

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：24701
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22590662
 研究課題名（和文） 高血圧に伴う血管性認知症、慢性腎障害における細動脈硬化とストレスの関与の解明
 研究課題名（英文） Contribution of stress and arteriolosclerosis to vascular dementia and chronic renal disease in the patients with hypertension
 研究代表者
 羽野 卓三（HANO TAKUZO）
 和歌山県立医科大学・医学部・教授
 研究者番号：90156381

研究成果の概要（和文）：200 字

ストレスによる微小循環変動が認知機能および腎障害に影響するかをみた。ストレスにより回避行動は低下した。タウリンは高血圧ラットの回避行動低下を著明に改善した。ストレス時、脳表面の血流は増加するが扁桃体近傍では有意な変化は無かった。正常血圧ラットでは腎神経刺激による腎髄質血流の変化は NO により保たれていたが、高血圧ラットでは低下していた。高血圧ラットでは骨髄由来内皮前駆細胞の細胞老化は増加しており、タウリンで改善した。

研究成果の概要（英文）：

Aim was to know the contribution of stress on cognitive function and renal medullar function through altered microcirculation. Stress induced cognitive dysfunction in rats and taurine improved this in hypertensive rats. Stress showed no effects on blood flow around amygdala. Renal medulla blood flow was maintained by NO after renal nerve stimulation but significantly reduced in hypertensive rats. Senescent endothelial progenitor cell was increased in hypertensive rats and improved by chronic taurine treatment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：認知機能、腎障害、ストレス、微小血流、高血圧

1. 研究開始当初の背景

①高血圧による粥状動脈硬化は心筋梗塞、脳梗塞のリスクとなるが、細動脈硬化が引き起こす病態については不明な点が多い。血管性認知症についてはストレスが誘因になることが多く、細動脈硬化による血流障害に加えてストレスに伴う虚血の増悪、酸化ストレスによる血管増殖が悪循環を来し

ている可能性がある。②腎硬化症にともなう慢性腎障害では腎髄質の循環障害が原因との説がある。認知症および腎障害について、ストレスや高血圧による循環障害と関連する可能性がある。③含硫アミノ酸は交感神経を抑制するとされるがストレス時の認知機能や腎血流への影響は明らかでない。

2. 研究の目的

①動物にストレスをかけた時、認知機能が生じるか、その際の脳血流はどうか、高血圧発症初期と成熟期においてストレス時の認知機能に差があるか、含硫アミノ酸タウリンを慢性投与した際に認知機能に変化を生じるかを明らかにする。②脳表面の血流と扁桃体を中心とした部位の血流をレーザー組織血流計を用いてストレス前後で比較する。③腎血流については腎交感神経を低頻度から高頻度まで直接刺激した際の腎皮質および腎髄質の血流変化を観察する。さらに、高血圧自然発症ラットにおいて腎交感神経を刺激した際の血流分布の変化を、若年および成熟ラットで検討する。NOの関与をみるためNO合成阻害薬であるLNAMEを投与し神経刺激後の変化について検討する。タウリンを慢性投与した群も同様の実験を行い、血流分布への影響をみる。⑤微小循環に影響するeNOSの由来となる血管内皮の修復に関与する骨髄由来内皮前駆細胞(EPC)の細胞老化の関与についても明らかにし、それらの予防・改善機序について検討する。

3. 研究の方法

①ストレスによる認知機能障害：脳卒中易発症高血圧モデルであるSHR-SP/Izm（雄性6週）および対照として同週齢のWKY/Izmを用いた。またタウリン投与群は、3%タウリンを飲水として3週間投与した。対照群は水道水を同期間投与し9週齢において実験を行った。SHRSPおよび対象のWKYに120分間の拘束ストレスを加えた群とストレスを与えない群を作成した。行動解析装置を用いたMorris水迷路試験を行い、回避時間を測定し認知機能を評価した。

②ストレスによる脳血流変化：SHR-SP/Izm（雄性7および17週齢）および対照として同週齢のWKY/Izmを用いイソフルラン麻酔下に頭頂骨を開窓し脳表を露出、レーザー組織血流計（非接触性プローブ）にて表層の血流を測定。グラスファイバープローブを脳定位装置により脳深部（扁桃）に挿入し局所血流の測定を行った。麻酔深度を変化させ、麻酔が深い場合と覚醒した場合において、脳血流の変化を評価した。なお、ストレスによる低酸素の状況をPimonidazoleを用いての組織免疫学的検討を行ったが、短時間のストレス負荷では変化を示さなかった。

③ストレスによる腎血流の変化：脳卒中易発症高血圧モデルであるSHR-SP/Izmおよび対照として同週齢のWKY/Izmに3%

タウリンを飲水として2週間投与する。腎皮質血流量および髄質血流量をレーザー組織血流計（非接触性プローブ）にて表層の血流、接触型プローブにより測定する。さらに、腎神経を電氣的に刺激した場合の皮質・血流の変化度から血流の腎内分配について明らかにする。

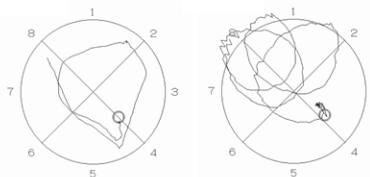
③骨髄由来内皮前駆細胞の老化：生後6週齢の高血圧自然発症ラット(SHR/Izm)と対象となるWKY/Izmを2群に分け、タウリン群には3%タウリンを飲水として2週間投与した。対象群には水道水を飲水させた。末梢血(2ml)から単球層を抽出し培養した。アセチル化LDLおよびレクチンで二重染色し、染色された細胞をEPCと判定し、EPC数をカウントした。SA-Beta-gal stainingとDAPI(核染色)との二重染色を施行し、老化細胞の数を計測した

4. 研究成果

①ストレスによる認知機能障害：予備実験においてストレスは一過性の回避時間の延長（認知機能低下）を引き起こしたが、2週間後には前値に回復した。WKY/IzmにおいてもストレスによりMorris水迷路試験において回避時間の延長がみられた。タウリン投与により回避時間の短縮傾向がみられた。SHRSP/IzmはWKY/Izmと比較して回避時間が短かった。SHRSP/Izmでも拘束ストレスによる認知機能の低下がみられたが、慢性的なタウリン投与による回避抑制の効果が大きかった。

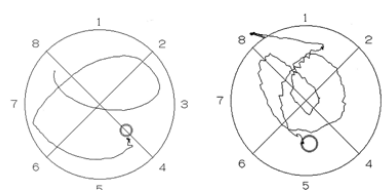
Morris水迷路試験

水道水(WKY)
コントロール 拘束負荷

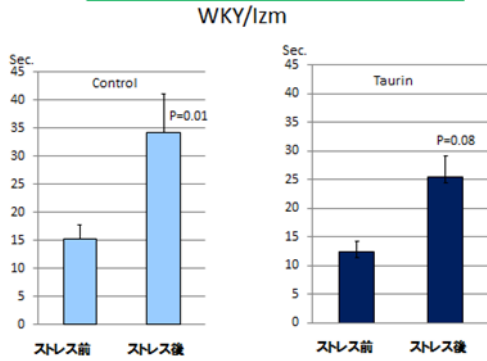


Morris水迷路試験

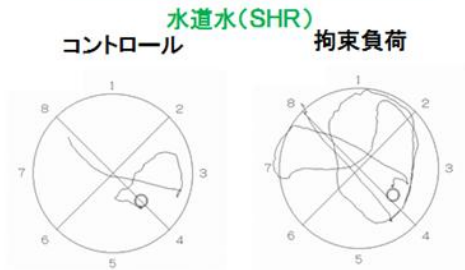
3%タウリン(WKY)
コントロール 拘束負荷



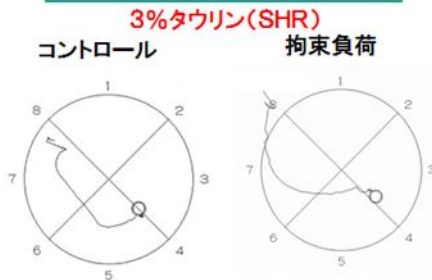
水迷路試験(到達時間)



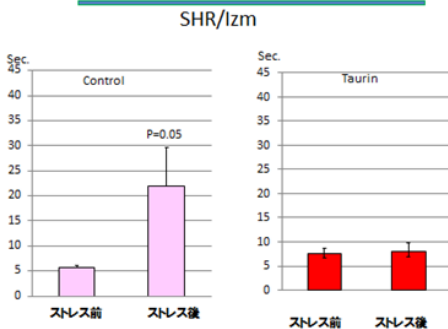
Morris水迷路試験



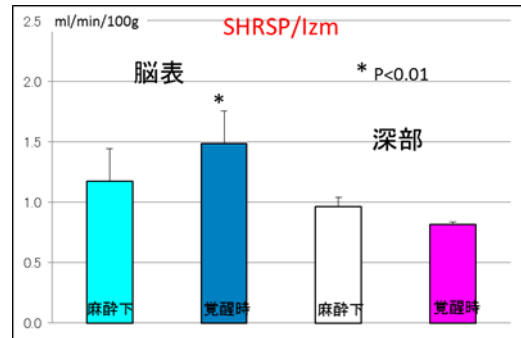
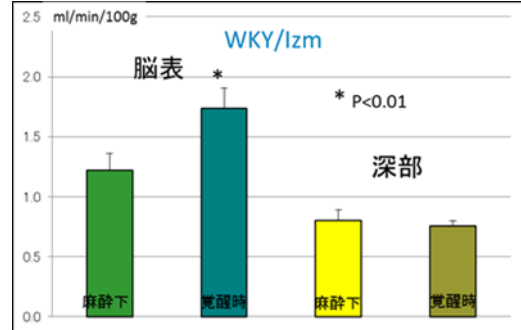
Morris水迷路試験



水迷路試験(到達時間)

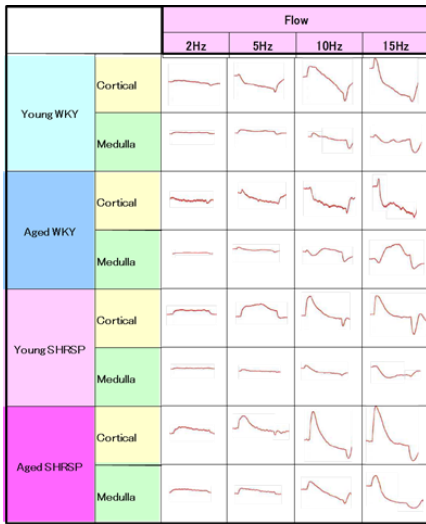


②ストレスによる脳血流変化：
 ストレス負荷により血圧は有意に上昇した。WKY/Izm および SHR/Izm とも脳表の血流は覚醒時には有意に上昇するが、扁桃体近傍部での血流には変化がなかった。

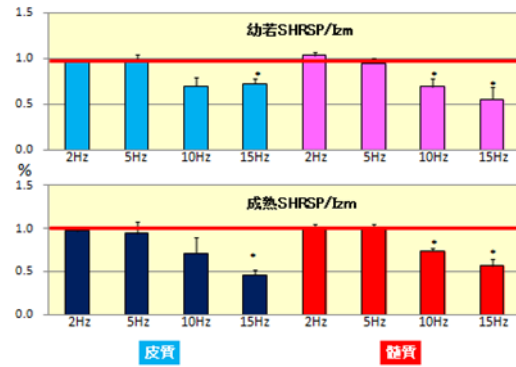


③ストレスによる腎血流の変化：

幼若および成熟 WKY の腎皮質では低頻度刺激による FLOW および MASS の変化は有意でないが、高頻度刺激により FLOW の低下と MASS の増加が生じた。一方、腎皮質では各刺激頻度において FLOW および MASS の有意な変化はみられなかった。幼若および成熟 SHRSP では FLOW の変化は WKY と同様であったが、MASS は低頻度刺激から著明に増加していた。また、幼若 SHRSP では腎髄質の FLOW および MASS は WKY と同様に軽微な変化に留まっていたが、成熟 SHR では FLOW の有意な低下を認め、MASS は高頻度刺激において増加した。LNAME の刺激前投与によって幼若 WKY では有意な変化を認めなかったが、成熟 WKY では髄質 FLOW の低下が増強された。SHRSP では皮質の血液量の増加が抑制されたが、髄質の FLOW の変化は認めなかった。タウリンは SHR/Izm において電気刺激時の腎皮腎髄質血流の低下を改善した。

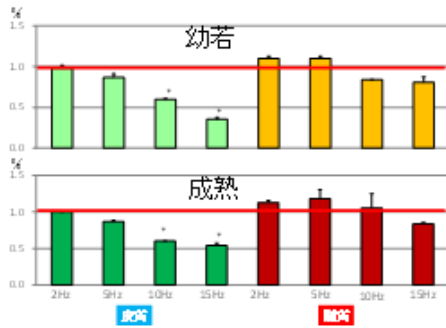


LNAME処理したSHR/Izmの腎血流

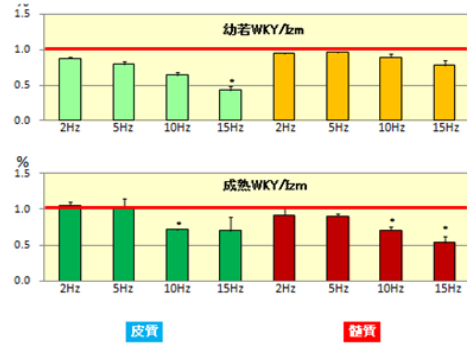


③骨髄由来内皮前駆細胞の老化：
 生後 6 週齢と 24 週齢の高血圧自然発症ラット(SHR/Izm)と対象となる WKY/Izm には WKY は 6 週齢と 24 週齢で差がないが SHR/Izm では EPC の数は増加していた。SHR/Izm および WKY/Izm では EPC 老化細胞は加齢により増加し、また、WKY/Izm と比較して SHR/Izm で増加していた。3% タウリンを飲水として 2 週間投与した SHR/Izm では EPC 老化細胞は減少した。対象群には水道水を飲水させた。タウリンは EPC 数には影響を与えなかったが、老化細胞数は減少し、Telomerase 活性も改善した。

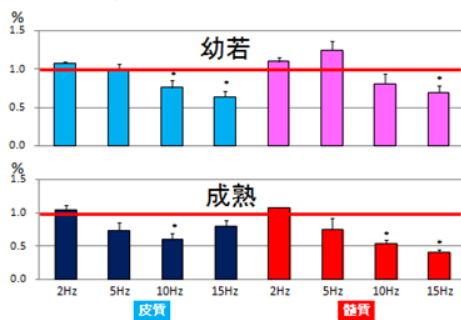
WKY/Izmにおける腎皮質血流



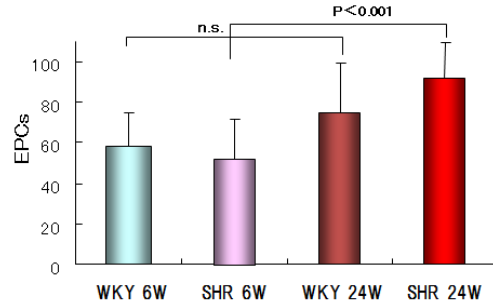
LNAME処理したWKY/Izmの腎血流



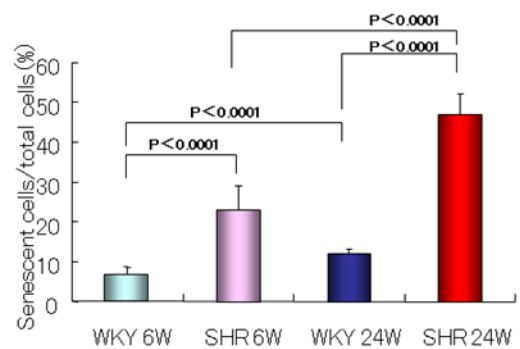
SHRSP/Izmにおける腎皮質血流

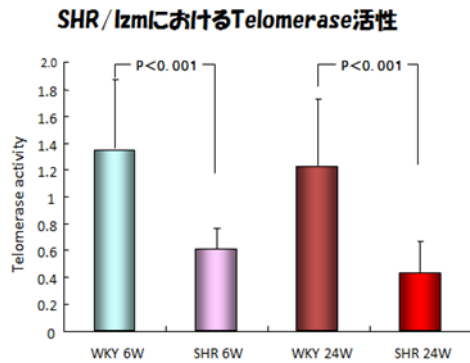


SHR/IzmにおけるEPC数

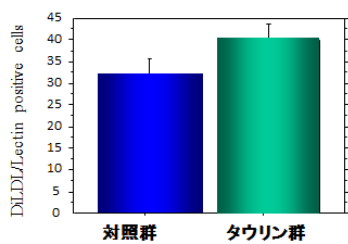


SHRにおけるEPC老化細胞数

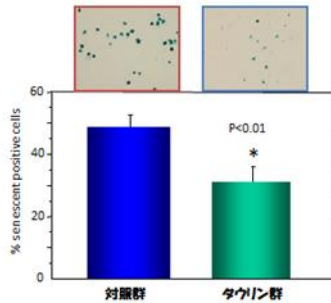




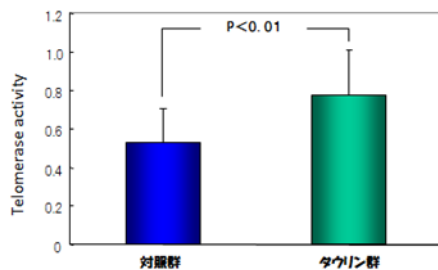
3週間タウリンを投与したSHR/IzmのEPC数



3週間タウリンを投与したSHR/Izmの老化EPC数



3週間タウリン投与によるTelomerase活性への影響



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 5 件)

1. Takuzo Hano, Tetsuya Kawabe : Taurine and Estrogen Improves Endothelial Progenitor Cell Senescence in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR/Izm). 査読無 Physiological Research . 2011, 60 : 2
2. T. Kawabe, T Hano, T Ueyama , Y Tsuruo : Cardiovascular Responses to Microinjections of Endomorphin-2 into the Nucleus Tractus Solitarius are Attenuated in Spontaneously Hypertensive Rats. 査読無 Physiological Research.2011,60
3. Takashi Ueyama Yuta Yamamoto,Kazuki Ueda, Tetsuya Kawabe, Takuzo Hano, Takao Ito, Yoshihiro Tsuruo, Masao Ichinose, Ken-ichi Yoshida : Cardiac and vascular gene profiles in an animal model of takotsubo cardiomyopathy . 査読有 Heart and Vessels an International Journal 2011, 26 : 321-337
4. Takuzo Hano, Tetsuya Kawabe: Effects of Taurine and Estrogen on Endothelial Progenitor Cell Senescence in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR/Izm). 査読無 Clinical and Experimental Hypertension 2011, 33(1): 8
5. Ueyama T, Yamamoto Y, Ueda K, Kawabe T, Hano T, Ito T, Tsuruo Y, Ichinose M, Yoshida K.Cardiac and vascular gene profiles in an animal model of takotsubo cardiomyopathy. 査読有 Heart Vessels. 2011; 26(3):321-37

[学会発表] (計 13 件)

1. Takuzo Hano, Yumi Koike, Naomi Iwane : Azelnidipine suppresses sympathetic activation by hand-grip exercise in hypertensive patients. 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2012.10.1, Sydney Australia
2. Yumi Koike, Naomi Iwane, Masato Mizukoshi, Takuzo Hano: Difference of sympathetic response to isometric handgrip exercise in healthy subjects and hypertensive patients treated with calcium antagonist. 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2012.10.2, Sydney Australia
3. Takuzo Hano, Yumi Koike, Naomi Iwane : Combined drug of calcium channel blockade and angiotensionII receptor

- antagonist can improve drug adherence in the patient treated with several drugs in Japanese population. 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2012.10.2, Sydney Australia
4. Masato Mizukoshi, Yumi Koike, Naomi Iwane, Takashi Akasaka, Takuzo Hano : Association of carotid arterial stiffness and coronary plaque characteristics: an optical coherence tomography study. . 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2012.10.1, Sydney Australia
 5. Yumi Koike, Naomi Iwane, Masato Mizukoshi, Takuzo Hano : Effect of L/N type of calcium channel blocker, clonidine on sympathetic activation by isometric exercise in hypertensive patients. 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2012.10.1, Sydney Australia
 6. Takuzo Hano, Naomi Iwane, Noriko Miyoshi, Masato Mizukoshi. Altered Renal Cortical and Medullary Blood Flow Distribution by Sympathetic Nervous Activation in Spontaneously Hypertensive Rats. International SHR Conference 2012.9, Melbourne Australia
 7. 羽野卓三、岩根直美、小池有美、水越正人 : SHRにおける拘束ストレスによる認知機能低下に対する含硫アミノ酸タウリンの影響. 第47回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 2011. 9. 7. 札幌
 8. 岩根直美、羽野卓三、小池有美、水越正人 : 高血圧自然発症ラットにおいて拘束ストレスによる認知機能低下は含有アミノ酸タウリンにより抑制される. 第22回日本老年病医学会近畿地方会, 2011. 11. 5 . 西宮
 9. 川邊哲也、上山敬司、鶴尾吉宏、羽野卓三 : 圧受容体反射に及ぼすストレス関連ペプチドの影響. 第62回日本自律神経学会総会/シンポジウム6 (心血管系の中枢自律神経調節) 2009. 10. 2. 大津
 10. Takuzo Hano, Tetsuya Kawabe : Effect of Taurine and estrogen on endothelial progenitor cell senescence in spontaneously hypertensive rats. 14th International SHR Symposium, 2010.9.23, Montreal Canada
 11. Takuzo Hano, Tetsuya Kawabe, Takashi Ueyama, Yoshihiro Tsuruo : Cardiovascular responses to endomorphin2 microinjections into the nucleus solitarius is attenuated in spontaneously hypertensive rats. 14th International SHR Symposium, 2010.9.24, Montreal Canada
 12. Takuzo Hano, Hiromi Tomari, Tetsuya Kawabe : AngiotensinII receptor blockade blunted mental stress-induced blood pressure elevation reduction of skin blood flow compared with calcium blockade, The 23rd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2010.9.30 , Vancouver Canada
 13. 岩根直美、羽野卓三、小池有美、川邊哲也 : 含硫アミノ酸タウリンによるストレス下認知機能障害の抑制. 第21回日本老年医学会近畿地方会, 2010. 11. 20. 大阪
- [図書] (計0件)
- [その他]
ホームページ等 なし
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
羽野卓三 (HANO TAKUZO)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 90156381
 - (2) 研究分担者
川邊 哲也 (KAWABE TETSUYA)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 : 60508034
(平成 20. 4~平成 23. 3)
上山 敬司 (UEYAMA TAKASHI)
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号 : 50264875
水越 正人 (MIZOKOSHI MASATO)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号 : 90254531
(平成 23. 4~平成 25. 3)
 - (3) 連携研究者 なし
 - (4) 研究協力者
岩根直美 (IWANE NAOMI)
三好典子 (MIYOSHI NORIKO)