

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461081

研究課題名(和文)慢性心不全の新しい治療法～四肢駆血による非薬物療法～

研究課題名(英文)New method for treatment of chronic heart failure ~Non drug treatment using by remote ischemic conditioning~

研究代表者

島田 健永(Shimada, Kenei)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：60326262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Wistar ratsに急性心筋梗塞を作成し、1ヶ月後の慢性心不全状態から毎日、両下肢の虚血5分、再灌流5分のRICを5回施行した。その1ヶ月後に心エコー図にて計測したところ心機能低下の予防が確認された。心筋間質の繊維化抑制、酸化ストレスの抑制が確認出来た。10人の慢性心不全患者(左心機能40%以下)、冠血流予備能(coronary flow reserve; CFR)は 1.9 ± 0.4 から 2.3 ± 0.7 と有意に改善した。

研究成果の概要(英文)：Rats were separated into the untreated (UT) group or the RIC-treated group. RIC treatment was performed by 5 cycles of 5 min of bilateral hindlimb ischemia and 5 min of reperfusion once a day for 4 weeks. MI size, LVEF was improved in the RIC group v.s the UT group. The LVEF in the RIC was improved. RIC treatment also prevented the deterioration of LV diastolic function. MI-induced LV interstitial fibrosis in the boundary region and oxidant stress were significantly attenuated by RIC. MicroRNA-29a (miR-29a) was highly expressed in the exosomes and the marginal area of the RIC. Insulin-like growth factor 1 receptor was highly expressed both in the exosomes and remote non-infarcted myocardium of the RIC group. Ten patients with HF, RIC treatment was performed twice a day for 1 week. 4 cycles of 5 minutes inflation and 5 minutes deflation of a blood pressure cuff to create intermittent arm ischemia. RIC treatment increased CFR from 1.9 ± 0.4 to 2.3 ± 0.7 in patients with HF ($P < 0.03$).

研究分野：循環器

キーワード：心不全 プレコンディショニング リハビリテーション 冠血流予備能 micro-RNA

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症が糖尿病、癌、腎臓病、心血管病の重要なキーワードであることがわかってきた。慢性心不全の病態生理として、初期のポンプ失調からはじまり、持続性の様々な代償機構の活性化がある。交感神経系、レニン/アンジオテンシン系、サイトカイン系の活性化が基礎、臨床の両面から証明されている。慢性心不全患者に於いて、炎症性メディエーターである TNF- α 、IL-6、TGF- β が活性化し、この持続的な活性化が更なる心筋ダメージを引き起こし、心筋リモデリングを進行させる。すなわち、慢性心不全進展抑制は慢性炎症の抑制である。従来 β -ブロッカーやアンジオテンシン変換酵素阻害薬や受容体拮抗薬に加えて、エンドセリン、アルドステロン、TNF- α などのホルモンやサイトカインの拮抗薬が将来的な治療法として考案され一部臨床応用されている。しかしながら、その効果は限局的であり日本のみならず世界的にも慢性心不全は増加傾向にあり有効な手段は発見できていない。

1986年に初めて、心臓に於いて ischemic preconditioning 効果が確認された。Ischemia-reperfusion において短時間の虚血を数回前もって行えば、かなりの心筋保護効果が得られた。数多くの基礎実験に於いてそのメカニズムは、NO, HSP70 の活性化や、カテコラミン overflow や炎症性メディエーターの抑制である。これらのメディエーターになるのがミトコンドリア ATP-sensitive potassium channel の活性化や reperfusion injury salvage kinase の増加、mitochondrial permeability transition pore 解放の抑制である。

2007年に初めて、四肢駆血による remote ischemic conditioning (RIC)効果が豚冠動脈閉塞モデルにおいて心筋梗塞サイズを減少させることが報告された。急性心筋梗塞

患者のインターベンション前の四肢駆血が心筋梗塞サイズを減少させたとの randomized control study が報告された。遠隔(四肢)での虚血状態が心臓に対して保護的に作用することが臨床でも確認された。また、心臓バイパス手術前に下肢の虚血を 10 分施行すれば、予後が改善されることが最近報告された。

2. 研究の目的

RIC 効果は急性心筋梗塞や手術前の臓器保護効果において研究されているが、慢性心不全に対する研究はまだ皆無である。我々の研究が世界初の取り組みになる。現在までの基礎や臨床の発表データを解析すると慢性心不全に対しても保護的に作用すると考えられた。

このことが証明されると、自宅で手軽に利用できる非薬物の心臓リハビリテーションを行うことが可能になる。

慢性心不全のリハビリテーションは自宅において一人でいかに手軽に行えるかが今後の大きなキーポイントとなってくる。高齢化社会の時代を迎え、慢性心不全患者の年齢も 80 歳を超えていることは日常茶飯事である。毎日、繰り返し、低コストで行えるリハビリテーションが求められる。

3. 研究の方法

ラット慢性心不全モデルにおける下肢虚血効果

簡易な人用両側上腕駆血器の作成

慢性心不全患者に対する RIC の短期効果

4. 研究成果

ラット慢性心不全モデルにおける下肢虚血効果を検討した。

Wistar rats に急性心筋梗塞を作成し、1ヶ月後の慢性心不全状態から毎日、両下肢の虚血 5 分、再灌流 5 分の RIC を 5 回施

行した(図1)。その1ヶ月後に心エコー図にて計測したところ表1のように心機能低下の予防が確認された。また、心筋間質の繊維化抑制、酸化ストレスの抑制が確認出来た(図2)。

MicroRNA-29a (miR-29a)は組織繊維化の重要な調節因子であるが、心筋梗塞周辺部位において RIC 群で有意に増加していた。また、エクソソーム(exosomes)においても RIC 群で有意に miR-29a が増加していた(図3)。

Insulin-like growth factor1 receptor (IGF-1R)もmiR-29aと同様に、RIC群で非心筋梗塞部位とエクソソームで増加していた。

RICは酸化ストレス抑制、心臓リモデリング抑制効果を示したが、この機序にエクソソームを介した細胞間どうしの相互作用が関与していることが考えられた。

図1実験プロトコル

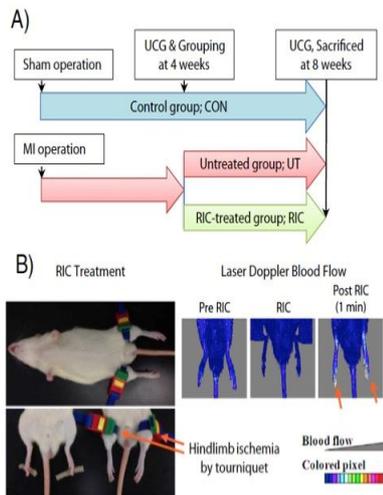


表1 心エコー図による計測

	4 weeks after MI (baseline)			8 weeks after MI (baseline)		
	CON	UT	RIC	CON	UT	RIC
Dd (mm)	8.1 ± 0.1	10.2 ± 0.2*	10.1 ± 0.2	8.4 ± 0.2	10.5 ± 0.3*	9.9 ± 0.2
Ds (mm)	5.3 ± 0.1	8.4 ± 0.2*	8.2 ± 0.2	5.5 ± 0.2	8.7 ± 0.3*	7.9 ± 0.3**
FS (%)	34.5 ± 0.8	17.9 ± 1.3*	19.3 ± 1.4	33.9 ± 2.0	17.5 ± 1.2*	20.3 ± 1.5
EDV (μl)	391 ± 14	790 ± 7.1*	740 ± 29	420 ± 19	954 ± 79*	697 ± 53**
ESV (μl)	160 ± 11	484 ± 5.1*	462 ± 29	161 ± 10	577 ± 58*	413 ± 41**
EF (%)	61.9 ± 0.8	42.1 ± 1.5*	42.8 ± 1.9	61.9 ± 0.9	37.9 ± 2.0***	47.3 ± 2.4*
E (cm/s)	67.7 ± 3.1	78.7 ± 4.1	73.7 ± 2.9	68.8 ± 3.4	69.7 ± 4.2	67.9 ± 4.1
A (cm/s)	44.1 ± 2.3	47.6 ± 3.2	50.9 ± 2.6	45.6 ± 1.9	47.8 ± 3.7	52.3 ± 2.4
E/A	1.6 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.3 ± 0.1
e' (cm/s)	3.4 ± 0.1	3.9 ± 0.2	3.6 ± 0.3	3.9 ± 0.3	3.9 ± 0.2	4.1 ± 0.2**
E/e'	19.6 ± 0.6	21.9 ± 2.2	21.2 ± 1.7	17.8 ± 1.6	24.3 ± 2.5*	15.9 ± 0.9****

MI, myocardial infarction; CON, control group; UT, untreated group; RIC, remote ischemic conditioning group; LVDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVSD, left ventricular end-systolic diameter; FS, fractional shortening; LVEDV, left ventricular end-diastolic volume; LVESV, left ventricular end-systolic volume; EF, ejection fraction; E/A, ratio of E wave velocity to A wave velocity; E/A, ratio of E wave velocity to A wave velocity. All data are presented as mean ± SEM.

* P < 0.05 (comparison between CON and UT at each week).

** P < 0.05 (comparison between UT and RIC at each week).

*** P < 0.05 (comparison between the parameters of 4 and 8 weeks in each group).

図2心室重量、心筋繊維化、酸化ストレスの評価

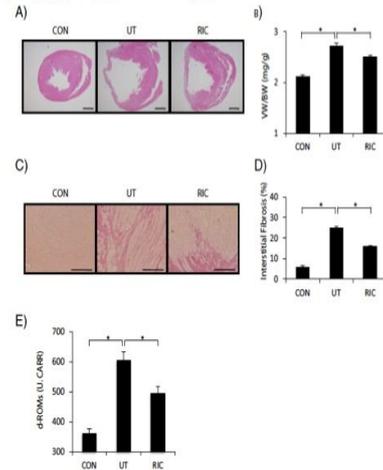
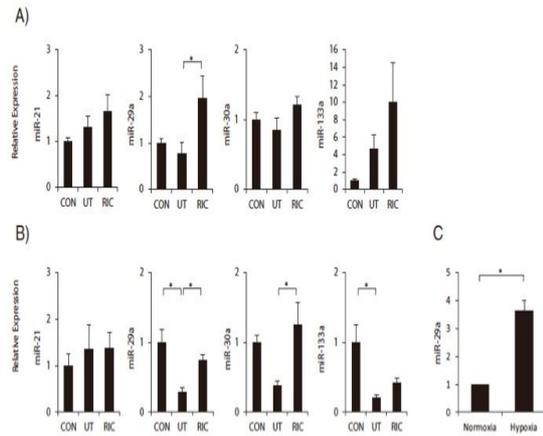


図3Micro RNAの発現



簡易な両側上腕駆血器の作成

テルモ社と協同で図4の写真のような器具を作成した。ボタン一つで5分駆血(圧設定自由)5分解放、合計5回を自動的に施行できる。電池で長時間作動し、持ち運びも簡便で大きさもコンパクトである。これにより自分1人でどこでも(自宅はもちろん)施行できるようになった。



慢性心不全患者に対する RIC の短期効果

10 人の慢性心不全患者（左心機能 40% 以下）と 10 人の健常者に対して、図 4 の器具を用いて、両側上腕を血圧 200mmHg で 5 分駆血、5 分解放を連続 4 回施行した。この駆血を朝、夕と 1 日 2 セット 7 日間施行した。

冠微小循環を表す冠血流予備能(coronary flow reserve; CFR)は、慢性心不全患者において心機能の低下や長期予後の明確な規定因子である。我々の報告では、CFR2.1以下は将来の心不全発症の有力な予測因子である。すなわち、慢性心不全の治療はCFRの改善と言っても過言ではない。7日後のCFRは心不全群において 1.9 ± 0.4 から 2.3 ± 0.7 と有意に改善した。これは将来の心不全発症を強く抑制する可能性がある。

また、健常者においても 4.0 ± 0.9 から 4.6 ± 1.3 と有意に改善した（図5）。炎症性サイトカインのIL-6, TNF- α も減少傾向にあり、慢性炎症抑制の短期間での効果とそれによる冠微小循環の改善が示された（表2）。すべての患者において、上肢を駆血することに関して、痛みや堪え難いしびれ感はなく 5 分間の駆血は十分堪えられる範囲であり、繰り返し可能であった。

図5 健常者と慢性心不全患者のRIC治療1週間後の冠血流予備能の変化

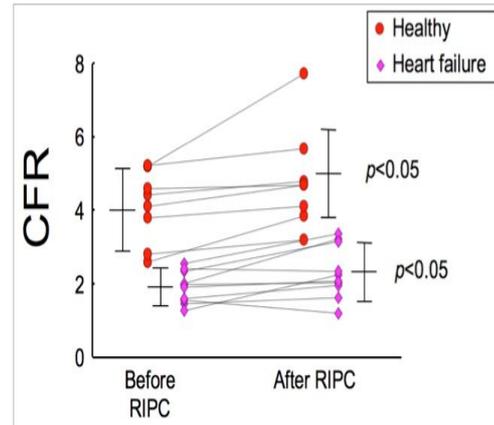


表2 RIC前後での血清因子の測定

Variables	Healthy subjects		HF patients	
	Before RIC	After RIC	Before RIC	After RIC
White blood cell count (cells/mm ³)	5,363±705	5,470±1,358	7,247±2,550	6,831±2,212
Total cholesterol (mg/dL)	178±20	175±20	186±57	189±64
LDL cholesterol (mg/dL)	104±19	98±22	110±51	115±52
HDL cholesterol (mg/dL)	57±12	57±13	43±14	42±15
Triglyceride (mg/dL)	86±35	101±32	166±86	161±106
CRP (mg/dL)	0.06±0.14	0.12±0.16	0.46±0.59	0.37±0.51
TNF- α (pg/mL)	-	-	2.11±1.67	1.76±1.31
Interleukin-6 (pg/mL)	-	-	8.7±9.3	3.6±2.4
Troponin T (ng/mL)	-	-	0.039±0.031	0.028±0.022
BNP (pg/mL)	-	-	208±260	121±172

Note: Data are presented as mean value \pm standard deviation. Abbreviations: BNP, brain natriuretic peptide; CRP, C-reactive protein; HDL, high-density lipoprotein; HF, heart failure; LDL, low-density lipoprotein; RIC, remote ischemic conditioning; TNF- α , tumor necrosis factor- α .

慢性心不全の薬物療法はある程度臨界点に達しているように思える。今まさに薬物療法と併用する違ったアプローチの治療が求められている。しかも、安価で、継続可能で、自分で、自宅で、非侵襲的な home made rehabilitation の形が理想として求められている。四肢駆血は血圧計の組み合わせと簡単なプログラミングで作られ、将来は安価で大量生産が可能である。今後の研究において、より確実に慢性心不全に対する効果が証明されれば、自宅において自分で施行することが可能で、今後増大する一方の慢性心不全患者の入院回数の低下、ADLの改善、死亡率の減少など大きな経済的メリットが考えられる。

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)

- 島田 健永、慢性心不全の新しい治療法～四肢駆血による非薬物療法～、*Medical Science Digest*、査読なし、42巻、2016、2-7、
- 島田 健永、慢性心不全の新しい治療法～四肢駆血による非薬物療法～、細胞、査読なし、48巻、2016、27-32、
Takehiro Yamaguchi、Yasukatsu Izumi、Yasuhiro Nakamura、Takanori Yamazaki、Masayuki Shiota、Soichi Sano、Masako Tanaka、Mayuko Osada-Oka、Kenei Shimada、Katuyuki Miura Minoru Yoshiyama、Hiroshi Iwao、Repeated remote ischemic conditioning attenuates left ventricular remodeling via exosome-mediated intercellular communication on chronic heart failure after myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*、査読あり、178巻、2015、239-246
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.10.144>
- Yasushi Kono、Shota Fukuda Akihisa Hanatani、Koki Nakanishi、Kenichiro Otsuka、Haruyuki Taguchi、Kenei Shimada、Remote ischemic conditioning improves coronary microcirculation in healthy subjects and patients with heart failure、*Drug Design, Development and Therapy*、査読あり、8巻、2014、1175-1181
<http://dx.doi.org/10.2147/DDDT.S68715>

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者
島田 健永 (SHIMADA Kenei)
大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：60326262

(2)研究分担者
なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者
なし ()

研究者番号：

(4)研究協力者
なし ()