

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23700550

研究課題名（和文） 心不全における脳自律神経異常のシステム同定とバイオニック心不全治療の探索

研究課題名（英文） System Analysis of Sympathetic Regulation of Heart Failure and Exploration of New Bionic Autonomic Neuromodulation Therapy

研究代表者

佐田 悠輔 (Sata Yusuke)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・流動研究員

研究者番号：70570258

研究成果の概要（和文）：

心不全の最多原疾患である高血圧（高血圧性心肥大）ラットにおける自律神経制御機構（脳特性および末梢特性）をシステム生理実験により解析し、脳特性の異常（血圧に対する交感神経応答の亢進）を突き止め、一方の末梢特性（交感神経活動に対する昇圧反応）は正常であることを明らかにした。更に、腎臓交感神経除神経による自律神経介入治療を行い、脳特性異常の是正による降圧効果を確認した。しかし、正常血圧対照ラットと比較すると、脳特性の完全な正常化には至らなかった。

研究成果の概要（英文）：

To elucidate the mechanisms of sympathetic regulation in heart failure, we examined sympathetic nervous activity and blood pressure in response to change in isolated carotid sinus pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR), as hypertension is considered the major cause of heart failure. The neural arc, the sympathetic nerve activity in response to carotid sinus pressure, shifted towards a higher set point whereas the peripheral arc, the pressor response to sympathetic nerve activity, did not change when compared with normotensive Wistar Kyoto Rats (WKY). Renal sympathetic nerve denervation in SHR reduced blood pressure not only through baroreflex regulation, but also baroreflex-independently by shifting the neural arc towards a lower set point. The antihypertensive effects of renal denervation did not completely normalize either blood pressure or sympathetic nervous activity to the levels seen in WKY. As a conclusion, the neuromodulation therapy, renal denervation, reduced sympathetic nervous activity, and, through the baroreflex regulation of sympathetic nervous activity, decreased blood pressure in renal denervated SHR compared to SHR.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学、生体材料学

キーワード：生体制御、システム生理、心不全、高血圧、自律神経

## 1. 研究開始当初の背景

慢性心不全では、脳による自律神経調節異常（交感神経の過緊張および迷走神経の過抑制）が病態に深く関与し、これを是正する自律神経治療が心不全改善の鍵を握る。実際に、

神経異常の一部（心臓交感神経緊張）を緩和する心臓交感神経β受容体遮断薬が、心不全の進行抑制に効果を上げつつあるが、未だ不十分である。この自律神経治療が困難であるゆえんは、自

自律神経が循環系を調節する仕組み（血圧を主入力とする圧反射システム）が閉ループ系（血圧－脳－自律神経－心臓血管腎臓等－血圧）であるために、治療に対する循環系・自律神経系の応答を、直感では理解し得ないことにある。そのため、既存の心不全自律神経治療は、病因や病型によらない画一的な処方に留まっている。

こうした中、生体医工学研究で世界最先端を走る我々の教室では、自律神経－循環系の閉ループを制御工学的な手法（生理実験による開ループ化と介入信号等）でシステム同定し、脳や末梢器官群の特性を個別に解明することに成功した。

また、心不全の迷走神経過抑制を神経電気刺激で是正する治療が、心不全の進行を抑制し心筋梗塞後心不全ラットの生命予後を劇的に改善することを示した。

こうした循環システム解析、および自律神経介入実験の蓄積により、循環器疾患モデルの詳細な病態解析が可能となり、さらに自律神経介入治療の研究と開発へと発展させる準備が整った。

一方近年、循環器疾患として最も頻度の高い高血圧において、全身の交感神経活動を亢進させ、血圧を持続的に上昇させる腎臓交感神経の役割が注目されている。この状況において、腎神経を経カテーテル的に焼灼し交感神経過緊張を是正するという新規自律神経介入治療が開発された。本治療は治療難治性高血圧症例を対象に臨床研究が開始され、術後長期（12ヶ月以上）にわたって血圧を大幅に下げたことから世界中で大きな注目を集めた。

しかしながら、その作用機序や効果の持続性、安全性などが十分に解明されないまま臨床研究が進んでいることで批判を受けている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は以下の二点に集約される。

- (1) 循環器疾患における自律神経循環制御のメカニズムを解明する
- (2) 自律神経介入治療により循環制御システムが可逆的に変化するかを検証する

これまでの予備実験により、循環器疾患モデルでは自律神経中枢（脳特性）に異常が生じていることが予想される。まずはこれをシステム生理実験により定量的に評価することが第一である。また同時に、脳特性の異常に伴い末梢諸器官（心・腎・血管系）における末梢特性がどのように変化しているかを明らかにする。

次に、変性した脳特性が自律神経介入治療により是正されるかをシステム解析により明らかにする。自律神経介入治療として、近年最も注目を集めているのは腎臓交感神経の除神経治療である。

もし、除神経治療により変性した脳特性の可逆性が証明されれば、中枢を治療する創薬につながると考えられる。一方、脳異常が除神経治療により改善しなければ、難治性高血圧の降圧に寄与したのは末梢特性であるということになり、変性した心筋細胞や動脈硬化、血管内皮機能などが除神経治療により改善している可能性が考えられる。

また、本研究によってシステム工学の視点から循環器疾患自律神経介入治療における脳・末梢機序を明らかにすることは、心不全を始めとした循環器治療に脳特性を考慮する必要性を提案し、心不全において心臓－脳の連関からみた病態理解の重要性や、脳を対象とした心不全の新しい診断や治療に繋がる可能性がある。

## 3. 研究の方法

本研究は以下の三段階の実験から構成される。

- (1) 病態モデルラットの作成
- (2) システム工学的視点による自律神経制御システムの解析：開ループ実験系
- (3) 中枢への介入治療：バイオニック自律神経治療

### (1) 病態モデル動物の作成

循環器病態モデルの作成にあたっては、より臨床に即した病型が適切であると考え、心不全の主要三大病型である、収縮不全型（心筋梗塞）、拡張不全型（高血圧性心肥大）、心腎連関（腎不全合併）のモデルを選択した。

### 心筋梗塞モデル（収縮不全）

虚血性心疾患による心収縮不全モデルは、心不全の病態解明と治療介入の検討には必須である。

実験には8週齢のオスSDラットを用いる。ラットを麻酔下に開胸し、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る。予備実験の結果、この心筋梗塞の作成法で左心室の40～50%が心筋梗塞となり、約2週間の観察で心室のリモデリングや心不全が起こることが確認されている。この手技は当施設のLiらが研究論文で報告しており、高い確率で成功させる実験系が確立している。

### 高血圧性心肥大モデル（拡張不全）

最も一般的な心血管病の危険因子である高血圧は、心臓後負荷をもたらし心肥大を形

成する。心肥大は心筋の柔軟性が失われ拡張不全をもたらすことが知られ、“心収縮が正常の心不全”として近年注目されている。予備実験により、自然発症高血圧ラット（SHR）は10週齢を超えると心肥大（正常血圧ラットと比較して体重あたり約1.25倍の心筋重量）を伴うことを確認した。

#### 腎不全モデル（心腎連関）

腎不全による循環血液量の増大は直接心負荷になるだけでなく、神経体液性因子の増悪を来して心不全を増悪させる。近年“心腎連関”という概念が提唱され、今や慢性心不全を考える上で必須のモデルである。作成には8週齢のオスSDラットを用い、麻酔下に両側肋骨弓下を開腹し、左腎動脈の起始部から2~3mmの部位をナイロン糸で結紮して腎梗塞を作る。右腎は摘出する。先行研究の結果、約2週間の観察で腎性高血圧を伴う腎不全モデルが作成されることが確認されている。

#### (2) 開ループ実験：システム解析

開ループ実験による自律神経-循環系のシステム工学的解析により、各々の脳特性と末梢器官特性の異常を解明する。実験方法の概略を以下に記述する。ペントバルビタール腹腔内投与により麻酔導入したラットを気管切開し、人工呼吸器管理する。鼠径動脈より体血圧を持続モニタリングし、鼠径静脈より持続静脈麻酔（ $\alpha$ クロラロース+ウレタン）を投与する。適切な麻酔深度のもと、左側腹部内臓交感神経活動を記録する。両側頸動脈に存在する圧受容器を外科的に体循環系から分離し、圧可変式サーボポンプから階段状の圧入力を行い、交感神経活動と体血圧を同時測定する。この際、頸動脈洞における圧反射以外の反射系の影響を除外するため、頸部迷走神経および大動脈減圧神経は切除する。入力圧に対する交感神経活動を“神経制御部（脳特性）”、交感神経活動に対する体血圧を“被制御部（末梢特性）”として記述する。末梢特性を動物間で比較するため、ヘキサメソニウムによる交感神経節遮断後にフェニレフリンを投与し、末梢特性を定量的に評価する。この実験に加えて、HPLC（高速液体クロマトグラフィー）を用いて血中ノルアドレナリン濃度を測定することにより、交感神経活動をモデル間で比較することができる。

#### (3) 自律神経介入治療

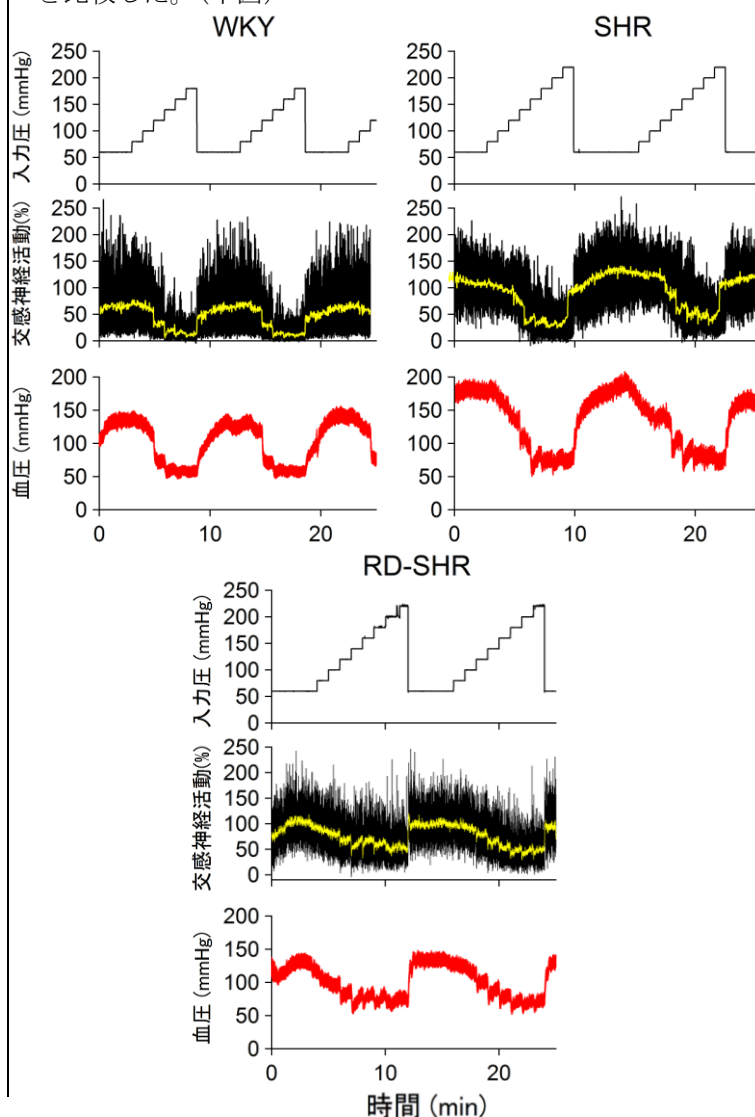
本研究では、新規自律神経介入治療として近年最も注目を集めている腎臓交感神経除神経治療を用いて、循環調節異常が可逆的に

変化するかどうかを検証した。イソフルラン麻酔下に気管挿管したラットに対して、側腹切開により開腹し腎神経を剖出する。10%フェノール+純エタノールを用いて腎神経を可視範囲でストリッピングし、物理的に除神経を行う。術後4週間の後に既述の循環制御システム解析を行う。

#### 4. 研究成果

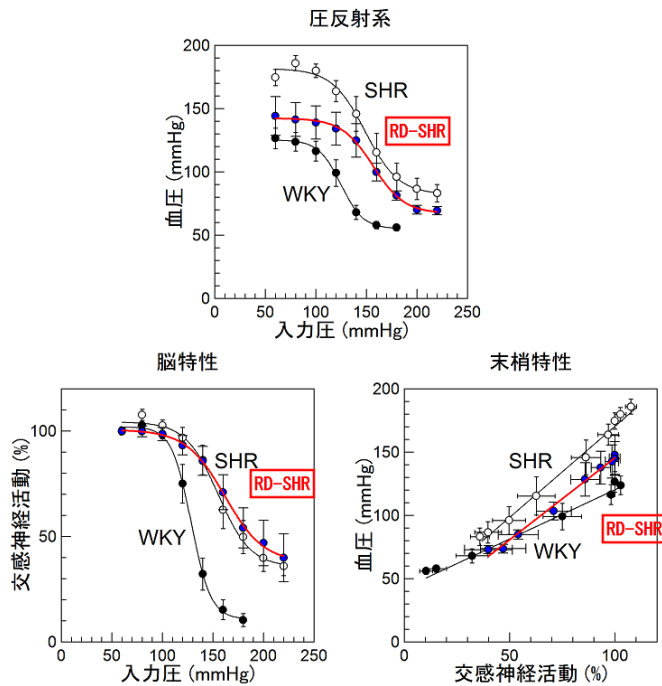
自然発症高血圧ラット（SHR）を用いた高血圧性心肥大モデルでは、脳特性の異常（血圧に対する交感神経応答の亢進）が認められたものの、末梢特性（交感神経活動に対する昇圧反応）は正常であった。一方、心筋梗塞性心不全モデルおよび心腎連関モデルでは、脳特性および末梢特性双方の異常（血圧に対する交感神経応答の減弱、交感神経活動に対する昇圧反応の減弱）が認められた。

次に、SHRに対して腎臓交感神経除神経治療を施行し（RD-SHR）、同様に循環制御システム解析を行い、正常血圧対象ラット（WKY）と比較した。（下図）



体循環より分離した両側頸動脈洞圧受容体に対して階段状圧入力を行ったところ、WKY、SHR、RD-SHRのいずれにおいても、入力圧に対して交感神経活動の低下が認められた。また、交感神経活動低下に伴い体血圧の低下が認められた。

次に、入力圧に対する交感神経活動を“脳特性”、交感神経活動に対する体血圧を“末梢特性”として、圧反射系を個別に記述した。



RD-SHR では、脳特性においては入力圧に対する交感神経活動低下の反応性は鈍化し、末梢特性においては交感神経活動に対する血圧上昇の反応性が亢進した。しかしWKYと比較すると、脳、末梢のいずれも完全な正常化には至らなかった。

血中ノルエピネフリン濃度はSHRとRD-SHRでは有意差なく、WKYと比較すると約2倍に上昇していた。神経節遮断薬（ヘキサメソニウム）を投与したところ、血中ノルエピネフリン濃度は3群ともに低下し、有意差は認められなかった。

以上から、腎臓交感神経焼灼術は交感神経活動を低下させ、その結果として圧反射制御のもとに血圧を低下させたと考えられる。しかしながら、交感神経活動および血圧ともに完全な正常化には至らなかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

(1) Yusuke Sata, Jianzhong Xu, Dagmara Hering, Markus Schlaich  
Treating Resistant Hypertension, now and in the future, *Medicine Today* 査読なし  
volume14. issue1. 2013. p20-27

(2) Hiroyuki Takahama, Hiroshi Takaki, Yusuke Sata (他5名)  
Exercise-Induced ST Elevation in Patients with Non-Ischemic Dilated Cardiomyopathy and Narrow QRS Complexes, *Circulation Journal*, 査読あり,  
volume7. issue4. 2013. p1033-1039  
10.1253/circj.CJ-12-0814

(3) Toru Kawada, Tsuyoshi Akiyama, Yusuke Sata (他8名)  
Central vagal activation by alpha2-adrenergic stimulation is impaired in spontaneously hypertensive rats, *Acta Physiologica Scandinavica*, 査読あり,  
volume206. issue1. 2012, p72-79  
10.1111/j.1748-1716.2012.02439.x

(4) Shuji Shimizu, Tsuyoshi Akiyama, Yusuke Sata (他8名)  
Medetomidine, an alpha2-adrenergic agonist, activates cardiac vagal nerve through modulation of baroreflex control, *Circulation Journal*, 査読あり,  
volume76. issue1, 2012. p152-159  
10.1253/circj.CJ-11-0574

〔学会発表〕(計4件)

(1) IEEE EMBS 2013 (招待講演)  
Yusuke Sata, Sympatho-modulation by Renal Denervation in Spontaneously Hypertensive Rats,  
Osaka Japan, 2013 July 3-7: symposium

(2) The 77<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of Japanese Circulation Society,  
Yokohama, Japan, 2013 March 15-17; oral presentation  
Yusuke Sata "Centrally Mediated Anti-hypertensive Effects of Renal Denervation in Spontaneously Hypertensive Rats"

(3) The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of Japanese Circulation Society,  
Fukuoka, Japan, 2012 March 21-23; poster presentation  
Yusuke Sata "The Arterial Baroreflex Exerts Symmetrical Controls over

Sympathetic and Parasympathetic Nervous Activities”

(4)The Cardiac Society of Australia and New Zealand (CSANZ) 2011, Sydney, Australia, 2011 August 10-14; poster presentation

Yusuke Sata "A Novel Framework to Assess Neural and Peripheral Characteristics in Hypertension using Baroreflex Equilibrium Diagram", *Heart, Lung and Circulation*, Volume 20, Supplement 2, 2011, Pages S9-S10

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

佐田 悠輔 (Sata Yusuke)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・流動研究員

研究者番号：70570258

### (2)研究協力者

杉町 勝 (Sugimachi Masaru)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・部長

川田 徹 (Kawada Toru)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

清水 秀二 (Shimizu Shuji)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員

神谷 厚範 (Kamiya Atsunori)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・研究員

秋山 剛 (Akiyama Tsuyoshi)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長