

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006-2008

課題番号：18590635

研究課題名（和文） 飲酒パターンと心臓性突然死との関連の解明

研究課題名（英文） The Relationship between Alcohol Consumption Pattern and Cardiac Sudden Death

研究代表者

劉 金耀（LIU JINYAO）

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：60379956

研究成果の概要：

アルコール依存症ラットを用いて、飲酒パターンは心臓性突然死との関連を検討した。その結果、急性離脱パターンでは、心機能の低下、自律神経機能の失調、致死的心室性不整脈の発症および心室再分極均質性を反映する QTd の増大がみられた。これらの異常が断酒あるいは β 遮断薬前投与により、是正された。アルコール関連死は、自律神経機能の失調と心室再分極の均質性障害を介する致死的不整脈の発症と関連することが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,900,000	0	1,900,000
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：アルコール；飲酒パターン；心機能；致死的不整脈；自律神経機能；心室再分極；心エコー；心電図

1. 研究開始当初の背景

飲酒に伴う諸問題は社会医学的にも法医学実務においても重要な課題である。1995 年、厚生省の突然死研究班報告で久里浜病院と都監察医務院の共同研究により東京都 23 区の 24 時間内の突然死 7,376 人を調査した結果、男性で 45-59 歳の中年が約 6 割を占め、そのうち 34%が大酒家で死亡前に 5 合以上飲んだ

人であることが報告された。大酒家の突然死では、解剖しても、直接的な所見がなく、死因を特定出来ないことが多い。これらの症例では飲酒と致死的不整脈の発症との関連性は否定できない。

2. 研究の目的

(1) 厳密にコントロールされた条件で、対

照群、慢性少量アルコール投与群、慢性大量アルコール投与群、離脱群、β 遮断薬前投与+離脱および断酒の6つの飲酒パターンのラット実験モデルを作成する。

(2) 各飲酒パターンラットにおける心機能を検討する。

(3) 各飲酒パターンラットにおける全身および心臓自律神経機能を調べる。

(4) 各飲酒パターンラットにおける不整脈の自然発症率および交感神経刺激による誘発率を検討する。

(5) 各飲酒パターンラットにおける心室心筋再分極の均質性を調べる。

3. 研究の方法

(1) **動物**：7週令のWistar系雄ラットを用い、Lieber and DeCarliの液体飼料を利用し、pair-feedingを行った。アルコール食とコントロール食で7-10週間ほど飼育し、下記のモデルを作成した(図1)。

①コントロール群：7週間(Control-1)と10週間(Control-2)コントロール液体食を投与した。

②慢性少量アルコール投与群(3%-EtOH)：3%アルコール液体食を7週間投与した。

③慢性大量アルコール投与群(5%-EtOH)：3%アルコール液体食4日、4%アルコール液体食3日および5%アルコール液体食6週間を投与した。

④離脱群(Withdrawal)：慢性大量アルコール投与群と同様に飼育したが、終了した24時間前から5%アルコール液体食の代わりにコントロール液体食を12時間以上投与した。

⑤Carvedilol群(Carvedilol)：離脱群と同様に飼育したが、終了した1週間前に腹腔内に浸透圧ポンプを埋め込んでCarvedilol(10mg/kg/day)を1週間前投与した。

⑥断酒群(Recovery)：慢性大量アルコール

投与群と同様に飼育したが、終了後に、コントロール液体食3週間を投与した。

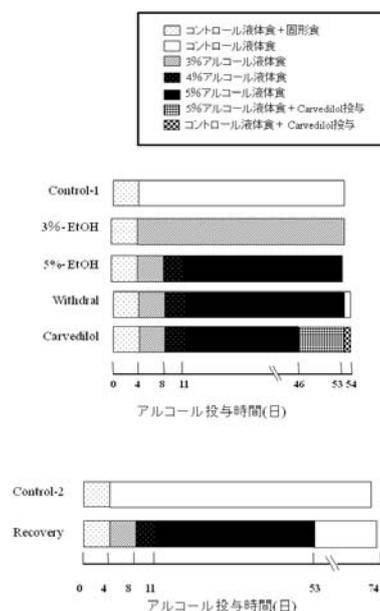


図1：アルコール慢性投与と飲酒パターン

(2) **心機能**：イソフルラン麻酔下、ラットの心エコーを行い、各飲酒パターンの左心機能(短軸縮小率, LVFS*)の変化を検討した(図2)。

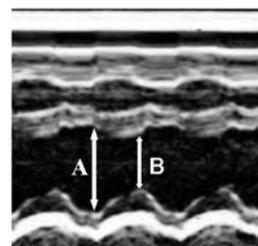


図2：ラット心エコー図

A:左心室拡張末期内径(LVDd)；

B: 左心室収縮末期内径(LVDs)。

*LVFS = (LVDd-LVDs)/LVDd*100%

(3) **アルコール薬物動態学の検討**：(1)の①、②、③ラットを用いて、イソフルラン麻酔下、頸静脈にカニューレを挿入し、ラット専用ジャケットを通して後頭部から出る状態となり、翌日にラット自由行動できる状態にして、急性アルコール経静脈投与、経時

的に採血・血中アルコール濃度を測定し、飲酒パターンと薬物動態学との関連を検討した。血中アルコールの濃度の測定はガスクロマトグラフを使用し、気化平衡法による測定した。

(4) 自律神経機能の評価：

①全身の交感神経活性化：(1)の①、③、④、⑥ラットを用いて、頸静脈カニューレより採血し、ノルアドレナリンの代謝産物である MHPG を測定、全身交感神経活性化を検討する。

②心臓自律神経機能：心拍変動 (HRV) を用いて、心臓自律神経機能を評価した。

③電気泳動：左心室心筋組織の Acetylcholine(ACh:迷走神経機能の指標)と Tyrosine Hydroxylase (TH:交感神経亢進の指標)の蛋白質発現量を調べた。

(5) 致死的不整脈の評価：イソフルラン麻酔下、無線心電図送信機を腹腔内に埋め込んで、24時間心電図を記録して、各飲酒パターンの致死的不整脈の自然発症率を検討した。

(6) 不整脈の誘発試験：(1)の①、③、④、⑥ラットを用いて、イソフルラン麻酔下、無線心電図送信機を腹腔内に埋め込んでいた後に、頸動静脈にカニューレをそれぞれに挿入し、ラット専用ジャケットを通して後頭部から出る状態となり、3時間回復後に Epinephrine を点滴し頸動脈圧および心電図をモニターしながら不整脈の誘発試験を行った。心電図と血圧のモニターは ADI 社製データ収録・解析システム (PowerLab2/25) で行う。

(7) 心室心筋再分極の均質性の評価：心電図の QT 間隔を解析し、心筋再分極活動を調べた。また、心筋再分極活動のばらつきを反映する QT dispersion (QTp; $QTp = (SD \text{ of QT interval}) / (\text{mean of QT interval}) * 100\%$) を求めた。

4. 研究成果

(1) 飲酒パターンと心機能

①アルコール薬物動態学と心機能障害との関連：慢性小・大量アルコール7週間持続投与ラットを用いて、急性アルコール投与際の体内アルコール薬物動態学を調べた結果としては、少量アルコール慢性投与ラットでは、心機能が保たれたが、大量アルコール7週間投与ラットでは、血中アルコール消失速度の低下とともに左心機能が低下した。アルコール消費量によるアルコール体内薬物動態学の変動が心機能障害と関連することが示唆された (図3-4、発表論文(3))。

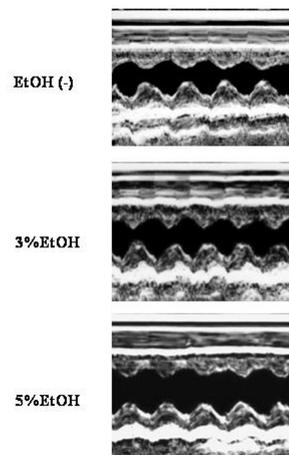


図3 アルコール消費量と心機能

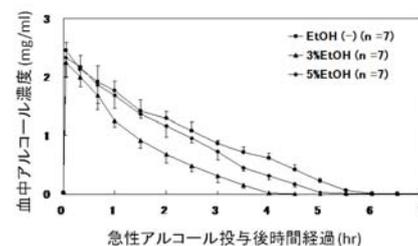


図4 飲酒パターンと薬物動態学

②飲酒パターンと左心機能障害：左心室心機能は7週間慢性大量アルコール(5%)および急性離脱により低下したが、7週間少量(3%)アルコール投与ラットの心機能が保

たれた。また、左心機能の低下が断酒 3 週間後あるいは β 遮断薬前投与により、是正された (図 3, 5-6 ; 論文 1, 3)。

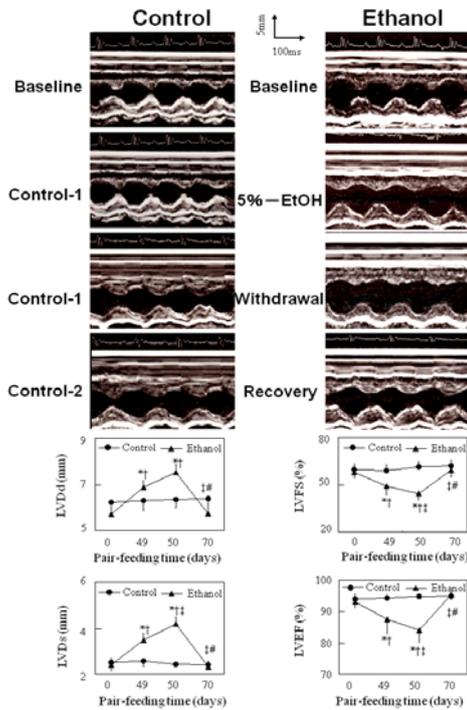


図 5 飲酒パターンと左心機能
LVDd: 左心室拡張末期内径; LVDs: 左心室収縮期末期内径; LVFS: 左心室短軸縮小率; LVEF: 左心室駆出率。

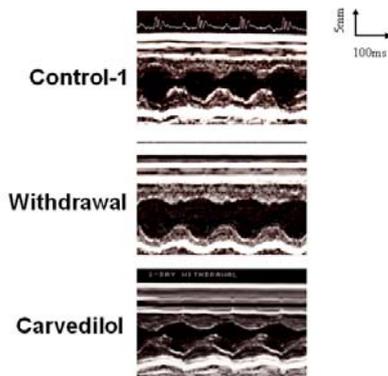


図 6 Carvedilol 前投与と左心機能

(2) 飲酒パターンと自律神経機能:

①全身交感神経の活性化: 交感神経活性化を示す血中ノルアドレナリン代謝産物である MHPG 濃度は、Withdrawal 群では著明な高

値を示し、全身の交感神経活性化を認めた。その上昇は断酒 21 日目にコントロールレベルへ回復できました (図 7, 論文 1-2)。

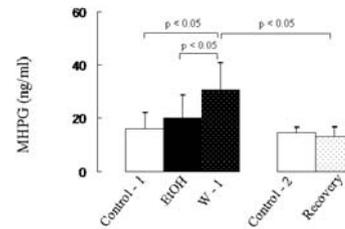


図 7 全身交感神経の活性化

②心臓自律神経機能: 心拍変動 (HRV) 解析を用いて、各飲酒パターンの自律神経バランスを調べた。迷走神経機能を反映する HF は持続飲酒では高値を呈していたが、自律神経バランスを反映する LH/HF はコントロール同レベルであった。急性離脱の場合に HF の低下および LH/HF の増大を認め、自律神経バランスの崩れがみられた。(図 8C, 論文 1-2)。

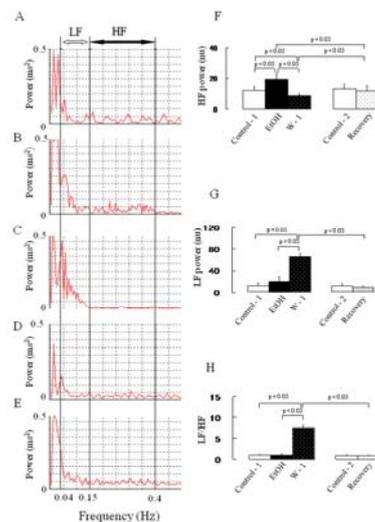


図 8 飲酒パターンと心臓自律神経機能

A-E: Control-1、5%-EtOH、Withdrawal、Control-2 と Recovery 群の心拍変動の実例を示している; F: 各飲酒パターンでは迷走神経を反映する HF の変動; G: 各飲酒パターンでは交感神経亢進を反映する LF の変動; H: 各飲酒パターンでは自律神経バランスを反映する LF/HF の変動

③左心室心筋自律神経機能バランス：電気泳動を用いて、急性離脱際に、左心室心筋のTH（交感神経亢進の指標）の発現量増加およびACh（迷走神経機能の指標）の発現量低下の心筋自律神経機能バランスの崩れを認めた（図9、論文1）。

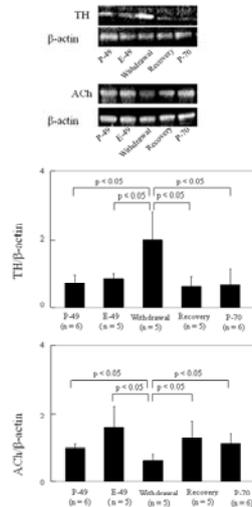


図9 左心室心筋自律神経機能バランス

(3) 飲酒パターンと致死的不整脈：

①各飲酒パターンにおける致死的不整脈（心室頻拍（VT）・心室細動（VF））の自然発症率：アルコール急性離脱（Withdrawal）およびβ遮断薬前投与（Carvedilol）群では、27%（6/22）と6%（1/16）であったが、コントロールおよび断酒群では致死的不整脈の発症を認めなかった。（図9、論文2）

②交感神経刺激薬であるEpinephrineによる致死的不整脈誘発試験：急性離脱群では、致死的不整脈が誘発しやすい（77%（10/13））ことを示した（表1、図10、論文2）

(4) 飲酒パターンと心筋再分極の均質性：心電図上に、心室心筋再分極の均質性を反映するQT dispersion（QTd）の増大が急性離脱ラットで認めた（図11）。

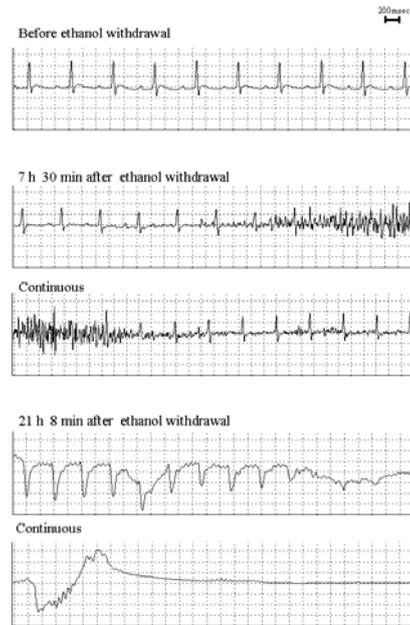


図9 急性離脱による致死的不整脈の発生

表1 Epinephrine 不整脈誘発試験結果

	VT (%)	Death (%)
Control-1 (n = 18)	3(17%)	0
596-EtOH (n = 15)	3(20%)	0
Withdrawal (n = 13)	10(77%)	4(31)
Control-2 (n = 6)	1(17%)	0
Recovery (n = 13)	1(8%)	0

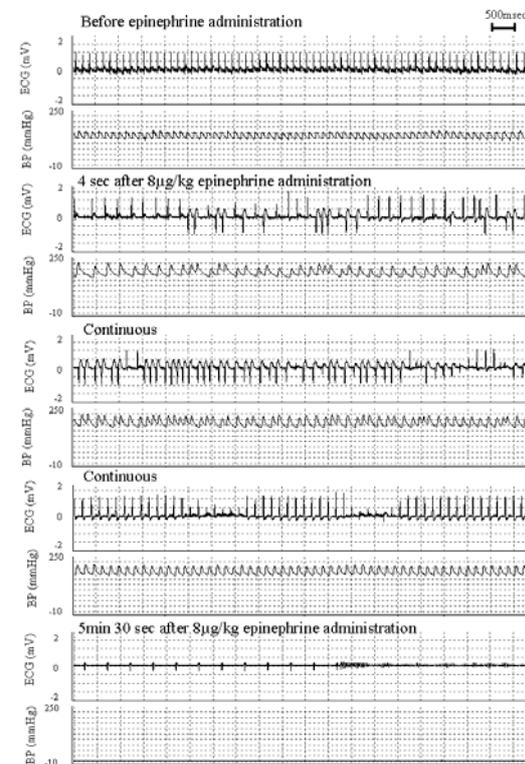


図10 Epinephrine 投与による誘発されたVTおよびVF

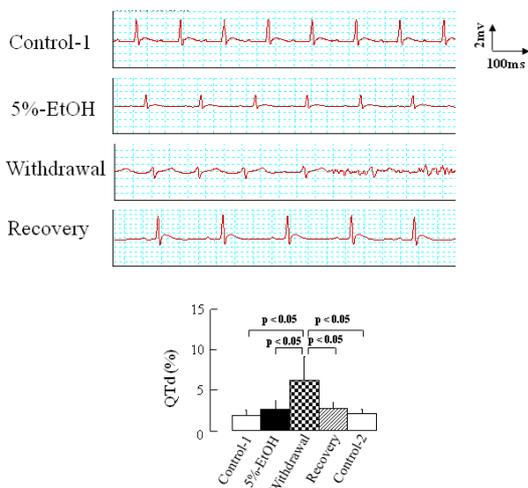


図 11 飲酒パターンと心筋再分極の均質性

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 5 件)

- (1) Liu J, Shirafuji S, and Fujimiya T. Rats in Acute Withdrawal from Ethanol Exhibit Left Ventricular Systolic Dysfunction and Cardiac Sympathovagal Balance Shift. *Alcohol* 43:207-216, 2009, 査読あり。
- (2) Liu J and Fujimiya T. Abrupt Termination of an Ethanol Regimen Provokes Ventricular Arrhythmia and Enhances Susceptibility to the Arrhythmogenic Effects of Epinephrine in Rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 33 : s1-s9, 2008, 査読あり。
- (3) Liu J, Yano M, Shimamoto A, Noma T, Matuszaki M, Fujimiya T. Chronic Effects of Ethanol on Pharmacokinetics and Left Ventricular Systolic Function in Rats, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(3), 493-499, 2007, 査読あり。

[学会発表] (計 9 件)

- (1) Liu J, Shirafuji S and Fujimiya T. Imbalance of cardiac autonomic tone and left ventricular systolic dysfunction in chronically ethanol-administrated rats. 7th International Symposium on Advances in

Legal Medicine, 62, Supplement, 65-66, 2008 年 9 月 5 日

- (2) Liu J, Fujimiya T. Abrupt termination of an ethanol regimen enhances the arrhythmogenic effects of epinephrine in adult male rats. ESC Congress, 326-326, 2007 年 9 月 4 日
- (3) Liu J, Shimamoto A, Kozawa S, Fujimiya T. Left ventricular dysfunction during the early stage of ethanol withdrawal in rats with chronic ethanol consumption. Sixth International Symposium on Advances in Legal Medicine (ISALM). Hamburg . 278-278, 2006 年 9 月 21 日
- (4) 劉 金耀, 嶋本晶子, 小澤周二, 藤宮龍也. 急性アルコール投与における交感神経活動の亢進と左心機能障害. 第 41 回アルコール・薬物医学会総会、京都、(シンポジウム) 2006 年 7 月 27 日
- (5) 劉 金耀, 藤宮龍也. 慢性アルコール投与ラットにおける自律神経と左心機能との関連. 第 42 回アルコール・薬物医学会総会、大津 (シンポジウム)、2007 年 9 月 28 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]

6. 研究組織

(1)研究代表者

劉 金耀 (LIU JINYAO)

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：60379956

(2)研究分担者

藤宮 龍也 (FUJIMIYA TATUSYA)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50219044

(3)連携研究者 なし