

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670080

研究課題名(和文)心不全合併例には禁忌とされている認知症治療薬ドネペジルの真実：抗心不全作用

研究課題名(英文)Anti-Alzheimer drug donepezil is not cardiodepressive but cardioprotective.

研究代表者

佐藤 隆幸 (SATO, Takayuki)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授

研究者番号：90205930

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：高齢化に伴い患者数の増加が続いている慢性心不全に対する画期的治療薬の開発は、先進諸国にとって急務の課題である。本研究では、「心不全合併症例への投与が禁忌となっているアルツハイマー病治療薬ドネペジル(以下、DNP)が抗心不全作用を有しているのではないか」、との作業仮説を立て、動物実験により仮説を検証するとともにその作用機序をあきらかにした。

ラット単離心筋細胞のストレス応答に関連する情報伝達系(Akt, HIF-1, bcl-2)の転写活性を上昇させることにより、心筋虚血耐性を増強させ、抗心不全作用を発揮することがあきらかになった。

研究成果の概要(英文)：Our previous studies reported that an oral low dose of donepezil, an acetylcholinesterase (AChE) inhibitor against Alzheimer's disease, prevented ventricular remodeling and dysfunction after large myocardial infarction in rats without a bradycardiac effect, and that vagal nerve stimulation protected the heart against ischemia-induced ventricular tachyarrhythmias independent of a heart rate-slowing mechanism.

This study demonstrated that pretreatment with acetylcholine (ACh), a neurotransmitter of cardiac vagal nerve endings, salvaged in vitro cardiomyocytes from prolonged hypoxia-induced cell death by preserving mitochondrial function and activating cell survival signals including PI3K/Akt/HIF-1/VEGF and that ACh prevented hypoxia-induced loss of gap-junction channels to maintain cell-to-cell communication and electrical stability.

From these results, we conclude that donepezil is a potent anti-heart failure drug.

研究分野：循環制御学、医工学

キーワード：臨床薬学

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 臨床的背景

申請者は、これまで、アンジオテンシン変換酵素阻害薬の中枢を介した抗心不全作用、迷走神経電気刺激による抗不整脈作用・抗心不全作用を病態生理学的実験によってあきらかにしてきた。引き続き、新規抗心不全薬の探索を続けているなかで、興味深い臨床症例を経験した。いずれも、本学附属病院精神科を初診し、申請者と共同研究を行っている循環器内科との共診になったアルツハイマー病の症例である。DNP (3-5mg/day) による薬物療法開始後、消化器症状や易興奮性などの副作用が出現し、2~6ヶ月後に投与中断または中止となった症例のうち、治療の前後で血漿脳型ナトリウム利尿ペプチド (BNP) の測定が行われていたものを集めて解析した。1例を除いて、DNP 投与後、BNP レベルが低下し、投与中止によって元のレベルに戻るといったパターンを示していた。全例で経過中に有意な心拍数の低下や心疾患をドキュメントされることはなかった。申請者は、このような結果から、DNP が血漿 BNP を何らかの機序により低下させる可能性があるのではないかと、との着想にいたった。一方、血漿 BNP の上昇は、心血管系イベントと総死亡の有意な危険予知因子であるとする大規模臨床試験の結果が報告されている。このような臨床上的観察結果および臨床的エビデンスから、DNP に抗心不全効果があるのではないかと、との仮説を着想するにいたった。

### (2) 学術的な特色及び予想される結果と意義: 「臨床観察から生まれた逆転の着眼点」

DNP は、アルツハイマー病治療薬として位置づけられているが、心疾患を有する症例には、慎重投与あるいは、禁忌となっている。しかし、申請者の臨床観察結果は、DNP が抗心不全作用を有する可能性があり、心疾患を有する症例への投与は、安全であるばかりでなく、むしろ、心疾患による死亡率を低減する可能性をも示唆している。心疾患を有する症例に対して投与制限すべきであるという従来の考え方から脱皮する、いわば逆転の着眼点は、本研究における大きな特色である。

## 2. 研究の目的

高齢化に伴い患者数の増加が続いている慢性心不全に対する画期的治療薬の開発は、先進諸国にとって急務の課題である。本研究では、「心不全合併症例への投与が禁忌となっているアルツハイマー病治療薬ドネペジル (以下、DNP) が抗心不全作用を有しているのではないかと、との作業仮説を立て、動物実験により仮説を検証するとともにその作用機序をあきらかにする。従来の研究では、DNP は、中枢性アセチルコリンエステラーゼ阻害作用を持つ薬剤として位置づけられてきた。しかし、ごく最近、申請者によって、DNP が心筋細胞および内皮細胞に直接作用し

て、HIF-1、VEGF などの細胞生存シグナルの誘導をおこなうことがあきらかにされた。このような心筋細胞および内皮細胞に対する直接作用を有する DNP の抗心不全効果を検証することは、挑戦に値する課題である。

## 3. 研究の方法

### 【目的】

認知症の治療薬として開発され、心不全には禁忌とされているドネペジルに抗心不全効果が期待できるか否かを動物実験であきらかにすることである。

### 【全体構想】

全体構想における特徴として、研究期間の初期に in vivo 実験系を用いて個体・器官レベルの研究を行い、後期に in vitro 実験系を用いて細胞・分子レベルでの研究を行い、ドネペジル (以下、DNP) の抗心不全効果およびその作用機序をあきらかにする。

### 【平成 26 年度】

(1) DNP の心筋梗塞心不全ラットの生命予後に与える影響の評価

#### 目的および動物モデル

慢性心不全に対する治療法の開発研究の第一歩として実施される動物実験においては、心不全モデルの選定が重要である。本研究では、心筋梗塞心不全モデルを冠動脈結紮 Wistar ラットで作成し、生命予後を調査した。

生命予後を観察する期間および症例数の設定

正常ラットの平均寿命は、約 3 年である。左心室の 40-50% が梗塞におちいった冠動脈結紮 Wistar ラットの平均生存期間 (急性期 2 週間の死亡を除く) は 4 ヶ月である。したがって、生命予後を観察する期間を最長 6 ヶ月に設定する。症例数は、非治療群と治療群 (低用量・高用量) の各群における登録目標数をそれぞれ 50 匹とした。

#### 実験手順

麻酔下で左冠状動脈を結紮し心筋梗塞モデルを作成した。術後 2 週間後まで生存している心不全ラットを無作為に無治療群、低用量治療群 (DNP 1 mg/kg/day)、高用量治療群 (DNP 5 mg/kg/day) に割り付け、生命予後を観察した。DNP は水溶性であることから飲料水に混入して投与した。なお、DNP の開発研究で得られた結果から、ヒトに DNP を経口的に 0.1 mg/kg/day 投与 (臨床用量相当) したのと同様の生物学的反応が、ラットの場合 5 mg/kg/day の用量で現れることが知られている。

#### 統計解析方法

Kaplan-Meier 法による生存分析を行い、治療が生存率に与える影響を統計学的に検定した。

## (2) DNPの心不全ラットの心機能に与える影響の評価

### 目的

DNPが不全心の拡張能・収縮能に与える影響をランゲンドルフ灌流標本を用いて評価した。

### 実験手順

プロトコール(1)と同様の手順で、心不全モデルを作成し、DNP投与期間中4週毎に無作為に選んだラットから心臓を摘出し、ランゲンドルフ灌流標本を用いて、圧容積関係を評価した。

## (3) DNPの不全心におけるACh合成に与える影響の評価

### 目的および実験手順

不全心を用いて、DNPのACh合成系遺伝子および蛋白発現に与える影響をRT-PCR法、蛋白免疫電気泳動法および免疫組織化学法により評価した。すなわち、AChの細胞内合成の律速段階酵素choline acetyltransferase (ChAT)、AChの貯蔵・運搬に参与するvesicular ACh transporter (VACHT)の発現に与えるDNPの影響を評価した。

### 【平成27年度】

DNPの単離心筋細胞におけるシグマ受容体を介したACh合成に与える影響の評価

DNPがシグマ受容体を介してACh合成系をどのように変化させるかを細胞学的・分子生物学的に検討した。

## 4. 研究成果

(1) DNPの心不全ラットの生命予後に与える影響

DNP治療群では、非治療群に比べ、48%の生存率の改善が見られた。

(2) DNPの心機能に与える影響

DNP治療群では、非治療群に比べ、Eesが約20%高く、VOが約10%低く保たれていた。この結果は、DNPにより、収縮性が保たれ、リモデリングが抑制されていることを示す。

(3) DNPの心筋内ACh合成系に与える影響

DNP治療群では、心筋内ChATの発現が有意に高く、Akt、HIF-1等の心筋虚血耐性を増強させる因子の転写活性が上昇していた。

以上の結果は、DNPが心筋内ACh系を賦活し、心機能を温存してリモデリングを抑制することにより、心不全の生命予後を改善する可能性が高いことを示すものである。

## 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11件)

Namikawa T, Sato T, Hanazaki K. Recent advances in near-infrared fluorescence-guided imaging surgery using indocyanine green. *Surg Today*. 2015; 45: 1467-1474. 査読有.  
doi: 10.1007/s00595-015-1158-7.

Izumi M, Ikeuchi M, Aso K, Sugimura N, Kamimoto Y, Mitani T, Ueta T, Sato T, Yokoyama M, Sugiura T, Tani T. Less deep vein thrombosis due to transcutaneous fibular nerve stimulation in total knee arthroplasty: a randomized controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2015; 23: 3317-3323. 査読有.  
doi: 10.1007/s00167-014-3141-z.

Yamamoto M, Orihashi K, Nishimori H, Handa T, Kondo N, Fukutomi T, Sato T. Efficacy of intraoperative HyperEye Medical System angiography for coronary artery bypass grafting. *Surg Today*. 2015; 45: 966-972. 査読有.  
doi: 10.1007/s00595-014-1015-0.

佐藤隆幸. 迷走神経刺激療法の基礎と臨床. *細胞*. 2015; 47: 320-323. 査読無.

Aiba T, Noda T, Hidaka I, Inagaki M, Katare RG, Ando M, Sunagawa K, Sato T, Sugimachi M. Acetylcholine suppresses ventricular arrhythmias and improves conduction and connexin-43 properties during myocardial ischemia in isolated rabbit hearts. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2015; 26: 678-685. 査読有. doi: 10.1111/jce.12663.

Ushiwaka T, Maeda N, Kunimi Y, Sugimoto T, Hanazaki K, Sato T, Fukata T. Treatment of a large, symptomatic refractory lymphocele after pelvic lymphadenectomy by using the hypereye medical system TM. *J Gynecol Surg*. 2015; 31: 61-65. 査読有.

Namikawa T, Uemura S, Kondo N, Yamamoto M, Maeda H, Nishimori H, Sato T, Orihashi K, Kobayashi M, Hanazaki K. Successful preservation of the mesenteric and bowel circulation with treatment for a ruptured superior mesenteric artery aneurysm using the HyperEye Medical System. *Am Surg*. 2014; 80: e359-e361. 査読有.

佐藤隆幸. 血圧の自律神経制御と起立性低血圧. *Clinical Neuroscience* 2014; 32: 1354-1357. 査読無.

Arikawa M, Kakinuma Y, Noguchi T, Sato T. Donepezil, therapeutic acetylcholinesterase inhibitor, prevents the progression of ventricular dysfunction by promoting myocardial glucose utilization in rat model of chronic heart failure following myocardial infarction. *Cardiol Pharmacol*. 2014; 3 (121) 査読有.  
doi: 10.4172/2329-6607.1000121.

Noguchi T, Kakinuma Y, Arikawa M, Okazaki K, Hoshino E, Iiyama T, Kubo T, Kitaoka H, Doi Y, Sato T. Donepezil can improve ischemic muscle atrophy by activating angiomyogenic properties of satellite cells. *Circ J*. 2014; 78: 2317-2324. 査読有.  
doi.org/10.1253/circj.CJ-14-0095.

Kakinuma Y, Noguchi T, Okazaki K, Oikawa S, Iketani M, Kurabayashi M, Furihata M, Sato T. Antimuscle atrophy effect of nicotine targets muscle satellite cells partly through an  $\alpha 7$  nicotinic receptor in a murine hindlimb ischemia model. *Transl Res*. 2014; 164: 32-45. 査読有.  
doi: 10.1016/j.trsl.2014.02.005.

[学会発表](計29件)

山本正樹. 冠動脈グラフトに与える自己冠動脈血流の影響を HEMS 血管造影法により評価する. 第 46 回日本心臓血管外科学会学術総会. 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市) 2016.2.15.

戸高 寛. 過剰発現した NF90-NF45 複合体は筋サテライト細胞発生のマスター因子である Pax7 の発現増加を引き起こす. 第 38 回日本分子生物学会年会. 神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市) 2015.12.3-4.

佐藤隆幸. 超人眼と近赤外蛍光インプラントの医療応用. 第 13 回医療機器フォーラム. 東京大学医学部鉄門記念講堂 (東京都) 2015.10.23.

Yamamoto M. Quantitative assessment of coronary artery bypass grafting via HyperEye Medical System angiography. American College of Surgeon the 2015 Clinical Congress. Chicago, USA. 2015.10.5.

Anayama T. ICG fluorescence localization of small sized pulmonary nodules for VATS. 16th world Conference for Lung Cancer 2015. Denver, USA. 2015.9.8.

山本正樹. HEMS-ICG 血管造影法による冠動脈バイパス吻合部評価法の開発. 第 106 回日本循環器学会中国四国合同地方会. 松山市総合コミュニティセンター (愛媛県松山市) 2015.6.19.

山本正樹. バイパス血流評価における HEMS 血管造影法の有用性とピットフォール. 第 43 回日本血管外科学会学術総会. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) 2015.6.4.

Yamamoto M. The graft assessment for cabg by qualitative and quantified procedure. 23rd Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery. Hong Kong, China. 2015.5.12-13.

有川幹彦. 抗認知症薬ドネペジルの抗心不全作用について. 第 2 回ニューロネットワークと循環研究会, ステーションコンファレンス東京 (東京都) 2015.5.9.

Arikawa M. Donepezil, therapeutic acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW 264.7 through inhibition of NF- $\kappa$ B translocation. 第 79 回日本循環器学会. 大阪国際会議場 (大阪府大阪市) 2015.4.25.

Yamamoto M. Efficacy of the quantitative assessment for intraoperative coronary artery bypass grafting with HEMS ICG angiography. 第 79 回日本循環器学会. 大阪国際会議場 (大阪府大阪市) 2015.4.24.

佐藤隆幸. 近赤外光を用いたカラーイメージング装置. OPIE'15, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) 2015.4.24.

穴山貴嗣. Localization of small-sized pulmonary nodules using near-infrared fluorescence thoroscopes. 第 115 回日本外科学会学術集会. 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市) 2015.4.17.

Arikawa M. Donepezil, acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage RAW 264.7 through inhibition of NF- $\kappa$ B translocation. 第 92 回日本生理学会大会. 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市) 2015.3.21-23.

並川 努. ICG による近赤外蛍光を利用し

たHyperEye Medical Systemの腹部緊急手術への適用. 第51回日本腹部救急医学会総会. 国立京都国際会館.(京都府京都市) 2015.3.5-6.

山本正樹. HEMS-ICG 血管造影法の pit fall~末梢血管バイパス術の一例から~. 第105回日本循環器学会四国地方会. 高松商工会議所(香川県高松市) 2014.12.6.

並川 努. インドシアニングリーンを用いた近赤外蛍光による血流評価システムの腹部緊急手術への応用. 第76回日本臨床外科学会総会. 郡山市民文化センター他(福島県郡山市) 2014.11.20-22.

並川 努. 腹部緊急手術におけるICGによる近赤外蛍光を利用したHyperEye Medical Systemの有用性. 第102回日本消化器病学会四国支部例会. サンポートホール高松(香川県高松市) 2014.11.2-3.

有川幹彦. ドネペジルは、RAW264.7マクロファージにおいて、LPS刺激で誘発されるNF- $\kappa$ Bの核移行を抑制することにより抗炎症作用を示す. 第66回日本生理学会中国四国地方会. 情報通信交流会館 e-とびあ・かがわ(香川県高松市) 2014.11.1.

山崎文靖. 人工的動脈圧反射装置の現況. 第67回日本自律神経学会. ラフレさいたま(埼玉県さいたま市) 2014.10.30.

21 Yamamoto M. Efficacy of intraoperative HyperEye Medical System angiography for coronary artery bypass grafting. American College of Surgeon the 100th Clinical Congress. San Francisco, USA. 2014.10.26-30.

22 並川 努. 腹部緊急手術におけるインドシアニンググリーンによる近赤外蛍光を利用した血流評価の有用性. 第46回日本臨床分子形態学会学術集会. TKP 市ヶ谷カンファレンスセンター(東京都) 2014.10.17-18.

23 牛若昂志. 近赤外線リンパ管蛍光造影法を用いて完治した難治性術後巨大骨盤リンパ嚢胞の1例. 第52回日本癌治療学会学術集会. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市) 2014.8.28-30.

24 野口達哉. 下肢急性動脈閉塞にて治療に難渋中のPAD患者: Non-stenting zoneの血栓をEVTでどう処理するか? 第9回Japan Endovascular Symposium 東京慈恵会医科大学(東京都) 2014.8.28-29.

25 野口達哉. 続・ドネペジルの末梢動脈疾患

(PAD)治療薬としての可能性 - Donepezil activates angiomyogenic properties of satellite cells - 第4回Shikoku Symphony研究会. 土佐ロイヤルホテル(高知県安芸郡芸西村) 2014.8.2-3.

26 山本正樹. 冠動脈バイパスに与える自己冠動脈血流の影響 術中ICG冠動脈造影法における検討. 第104回日本循環器学会中国四国地方会. 岡山コンベンションセンター(岡山県岡山市) 2014.7.18-19.

27 有川幹彦. ドネペジルは心筋梗塞ラットの心筋糖代謝を亢進させることにより心筋保護作用を示す. 第35回日本循環制御医学会. 九州大学医学部百年講堂(福岡県・福岡市) 2014.7.4.

28 佐藤隆幸. 心臓迷走神経の役割は迷走にあらざ、命操である. 第1回ニューロネットワークと循環研究会. 東京都ロイヤルパークホテル(東京都) 2014.5.10.

29 杉本健樹. 長期経過症例からみたカラー蛍光カメラ HEMS (HyperEye Medical System)を用いた乳癌 ICG 蛍光センチネルリンパ節生検の有用性. 第114回日本外科学会定期学術集会. 国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都(京都府京都市) 2014.4.3-5.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 隆幸 (SATO, Takayuki)  
高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授  
研究者番号: 90205930

### (2) 研究分担者 なし

### (3) 連携研究者

有川 幹彦 (ARIKAWA, Mikihiko)  
高知大学・教育研究部自然科学系理学部門・准教授  
研究者番号: 20432817

野口 達也 (NOGUCHI, Tatsuya)  
高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・助教  
研究者番号: 50566495

山崎 文靖 (YAMASAKI, Fumiyasu)  
高知大学・医学部附属病院・特任教授  
研究者番号: 10243841