

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19383

研究課題名(和文) 頸動脈小体化学受容器除神経による心不全に対する新規自律神経減負荷治療の開発

研究課題名(英文) Carotid body denervation for the treatment of heart failure

研究代表者

朔 啓太 (Saku, Keita)

九州大学・循環器病未来医療研究センター・助教

研究者番号：40567385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：自律神経の過剰負荷は、心不全増悪の主因である。また、頸動脈小体における末梢化学受容器反射亢進が、高血圧や心不全患者において、交感神経活性化を誘発することが報告されている。当該研究では、頸動脈小体化学受容器除神経による心不全に対する新規自律神経減負荷治療の開発に向けた基盤研究を行った。心不全の主要要因である心筋梗塞後心不全および高血圧性心不全のモデルラットを用い、頸動脈小体化学受容器除神経の効果を評価したところ、いずれにおいても有意な交感神経活動抑制効果、遠隔期心臓リモデリング抑制効果および心不全指標の改善効果を示した。

研究成果の概要(英文)：Carotid body denervation (CBD) has shown to reduce sympathetic nerve activity (SNA) in several cardiovascular animal models. We examined if CBD prevents worsening of cardiac function and heart failure (HF) via sympatho-inhibitory effect in rat models of myocardial infarction (MI) and hypertension (HTN), which are the two major cause of secondary HF. In both MI and HTN, CBD significantly reduced plasma norepinephrine (NE), an index of sympathetic drive. CBD preserved LV ejection fraction and lowered LV end-diastolic pressure. In MI group, CBD reduced the number of inflammatory macrophages in the LV and the plasma concentration of interleukin-1, indicating the anti-inflammatory response. In HTN groups, CBD significantly reduced blood pressure and markedly improved the survival rate with relative risk reduction 64.8%. CBD prevents the worsening of cardiac function and heart failure in rat models of HF. CBD can be the one of neuro-modulatory treatments for secondary HF.

研究分野：循環器内科学

キーワード：自律神経 末梢化学受容器反射 慢性心不全 心筋梗塞 高血圧

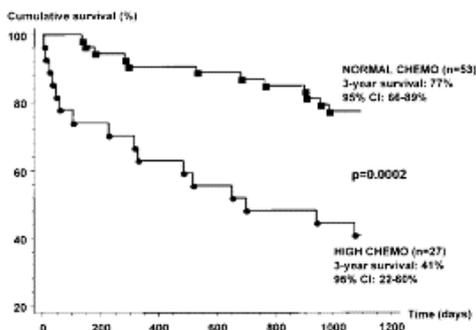
1. 研究開始当初の背景

慢性心不全は人類最大の健康問題であり、米国、ヨーロッパで約 1500 万人、我が国においても 100 万人程度と推計されている。予防医学や先制治療の進歩によりその原因疾患である心筋梗塞や高血圧に対する治療は一定の成果をあげているものの、一度心不全を発症するとその予後は極端に悪い(図 1)。また、高齢化も伴って劇的な心不全患者の増加が予想される現代において、新規治療法の開発は急務である。

自律神経の過剰負荷(交感神経活動上昇および副交感神経活動低下)は不全心筋において、心拍数や酸素消費増加、炎症性サイトカイン増加、一酸化窒素調節異常、不整脈増加などさまざまな機序を介して心不全を増悪させる主要な因子であることは ATRAMI 研究(Revere et al, Lancet, 1998)を始めとした多くの研究で証明されている。これらは、自律神経過剰負荷が心不全の治療標的であり、その減負荷により心不全の改善が期待できることを示唆している。

頸動脈小体に存在する末梢化学受容器は通常生理においては低酸素に反応し、呼吸活動の賦活化を誘導する反射として知られているが、近年、心不全患者におけるその感受性の亢進が明らかになっている。頸動脈小体化学受容器反射の亢進は呼吸活動の過剰応答のみならず、交感神経活動も亢進させることが知られており、心不全患者においては、予後をも悪化させる(図 2)。

図 1: 頸動脈小体感受性と予後の関連



同レベルの心不全患者でも感受性亢進患者(●)は非亢進者(■)と比して予後不良。(Ponikowski et al, Circulation, 2001)

これらの臨床における先行研究は頸動脈小体化学受容器反射の感受性を低下もしくは制御する治療が心不全に有効である可能性を示唆する。また、高血圧分野においては、頸動脈小体化学受容器反射の亢進が交感神経活性化とそれによる血圧上昇の主要な要因であり、その除神経治療は強力な交感神経抑制と血圧低下作用をもつことが報告されている(McBryde et al, Nat Commun, 2013)。心不全においても前述のように自律神経バランス異常や頸動脈小体化学受容器反射の亢進が報告されていることから、その除神経治療が自律神経バランスの改善を介して

有効性を示す可能性は高い。

2. 研究の目的

当該研究では、以下の主要 2 項目を遂行し、頸動脈小体化学受容器除神経による心不全に対する新規自律神経減負荷治療の開発に向けた基盤研究を行うことを目的とした。

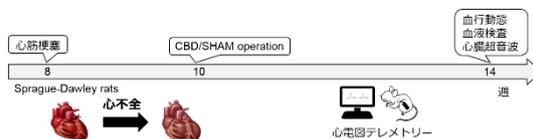
- (1) 頸動脈小体化学受容器除神経による自律神経減負荷の心筋梗塞後心不全モデルラットへの有効性(心機能および心不全パラメータ)を検討する。
- (2) 頸動脈小体化学受容器除神経による自律神経減負荷の高血圧性心不全モデルラットへの有効性(生存率、心機能および心不全パラメータ)を検討する。

3. 研究の方法

- (1) 頸動脈小体化学受容器除神経による自律神経減負荷の心筋梗塞後心不全モデルラットへの有効性

Sprague-Dawley rat (n=20)を使用した。8 週令で冠動脈左前下行枝を結札し、心筋梗塞を作成した。作成後 2 週間で、体重測定および心臓超音波検査を施行。心不全と判定された個体をランダムに頸動脈化学受容器除神経群と非除神経群に割付け、さらに 4 週後に自律神経、心機能および心不全パラメータを測定、比較した(図 2)。

図 2: 実験プロトコール(心筋梗塞ラット)



頸動脈小体化学受容器除神経の手技は高血圧モデルラットに対して行った先行論文(Abdala et al, J Physiol, 2012)に従い、両側頸動脈分岐部から頸動脈小体および周囲組織を剥離した(図 3)。

図 3: 頸動脈小体除神経手技



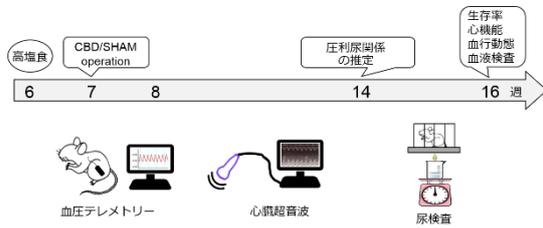
両側の頸動脈分岐部を露出後、頸動脈分岐部周囲に認められる神経組織をピンセットで隔離する。肉眼的な神経の同定のみで十分な末梢化学受容器反射の感度低下が得られる。

- (2) 頸動脈小体化学受容器除神経による自律神経減負荷の心筋梗塞後心不全モデルラットへの有効性

Dahl 食塩感受性ラットを使用した(n=81)。Dahl ラットは高血圧性心不全モデルとして、多くの論文でその有用性が証明されているラットモデルである。6 週令より塩分負荷を行うことで、7-11 週で高度な高血圧を呈し、その

後 16 週までに半数以上が心不全死する。7 週（高血圧期）で頸動脈化学受容器除神経（図 3）を行う群と無治療群で比較検討を行った。（図 4）

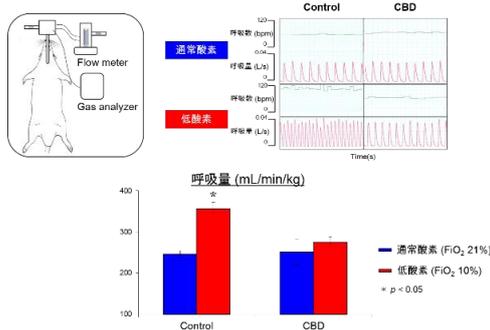
図 4: 実験プロトコル(高血圧心不全ラット)



4. 研究成果

CBD 手技が有意に末梢化学受容器反射の感受性低下を起していることを確認するために、正常ラット(n=5)において、低酸素応答を確認した。自発呼吸が保たれた状態に麻酔(αクレラロース+ウレタン)を施し、低酸素ガス(10% O₂)を吸入させることで認める換気亢進が CBD を行うことで有意に低下していた。心筋梗塞後心不全ラットおよび Dahl ラットでも実験開始時に同様の検証を行い、CBD の確立を確認した(図 5)。

図 5: CBD 手技の確認

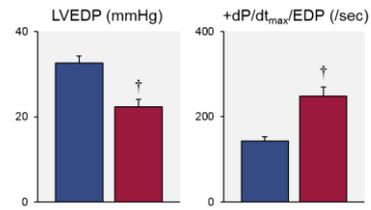


(1) 頸動脈小体化学受容器除神経による自律神経減負荷の心筋梗塞後心不全モデルラットへの有効性

心機能、血行動態(図 6)

心臓超音波検査では、左室拡張末期径に有意な変化はなかったものの、左室収縮末期径は CBD 群で低下しており、結果として、左室駆出率(LVEF, %)は CBD 群で上昇傾向にあった。左房圧上昇や肺うっ血の指標となる左室拡張末期圧(LVEDP, mmHg)は有意に CBD 群で低下しており、心収縮力を示す左室圧最大一次微分値(+dP/dt)を LVEDP で除した指標においては、有意に CBD 群で改善を認めた。これらの結果から CBD を行なうことで有意に血行動態が改善し、心機能も改善することが示唆された。

図 6: 心機能、血行動態

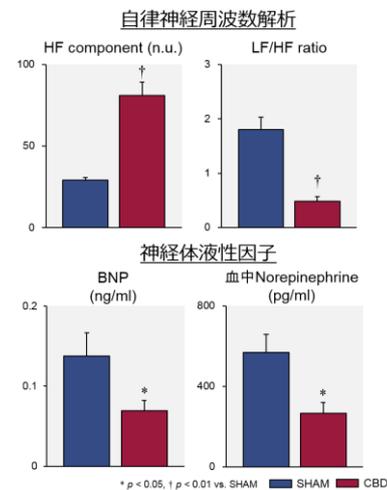


自律神経機能、交感神経、BNP(図 7)

自律神経バランスは心電図テレメトリーデータを周波数解析することによって求めた。副交感神経活動を示す高周波成分(HF)は CBD で有意に上昇し、自律神経バランスを示す低周波成分/高周波成分比(LF/HF)は CBD 群で有意に低下した。また、交感神経活動を示す血中ノルエピネフリン値は CBD 群で有意に低下していた。これらの結果は、CBD がもたらす交感神経抑制効果によって、交感神経過剰状態にあった心不全ラットの自律神経バランスが改善したことを示していた。

また、心不全の増悪指標である血中 BNP(脳性ナトリウム利尿ペプチド)を測定したところ CBD 群で有意に低下していた。このことから、心筋梗塞後心不全ラットにおいて CBD を行なうことで心不全が改善することが多面的、他覚的所見によっても示すことができた。

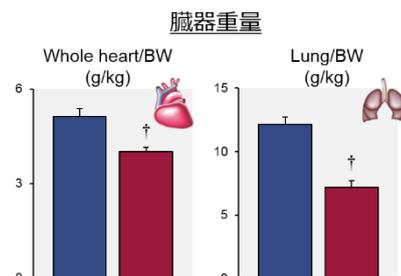
図 7: 自律神経機能、交感神経、BNP



臓器重量(図 8)

臓器重量は主観が入りにくい検査指標である。心臓リモデリングを示す心重量は CBD 群で有意に低下を認め、肺うっ血の指標となる肺重量も CBD 群で低下していた。

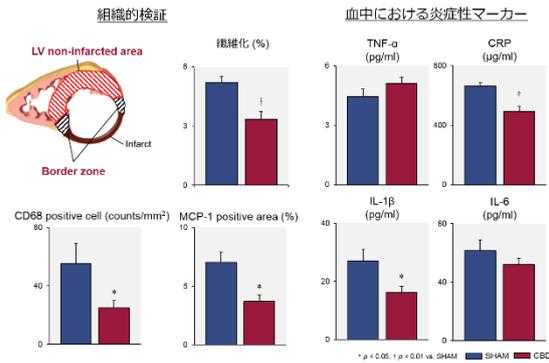
図 8: 臓器重量



● 抗炎症効果 (図 9)

今回の検証において、もっとも新しい知見は、CBD による抗炎症効果であった。これまでの報告で、交感神経抑制治療が高血圧や心不全における炎症を抑制することが知られていたが、CBD においても交感神経抑制や自律神経バランス異常を介して抗炎症効果を発揮していた。具体的には、心室における単球マーカーである CD68 は CBD によって有意に低下しており、その遊走因子の MCP-1 も低下していた。また、血中における炎症性サイトカインはバラつきがあるものの、特に組織障害性が強いと報告されている IL-1β を有意に低下していた。これらの結果から、CBD は心不全において、交感神経の過負荷を減弱させることによって、一部は抗炎症効果を介して、遠隔期の心臓リモデリングや肺うっ血を改善させる治療法であることが示唆されるとともに、心不全において、末梢化学受容器を介した交感神経活性化が病態増悪に大きく関わっていることが示唆された。

図 9: CBD による抗炎症効果

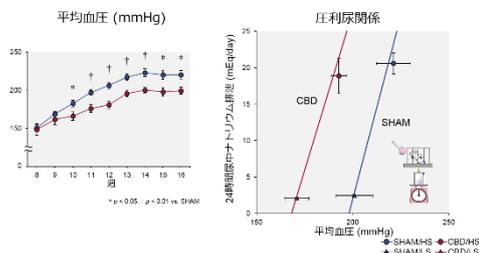


(2) 頸動脈小体化学受容器除神経による自律神経減負荷の高血圧性心不全モデルラットへの有効性

● 血圧および圧利尿関係 (図 10)

Dahl ラットは著明な高血圧に引き続き心不全を発症するモデルである。無治療群では、12-13 週令まで血圧の上昇が続き、その後一定化する。CBD 群は施行 2 週後より有意な血圧抑制を認めた。また、血圧は循環生理学的観点からは最終的に圧利尿関係で決定される。CBD は 14 週令における圧利尿関係を平行に左へシフトさせることで血圧低下作用を示すことが明らかとなった。

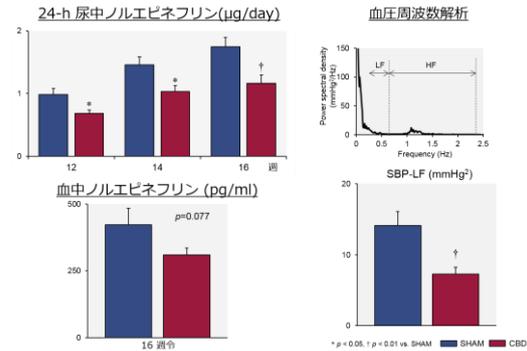
図 10: 血圧および圧ナトリウム利尿関係



● 交感神経抑制効果 (図 11)

本検証においては、多面的な交感神経指標を用いて、交感神経抑制効果を証明した。結果、24 時間蓄尿による尿中ノルエピネフリン値と血圧波形を周波数解析した上で交感神経活動を反映する低周波領域積分値 (SBP-LF) は有意に低下を認め、血中のノルエピネフリン値も低下傾向にあった。これらの結果は、CBD が同モデルにおいて、交感神経抑制効果を発揮していることを示していた。

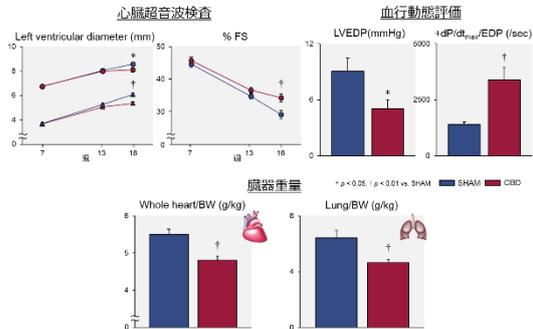
図 11: 交感神経抑制効果



● 心機能への影響 (図 12)

CBD 群は心臓超音波検査による心収縮率 (%FS) の低下を抑制し、LVEDP の低下、心収縮力を示す左室圧最大一次微分値 (+dP/dt) を LVEDP で除した指標の上昇を認めた。また、臓器重量も心筋梗塞後心不全ラットと同様に低下を認めた。これらの結果は CBD が心臓リモデリングの改善や心機能保持効果をもたらすことを示していた。

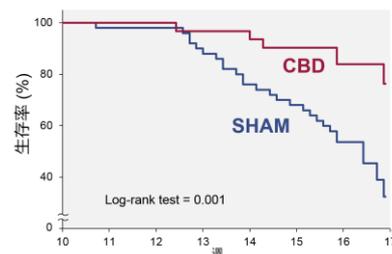
図 12: 心機能



● 生存率 (図 13)

Dahl ラットにおける生存率の改善は、CBD の治療効果を示す上で非常に重要なエビデンスとなる。CBD は有意に Dahl ラットの生存率を改善し、その相対的リスク回避率は 65%であった。

図 13: 生存率



以上の結果から、頸動脈小体化学受容器除神経は、高血圧や心不全などの交感神経活性化が病態生理に大きく関わる循環器疾患において、有効な新規自律神経減負荷治療になりうると結論づけた。一方で、除神経手技は侵襲的であり、生体本来の機能（酸素を介した呼吸調節）を失活させることで効果を発揮することから、臨床への応用は慎重かつさらなる検討が必要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件、すべて査読有り)

1. Fujii K, Saku K, Kishi T, Oga Y, Tohyama T, Nishikawa T, Sakamoto T, Ikeda M, Ide T, Tsutsui H, Sunagawa K. Carotid Body Denervation Markedly Improves Survival in Rats With Hypertensive Heart Failure. *Am J Hypertens*. 2017; In press. doi: 10.1093/ajh/hpx062.
2. Arimura T, Saku K, Kakino T, Nishikawa T, Tohyama T, Sakamoto T, Sakamoto K, Kishi T, Ide T, Sunagawa K. Intravenous electrical vagal nerve stimulation prior to coronary reperfusion in a canine ischemia-reperfusion model markedly reduces infarct size and prevents subsequent heart failure. *Int J Cardiol*. 2017; 227:704-710. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.10.074.
3. Kakino T, Saku K, Sakamoto T, Sakamoto K, Akashi T, Ikeda M, Ide T, Kishi T, Tsutsui H, Sunagawa K. Prediction of hemodynamics under left ventricular assist device. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017; 312(1):H80-H88. doi: 10.1152/ajpheart.00617.2016.
4. Saku K, Kakino T, Arimura T, Sakamoto T, Nishikawa T, Sakamoto K, Ikeda M, Kishi T, Ide T, Sunagawa K. Total Mechanical Unloading Minimizes Metabolic Demand of Left Ventricle and Dramatically Reduces Infarct Size in Myocardial Infarction. *PLoS One*. 2016; 11(4):e0152911. doi: 10.1371/journal.pone.0152911.
5. Nishizaki A, Sakamoto K, Saku K, Hosokawa K, Sakamoto T, Oga Y, Akashi T, Murayama Y, Kishi T, Ide T, Sunagawa K. Optimal Titration Is Important to Maximize the Beneficial Effects of Vagal Nerve Stimulation in Chronic Heart Failure. *J Card Fail*.

2016; 22(8):631-8. doi: 10.1016/j.cardfail.2016.04.021.

6. Sakamoto K, Hosokawa K, Saku K, Sakamoto T, Tobushi T, Oga Y, Kishi T, Ide T, Sunagawa K. Baroreflex failure increases the risk of pulmonary edema in conscious rats with normal left ventricular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016; 310(2):H199-205. doi: 10.1152/ajpheart.00610.2015.
7. Sakamoto K, Saku K, Kishi T, Kakino T, Tanaka A, Sakamoto T, Ide T, Sunagawa K. Prediction of the impact of venoarterial extracorporeal membrane oxygenation on hemodynamics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015; 308(8):H921-30. doi: 10.1152/ajpheart.00603.2014.
8. Ikeda M, Ide T, Fujino T, Matsuo Y, Arai S, Saku K, Kakino T, Oga Y, Nishizaki A, Sunagawa K. The Akt-mTOR axis is a pivotal regulator of eccentric hypertrophy during volume overload. *Sci Rep*. 2015; 5:15881. doi: 10.1038/srep15881.

[学会発表] (計 5 件)

1. Shinoda M, Saku K, Oga Y, Tohyama T, Nishikawa T, Abe K, Takehara T, Kishi T, Tsutsui H, Sunagawa K. Autonomic Dysfunction Parallels the Progression of Pulmonary Arterial Hypertension in Monocrotaline Rats. Scientific Sessions 2016 of the American Heart Association. Nov. 13, 2016. U.S.A.
2. Fujii K, Saku K, Oga Y, Nishizaki A, Takehara T, Akashi T, Kishi T, Sunagawa K. Carotid body denervation prevents the worsening of cardiac function and heart failure in rat models of hypertension and myocardial infarction. 25th Annual American Autonomic Society. Oct. 3, 2016. U.S.A.
3. Fujii K, Saku K, Oga Y, Nishizaki A, Akashi T, Takehara T, Kishi T, Sunagawa K. Carotid Body Removal markedly Improves Survival via Sympathoinhibition, Depressor Response and Leftward Shifting of the Pressure-Natriuresis Curve in Dahl Salt-Sensitive Rats. *Experimental Biology* 2016, Apr. 3 2016. U.S.A.
4. Saku K, Nishizaki A, Arimura T,

Sunagawa K. Vagal nerve stimulation for prevention and treatment of heart failure. *Experimental Biology* 2016, Apr. 3-2016. U.S.A.

5. Fujii K, Saku K, Kishi T, Nishizaki A, Oga Y, Arimura T, Sunagawa K. Carotid Body Denervation Improves Survival via Sympatho-inhibition in Hypertensive Heart Failure. 第80回日本循環器学会学術集会、2016年3月19日、宮城県仙台市

[図書](計0件)

なし

[産業財産権]

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朔 啓太 (SAKU, Keita)
九州大学・循環器病未来医療研究センター
助教
研究者番号：40567385

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

藤井 香菜 (FUJII, Kana)
大賀 泰寛 (OGA, Yasuhiro)
篠田 雅子 (SHINODA, Masako)