

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591226

研究課題名(和文)メタボリックシンドロームにおける昇圧機序：中枢性交感神経亢進の原因究明

研究課題名(英文) Mechanism of hypertension in metabolic syndrome: the role of central sympathoexcitation

研究代表者

藤田 恵 (Fujita, Megumi)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50447405

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：メタボリックシンドロームでは食塩感受性高血圧を示すが、食塩摂取量の多い我が国では対策が求められる。後天性肥満モデル(高脂肪食負荷SDラット)、食塩感受性モデル(食塩負荷Dahlラット)、先天的メタボリックシンドロームモデルラットにおいて、MR下流因子であるSgk1の脳視床下部におけるmRNA発現量は各対照群に比し亢進しており脳内MR活性化が示唆された。MR blockerであるエプレレノンの脳室内投与により脳内酸化ストレス低下、交感神経抑制、降圧効果が認められ、脳内ミネラルコルチコイド受容体(MR)活性化が脳内酸化ストレス増大による中枢性交感神経活動亢進に関与している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have shown previously that sympathoexcitation by brain oxidative stress mediates arterial pressure elevation in hypertension, and also shown that aldosterone-mineralocorticoid receptor (MR) activation mediates oxidative stress-induced cardiac and renal dysfunction. Then, we hypothesized that brain MR activation could mediate arterial pressure elevation through brain oxidative stress-induced sympathoexcitation. We used high-salt-loaded Dahl-salt-sensitive rats, high-fat-loaded-Sprague-Dawley rats and Dahl-S.Z-Lepr(fa)/Lepr(fa). In these rats, mRNA expression of Sgk-1 and PAI-1 in the hypothalamus was significantly enhanced, which suggested MR activation. Moreover, chronic intracerebroventricular eplerenone significantly reduced sympathetic nerve activity and arterial pressure. In conclusion, brain aldosterone-MR activation through brain oxidative stress-induced sympathoexcitation can be a possible pathogenic background of hypertension in metabolic syndrome.

研究分野：腎 高血圧

キーワード：高血圧 メタボリックシンドローム 交感神経活動 ミネラルコルチコイド受容体 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームでは食塩感受性高血圧を示すが、詳細機序は不明であり、食塩摂取量の多い我が国ではその解明が急務である。食塩感受性および肥満高血圧では「中枢性交感神経活動亢進」が重要であり、その上流に存在する機序に「脳内酸化ストレス増大」が関与している可能性を我々は既に報告した()。食塩感受性ラットでは、脳内アルドステロン - ミネラルコルチコイド受容体 (MR) 系が交感神経亢進ならびに血圧上昇に関与していること() またアルドステロン合成酵素が脳内に存在しアルドステロンが合成される可能性() アルドステロンが脳内で酸化ストレス産生に寄与している可能性() が他施設より報告されている。我々は、アルドステロン MR 系が酸化ストレス上昇を介した心・腎障害に関与していることも報告している()。

2. 研究の目的

脳内においてアルドステロン-MR 系が酸化ストレスを介して交感神経活動を亢進させている可能性を考え、この仮説を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

【対象動物】

食塩感受性高血圧モデルとして食塩負荷 Dahl-S rat、後天性メタボリックシンドロームモデルとして高脂肪食負荷 Sprague-Dawley rat、先天性メタボリックシンドロームモデルとして Dahl-S.Z-Lepr(fa)/Lepr(fa) ratを用いた。

【視床下部におけるMR活性の検討】

Quantitative real-time RT-PCR法により、MR下流因子 (Sgk1, PAI-1) の視床下部におけるmRNA発現量を各モデルラットと、その対照群の間で比較検討した。

【MR blocker(eplerenone)脳室内慢性投与】食塩感受性モデル、後天性メタボリックシンドロームモデルでは高食塩、高脂肪食負

荷の間、背部皮下に埋め込んだインフュージョンポンプにより、慢性的に脳室内に、人工脳脊髄液に溶解したエプレレノンもしくは人工脳脊髄液 (vehicle) を投与し、その両群間で血圧、交感神経活動、視床下部酸化ストレスを比較検討した。

【血圧測定】

無麻酔・自由行動下で観血的に血圧測定を行った。

【交感神経活動測定】

無麻酔・自由行動下にて神経節遮断薬ヘキサメソニウムの静脈投与に対する降圧の程度を比較検討した。

【視床下部酸化ストレス評価】

摘出した視床下部をKrebs液中に入れインキュベート後、ルシジェニン化学蛍光発光法によるsuperoxide産生量の測定を行った。NADPHを基質として添加しNADPH依存性の産生量を検討した。

【アルドステロン合成酵素発現量評価】アルドステロン合成酵素であるCYP11B2の発現量をreal-time RTPCR法により対照群と比較検討した。

【統計】

データは平均 ± 標準誤差で表した。二群の比較に関してはunpaired t-testを用いた。

4. 研究成果

MRの下流因子であるSgk-1、PAI-1の視床下部におけるmRNA発現量をreal-time RTPCRで検討したところ、いずれのモデルにおいても、その対照群と比較し発現が有意に亢進しており、MR活性化が示唆された。

上記の検討で、脳内におけるMR活性亢進が確かめられたので、ラットの脳室内に慢性的にMR blockerであるeplerenoneを投与し、血圧に対する影響を検討した。無麻酔無拘束下の観血的血圧測定による平均血圧は、食塩感受性および後天性メタボリックシンドロームモデルにおいて、eplerenone群でvehicle群に比較し有意に低下してい

た (図 1)。

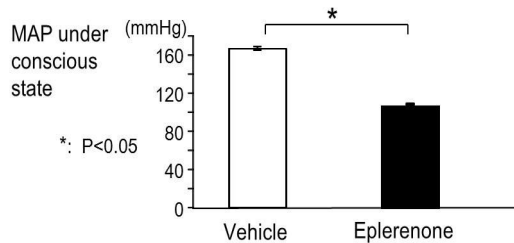


図 1 . MR blocker (eplerenone)慢性脳室内投与の血圧に対する効果：高食塩負荷 Dahl-S において、eplerenone の慢性脳室内投与は vehicle 群に比較し有意な血圧低下効果を示した。MAP (mean arterial pressure; 平均血圧)

さらに神経節遮断薬ヘキサメソニウムの静脈投与に対する血圧低下反応は、vehicle 群に比較し eplerenone 群で有意に抑制されており、MR blocker 脳室内投与は交感神経抑制効果を示した (図 2)。

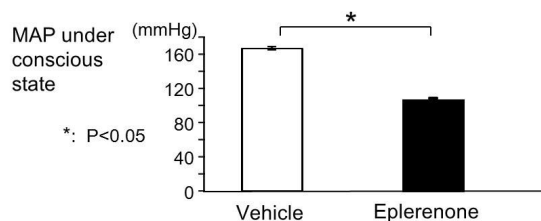


図 2. 食塩感受性モデルにおける MR blocker (eplerenone)慢性脳室内投与の血圧に対する効果

さらに、脳視床下部における酸化ストレス産生量は、vehicle 群に比較し eplerenone 群で有意に抑制された (図 3)。

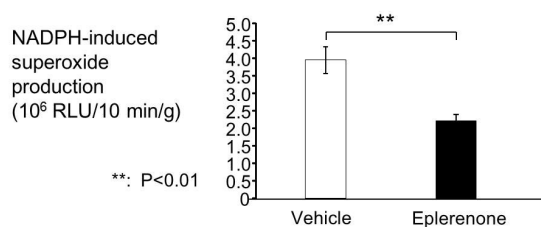


図 3. 食塩感受性モデルにおける Eplerenone 脳室内投与の脳内酸化ストレスに対する効果

また、アルドステロン合成酵素である CYP11B2 の脳視床下部における発現量は、

いずれのモデルラットにおいても、その対照群と比較し亢進していた。

以上から、メタボリックシンドロームにおける昇圧機序として、脳内アルドステロン MR 活性化が脳内酸化ストレス増大による中枢性交感神経活動亢進を介して関与している可能性が考えられた。

<引用文献>

Fujita M, et al. Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in salt-sensitive hypertension. *Hypertension*, 50: 360-367, 2007.

Nagae A, et al. Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension. *Circulation*, 119: 978-986, 2009.

Fujita M, et al. Sympathoexcitation by brain oxidative stress mediates arterial pressure elevation in salt-induced chronic kidney disease. *Hypertension*, 59: 105-112, 2012.

Huang BS, et al. Role of central nervous system aldosterone synthase and mineralocorticoid receptors in salt-induced hypertension in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.*, 296: 994-1000, 2009.

Gomez-Sanchez EP, et al. Aldosterone synthesis in the brain contributes to Dahl salt-sensitive rat hypertension. *Exp Physiol.*, 95: 120-130, 2010.

Zhang ZH, et al. Aldosterone acts centrally to increase brain renin-angiotensin system activity and oxidative stress in normal rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 294: 1067-1074, 2008.

Matsui H, et al. Salt excess causes left ventricular diastolic dysfunction in rats with metabolic disorder. *Hypertension*, 52: 287-294, 2008.

Kawarazaki H, et al. Mineralocorticoid receptor activation: a major contributor to salt-induced renal injury and hypertension in young rats. *Am J Physiol Renal Physiol.*, 300: 1402-1409, 2011.

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 4 件)

Kawarazaki H, Fujita M, et al.

Mineralocorticoid receptor-Rac1

activation and oxidative stress play major

roles in salt-induced hypertension and

kidney injury in prepubertal rats. J

Hypertens., 30; 1977-1985, 2012. 査読有

藤田恵、食塩と肥満 - 脳内酸化ストレスを介した中枢性交感神経活動亢進、医学のあゆみ、243、598-601、2012. 査読無

Fujita M, et al. The Role of CNS in Salt-sensitive Hypertension. Curr

Hypertens Rep. 2013; 15: 390-394. 査読有

Fujita M, et al. The Role of CNS in the Effects of Salt on Blood Pressure. Curr

Hypertens Rep. 2016; 18(2): 10. 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

藤田恵、第 85 回日本内分泌学会学術総会

「食塩感受性高血圧における脳内アルドステロン・ミネラルコルチコイド受容体の役割」 「2012 年 4 月 21 日」 「名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)」

藤田恵、第 55 回日本腎臓学会学術総会

「食塩感受性高血圧における脳内アルドステロン・ミネラルコルチコイド受容体を介した交感神経亢進の役割」 「2012 年 6 月 3 日」 「パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)」

河原崎千晶、第 55 回日本腎臓学会学術総会「ナノバイオテクノロジーを用いた腎系球体特異的なチロシン水酸化酵素 siRNA 導入の腎機能改善効果」 「2012 年 6 月 3 日」 「パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)」

村岡和彦、第 55 回日本腎臓学会学術総会「ループス腎炎における高血圧・臓器障害に対するアルドステロンの役割」 「2012 年 6 月 1 日」 「パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)」

藤田恵、第 35 回日本高血圧学会総会 (招待講演) 「肥満における血圧の食塩感受性亢進と交感神経活動の役割」 「2012 年 9 月 21 日」 「ウエスティンナゴヤキャッスル (愛知県・名古屋市)」

藤田恵、第 35 回日本高血圧学会総会「Sympathoexcitation by Brain Oxidative Stress Mediates Arterial Pressure Elevation in Salt-Induced Chronic Kidney Disease.」 「2012 年 9 月 20 日」 「ウエスティンナゴヤキャッスル

(愛知県・名古屋市)」

藤田恵、第 35 回日本高血圧学会総会「食塩感受性高血圧・肥満高血圧における脳内ミネラルコルチコイド受容体を介した中枢性交感神経活動亢進の役割」 「2012 年 9 月 22 日」 「ウエスティンナゴヤキャッスル (愛知県・名古屋市)」

河原崎千晶、第 35 回日本高血圧学会総会「ナノバイオテクノロジーを用いた腎系球体特異的なチロシン水酸化酵素 siRNA 導入の腎機能改善効果」 「2012 年 9 月 20 日」 「ウエスティンナゴヤキャッスル (愛知県・名古屋市)」

村岡和彦、第 35 回日本高血圧学会総会「ループス腎炎マウスの腎障害進展におけるアルドステロンの役割についての検討」 「2012 年 9 月 22 日」 「ウエスティンナゴヤキャッスル (愛知県・名古屋市)」

藤田恵、第 24 回国際高血圧学会「Brain mineralocorticoid receptor activation mediates arterial pressure elevation through brain oxidative stress-induced sympathoexcitation in salt-sensitive and obesity-induced hypertension.」 「2012 年 10 月 1 日」 「Sydney Convention and Exhibition Centre (Australia, Sydney)」

河原崎千晶、第 24 回国際高血圧学会「GLOMERULAR-TARGETED MOLECULAR THERAPY USING TYROSINE HYDROXYLASE SIRTINAMELIORATES GLOMERULAR DAMAGE IN DOCA-SALT HYPERTENSIVE RATS.」 「2012 年 10 月 1 日」 「Sydney Convention and Exhibition Centre (Australia, Sydney)」

村岡和彦、第 24 回国際高血圧学会「The role of aldosterone in the development of murine lupus nephritis.」 「2012 年 10 月 2 日」 「Sydney Convention and Exhibition Centre (Australia, Sydney)」

藤田恵、第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会「食塩感受性高血圧における脳内アルドステロン ミネラルコルチコイド受容体を介した酸化ストレス増大による中枢性交感神経活動亢進の役割」 「2012 年 11 月 24 日」 「東京大学本郷キャンパス医学部教育研究棟 (東京都・文京区)」

河原崎千晶、第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会「ナノバイオテクノロジーを用いた腎系球体特異的なチロシン水酸化酵素 siRNA 導入の腎機能改善効果」 「2012 年 11 月 24 日」 「東京大学本郷キャンパス医学部教育研究棟 (東京都・文京区)」

村岡和彦、第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会「ループス腎炎マウスの腎障害におけるミネラルコルチコイド受容体およびアルドステロン作用についての

検討」「2012年11月24日」「東京大学本郷キャンパス医学部教育研究棟（東京都・文京区）」

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤田恵（FUJITA, Megumi）
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：50447405

(2) 研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3) 連携研究者

（ ）

研究者番号：