

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461113

研究課題名(和文) 心不全における概日リズムの破綻と時間治療学的観点からの治療

研究課題名(英文) Disturbance of Circadian Rhythm in Heart Failure and Chronotherapeutic Approach to Heart Failure

研究代表者

前村 浩二 (MAEMURA, Koji)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授

研究者番号：90282649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：心不全の際には高率に睡眠呼吸障害を合併することが知られている。また睡眠呼吸障害の際には睡眠パターンが変化しており、睡眠時無呼吸と心不全、体内時計の変調は密接に関連しっていると推測される。以前から心筋梗塞は午前中に多く発症することが知られているが、睡眠呼吸障害の有無により発症時間帯を解析したところ、睡眠呼吸障害のある患者で心筋梗塞が午前中に好発することが明らかになった。睡眠呼吸障害が、睡眠リズムの障害や、低酸素を介して心筋梗塞の発症時間帯に影響していることが考えられた。

研究成果の概要(英文)：Circadian variation in the onset of acute myocardial infarction (AMI) has been reported to mostly occur in the early morning. The rise in blood pressure, heart rate, coagulation activity, and vascular tone in the early morning underlies the frequent onset of AMI in this time of day. It is known that obstructive sleep apnoea (OSA) is closely related with these physiological parameters and the OSA is frequently associated with heart failure. In this study, we showed that the incidence of AMI onset in the morning was significantly higher in OSA patients compared to the patients without OSA. The moderate-to-severe OSA significantly enhanced this circadian variation. The OSA may be associated with the onset time of AMI by affecting sleep rhythm and hypoxia. The OSA may be a therapeutic target from the viewpoint of chronobiology.

研究分野：循環器内科学

キーワード：循環器疾患 心不全 時間生物学 高血圧

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の発症には過食、運動不足など、主に食事の量や運動の量が問題にされて来た。しかし夜間シフトワークでの心血管病の増加など、食事、運動、睡眠などの生活リズムも、その発症に関与していることが明らかになりつつある。また時計遺伝子を変異したマウスの解析により、体内時計の乱れと高血圧、血管機能の異常、糖脂質代謝異常が密接な関係にあることが次々に報告され、今後さまざまな病態を理解する上で体内時計の影響を考慮に入れる重要性が提唱されている。

心不全の際には、自律神経活動の概日リズムが障害されることが臨床的に以前から知られている。また動物実験でも心筋症自然発症ハムスターを1週間ごとに明期暗期のサイクルを逆転した環境で飼育すると、通常環境で飼育したものに比較して寿命が短縮するなど、心不全の発症、進展と体内時計は密接な関連があると考えられるが、未だ心不全を体内時計の観点からとらえた臨床研究は報告されていない。

2. 研究の目的

本研究では、まず臨床研究として心不全や睡眠呼吸障害の患者で自律神経機能を初めとする生理機能の概日リズムや心筋梗塞の発症時間の日内変動がどのように変化しているかを検討する。また基礎研究として、時計遺伝子ノックアウトマウスを用いて肺高血圧による右心不全モデルを作成し、体内時計と心不全発症の関係を検討する。さらにレニンアンジオテンシン(RA)系阻害薬の服薬時間や、メラトニンアゴニストの投与が、これらの生理機能の概日リズムや心不全治療に与える影響を検討し、「時間治療学」の心不全治療への応用をめざす。

3. 研究の方法

1) 睡眠呼吸障害と心筋梗塞発症時間帯との

関係

心不全の際には高率に睡眠呼吸障害を合併することが知られている。また睡眠呼吸障害の際には睡眠パターンが変化しており、睡眠呼吸障害と心不全、体内時計の変調は密接に関連しあっていると推測される。以前から心筋梗塞は午前中に多く発症することが知られているが、睡眠呼吸障害と心筋梗塞の発症時間帯の関連は十分に解明されていない。長崎みなとメディカルセンター市民病院に初回心筋梗塞で入院し、発症後12時間以内に冠動脈インターベンション治療を施行した患者288名に、慢性期にポリグラフを装着して睡眠時無呼吸の検査を行った。Apnea-hypopnea index (AHI) 5以上を睡眠呼吸障害ありとした。心筋梗塞の発症時刻は0-6時、6-12時、12-18時、18-24時の6時間毎の時間帯で解析した。

2) 体内時計の変調が肺高血圧、右心不全に及ぼす影響

体内時計の変異が心肥大、心不全に及ぼす影響を特に低酸素による右心不全に焦点をあてて検討した。マウスを血管内皮増殖因子受容体拮抗薬投与下に、10%低酸素下で飼育飼育し、肺高血圧、右心不全を作成して、心エコーによる心機能評価、右心室にカテーテルを挿入しての圧測定、肺動脈、心臓の組織学的解析を行った。

3) 心不全治療薬の投与時間が心不全に与える影響の検討

RA系は朝方に活性が上昇するため、RA系抑制薬は夜服用した方が、効果が大きいことが高血圧患者において報告されている。そこで心不全患者において、心不全治療薬の投与時刻の心不全への影響を検討する。外来通院中の安定した心不全患者を対象として、服用中のRA系阻害薬をクロスオーバー法にて朝食後または夕食後に投与して、以下の項目を

投与前と投与後3ヶ月で検討した。外来血圧、家庭血圧（朝と就寝前）、24時間血圧、NT-proBNP、心エコーによる心機能評価（拡張能も含む）、尿中微量アルブミン量、eGFR、HOMA-R、尿酸、可能な患者ではEndo-PATによる血管内皮機能

4. 研究成果

1) 睡眠呼吸障害と心筋梗塞発症時間帯との関係

288名中216名に睡眠呼吸障害を認めた。午前中（6-12時）に発症した心筋梗塞患者はAHI 5以上の睡眠呼吸障害のある患者では38%、睡眠呼吸障害の無い患者では25%で、有意に呼吸睡眠障害群で高かった（ $P < 0.05$ ）（図1）

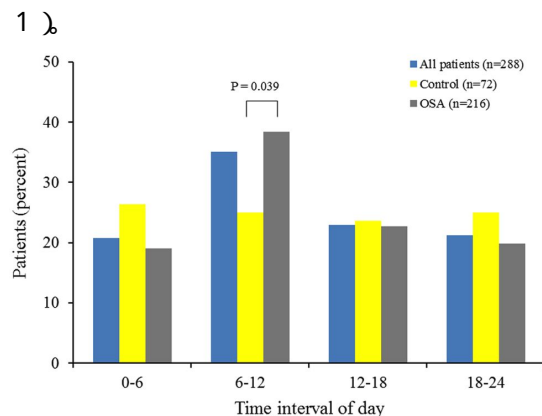


図1 睡眠呼吸障害の有無で分けた心筋梗塞の発症時間帯（発表論文8より引用）

さらにAHI 15以上の中等症以上の睡眠呼吸障害のある患者では43%が午前中に心筋梗塞を発症し、午前中に心筋梗塞を発症する傾向がさらに顕著となった（図2）。重回帰分析にて解析すると、AHI 15以上、年齢、BMI、高血圧、喫煙の中で、AHI 15以上が独立して午前中の心筋梗塞発症の予測に寄与した。

心筋梗塞の発症時間帯を解析した多くの研究で、心筋梗塞は午前中に多いことが示されている。その理由については、交感神経系やレニンアンジオテンシン系の活動性が亢進することや、早朝に血栓性が高まることが挙げられている。

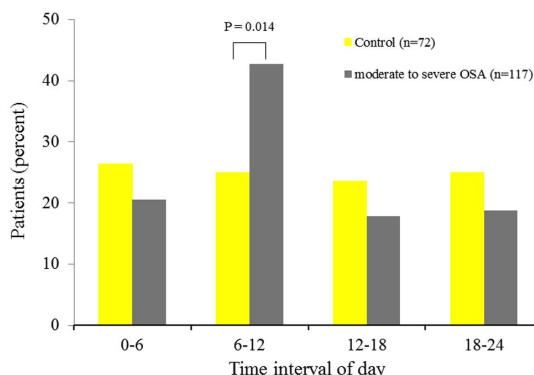


図2 中等症以上の睡眠呼吸障害患者での心筋梗塞の発症時間帯（発表論文8より引用）

睡眠時無呼吸は夜間から早朝の血圧上昇や、血栓性の変化に関連することが知られているが、本研究により従来から報告されている心筋梗塞が午前中に好発することにも寄与している可能性が示された。その機序としては、睡眠障害や低酸素による影響が考えられる。

2) 体内時計の変調が肺高血圧、右心不全に及ぼす影響

ラットではモノクロタリンあるいは低酸素で肺高血圧モデルを作成する系が確立していたが、時計遺伝子改変マウスで検討するためには、マウスで肺高血圧を作成する必要があった。マウスでのモデル作成に難渋し時間を要したが、血管内皮増殖因子受容体拮抗薬投与下に、10%低酸素下で飼育する阿部らのモデルに沿って条件設定を行い、肺高血圧を来すマウスを作成することができた。さらにマウスで心エコーによる肺動脈血流の評価、カテ入れによる右室圧測定、遺伝子発現、組織学的解析が可能となった。この条件下で時計遺伝子改変マウスを飼育し、体内時計が乱れた際の心不全への影響を検討するが、結果は次年度に持ち越すことになった。

3) 心不全治療薬の投与時間が心不全に与える影響の検討

RA系阻害薬の朝と夜の内服での心不全治療効果に差異があるか検討する目的で、RAS

系阻害薬をクロスオーバー法にて朝食後または夕食後に投与して、それぞれ投与前と投与後3ヶ月で各種因子を検討中である。長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て100例を目標に症例登録中であるが、クロスオーバーで施行することへの抵抗感が強い患者も多く、予定通り症例の登録ができなかったため、併行して朝から夜への切り替えのone armの研究も行っている。本研究期間内に十分な症例の登録が終了しておらず、結果の解析は次年度に持ち越すことになった。

以前から研究を行っていたメラトニンの心血管系への作用について、論文発表を行った。その中で1)アンジオテンシンIIとコレステロールの負荷により、血管内皮細胞において酸化ストレスが亢進し、lipid raftとeNOSの細胞内局在が変化し、eNOSのbioavailabilityが低下して血管内皮機能障害がおこること、2)アンジオテンシンIIによる血管内皮の酸化ストレスがメラトニンの投与により抑制され、血管内皮障害が改善することをin vitroとin vivoで示した。そしてメラトニン受容体のアゴニストであるラメルテオンでも同様の効果があることを示した。現在、不眠に対してラメルテオンを用いた患者で、時間治療学の観点から血管内皮機能、心不全への効果を検討中である。

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44件)

1. Semba H, Takeda N, Isagawa T, Sugiura Y, Honda K, Wake M, Miyazawa H, Yamaguchi Y, Miura M, Jenkins DM, Choi H, Kim JW, Asagiri M, Cowburn AS, Abe H, Soma K, Koyama K, Katoh M, Sayama K, Goda N, Johnson RS, Manabe I, Nagai R, Komuro I. HIF-1 α -PDK1 axis induced active glycolysis plays an essential role in macrophage

migratory capacity. Nat Commun. in press 査読有 doi: 10.1038/ncomms11635.

2. Takeda N, Maemura K. Circadian clock and the onset of cardiovascular events. Hypertens Res. in press 査読有 doi: 10.1038/hr.2016.9.
3. Takeda N, Maemura K. The role of clock genes and circadian rhythm in the development of cardiovascular diseases. Cell Mol Life Sci. 2015;72:3225-34 査読有 doi: 10.1007/s00018-015-1923-1.
4. Tojo Y, Sekine H, Hirano I, Pan X, Souma T, Tsujita T, Kawaguchi SI, Takeda N, Takeda K, Fong GH, Dan T, Ichinose M, Miyata T, Yamamoto M, Suzuki N. Hypoxia Signaling Cascade for Erythropoietin Production in Hepatocytes. Mol Cell Biol. 2015; 35, 2658-72. 査読有 doi: 10.1128/MCB.00161-15
5. Nakashima H, Kurobe M, Minami K, Furudono S, Uchida Y, Amenomori K, Nunohiro T, Takeshita S, Maemura K. Effects of moderate-to-severe obstructive sleep apnea on the clinical manifestations of plaque vulnerability and the progression of coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndrome. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care. 2015;4:75-84 査読有 doi: 10.1177/2048872614530865.
6. Koga S, Ikeda S, Miura M, Yoshida T, Nakata T, Koide Y, Kawano H, Maemura K. Imap-intravascular ultrasound radiofrequency signal analysis reflects plaque components of optical coherence tomography-derived thin-cap fibroatheroma. Circ J. 2015; 79: 2231-7 査読有 doi: 10.1253/circj.CJ-15-0393.
7. Eguchi M, Ikeda S, Kusumoto S, Sato D, Koide Y, Kawano H, Maemura K. Adipose-derived regenerative cell therapy inhibits the progression of monocrotaline-induced pulmonary

- hypertension in rats. *Life sci.* 2014; 118: 306-12 査読有 doi: 10.1016/j.lfs.2014.05.008.
8. Nakashima H, Henmi T, Minami K, Uchida Y, Shiraishi Y, Nunohiro T, Maemura K. Obstructive sleep apnoea increases the incidence of morning peak of onset in acute myocardial infarction. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2013;2:153-8 査読有 doi: 10.1177/2048872613478557.
9. Saito T, Takeda N, Amiya E, Nakao T, Abe H, Semba H, Soma K, Koyama K, Hosoya Y, Imai Y, Isagawa T, Watanabe M, Manabe I, Komuro I, Nagai R, Maemura K. Vegf-a induces its negative regulator, soluble form of vegfr-1, by modulating its alternative splicing. *FEBS letters.* 2013;587:2179-85 査読有 doi: 10.1016/j.febslet.2013.05.038.
10. Nakao T, Morita H, Maemura K, Amiya E, Inajima T, Saito Y, Watanabe M, Manabe I, Kurabayashi M, Nagai R, Komuro I. Melatonin ameliorates angiotensin ii-induced vascular endothelial damage via its antioxidative properties. *J Pineal Res.* 2013;55:287-93 査読有 doi: 10.1111/jpi.12071.
11. Koga S, Ikeda S, Yoshida T, Nakata T, Takeno M, Masuda N, Koide Y, Kawano H, Maemura K. Elevated levels of systemic pentraxin 3 are associated with thin-cap fibroatheroma in coronary culprit lesions: Assessment by optical coherence tomography and intravascular ultrasound. *JACC Cardiovasc Interv.* 2013;6:945-54 査読有 doi: 10.1016/j.jcin.2013.04.024.
12. Amiya E, Watanabe M, Takeda N, Saito T, Shiga T, Hosoya Y, Nakao T, Imai Y, Manabe I, Nagai R, Komuro I, Maemura K. Angiotensin II Impairs Endothelial Nitric Oxide Synthase Bioavailability under Free Cholesterol-Enriched Conditions via Intracellular Free Cholesterol-rich Membrane Microdomains. *J Biol Chem* 2013; 288: 14497-509. 査読有 doi: 10.1074/jbc.M112.448522.
13. Tong M, Watanabe E, Yamamoto N, Nagahata-Ishiguro M, Maemura K, Takeda N, Nagai R, Ozaki Y. Circadian expressions of cardiac ion channel genes in mouse might be associated with the central clock in the SCN but not the peripheral clock in the heart. *Biol Rhythm Res.* 2013; 44: 519-30. 査読有 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3570950/>
14. 前村浩二：睡眠・サーカディアンリズムと高血圧・循環器疾患．*心臓* 48：358-61, 2016 査読無
15. 前村浩二：最新臨床高血圧学 高血圧発症の最前線：V 高血圧発症・進展因子の関わり：血圧リズムと時計遺伝子．*日本臨牀* 72:258-62, 2014 査読無
16. 前村浩二：特集：血液サーカディアンリズム-24 時間血圧管理の重要性-時計遺伝子と血圧サーカディアンリズム．*日本臨牀* 72:1354-60, 2014 査読無
17. 前村浩二：特集：概日リズムと疾患 ． 概日リズムと疾患-病態・診断・治療の最新知見- 虚血性心疾患 ．*日本臨牀* 71:2124-9, 2013. 査読無
18. 前村浩二：最新臨床睡眠学-睡眠障害の基礎と臨床- X 各科領域・疾患における睡眠障害 虚血性心疾患・心不全 ．*日本臨牀* 71:569-574, 2013 査読無
19. 前村浩二：臨床と研究 血圧日内変動・体内時計を考慮した高血圧診療 ．*日本透析医会雑誌* 28:246-251, 2013 査読無
- 〔学会発表〕(計 10 件)
1. 前村浩二：時計遺伝子と心臓病：第 80 回日本循環器学会学術集会 2016 年 3 月 20 日 (仙台国際センター、仙台市)
2. 前村浩二：睡眠・サーカディアンリズム

と循環器：第 25 回日本循環薬理学会
2015 年 12 月 4 日（東大寺総合文化ホー
ル、奈良市）

3. 武田憲彦：低酸素シグナルを介する心血管病態治療の可能性：第 47 回日本動脈硬化学会総会学術集会 2015 年 7 月 9 日（仙台国際センター、仙台市）
4. 前村浩二：ワークショップ 4 高血圧と時間医学：睡眠、サーカディアンリズム、時計遺伝子：時計遺伝子と心血管病：第 37 回日本高血圧学会総会 2014 年 10 月 19 日（パシフィコ横浜、横浜市）
5. 前村浩二：生活習慣病における体内時計の役割：第 1 回日本健康促進医学会学術総会 2014 年 5 月 17 日（長崎大学医学部記念講堂、長崎市）

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/junkanki/publication/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

前村 浩二 (MAEMURA Koji)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授

研究者番号：90282649

(2)研究分担者

武田 憲彦 (TAKEDA Norihiko)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：40422307