

機関番号：23903

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591652

研究課題名（和文） ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドを用いた虚血性脊髄障害治療の理論的基盤の確立

研究課題名（英文） Effect of human atrial natriuretic peptide on ischemic spinal cord injury; therapeutic potential and possible underlying mechanism.

研究代表者

岡嶋 研二（OKAJIMA KENJI）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：60152295

研究成果の概要（和文）：ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）は、知覚神経を刺激することが判明した。ANP は、ラット虚血性脊髄障害モデルで、虚血障害前に、静脈内投与すると、脊髄組織の知覚神経を刺激して、脊髄組織の炎症と運動麻痺を軽減した。しかし、虚血障害後に、静脈内投与すると、治療効果を示さなかった。ANP の皮下持続投与は、局所の知覚神経刺激と脊髄組織の ANP 濃度の上昇の両方の機序により、ANP の静脈内投与よりも、より強力で、長時間の治療効果を発揮しうる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Human atrial natriuretic peptide (ANP) stimulated sensory neurons *in vitro*. When intravenously administered prior to the insult, ANP reduced ischemic spinal cord injury through attenuation of spinal cord tissue inflammatory responses. However, ANP did not reduce the spinal cord injury, when administered intravenously after the insult. Subcutaneous administration of ANP may exert therapeutic effect on the ischemic spinal cord injury by increasing ANP levels of the injured spinal cord tissue and by stimulating nociceptive pathway, thus showing more marked and longer therapeutic effect on the ischemic spinal cord injury than intravenous ANP administration.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド、知覚神経、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、インスリン様成長因子-I、虚血性脊髄障害

1. 研究開始当初の背景：大動脈瘤手術などに伴う虚血性脊髄障害は、重大な合併症であ

る。しかしながら、この障害を予防、または改善する有効な治療方法の開発は、十分とは

言えない。この脊髄障害の発症には、組織の炎症が重要な役割を演じることが知られている。ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は、心不全治療や心臓手術後の心機能回復に用いられる。ANP は、炎症が重要な役割を演じる虚血再灌流性臓器障害を軽減することが報告されている。我々は、知覚神経刺激が、組織のカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) およびインスリン様成長因子-1 (IGF-I) 濃度を増加させ、炎症を抑制することで、虚血再灌流性臓器障害を軽減することを報告した。これらの事実は、ANP が、虚血性脊髄障害を、知覚神経を刺激することで軽減する可能性を示す。

2. 研究の目的: ANP が、虚血性脊髄障害を改善するか否か、また、改善すれば、その治療効果発現機序を解明し、ANP を用いた新たな虚血性脊髄障害の治療戦略を構築する。

3. 研究の方法: ラットから知覚神経を分離、培養する。ANP の知覚神経からの CGRP 放出に対する影響を検討する。また、CGRP 放出が増加すれば、その機序も解析する。血流遮断、もしくは圧迫によりラット虚血性脊髄障害モデルを作成し、ANP の静脈内投与、またカプサイシンの皮下投与などを行い、運動麻痺、組織の炎症所見、組織の CGRP、および IGF-I 濃度を測定する。また、ANP が、皮下に投与された場合に、治療効果が期待されるか否かも、この動物モデルを用いて検討する。

4. 研究成果: ANP は、知覚神経のプロテインキナーゼ A とバニロイド受容体-1 を活性化して、CGRP の放出を増加させることが判明した。ANP は、虚血障害前に、ラットに静脈内投与すると、脊髄組織のバニロイド受容体-1 を活性化することで、CGRP と IGF-I 濃度を増加させ、脊髄組織の炎症と運動麻痺を軽減した。しかし、虚血障害後に、静脈内投与

すると、治療効果を示さなかった。ラットの皮下の知覚神経を刺激すると、その刺激情報は、温痛覚伝達系を経て、脳幹へ伝達され、結果として副腎髄質からのエピネフリンの分泌を増加させ、脊髄組織の CGRP 含有ニューロンの  $\beta 2$  受容体を刺激し、脊髄組織の IGF-I 濃度を増加させることが判明した。これらの事実は、ANP の皮下投与は、局所の知覚神経刺激と傷害された脊髄組織の ANP 濃度の上昇の両方の機序により、脊髄組織の CGRP 含有ニューロンを刺激し、IGF-I 濃度を高め、ANP の静脈内投与よりも、より強力で、長時間の治療効果を発揮しうる可能性を示している。本研究から得られた成果から、未だ十分な予防、または治療方法が確立していない虚血性脊髄障害に対して、ANP の知覚神経刺激作用を応用した、ANP の静脈内投与による発症予防、さらに皮下持続投与による改善作用などが期待できる可能性が示された。

#### 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 16 件)

① Umemura T, Harada N, Kitamura T, Ishikura H, Okajima K. Limaprost reduces motor disturbances by increasing the production of insulin-like growth factor-I in rats subjected to spinal cord injury. *Transl Res* 査読有 2010; 156:292-301.

② Arai M, Uchiba M, Komura H, Mizuochi Y, Harada N, Okajima K. Metformin, an anti-diabetic agent, suppresses the production of tumor necrosis factor and tissue factor by inhibiting early growth response factor-1 expression in human monocytes *in vitro*. *J Pharmacol Exp Ther* 査読有 2010; 334:206-213.

③Kawai M, Harada N, Takeyama H, Okajima K. Neutrophil elastase contributes to the development of ischemia/reperfusion-induced liver injury by decreasing the production of insulin-like growth factor-I in rats. *Transl Res* 査読有 2010; 155:294-304.

④Harada N, Zhao J, Kurihara H, Nakagata N, Okajima K. Effect of topical application of  $\alpha$ -D-glucosylglycerol on the dermal levels of insulin-like growth factor-I in mice and on the facial skin elasticity in humans. *Biosci Biotech Biochem* 査読有 2010; 74:759-765.

⑤Zhao J, Harada N, Kurihara H, Nakagata N, Okajima K. Cilostazol improves cognitive function in mice by increasing the production of insulin-like growth factor-I in the hippocampus *Neuropharmacology* 査読有 2010; 58:774-783.

⑥Harada N, Shimozawa N, Okajima K.  $AT_1$  receptor blockers increase insulin-like growth factor-I production by stimulating sensory neurons in spontaneously hypertensive rats. *Transl Res* 査読有 2009; 154:142-152.

⑦Harada N, Narimatsu N, Kurihara H, Nakagata N, Okajima K. Stimulation of sensory neurons improves cognitive function by promoting the hippocampal production of insulin-like growth factor-I in mice *Transl Res* 査読有 2009; 154:90-102.

⑧ Harada N, Okajima K. Effects of capsaicin and isoflavone on blood pressure and serum levels of insulin-like growth factor-I in normotensive and hypertensive volunteers with alopecia *Biosci Biotech Biochem* 査読有 2009; 73:1456-1459.

⑨ Narimatsu N, Harada N, Kurihara H, Nakagata N, Sobue, K, Okajima K. Donepezil improves cognitive function in mice by increasing the production of insulin-like growth factor-I in the hippocampus *J Pharmacol Exp Ther* 査読有 2009; 330:2-12.

⑩ Mizutani A, Okajima K, Murakami K, Mizutani S, Kudo K, Uchino T, Kadoi Y, Noguchi T Activation of sensory neurons reduces ischemia/reperfusion-induced acute renal injury in rats. *Anesthesiology* 査読有 2009; 110:361-369.

⑪Zhao J, Harada N, Sobue K, Katsuya H, Okajima K. Insulin-like growth factor-I reduces stress-induced gastric mucosal injury by inhibiting neutrophil activation in mice. *Growth Horm IGF Res* 査読有 2009; 19:136-145.

⑫ Harada N, Okajima K, Narimatsu N, Kurihara H, Nakagata N. Effect of topical application of raspberry ketone on dermal production of insulin-like growth factor-I in mice and on hair growth and skin elasticity in humans. *Growth Horm IGF Res* 査読有 2008; 18:335-344.

⑬Komura H, Uchiba M, Mizuochi Y, Harada N, Arai M, Katsuya H, Okajima K. Antithrombin inhibits LPS-induced TNF production by monocytes in vitro through

inhibition of Egr-1 expression. J Thromb Haemost 査読有 2008; 6:499-507.

⑭ Harada N, Okajima K, Kurihara H, Nakagata N. Antithrombin prevents reperfusion-induced hepatic apoptosis by enhancing insulin-like growth factor-I production in mice. Crit Care Med 査読有 2008; 36:971-974.

⑮ Harada N, Okajima K, Isobe H. Role of neutrophil elastase in development of pulmonary vascular injury and septic shock in rats. Shock 2008 査読有 ; 30:379-387.

⑯ Harada N, Okajima K. Effect of capsaicin on plasma and tissue levels of insulin-like growth factor-I in spontaneously hypertensive rats. Growth Horm IGF Res 2008 査読有 ; 18:75-81.

[学会発表] (計 8 件)

① 岡嶋研二

ヒカリのチカラー青色光の生物学的効果の発現機序と臨床応用一、第 31 回日本レーザー医学会総会特別講演、2010 年 11 月 13 日、名古屋市

② 岡嶋研二

アンチトロンビンーその抗炎症作用のメカニズムに基づいた治療戦略を探る一、第 33 回日本血栓止血学会学術集会ランチョンセミナー、2010 年 4 月 23 日、鹿児島市

③ Okajima K.

How do we increase insulin-like growth factor-I production?: The molecular mechanism and possible therapeutic usefulness. BIT's 3rd Annual Protein and Peptide Conference, March 23, 2010,

Beijing, China.

④ Harada, N., Okajima, K.

Bovine colostrum improves cognitive function in mice by increasing the production of insulin-like growth factor-I in the hippocampus. 50<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Research November 14, 2009, Hamburg, Germany.

⑤ 岡嶋研二

多臓器不全ーその発現機序と早期治療の重要性ーCritical Care Medicine 2009 特別講演 (2009 年 7 月 24 日、横浜市)

⑥ 岡嶋研二

知覚神経刺激による微小循環と組織再生の制御ーその分子機序と臨床治療への応用ー第 8 回 Organ Microcirculation Forum 特別講演 (2009 年 5 月 14 日、東京都)

⑦ 岡嶋研二

臨床検査による敗血症の重症化予測ー早期治療への応用、日本臨床検査専門医会 特別講演 (2008 年 11 月 27 日、名古屋市)

⑧ 岡嶋研二

重症敗血症ーその病態機序と新たな治療戦略ー、第 18 回生物試料分析科会大会 特別講演 (2008 年 2 月 10 日、大阪市)

[図書] (計 1 件)

① Harada N, Okajima K.

New aspects of anti-inflammatory activities of antithrombin-Molecular mechanism(s) and therapeutic implications-. In: Tanaka K, Davie EW (eds) Recent Advances in Thrombosis and Hemostasis. Springer Japan (Tokyo), 2008,

pp. 218-230.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岡嶋 研二 (OKAJIMA KENJI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：60152295

### (2) 研究分担者

原田 直明 (HARADA NAOAKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：00309915