

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591033

研究課題名(和文) 心不全の心腎連関における自律神経機能の概日リズム異常に関する研究

研究課題名(英文) Study on circadian changes in sympathetic tone in subtotal nephrectomized rats with heart failure

研究代表者

井上 博 (Inoue, Hiroshi)

富山大学・事務局・理事・副学長

研究者番号：60151619

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：ラット心不全モデルにおいて慢性腎臓病の自律神経機能の概日リズムへの影響を検討するため、雄性ラットを用いて5/6腎摘除し、さらに左冠動脈結紮による心筋梗塞を作成し慢性腎臓病合併心不全モデルを作成した。自律神経機能の概日リズムを評価するため、腹部大動脈に挿入した超小型血圧テレメータから送信される動脈圧波形をA/D変換し、24～48時間連続的にラットの自由行動下で記録した。拡張期血圧のスペクトル解析の結果、交感神経活動を反映する低周波成分は、慢性腎臓病合併ラットにおいて早朝覚醒期に一過性に亢進しており、その交感神経の賦活は、間歇的二酸化炭素負荷により評価した中枢性化学反射感受性と関連していた。

研究成果の概要(英文)： We studied whether chronic kidney disease (CKD) could alter circadian changes in autonomic function in rats with heart failure (HF). Rats underwent subtotal nephrectomy and surgically induced myocardial infarction as a potential model of cardiorenal syndrome. After acclimatization to a 12h light-dark cycle, blood pressure, heart rate and locomotor activity were continuously recorded for 24 - 48 hours in conscious, unrestrained rats by using instrumented radiotelemetry pressure transducer. During the awakening period, low frequency components of diastolic blood pressure variability, an index of sympathetic tone, were more exaggerated in HF rats with CKD than in HF rats without CKD. Hypercapnic chemosensitivity evaluated by hourly intermittent CO2 exposure was transiently increased during the awakening period in HF rats with CKD, suggesting that central chemosensitivity could be related to the exaggerated sympathetic tone in cardiorenal syndrome.

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：心不全 心腎連関 自律神経機能

1. 研究開始当初の背景

交感神経機能の賦活は、心不全の病態や重症度と密接に関連しておりその機序を解明することは慢性心不全の治療を考える上で重要である。心不全では腎臓からのナトリウム排泄能が低下し、心房性利尿ホルモンに対する応答性の低下も認められ、これらは腎交感神経活動の亢進と密接に関わっている。心不全に慢性腎臓病を合併すると、心不全の悪化のみならず、不整脈による突然死が多くなる。植え込み型除細動器を挿入した低心機能症例において、腎機能正常者に対し腎機能低下例で致死性不整脈や突然死が約6倍と高く (J Interv Card Electrophysiol 2004; 11; 199-204) その背景に交感神経機能の賦活があると考えられている。事実、われわれは拡張型心筋症による心不全例でヒト筋交感神経活動を記録し、慢性腎臓病を有する例では有しない例に比べ交感神経活動が亢進することを証明した (Auton Neurosci 2010; 155: 104-108)。慢性腎臓病や心不全単独よりも両疾患の合併例でさらに交感神経活動が亢進していたことから、慢性腎臓病と心不全の合併例では交感神経機能賦活をさらに亢進させる機序が存在することが示唆された。

心不全における自律神経機能異常には日内変動があり、重症心不全例の突然死が早朝に多い一因として早朝覚醒期の一過性交感神経機能賦活 (morning surge) が指摘されている。今回、ラット心不全モデルにおいて自律神経機能の日内変動を観察し、慢性腎臓病の自律神経機能への影響を評価した。さらに慢性腎臓病合併心不全ラットの中枢性化学反射感受性を評価し交感神経機能賦活の機序を検討した。

2. 研究の目的

本研究では心腎連関の観点から腎切除による慢性腎臓病モデルラットにおいて心筋梗塞を作成し、慢性腎臓病合併心不全モデルラットにおける自律神経機能の日内リズムを検討する。また交感神経機能賦活の機序として中枢レベルで二酸化炭素化学反射感受性がどのように関与しているか検討する。さらに慢性腎臓病合併心不全ラットにみとめられる自律神経機能異常が薬物により是正可能かどうか評価検討する。

3. 研究の方法

(1) 慢性腎臓病合併心不全モデルラットの作成と血圧・心拍・自律神経機能の日内変動評価:

慢性腎臓病は、雄性ラットにおいて3%イソフルラン麻酔下で5/6腎摘を施行し作成した。Sham手術群には両腎の露出のみを行なった。術後2週間後、左冠動脈結紮による心筋梗塞を作成し慢性腎臓病合併心不全モデルラットとした。心筋梗塞作成後、心エコー、心電図で心筋梗塞の程度を評価し、腹部大動脈に超小型血圧テレメーターを挿入した。覚醒・無拘束状態のラットから送信された動脈圧波形をA/D変換後、1000Hzサンプリングで

コンピュータに24~48時間連続的に記録した(図1)。血圧テレメーターにより得られた血圧波形より24時間の一拍一拍のRR間隔から心拍変動をスペクトル解析し、心拍変動の高周波成分(0.8-3 Hz)を副交感神経活動として評価した。また拡張期血圧のスペクトル解析から得られる低周波成分(LFdp; 0.15 - 0.79 Hz)により交感神経活動を評価し自律神経機能の日内変動を解析した。心拍・血圧のモニタリング中は赤外線ビームセンサー式自発運動量測定装置を用い、ラットの行動量を同時に測定した。なおデータ収集および解析プログラムは、当施設で独自に開発したものをを用いた (Ohori T, Hirai T, et al. Auton Neurosci 2011; 159:20-25)。

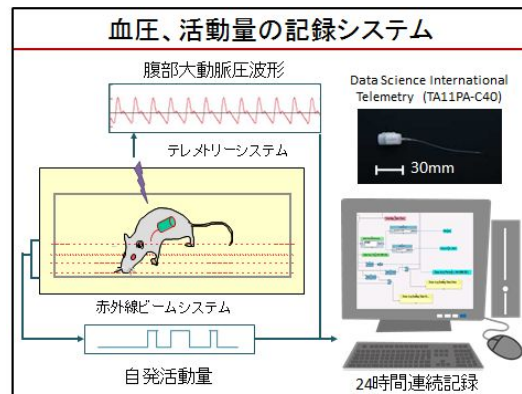


図1. 自律神経機能の長時間解析システム

(2) 二酸化炭素化学反射感受性と交感神経機能賦活の関連:

二酸化炭素化学反射感受性と交感神経機能亢進との関連を検討するため、慢性腎臓病合併心不全ラットのケージ(約10L)内に1時間毎に2分間13%二酸化炭素+20%酸素を注入し(図2)血圧および心拍変動のデータを収集した。負荷中は呼気ガス分析装置によりラットケージ内の二酸化炭素濃度をモニタリングし、中枢性二酸化炭素化学反射感受性を評価した。

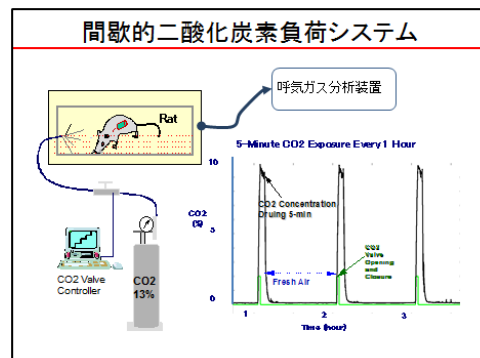


図2. 二酸化炭素自動注入負荷システム

(3) 慢性腎臓病合併心不全ラットの自律神経機能日内リズム異常に対する薬物効果:

現在、心不全に有効とされる治療薬であるアンジオテンシン受容体拮抗薬の自律神経機能への効果を検討した。

4. 研究成果

(1) 慢性腎臓病モデルの作成と腎機能

慢性腎臓病ラット(n=11)では、平均血圧(MBP)は 123 ± 7 (SE) mmHg と高く Sham 手術を施行した対照群(n=8)より血圧上昇を認めた(MBP: 97 ± 5 mmHg)。また慢性腎臓病ラットの血清 Cr 値は 1.1 ± 0.2 mg/dl と対照群の血清 Cr 値(0.5 ± 0.1 mg/dl)より上昇していた。慢性腎臓病に心不全を合併した慢性腎臓病合併心不全ラット群(n=5)の血圧、心拍数、呼吸数、活動量は、ラットの夜間活動期(19 - 7 時)に上昇し夜行性動物の日内リズムを認めたが、対照 Sham 手術群に比べ夜間の活動量は低下していた(119 ± 18 vs 241 ± 17 a.u.)。慢性腎臓病合併心不全群の自律神経機能の日内変動を評価したところ、ラットの覚醒時間帯(16-20 時)における交感神経機能(LFdp)は 960 ± 115 mmHg²であり、睡眠期の LFdp 641 ± 94 mmHg² に対し一過性に亢進していた。さらにこの覚醒期の一過性交感神経賦活は、慢性腎臓病単独群、心不全単独群よりも大きかった。以上から慢性腎臓病と心不全合併ラットにおいて覚醒期の交感神経活動の賦活が増大している可能性が示唆された。

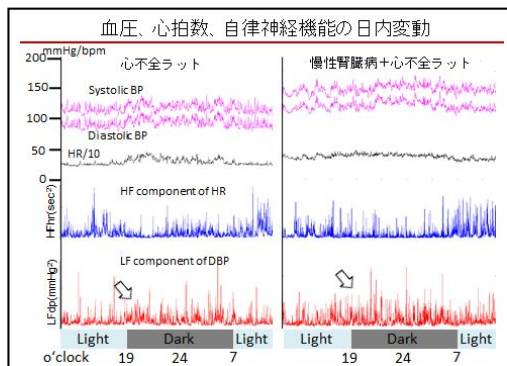


図3. 心不全ラットと慢性腎臓病合併心不全ラットの血圧、心拍、自律神経機能の日内変動

実験終了後、摘出した腎臓より病理組織標本を作製し、腎組織病変を観察した。PAS 染色(図4)において、尿細管の拡張、糸球体の肥大および小動脈の内膜肥厚など、糸球体の硬化性病変が観察され、腎機能低下と腎組織所見より本モデルラットは慢性腎臓病に合致する所見と思われた。

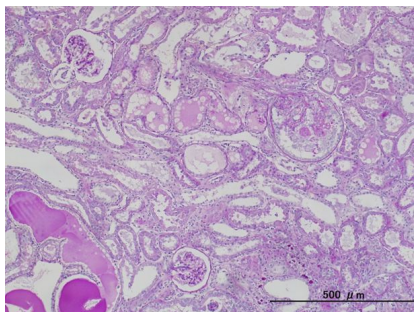


図4. 5/6 腎摘除術施行ラットの腎組織

(2) 慢性腎臓病合併心不全モデルラットにおける中枢性化学反射感受性の検討

ラットのケージ(約 10L)内に1時間毎に2分間 13%二酸化炭素+20%酸素を注入し、血圧変動および心拍変動をスペクトル解析し覚醒時間帯(16 時~20 時)における二酸化炭素化学反射感受性を評価した。慢性腎臓病合併心不全ラット群では交感神経機能の指標である拡張期血圧の低周波成分の増大は、LFdp 1027 ± 256 (SE) mmHg² と心不全単独ラット群(LFdp 449 ± 144 (SE) mmHg²)に比べ有意に亢進していた。心不全に慢性腎臓病を合併すると覚醒期の一過性交感神経機能の賦活が亢進(morning surge)し、その背景に中枢性化学反射感受性が関与していることが示唆された。

(3) 慢性腎臓病合併心不全ラットの自律神経機能日内リズム異常に対する薬物の検討

アンジオテンシン 受容体拮抗薬を用いて、慢性腎臓病を合併した心不全ラット(n=6)の交感神経機能の賦活におよぼす影響を検討した。慢性腎臓病合併心不全ラットにおいて2週間アンジオテンシン 受容体拮抗薬(リサルタン 2mg/kg/day)を経口投与したところ、覚醒時間帯の LFdp は、 1040 ± 123 mmHg² から 758 ± 58 mmHg² に抑制された(p<0.05)。慢性腎臓病を合併した心不全ラットにおいて観察された覚醒時間帯の一過性交感神経機能の亢進がアンジオテンシン 受容体拮抗薬により抑制できることがわかった。慢性腎臓病の重症度は、臨床的に軽度腎機能障害から末期腎不全状態に至るまで様々な重症度があり、どのような重症度の症例にアンジオテンシン 受容体拮抗薬の効果があるのか、今後ひきつづき検討する必要があると思われた。

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7件)

1) Shida T, Nozawa T, Sobajima M, Ihori H, Matsuki A, Inoue H. Fluvastatin-induced reduction of oxidative stress ameliorates diabetic cardiomyopathy in association with improving coronary microvasculature. Heart Vessels. 2013 Aug 25. [in press] 査読あり.

2) Yamashita T, Inoue H. Heart rate-reducing effects of bisoprolol in Japanese patients with chronic atrial fibrillation: results of the MAIN-AF study. J Cardiol. 2013;62:50-7. doi:10.1016/j.jjcc.2013.02.010. 査読あり.

3) Nakatani Y, Nishida K, Sakabe M, Kataoka N, Sakamoto T, Yamaguchi Y, Iwamoto J, Mizumaki K, Fujiki A, Inoue H. Tranilast prevents atrial remodeling and development of atrial fibrillation in a

canine model of atrial tachycardia and left ventricular dysfunction. J Am Coll Cardiol. 2013;61:582-8. doi:10.1016/j.jacc.2012.11.014. 査読あり.

4) Sobajima M, Nozawa T, Ihori H, Shida T, Ohori T, Suzuki T, Matsuki A, Yasumura S, Inoue H. Repeated sauna therapy improves myocardial perfusion in patients with chronically occluded coronary artery-related ischemia. Int J Cardiol. 2013;167:237-43. doi:10.1016/j.ijcard.2011.12.064. 査読あり.

5) Joho S, Oda Y, Ushijima R, Hirai T, Inoue H. Effect of adaptive servo-ventilation on muscle sympathetic nerve activity in patients with chronic heart failure and central sleep apnea. J Card Fail. 2012; 18:769-75. doi:10.1016/j.cardfail.2012.08.360. 査読あり.

6) Mizumaki K, Nishida K, Iwamoto J, Nakatani Y, Yamaguchi Y, Sakamoto T, Tsuneda T, Kataoka N, Inoue H. Vagal activity modulates spontaneous augmentation of J-wave elevation in patients with idiopathic ventricular fibrillation. Heart Rhythm. 2012;9: 249-55. doi:10.1016/j.hrthm.2011.09.055. 査読あり.

7) Ohori T, Nozawa T, Ihori H, Shida T, Sobajima M, Matsuki A, Yasumura S, Inoue H. Effect of repeated sauna treatment on exercise tolerance and endothelial function in patients with chronic heart failure. Am J Cardiol. 2012;109:100-4. doi:10.1016/j.amjcard.2011.08.014. 査読あり.

〔学会発表〕(計 9 件)

1) Kataoka N, Mizumaki K, Yamaguchi Y, Nishida K, Sakamoto T, Inoue H. Circadian changes in ventricular and atrial late potentials correlate with ventricular and atrial vulnerability in patients with dilated cardiomyopathy. The 34th Annual Scientific Session of the Heart Rhythm Society; 2013,9,8-11; Denver.

2) Akabane T, Joho S, Ushijima R, Inoue H. Hyponatremia is associated with increased muscle sympathetic nerve activity in patients with heart failure. European Society of Cardiology 2013; 2013,8,31-9, 4, Amsterdam.

3) Hirai T, Numa S, Ohori T, Joho S, Nozawa T, Asanoi H, Inoue H. Enhanced sympathetic tone during the awakening period in nephrectomized rats with myocardial infarction. 第 17 回日本心不全学会学術集会; 2013,11,28-30,大宮.

4) Joho S, Ushijima R, Oda Y, Hirai T, Inoue H: Effect of adaptive servo-ventilation on muscle sympathetic nerve activity and

cardiac function in patients with chronic heart failure. European Society of Cardiology Congress 2012; 2012,8,25-29, Munich.

5) Ushijima R, Joho S, Oda Y, Hirai T, Inoue H. Short term effect of adaptive servo-ventilation compared with continuous positive airway pressure on muscle sympathetic nerve activity in patients with heart failure. European Society of Cardiology Congress 2012; 2012, 8,25-29, Munich.

6) Sobajima M, Nozawa T, Ihori H, Ohori T, Shida T, Fujii N, Inoue H. Repeated low-temperature sauna therapy improves cardiac and exercise capacity as well as immune competence in patients with heart failure. American Heart Association Scientific Sessions 2012; 2012,11,3-7, Los Angeles.

7) Joho S, Ushijima R, Oda Y, Harada D, Hirai T, Inoue H. Influence of sympathetic nerve activity on central sleep apnea in patients with heart failure. European society congress 2011; 2011,8, 27-31, Paris.

8) Ushijima R, Joho S, Oda Y, Harada D, Hirai T, Asanoi H, Inoue H. Sympathetic overactivation in dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy. European society congress 2011, 2011,8,27-31, Paris.

9) Harada D, Joho S, Oda Y, Hirai T, Asanoi H, Inoue H. Adaptive servo-ventilation attenuates muscle sympathetic nerve activity in heart failure patients with renal dysfunction. 第 75 回日本循環器学会, 2011,8,3-4, 横浜.

〔図書〕(計 4 件)

1) 井上 博: 循環器系疾患の症候のとらえ方. 井上博 他編, 「今日の循環器疾患治療指針 第 3 版」医学書院, 東京, p7-10, 2013.

2) 井上 博: 心電図. 矢崎義雄総編. 「内科学 10 版」中山書店, 東京, p429-436, 2013.

3) 井上 博: 心房細動・心房粗動. 堀 正二, 永井良三編, 「循環器疾患最新の治療 2012-2013」南江堂, 東京, p323-327, 2012.

4) 井上 博: 発作性上室頻拍. 奥村 謙編, 「ガイドライン/ガイドランス不整脈」, 日本医事新報社, 東京, p55-60, 2011.

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等: <http://www.med.u-toyama.ac.jp/inter2/research/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 博 (INOUE HIROSHI)

富山大学・事務局・理事・副学長

研究者番号: 60151619

(2)研究分担者

平井 忠和 (HIRAI TADAKAZU)

富山大学・大学病院・講師

研究者番号：10303215

(3)研究分担者

城宝 秀司 (JOHO SHUJI)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・

助教

研究者番号：90334721