

令和元年9月4日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01370

研究課題名(和文)リンパ管Na+ポンプによる食塩感受性高血圧症の新規治療法の開発的研究

研究課題名(英文) Developmental research for treatment of salt-sensitive hypertension by regulation of lymphatic Na+ pump

研究代表者

水野 理介 (Mizuno, Risuke)

岡山理科大学・獣医学部・教授

研究者番号：30273080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：食塩感受性高血圧とは、食塩過剰摂取により惹起される本態性高血圧症である。この病態に神経系(中枢ならびに末梢)、心血管系および腎臓等の臓器が複合的に関わり多様性を示すことが知られている。最近、リンパ循環系もこの食塩感受性高血圧症の病態に重要な役割を果たすことが報告された。本研究は、高食塩食負荷が、リンパ管に存在するイオン動態を制御するポンプ・チャネル・トランスポーター機能を変調することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食塩感受性高血圧症とリンパ循環との関連性に着目した本研究は、全く未開な領域へのアプローチである。さらに高血圧症によって惹起される集合リンパ管Na+ポンプに対する作用検討は、新規性が高いことが極めて学術的な特色である。本研究結果から食塩負荷によって集合リンパ管のイオン動態機能を変調することが予想される。そして、この機能解析を通して食塩感受性高血圧症のリンパ循環改善による新規治療方法を開発できることに臨床医学的意義が存在すると考えられる。また本研究の社会的意義は、食塩感受性高血圧症における新規治療方法の開発であり、新規治療薬や適応症拡大(リンパ浮腫治療)につながることが挙げられる。

研究成果の概要(英文)：Hypertension is a major risk factor for diseases such as stroke, heart failure, and kidney disease. High salt intake is closely associated with the pathogenesis and development of salt-sensitive hypertension. Salt loading, via inefficient renal excretion of sodium, often results in the expansion of circulating body fluid volumes. As an effect of salt loading on the lymphatic system, vascular endothelial growth factor (VEGF)-C mediates hyperplasia of lymph capillaries in the rodent ear and proposed that capillaries aid in maintaining fluid homeostasis and blood pressure. Salt-induced functional changes of the lymph transport system remain uncharacterized in collecting lymphatics. In the present study, we demonstrated that a high salt diet altered responsiveness of pump, channels, and transporters of ions dynamics in collecting lymphatics.

研究分野：医用生体工学

キーワード：リンパ管 平滑筋 イオン 食塩 高血圧

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リンパは毛細リンパ管(平滑筋無し)で産生され、その下流に連結する集合リンパ管(平滑筋有)のポンピング作用によって輸送される。ヒトにおいてもこの集合リンパ管平滑筋の心臓様自発性収縮は、リンパ管ポンピング作用の動力源として生理学的に必須である。高食塩負荷は、皮下毛細リンパ管過形成を惹起し、そのメカニズムに皮下微小循環領域における、プロテオグリカン-Na⁺複合体やマクロファージ由来VEGF-Cが重要なプレーヤーとして関与する。すなわち、毛細リンパ管過形成は、高食塩による血圧上昇を緩衝することが判明した。しかしながら、食塩感受性高血圧症における集合リンパ管の病態生理学は、国内外においても十分解明されていない。応募者は、高食塩負荷がマウスやラットの集合リンパ管ポンプ輸送能を増強することを世界に先駆けて発見した (*Lymphat. Res. Biol.*, 13(1): 2-9, & 13(2): 85-92, 2015.)。さらに、これら一連の研究過程においてリンパ管のNa⁺-K⁺-ATPase (Na⁺ポンプ) が、その増強作用メカニズムの中心を担う糸口をつかんだ。また、高血圧症においては、Na⁺ポンプ阻害物質である内因性ジギタリス様物質 (Endogenous Digitalis-Like Factor: EDLF) の血漿中濃度が増加し、EDLFによる持続的血管収縮が病態の一部に関与することが報告されている (*Front. Endocrinol.*, 6 (4) : 1-9, 2015)。

2. 研究の目的

モデル動物に高食塩を負荷し、食塩負荷は集合リンパ管の Na⁺ポンプ機能を増強するか抑制するかを ex vivo の実験によって明らかにする。そして、その機能変化(内皮細胞や平滑筋細胞)のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

モデル動物(ラットとマウス)の集合リンパ管平滑筋と内皮の機能を ex vivo 実験によって解析する。普通食群と高食塩群から、集合リンパ管を摘出し標本作製し、集合リンパ管の機械的活動を DVD-Microscopy を用いて測定する。

4. 研究成果

1) Na⁺-K⁺-ATPase、Na⁺チャネルおよびK⁺チャネルの影響について

i) 細胞外液Na⁺上昇(NaCl)による高張液刺激(+50mM)は、摘出ラット集合リンパ管の収縮頻度を有意に減少させた(80%)。ウアバインは、摘出ラット集合リンパ管の収縮頻度に影響を与えなかったが(図1A)、高張液による収縮頻度減少作用を増強した(図1B)。

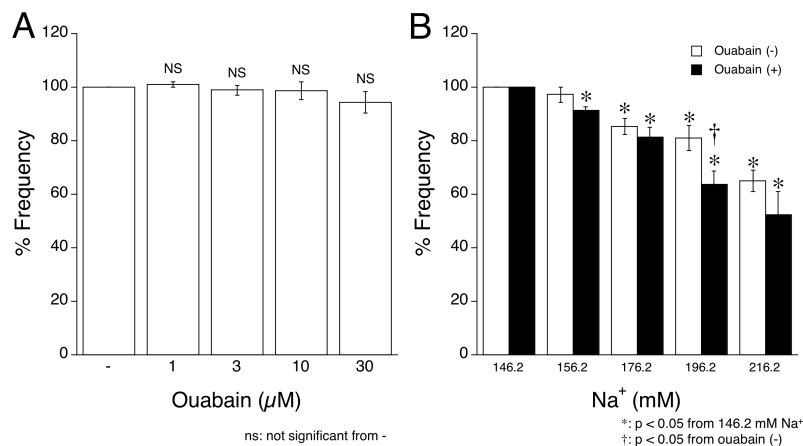


図1

ii) リドカインは、摘出ラット集合リンパ管の収縮頻度に影響を与えなかったが(図2A)、高張液による収縮頻度減少作用を部分的に解除した(図2B)。

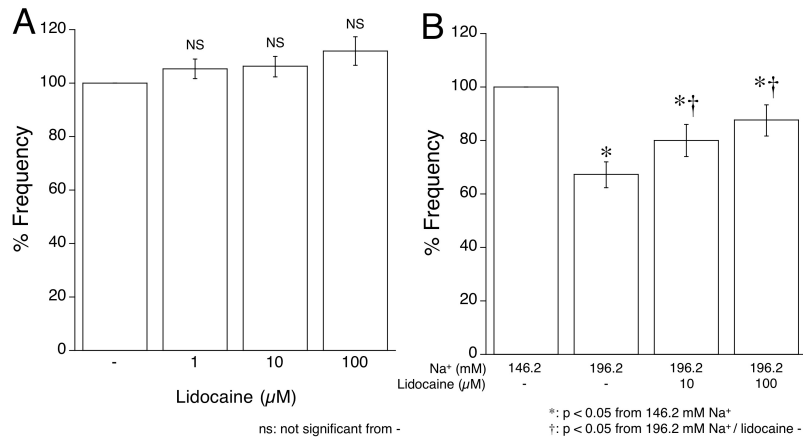


図2

iii) グリベンクラミドは、摘出ラット集合リンパ管の収縮頻度に影響を与えなかったが(図3A)、高張液による収縮頻度減少作用を部分的に解除した(図3B)。

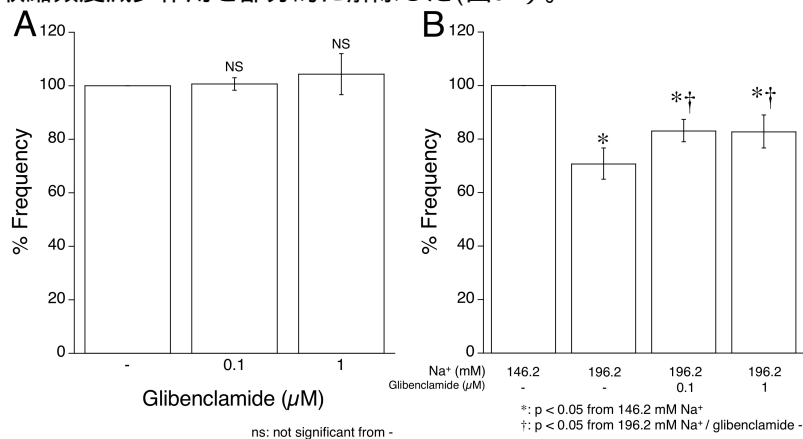


図3

以上の結果から、摘出ラット集合リンパ管に対する高張液誘発性収縮頻度減少作用は、Na⁺-K⁺-ATPase、リドカイン感受性Na⁺チャンネルおよびATP感受性K⁺チャンネルの関与することが明らかとなった。

2) Cl⁻チャンネルおよびTRP受容体の影響について

Cl⁻チャンネル阻害薬であるNPPBIは、正常食塩食(NSD)群ラットリンパ管収縮自発性収縮頻度を減少したが、高食塩食(HSD)群へは影響を与えなかった(図4A)。TRPV1受容体拮抗薬であるカプサゼピンは、NSD群とHSD群のラットリンパ管収縮自発性収縮頻度を減少した。このカプサゼピンの作用は、NSD群において顕著であった(図4B)。

以上の結果から、HSDはリンパ管自発性収縮におけるCl⁻チャンネルおよびTRPV1受容体の反応性変調を惹起することが示唆された。

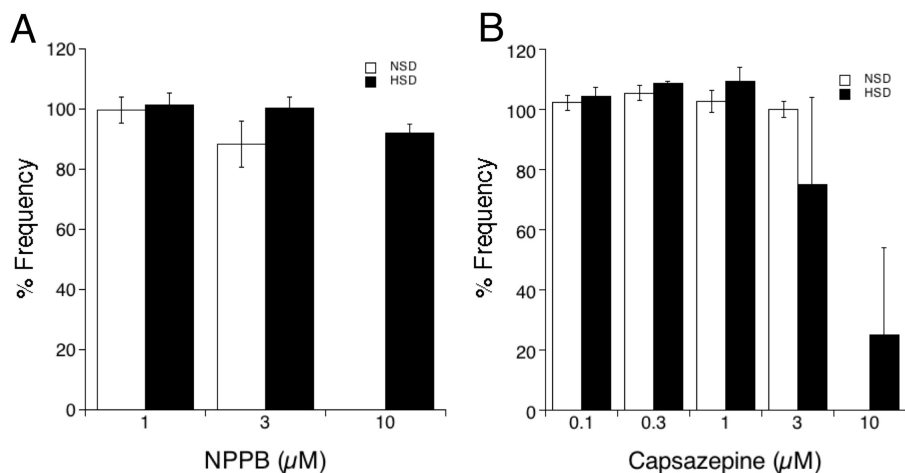


図 4

3) イオントランスポーターの作用について

i) 集合リンパ管自発性収縮に対する、 Cl^- の影響を明らかにするために、 Cl^-/HCO_3^- exchanger と $Na^+/K^+/2Cl^-$ co-transporter (NKCC) の関与を検討した。

MOPS 溶液下リンパ管自発性収縮のパラメーターは、Krebs 溶液下と同様であった。

NKCC 阻害薬であるフロセミドは、リンパ管自発性収縮の最小径と最大径を有意に増加し(リンパ管拡張: 図 4-5) ejection fraction を有意に減少した (pumping efficiency 低下: 図 6a)。しかしながら、収縮頻度には影響を与えなかった(図 6b)。以上の結果からリンパ管自発性収縮の緊張性維持とポンプ機能に対して、NKCC の関与していることを初めて証明した。

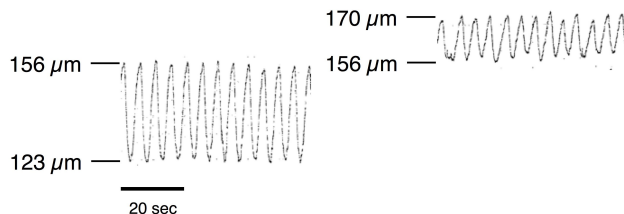


図 4

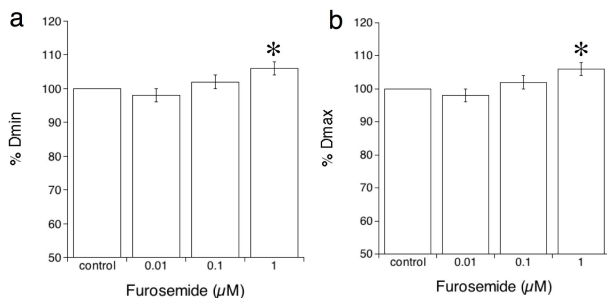


図 5

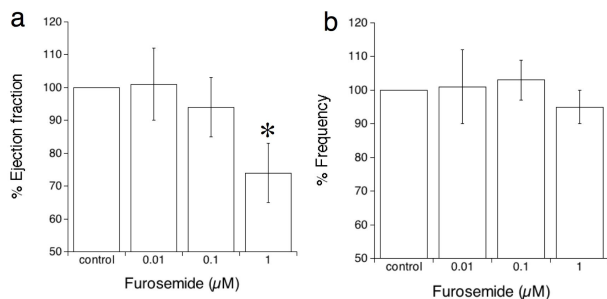


図 6

ii) 正常食塩食 (NSD) ならびに高食塩食 (HSD) 負荷マウスの集合リンパ管に対するクロライドトランスポーターの影響を検討した。その結果、HSD は、NKCC 阻害薬であるフロセミドによるリンパ管収縮抑制を増強した。一方、 Na^+/Cl^- トランスポーター (NCC) 阻害薬である、サイアザイドは、両群のリンパ管収縮に影響を与えなかった。これらの結果から、HSD はマウス集合リンパ

管の NKCC を介する筋原性収縮に影響を与えることが示唆された。

4) アンジオテンシン (Ang) 系の作用について

マウス摘出集合リンパ管は、AngII に対して、低濃度から顕著な収縮反応を示した。一方、動脈に対する AngII の反応性を検討した結果、著しい部位差 (胸部、腹部、腎動脈下部、腸骨) の存在することを確認した。すなわち、AngII の反応性における脈管間 (動脈-リンパ管) の著しい heterogeneity を明確にできた。Mas 受容体アゴニストである Ang(1-7) の集合リンパ管に対する作用を検討した。いずれの遮断薬・阻害薬非存在化において、Ang(1-7) は、集合リンパ管の自発性収縮に影響を与えなかった。

5) アラキドン酸-COX-プロスタノイド系の関与について

マウス集合リンパ管における内因性プロスタノイド産生機構について検討を行った。その結果、マウス集合リンパ管に対して、アラキドン酸は 3 層性の反応 (低濃度では拡張のみ、中濃度では拡張に引き続く収縮、高濃度では律動的攣縮) を惹起することが判明した。HSD は、アラキドン酸誘発性収縮を増強する傾向が見られた。このアラキドン酸による、拡張-収縮反応は選択的シクロオキシゲナーゼ (COX) 2 阻害薬である NS398 によって解除された。これらの結果から、HSD はマウス集合リンパ管のアラキドン酸-COX2-内因性プロスタノイドを介する収縮機構 (筋原性・自発性) に影響を与えることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 無

6. 研究組織

(1) 研究分担者 無

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。