

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790863

研究課題名(和文) 睡眠時無呼吸症候群動物モデルにおける交感神経と高血圧発症のメカニズム

研究課題名(英文) The relationship between sympathetic nerve activity and blood pressure of chronic intermittent hypoxia

研究代表者

小倉 彩世子(OGURA, SAYOKO)

日本大学・医学部・助手

研究者番号：30618202

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：睡眠時無呼吸症候群(SAS)患者は、SASでない人と比べて高血圧症の罹患率が約2倍と合併率が高い。しかし、高血圧の発症のメカニズムについては未解明のことが多い。本研究はSAS患者の高血圧症のメカニズムを特に、間欠的低酸素による持続的交感神経活性化および腎臓でのNa再吸収の変化から明らかにすることを目的として実験を行った。間欠的低酸素時の血圧の上昇は明らかではなかったが、高食塩の負荷により血圧の上昇は顕著となった。また臓器のカテコラミン産生も増加していた。以上から間欠的低酸素の負荷により交換神経活動が亢進し、食塩感受性高血圧を引き起こす可能性が示唆された

研究成果の概要(英文)：The Sleep Apnea Syndrome (SAS) patients are twice as high incidence of hypertension compared with those who are not SAS. However, the mechanism for the onset of hypertension is not clear. The experiments were carried out with the aim in particular, to clarify the change in Na reabsorption in the kidney and sustained sympathetic activation by intermittent hypoxia. Blood pressure was not altered by intermittent hypoxia under normal diet, however, it was significantly elevated by high salt diet. The catecholamine contents in several organs were also increased. It is possible that sympathetic nerve activity is enhanced by the intermittent hypoxia and it might contribute to development of salt sensitive hypertension.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：高血圧 ストレス 生理学 間欠的低酸素

1. 研究開始当初の背景

睡眠時無呼吸症候群(SAS)の罹患率は、一般人口の約4%という報告があり、広く心血管病変の独立した危険因子と認識されている。SAS患者は、SASでない人と比べて高血圧症(約2倍)、虚血性心疾患(約2-3倍)、脳血管障害(約3-5倍)の合併率が高い。日本における疫学調査では、SAS合併率は、高血圧症患者の約10%、難治性高血圧症では、より高率と報告されている。また、「高血圧症に関する米国合同委員会の7次報告」には、SASは左心室肥大や全身血管抵抗の上昇を介して、二次性高血圧症の最多の原因と報告されている。しかし、SASにおける高血圧の発症のメカニズムについては未解明のことが多い。その最も大きな理由は、動物モデルの作製が難しいことにある。SAS動物モデルとして、従来からげっ歯類動物を入れた小容器に窒素ガスを注入し低酸素とし、常酸素と交互に短時間暴露する“間欠的低酸素モデル”が頻用されてきた。しかし、窒素ガスボンベ交換の手間・経費、飼育数の制限等の問題があった。

近年、SAS患者の高血圧症に、交感神経の活性化・活性酸素・過酸化脂質・炎症によるcytokine産生・エンドセリン、血管内皮機能低下、Renin-Angiotensin-Aldosterone(RAS)系の活性化・インスリン抵抗性などが寄与している可能性が指摘されている。特に、夜間低酸素血症による持続的交感神経活性化が重要視されている。通常、睡眠中の平均血圧は日中に比べ10-20%低下する(dipper)。しかし、SAS患者では睡眠中の血圧低下の少ないnon-dipperの多発が知られている。また、夜間血圧上昇は、心血管イベントの予測因子とされ、心肥大、無症候性脳梗塞と関連するという報告もある。さらに、SASは、夜間高血圧や交感神経系活性化を介して臓器障害や心血管系イベントのリスク増加に寄与する可能性がある。また交換神経活動は腎臓でのNa再吸収を変化させることにより、食塩感受性を引き起こす可能性が示唆されている。

窒素ガス発生装置を用い、通常の飼育箱のガス注入条件を詳細に検討し改良した装置では間欠的低酸素を長期間、低経費・労力で飼育することに成功しており、既に、全身高血圧、肺高血圧、右心肥大を確認している。

2. 研究の目的

SASの病態において、間欠的低酸素反復による交感神経系持続性活性化が、腎臓でのNa再吸収機構での変化および食塩感受性

の変化を介して高血圧を発症するのではないかというに基づき研究を行った

3. 研究の方法

アクリル製チャンバー内に純窒素・空気の混合ガスを90秒間、続いて圧縮空気を90秒間、交互に吹き込み、吸入気酸素濃度(FIO₂)が4-5%まで低下するように調整した装置内にSDラットを飼育した。1時間20回の低酸素1日8時間(am8-pm4)・常酸素サイクルを16時間(pm.4-am.8)とした。またラットに無線発信機(telemetry)腹部大動脈に装着して、日内変動の有無および継時的な血圧の変化の確認を行った。食事は通常食群(Certified Diet MF)および高食塩食群(8%食塩)を与えた。対照群は暴露群の隣で飼育し、飼育後は各臓器を取り出しタンパク・RNAの定量・組織のカテコラミン量を測定した。

4. 研究成果

1) 間欠的低酸素による血圧の変化
腹部大動脈に挿入したカテーテルで間欠的低酸素負荷および常酸素での血圧の変化を持続的に計測した。負荷直後から間欠的低酸素時(light cycle:8hour)においては心拍数が低下みとめられ、常酸素時(dark cycle:16hour)に心拍・血圧が上昇するという傾向がみとめられた。この変化は2週間でほぼ一定になり常酸素時と間欠的低酸素時の血圧の変化が小さくなる傾向が認められた。高食塩(8% NaCl)の食餌により、血圧の上昇は顕著となり常酸素時にも持続的に血圧が上昇する傾向が認められた。

2) 間欠的低酸素による交感神経の活動
負荷2週間後の各臓器(心臓・腎臓・肝臓・小腸・脾臓)における交感神経の活動を評価するため、ノルエピネフリンを測定した。心臓・脾臓・小腸においては間欠的低酸素2週間の負荷により組織重量当たりのノルエピネフリン濃度は上昇していた。しかし尿および腎臓でのノルエピネフリン濃度は必ずしも高くなく、全身での交感神経活動よりも臓器による活動に変化がみられることが明らかとなった。今後はこの違いについてさらに検討を行う。

3) 腎臓におけるNa再吸収機構の変化
間欠的低酸素2週間の負荷後に腎臓を取り出し、タンパクおよびRNAの定量を行った。対照群とくらべWNK4, NCCのタンパク発現には変化がなく、WNK4のmessenger RNAについても対照群と変化がなかった。

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 6 件)

1. Ogura S, Shimosawa T, Mu S, Sonobe T, Kawakami-Mori F, Wang H, Uetake Y, Yoshida KI, Yatomi Y, Shirai M, Fujita T. Oxidative stress augments pulmonary hypertension in chronically hypoxic mice overexpressing oxidized LDL receptor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 305: H155-62. 2013 (査読有)
2. Hideyuki Maeda, Hisashi Nagai, Genzou Takemura, Kaori Shintani-Ishida, Masaaki Komatsu, Sayoko Ogura, Toshihiko Aki, Mikiyasu Shirai, Ichiro Kuwahira, Ken-ichi Yoshida Intermittent-hypoxia induced autophagy attenuates contractile dysfunction and myocardial injury in rat heart. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular biology of disease* 1832: 1159-1166. 2013 (査読有)
3. Xu S, Ogura S, Chen J, Little PJ, Moss J, Liu P. LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers. *Cell Mol Life Sci.* 70: 2859-2872. 2013 (査読有)
4. Shimosawa T, Kaneko T, Qingyou X, Miyamoto Y, Shengyu M, Wang H, Ogura S, Jimbo R, Majtan B, Uetake Y, Hirohama D, Kawakami-Mori F, Fujita T and Yatomi Y. Oxidative Stress in Multiple Organ Damage in Hypertension, Diabetes and CKD, Mechanisms and New Therapeutic Possibilities. *Oxidative Stress and Diseases*, 978-953-51-0552-7: 2012. (査読無)
5. Suowen Xu, Zhiping Liu, Yan Huang, Kang Le, Futian Tang, Heqing Huang, Sayoko Ogura, Peter J. Little, Xiaoyan Shen, Peiqing Liu Tanshirone II-A inhibits oxidized LDL-induced LOX-1 expression in macrophages by reducing intracellular superoxide radical generation and NF- κ B activation. *Translational Research* 160: 114-24: 2012 (査読有)
6. 小倉彩世子、下澤達雄. 内分泌学からみた血圧調節のメカニズム インスリン 内分泌・糖尿病・代謝内科. 35: 432-436. 2012. (査読無)

〔学会発表〕(計 13 件)

1. 小倉彩世子、白井幹康、永井恒志、奈良明奈、桑平一郎、下澤達雄、吉田謙一：放射光をもちいた間欠的低酸素および糖尿病モデルラットにおける心血管の病態解析. 第 17 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 2013.11.23 大阪
2. 下澤 達雄, 小倉彩世子, 宿谷 賢一, 田中 雅美, 矢富 裕 : 急性食塩負荷時の交感神経活動の変化 LF/HF での評価 第60回日本臨床検査医学会学術集会 2013.11.3 神戸
3. 里村 厚司, 藤田 宜是, 永島 正明, 小倉彩世子, 荒島 康友, 星野 忠, 志方えりさ, 藤岡 和美, 土屋 達行, 中山 智祥 ファブリー病スクリーニングにおけるE66Q 変異と腎組織像 第60回日本臨床検査医学会学術集会 2013.11.3 神戸
4. 小倉彩世子、土屋達行、里村厚司、永島正明、星野忠、荒島康友、志方えりさ、藤岡和美、下澤達雄、中山智祥 血中 CRP 複合体測定についての検討 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会 2013.11.2 神戸
5. 森典子、神保りか、広浜大五郎、Latapati Lehman、小倉彩世子、渡辺大輔、安藤孝、関康史、吉田尚弘、森本聡、市原淳弘、下澤達雄: 妊娠時ストレスが胎児の発達後血圧に与える影響 第36回日本高血圧学会 .2013.10.25 大阪
6. 下澤達雄、小倉彩世子、森典子、広浜大五郎、Reheman Latapati、神保りか、上竹勇三郎 高血圧患者での急性食塩負荷時の交感神経活動の変化 LF/HF での評価 第 36 回日本高血圧学会. 2013.10.25 大阪
7. 広浜大五郎、森典子、小倉彩世子、穆勝宇、神保りか、上竹勇三郎、藤田敏郎、南学正臣、下澤達雄 腎除神経術は降圧非依存的に心拡張障害を軽減させる 第 36 回日本高血圧学会. 2013.10.25 大阪
8. 小倉彩世子、白井幹康、永井恒志、奈良明奈、桑平一郎、下澤達雄、中山智幸、吉田謙一 : 放射光をもちいた間欠的低酸素および糖尿病モデルラットにおける心血管の病態解析 第 36 回日本高血圧学会.

- 2013.10.24 大阪
9. 下澤達雄、広浜大五郎、小倉彩世子、森典子、神保りか、Rcheman Latapati, 上竹勇三郎:急性食塩負荷時の自律神経の変化 第2回臨床高血圧フォーラム. 2013.5.25 東京
 10. 小倉彩世子、下澤達雄、永井恒志、吉田謙一 :Oxidative stress augments pulmonary hypertension in chronically hypoxic mice overexpressing oxidized LDL receptor. 第77回日本循環器学会学術集会. 2013.3.15 横浜
 11. 里村厚司、藤田宜是、永島正明、小倉彩世子、荒島康友、星野忠、土屋達行、中山智祥 維持透析療法中の慢性腎不全患者における機能的マンノース結合レクチンを含めた各種生命予後の検討 第59回日本臨床検査医学会学術集会 . 2012.11.30 京都
 12. 小倉彩世子、土屋達行、里村厚志、永島正明、星野忠、荒島康友、下澤達雄、中山智祥 血中CRP複合体測定についての基礎的検討 第59回日本臨床検査医学会学術集会 . 2012.11.29 京都
 13. Daigoro Hirohama, Tatsuo Shimosawa, Yoshitaka Ishibashi, Shengyu Mu, Fumiko Kawakami-Mori, Rika Jimbo, Sayoko Ogura, Yuzaburo Uetake, Yohei Takara, Satoshi Kinugasa, Toshiro Fujita Strict fluid management prevented left ventricular hypertrophy in long-term peritoneal dialysis patients 24th Scientific Meeting of International Society of Hypertension Sydney 2012.9.30

〔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
なし

6. 研究組織
(1)研究代表者
小倉 彩世子 (OGURA SAYOKO)
日本大学 医学部 助手
研究者番号：30618202

(2)研究分担者
なし
研究者番号：

(3)連携研究者
なし
研究者番号：