

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09110

研究課題名(和文) 2アドレナリン受容体作動薬を用いた新しい心不全薬物治療の開発

研究課題名(英文) Development of a new pharmacotherapy for heart failure using alpha-2 adrenergic agonists

研究代表者

清水 秀二 (SHIMIZU, Shuji)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・研究員

研究者番号：80443498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：2アドレナリン受容体作動薬の心臓迷走神経亢進作用を心不全治療に応用するために動物実験を行った。ドキシソルビシン誘発性心筋症モデルマウスに、デクスメトミジンまたはグアンファシンを経口投与し、生存率を観測したが、生存率の有意な改善は認められなかった。その原因を探るため、ラットを用いた急性実験を行った結果、2アドレナリン受容体作動薬は中枢性には交感神経活動を抑制するものの、末梢では血管抵抗を上昇させることが判明した。そのため、2アドレナリン受容体作動薬による心不全治療効果は、心臓迷走神経亢進作用に加え、交感神経抑制作用と後負荷増大作用のバランスに依存するものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Animal experiments were performed to investigate therapeutic effects of alpha-2 adrenergic agonist-induced cardiac vagal activation on chronic heart failure. Ninety days survival was observed in doxorubicin-induced cardiomyopathy mice treated with dexmedetomidine or guanfacine. Because both alpha-2 adrenergic agonists did not improve 90 days survival in mice, several acute experimental studies using normal rats were added. These studies revealed that alpha-2 adrenergic agonists centrally suppressed cardiac sympathetic nerve activity but increased peripheral vascular resistance. Therefore, therapeutic benefits of alpha-2 adrenergic agonists on chronic heart failure may be dependent on the balance between sympatholytic effect and increased ventricular afterload in addition to cardiac vagal enhancement.

研究分野：循環生理学

キーワード：心不全 2アドレナリン受容体作動薬 デクスメトミジン 心臓交感神経 心臓迷走神経

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の心不全患者は160万人以上と言われており、年々増加傾向にある。心不全の増悪には交感神経活動の亢進・迷走神経活動の減弱が深く関与しており、交感神経を抑制する目的でβ遮断薬での治療が行われているが、5年生存率は40%程度である。

近年、心不全治療の新たな試みとして、頸部迷走神経電気刺激やアセチルコリンエステラーゼ阻害薬を用いた迷走神経活動への介入治療が注目されているが、まだ十分なエビデンスは得られていない。一方で、全身の迷走神経活動を賦活化するこれらの治療においては、消化管などの他臓器への副作用が懸念され、時として心不全患者の生命予後に影響を及ぼすことも考えられる。したがって、副作用を回避するためには、心臓特異的に迷走神経活動を賦活化する方法が必要である。

我々は、心臓マイクロダイアリス法を用いて心筋間質での生理活性物質の動態をモニターすることにより、心臓自律神経機能の解析や心筋虚血などの病態の解明に寄与してきた。我々は、本法を用いてウサギ右心房の洞房結節周囲での神経伝達物質(ノルアドレナリンおよびアセチルコリン)の分泌をモニターし、心臓交感・迷走神経活動の指標とすることに世界で初めて成功している(文献 )。また我々は、本法を用いてα<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬であるメドトミジンが、中枢性に心臓交感神経活動を抑制し、さらには圧受容器反射の機能を改善し、心臓迷走神経活動を亢進させることをすでに報告している(文献 )。さらに、マイクロダイアリス法を心臓と消化管に同時に応用し、メドトミジンの迷走神経賦活化作用が消化管には作用しない心臓特異的作用であることを証明している(文献 )。加えて、別の先行研究では、α<sub>2A</sub>アドレナリン受容体作動薬であるグアンファシンには、より強い心臓迷走神経への賦活化作用があることを発見している(IEEE EMBC '14にて発表)。

そこで本研究においては、α<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬の心臓特異的な迷走神経賦活化作用を心不全治療に応用するために、モデル動物を用いた慢性実験にて治療効果の検証を行い、生存率などに与える影響を明らかにすることで、新しい心不全薬物治療法を開発することを目的とする。

### 2. 研究の目的

本研究では、先行研究で明らかとなったα<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬の心臓迷走神経賦活化作用の慢性効果を検証し、心不全モデル動物を用いてα<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬の心不全治療効果を明らかにする。また、α<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬の種類(メドトミジン、デクスメドトミジン、グアンファシンなど)による治療効果の差異やその作用メカニズムを明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) α<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬の慢性心不全治療効果の検討

先行研究にて心臓迷走神経活動亢進作用を認めたメドトミジン(デクスメドトミジン)およびグアンファシンの心不全への治療効果を検討するために、ドキシソルピシン誘発性心筋症モデルマウスを用いて慢性動物実験を行った。10週齢のC57BL/J雄マウスにドキシソルピシンを腹腔内投与(20mg/kg 単回)し、心筋症を誘発、2週間後よりデクスメドトミジンまたはグアンファシンを経口投与し、90日間の生存率を観察した。

#### (2) グアンファシンによる生存率低下の原因の検討

グアンファシン投与は、心不全モデルマウスの生存率を悪化させた。この原因を調べるためにラットを用いた急性実験を行った。

麻酔下のラットの頸動脈洞を体循環より分離し、サーボポンプを用いて頸動脈洞圧を外部から制御した。交感神経活動と血圧を記録し、頸動脈洞内圧から交感神経活動への入出力関係(中枢弓)と、交感神経活動から血圧への入出力関係(末梢弓)を計算した。グアンファシン投与前後で、中枢弓と末梢弓の特性を比較した。

#### (3) α<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬の圧受容器反射を介した心臓迷走神経活動亢進作用の検討

先行研究にて、メドトミジンの心臓迷走神経活動亢進作用が圧受容器反射を介したものであることが示唆されている。そこで、α<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬投与下での大動脈減圧神経刺激による心臓でのアセチルコリン分泌応答について検討を行った。

麻酔下ウサギの右心房にマイクロダイアリス・プローベを植え込み、エゼリンを含むリンゲル液で灌流した。大動脈減圧神経を電気刺激し、透析液中のアセチルコリン濃度を高速液体クロマトグラフィにて測定した。メドトミジンまたはグアンファシン投与下に同様の刺激を行い、アセチルコリン濃度を測定した。

#### (4) α<sub>2C</sub>アドレナリン受容体作動薬の心臓自律神経活動に対する作用の検討

メドトミジンの心臓自律神経活動への作用の主体は、α<sub>2B</sub>またはα<sub>2C</sub>アドレナリン受容体への作用と考えられたため、α<sub>2C</sub>アドレナリン受容体作動薬を用いて心臓自律神経活動への影響を検討した。

麻酔下ウサギの右心房にマイクロダイアリス・プローベを植え込み、エゼリンを含むリンゲル液で灌流した。α<sub>2C</sub>アドレナリン受容体作動薬であるニトロピフェニリン(10 μg/kg, 100 μg/kg)を静脈投与し、透析液中のノルアドレナリンおよびアセチルコリン濃度を高速液体クロマトグラフィにて測定

した。

#### (5) メドトミジンの動脈圧受容器反射への作用の検討

デクスメドトミジンが、生存率を改善できなかった原因を明らかにするため、ラットを用いた急性実験を行った。

麻酔下ラットにて、頸動脈洞を体循環系から分離し、頸動脈洞内圧を変化させて、交感神経活動と血圧の応答を測定した。メドトミジン投与下に同様の実験を行い、メドトミジンが動脈圧受容器反射に及ぼす影響を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) $\alpha_2$ アドレナリン受容体作動薬の慢性心不全治療効果の検討

ドキシソルピシン誘発性心筋症モデルマウスに、グアンファシンを投与した群では、非投与群と比べ、体重は著明に減少し、生存率も悪化することが判明した(図1、 $P < 0.05$ )。

一方で、ドキシソルピシン誘発性心筋症モデルマウスに、デクスメドトミジンを経口投与した群では、ドキシソルピシン投与後の体重減少が抑制され、生存率の低下も認められなかった(図1)。

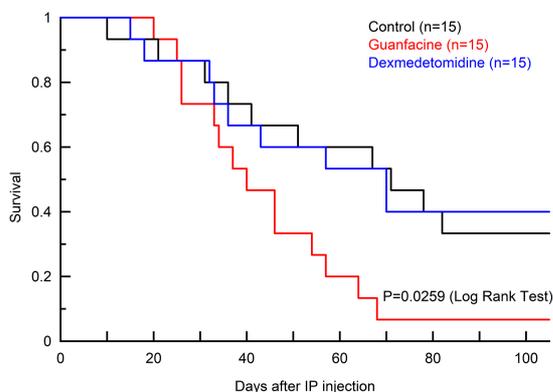


図1 ドキシソルピシン誘発性心筋症モデルマウスの生存率

#### (2) グアンファシンによる生存率低下の原因の検討

グアンファシン投与は、逆シグモイド曲線で表される中枢弓特性の応答域と最小交感神経活動を有意に低下させた。一方で、直線で表される末梢弓特性の傾きは変化させず、切片を有意に上昇させた。このことから、グアンファシンには、交感神経活動抑制作用の他に、強い血管収縮作用があることが判明した。したがって、この血管  $\alpha_2$  アドレナリン受容体への直接作用が生存率の悪化を引き起こしたと考えられた

#### (3) $\alpha_2$ アドレナリン受容体作動薬の圧受容器反射を介した心臓迷走神経活動亢進作用の検討

メドトミジン投与は、大動脈減圧神経刺激前・刺激中のアセチルコリン濃度を有意に上昇させた。一方で、 $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体

作動薬であるグアンファシン投与は、大動脈減圧神経刺激前のアセチルコリン濃度を有意に上昇させたものの、刺激中のアセチルコリン濃度は変化しなかった。このことから、メドトミジンの圧受容器反射を介した心臓自律神経活動への作用の主体は、 $\alpha_{2B}$  または  $\alpha_{2C}$  アドレナリン受容体への作用と考えられた。

#### (4) $\alpha_{2C}$ アドレナリン受容体作動薬の心臓自律神経活動に対する作用の検討

10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  のニトロピフェニリンは、心房間質でのノルアドレナリン濃度を有意に低下させた。加えて、100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  のニトロピフェニリンは、心房間質でのアセチルコリン濃度を有意に上昇させた(図2)。このことから、 $\alpha_{2C}$  アドレナリン受容体作動薬には、心臓交感神経活動の抑制作用と心臓迷走神経活動の亢進作用があることが判明した。

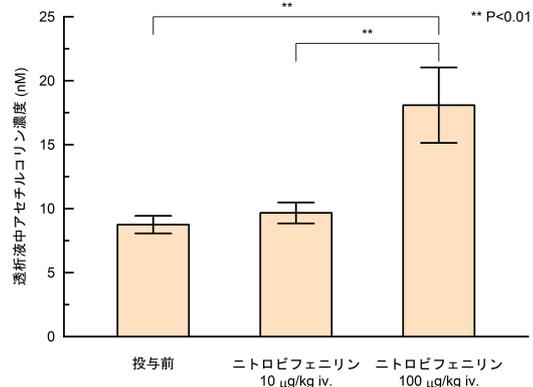


図2 ニトロピフェニリンによるアセチルコリン分泌応答

#### (5) メドトミジンの動脈圧受容器反射への作用の検討

頸動脈洞内圧と交感神経活動の入出力関係で記述される中枢弓特性は、逆シグモイド曲線を示し、メドトミジン投与下では、シグモイド曲線は下方にシフトした。交感神経活動と血圧の入出力関係で記述される末梢弓の特性は、ほぼ線形に近似でき、メドトミジン投与下では、この直線は上方にシフトした。

このことは、メドトミジンは中枢性には交感神経活動を抑制するものの、末梢では血管抵抗を上昇させることを意味しており、メドトミジン投与は心臓の後負荷を増大させる可能性があることが示唆された。したがって、メドトミジン(デクスメドトミジン)の心不全治療効果は、これらの相反する作用(交感神経抑制作用と後負荷増大作用)のバランスに依存すると考えられた。そのため、マウスを用いた慢性実験で生存率の改善が見られなかった理由は、デクスメドトミジンの後負荷増大作用が前面に出た結果と言える。

以上のことから、メドトミジン(デクスメドトミジン)を心不全に対して使用する際には、可能なかぎり後負荷増大作用を抑える必要があり、今後、後負荷を増大させない投与方法や他剤との併用法についてさらなる検討

を重ねていくが必要である。

<引用文献>

Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Shishido T, Yamazaki T, Kamiya A, Mizuno M, Sano S, Sugimachi M, *n vivo* direct monitoring of vagal acetylcholine release to the sinoatrial node, *Auton Neurosci.*, Vol. 148, 2009, 44-49

Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Shishido T, Mizuno M, Kamiya A, Yamazaki T, Sano S, Sugimachi M, *In vivo* direct monitoring of interstitial norepinephrine levels at the sinoatrial node, *Auton Neurosci.*, Vol. 152, 2010, 15-18

Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sata Y, Mizuno M, Kamiya A, Shishido T, Inagaki M, Shirai M, Sano S, Sugimachi M, Medetomidine, an  $\alpha(2)$ -adrenergic agonist, activates cardiac vagal nerve through modulation of baroreflex control, *Circ J.*, Vol. 76, 2012, 152-159

Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Kamiya A, Turner MJ, Yamamoto H, Shishido T, Shirai M, Sugimachi M, Medetomidine suppresses cardiac and gastric sympathetic nerve activities but selectively activates cardiac vagus nerve, *Circ J.*, Vol. 78, 2014, 1405-1413

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 13件)

Turner MJ, Kawada T, Shimizu S, Fukumitsu M, Sugimachi M, Open-loop characteristics of the arterial baroreflex after blockade of unmyelinated baroreceptors with resiniferatoxin, *Auton Neurosci.*, 査読有, Vol. 193, 2015, 38-43, DOI: 10.1016/j.autneu.2015.05.008

Turner MJ, Kawada T, Shimizu S, Fukumitsu M, Sugimachi M. Differences in the dynamic baroreflex characteristics of unmyelinated and myelinated central pathways are less evident in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 査読有, Vol. 309, No. 11, 2015, R1397-R1405, DOI: 10.1152/ajpregu.00315.2015

Kawada T, Shimizu S, Turner MJ, Fukumitsu M, Yamamoto H, Sugimachi M, Systematic understanding of acute effects of

intravenous guanfacine on rat carotid sinus baroreflex-mediated sympathetic arterial pressure regulation, *Life Sci.*, 査読有, Vol. 149, 2016, 72-78, DOI: 10.1016/j.lfs.2016.02.051

Kawada T, Akiyama T, Shimizu S, Fukumitsu M, Kamiya A, Sugimachi M, Desipramine increases cardiac parasympathetic activity via  $\alpha_2$ -adrenergic mechanism in rats, *Auton Neurosci.*, 査読有, Vol. 205, 2017, 21-25, DOI: 10.1016/j.autneu.2017.02.005

Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sata Y, Turner MJ, Fukumitsu M, Yamamoto H, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M, Sodium ion transport participates in non-neuronal acetylcholine release in the renal cortex of anesthetized rabbits, *J Physiol Sci.*, 査読有, Vol. 67, No. 5, 2017, 587-593, DOI: 10.1007/s12576-016-0489-5

Kawada T, Turner MJ, Shimizu S, Fukumitsu M, Kamiya A, Sugimachi M, Aortic depressor nerve stimulation does not impede the dynamic characteristics of the carotid sinus baroreflex in normotensive or spontaneously hypertensive rats, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 査読有, Vol. 312, No. 5, 2017, R787-R796, DOI: 10.1152/ajpregu.00530.2016

Zhan DY, Du CK, Akiyama T, Morimoto S, Shimizu S, Kawada T, Shirai M, Pearson JT, Cardiac vagal control in a knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy with a troponin mutation, *Auton Neurosci.*, 査読有, Vol. 205, 2017, 33-40, DOI: 10.1016/j.autneu.2017.03.002

Shigemi K, Fuke S, Une D, Saku K, Shimizu S, Kawada T, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M, Physiological insights of recent clinical diagnostic and therapeutic technologies for cardiovascular diseases, *J Physiol Sci.*, 査読有, Vol. 67, No. 6, 2017, 655-672, DOI: 10.1007/s12576-017-0554-8

Fukumitsu M, Kawada T, Shimizu S, Turner MJ, Uemura K, Sugimachi M, Wave reflection correlates with pulmonary vascular wall thickening in rats with pulmonary arterial hypertension, *Int J Cardiol.*, 査読有, Vol. 249, 2017, 396-401, DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.09.024

Kawada T, Shimizu S, Yamamoto H, Miyamoto T, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M, Effects of different input pressure waveforms on the carotid sinus baroreflex-mediated sympathetic arterial pressure response in rats, *J Appl Physiol.*, 査読有, Vol. 123, No. 4, 2017, 914-921, DOI: 10.1152/japplphysiol.00354.2017

Kawada T, Shimizu S, Yamamoto H, Miyamoto T, Shishido T, Sugimachi M, Peripheral versus central effect of intravenous moxonidine on rat carotid sinus baroreflex-mediated sympathetic arterial pressure regulation, *Life Sci.*, 査読有, Vol. 190, 2017, 103-109, DOI: 10.1016/j.lfs.2017.09.038

Kawada T, Turner MJ, Shimizu S, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M, Tonic aortic depressor nerve stimulation does not impede baroreflex dynamic characteristics concomitantly mediated by the stimulated nerve. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 査読有, Vol. 314, No. 3, 2017, R459-R467, DOI: 10.1152/ajpregu.00328.2017

Yamamoto H, Kawada T, Shimizu S, Uemura K, Inagaki M, Kakehi K, Iwanaga Y, Fukuda K, Miyamoto T, Miyazaki S, Sugimachi M, Ivabradine does not acutely affect open-loop baroreflex static characteristics and spares sympathetic heart rate control in rats. *Int J Cardiol.*, 査読有, Vol. 257, 2018, 255-261, DOI: 0.1016/j.ijcard.2017.11.115

〔学会発表〕(計 12 件)

清水秀二、川田 徹、秋山 剛、マイケル ターナー、福満雅史、神谷厚範、穴戸稔聡、杉町 勝、メデトミジンは大動脈減圧神経刺激による心臓アセチルコリン分泌を増強する, 第 36 回日本循環制御医学会総会、名古屋、2015 年 6 月 5 日~6 日

清水秀二、川田 徹、マイケル ターナー、秋山 剛、杉町 勝, 大動脈減圧神経刺激による心臓迷走神経活動の亢進は、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体刺激により修飾される, 第 108 回近畿生理学談話会、大阪、2015 年 10 月 24 日

清水秀二、福家聡一郎、中西浩之、津島龍、柏原悠也、守谷知香、田中正道、湯本晃久、齋藤博則、川田 徹、杉町 勝、佐藤哲也, 腹部大動脈瘤の増大は日中の心臓副交感神経活動を減弱させる, 第 37 回日本循環制御医学会総会、東京、2016 年 7 月 8 日~9 日

Shimizu S, Kawada T, Akiyama T, Fukumitsu M, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M, Medetomidine but not guanfacine enhances cardiac parasympathetic acetylcholine release during aortic depressor nerve stimulation, ESC Congress 2016, Roma, Italy, 2016 年 8 月 26 日~31 日  
清水秀二、川田 徹、秋山 剛、福満雅史、穴戸稔聡、杉町 勝, Central  $\alpha_2$ -Adrenergic Receptors, but not  $\alpha_2A$ -Receptor, Play a Key Role in Aortic Depressor Nerve Stimulation-induced Cardiac Parasympathetic Activation, 第 81 回日本循環器学会学術集会、金沢、2017 年 3 月 17~19 日

清水秀二、川田 徹、福満雅史、秋山 剛、穴戸稔聡、杉町 勝, 腎内因性アセチルコリンへの介入は、食塩感受性高血圧ラットの腎組織障害を低減する, 第 38 回日本循環制御医学会・学術集会、大阪、2017 年 6 月 16 日~17 日

Shimizu S, Yamazaki S, Akiyama T, Kawada T, Pearson JT, Shishido T, Sugimachi M, Cardiac microdialysis enables us to monitor myocardial interstitial microRNA levels in an in-vivo beating rat heart during ischemia/reperfusion, ESC congress 2017, Barcelona, Spain, 2017 年 8 月 26 日~30 日

清水秀二、山崎 悟、川田 徹、秋山 剛、羽山陽介、James T Pearson、穴戸稔聡、杉町 勝, 再灌流は、虚血心筋での血管内皮細胞特異的 microRNA 分泌を促す, 第 110 回近畿生理学談話会、神戸、2017 年 11 月 18 日

清水秀二、秋山 剛、川田 徹、羽山陽介、穴戸稔聡、杉町 勝,  $\alpha_2C$ -adrenoceptors play a key role in  $\alpha_2$ -adrenergic agonist-induced cardiac autonomic nervous responses, 第 82 回日本循環器学会学術集会、大阪、2018 年 3 月 23 日~25 日

清水秀二、山崎 悟、川田 徹、秋山 剛、羽山陽介、穴戸稔聡、杉町 勝, Cardiac-specific microRNAs significantly increase after myocardial reperfusion in the ischemic region, 第 82 回日本循環器学会学術集会、大阪、2018 年 3 月 23 日~25 日

川田 徹、清水秀二、羽山陽介、穴戸稔聡、杉町 勝, Detection of vagal component in baroreflex-mediated dynamic heart rate response in anesthetized rats, 第 82 回日本循環器学会学術集会、大阪、2018 年 3 月 23 日~25 日

中西浩之、福家聡一郎、溝渕朝子、津島

龍、田中正道、湯本晃久、齋藤博則、清水秀二、川田 徹、佐藤哲也、Statin enhances cardiac parasympathetic component of heart rate variability in patients with abdominal aortic aneurysm、第 82 回日本循環器学会学術集会、大阪、2018 年 3 月 23 日～25 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

清水 秀二 (SHIMIZU, Shuji)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・研究員  
研究者番号：80443498

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

川田 徹 (KAWADA, Toru)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長  
研究者番号：30243752

秋山 剛 (AKIYAMA, Tsuyoshi)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・客員研究員  
研究者番号：70202554

### (4) 研究協力者

福満 雅史 (FUKUMITSU, Masafumi)