

機関番号：17102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790730

研究課題名（和文）心不全憎悪要因としての脳内ナトリウムハンドリング異常：

機序解明と治療法の確立

研究課題名（英文） Abnormal brain Na handling contributes to

salt-induced cardiac dysfunction in heart failure model

研究代表者

伊藤 浩司 (ITO KOJI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：10452757

研究成果の概要（和文）：

圧負荷心不全モデルでは、脳内ミネラルコルチコイド受容体（MR）の発現は有意に増加し、同時にアンジオテンシンtype 1 受容体(AT1R)の発現も増加した。圧負荷モデルに食塩負荷を行うと、脳内MR-AT1R経路が更に亢進し交感神経活性化が促進された。心不全モデルでは食塩負荷に対するNaチャンネル抑制系：CYP-EET経路の活性化が消失していた。以上の結果から、圧負荷心不全モデルにおいて、脳内MR経路活性化、CYP-EET経路活性不全が食塩負荷による交感神経活性化に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）

In pressure-overload mice, high-salt intake increased 24-h urinary catecholamine excretion resulting in cardiac dysfunction, but not in Sham-mice. We focused mineralocorticoid receptor (MR), as Na channels activator and CYP-epoxyeicosatrienoic acid (EET) pathway, as Na channels inhibitor. We examined the extent/activity of brain MR and Cyp2C9 expression and 11,12-epoxyeicosatrienoic acids (EET) concentration. In Sham-mice, high-salt intake decreased MR activation, but in pressure-overload mice. ICV infusion of MR blocker attenuated the salt-induced sympathetic activation and cardiac dysfunction in pressure-overload mice. In Sham-mice, high-salt intake increased the brain cyp2C9 expression and 11,12-EET concentration but not in pressure-overload mice. These results indicate that, in mice with pressure-overload, high-salt intake increases sympathetic outflow via the activation of brain Na channels through MR activation and insufficient activation of CYP-EET pathway.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：循環器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：(1)心不全(2)食塩(3)脳(4)Naチャンネル(5)ミネラルコルチコイド(6)交感神経活動

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎えた我が国の医療においてあらゆる心疾患の終末像である心不全患者は増加の一途を辿っている。心不全は依然予後不良の疾患であり、薬物治療に加えて、様々なデバイス、さらには植え込み型左室補助装置、最終的な心移植医療が行われている。しかし、それらの治療の恩恵をうけることができるのは極一部の患者であり、特に高齢心不全患者においては、薬物治療で経過をみられることがほとんどである。そのような状況において特に高齢者における心不全悪化の大きな誘因となっているものの一つが、食塩過剰摂取であり、食塩嗜好性の強い我が国の食文化において、食塩摂取による心不全悪化の機序を解明することは、重要課題と考えられた。すでに、申請者は、2007-2008 年度文部科学研究費（若手スタートアップ）において、心不全モデルにおける脳内 Na ハンドリング異常によって食塩負荷時に過剰な交感神経活性化を来すことを報告したが、その詳細な機序は明らかでない状況であった。

## 2. 研究の目的

心不全モデルにおける脳内 Na ハンドリング異常の機序解明

## 3. 研究の方法

圧負荷モデルの作成

10 週令マウスを用いて腹部大動脈に banding 施行し、圧負荷モデル (AB 群) を作成する。Sham 群は開腹のみ行う。

Banding 4 週間後 (AB4) とその後 4 週間通常食投与群 (ABR) と高食塩食投与群 (ABH) を作成し、に以下の検討を行う。

### (1) Na 取り込み機構促進系の評価

～脳内 MR-ENaC 系、RA 系・Rho-kinase 系の確認～

脳 [脳室周囲器官 (含視床下部)] 組織を回収する。Western blot analysis で、MR-ENaC 系の評価として、MR 発現、リン酸化 sgk-1/sgk-1 比、ENaC 発現を、RA 系の評価として angiotensin type 1 receptor (AT1R) の発現を、Rho-kinase 系の評価として、Rho-kinase の標的蛋白である moesin, adducin などのリン酸化の程度を定量する。

### (2) Na 取り込み抑制系の評価

～脳内 Cyp - EET (cytochrome P450 -epoxyeicosatrienoic acids) 系の確認～  
脳組織における CYP2C9 の発現を Western blot 法で確認し、さらに脳脊髄液内 11, 12-EET 濃度を ELISA 法で測定する。

### (3) 食塩負荷に対する過剰な交感神経活性化への上記分子の役割検討

- ① MR blocker (エプレレノン)、  
AT1R blocker (テルミサルタン)  
Rho-kinase 阻害剤 (Y-27632)

#### 11, 12-EET

上記薬剤を浸透圧ミニポンプを用いて、高食塩負荷を開始と同時に側脳室内へ持続投与 (4 週間) を行う。側脳室内への上記薬剤投与が、食塩負荷時の過剰な交感神経活性化に及ぼす影響 (抑制効果) を評価する。交感神経活性は、24 時間蓄尿による尿中カテコラミン排泄量で評価する。

- ② AT1R ノックアウトモデルでの検討。  
AT1R ノックアウトマウスで腹部大動脈 banding を行い、脳内 Na ハンドリング異常が生じるか否かを検討する。

## 4. 研究成果

### (1) Na 取り込み機構促進系の評価

～脳内 MR-ENaC 系、

RA 系・Rho-kinase 系の確認～

- banding 4 週間後 (圧負荷のみ)、sham 群に比べて脳内 MR, リン酸化 sgk-1/sgk-1 比の増加、ENaC の発現増加を認めた。
- さらに 4 週間の高食塩負荷を行ったところ、圧負荷群では著明な交感神経活動の増加を認めたが、sham 群で有意な変化は認めなかった。4 週間後の食塩負荷によって、sham 群では、MR 活性の低下 (リン酸化 sgk-1/sgk-1 の低下) を認めたが、AB 群では、むしろ増加を認め、MR 発現自体も増加を認めた。
- banding 4 週間後、sham 群に比べて脳内 AT1R、Rho-kinase 活性 (リン酸化 moesin) の増加を認めた。
- banding 後、圧負荷群での食塩負荷による過剰な交感神経活動亢進は、脳内 (側脳室

内)へのMR blocker (エプレレノン)、AT1R blocker (テルミサルタン)、Rho-kinase 阻害剤(Y-27632) 微量持続投与で、有意に抑制された。

- banding 後、食塩負荷によって生じる脳内 AT1R 発現増加は、脳室内 MR blocker 投与で完全に抑制された。
- 一方、banding 後、食塩負荷によって生じる脳内 MR 発現増加は、脳室内 AT1R blocker 投与では抑制されなかった。

-----まとめ(1)-----

- ① 大動脈 banding による圧負荷により、脳内 MR-ENaC 経路の活性化を生じる。
- ② 食塩負荷を行うことで、脳内 (脳室内) Na 取り込み亢進が生じる
- ③ 脳脊髄液内 Na 増加により、脳内 AT1R の発現増加が生じる。
- ④ 脳内 AT1R 発現増加により、交感神経活動亢進が生じる。

(2)Na 取り込み抑制系の評価

～脳内 Cyp - EET 系の確認～

- Sham 群においては、食塩負荷により脳内 Cyp2c9 の発現増加と脳内 11, 12-EET 濃度増加を認めた。
- 一方、banding (圧負荷)群においては、食塩負荷を行っても、Cyp2c9 の発現、脳内 11, 12-EET 濃度の変化は認めなかった。

-----まとめ(2)-----

圧負荷モデルにおいては、食塩負荷によって本来 Na 取り込みを抑制 (ENaC 抑制) するために活性化される Cyp-EET 系の活性化不全が生じ、ENaC 活性が高いままの状態が維持され、Na 取り込みが亢進したままの状態が持続する。

(3)食塩負荷に対する過剰な交感神経活性化への上記分子の役割検討

- MR blocker、AT1R blocker、Rho-kinase 阻害いずれも、圧負荷群へ食塩負荷と同時に脳室内へ持続投与することで、交感神経活動亢進の抑制、心機能低下の抑制効果を認めた。
- AT1R ノックアウトマウスを用いた検討では、banding による圧負荷を加えても、食塩感受性は獲得されず、食塩摂取による交感神経活動増加は認めなかった。

-----まとめ(3)-----

- ① 圧負荷モデルにおける脳内 Na 感受性獲得による交感神経活動亢進に、脳内

MR/Rho-kinase/AT1R 経路の活性化が関与する。特に、AT1R ノックアウトマウスでは、圧負荷による脳内 Na 感受性亢進が全く消失することから、圧負荷群における食塩摂取による交感神経活動活性化維持に AT1R が key molecule としての役割を果たしている。

- ② 上記薬剤の脳内投与によって交感神経活動を抑制することで、心機能改善も有意に認めることから、圧負荷モデルにおいて食塩摂取がもたらす心機能低下に、交感神経の過剰な活性化が重要な役割を果たしている。

## 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 1 件)

Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K.

Blockade of mineralocorticoid receptors improves salt-induced left-ventricular systolic dysfunction through attenuation of enhanced sympathetic drive in mice with pressure overload.

J Hypertens. 有. 28:1449-1458. 2010

[学会発表] (計 3 件)

国際学会

Ito K. Acquisition of brain Na sensitivity in mice with LVH via ENaCs through MR activation: possible involvement in salt-induced sympathetic activation and cardiac dysfunction.

Cardiovascular System Dynamics Society

2010. 9. 24 福岡

国内学会

伊藤浩司

Enhanced aldosterone synthesis and insufficient activation of cyp2c2-EET in the brain contributes to the increased salt-sensitivity in pressure-overload model

第 14 回日本心不全学会総会

2010. 10. 8 東京

伊藤浩司

LVH モデルでの脳内 ENaCs 活性化を介した Na 感受性獲得機序～脳内 Aldo 合成-MR 活性化と

CYP-EET 経路機能不全～  
第 33 回日本高血圧学会総会  
2010. 10. 17 福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 浩司 (ITO KOJI)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号：1 0 4 5 2 7 5 7

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：