

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6 月 13 日現在

機関番号：32661

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07135

研究課題名(和文) 容量負荷から拡張不全への移行過程、増悪因子および治療標的分子の解析

研究課題名(英文) The transition process, aggravating factor and therapeutic strategies from volume overload to heart failure

研究代表者

曹 新 (CAO, Xin)

東邦大学・薬学部・博士研究員

研究者番号：40805652

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は慢性容量負荷から拡張不全へ移行する病態生理、増悪因子および治療標的分子を解析した。動静脈瘻術前、術後4週、12週および24週では心エコー法を用いて心臓機能および構造的変化を評価した。24週の時点では、電気生理、血行動態、ANP、形態学および病理組織学的評価を行った。その結果、慢性容量負荷をしたラットでは心収縮能が経時的に低下傾向を示し、拡張能が急激に低下し、4週から12週までほとんど変化せずに低値の状態を維持していた。また、アルドステロンは収縮能を低下させ、拡張障害から収縮障害への移行を促進した。非選択制の伸展活性化チャネル阻害剤であるAmilorideは心室頻拍の誘発率を減少した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果では、容量負荷がどのようにして生体内で拡張と収縮能に影響を与え、心不全を起こすのか、その進展過程を初めて証明した。また、アルドステロンによる圧負荷を介さない作用は心不全の収縮能に影響し、拡張障害から収縮障害への移行を促進したことを証明した。非選択制伸展活性化チャネル阻害剤は容量負荷による心室頻拍の誘発率を減少することができたことから、有効な、新しいタイプの心不全の治療薬開発の戦略構築が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The aims of this study were to evaluate the progression from creation of aorto-venocaval shunt (AVS) to diastolic heart failure (DHF), investigate the impact of chronic infusion of aldosterone on the development of DHF and find the potential therapeutic strategies. The time course of changes in cardiac function and structure were evaluated by echocardiography before surgery at 4, 12 and 24 weeks. Cardiopathy was characterized by atrial natriuretic peptide analysis, electrophysiologic and hemodynamic tests, morphometric and histological examinations at 24 weeks. AVS tended to gradually reduced ejection fraction, and impaired diastolic function acutely in 4 weeks and then kept them at a steady state until 24 weeks. Aldosterone decreased systolic function and accelerated the transition from diastolic dysfunction to systolic heart failure in the AVS rats. Amiloride suppressed inducibility of ventricular tachycardia.

研究分野：薬物治療学

キーワード：容量負荷 拡張不全

1. 研究開始当初の背景: 心不全は心臓のポンプ機能の中心的な役割を担う収縮機能の不全が原因とされ、これまでに多くの研究がなされてきた。収縮不全のメカニズムの解明に伴い、この病態に対する治療法が提案されてきた。ところが、心不全は収縮不全のみならず、拡張不全も原因の1つとされ、左室駆出率が保たれているにもかかわらず、左室拡張能の低下により左室拡張末期圧が上昇する病態を示す。拡張不全は心不全の患者の約50%を占め、その生命予後は収縮不全とほぼ同等で、高齢で症状が強く、QOLの著しい障害が問題点とされている。日本における心不全の患者数が2030年に130万人を超えると予測され、今後さらなる高齢化社会を迎えることから、社会福祉上も医療経済上も大きな問題に位置づけられている。

拡張不全に関する大きな問題点は、治療戦略に関するエビデンスが未確立なことである。従来の研究では、圧負荷に起因する拡張不全の病態生理に焦点があてられていたが、容量負荷それ自体が原因となる拡張不全の進展過程はほとんど研究されていない。

2. 研究の目的: 本研究は、申請者の研究室で構築された慢性的に容量負荷を心臓に与えることを可能にしたモデル動物(ラット)を用いることが特徴であり、慢性容量負荷から拡張不全へ移行する病態生理の解明、移行する拡張不全の表現型を増悪する因子の同定、得られた知見を基に治療標的分子を見出すことを目標とした。

3. 研究の方法:

実験(1): 拡張不全モデルの病態生理の解明: ラットをイソフルラン麻酔下で開腹し、Garciaらの手法を用いて腹部大動脈と下大静脈の間で動静脈瘻(AVS)を作製した。術前、術後4、12および24週における慢性容量負荷による心超音波ドプラ指標の経時変化を評価した。加えて、24週に心電図(ECG)、侵襲的血液動態指標(左室拡張末期圧)、バイオマーカー(ANP)の評価および病理組織学的評価を実施した。

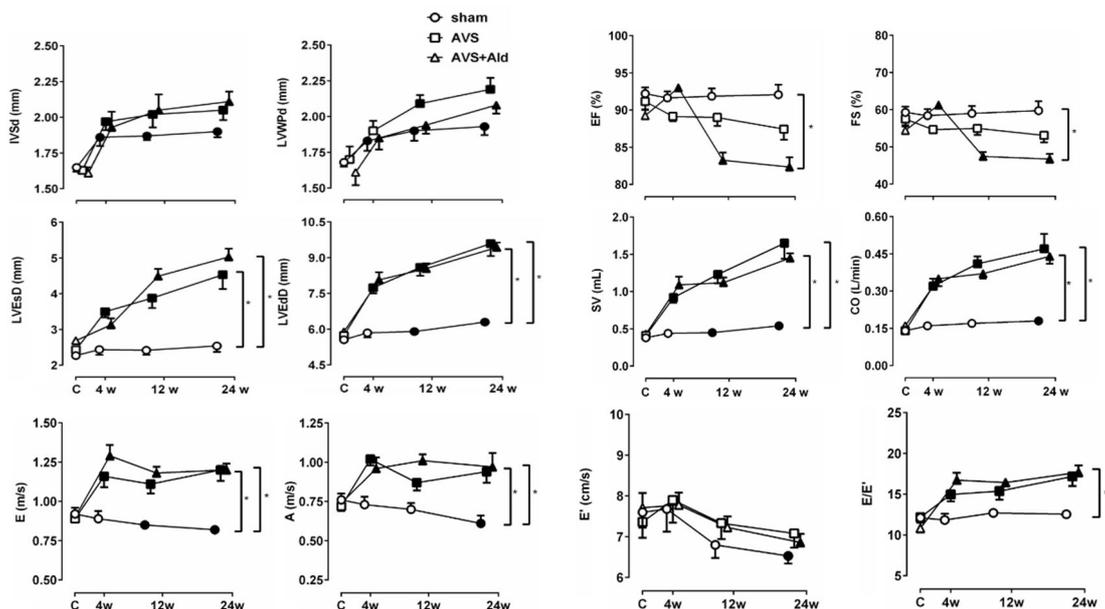
実験(2): 増悪因子の同定: 動静脈瘻を作成した後に、病態を促進させるRAAS系のアルドステロンを充填した浸透圧ポンプを腹腔内に留置して閉腹した。AVS群と同じように、術前、術後4、12および24週に心超音波ドプラで心機能と形態学を評価した。加えて、24週にもECG、左室拡張末期圧、ANPの評価および病理組織学的評価を実施した。

実験(3): 治療標的分子の分析: 初年度にエコー検査中に心室頻拍が観察されたことから、治療標的と見込まれた非選択性伸張活性化チャンネル阻害であるAmilorideを容量負荷による心室頻拍の発生率を解析した。

4. 研究成果

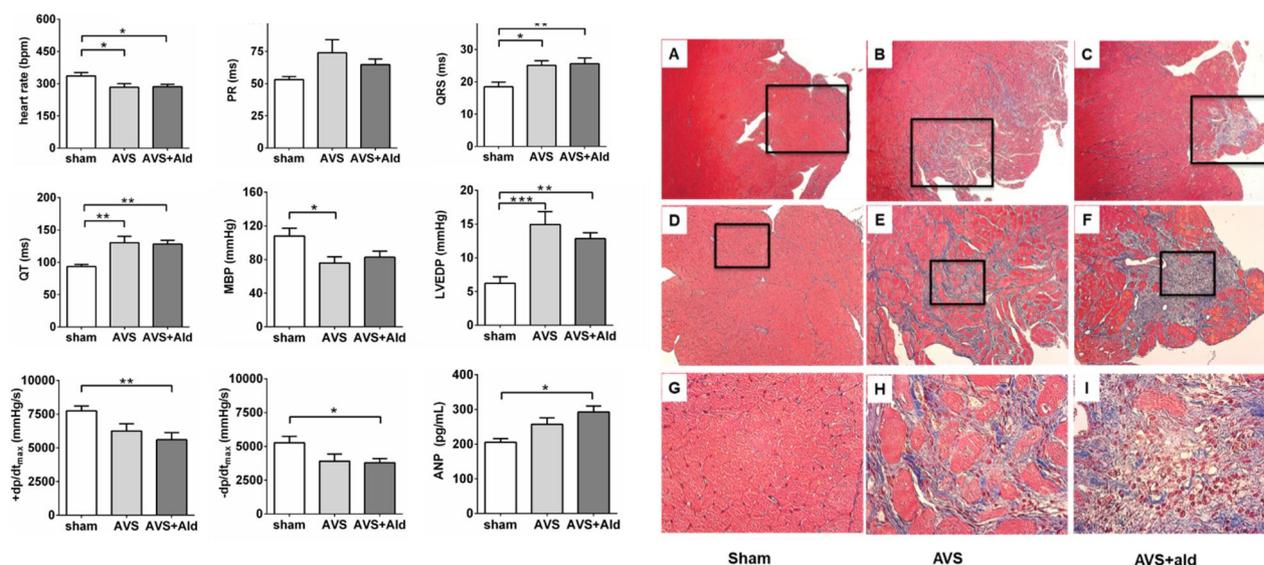
実験(1): AVS群(n=7)では、左室拡張末期内径(LVEDD)と左室拡張末期容積(LVEDV)は術前と比べ、術後4、12および24週に経時的に増加した。左室後壁厚(LVPWD)と心室中隔厚(IVSD)も経時的に増加した(図1)。左室駆出率(EF)と左室内径短縮率(FS)は有意な変化を示さなかった(図1)。僧帽弁輪運動速度(E')は術前と比べ、術後4、12および24週で有意な変化を示さなかったが、拡張早期波(E)とE/E'は増加した(図1)。Sham群(n=7)と比べて、LVEDD、LVEDVおよびEは有意に増加した。加えて、24週にSham群(n=7)と比べて、AVS群(n=6)では心拍数の低下、QRS幅とQT間隔の増加、左室拡張末期圧の上昇および線維化が観察された(図2)。

図1、慢性容量負荷による構造及び機能的経時変化



実験(2) : AVS+Aldosterone 群 (n = 8) では、LVEDD、LVEDV、LVPWD、IVSD、E および E/E' は術前と比べ、術後 4、12 および 24 週に AVS 群と同様に経時的に増加したが、EF および FS は AVS 群と違って、4 週に有意に増加し、12 および 24 週に減少した(図 1)。E' は 24 週に有意な低下を示した(図 1)。Sham 群 (n = 7) と比べて、LVEDD、LVEDV、E、E/E'、EF および FS は有意に変化した。加えて、24 週に Sham 群と比べて、AVS+Aldosterone 群 (n = 7) では心拍数の低下、QRS 幅と QT 間隔の増加、左室拡張末期圧の上昇、+dp/dt_{max} と -dp/dt_{max} の低下、ANP の増加および左室の線維化が観察された(図 2)。

図 2. 慢性容量負荷による電気生理、血行動態、ANP と病理組織的变化



実験(3) : Amiloride (40 mg/kg と 80 mg/kg) の前投与はプログラム刺激による心室頻拍の発生率を抑制した。

考察 : 本モデルラットでは慢性容量負荷をしたラットでは静脈怒張、心室頻拍、心拡大と心肥大が生じ、心収縮能が経時的に低下傾向を示し、拡張能が急激に低下し、4 週から 24 週までほとんど変化せずに低値の状態を維持していた。また、アルドステロンは収縮能を低下させ、拡張障害から収縮障害への移行を促進した。Amiloride は心室頻拍の誘発率を減少した。

5. 主な発表論文

【雑誌論文】(計 9 件)

- (1) Chiba T, Sakuma K, Komatsu T, **Cao X**, Aimoto M, Nagasawa Y, Shimizu K, Takahashi M, Hori Y, Shirai K, Takahara A. Physiological role of nitric oxide for regulation of arterial stiffness in anesthetized rabbits. *Journal of Pharmacological Sciences*. 139: 42-45, 2019. doi: 10.1016/j.jphs.2018.11.003. 査読有
- (2) **Cao X**, Aimoto M, Fukumoto M, Nagasawa Y, Tanaka H, Takahara A. Influence of chronic volume overload-induced atrial remodeling on electrophysiological responses to cholinergic receptor stimulation in the isolated rat atria. *Journal of Pharmacological Sciences*. 136: 73-78. 2018. doi: 10.1016/j.jphs.2017.12.009. 査読有
- (3) **Cao X**, Nakamura Y, Izumi-Nakaseko H, Chiba K, Lubna J, Goto A, Hagiwara-Nagasawa M, Ando K, Naito A, Sugiyama A. Measurement of phosphodiesterase activity in the conduction system and contractile muscle of the rat heart: Evidence of regional difference. *Toho journal of medicine*. 4:103-106, 2018. 査読有
- (4) Chiba K, Nakamura Y, **Cao X**, Fukuda S, Egi K, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Tanaka K, Naito AT, Sugiyama A. Comparison of effects of phosphodiesterase inhibitors, a Rho-kinase inhibitor, Ca²⁺-channel blockers and a K⁺-channel opener on isolated human internal mammary arteries. *Toho Journal of Medicine*. 5: 28-32, 2018. 査読有
- (5) Wada T, Ando K, Naito AT, Nakamura Y, Goto A, Chiba K, Lubna NJ, **Cao X**, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Nakazato Y, Sugiyama A. Sunitinib does not acutely alter left ventricular systolic function but induces diastolic dysfunction. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 82: 65-75, 2018. doi: 10.1007/s00280-018-3593-9. 査読有
- (6) Lubna NJ, Wada T, Nakamura Y, Chiba K, **Cao X**, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Satoh Y,

Sugiyama A. Amitriptyline may have possibility to induce Brugada syndrome rather than long QT syndrome. *Cardiovascular Toxicology*. 18: 91-98, 2018. doi: 10.1007/s12012-017-9417-z. 査読有

(7)Takahara A, Nozaki S, Ishiguro A, Okamura K, **Cao X**, Aimoto M, Nagasawa Y. Selectivity of Ca²⁺ channel blockers for dilator actions on the isolated lower esophageal sphincter and aorta from rats. *Journal of Pharmacological Sciences*.137: 98-100, 2018. doi: 10.1016/j.jpshs.2018.01.012. 査読有

(8)**Cao X**, Wada T, Nakamura Y, Matsukura S, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito A, Sugiyama A. Sensitivity and reliability of halothane-anesthetized microminipigs to assess risk for drug-induced long QT syndrome. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 121:465-470, 2017. doi: 10.1111/bcpt.12838. 査読有

(9)Izumi-Nakaseko H, Li W, **Cao X**, Nakamura Y, Ando K, Tanaka K, Enkhsaikhan A, Gotov C, Purevjav B, Chultemsuren Y, Nyambayar K, Dorjsuren N, Hagiwara-Nagasawa M, Naito AT, Koike K, Sugiyama A. Assessment of pharmacological effects of Mongolian medicinal plant *Adonis mongolica* in guinea pigs in vivo and in vitro. *Toho Journal of Medicine*. 3: 131 -141, 2017. 査読有

【学会発表】(計 12 件)

- (1)**■新**, 永澤 悦伸, 川上 聡士, 相本 恵美, 高原 章. 持続性心房細動に対するマルチチャネル阻害薬 acehytisine の有用性と安全性の分析. 日本安全性薬理研究会第 10 回学術年会, 東京, 2019/03.
- (2)**Cao X**, Nagasawa Y, Aimoto M, Zhu B, Tang Y, Takahara A. Analysis of the influence of chronic volume overload on ventricle. 2018 International Experimental Biology and Medicine Conference, Chengdu, China, 2018/10.
- (3)**■新**, 相本 恵美, 永澤 悦伸, 高原 章. 容量負荷に起因する拡張不全への進展過程の分析. 第 20 回応用薬理シンポジウム, 東京, 2018/08.
- (4)**Cao X**, Nagasawa Y, Aimoto M, Takahara A. Analysis of therapeutic utility of a multi-ion channel inhibitor acehytisine for paroxysmal supraventricular tachycardia in anesthetized guinea pigs. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, 2018/07.
- (5)川上聡士, 永澤悦伸, 神林隆一, 長澤(萩原)美帆子, **■新**, 相本恵美, 高原章. 薬剤性 QT 間隔延長に対する α_1 アドレナリン受容体刺激薬 methoxamine の影響. 第 138 回日本薬理学会関東部会, 東京, 2018/03.
- (6)佐久間 清, 千葉 達夫, 白取 広芸, 霜田 晃, **■新**, 相本 恵美, 永澤 悦伸, 高原 章. アンジオテンシン II の急性作用が動脈血管の硬さに及ぼす影響. 第 14 回東邦大学 5 学部合同学術集会, 東京, 2018/03.
- (7)菊池 梨奈, 相本 恵美, **■新**, 永澤 悦伸, 高原 章. Aldosterone 負荷・動静脈瘻ラットにおける持続性心房細動の機序解析 - 鉍質コルチコイド受容体の関与 -. 第 61 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 2017/09
- (8)栗林 あや, 相本 恵美, **■新**, 永澤 悦伸, 高原 章. キサンチンオキシダーゼ阻害薬 febuxostat による抗心房細動作用 - aldosterone 負荷・動静脈瘻ラットを用いた検討 -. 第 61 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 2017/09.
- (9)霜田 晃, 佐久間 清, 白取 広芸, 相本 恵美, **■新**, 永澤 悦伸, 高原 章. Angiotensin II による血管作用の部位差に関する検討. 第 61 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 2017/09.
- (10)鈴木 啓太, 永澤 悦伸, **■新**, 相本 恵美, 高原 章. I_{Ks} 遮断薬が生体位心臓の再分極過程に及ぼす作用 - 麻酔モルモットにおける分析 -. 第 61 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 2017/09.
- (11)大村 賢介, 永澤 悦伸, 小林 加寿子, **■新**, 相本 恵美, 高原 章. イソフルラン麻酔モルモットにおけるアゼラスチン及びクレマスチンの QT 間隔延長作用 - テルフェナジンとの比較 -. 第 136 回日本薬理学会関東部会, 東京, 2017/07
- (12)Lubna LJ, Wada T, Nakamura Y, Chiba K, **Cao X**, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Sato Y, Sugiyama A. Amitriptyline may have possibility to induce Brugada syndrome rather than long QT syndrome. 第 136 回日本薬理学会関東部会, Tokyo, 2017/07

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名：

研究者番号（8桁）：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。