

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：32616

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10999

研究課題名(和文) 頸動脈小体シナプス可塑性を応用した本態性高血圧治療法および予防法の開発

研究課題名(英文) Development of essential hypertension treatment and prevention methods applying synaptic plasticity in the carotid body

研究代表者

日下部 辰三 (Kusakabe, Tatsumi)

国土館大学・体育学部・教授

研究者番号：80117663

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、頸動脈小体と本態性高血圧の関連性をシナプス可塑性の面から解明し、新たな非侵襲・非薬物的高血圧治療法や予防法の開発に繋げることである。近年、我々を含めた複数のグループにより頸動脈小体(CB)の機能亢進が本態性高血圧の主原因の一つであることが報告され、CB制御による高血圧治療法がいくつか提案されているが、それらは侵襲性や副作用が問題視されている。そこで我々はrTMS(反復経頭蓋磁気刺激法)法を用いることでシナプス可塑性を応用した手法によりCBを制御する新たな本態性高血圧治療法や予防法の開発を進める。本研究では主に計算論的神経科学に基づく理論解析と実験研究を組み合わせで進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が本研究において開発を目指す治療法は、本態性高血圧に対する世界初の非外科的・非薬物的治療であり、治療抵抗性の患者にも適用可能である。本手法は体外からCBへ反復磁気刺激を行うのみであり、薬物投与も手術も必要としない。また、ストレス等による自律神経の負荷増大(交感神経活性化と副交感神経活性低下)が高血圧や数多くの疾患の要因となる一方、有効な自律神経負荷軽減治療法は確立していない。よって本研究により新たな自律神経負荷軽減治療法や本態性高血圧予防法の開発にも繋がる可能性がある。今後色々な問題点を克服する必要があるが本研究が進めば、高血圧治療法および予防法に新たな視点が加わることが期待される。

研究成果の概要(英文)：'Essential hypertension', which accounts for about 90% of all hypertension cases, is high blood pressure without clearly defined etiology. Elucidation of its pathology and the development of the treatment regimen is an urgent needed in Japan. Previously, we found a new association between the carotid body (CB) and hypertension. Here we focus on the synaptic plasticity via the glutamate NMDA receptor in sensory nerve endings of CB, and develop a novel treatment method and preventive therapy for essential hypertension to control CB using a method applying rTMS (Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Method). In this research, we mainly combined theoretical analysis based on computational neuroscience and experimental research.

研究分野：総合領域

キーワード：頸動脈小体 シナプス可塑性 磁気刺激

1. 研究開始当初の背景

高血圧は我が国の最もメジャーな生活習慣病の一つである。いっぽうで「治療抵抗性高血圧」や「コントロール不良高血圧」の患者が相当数いると推測され、本態性高血圧の解決されるべき課題は極めて多く、病態解明および新しい治療法の開発は、急速な高齢化に伴い患者数の増加が見込まれる我が国においてニーズの高い課題である。

2012年に我々は本態性高血圧のモデル動物である高血圧自然発症ラット(SHラット)を用いた研究において、我SHラットの頸動脈小体(以下、CBと略す)内化学受容細胞でのノルアドレナリン合成能増強とCBの肥大を観察し、CBと高血圧の新たな関連性を見出した。さらに2013年、PatonらはSHラットのCBへの神経支配を外科的に除去すると急速かつ長期的に交感神経系の活動が低下し、血圧が低下することを示した。これらの結果はCBが本態性高血圧の発症に関与し、CBの制御がその治療に繋がることを示唆する。では、どうすればCBシグナルを制御して高血圧を防ぐことが出来るのか? これまで外科的手法(CBへの神経支配を外科的に除去)と薬物治療(P2X3受容体を拮抗薬)の2つの方法が試されている。2016年、CBの化学受容神経終末にあるP2X3受容体を拮抗薬によりブロックすると、高血圧ラットの交感神経活動が低下し、頸動脈の過反射が抑制されることが報告された(Pi jacka et al., 2016)。しかしこれらの手法は侵襲的である点や重篤副作用の可能性のある点で既存の本態性高血圧治療法と同様の問題点を持つ。もっと非侵襲的かつ副作用の少ない制御法はないだろうか?

2. 研究の目的

そこで我々は本研究の最終目標を、CBを非外科的・非薬物的に制御する本態性高血圧症予防法および治療法の開発を目指すこととし、下記の研究1(理論)と研究2(実験)を行った。

我々が本研究において開発を目指す治療法は、本態性高血圧に対する世界初の非外科的・非薬物的治療であり、治療抵抗性の患者にも適用可能であり、本研究が進めば、現在薬物投与や生活習慣修正が主流の高血圧治療法および予防法に新たな視点が加わることが期待される。

3. 研究の方法

研究1: シナプス可塑性のメカニズムを計算論的神経科学の観点から解明する。とくにCBの神経末端に発現するグルタミン酸NMDA受容体を介した可塑的变化(Dogas et al., 1995; Liu et al., 2009)に着目し、それによって生じる刺激頻度依存性シナプス可塑性の詳細なメカニズムを解明する。また、TMSによる神経刺激のメカニズムについても解明を進める。

研究2: WTまたはSHラットに対してCBを低頻度反復電気刺激・磁気刺激することで化学受容神経終末シナプスに長期抑圧(Long Term Depression: LTD)が誘導され、交感神経活動抑制により血圧が低下するかを検証する。

4. 研究成果

研究1: まずはシナプス可塑性の一般論についての研究を進めた。神経情報処理を担う要素とし

て主に2つのもの、すなわちニューロン発火頻度と Spike Timing が提案されている。シナプス可塑性の場合、前シナプスと後シナプスの発火時間に依存する Spike Timing 依存性可塑性(STDP)がかつては最も一般的なルールと考えられていた。ところが近年の研究により、STDP にとって鍵となる“正確なスパイクタイミング”が in vivo の脳内では起こりにくいこと分かってきた。これにより in vivo でのシナプス可塑性においてはニューロン発火頻度(周波数)の重要性が再認識されるようになってきた。ところが、発火パターンのバリエーション、細胞内パラメータの違い、内部ノイズなど in vivo に特徴的な要因が発火周波数依存シナプス可塑性(FDP)に関与するかについては不明な点が多い。そこで我々は、前シナプスの入力パターン、細胞内カルシウム減衰時定数、およびバックグラウンドシナプス活性(これらはニューロンの解剖学的・生理学的環境に応じて変わる)に焦点を当て、“calcium based model”を解析した。その結果ニューロンが同じ入力頻度を受け取ったとしても、入力パターン、カルシウム時定数、背景ノイズ等によって細胞内カルシウムやシナプス荷重ダイナミクスが異なることを見出した。このことから我々は入力周波数以外の多面的な要素がシナプス可塑性やニューラルコーディングに関与する可能性を見出すことに成功した。また、TMS は神経生理学および認知研究に広く使用されているが、TMS 中にどの神経細胞が刺激されているかはまだ分かっていない。さらに TMS の有効性を調査した大量の研究が存在するにも関わらず、皮質の活性を変化させる機序およびこれが治療効果にどのように関係するかについても多くの不確かなことがまだ残っている。本研究はそれら未解決事項のために、特に rTMS の刺激方法についての理論的解析を行った。

研究2：

2 - 1：ラット頸動脈小体磁気刺激の予備実験

オスの Wister rat 200g (8週齢～9週齢)に対してウレタン麻酔(1000mg/kg)を行い、観血的血圧測定のために、左大腿動脈にカニューレを挿入するため左大腿部の皮下を切開し、大腿動脈を剖出する。次に、動脈の末梢側をナイロン糸にて結紮し、浅鼠蹊輪側の血管をクレンメを用いてクリップする。動脈を虹彩ハサミ(MB54-2 INOX)で切開した後、血管にカニューレを挿入し、血圧測定トランスデューサーに接続した。カニューレは23G針にエポキシ系接着剤にてナイロン tube(PE50 Narishige)を接続して作成した。次に、右頸動脈小体を剖出する為、舌下腺および胸骨舌骨筋を正中切開し、右総頸動脈および頸動脈分岐部を同定し、結合組織被膜に覆われる頸動脈小体付近に対して連続および間欠的電気刺激を行った。刺激電極は、電極用ガラス管(Narishige)とステンレス線(幅0.3mm)を改良して自作した。電気刺激および記録は Lab Chart ソフトウェア(バイオリサーチセンター)を用いた。刺激強度は5V、刺激頻度は50Hzとし、10sec連続刺激を行った。実験は一匹のラットに対して3回以上行い、3匹のラットを用いた。その結果、成体ラットの右頸動脈分岐部に対して5V、50Hzにて10sec電気刺激をおこなったところ、刺激直後から有意な血圧低下がみられた。また、同時に呼吸数の増加も観察され、心拍数は変化しなかった。このことからラット頸動脈小体の電気刺激直後から有意な血圧低下および呼吸数の増加がみられ、適切な強度の時間変動磁場を用いることによって非侵襲的に頸動脈小

体を刺激することで血圧低下を促すことが可能であることが示唆された。

その他、CB での血圧調整に関与する因子の機能解析を目的として、グロムス細胞におけるカテコールアミン合成酵素の発現解析についても研究をすすめ、VMAT1 陽性グロムス細胞には TH との共局在が、VMAT2 陽性グロムス細胞には DBH との共局在が良くみられることが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hata Katsuhiko, Araki Osamu, Yokoi Osamu, Kusakabe Tatsumi, Yamamoto Yoshio, Ito Susumu, Nikuni Tetsuro	4. 巻 10
2. 論文標題 Multicoding in neural information transfer suggested by mathematical analysis of the frequency-dependent synaptic plasticity in vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13974
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-70876-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kato Kouki, Yokoyama Takuya, Kusakabe Tatsumi, Hata Katsuhiko, Fushuku Seigo, Nakamuta Nobuaki, Yamamoto Yoshio	4. 巻 122
2. 論文標題 Differences in the expression of catecholamine-synthesizing enzymes between vesicular monoamine transporter 1- and 2-immunoreactive glomus cells in the rat carotid body	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Histochemica	6. 最初と最後の頁 151507 ~ 151507
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.acthis.2020.151507	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 羽田 克彦, 山本 欣郎, 日下部 辰三	4. 巻 38
2. 論文標題 ラット頸動脈小体への反復磁気刺激の応用による血圧変動測定の試み	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 国土館大学体育研究所報	6. 最初と最後の頁 131-132
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 櫻井 勝, 羽田 克彦, 横井 修, 坂 達也	4. 巻 38
2. 論文標題 TMSの生体刺激のメカニズム	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 国土館大学体育研究所報	6. 最初と最後の頁 145-149
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 羽田克彦、日下部 辰三、山本欣郎、横井 修、二国徹郎
2. 発表標題 刺激頻度依存性シナプス可塑性の数理解析から示唆された神経情報伝達におけるマルチコーディング
3. 学会等名 125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 日下部辰三、加藤弘毅、横山拓矢、羽田克彦、中牟田信明、山本欣郎
2. 発表標題 ラット頸動脈小体におけるVMAT1およびVMAT2の局在
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂 達也、横井 修、伊藤 拳、窪山 泉、羽田 克彦
2. 発表標題 TMSによる生体刺激のメカニズム
3. 学会等名 応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 羽田 克彦、荒木 修、坂 達也、横井 修、二国 徹郎
2. 発表標題 インビボでの周波数依存性シナプス可塑性の数理的解析
3. 学会等名 応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	羽田 克彦 (Hata Katsuhiko) (60506228)	国土館大学・体育学部・准教授 (32616)	
研究 分担者	山本 欣郎 (Yamamoto Yoshio) (10252123)	岩手大学・農学部・教授 (11201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------