治療戦略として、迷走神経の電気刺激による心不全治療法を提案し、実験的にその効果を検証する。また、本療法の作用機序をあきらかにし、治療プロトコルを最適化するために、本療法が不全心における機械的、電氣的、および微小循環のリモデリングに与える影響を評価する。

到達目標 (三年後)

1. 迷走神経の刺激療法が慢性心不全ラットの生命予後に与える影響をあきらかにする。
2. 迷走神経の電気刺激療法が不全心の機械的・電氣的・微小循環のリモデリングに与える影響をあきらかにする。
3. 迷走神経刺激療法の最適プロトコルを立案する。

3. 研究の方法

(1) 迷走神経刺激療法 (VNS) の心不全ラットの生命予後と心機能に与える影響の評価: 左冠状動脈起始部の結紮により、左室の40-50%が梗塞におちいった慢性心不全ラットの右迷走神経に刺激電極を固定し、植え込み型電気刺激装置と接続した。刺激強度は、心拍数が10-20%低下する程度にした。迷走神経刺激療法は6週間でうち切り、血行動態・心臓リモデリングに与える影響と140日

間の長期生存率を観察した。

(2) 迷走神経刺激 (VNS) 療法が心不全ラットにおける運動負荷中の心機能に与える影響の評価: 迷走神経の役割を解明するための”心臓のアセチルコリン (ACh) 合成系を増強したマウスの作成”が遅れたため実験計画に6ヶ月の遅延が生じた。

(3) 塩酸ドネペジルを飲料水に溶解し、一日用量が、5mg/kg 相当になるようにし、無作為に割り付けた心筋梗塞心不全マウスと偽手術マウスに投与し、心不全発症12週後にランゲンドルフ灌流心で心機能を評価した。

4. 研究成果

(1)-1. 血圧は、梗塞後心不全群は、健常群に比べ、有意に低かった。梗塞後心不全群は、健常群に比べ、左室拡張末期圧の有意な上昇と左室圧一次微分最大値の有意な低下を示したが、迷走神経刺激療法により、左室拡張末期圧の有意な減少と左室圧一次微分最大値の有意な上昇が認められた。両心室重量が、梗塞後心不全群では有意な増加を示したが、迷走神経刺激療法により有意に減少した。以上の結果は、6週間の迷走神経刺激療法によってポンプ機能が改善し心室リモデリングが予防されたことを示唆する。

(1)-2. 刺激群22例のうち死亡は3例、非刺激群30例のうち死亡は15例であった

($P=0.008$)。このように、迷走神経刺激療法は相対的死亡リスクを73%も減少させた。この効果は、アンジオテンシン変換酵素阻害薬によるものよりもさらに良好な成績であった。

(2) ①VNSは、心筋細胞内のACh合成に関わる律速酵素コリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) を誘導した。②VNSは、心筋細胞内のAChレベルを12時間以内に上昇させた。③心筋細胞内のACh合成系を増強したマウスは、強い虚血耐性を示した。④VNSと同様の効果のアセチルコリンエステラーゼ (ACh-E) 阻害薬により再現できた。⑤ACh-E阻害薬の中で、塩酸ドネペジルが最も強い心保護作用を示したが、その作用は、ニコチン受容体阻害薬、ムスカリン受容体阻害薬あるいは、両者の同時投与によっても抑制することができなかった。

結論: VNSは、心筋細胞内のACh合成を誘導し、細胞内AChレベルを上昇させることによって、心保護作用を発揮する。また、塩酸ドネペジルは、ACh受容体を介さずに、心筋細胞内AChレベルを上昇させ、心保護作用を発揮する。

以上の結果から、VNSは、心筋細胞内のACh合成を誘導し、細胞内AChレベルを上昇させることによって、心保護作用を発揮する、ま

た、塩酸ドネペジルは、ACh 受容体を介さずに、心筋細胞内 ACh レベルを上昇させ、心保護作用を発揮することがあきらかになっている。

結果：塩酸ドネペジルは、収縮期末圧容積関係における容積軸切片を減少させ、収縮期末エラスタンスを上昇させた。また、左室拡張期末圧容積関係を緩徐にし、心重量を減少させた。

結論：塩酸ドネペジルは心筋梗塞後心不全のリモデリングを防止し、心機能を改善する。これらの作用は、VNS 療法と同様であった。したがって、塩酸ドネペジルは、VNS の代替的薬物療法の有力な候補と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 14 件)

- ① Yamauchi K, Nagafuji H, Nakamura T, Sato T, Kohno N Feasibility of ICG fluorescence-guided sentinel node biopsy in animal models using the HyperEye Medical System. *Ann Sur Oncol*. 2011: in press. (査読有)
- ② Furuno T, Yamasaki F, Yokoyama T, Sato K, Sato T, Doi Y, Sugiura T. Effects of various doses of aspirin on platelet activity and endothelial function. *Heart Vessels*. 2011: in press. (査読有)
- ③ Sato K, Urbano R, Yu C, Yamasaki F, Sato T, Jordan J, Robertson D, Diedrich A. The effect of donepezil treatment on cardiovascular mortality. *Clin Pharmacol Ther*. 2010; 88: 335-338. (査読有)
- ④ Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Arikawa M, Yamasaki F, Sato T. Differential regulation of TNF receptors by vagal nerve stimulation protect heart against acute ischemic injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2010; 49: 234-244. (査読有)
- ⑤ Kakinuma Y, Furihata M, Akiyama T, Arikawa M, Handa T, Katare RG, Sato T. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor against Alzheimer's dementia, promotes angiogenesis in an ischemic hindlimb model. *J Mol Cell Cardiol*. 2010; 48: 680-693. (査読有)
- ⑥ Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Sato T. Engineered heart tissue: A novel tool to study the ischemic changes of the heart In vitro. *PLoS ONE* 2010; 5: e9275. (査読有)
- ⑦ Handa T, Katare RG, Nishimori H, Wariishi S, Fukutomi T, Yamamoto M, Sasaguri S, Sato T. A new device for the intraoperative graft assessment: The HyperEye charge-coupled device camera system. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; 58: 68-77. (査読有)
- ⑧ Kakinuma Y, Akiyama T, Sato T. Cholinceptive and cholinergic properties of cardiomyocytes involving an amplification mechanism for vagal efferent effects in sparsely innervated ventricular myocardium. *FEBS J*. 2009; 276: 5111-5125. (査読有)
- ⑨ Handa T, Katare RG, Kakinuma Y, Arikawa M, Ando M, Sasaguri S, Yamasaki F, Sato T. Anti-Alzheimer's drug, donepezil, markedly improves long-term survival after chronic heart failure in mice. *J Card Fail*. 2009; 15: 805-811. (査読有)
- ⑩ Handa T, Sasaguri S, Sato T. Preliminary experience for the evaluation of the intraoperative graft patency with real color charge-coupled device camera system: an advanced device for simultaneous capturing of color and near-infrared images during coronary artery bypass graft. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2009; 9: 150-154. (査読有)
- ⑪ Sakai O, Kanda K, Takamizawa K, Sato T, Yaku H, Nakayama Y. Faster and stronger vascular "Biotube" graft fabrication in vivo using a novel nicotine-containing mold. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 90: 412-420. (査読有)
- ⑫ Katare RG, Kakinuma Y, Arikawa M, Yamasaki F, Sato T. Chronic intermittent fasting improves the survival following large myocardial ischemia by activation of BDNF/VEGF/PI3K signaling pathway. *J Mol Cell Cardiol*. 2009; 46: 405-412. (査読有)
- ⑬ Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Arikawa M, Handa T, Yamasaki F, Sato T. Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 137: 223-231. (査読有)
- ⑭ Yamamoto M, Maeda H, Hirose N, Yamamoto M, Nakagawa A, Radhakrishnan G, Katare RG, Sato T, Yamaguchi T, Sasaguri S. Biphasic elevation of bilirubin

oxidation during myocardial ischemia reperfusion. *Circ J.* 2008; 72: 1520-1527. (査読有)

[学会発表] (計32件)

- ① 山本正樹. 冠動脈バイパス術におけるHEMS-ICG造影法を用いた新血流評価法. 第41回日本心臓血管外科学会学術総会, 2011年2月23日, 千葉県 東京ベイ舞浜ホテルクラブリゾート.
- ② 佐藤隆幸. 日本医工ものづくりcommonsへの期待. 第19回日本コンピュータ外科学会 シンポジウム「日本のもの作りを医療へ生かす取り組み」, 2010年11月3日, 福岡県 九州大学医学部.
- ③ Kakinuma Y. Effects of a non-neuronal cholinergic system equipped for cardiomyocytes, as a molecular brake, on overshooting cardiac energy metabolism. 19th International Conference of the Cardiovascular System Dynamics Society, 2010.9.26, Fukuoka, Kyusyu University.
- ④ Arikawa M. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, reduces the risk of left ventricular free wall rupture during an acute phase of myocardial infarction by attenuating macrophage matrix metalloproteinase-9. 19th International Conference of the Cardiovascular System Dynamics Society, 2010.9.26, Fukuoka, Kyusyu University.
- ⑤ Yamasaki F. Bionic baroreflex system for stabilizing arterial pressure by spinal cord stimulation and abdominal cuff. 19th International Conference of the Cardiovascular System Dynamics Society, 2010.9.26, Fukuoka, Kyusyu University.
- ⑥ Kakinuma Y. The new era of therapeutic modalities against heart failure, focusing on pharmacological intervention of the cardiovascular cholinergic system. 19th International Conference of the Cardiovascular System Dynamics Society, 2010.9.26, Fukuoka, Kyusyu University.
- ⑦ 久保亨. 塩酸ドネペジル内服による心血管系への影響に関する前向き登録調査研究. 第11回Neurocardiology Workshop, 2010年7月31日, 東京都 東京ステーションコンファレンス.
- ⑧ 柿沼由彦. Effects of a non-central and non-neuronal acetylcholine synthesis system equipped for cardiomyocytes, as a molecular brake, on overshooting cardiac energy metabolism. 第31回日本循環制御医学会総会, 2010年5月29日, 大阪府 千里ライフサイエンスセンター.
- ⑨ 鄭 燦. A new intelligent technique of fluid restriction in small animals. 第31回日本循環制御医学会総会, 2010年5月28日, 大阪府 千里ライフサイエンスセンター.
- ⑩ Sugimoto T. Preliminary experiences of sentinel lymph node biopsy for early breast cancer by a new camera system simultaneously capturing color and near-infrared fluorescence. 7th European Breast Cancer Conference, 2010.3.25, Barcelona, Spain.
- ⑪ 竹島智隆. Hyper Eye medical systemを用いた術中血流評価. 第1回高知県臨床工学技士会学術セミナー, 2010年3月21日, 高知市 サンピアセリーズ.
- ⑫ Kakinuma Y. Effects of a non-neuronal acetylcholine synthesis system equipped for cardiomyocytes, as a molecular brake, on overshooting cardiac energy metabolism. 第74回日本循環器学会総会・学術集会, 2010年3月6日, 京都市 国立京都国際会館.
- ⑬ 吉田昌. カラー視野とICG蛍光を同時に描出できる高感度CCDカメラの腹部外科へカメラの腹部外科への応用の可能性. 第11回 Sentinel Node Navigation Surgery 研究会学術集会, 2009年11月28日, 東京都 京王プラザホテル.
- ⑭ 杉本健樹. ICG蛍光とカラー画像によるセンチネルリンパ節同定. 第11回 Sentinel Node Navigation Surgery 研究会学術集会, 2009年11月28日, 東京都 京王プラザホテル.
- ⑮ 佐藤隆幸. HyperEye Medical System の開発～非分光日時分割で近赤外蛍光と可視光カラーの同時取得～. 第18回日本コンピュータ外科学会. 2009年11月23日, 東京都 東京大学.
- ⑯ 杉本健樹. フルカラーにICG蛍光を描出できる新カメラシステムによる乳癌センチネルリンパ節生検. 第71回日本臨床外科学会総会, 2009年11月19日, 京都府 国立京都国際会館.
- ⑰ Li M. Donepezil markedly suppresses ventricular dysfunction and improves neurohumoral states on top of losartan in rats with extensive myocardial infarction. American Heart Association

- Scientific sessions 2009, 2009.11.18, Orlando, USA.
- ⑱ 武島智隆. カラーインドシアニンググリーン蛍光血管撮影装置を用いた術中グラフト評価. 第35回日本体外循環技術医学会大会, 2009年10月10日, 大阪府 大阪国際交流センター.
- ⑲ 武島智隆. Color ICG Angiography systemを用いた術中グラフト評価. 第19回日本臨床工学会, 2009年5月9日, 徳島県 アスティ徳島.
- ⑳ Handa T. Preliminary experience for the assessment of the intraoperative competitive flows with real color CCD camera system. 58th ESCVS Annual Congress, 2009.5.1, Warsaw, Poland.
- ㉑ Handa T. Real color CCD Camera system; New device for intraoperative graft assessment in CABG. 58th ESCVS Annual Congress, 2009.5.1, Warsaw, Poland.
- ㉒ 半田武巳. Real Color CCD camera systemを使用したグラフト血流競合の術中評価. 第109回日本外科学会定期学術集会, 2009年4月3日, 福岡県 福岡国際会議場.
- ㉓ Handa T. Donepezil: An acetylcholinesterase inhibitor against Alzheimer's dementia, prevents remodeling and improves survival in volume overload heart failure mice. American College of Cardiology 58th Annual Scientific Session, 2009.3.28-31, Orlando USA.
- ㉔ Handa T. Visual assessment for competitive graft flow using Real Color CCD camera system. 第73回日本循環器学会総会・学術集会, 2009年3月22日, 大阪府, 大阪国際会議場.
- ㉕ Handa T. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor against Alzheimer's dementia, prevents remodeling in volume-overload heart failure mice: Local and central effect of donepezil. 第73回日本循環器学会総会・学術集会, 2009年3月21日, 大阪府, 大阪国際会議場.
- ㉖ Kakinuma Y. Cardiomyocytes produces acetylcholine in response to muscarinic receptor stimulation: A possible mechanism for amplification of cardioprotective effects of cardiac vagal nerve. American Heart Association Scientific sessions 2008, 2008.11.12, New Orleans USA.
- ㉗ Sugimoto T. Anatomical study of breast lymphatics through sentinel lymphnode biopsy using a camera to capture color and near-infrared fluorescence of

- indocyanine green. The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research. 2008.9.22-24, Kurashiki, Japan.
- ㉘ 植沼由彦. HIF-1alphaにより制御される新規因子は, ミトコンドリア転写因子を介してその機能を抑制し, 細胞を低酸素から保護する. 第9回Neurocardiology Workshop, 2008年7月26日, 東京都, 東京ステーションコンファレンス.
- ㉙ 李 梅花. 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Neurocardiology Workshop, 2008年7月26日, 東京都, 東京ステーションコンファレンス.
- ㉚ 半田武巳. 当教室で作成したカラー-ICG 蛍光血管撮影装置 (CIFI) の有効性-基礎から臨床へ. 第108回日本外科学会定期学術集会, 2008.05.17, 長崎県, 長崎ブリックホール
- ㉛ Handa T. New ultrahigh sensitive CCD camera for capturing of color and nearinfrared images during ICG angiography in CABG. 18th World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, 2008.4.30-5.3, Kos Island, Greece.
- ㉜ Sugimoto T. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer using a new camera system for simultaneous capturing color and near-infrared fluorescence of indocyanine green. EUROPEAN BREAST CANCER CONFERENCE, 2008.4.17, Berlin, Germany.

〔図書〕(計2件)

- ① 佐藤隆幸. アルツハイマー病に用いられるドネペジルの抗心不全作用. 科学評論社循環器内科. 2010; 68: 496-498.
- ② 牛田享宏, 山崎文靖, 横山武志, 佐藤隆幸. XV. 血圧コントロールシステムとしての脊髄電気刺激療法. 森本昌宏 編著 「脊髄電気刺激療法」 克誠堂, 2008 p213-220

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

名称: 開口絞り
発明者: 山野司朗、佐藤隆幸
権利者: 山野光学、高知大学
種類: 特許
番号: 国際出願 PCT/JP2009/067352
出願年月日: 2009年10月5日

国内外の別：外国

名称：撮像装置、撮像装置の制御方法および
撮像装置の制御プログラム

発明者：佐藤隆幸、小嶋数明、野口勝己

権利者：高知大学、三洋半導体、
瑞穂医科工業

種類：特許

番号：国際出願PCT/JP2009/066770

出願年月日：2009年9月28日

国内外の別：外国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 隆幸 (SATO TAKAYUKI)

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：90205930

(2) 連携研究者

山崎 文靖 (YAMASAKI FUMIYASU)

高知大学・教育研究部医療学系・講師

研究者番号：10243841

柿沼 由彦 (KAKINUMA YOSHIHIKO)

高知大学・教育研究部医療学系・准教授

研究者番号：40233944

有川 幹彦 (ARIKAWA MIKIHICO)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：20432817

鄭 燦 (ZHENG CAN)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：50443495

半田 武巳 (HANDA TAKEMI)

高知大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00437716

研究期間(2008.4～2009.9)

野口 達哉 (NOGUCHI TATSUYA)

高知大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50566495

研究期間(2010.4～2011.3)