

機関番号：16401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590853

研究課題名（和文）特発性拡張型心筋症の新しい治療法—迷走神経電気刺激法の開発

研究課題名（英文） Vagal Nerve Stimulation: A Novel Therapeutic Strategy for Dilated Cardiomyopathy

研究代表者

鄭 燦（Zheng Can）

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：50443495

研究成果の概要（和文）：

特発性心筋症は原因不明の心機能障害を伴う心筋疾患である、主な治療は薬物による心筋組織炎症の抑制と心不全の悪循環の防止であり、予後改善効果が十分ではない。本研究では、免疫・炎症反応の調節系と循環調節系に重要な役割を果たす迷走神経活動が低下していることに着目して、直接迷走神経を電気刺激することによって、免疫・炎症反応を抑制させ、同時に破綻した自律神経系のバランスを是正させることで、特発性心筋症対しての新治療法の可能性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：

Myocarditis is an inflammatory heart disease, considered as one of the main causes of dilated cardiomyopathy, a fatal heart disease. Current therapeutic strategy is focus on the anti-inflammatory and nosotropic treatments by pharmaceuticals. In this study, we hypothesis and verified that vagal nerve stimulation may exert beneficial effects on cardiac inflammation and demonstrated that vagal stimulation attenuates ventricle remodeling and improve survival after myocardial infarction, which may be associated with suppression of acute inflammatory reactions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：迷走神経刺激、特発拡張型心筋症、自己免疫

## 1. 研究開始当初の背景

特発性心筋症は原因不明の心機能障害を伴う心筋疾患と定義され、主な治療の標的は心

筋組織炎症の抑制と心不全の悪循環の防止であり、薬物による免疫と炎症抑制及び心不全に対する対症療法が主体となる。しかし、

病因の不明、薬物の副作用など制限で、予後改善効果が十分ではない。近年、迷走神経が炎症と免疫機能調節に重要な役割を果たすことが明らかになった、薬物の使用或いは直接神経電気刺激による迷走神経機能活性化が難治性疾患の新たな治療法の可能性を示唆する。

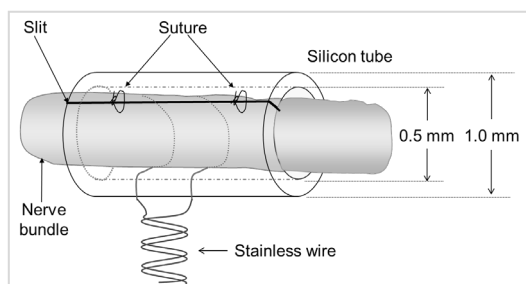
## 2. 研究の目的

特発性心筋症の病態では免疫・炎症反応の調節系と循環調節系に重要な役割を果たす迷走神経活動が低下していることに着目して、本研究では直接迷走神経を電気刺激することによって、免疫・炎症反応を抑制させ、同時に破綻した自律神経系のバランスを是正させることで、心筋症ラットの心臓リモデリングを抑制し、心機能と長期生存率の改善を図ることを目的とする。さらに、炎症因子や神経液性因子の定性定量分析から、この新しい治療法の詳細な機序を解明することで、心筋症の新しい治療法としての迷走神経の電気刺激治療法の確立と臨床展開を目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) ラットの迷走神経の慢性電気刺激法

麻酔科で、ラットの背中皮下に無線操作ができる電気刺激装置を植え込み、出力リード線を頸部皮下組織に経由し、頸部右迷走神経にチューブ型電極（図1）と連結する。刺激の



強度は平均心拍数を 20-30 bpm 低下させるように設定し、1 分間に 10 秒の間欠的な刺激した。結果として刺激強度は 0.1-0.13mA, パルス幅は 0.2ms, 刺激頻度は 20Hz であった。

(2) 実験には多数の基礎研究に使われているラットの自己免疫疾患モデルを用いる。研究グループにおいて、モデル動物の確立を行

う。具体的には、異種動物（豚）の心臓ミオシンを通常の生化学方法で純化し、PBS (0.3M KCl 含む) 緩衝剤に溶かす (20 mg/ml)、そして、同容量のフロイント (Mycobacterium tuberculosis 含 11 mg/ml) と完全アジュバンと乳化して免疫抗原とする。8 週齢の雄 Lewis ラットを用いて、2%ハロセン麻酔下で、足裏皮下組織に注射し (0.1 ml)、1 週間後に追加免疫を行い、心筋症ラットモデルを作る。予備実験の結果から、この方法で作成した心筋症ラットモデルが、長期の観察で心筋炎症、心臓リモデリングや心不全が起ることを確認されて、自己免疫心筋症ラットモデルとして確立する。

(3) ラットの自己免疫心筋症モデル確立し、迷走神経の慢性電気刺激による心筋症ラットの心臓リモデリングや心機能改善に及ぼす影響を検討する。免疫する 1 週間前に、全てのラットを 1.5%ハロセン麻酔下で、皮下に埋込式心電図発信器装置、頸部の右迷走神経には自作したステンレスワイヤ電極を埋込み、リード線は埋込式遠隔制御刺激装置と接続し、迷走神経刺激治療群と非治療群に分ける。2 回免疫によって確立した心筋症ラットモデルに対して、6 週間にわたって迷走神経刺激治療を行う。治療終了後、ハロセン麻酔下で急性血行動態を測定した後、最終の採血を行う。実験終了後、ラットを安楽死させて心臓を取り出し、ウェスタンブロットと免疫組織化学分析方法で心筋内のコラーゲンとサイドカイン (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-10, IFN, TNF $\alpha$ ) を測定する。

## 4. 研究成果

本研究では、ラットなど小動物の迷走神経長期刺激に適応した刺激電極の制作と刺激装置の設置と埋め込み技術等確立した。この技術を利用して、急性心筋梗塞ラットモデルでは、迷走神経刺激は致死性不整脈の抑制し、急性期生存率を有意に改善する効果を検証した。更に、梗塞部位と周囲組織内心筋再生を促進している現象を発見、今後の機序解明等研究の手掛になる。ウサギの心筋梗塞再還流モデルでは、迷走神経刺激による心筋梗塞早期に心筋組織の TNF- $\alpha$ 、MMP-9 等炎症因子

を減少し、迷走神経刺激が心筋組織内の炎症を制御作用あることが示唆されて、心臓リモデリングを抑制効果も確認できた。今後、抗原の純化と免疫方法を再検討し、自己免疫心筋症モデル確立したうえで迷走神経刺激の治療効果を検討する必要性がある。

#### 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4件)

- ① Kawada T, Li M, Kamiya A, Shimizu S, Uemura K, Yamamoto H, Sugimachi M. Open-loop dynamic and static characteristics of the carotid sinus baroreflex in rats with chronic heart failure after myocardial infarction. J Physiol Sci. 2010 Jul;60(4):283-98 (査読有)
- ② Uemura K, Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. Early Short-Term Vagal Nerve Stimulation Attenuates Cardiac Remodeling After Reperfused Myocardial Infarction. J Card Fail. 2010 Aug; 16(8):689-99. (査読有)
- ③ Okazaki Y, Zheng C, Li M, Sugimachi M. Effect of the cholinesterase inhibitor donepezil on cardiac remodeling and autonomic balance in rats with heart failure. J Physiol Sci. 2010 Jan; 60(1):67-74. (査読有)
- ④ 杉町 勝, 川田 徹, 鄭 燦, 佐藤 隆幸. 生体情報の長期取得のための神経再生型電極の開発. 人工臓器 2008; 37: p.175-178. (査読無)

[学会発表] (計8件)

- ① 鄭 燦, A New Intelligent Technique of Fluid Restriction in Small Animals. 第31回日本循環制御医学会総会、2010年5月28日、千里ライフセンター、大阪
- ② Li M, Vagal Stimulation Markedly Suppressed Arrhythmic Death and

Prevented Cardiac Dysfunction in Rats after Acute Myocardial Infarction. 19th International Conference of the Cardiovascular System Dynamics Society. Sep. 25. 2010, Kyushu University, Fukuoka.

- ③ Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Akiyama T, Sugimachi M. Blockade of  $\alpha 7$ -Nicotinic Acetylcholine Receptors Attenuates Cardio-protective Effects of Donepezil in Rats with Extensive Myocardial Infarction. 第73回日本循環器学会総会・学術総会 2009年3月28日, 大阪.
- ④ Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M, Sato T. Drinking Style of Myocardial Infarcted Rats: A Proposal for Fluid Restriction Prescription for Patients with Chronic Heart Failure. 第73回日本循環器学会総会・学術総会 2009年3月28日, 大阪.
- ⑤ Li M, Addition of acetylcholinesterase inhibitor, donepezil improves neurohumoral states further than losartan alone in rats with extensive myocardial infarction. 第73回日本循環器学会総会・学術総会 2009年3月28日, 大阪.
- ⑥ Zheng C. Donepezil Markedly Suppresses Ventricular Dysfunction and Improves Neurohumoral States on Top of Losartan in Rats with Extensive Myocardial Infarction. AHA Scientific Sessions 2009. Nov.18.2009. Orlando, USA
- ⑦ 宍戸 稔聡, 李 梅花, 鄭 燦, 上村 和紀, 川田 徹, 杉町 勝. 重症心不全に対する迷走神経刺激療法. 第24回生体・生理工学シンポジウム. 2009.9.24 仙台市、東北大学
- ⑧ Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. Vagal Stimulation markedly Suppresses Arrhythmias and Improve Survival Rate of Endstage Heart Failure Rats. 第72回日本循環器学会総会・学術総会

2008. 3. 29 福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鄭 燦 (Zheng Can)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：50443495

(2) 連携研究者

李梅花 (Li Meihua)

国立循環器病センター(研究所) / 循環動

態機能部・特任研究員

研究者番号：60443496

川田 徹 (Toru Kawada)

国立循環器病センター(研究所) / 循環動

態機能部・室長

研究者番号：30243752