

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461057

研究課題名(和文)腎除神経による心不全の自律神経概日リズム異常への介入に関する研究

研究課題名(英文) Study on renal sympathetic denervation to modulate the nocturnal sympathetic tone in rats with myocardial infarction

研究代表者

平井 忠和 (Hirai, Tadakazu)

富山大学・附属病院・講師

研究者番号：10303215

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：心不全では交感神経機能が賦活し、心不全の発症・進展に重要な役割を果たしている。最近、腎除神経により全身の交感神経の賦活を抑制できることがわかってきた。本研究では慢性心不全の自律神経機能の日内リズムを評価し、腎除神経により心不全ラットの自律神経機能の異常が是正できるかどうか検討した。腎除神経を施行したラットに心筋梗塞による心不全モデルを作成し、腹部大動脈に挿入した血圧テレメータの動脈圧波形をスペクトル解析することにより、自由行動下での自律神経機能の日内リズムを評価した。腎除神経により早朝覚醒時の一過性の交感神経機能の賦活および中枢性二酸化炭素化学反射感受性の亢進が是正されることがわかった。

研究成果の概要(英文)：An increase in renal sympathetic nerve activity plays a role in the development of heart failure (HF), but effects of renal sympathetic denervation (RD) on circadian sympathetic tone remains unclear in HF. We studied whether long-term RD could modify circadian changes in sympathoexcitation in rats with HF due to myocardial infarction (MI). Methods: Rats underwent bilateral RD and surgically induced MI. Blood pressure (BP), heart rate and locomotor activity were continuously recorded in conscious rats, by using instrumented radiotelemetry pressure transducer. Sympathetic nerve activity was assessed by low-frequency components (0.15-0.79Hz) of diastolic BP variability. Results: A transient sympathoexcitation was observed during the awaking period. In rats with MI and RD, sympathetic tone during the awaking period was decreased when compared with MI rats without RD ($p<0.05$). Conclusions: These data suggest that long-term RD could modify circadian sympathetic tone in rats with MI.

研究分野：医歯薬学

キーワード：心不全 自律神経機能 腎除神経

1. 研究開始当初の背景

心不全は重症化にともない交感神経機能が賦活する。事実、慢性心不全では血漿ノルエピネフリン濃度が上昇し、その程度が生命予後の指標になる。一方、重症心不全では不整脈による突然死が多く、その要因の1つとして早朝覚醒期の一過性の交感神経機能亢進(morning surge)が考えられている。すなわち心不全では交感神経機能の亢進が認められ心不全の発症・進展に重要な役割を果たしているが、交感神経機能の賦活には日内変動があり、その評価が重要である。

心不全において腎臓の役割は重要であり、心不全では腎臓からのナトリウム排泄能の低下、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン(RAS)系の賦活が認められ心不全の病態に腎交感神経が密接に関わっている。腎交感神経には遠心路と求心路があり遠心性交感神経の刺激により、腎血流の低下、レニン分泌亢進、尿中ナトリウム排泄低下をきたす。また求心性交感神経の刺激により中枢を介して全身の交感神経を賦活し血圧上昇に関与していることが知られている。

最近、治療抵抗性高血圧患者への腎交感神経のアブレ-ション(腎神経焼灼術)の有効性が示され(Lancet 2010;376:1903-1909)、腎除神経により全身の交感神経機能の賦活を非薬物的に抑制できることがわかってきた。しかし慢性心不全においても同様に有効かどうかは不明である。本研究では慢性心不全の自律神経機能日内リズムにおよぼす腎除神経の効果を検討した。

2. 研究の目的

重症心不全では突然死が多く、突然死の多くは早朝に発症し、その発症頻度には一定の日内変動のパターンがある。早朝覚醒時には交感神経の緊張が高まり致死性不整脈が多発すると考えられてきた。この一過性の交感神経の賦活には中枢における二酸化炭素化学反射感受性の亢進が背景にあることが明らかになってきた。

本研究では、われわれが動物実験用に開発した自律神経活動の日内リズム評価システム(Auto Neurosci. 2011;159:20-25)を使用し、心筋梗塞によるラット心不全モデルにおいて腎除神経を施行し、自律神経機能の日内リズムにおよぼす影響を検討した。さらに心不全における交感神経機能賦活の背景にある機序、すなわち中枢性二酸化炭素化学反射感受性と腎除神経の関連を評価した。

3. 研究の方法

(1) 心筋梗塞による心不全モデルにおける血圧・心拍数・自律神経機能の概日リズム評価と腎除神経の効果:

12週令のWistar系ラットを用いて左冠動脈結紮による心筋梗塞を作成し、6週後に心エコー、心電図で心筋梗塞の程度を評価した。また腹部大動脈に超小型血圧テレメータを挿入し、術後1週間して覚醒・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)。

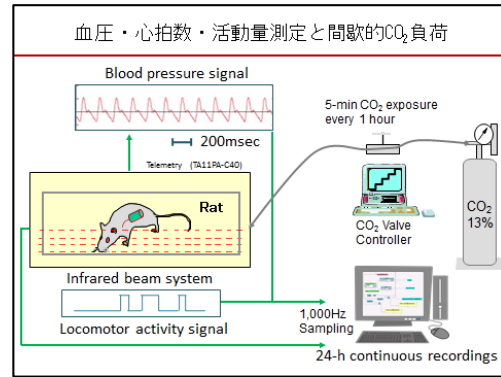


図1. ラットの血圧・活動量長時間記録システム

血圧テレメータにより得られる血圧波形の拡張期血圧変動をスペクトル解析し低周波成分(LFdp:0.15 - 0.79Hz)を交感神経活動の指標とした。また一拍一拍のRR間隔から心拍変動をスペクトル解析し、その高周波成分(HFhr:0.8 - 3Hz)を副交感神経活動の指標として自律神経機能の日内変動を評価した(図2)。心拍・血圧のモニタリング中は赤外線ビームセンサ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。

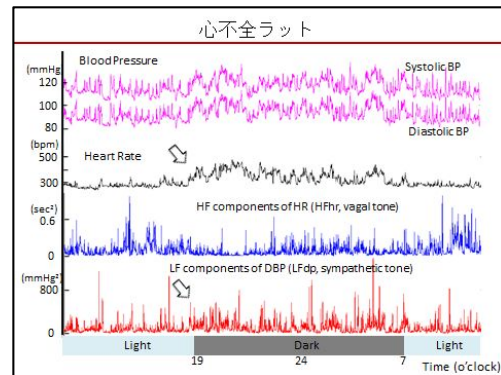


図2. ラットの自律神経機能の日内変動

腎除神経は、フォ-レン麻酔下で左右それぞれ側腹切開により腎動静脈を同定し、実体顕微鏡下で外科的に腎神経を含め血管外膜を剥離し腎神経を切除した。さらに10%フェノール液を塗布し腎臓の除神経を完成させた(Heart Vessels 2002;16:51-56)。

(2) 心不全ラットにおける中枢性二酸化炭素化学反射感受性におよぼす腎除神経の効果:

交感神経機能賦活の一因である中枢性化学反射感受性におよぼす腎除神経の影響を検討するため、腎除神経をうけた心不全ラットにおける中枢性二酸化炭素化学反射感受性の評価を行った。具体的には、ラットのケージ(約10L)内に13%CO₂・20%O₂の混合気体を1時間毎に2分間注入・3分間貯留し計5分間の13%CO₂負荷に対する中枢性二酸化炭素化学反射感受性を評価した。

(3) 心筋梗塞ラットの心不全進展過程における腎除神経の介入時期の検討: 心筋梗塞作

成後、2 週後、4 週後に腎除神経を施行し腎除神経を施行しない心筋梗塞ラットと比較検討した。

4. 研究成果

(1) 心不全モデルラットにおける自律神経日内リズムと腎除神経:

心不全ラット(n=8)の昼間(夜行性動物の睡眠期)の腹部大動脈の平均血圧は 96 ± 3 (SE)mmHg、Sham 手術を施行した対照群(n=12)の平均血圧は 103 ± 3 mmHg であった。腎除神経を施行した心不全ラット(n=8)の平均血圧は 87 ± 2 mmHg と Sham 群より低下していた。腎除神経を受けていない心不全ラットと腎除神経を施行した心不全ラットの両群において、心拍数および活動量に有意差はなかった。

また心不全ラットの左室拡張末期圧は 17.8 ± 3.8 (SE)mmHg と Sham 手術をした対照群(5.0 ± 0.6 mmHg)より高く、血中 B 型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)も心不全ラットで 2.55 ± 0.24 (SE)ng/ml と Sham 群 0.97 ± 0.11 ng/ml より高値であったが、腎除神経を施行した心不全ラットでは、左室拡張末期圧は 7.1 ± 1.6 mmHg と低下し、BNP は 1.53 ± 0.20 ng/ml と心不全ラットと比べ有意に低下していた。

拡張期血圧のスペクトル解析から低周波成分(LFdp)を抽出し交感神経機能を評価したところ、夜間活動期の LFdp は $1,756 \pm 263$ (SE)mmHg² と、Sham 群の 798 ± 68 mmHg² より亢進していたが、腎除神経を施行した心不全ラットでは 921 ± 197 mmHg² と低下していた。また心拍変動から求めた副交感神経機能は、心不全ラットと腎除神経を施行した心不全ラットとに有意差はなかった。以上より、腎除神経により心不全ラットの交感神経機能の亢進が抑制できることが証明され、腎除神経により心不全進展増悪を軽減できる可能性が示唆された。

(2) 心不全ラットの中枢性二酸化炭素化学反射感受性におよぼす腎除神経の効果:

ラットの中枢性二酸化炭素化学反射感受性の日内変動を評価するため 1 時間毎に 13%CO₂・20%O₂ の混合気体をラットのケージ内に負荷し交感神経機能(LFdp)を評価した。

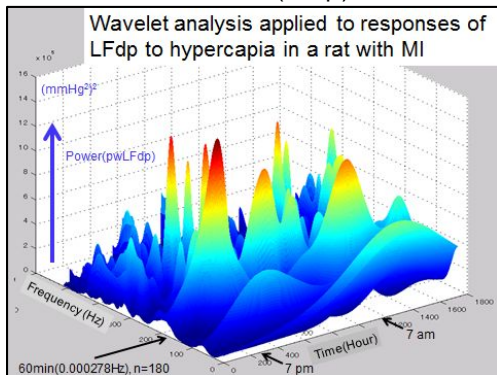


図3. 心不全ラットにおける CO₂ 負荷に対する拡張期血圧の LF 成分: Wavelet 解析

図3に観察されるように心不全ラットでは早朝覚醒期(16-20 時)に一過性に二酸化炭素に対する交感神経機能の賦活が亢進していた。

この心不全ラットの早朝覚醒期(16-20 時)二酸化炭素化学反射感受性(LFdp; 890 ± 23 (SE))は、腎除神経を施行した心不全ラットにおいて LFdp; 673 ± 43 (SE)と改善していた。

また心筋組織の BNP および TGF の mRNA 発現レベルを RT-PCR 法で測定したところ、心不全ラットに比べ腎除神経を施行したラットで低下していた。

(3) 心筋梗塞ラットの心不全進展過程における腎除神経の介入時期の検討:

心筋梗塞作成後 2 週後に腎除神経を施行したラットの左室拡張末期圧は 12.0 ± 3.5 mmHg と腎除神経を施行しないラット(18.1 ± 4.4 mmHg)より低下していたが、心筋梗塞作成後 4 週後に腎除神経を施行したラットでは有意差はなかった。腎除神経未施行の心筋梗塞ラットの早朝覚醒期 LFdp は、 $1,996 \pm 85$ (SE)mmHg² と亢進していたが、心筋梗塞 2 週後に腎除神経を施行したラットでは、LFdp $1,411 \pm 141$ (SE)mmHg² と低下傾向を認めた。しかし心筋梗塞作成後 4 週後に腎除神経を施行したラットではこの改善効果は認めなかった。以上のことから腎除神経の交感神経機能におよぼす影響は、心不全の進展過程によって異なり、心不全発症早期に腎除神経を施行した方が、より有効と思われた。すなわち腎除神経による自律神経機能への介入時期には至適時期があることが示唆された。

慢性心不全症例において腎交感神経のカテーテルアブレーション治療の介入時期や心不全重症度について、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 6 件)

1) Joho S, Akabane T, Ushijima R, Hirai T, Kinugawa K. Sympathetic nerve activity efferent drive and Beta-blocker treatment effect of interaction in systolic heart failure. *Circ J.* 2016;23;80:2149-54. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0464. 査読あり.

2) Ithori H, Nozawa T, Sobajima M, Shida T, Fukui Y, Fujii N, Inoue H. Waon therapy attenuates cardiac hypertrophy and promotes myocardial capillary growth in hypertensive rats: a comparative study with fluvastatin. *Heart Vessels.* 2016;31:1361-9. doi:10.1007/s00380-015-0779-5. 査読あり.

3) Nakatani Y, Sakamoto T, Nishida K, Kataoka N, Yamaguchi Y, Sakabe M, Fujiki A, Mizumaki K, Inoue H. Bepridil enhances

aprimidine-induced prolongation of atrial effective refractory period in a canine atrial rapid pacing model. *J Cardiol*. 2015;66:445-50. doi:10.1016/j.jjcc.2015.06.001. 査読あり.

4) Sobajima M, Nozawa T, Fukui Y, Ihori H, Ohori T, Fujii N, Inoue H. Waon therapy improves quality of life as well as cardiac function and exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Int Heart J*. 2015;56:203-8. doi:10.1536/ihj14-266. 査読あり.

5) Harada D, Asanoi H, Takagawa J, Ishise H, Ueno H, Oda Y, Goso Y, Joho S, Inoue H. Slow and deep respiration suppresses steady-state sympathetic nerve activity in patients with chronic heart failure: from modeling to clinical application. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;15:307:H1159-68. doi:10.1152/ajpheart00109.2014. 査読あり.

6) Ushijima R, Joho S, Akabane T, Oda Y, Inoue H. Differing effects of adaptive servoventilation and continuous positive airway pressure on muscle sympathetic nerve activity in patients with heart failure. *Circ J*. 2014;78:1387-95. <http://doi.org/10.1253/circj.CJ-13-1468> 査読あり.

〔学会発表〕(計8件)

1) Hirai T, Tanaka S, Joho S, Ohori T, Asanoi H, Inoue H, Kinugawa K. Renal sympathetic denervation in conscious infarcted rats reduced transient augmentation of hypercapnic chemosensitivity during the awaking period. 第20回日本心不全学会学術集会; 2016,10,6-8, ロイトン札幌・ホテルさっぽろ芸文館, 札幌.

2) Akabane T, Joho S, Ushijima R, Hirai T, Kinugawa K. Prescription of beta-blockers at lower dose is associated with poor outcomes in heart failure patients with central sympathetic overactivation. *European Society of Cardiology Congress 2016*, 2016,8,27-31, Roma, Italy.

3) Joho S, Ushijima R, Akabane T, Hirai T, Inoue H, Kinugawa K. Restrictive lung function is related to sympathetic hyperactivity in patients with chronic heart failure. *American Heart Association Scientific Sessions 2015*; 2015,11,7-11, Orland, USA.

4) Hirai T, Tanaka S, Joho S, Ohori T, Asanoi H, Inoue H, Kinugawa K. Effects of renal sympathetic denervation on nocturnal sympathetic tone in rats with myocardial infarction. 第19回日本心不全学会学術集会; 2015,10,22-24, グランフロント大阪, 大阪.

5) Ushijima R, Joho S, Akabane T, Inoue H.

Sympathetic overactivation predicts worsening renal function in patients with chronic heart failure. *European Society of Cardiology Congress 2015*, 2015,8,27-31, Paris, France.

6) Akabane T, Joho S, Ushijima R, Inoue H. Sympathetic over activation but not hyponatremia as an independent predictor of cardiovascular events and mortality in patients with chronic heart failure. *American Heart Association*; 2014,11,15-19; Chicago, USA.

7) Hirai T, Numa S, Ohori T, Joho S, Asanoi H, Inoue H. Altered hypercapnic chemosensitivity in conscious nephrectomised rats with myocardial infarction. 第18回日本心不全学会学術集会; 2014,10,10-12, 大阪国際会議場, 大阪.

8) Akabane T, Joho S, Ushijima R, Oda Y, Inoue H. Time course of adaptive servoventilation effects on central sleep apnea in patients with chronic heart failure. *European Society of Cardiology*; 2014,8,30-9,3; Barcelona, Spain.

〔図書〕(計5件)

1) 井上 博編. *Medical Topics Series 不整脈 2015*. 東京:メディカルレビュー社;2015. 214p.

2) 平井忠和. *臨床検査のガイドライン JSLM2015*. 日本臨床検査医学会ガイドライン作成委員会編. 東京:宇宙堂八木書店;2015. 症候疼痛「胸痛」; p.197-201.

3) 平井忠和. *臨床検査のガイドライン JSLM2015*. 日本臨床検査医学会ガイドライン作成委員会編. 東京:宇宙堂八木書店;2015. 疾患循環器「急性心筋梗塞」; p.269-73.

4) 井上 博. *循環器疾患最新の治療 2014-2015*. 堀正二他編. 東京:南江堂;2014. 心室頻拍; p. 291-4.

5) 城宝秀司, 井上 博. *専門医のための循環器病学*. 小川 聡他編. 東京:医学書院; 2014. 全身疾患に伴う心・血管の異常; p. 535-49.

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等: <http://www.med.u-toyama.ac.jp/inter2/04html/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

平井 忠和 (HIRAI, TADAKAZU)

富山大学・附属病院・講師

研究者番号: 10303215

(2)研究分担者

井上 博 (INOUE, HIROSHI)

富山大学・事務局・名誉教授

研究者番号: 60151619

(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)・
講師
研究者番号：90334721