

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 21 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430103

研究課題名(和文)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検討

研究課題名(英文) Drinking behavior modulation significantly prevent cardiac remodeling and improve survival in chronic heart failure rats

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) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：慢性心不全患者では心不全増悪による再入院率が高く、その誘因は塩分・水分制限の不徹底が33%と最も多い。心不全患者の治療と生活管理に関する日欧米ガイドラインでは、飲水制限の科学的根拠に乏しく、具体的な指導内容が述べられていない。本研究では、心不全動物モデルで、心不全の病態進行に伴う水代謝の変化を調べて、より生理的に飲水行動を制御した時に心不全の治療効果を検証した。その結果、心不全ラットが病態進行に伴い一回飲む量が増えていた。更に、心筋梗塞後早期の一回の飲む量とその後の生存期間が強い相関性あることを明確し、一回飲む量を制限することで心不全動物の生存率改善する効果を認めました。

研究成果の概要(英文)：Given the lack of knowledge about fluid intake regulation and its consequences in patients with chronic heart failure (CHF), current guidelines do not provide clear direction for fluid management. This study aim to investigate altering drinking behaviors and explored fluid management strategies in a rat model of CHF. We observed that the spontaneous per drinking volume (PDV) was significantly increased in rats with myocardial infarction (MI). There was a significant inverse correlation between the PDV at the second-week post-MI and the post-MI lifespan. Modulating the drinking behavior of rats with MI to involve frequent drinking of small PDVs significantly prevented cardiac remodeling, with a significant improved prognosis. These results suggest that increment of PDV may be a prognostic vicious factor after MI, and increasing the drinking frequency, with small PDVs, may be beneficial for preventing progression of cardiac dysfunction in CHF.

研究分野：医歯薬学

キーワード：Chronic heart failure Drinking behavior Thirst Fluid restriction Survival

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。心不全患者への水分摂取に関しての指導は「のどが渴いたらコップ一杯の水を目安に水分補給をする」のように大ざっぱである。最近、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両論がある。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。私達は、数年前からラットの心不全モデルを利用して新しい治療法開発の研究を進んでいた。心不全ラット実験の長期間観察中に、飲水行動の異常と心不全病態の悪化に何らかの関連があることに気づき、自作した計測装置でラットの飲水量と尿排出量を精確に持続的に記録した。その結果、心不全ラットの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。動物の一回飲水量を渇きの指標として考えると、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渇きの程度が、病態進行に関わる可能性が示唆された。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はたらく可能性がある。

2. 研究の目的

上述の背景から、心不全の水分制限は総量だけではなく、飲水パターンの調節も重要ではないかと考えるに至った。少量頻回の飲水パターンは内部環境への影響が少なく、神経液性調節機構への刺激が少ないので、体液貯留に関与するバソプレッシンなどホルモンの分泌量が減ることが推測される。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、毎日の総飲水量、飲水間隔、1回飲水量を制御した。この新しい飲水パターンによる水分制限治療を6週

間又は6ヶ月実施した後、心不全ラットの心機能と長期生存率を評価した。

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(例えば30分)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) 覚醒動物の血行動態評価

心筋梗塞から回復(1週間)ラットに麻酔科血圧センサーを埋め込み手術を行い。飲水行動制御による短期と長期効果を評価した。

(4) 心臓リモデリングとポンプ機能評価

「飲水行動フィードバック制御」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、新しいパターンで飲水制御治療した後、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)、バソプレッシン(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。

(5) 生存率評価

心筋梗塞後2週間生存した心不全ラットを無作為に飲水行動制御群(20匹)と非制御群(25匹)に分けて、6ヶ月の生存率を評価した。

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。

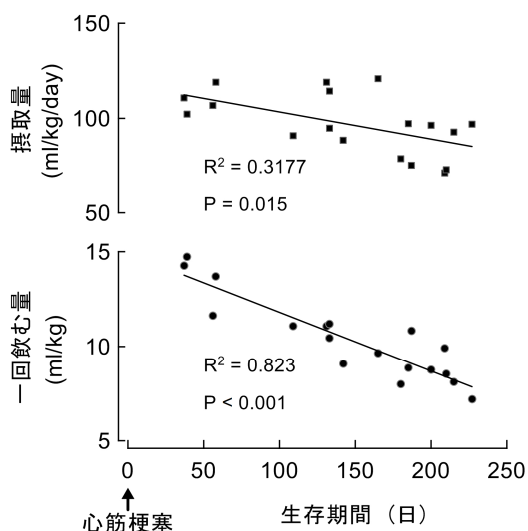


図1 . 心筋梗塞ラットにおける飲水行動と生存期間の関連性。

(2) 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、心筋梗塞後の生存期間を観察した。その結果、一回飲む量制限群の生存率著しく改善した。(図2) 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。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。

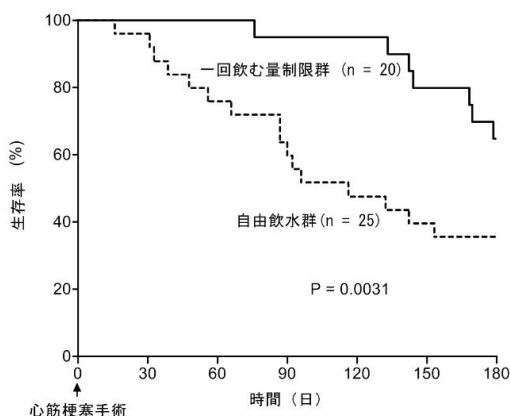


図2 . 飲水行動制御による心筋梗塞ラットの生存率への影響。

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 8 件)

1. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M. Adding the acetylcholinesterase inhibitor, donepezil, to losartan treatment markedly improves long-term survival in rats with chronic

heart failure. 査読有 Eur J Heart Fail. 2014 Oct;16(10):1056-65.

2. Kawada T, Li M, Zheng C, Shimizu S, Uemura K, Turner MJ, Yamamoto H, Sugimachi M. Chronic vagal nerve stimulation improves baroreflex neural arc function in heart failure rats. 査読有 J Appl Physiol. 2014 May15;116(10):1308-14.
3. Uemura K, Inagaki M, Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. A novel technique to predict pulmonary capillary wedge pressure utilizing central venous pressure and tissue Doppler tricuspid/mitral annular velocities. 査読有 Heart Vessels. 2015 Jul;30(4):516-26.
4. Kawada T, Li M, Sata Y, Zheng C, Turner MJ, Shimizu S, Sugimachi M. Calibration of baroreflex equilibrium diagram based on exogenous pressor agents in chronic heart failure rats. 査読有 Clin Med Insights Cardiol. 2015 Feb 3;9 (Suppl 1):1-9.
5. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Sugimachi M. Early and Chronic Vagal Stimulation Markedly Suppresses Arrhythmic Death and Prevents Cardiac Remodeling in Rats after Acute Myocardial Infarction. 査読有 Transactions of Japanese Society for Medical and Biological Engineering. 2014; 52: 0-82-83.
6. Kawada T, Li M, Zheng C, Sugimachi M. Acute Effects of Vagotomy on baroreflex Equilibrium Diagram in Rats with Chronic Heart Failure. 査読有 Clin Med Insights Cardiol. 2016 Aug 28;10:139-47.
7. Kawada T, Akiyama T, Li M, Zheng C, Turner MJ, Shirai M, Sugimachi M. Acute arterial baroreflex-mediated changes in plasma catecholamine concentrations in a chronic rat model of myocardial infarction. 査読有 Physiol Rep. 2016 Aug;4(15). pii: e12880,1-14.
8. Uemura K, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Li M, Fukumitsu M, Sugimachi M. Acute ivabradine treatment reduces heart rate without increasing atrial fibrillation inducibility irrespective of underlying vagal activity in dogs. 査読有 Heart Vessels. 2017 Apr;32(4):484-494. [学会発表](計 17 件)
1. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M. Peripheral α 7-Nicotinic Acetylcholine Receptors Contribute to Cardio-Protective Effects of Central Donepezil Infusion in Chronic Heart Failure Rats. Circulation. 2014; 130: October (AHA 2014).
2. Li M, Zheng C, Sugimachi M. Novel Therapeutic Approach in Heart Failure: Pharmacological Parasympathetic Activation. BIT's 7th Annual International Congress of Cardiology. 2015.12.招待講演

3. Zheng C, Li M, Sugimachi M. Augmented Thirst as a Clue for Fluid Management in Chronic Heart Failure. BIT 's 7th Annual International Congress of Cardiology. 2015.12.招待講演
4. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. Central Donepezil Infusion Prevents Progression of Cardiac Remodeling and Dysfunction in Chronic Heart Failure Rats with Extensive Myocardial Infarction. *Eur Heart J*.2015; 36:P5453 August (ESC 2015).
5. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, T Shishido, Sugimachi M. Contribution of Central Donepezil to Prevention of Cardiac Dysfunction and Improvement of Long-term Survival in Chronic Heart Failure Rats after Myocardial Infarction. *Eur Heart J*.2016; 37:P3118 August (ESC 2016).
6. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, T Shishido, Sugimachi M. Early Donepezil Administration as a Novel Therapy for Improved Myocardial Salvage after Reperfused Myocardial Infarction. *Eur Heart J*.2016; 37:P5617 August (ESC 2016).
7. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, T Shishido, Sugimachi M. Vagal Stimulation Promotes Cardiovascular Regeneration by Activation of Endogenous Cardiac Stem Cells in Acute Myocardial Infarction Rats. *Eur Heart J*.2016; 37:P5248 August (ESC2016).
8. Zheng C, Li M, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M. Prognostic significance of thirst augmentation in chronic heart failure rats. *Eur Heart J*.2016; 37:P4582 August (ESC 2016).
9. Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. Drinking behavioral and hemodynamics responses to daily fluid restriction in chronic heart failure rats. *Eur Heart J*.2016; 37:P5432 August (ESC 2016).
10. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. Early Donepezil Treatment is Superior to Metoprolol for Preventing Cardiac Remodeling in Reperfused Myocardial Infarction Rats. The 79th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 24-26 April 2015. Osaka, Japan.
11. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. Central Donepezil Infusion Prevents Progression of Cardiac Remodeling and Improves Long-term Survival in Chronic Heart Failure Rats with Myocardial Infarction. The 80th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 18-20 March 2016. Sendai, Japan.
12. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. Donepezil but not Metoprolol Improves Myocardial Salvage and Prevents Cardiac Remodeling after Reperfused Myocardial Infarction in Rats. The 81th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 27-29 March 2017. Ishikawa, Japan.
13. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. Donepezil Markedly Prevents the Progression of Cardiac Remodeling and Improves Survival in Spontaneously Hypertensive Rats with Myocardial Infarction. The 81th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 27-29 March 2017. Ishikawa, Japan.
14. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣正司、上村 和紀、杉町 勝. ドネベジル中枢投与の心保護における末梢性 7-ニコチン性アセチルコリン受容体の影響. 第 35 回日本循環制御医学会総会. 2014. 7. 5-6. 福岡、日本
15. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、上村 和紀、宍戸 稔聡、杉町 勝. ドネベジルの早期投与による再灌流心筋梗塞ラットにおける心臓リモデリングの抑制作用. 第 36 回日本循環制御医学会総会. 2015. 6. 5-6. 福岡、日本
16. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、上村 和紀、宍戸 稔聡、杉町 勝. ドネベジル、メトプロロールの早期投与が再灌流心筋梗塞ラットに及ぼす影響. 第 37 回日本循環制御医学会総会. 2016. 7.8-9. 東京、日本
- 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、上村 和紀、杉町 勝. ドネベジル中枢投与の心保護作用における末梢性 7-ニコチン性アセチルコリン受容体の役割. 日本薬学会第 135 年会 25-28 March 2015. Kobe, Japan.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

李 梅花 (LI MEIHUA)

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 : 60443496