

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08091

研究課題名(和文) 虚血性心不全モデルにおける飲水行動制御と薬理的迷走神経刺激の併用治療効果の検討

研究課題名(英文) Combination of drinking behavior modulation with pharmacological vagal activation for treatment of chronic heart failure

研究代表者

鄭 燦 (Zheng, Can)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員

研究者番号：50443495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：高齢化社会の進む先進国に直面する重要な問題の一つは、生活習慣病や加齢に伴って発症・進行する慢性心不全である。内科的薬物療法の進歩、補助循環装置を含めた外科的治療法の発達にもかかわらず心不全患者の予後は不良であり、心不全患者の塩分・水分管理の不徹底が再入院率の主な原因の一つである。現状では毎日の水摂取量制限を勧められるのですが、その根拠となるエビデンスが示されていない。本研究では、自動計測と制御原理で飲水行動計測と制御できる装置を開発し、心筋梗塞ラット心不全モデルで、心筋梗塞・慢性心不全の新しい治療戦略として、飲水制限と薬理的迷走神経刺激を併用する治療効果を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全患者の塩分・水分管理の不徹底が再入院率の主な原因の一つである。現状では毎日の水摂取量制限を勧められるのですが、その根拠となるエビデンスが示されていない。小まめに飲水パターンは、循環系に与える影響が少ないために、生体内環境の恒常性維持有利の可能性があると考えられる。ドネペジルを慢性心不全の治療効果の機序は中枢経路で体内水バランスの調整にも役割することを示した。これらの成果は実験動物で初めての報告ですので、心不全の水代謝の病態生理またドネペジルの作用機序に関する知識を深めるに役立つことと今後臨床応用研究への展開するために重要な実験的根拠になると考える。

研究成果の概要(英文)：One of the fundamental problems facing developed countries with an aging society is lifestyle-related diseases and chronic heart failure that develops and progresses with aging. Despite advances in medical medication and the development of surgical treatments, including assisted circulatory devices, the prognosis for patients with heart failure is poor. Inadequate management of salt and water in patients with heart failure is one of the leading causes of readmission rates. Currently, it is recommended to limit daily water intake, but there is no evidence to support it. This study developed an automatic measure and control device that can control drinking behavior. We have verified whether the combination of fluid restriction and pharmaceutical vagal activation by donepezil, a cholinesterase inhibitor, is beneficial for chronic heart failure in a rat model.

研究分野：循環生理学

キーワード：心不全 飲水制限 迷走神経刺激 ドネペジル 薬物治療 水分制限 飲水行動制御

1. 研究開始当初の背景

近年、我が国においては生活習慣が欧米化し、急速に高齢化社会を迎えている。循環器疾患の発症は増加の一途をたどり、とりわけ、あらゆる循環器疾患の最終像である慢性心不全は高い発生率、低い生存率の難治性疾患である。慢性心不全患者では心不全増悪による再入院率が高く、一疾患にかかる医療費としては国全体のトップである。日常の健康管理が慢性心不全患者の再入院予防においてきわめて重要であるが、心不全患者の水分摂取制限による治療効果については実験的・臨床的な根拠が乏しく、日欧米のガイドラインでも毎日1~1.5Lと総量を勧めるだけであり、水分摂取パターンや病気の程度による制限量については詳細な指導内容が含まれていない。最近、幾つか小規模の臨床調査では、心不全患者の塩分と水分制限の効果について賛否が決着されてない。現実には、治療倫理や患者の個体差等の避けられない制約のために、患者を対象に水代謝の病態を調べたり、水分制限による治療効果を検証したりすることは非常に難しい。この現状から、私達は、心不全ラットにおける水代謝病態解明及び飲水行動制御による治療効果の研究を行いました。その結果、心不全ラットの毎日総飲水量は正常ラットと有意差がないが、飲水パターンが病態進行に伴い大きく変わり、飲水回数が減少すると同時に一回飲水量が増えていた。心不全では水の総需要量よりも一回飲水量とそのタイミングを調節する渴き機序が病態的に進行する可能性が示唆された。体重500gの心不全ラットが一回に10mLの水を飲む量は、体重50kgの人が一回に1Lの水を飲む量に相当する。このような飲水パターンでは、「飲水直後に循環血液量が急に増えて心臓に容量負荷がかかる」、「飲水前に伸びた摂水間隔により血液の浸透圧の上昇や循環血液量の減少する」等の悪影響が繰り返される。これが誘因となり、生体内環境の恒常性維持のために神経液性代償機構が過剰に働く可能性がある。この推測を裏付けように、心筋梗塞後2週間時の一回飲水量が生存期間と負の相関するのを観測されました。このような観察結果から、心不全の水分制限は飲水パターンの調節が重要ではないかと考えるに至った。その後の実証実験では、動物の飲水行動をフィードバック制御するシステムを構築し、飲水間隔、一回飲水量を制御することで、毎日飲水量を約30%減り、その結果、心機能改善し延命効果が得られた。

一方、研究代表者らの研究グループでは、急性心筋梗塞ラットでの迷走神経刺激による著明な抗不整脈効果や、慢性心不全ラットモデルにおいて迷走神経刺激によって心臓リモデリングの進展が抑制され、治療開始20週後の生存率が50%から86%までに改善することを報告した(Circulation. 2004;109:120-24)。一連の基礎研究結果に基づいて、近年、NECTAR-HF、ANTHEM-HF および INOVATE-HF の迷走神経刺激による慢性心不全治療の大規模臨床試験も行われた。しかしながら、治療効果は一定でなく、予後改善効果は確認できていない。その原因として、迷走神経刺激治療の機序に不明な点が多いこと、対象患者が不適切であった可能性、神経刺激方法が最適化されていないことなどが挙げられる。また、デバイスを用いた神経刺激治療では、植込み手術の必要性やデバイスの価格などの面で、臨床での広範な適応が制限されることが懸念される。

近年、研究代表者らは心筋梗塞後重症心不全ラットにアセチルコリンエステラーゼ阻害薬(ドネペジル)を経口投与し、慢性心不全に対する薬理的副交感神経賦活化治療(薬理的迷走神経刺激治療)の効果を検討した。その結果、ドネペジル投与によって心臓リモデリングが抑制され、長期生存率が著明に改善することが明らかとなった。さらに、ドネペジルとロサルタンの併用投与によって、心不全に対する標準的治療法である 遮断薬+ACE 阻害薬/ARB の治療効果を大きく上回る予後改善効果が得られることも報告している。これらの治療効果の機序として、副交感神経賦活化による心負荷軽減以外に、副交感神経賦活化による心血管新生作用や抗アポトーシス効果、ギャップ結合のリモデリング抑制作用の関与が推測されているが、詳細は不明である。これらの背景から、心筋梗塞で引き起こした慢性心不全の心臓リモデリング抑制と長期生存率の改善効果が明確になった飲水制限と薬理的迷走神経刺激二つ作用機序異なる治療法を併用することで、相乗効果が生じる可能性を検証する必要がある。

2. 研究の目的

上述の背景から、慢性心不全の新しい治療戦略として、飲水パターンを重視した飲水制限方法と薬理的迷走神経刺激を併用することで相乗的な治療効果を得られる可能性がある。この仮説を検証するために、心筋梗塞ラットの飲水行動をフィードバック制御して、飲水行動制御とドネペジル併用の治療効果の検証をした。

3. 研究の方法

(1) 心筋梗塞ラット

8週令のオスSDラットを用い1.5%ハロセン麻酔下に開胸し、左冠状動脈の基部から2~3mmの部位をナイロン糸で結紮して急性心筋梗塞を作る。梗塞領域が大きく高頻度の心室細動を起こすため、心筋梗塞作成後30分以内には可能な限り心臓マッサージを行って機械的に除細動を行う。除細動に成功したラットは閉胸し、麻酔から回復させる。

(2) 飲水行動制御システムの開発

飲水量フィードバック制御の方法は、落滴センサーとノズル間に電磁弁を設置し、パソコンプロ

グラムがDAボード経由で開閉タイミングを制御する。プログラムは飲水量の計測値が事前設定値に達すると流路を閉じる、一定間隔経過後に再度弁を開く。また、ケージには弁の開閉状態を知らせる信号（発光ダイオード）を設置し、条件反射の原理を利用して、ラットの学習能力で飲水のタイミングを知らせる。

（3）薬の投与量

アセチルコリンエステラーゼ阻害薬（ドネペジル）は飲み水に溶かして与えた。今までの実験結果を参考して、薬の投与量を5mg/Kg/dayに設定している。この濃度では動物の餌摂取量と体重に殆ど影響しないことと心拍数が10～20%を下げる効果を確認している。

（4）体重持続計測

心不全では体内の水分が滞ってからだのむくみとなってあらわれることがあります。心不全動物の体内の水分が滞って状態を評価するには体重計測が重要である。しかし、体重は日内変動があり、実験動物の体重連続計測は最も実態を反映する指標である。本研究は独自にデザインしたケージの床をデジタル秤上へのせ、PCと繋ぎ体重データを持続的に記録できる装置を開発した。

（5）覚醒動物の血行動態評価

心筋梗塞から回復（1週間）ラットに麻酔科で血圧センサーの埋め込み手術を行い。これらの計測方法を確立することで、より通常ストレス掛けない状態で血圧、心拍数、体重と飲水量など同時持続的に記録を実現した。そして、データ解析により飲水行動制御とドネペジル併用による血行動態を評価した。

（6）心臓リモデリングとポンプ機能評価

水行動制御とドネペジル併用による心臓リモデリング・心機能・神経液性因子の改善効果を詳細に評価するために、6週間の飲水行動制御とドネペジル併用した後、1.5%ハロセン麻酔下に、右房圧、心拍出量等の急性血行動態を測定するとともに、コンダクタンスカテーテルを用いた左室圧容積の計測により左室エラストランスを評価した。ラットを安楽死させる前に採血し、血中の脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）、バソプレシン（AVP）、カテコラミンの分析を行い、安楽死後に心臓を摘出し、心重量を測定した。以上の結果から総合的に心臓リモデリングや心臓ポンプ機能を評価した。

4. 研究成果

（1）心筋梗塞ラットの摂水量を精確に持続的に記録し、心筋梗塞後の生存期間を観察した。その結果、心不全ラットの飲水のパターンが病態進行に伴い大きく変わっていた、飲む回数が減少する同時に一回飲む量が増えていた。更に、心不全早期の一回の飲む量と心筋梗塞後の生存期間が強い相関性あることを認めました（図1）。心不全病態で一回飲水量増加の病態生理機序はまだ不明である。一回に大量摂水方式では、循環系に与える外乱が大きく、生体内環境の恒常性維持のために神経液性代償機構が過剰に働く誘因になる可能性がある。

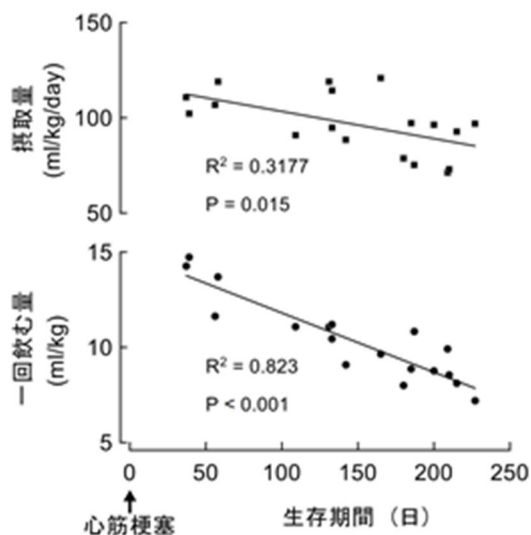


図1 . 心筋梗塞ラットにおける飲水行動と生存期間の関連性。

（2）飲水行動制御とドネペジル併用の効果

心筋梗塞ラットの飲水行動を自動計測制御装置で一回飲む量と間隔を制限した結果、ラットの血行動態が安定で、平均心拍数が下がるのがこれまでの研究で明らかになったが、更なるドネペジル併用で、平均心拍数がもっと減る傾向があり、平均血圧も増える傾向である。そして、ドネペジル併用は毎日飲水量を増やし、しかも、体重は減る短期効果を認められた。この結果は、ドネペジルが中枢経路で偏っている自律神経機能を賦活し、交感神経活動を抑制と迷走神経活動を増やす共に、バソプレシンなど神経液性因子の是正することで排尿量を増やしていることを考えられる（図2）。6週間のドネペジル投与で、血中BNP、AVP、BNP、カテコラミン低下し、心臓リモデリン抑制を抑制した。まとめに、小まめに飲水パターンは、循環系に与える影響少ないために、生体内環境の恒常性維持有利の可能性があると考えられる。ドネペジルを慢性心不全

の治療効果の機序は中枢経路で体内水バランスの調整にも役割している。これらの成果は実験動物で初めての報告ですので、心不全の水代謝の病態生理またドネペジルの作用機序に関する知識を深めるに役立つことと今後臨床応用研究への展開するために重要な実験的根拠になると考える。

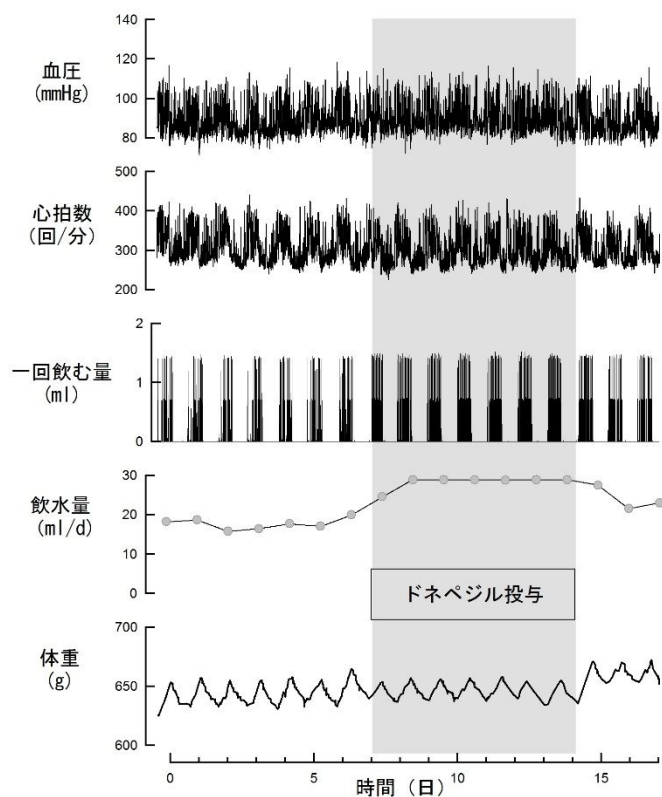


図2 . 心不全ラットの飲水行動制御とドネペジル併用による血行動態と飲水量及び体重への影響。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Li Meihua, Zheng Can, Kawada Toru, Inagaki Masashi, Uemura Kazunori, Sugimachi Masaru	4. 巻 70(1)
2. 論文標題 Intracerebroventricular infusion of donepezil prevents cardiac remodeling and improves the prognosis of chronic heart failure rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 11-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12576-020-00739-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Li Meihua, Zheng Can, Kawada Toru, Inagaki Masashi, Uemura Kazunori, Akiyama Tsuyoshi, Sugimachi Masaru	4. 巻 In press
2. 論文標題 Impact of Peripheral 7-Nicotinic Acetylcholine Receptors on Cardioprotective Effects of Donepezil in Chronic Heart Failure Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cardiovascular Drugs and Therapy	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10557-020-07062-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M.	4. 巻 69
2. 論文標題 Chronic Vagal Nerve Stimulation Exerts Additional Beneficial Effects on the Beta-Blocker-Treated Failing Heart	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Physiol Sci	6. 最初と最後の頁 295-303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12576-018-0646-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 i M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M.	4. 巻 70
2. 論文標題 1. Intracerebroventricular infusion of donepezil prevents cardiac remodeling and improves the prognosis of chronic heart failure rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Physiol Sci	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12576-020-00739-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Uemura K, Kawada T, Zheng C, Li M, Sugimachi M.	4. 巻 52
2. 論文標題 Low-dose landiolol reduces heart rate and cardiac oxygen consumption without compromising initial hemodynamic resuscitation in a canine model of endotoxin shock	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 102-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000001224	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li, M. Zheng, C. Kawada, T. Inagaki, M. Uemura, K. Sugimachi, M.	4. 巻 69
2. 論文標題 Chronic vagal nerve stimulation exerts additional beneficial effects on the beta-blocker-treated failing heart	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Physiol Sci	6. 最初と最後の頁 295-303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-018-0646-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Can Zheng, Meihua Li, Toru Kawada, Kazunori Uemura and Masashi Inagaki
2. 発表標題 Daily fluid restriction improves survival rate in rats with chronic heart failure.
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M.
2. 発表標題 Donepezil as a novel therapy for suppressing the progression of cardiovascular remodeling in obesity-induced hypertensive rats with reperfused myocardial infarction.
3. 学会等名 ESC 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Inagaki M, Nishikawa T, Sugimachi M.
2. 発表標題 Donepezil Markedly Prevents the Progression of Chronic Heart Failure and Renal Dysfunction in Renal Artery Stenosis-Induced Hypertensive Rats
3. 学会等名 ESC 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Inagaki M, Nishikawa T, Sugimachi M.
2. 発表標題 Abdominal Vagal Nerve Activation Markedly Contributes to Maintaining Hemodynamics After Acute Myocardial Infarction in Rats
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Inagaki M, Nishikawa T, Sugimachi M.
2. 発表標題 Donepezil Markedly Suppresses the Progression of Cardiovascular Remodeling and Dysfunction in Obesity-induced Hypertensive Rats with Reperfused Myocardial Infarction.
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Inagaki M, Sugimachi M.
2. 発表標題 Acetylcholinesterase Inhibition Prevents the Progression of Chronic Heart Failure and Renal Dysfunction in Renal Artery Stenosis-Induced Hypertensive Rats.
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 李 梅花, 鄭 燦, 川田 徹, 杉町 勝.
2. 発表標題 急性心筋梗塞ラットの血行動態に対する腹部迷走神経活性化の影響.
3. 学会等名 第98回日本生理学会 (OP-12-2)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 李 梅花, 鄭 燦, 川田 徹, 上村 和紀, 稲垣 正司, 杉町 勝.
2. 発表標題 ドネペジル投与による自然発症高血圧ラットにおける心筋梗塞後重症心不全の心機能・生存率の改善作用.
3. 学会等名 第41回日本循環制御医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 C. Zheng , M. Li , K. Uemura , T. Kawada , M. Inagaki , M. Sugimachi
2. 発表標題 Chronic vagal nerve stimulation suppress thirst through decreasing vasopressin secretion in the rats with chronic heart failure
3. 学会等名 ESC Asia with APSC & AFC (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Toshiaki Shishido, Sugimachi M.
2. 発表標題 Oral Administration of Donepezil Markedly Prevents the Progression of Chronic Heart Failure in Renal Artery Stenosis-Induced Hypertensive Rats.
3. 学会等名 ESC (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Can Zheng, Meihua Li, Toru Kawada, Masashi Inagaki, Kazunori Uemura, Masaru Sugimachi
2. 発表標題 Pericardiectomy decreases exercise capacity through elimination respiratory suction
3. 学会等名 欧州心臓病学会総会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Meihua Li, Can Zheng, Toru Kawada, Masashi Inagaki, Kazunori Uemura, Masaru Sugimachi
2. 発表標題 Feasibility and Efficacy of Early Donepezil with or Without Metoprolol in Reperfused Myocardial Infarction Rats
3. 学会等名 欧州心臓病学会総会（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	李 梅花 (Li Meihua) (60443496)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・上級 研究員 (84404)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------