

令和元年5月31日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09506

研究課題名(和文)脳心連関に着目した慢性心不全治療戦略の構築-交感神経とPDE3への治療介入-

研究課題名(英文)Establishment of therapeutic approach to chronic heart failure focusing on brain-heart interaction

研究代表者

及川 雅啓(Oikawa, Masayoshi)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30457775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ラット心筋梗塞モデルを作成し、心筋梗塞2週間後の星状神経節および脊髄中間外側核の神経リモデリング現象を観察した。星状神経節における交感神経細胞の肥大、脊髄中間外側核からの軸索増生、交換神経細胞肥大を確認した。心筋梗塞1週間後の脊髄中間外側核ではBDNFおよびTrkBの発現が亢進していることを確認した。NGFおよびTrkAは、mRNAの変化が認められず、神経リモデリング現象はBDNF特異的な現象と推測された。TrkBシグナルの下流であるERKのリン酸化が脊髄中間外側核神経細胞で亢進していることから、神経細胞肥大にBDNF-TrkB-ERK系が関与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交感神経リモデリング現象、特に中枢神経系における心不全と交感神経リモデリングについての検討はこれまで行われていなかった。本研究は心不全状態が星状神経節の上流である脊髄中間外側核においても神経リモデリングを呈していることを示した。本所見は、心不全状態における中枢系交感神経過剰活性の組織学的新知見であり、今後増加が予想されている慢性心不全病態における中枢神経の関与を解明する基礎データとなる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to examine whether MI induces neuronal remodeling of intermediolateral nucleus (IML). Myocardial infarction (MI) was induced in a rat model. Neuronal remodeling in the IML and stellate ganglia (SG) was assessed by immunohistochemistry 2 weeks after MI. Results: The neuronal size in SG were enlarged after MI compared to sham. The choline acetyltransferase-immunoreactive neuronal size and axonal density in IML were increased after MI compared to sham. mRNA expression of brain-derived neural factor (BDNF) and TrkB in the spinal cord was increased after MI, suggesting that BDNF-TrkB axis plays pivotal roles in the neural remodeling in IML. The increased ratio of phospho-ERK/total ERK at the corresponding level of spinal cord in MI group assessed by Western blotting. These data suggest that increased expressions of the BDNF-TrkB axis in IML lead to ERK activation with resultant neuronal hypertrophy of IML and sprouting into SG after MI.

研究分野：循環器内科学

キーワード：交感神経 慢性心不全 星状神経節 脊髄中間外側核

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

慢性心不全病態では、交感神経活性や、アンジオテンシン II に代表される体液性因子がその予後に影響を与えている。慢性心不全病態で増加したアンジオテンシン II は脳内受容体を介して交感神経活性を亢進させることで、慢性心不全を更に悪化させる機序が解明され、脳心連関として注目されている。Phosphodiesterase 3 (PDE3)は、交感神経刺激により生じた cAMP を分解し、受容体を介した交感神経シグナルを抑制している。PDE3 阻害薬は、cAMP 分解を抑制することにより強心作用を発揮し、急性心不全治療に広く用いられているが、慢性期における長期使用は、突然死を増加させるため行われていない(Amsallem E, et al. Cochrane Database Syst Rev 2005, 25:CD002230)。その原因として、PDE3 阻害薬の強心作用が、脳心連関が形成された慢性心不全状態では、過剰刺激となってしまう可能性がある。近年、レンチウイルスより神経細胞特異的高頻度逆行性遺伝子導入ベクター(NeuRet ベクター)が開発され、Green fluorescent protein(GFP)や Interleukin-2(IL-2) 受容体を始めとする各種タンパク質を神経細胞体に発現する技術が確立された。この技術により、NeuRet ベクターを心筋に接種することで、心臓に分布している交感神経終末から逆行性に遺伝子導入を行い、神経細胞体が存在する神経節に目的タンパクを発現させ、心臓支配交感神経への介入が行える可能性が開けた。NeuRet ベクターによる交感神経への介入により、脳心連関のメカニズムと PDE3 阻害薬が脳心連関、慢性心不全病態に与える影響を明らかにすることができると考えられた。

#### 2. 研究の目的

1. ラット心不全モデルを作成し、脳心連関の基礎データを得るために、交感神経リモデリング現象の観察、その機序について解明する。
2. NeuRet ベクターを心筋に接種し、星状神経節、およびその上流にある脊髄中間外側核に存在する交感神経に GFP や IL2 受容体を発現させ、NeuRet ベクターによる交感神経介入の基礎モデルを作成する。
3. 心不全モデルを作成し、NeuRet ベクターを用いて心臓特異的交感神経除神経モデルを作成し、脳心連関と心不全病態の関連を明らかとする。
4. 上記の慢性心不全モデルに PDE3 阻害薬の投与を行うことで、PDE3 が脳心連関に与える影響を明らかとし、慢性心不全病態における PDE3 阻害薬の有効性について検討を行う。

#### 3. 研究の方法

ラット心筋梗塞心不全モデルを作成し、交感神経リモデリングがどのような機序で生じるか、どの神経節まで及んでいるか明らかとする。

GFP もしくは IL2 受容体をコードした NeuRet ベクターを心筋組織に接種し、心筋組織、星状神経節での GFP, IL2 受容体発現を免疫染色にて確認し、イムノトキシン投与により交感神経除神経を試みる。

交感神経除神経心不全モデルに対して PDE3 阻害薬を投与し、慢性心不全病態の改善が得られるか検討する。

#### 4. 研究成果

心不全状態における交感神経系の変化を見るためにラット心筋梗塞モデルを作成した。心筋梗塞 2 週間後の星状神経節および脊髄中間外側核の免疫組織染色により、星状神経節でのチロシン水酸化酵素陽性細胞体肥大(図 1A, B)、脊髄中間外側核でのコリンアセチルト

ランスフェラーゼ陽性細胞体肥大を認め(図 1C, D)、心不全状態での神経リモデリング現象が存在することが確認された。心筋梗塞 1 週間後の時点で、脊髓中間外側核では神経栄養因子である BDNF とその受容体である TrkB の発現が亢進していることを免疫組織染色、ウエスタンブロットティング法、リアルタイム PCR 法(図 2A, B)にて確認した。他の神経栄養因子である NGF とその受容体である TrkA については、脊髓における mRNA の有意な変化を認めなかった(図 2C, D)。そのため、脊髓における神経リモデリング現象は BDNF 特異的な現象と推測された。また、TrkB シグナルの下流である ERK のリン酸化が心筋梗塞後の脊髓中間外側核神経細胞で亢進していることを確認した。ERK は心筋細胞などの肥大を進行させるタンパクであり、神経細胞肥大にも関与していると考えられた。これらの結果から、心筋梗塞モデルにおいて、星状神経節のみならず、その上流である脊髓中間外側核における交感神経細胞においても神経リモデリング現象が生じていることが確認され、その機序に BDNF-TrkB-ERK 系の関与が強く示唆された。

図 1

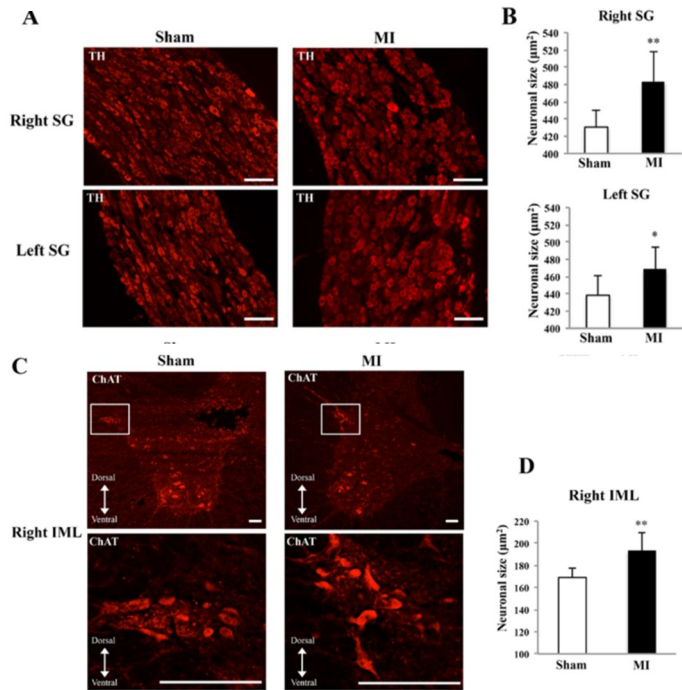
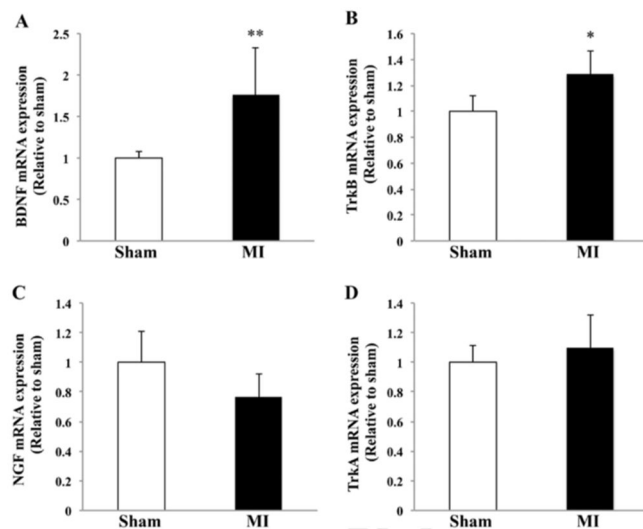


図 2



次に交感神経介入を可能にするため、GFP-NeuRet ベクターの心筋接種を行なったが、星状神経節での GFP 確認は困難であった。星状神経節に接種した際の脊髓中間外側核における GFP 発現は確認することができたものの、本ベクターを使用した脳心連関への介入は行うことができず、当初の最終目的である PDE3 阻害薬を介した脳心連関への治療的アプローチを試みることはできなかった。

Sympathetic nervous remodeling is induced in the intermediolateral nucleus after myocardial infarction - Role of BDNF-TrkB axis. Neuroscience Letter. 2018;685:114-123.

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

2018 年 1st JCS Council Forum on Basic CardioVascular Research

2018 年 国際心臓研究会日本部会

2018 年 ヨーロッパ心臓病学会

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 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)：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。