

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860568

研究課題名(和文)心不全に対する腎交感神経への治療的介入が中枢性交感神経性調節へ与える影響

研究課題名(英文)The effect of renal denervation on the regulation of central sympathetic nervous system in heart failure accompanied by chronic kidney disease

研究代表者

西原 正章(Nishihara, Masaaki)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員

研究者番号：70641017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(CKD)合併高血圧は治療抵抗性で、交感神経活動亢進の関与が大きい。治療抵抗性高血圧に対し腎除神経術(RDN)の有効性が報告され、今回CKD合併高血圧モデル動物(Nx)を用いRDNの効果、機序を検討した。

NxにRDN施行後降圧効果を認め、交感神経活動も低下した。脳内の視床下部室傍核(PVN)へ抑制性アミノ酸(GABA)受容体遮断薬微量投与実験を行い、Nxで減弱したPVNへの抑制性入力、RDN施行後に再増強していることを観察した。

CKD合併高血圧に対するRDNにより降圧反応を認め、その機序にPVNへの抑制性入力増強作用が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Sympathoexcitation plays a crucial role in hypertension with chronic kidney disease (CKD). Paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) in the brain controls sympathetic outflow through GABA-ergic input. Renal denervation (RDN) exerts an antihypertensive effect in hypertension with CKD; however the mechanisms are not known. We sought to elucidate whether RDN modulates sympathetic outflow through GABA-ergic input into the PVN in hypertensive mice with CKD.

In 5/6-nephrectomized ICR-mice (Nx), systolic blood pressure (SBP) was increased with sympathoexcitation. We performed RDN(Nx-RDN) or sham(Nx-Sham). SBP and sympathetic nerve activity (SNA) were decreased in Nx-RDN. GABA-A receptor antagonist injection into the PVN increased arterial pressure and lumbar SNA(LSNA) in Nx. The pressor and LSNA responses were attenuated in Nx-Sham, but were enhanced in Nx-RDN.

Augmented GABA-ergic input into the PVN induced by RDN is involved in antihypertensive effect in hypertensive mice with CKD.

研究分野：基礎医学

キーワード：慢性腎臓病 高血圧 交感神経活動 腎除神経 視床下部室傍核 アミノ酪酸

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(chronic kidney disease; CKD)は高頻度に高血圧を合併し、しばしば治療抵抗性であり心血管イベント合併リスクが高い。CKD 合併高血圧の病態には交感神経活動の亢進が深く関与している。交感神経系は中枢神経系(脳)の制御を受け、その活性化の原因として脳内の血管運動中枢における調節異常の関与が大きいことがわかっている。近年 CKD を合併する高血圧に対し新たな治療法として腎除神経術(renal nerve denervation; RDN)の有効性の報告が散見されるが、その有用性や特に機序に関しては不明な点が多い。

2. 研究の目的

CKD を合併する高血圧モデル動物に対し RDN の有用性を検討する。また、RDN がもたらす降圧効果の機序として交感神経活動や中枢神経系における調節系へ与える影響を検証する。更に RDN 施行後の時期による降圧効果の機序及び臓器障害へ与える影響を検証する。

3. 研究の方法

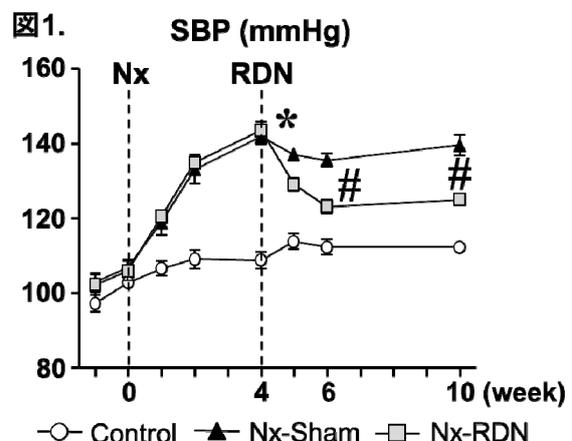
まず 5/6 腎摘出術(Nx)、コントロールとして sham-operation を雄性 ICR マウス(8 週齢)に施行した。5/6 腎摘出術は左側腎動脈前方分枝動脈結紮、右側腎摘出術にて施行した。Nx 後に次第に収縮期血圧は上昇し、4 週間には高血圧を呈し、交感神経活動の指標である尿中ノルエピネフリン排泄量 (urinary norepinephrine excretion; uNE)も Sham 群と比較し有意に増加していた。血液検査による Creatinine、及び尿中アルブミン排泄量 (urinary albumin to creatinine ratio; UACR)は有意に増加、echo-cardiography による評価で左室肥大 (left ventricular hypertrophy; LVH)、左室拡張末期径(LVDd)は開大し CKD の病態を呈していた。

CKD の病態を呈した Nx 施行 4 週後に RDN を施行し、血圧、心拍数、uNE へ与える影響を観察した。RDN は顕微鏡下に腎神経を切離し 10%phenol エタノールの塗布を追加した。また、RDN による尿中ナトリウム排泄量(uNa)、血中レニン・アンジオテンシン・アルドステロン(RAAS)、LVH、UACR、腎機能(Creatinine, Ccr)、飲水量・尿量・食事量への影響を観察した。また、麻酔鎮静・人工呼吸管理下に中枢神経系における重要な血管運動中枢である視床下部室傍核 (paraventricular nucleus of the hypothalamus; PVN)へ抑制性アミノ酸である γ -アミノ酪酸(γ -aminobutyric acid; GABA) 受容体遮断薬 (GABA-A receptor antagonist, Bicuculline 50pmol/50nL)を微量投与し、その時の動脈圧(内頸動脈カニューレ

ーション)、(腰部)交感神経活動(Lumbar sympathetic nerve activity; LSNA)の変化を直接観察した。

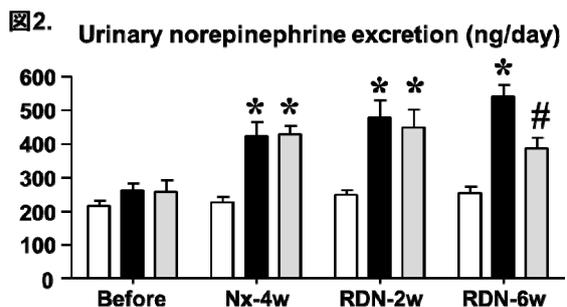
4. 研究成果

5/6 腎摘出マウス (Nx-mice) へ RDN(Nx-RDN) 、 または Sham-operation(Nx-Sham)を施行した。以後 Nx-RDN 群にて次第に収縮期血圧(systolic blood pressure; SBP)の低下を認めた。RDN 施行 2 週間には降圧効果はプラトーに達し、Nx-Sham 群と比較し有意に血圧の低下を認めた。その後の観察で降圧反応は持続し、RDN 施行後 6 週にわたり降圧効果は持続した(図 1.)。RDN による心拍数への影響は認めなかった。



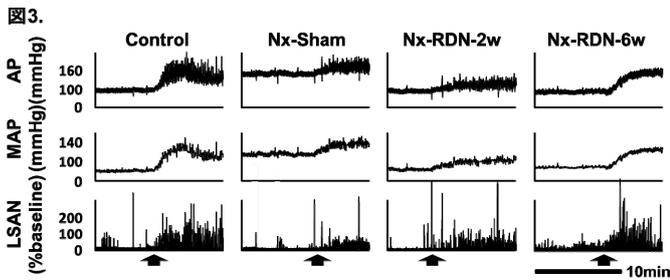
○ Control ▲ Nx-Sham □ Nx-RDN
* $P < 0.01$ between the values for Nx-Sham- and Nx-RDN-mice (n=12 for each) versus Control group; # $P < 0.05$ between the values for Nx-Sham versus Nx-RDN group (n=12 for each).

Nx-Mice において uNE は Control 群より有意に増加していた。Nx-RDN 群において、RDN 施行 2 週間においては依然として uNE は高値を認めていたが、6 週間において Nx-Sham 群と比較し有意に低下していた(図 2.)。この結果は CKD マウスにおいて RDN 施行 2 週間において依然として交感神経活動は亢進しており、6 週間において低下していたことを示唆する。



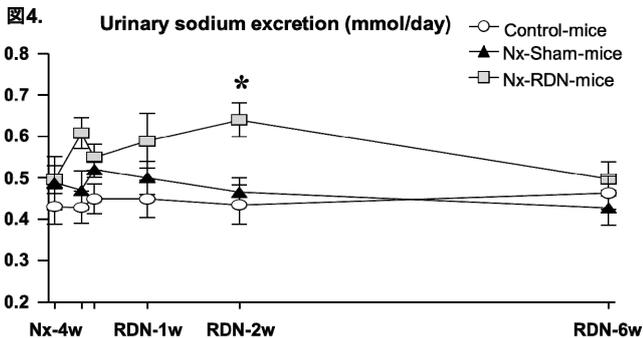
Control (white columns, n=6), Nx-Sham (black columns, n=12), and Nx-RDN (gray columns, n=12) groups. * $P < 0.01$ between the values for Nx-Sham- or Nx-RDN-mice versus Control group; # $P < 0.05$ between the values for Nx-Sham versus Nx-RDN group.

Control 群、及び Nx-Mice は Sham-operation 群(Nx-Sham)、RDN 施行群(2-week after; Nx-RDN-2w, 6-week after; Nx-RDN-6w)において麻酔鎮静・人工呼吸器管理下に bicuculline(50pmol/50nL)を PVN へ微量投与した。結果、全ての群において arterial pressure(AP)、LSNA の上昇を認めた。Nx-Sham において Control 群と比較し、昇圧反応、LSNA の増加は減弱しており、Nx-Mice において PVN への GABA 性抑制性入力が増強していることが示唆された。Nx-RDN-2w においても Control 群と比較し昇圧反応、LSNA の増加は減弱しており、RDN 施行 2 週間においては PVN における GABA 性抑制性入力は依然として減弱していることが示唆された。Nx-RDN-6w において昇圧反応、LSNA の増加は亢進しており、Nx 施行後に減弱していた PVN への GABA 性抑制性入力、RDN 施行 6 週間には再増強していることが示唆された(図 3)。



Changes in arterial pressure (AP), mean AP (MAP), and lumbar sympathetic nerve activity (LSNA) induced by the microinjection of bicuculline (50 pmol) in each group. Arrows in the figure are pointing the timing of microinjection of bicuculline.

RDN 施行 2 週間においては Sham 群と比較し uNa の増加を認めた。また、RDN 施行 6 週間においては Sham 群と比較し有意な差は認めなかった(図 4)。



Nx-Mice 群において Sham 群と比較し有意に血中 Cre 値の上昇、Ccr の低下をきたしていたが、RDN 施行によりこれら腎機能への影響は認めなかった。

Nx-Mice 群において Control 群と比較し有意に血漿アルドステロン濃度(PAC)は増加していたが、RDN 施行群において Nx-Sham 群

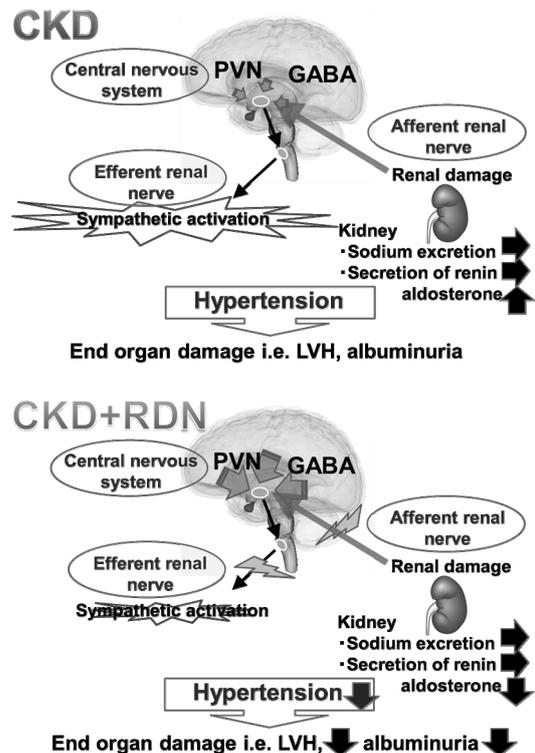
と比較し有意に低下していた。RDN 施行により血漿レニン活性、アンジオテンシン II への影響は認めなかった。

Nx-Mice 群において Control 群と比較し有意に metabolic cage にて測定した 24 時間飲水量、尿量は増加し、体重は有意に低下していた。RDN 施行により、Nx-Sham 群と比較しこれらへの影響は認めなかった。

Nx-Mice 群において Control 群と比較し左室肥大、LVDD 拡大を呈していたが、RDN 施行 6 週間において Nx-Sham 群と比較し有意に左室肥大は退縮、LVDD は縮小していた。また、Nx-Mice 群において増加していた UACR は、RDN 施行 6 週間において Nx-Sham 群と比較し有意に低下していた。また、臓器重量として心重量は RDN 施行 6 週間において Nx-Sham 群と比較し有意に低下していた。これらの結果は、RDN はその長期的な降圧効果により CKD に伴う高血圧性臓器障害の進行を抑制することを示唆する。

これら一連の成果により CKD 合併高血圧マウスにおいて RDN は 6 週間にわたり降圧効果を有し、機序として RDN 施行後比較的早期には尿中ナトリウム排泄亢進作用、遠隔期においては脳内 PVN への GABA 性抑制性入力増強作用の関与が示唆された(図 5)。

図 5.



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0件)

[学会発表] (計2件)

① Nishihara M

Renal Nerve Denervation Modulates GABA-ergic Input into Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus and Exerts a Long Term Antihypertensive Effect in Hypertensive Mice Associated with Chronic Kidney Disease.

Council on Hypertension 2015

2015. 9. 17

Washington, D.C. (U.S.A.)

② Nishihara M

Renal Nerve Denervation Suppresses the Progression of End Organ Damage via Modulating the GABAergic Mechanisms in the Brain in Hypertensive Mice with Chronic Kidney Disease.

Experimental Biology 2016

2016. 4. 6

San Diego (U.S.A.)

[図書] (計1件)

① Nishihara M, Hirooka Y.

The mechanism of blood pressure regulation by the central nervous system.

Nihon Rinsho. 73(11): 1798-1800, 2015.

[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

西原 正章 (Nishihara, Masaaki)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員

研究者番号: 70641017

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: