慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

| | |
|---|---|
| Title | たこつぼ型心筋症の分子機序の解明 |
| Sub Title | Molecular mechanism of Takotsubo cardiomyopathy |
| Author | 福田, 恵一(Fukuda, Keiichi)<br>荒井, 隆秀(Arai, Takahide)<br>金澤, 英明(Kanazawa, Hideaki)<br>助川, 博章(Sukegawa, Hiroaki)<br>田部井, 亮太(Tabei, Ryota)<br>宗形, 昌儒(Munakata, Masahito) |
| Publisher | |
| Publication year | 2016 |
| Jtitle | 科学研究費補助金研究成果報告書 (2015. ) |
| JaLC DOI | |
| Abstract | 本研究では痙攣を誘発することによりたこつぼ型心筋症を発症するマウス・ラットモデルを開発し, これを用いて, たこつぼ型心筋症発症のメカニズム解明を目指した。まず逆行性トレーサーにより左室心尖部を支配する交感神経は左側の星状神経節を介して, 中枢は主に視床下部傍室核付近に存在することが明らかとなった。左室心尖部を支配する交感神経の中枢をマイクロサンプリングし, DNAマイクロアレイを用いた解析より同部位がCCL2などにより活性化され,<br>その興奮が末梢に伝達していることが示唆された。さらに, 星状神経節において,<br>ニューロペプタイドY(NPY)の発現が上昇していることが確認された。<br>Big emotional or physical stress may lead to an imbalance in the brain, resulting in Takotsubo cardiomyopathy (TC), transient left ventricular (LV) apical ballooning. We first confirmed the central neurons of cardiac sympathetic nerves in the hypothalamus innervating the LV apex, and investigated the changes in gene expression in an animal model of TC induced by epilepsy, a clinical trigger of TC. We found that chemokine ligand 2 (Ccl2) strongly stimulated the central neurons of the cardiac sympathetic nerves. Consequent upstream sympathetic activation induced significant upregulation of neuropeptide Y (NPY) in the left stellate ganglion (LSG) and cardiac sympathetic nerves. Administration of Ccl2 into the central neurons evoked TC and increased NPY at LSG. Overall, our results provide the first evidence as to how emotional or physical stress translates into molecular signals in the brain, leading to LV apical ballooning. |
| Notes | 研究種目：基盤研究(A)(一般)<br>研究期間：2012～2014<br>課題番号：24249048<br>研究分野：分子生物学 |
| Genre | Research Paper |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_24249048seika |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

# 科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２８ 年　 ６ 月　 ２ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(A)（一般）
研究期間：2012～2014
課題番号：２４２４９０４８

研究課題名（和文）たこつぼ型心筋症の分子機序の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanism of Takotsubo cardiomyopathy

研究代表者
福田　恵一（Fukuda, Keiichi）

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：２０１９９２２７

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　34,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では痙攣を誘発することによりたこつぼ型心筋症を発症するマウス・ラットモデルを開発し、これを用いて、たこつぼ型心筋症発症のメカニズム解明を目指した。
まず逆行性トレーサーにより左室心尖部を支配する交感神経は左側の星状神経節を介して、中枢は主に視床下部傍室核付近に存在することが明らかとなった。左室心尖部を支配する交感神経の中枢をマイクロサンプリングし、DNAマイクロアレイを用いた解析より同部位がCCL2などにより活性化され、その興奮が末梢に伝達していることが示唆された。さらに、星状神経節において、ニューロペプタイドY(NPY)の発現が上昇していることが確認された。

研究成果の概要（英文）：Big emotional or physical stress may lead to an imbalance in the brain, resulting in Takotsubo cardiomyopathy (TC), transient left ventricular (LV) apical ballooning. We first confirmed the central neurons of cardiac sympathetic nerves in the hypothalamus innervating the LV apex, and investigated the changes in gene expression in an animal model of TC induced by epilepsy, a clinical trigger of TC. We found that chemokine ligand 2 (Ccl2) strongly stimulated the central neurons of the cardiac sympathetic nerves. Consequent upstream sympathetic activation induced significant upregulation of neuropeptide Y (NPY) in the left stellate ganglion (LSG) and cardiac sympathetic nerves. Administration of Ccl2 into the central neurons evoked TC and increased NPY at LSG. Overall, our results provide the first evidence as to how emotional or physical stress translates into molecular signals in the brain, leading to LV apical ballooning.

研究分野：分子生物学

キーワード：脳心連関

## １．研究開始当初の背景

心臓支配神経には、自律神経である交感神経と副交感神経および知覚神経が存在する。我々はこれまで心臓交感神経および心臓知覚神経の発生に関する研究を行い、この領域において世界レベルの研究実績を積み重ねてきた。

心臓はその発生における交感神経支配において、神経栄養因子(NGF)の発現が必須であるが、エンドセリン-１が NGF の発現を制御していることを世界で初めて報告した(Ieda M, J Clin Invest, 2004)。また、交感神経は心外膜側に偏在して分布するが、その分布において神経軸索反発因子セマフォリン 3A の心内膜側の発現が重要であることを発見した(Ieda M, Nat. Med, 2007)。また心臓知覚神経に関して、発生段階において NGF の発現が必須であることを明らかにしてきた(Ieda M, Circulation, 2006)。現在では心臓支配副交感神経の発生に関する研究も進めている段階である。

心臓支配自律神経の発生段階における研究とともに我々は様々な心臓の病態における心臓自律神経に関しても研究を進めてきた。肥大心や不全心では、心筋における IL-6 サイトカインファミリーに属する LIF やカルジオトロピン１(CT-1)の発現が亢進し、これが交感神経細胞に作用することで幼若神経マーカーを発現し、交感神経機能を低下させる（交感神経細胞の幼若化）ことを見いだした（Kimura K, Circ Res, 2007)。さらに驚くべきことに、心肥大から心不全へと病態が進行すると、LIF および CT-1 は、交感神経を副交感神経に分化転換することを発見した（Kanazawa H, J Clin Invest, 2009)。更に心臓知覚神経に関して、糖尿病においては NGF 発現が減少しているため知覚神経が減少しているものの、NGF を補充することで知覚神経が回復することを明らかにした(Ieda M, Circulation, 2006)。これらの成果を更に発展させ、交感神経を介した“脳心連関”に関わる研究を目指している。今回はその代表である”たこつぼ型心筋症“をテーマにした。

たこつぼ型心筋症は 1990 年に広島市民病院の佐藤らにより最初に報告された疾患である（Sato M.;1990)。ストレスを契機に起こる疾患で閉経後の中年女性に多く発症する。胸痛を主症状とし心筋梗塞と類似した心電図変化を呈するものの冠動脈造影検査にて冠動脈に狭窄は認めない。左室造影検査にて心尖部が無収縮となっており、あたかも「たこつぼ」様の特徴的な造影所見を認める疾患である。最初の症例報告から 20 年ほど経過するにも関らず、その発症メカニズムに関しては、未だ実証されたものはない。たこつぼ型心筋症では急性期に心尖部で MIBG（ノルアドレナリンのアナログ）の取り込みが低下するという特徴的な検査所見が知られている。このことよりたこつぼ型心筋症の発症には心臓支配交感神経が病態に深く関与していると言われている。しかしその交感神経がどのように作用しているのかなど詳細は不明であり、特異的な診断法、治療法もなく、問題となることも多々ある。また、ストレスを契機に発症するということを考慮すると脳心連関といった多臓器を包括した病態解明が必要と考えられ、斬新な発想による研究が望まれていた。

## ２．研究の目的

本研究ではたこつぼ型心筋症に関して以下の検討を行う。

(1)たこつぼ型心筋症の臨床像を模倣する動物モデルを作成する。

(2)特に心尖部を支配する心臓支配交感神経の中枢部位を逆行性トレーサーを用いて正確に同定を行う。

(3)たこつぼ型心筋症の動物モデルを用いて、心尖部を支配する交感神経の中枢部位において増加している液性因子を解析する。

(4)その増加している液性因子を心尖部を支配する中枢部位に microinjection することで、たこつぼ型心筋症が再現できるか否か検証する。

(5)この液性因子の中和抗体およびノックアウトマウスでたこつぼ型心筋症が予防されることを確認する。

## ３．研究の方法

(1)たこつぼ型心筋症動物モデルの作成

これまで適切なたこつぼ型心筋症のモデル動物が存在しなかったため、我々はたこつぼ型心筋症の新たな動物モデルの開発を目指した。近年、痙攣に伴ってたこつぼ型心筋症を呈する症例が多く報告されている（Wakabayashi K.; Int J Cradiol.; 2001 など)。そこでラットにピロカルピン（副交感神経刺激薬）を投与することで痙攣を起こし、2 時間後に心電図および超音波にて心臓を観察した。

(2)心尖部を支配する交感神経の中枢部位の同定

たこつぼ型心筋症はストレスを契機に発症するという特徴を有していることを合わせて考えると、海馬などの情動系での変化が視床下部などへ投射し、心臓支配交感神経を通じて心臓に変化をもたらしている可能性がある。そのために、まず心尖部を支配する交感神経の中枢部位を正確に同定する必要がある。そのために、逆行性トレーサーである、pseudorabius virus（PRV）を用いる。これはシナプスを乗り越えて逆行性に神経をトレースできる性質がある。そのため、末梢臓器の中枢を同定することができる。

(3)たこつぼ型心筋症モデルにおける中枢部位の変化の同定

(2)で同定した心尖部を支配する交感神経の中枢をマイクロサンプリングし、コントロール群とたこつぼ群でDNAの発現を比較検討する。

(4)中枢へのmicroinjection

(3)で同定した中枢で変化する因子を中枢にmicroinjectionした際にたこつぼ型心筋症様の壁運動異常が起きるか検討する。

(5)たこつぼ型心筋症モデルにおける星状神経節の変化の同定

末梢の星状神経節においてどのような変化が生じているかについて、たこつぼ型心筋症ラットとコントロール群ラットの左星状神経節を採取し、DNAマイクロアレイを用いて遺伝子変化を網羅的に解析した。さらに本検討で得られた物質の関与を拮抗薬の投与などにより、さらに解析した。

４．研究成果

(1)たこつぼ型心筋症動物モデルの作成

ラットにピロカルピン（副交感神経刺激薬）を投与することで痙攣を起こし、2時間後に心電図および超音波にて心臓を観察した。痙攣後の心電図では著名なST上昇が認められた。超音波では左室心尖部が無収縮となっており、たこつぼ様の壁運動を呈していることが明らかになった。痙攣は2時間後にジアゼパム（抗痙攣薬）により停止させ、12時間後に再度心電図と超音波で観察した。すると心電図ではSTが基線に戻り、超音波で観察すると心尖部の壁運動が完全に回復していた。また血中のカテコラミン3分画（アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン）を測定すると痙攣後は痙攣前の約3倍に上昇していた。

(2)心尖部を支配する交感神経の中枢部位の同定

PRVを腎動脈周囲組織に投与することで、腎動脈支配交感神経の中枢の同定を試みた。その結果、星状神経節、延髄RVLMなどを介して、視床下部傍室核の一部がPRVによりトレースされることを確認した。

(3)たこつぼ型心筋症モデルにおける中枢部位の変化の同定

(2)で同定した心尖部を支配する交感神経の中枢をマイクロサンプリングし、コントロール群とコントロール群でDNAの発現を比較検討した。その結果CCL2,CXCL1といったケモカインの発現が上昇していることを確認した。これらのケモカインは一般的に炎症に関わるケモカインであるとされている。

(4) (3)で同定した中枢で変化する因子を中枢にmicroinjectionした際にたこつぼ型心筋症様の壁運動異常が起きるか検討

視床下部傍室核にCCL2やCXCL1といったケモカインをマイクロインジェクションしたところ、たこつぼ型心筋症様の壁運動異常が起きることを心臓超音波にて確認した。阻害抗体を前投与することで、この壁運動が阻害されることも確認した。

(5)たこつぼ型心筋症モデルにおける星状神経節の変化の同定

たこつぼ型心筋症動物モデルの左星状神経節において、neuropeptide Y(NPY)の発現が上昇していることを確認した。NPYを星状神経節にmicroinjectionすることでたこつぼ型心筋症様の壁運動異常を呈することを確認した。さらにNPYの阻害抗体によりこの壁運動異常が阻害されることも確認した。

(6)今後の臨床応用に向けて

本研究の成果に基づき、今後NPYに対する阻害抗体を用いた、臨床応用の検討をすすめる予定である。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計３件）


1. Habecker BA, Anderson ME, Birren SJ, Fukuda K, Herring N, Hoover DB, Kanazawa H, Paterson DJ, Ripplinger CM. Molecular and cellular neurocardiology: Development, cellular and molecular adaptations to heart disease. Journal of Physiology. (IF = 5.037) （査読あり） in press. (doi: 10.1113/JP271840)
2. Hideaki Kanazawa, Keiichi Fukuda. Cardiac Sympathetic Nerve Plasticity and Heart Failure. J Pain Relief 2016; 5: 223. (IF = 1.14) （査読あり）
3. Keiichi Fukuda, Hideaki Kanazawa, Yoshiyasu Aizawa, Jeffrey L. Ardell, Kalyanam Shivkumar. CARDIAC INNERVATION AND SUDDEN CARDIAC DEATH, Circ Res. 2015. 116(12):2005-19. (IF = 11.089) （査読あり）


〔学会発表〕（計４件）


1. 金澤英明、木村謙介、荒井隆秀、福田恵一、心臓交感神経から心臓病を診る、第35回日本循環制御医学会総会、シンポジ

ウム2、2014年7月4-5日、九州大学医学部百年講堂（福岡県福岡市）

2. 金澤英明、木村謙介、荒井隆秀、家田真樹、福田恵一、心不全における心臓交感神経の適応機構、第87回日本内分泌学会学術総会 シンポジウム14、 2014年4月25日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）
3. Masahito Munakata, Hideaki Kanazawa, Kensuke Kimura, Takahide Arai, Hiroaki Sukegawa, Ryota Tabei, Keiichi Fukuda. The Mechanism of Subarachnoid Hemorrhage-induced Cardiac dysfunction. The 30th Annual Meeting of the International Society for Heart Research Japanese Section. 2013.6.29., San Diego, California, USA.
4. Hiroaki Sukegawa, Hideaki Kanazawa, Kensuke Kimura, Takahide Arai, Masahito Munakata, Ryota Tabei, Keiichi Fukuda. The Different Effect of Neuropeptide Y on cardiomyocytes with or without Catecholamine. The 30th Annual Meeting of the International Society for Heart Research Japanese Section. 2013.6.29., San Diego, California, USA.

〔図書〕（計7件）

1. 荒井隆秀、宗形昌儒、金澤英明、福田恵一、『精神・身体ストレスに対する心臓交感神経の応答』、腎・高血圧の最新医療、5(1): 23-28, 2016.（2016年1月）
2. 宗形昌儒、金澤英明、荒井隆秀、福田恵一、『ストレス心筋症と心臓交感神経』、細胞、47(7)、Page 20-23 (2015)
3. 金澤英明、福田恵一、第48回 河口湖心臓討論会 精神・身体ストレスに対する心臓交感神経の応答、日本医学出版、心臓、Vol.47 No.2、2015年、Page 277-284.
4. 金澤英明、木村謙介、荒井隆秀、福田恵一、「シンポジウム２：臓器連関と循環器疾患」心臓交感神経から心臓病を診る、小玉株式会社、循環制御 第35巻 第3号、2014年、Page 201-202.
5. 金澤英明、福田恵一 自律神経系の病態と治療『心不全における交感神経系』 中外医学社、臨床神経科学 Clinical Neuroscience、2014年、Vol.32 No.12, Page 1371-1373.
6. 木村謙介、金澤英明、福田恵一 『心臓支配交感神経系から心不全の病態を診る一臓器円環による生体恒常性のダイナミクス』 羊土社、実験医学（増刊）2013 Vol.31 No.5 Page140-146.
7. 金澤英明、家田真樹、福田恵一、『心不全における交感神経の分化転換』、心電図 32(suppl-4)、2012年、Page 5435-5446.

〔産業財産権〕
○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕
特になし

６．研究組織

(1)研究代表者
福田 恵一（FUKUDA KEIICHI）
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：20199227

(2)研究分担者
荒井 隆秀（ARAI TAKAHIDE）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：00383894

金澤 英明（KANAZAWA HIDEAKI）
慶應義塾大学・医学部・特任講師
研究者番号：40338033

助川 博章 （SUKEGAWA HIROAKI）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：60535607

田部井 亮太 （TABEI RYOTA）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：20573322

宗形 昌儒 （MUNAKATA MASAHITO）
慶應義塾大学・医学部・共同研究員
研究者番号：40445284

(3)連携研究者
なし