

機関番号：14401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500419

研究課題名 (和文) 小動物においてストレスが心機能に及ぼす影響を評価するための超音波指標の応用開発

研究課題名 (英文) Development of ultrasound index to evaluate the effect of stress on cardiac function in small animals

研究代表者

石蔵 文信 (ISHIKURA FUMINOBU)

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50303970

研究成果の概要 (和文)：

ラットを用いて、30 分の不動負荷にて精神的ストレスを与え、SONOS5500、S12 高周波プローベ(周波数 5-12MHz, フレームレート $\geq$ 120Hz)を用いて、負荷前後の心機能を Fractional Area Change 法 (FAC 法) を用いて評価した。その結果、負荷中に心臓は過収縮を示したが、その後麻酔で意識レベルを低下させたところ、麻酔後 20-30 分で心機能 (FAC) は一過性に著しく低下し、その後徐々に回復した。 $\alpha \cdot \beta$  遮断剤や Ca 拮抗薬などを前投与すると一過性の心機能低下を予防することができた。この結果はストレス誘発性の心機能低下に対する予防に重要な示唆ができた。

研究成果の概要 (英文)：

We measured the fractional area change (FAC) using SONOS5500 with s12 probe (frequency: 5-12MHz, frame rate:  $\geq$ 120Hz) at the end of immobilization stress (IMO) and every 10 min for 60 minutes in rats. FAC at 20 minutes after IMO significantly decreased and gradually recovered to 60 minutes after IMO. Acute administration of  $\alpha \beta$  blocker or calcium antagonist could prevent a sudden drop of cardiac function and heart rate after acute stress like IMO. A  $\alpha \beta$  blocker or calcium antagonist might have a very important role to prevent stress induced cardiac dysfunction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：ストレス・心機能・超音波法・小動物・性差

## 1. 研究開始当初の背景

近年、メンタルストレスが関連すると思われる疾患が増加しつつあるが動物を使用した実験は困難であった。我々は以前より超音波法を用いて小動物の心機能や灌流などを詳細に評価できる方法を研究してきた。超音波法は非侵襲的で繰り返し検査が可能なため、臨床や犬などの大動物の実験ではその有用性が確立しているが、ラットやマウスでの心機能などの評価は対象臓器が小さいことや心拍数が高いことから困難とされていた。我々は最近開発された高周波プローブや新技術を利用することにより、小動物でも人間や大動物と同様の詳細な検討が可能なることを報告してきた (International Congress Series 2004; 1274: 195-197)。また、慢性のメンタルストレスが循環器疾患の重要な危険因子の1つであることは、多くの疫学的研究によって確立されている。また、急性のメンタルストレスも心筋梗塞などの発症の要因であることも指摘されている。最近では阪神淡路大震災直後に心筋梗塞患者は通常の年より増加した (Ogawa Kら International Journal of Epidemiology 2000;29:449-455) ことは良く知られている。さらに中年以降の女性 (更年期以降) に心筋梗塞類似の虚血性心疾患 (たこつぼ心筋症) が多数報告され (Kurisu Sら J Am Coll Cardiol. 2003;41:743-8.)、ストレスとの関連が強く示唆されている。しかし、このようなストレスが心臓に与える影響は実験的に証明することが難しく、現在までその関連や機序が十分に研究されてきたとはいえない。実験的にメンタルストレスが心機能に及ぼす影響を定量的に評価する試みは重要であるが、その困難さのため、ほとんど報告されていない。我々は

現在まで和歌山医科大学の上山准教授と共同研究を行ってきた。上山准教授はラットのような小動物で不動負荷のような急性ストレスが心機能を急減に低下させ、たこつぼ心筋症様の病態ができることに成功している (Circ. J 2002;66:712-713)。しかし、超音波法での観察は行われていない。ラットの心機能を観察できる超音波法と上山准教授の治験を組み合わせることでストレスに対する心臓の反応を観察し、その影響因子を解明できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

今回の研究では、超音波法を用いて、同一個体でメンタルストレスが心臓に与える影響を評価する方法を確立することが目的である。特に小動物で超音波法による非侵襲的な評価が可能になればストレスが心臓に与える影響を検討し、その機序が解明できる可能性がある。このような研究が確立すると、メンタルストレスの心臓への影響を予防する研究の発展にも寄与するものと考えられる。

## 3. 研究の方法

ラットを用いて、30分の不動負荷にて精神的ストレスを与え、SONOS5500、S12高周波プローブ (周波数:5-12MHz, frame rate: >120Hz) を用いて、負荷前後の心機能をFractional Area Change法 (FAC法) を用いて評価した。30分の不動負荷の直後に超音波法などの心機能評価を施行し、ストレスの影響を除去するために直ちに麻酔で意識をなくし、その後10分おきに評価を行った。麻酔の影響を評価するために翌日に30分の不動負荷を行わずに、同様に麻酔で意識をなくし、その後10分おきに評価を行った。壁運動異常が一部に生じた場合、従来のMモード

法では、正確な心機能評価が困難であったが、FAC 法は心内膜を経時的に自動的にトレースする方法で、局所的な壁運動異常が生じた場合でも心機能を正確に評価できる優れた方法であるため、今回は評価法に採用した。同時に血圧、心拍数や血中カテコールアミンなどを測定した。負荷方法とその評価方法が確立されたため、性差の検討や各種薬剤（ $\alpha$   $\beta$  遮断剤など）の予防効果を検討した。

#### 4. 研究成果

研究の結果、負荷中に心臓は過収縮を示したが、その後麻酔で意識レベルを低下したところ、麻酔後 20-30 分で心機能 (FAC) は一過性に著しく低下し、その後徐々に回復した。翌日に不動負荷を加えずに、麻酔だけ行くと、前日に認められた不動負荷後の急激な心機能の低下は認めなかった。そのため麻酔が心機能に大きく影響した可能性は少なく、不動負荷が心機能の急激な低下に大きく関与することが分かった。しかも、負荷後 20-30 分にその影響が著しく、60 分後にはほぼ回復することが再現性良く確認できたので、30 分の不動負荷中とその後素早く麻酔をして 10 分間隔で 60 分まで FAC や血圧を観察することにした。カテコールアミンは不動負荷中に別のラットで採血し、安静時よりもかなり高い値になっていることも確認した。その後、ストレス予防効果のあると思われる  $\alpha$   $\cdot$   $\beta$  遮断剤や Ca 拮抗薬などを前投与した。 $\alpha$  遮断剤や  $\beta$  遮断剤単独では十分に一過性の心機能低下を予防することができなかったが、 $\alpha$   $\cdot$   $\beta$  遮断剤を前投与すると一過性の心機能低下を予防することができた。また、降圧剤である一部の Ca 拮抗薬でも同様の効果があったが、効果の少ない降圧剤も認められ、現在その差異を検討中である。

さらに、メスでは負荷に対して極端な心機能の低下を認めなかったことから、不動負荷

に対する心臓の影響には性差があるのではないかと推測して研究をつづけた。不動負荷でも心機能の低下を認めなかったメスで卵巣摘出すると、オスと同じように著明に心機能の低下を認めた。さらに、卵巣を摘出したメスにエストロゲンを投与すると心機能低下を予防できたことから、エストロゲンがストレス誘発性の心機能低下の予防効果があると考えられた。これらの結果はストレス誘発性の心機能低下に対する予防に重要な情報を提供するものである。

#### 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 1 件)

- ① Assessment of myocardial ischemic memory using persistence of post-systolic thickening after recovery from ischemia. Asanuma T, Uranishi A, Masuda K, Ishikura F, Beppu S, Nakatani S. JACC Cardiovasc Imaging. 2009 ;2:1253-61. 査読あり

[学会発表] (計 8 件)

- ① 心拍数増加をもたらさない Ca 拮抗剤: アゼルニジピンのストレス誘発型心機能低下に対する予防効果 高野 友里, 西川 理沙, 江川 舞, 猪原 萌, 石蔵 文信 (第 58 回日本心臓病学会 東京 2010 年 9 月 17 日)
- ② Azelnidipine, Unique Calcium Channel Antagonist Could Prevent Stress Induced Cardiac Dysfunction Like  $\alpha$   $\cdot$   $\beta$  Blocker. Ishikura F, Ihara M, Takano T, Egawa M. (第 20 回欧州高血圧学会 オスロ 2010 年 6 月 19 日)
- ③ ACUTE EFFECTS OF BETA-BLOCKER WITH INTRINSIC SYMPATHOMIMETIC ACTIVITY ON STRESS INDUCED CARDIAC DYSFUNCTION IN A RAT: ECHOCARDIOGRAPHIC OBSERVATION. Takano T, Nishikawa R, Egawa M, Ihara M, Egawa M, Ishikura F. (第 20 回欧州高血圧学会 オスロ 2010 年 6 月 19 日)
- ④ 心エコー図法によるストレス誘発型心機

能低下に対する  $\beta$  ブロッカーの予防効果の検討：内因性交感神経刺激作用に関して。高野 友里 西川 理沙 江川 舞 猪原 萌 **石蔵 文信** (第 21 回日本心エコー学会 札幌 2010 年 5 月 13 日)

- ⑤ From arteriole to microcirculation imaging using real-time contrast echocardiography. **Ishikura F.** (第 11 回国際造影超音波シンポジウム。昆明。中国 2009 年 12 月 19 日)
- ⑥ Acute Preventive Effects of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Adrenoceptor Blocker: Labetalol Hydrochloride on Stress-Induced Cardiac Dysfunction in Rats: Echocardiographic Observation. **Ishikura F.**, Nakajima A, Uchida M, Nishikawa R, Yamaguchi S, Egawa M. (第 19 回欧州高血圧学会 ミラノ 2009 年 6 月 14 日)
- ⑦ Protective effects on emotional stress-induced cardiac dysfunction depend on  $\alpha/\beta$  ratio of adrenoceptor blocker: 内田雅宏、**石蔵文信** (日本循環器学会、大阪 2009 年 3 月 20 日)
- ⑧ Preventive effects of estrogen and  $\beta$  blocker on stress-induced cardiac dysfunction in a experimental rat model: **石蔵文信** (日本循環器学会、大阪 2009 年 3 月 20 日)

[図書] (計 2 件)

- ① 下痢・ストレスは腸にくる。 **石蔵文信**  
大阪大学出版会 2011 年 1 月
- ② 最新循環器診療マニュアル **石蔵文信**  
(分担) 中山書店 2009 年

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石蔵 文信 (ISHIKURA FUMINOBU)  
大阪大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：50303970

### (2) 研究分担者

浅沼 俊彦 (ASANUMA TOSHIHIKO)  
大阪大学・大学院医学系研究科・特任研究員  
研究者番号：80379271