

平成 22 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2009

課題番号：20790480

研究課題名 (和文) ストレスと低血圧に関する基礎的研究

研究課題名 (英文) A basic research in relation to stress and hypotension

研究代表者

船上 仁範 (FUNAKAMI YOSHINORI)

近畿大学・薬学部・助教

研究者番号：70449833

研究成果の概要 (和文)：自律神経失調症のモデル動物である SART ストレスラットでは、意識下・麻酔下ともに持続的な低血圧と頻脈状態にある。また、体位変換刺激により起立性低血圧(OH)を容易に発現することが認められている。この OH に対するアドレナリン α_1 受容体刺激薬 Phenylephrine の影響を検討した。SART ストレスラットにおいて Phenylephrine を静脈内へ持続投与すると、体位変換刺激による OH に改善効果が認められた。このことから、SART ストレスラットの OH 発現には交感神経系の調節障害が一つの原因であることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：The SART (specific alternation of rhythm in temperature)-stressed rat, which is a model animal of autonomic imbalance, is associated with low blood pressure and tachycardia under both consciousness and anesthesia. Additionally, orthostatic hypotension (OH) is developed easily by postural manipulation of SART-stressed rats. Accordingly, we studied the influence of the adrenalin α_1 receptor agonist phenylephrine on stress-induced OH. In SART-stressed rats, prolonged intravenous administration of phenylephrine reduced OH. Sympathetic dysfunction is suggested to be a factor underlying SART stress-induced OH.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

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：ストレス, 低血圧, 起立性低血圧, Head-up tilt 試験, 血管反応性

1. 研究開始当初の背景

ストレスには急性ストレスと慢性ストレスがあり、各々のストレスで発症する症状も大きく異なる。このようなストレス関連疾患は精神系、神経系、循環器系、呼吸器系、消化器系など全身に及ぶ。ストレスとの因果関係を認める疾患が心身症であり、自律神経の失調状態などを引き起こし、全身に様々な不定愁訴を生じる。精神疾患の発症あるいは病態にストレスが深く関与していることは最近の研究で明らかになりつつあり、循環器系へのストレスの影響も、本態性高血圧症、本態性低血圧症、起立性低血圧、冠動脈疾患や心臓神経症などと少なくない。

一般に高血圧は治療や予防もかなり進んでいるが、低血圧は基本的には生命への影響は小さく、病気として扱われることも少ない。また、低血圧症の人は「体のだるさ」、「疲れやすさ」など、いわゆる不定愁訴で悩み、ストレスを抱え続けている。さらに、低血圧の人は起立性低血圧を起こしやすく、その症状である「めまい」、「立ちくらみ」などがさらにストレスを呼び、日常生活に不安を一層増長し、精神状態にも大きな影響を与える結果となり症状とストレスによる悪循環を繰り返す。

低血圧や起立性低血圧の動物モデルは、SHR に対する α_1 遮断薬などの降圧薬その他の薬物投与による副作用を利用したものが大部分であり、起立性低血症の病態や生理は考慮されず、現象のみを模したものである。しかし、SART (specific alternation of rhythm in temperature) ストレスラットは、薬物による副作用ではなく病態として、起立性低血圧を起こす。

ストレス病の発症機序に起因しているこれらストレスによる中枢神経系の変化が自律神経系に与える影響、ストレスと低血圧、ストレスと起立性低血圧の関係を動物実験で検討する。

2. 研究の目的

SART ストレスラットには様々な自律神経失調症状が見出されているが、循環器系に焦点を当てる。特に低血圧及び起立性低血圧の病態やメカニズムを検討する。SART ストレスラットにおける Head-up tilt テストによる起立性低血圧にはムスカリン M_2 受容体の関与が示されている。しかし古くから血圧は交感神経との関係で説明されることが多いので、今日、起立性低血圧の治療に実際に用いられている選択的 α_1 受容体刺激薬を SART ス

トレスラットに適用し、それらの効果を臨床と比較検討を行っている。さらに *in vitro* により血圧調節に重要とされる細動脈である腸間膜動脈を用いて、SART ストレスによる収縮反応の変化を考察する。様々な機構があるが自律神経の面から考えて収縮反応は Phenylephrin による α_1 受容体刺激薬で検討する。

3. 研究の方法

1. 実験動物

実験動物として体重約 250g の Wistar 系雄性ラットを使用し、その正常状態のもの及び SART ストレスを負荷したものを使用した。ラットの飼育は 1 ケージ当たり 3 匹とし、環境は室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、午前 7 時から午後 7 時の 12 時間点灯とし、飼料及び水は自由に摂取させた。

2. SART ストレスの負荷方法

SART ストレスの負荷は Hata らの方法に準じて行った。室温 24°C の飼育室と庫内温度 -3°C の動物飼育用チャンバーの両方にラット飼育用ケージを用意し、午前 9 時から午後 4 時までの昼間は、1 時間毎にラットを両ケージ間に入れ替え、午後 4 時から翌朝午前 9 時までは -3°C のチャンバー内で飼育するという間断的な環境温度変化に一週間曝すことにより SART ストレスラットを作成した。実験当日の朝はこの動物を両温度の室に 1 回ずつ入れ替えた後、室温 (24°C) の室に 30 分以上放置した後、実験に使用した。

3. 血圧及び心拍数測定

ラットをウレタン (1.2g/kg i.p.) 麻酔下で固定板に背位固定し、左総頸動脈にカニューレションした。チューブの他端を圧トランスデューサーに接続し、ストレインアンプを經由して全自動循環動態・自律神経系活性解析システム (フラクレット® Jr.2) を用いて血圧及び ECG を測定、記録した。ポリエチレンチューブには血液の凝固を防ぐため、ヘパリンを通した。また、ラットの体温保持のため、固定板は約 37°C に保持した。

4. 体位変換刺激

体位変換刺激は 60° の傾斜とし、既報の方法 (10) に準じて行った。ラットの血圧及び心拍数が安定するのを待って測定を開始した。測定は、刺激の直後、5 秒、10 秒、15 秒、30 秒、1 分、1 分 30 秒及び 2 分後、以後 1 分間隔で 8 分後 (水平位に戻して 4 分後) まで行った。また薬物効果は、Phenylephrine を左大腿

静脈より 1 μ g/kg/min で持続投与し、投与開始後 15 分、45 分、75 分及び 105 分に体位変換刺激を与え、同時記録した血圧及び ECG の変動に基づいて判定した。OH の指標としては、記録から計測した血圧値より描いた血圧曲線において、起立直後の血圧の最大低下値 (Maximum Decrease: MD) (a)、起立から 2 分までに見られる血圧の最大回復値 (b) と a より算出した反射率 (Reflex, b/a \times 100) 及び起立直後の 0 分から水平位に戻すまでの 4 分間の時間-血圧曲線-基線下面積 AUC の 3 項目である。なお、これらの指標はいずれも平均血圧(MBP)を利用して算出した。

5. 血管リング標本の作製

エーテルによる吸入麻酔下、放血致死させたラットから、胸部大動脈、総頸動脈及び上腸間膜動脈(空腸下部から回腸付近の上腸間膜動脈の分枝の主として第 2 枝)を速やかに摘出し、冷却した a modified Krebs-Henseleit Solution (KBS) [in mM: 154 NaCl, 1.7 KCl, 1.2 MgSO₄·7H₂O, 2.5 KH₂PO₄, 1.9 CaCl₂, 25 NaHCO₃, 12 Glucose (以上、和光純薬, 大阪)] 中で、周辺の結合組織や脂肪を除去し、胸部大動脈及び総頸動脈は幅 2.0 mm, 上腸間膜動脈は幅 1.5 mm を輪状標本とした。上腸間膜動脈標本は微小標本刺激装置に、他標本はマグヌス管内に吊るし、95%O₂+5%CO₂ 混合ガスを飽和させた KBS 中、37 $^{\circ}$ C, pH7.4 の条件下で張力を測定した。

6. 張力測定

それぞれの標本は KBS を満たしたバス内に吊るし、胸部大動脈には 1g, 総頸動脈には 600 mg, 上腸間膜動脈には 100 mg の静止張力を負荷して 60 分間に亘って 15 分ごとに新鮮な栄養液を入れ替え、血管平滑筋を安定させた。張力変化はアイソメトリックトランスデューサーを用いて等尺性に記録し、累積法により各種標本の収縮反応性を検討した。

4. 研究成果

1. SART ストレスの MBP 及び心拍数 (HR) への影響

体位変換刺激による血圧変動及び心拍数変動を Fig. 1 に示した。非ストレスラットにおける血圧変化は起立直後に最大低下を示し、その後すぐに上昇に転じ、-10 mmHg 以内にまで回復した。一方、SART ストレスラットでは、起立直後に非ストレスラットと同様に見られる血圧の最大低下は非ストレスラットと比べ、その程度は大きかった。また、その後上昇に転じるが、非ストレスラットに比べ少し時間を要し、回復は -20mmHg 程度までで、非ストレスラットほどの回復は認められなかった。心拍数は起立後、非ストレスラットでは急速に増加し、水平位に戻す

とすぐに立位前の状態に戻った。この増加は血圧下降による代償性頻脈反射によるものと考えられる。一方、SART ストレスラットでは逆に起立後心拍数が減少していく傾向が見られ、水平位に戻してもしばらくの間回復は認められなかった。

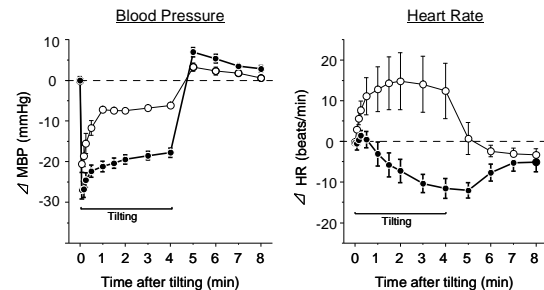


Fig.1 Influence of SART stress on BP and HR at tilting in anesthetized rats. Data show the mean \pm S.E.M. from 8 unstressed rats (O) and 8 SART-stressed rats (●).

安静時 MBP, 安静時心拍数, 及び体位変換刺激による血圧変化から算出した各指標を Fig.2 に示した。安静時の MBP は、非ストレスラット, SART ストレスラットそれぞれ 100.5 \pm 3.4 mmHg, 75.3 \pm 4.5 mmHg であり, SART ストレスラットのそれは有意に低かった。また, 心拍数は非ストレスラットの 365.9 \pm 8.4 beats/min に比べ, SART ストレスラットでは 439.0 \pm 20.9 beats/min であり, 有意に多く頻脈状態であった。また, 体位変換刺激を与えると, SART ストレスラットの MD は 24.3 \pm 2.1 mmHg で, 非ストレスラットの 17.3 \pm 1.0 mmHg より有意に高かった。%Reflex は非ストレスラットの 79.2 \pm 3.0 % に比べ, SART ストレスラットでは 25.9 \pm 7.0 % と著しく小さい値となっており, AUC は非ストレスラットの 25.5 \pm 1.9 mmHg \cdot min より, SART ストレスラットの 68.9 \pm 6.8 mmHg \cdot min の方が有意に大であった。

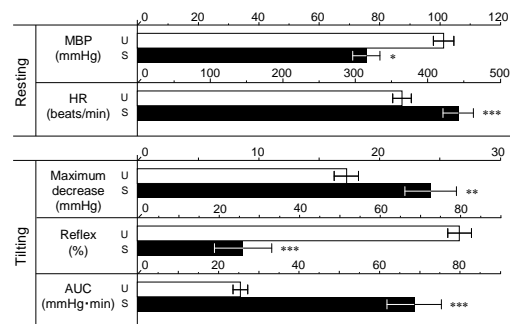


Fig.2 Influence of SART Stress on Tilting Parameters in Anesthetized Rats. Data show the mean \pm S.E.M. from 9 unstressed rats (U, □) and 7 SART-stressed rats (S, ■). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs respective unstressed group (Hest).

2. アドレナリン α_1 刺激薬 Phenylephrine の効果

①体位変換刺激による MBP 及び HR の変動
Phenylephrine の MBP への影響を Fig.3 に

示した。MBP には、非ストレスラットでは Phenylephrine により大きな変化は見られなかった。しかし SART ストレスラットでは体位変換刺激直後に見られた急激な血圧低下が抑えられ改善し、非ストレスラットに似た血圧変動が認められた。Phenylephrine の心拍数変動への影響を Fig.4 に示した。心拍数変動でも非ストレスラットでは Phenylephrine により大きな変化は見られなかった。しかし、ストレスラットでは Phenylephrine により起立後の徐脈の程度が少し抑えられる傾向が見られた。

Phenylephrine によるこのような変化は投与開始 15 分後から 105 分後まで観察をおこなった。Figs. 3, 4 には、これらの中で影響が最も顕著であった 15 分後の結果を示した

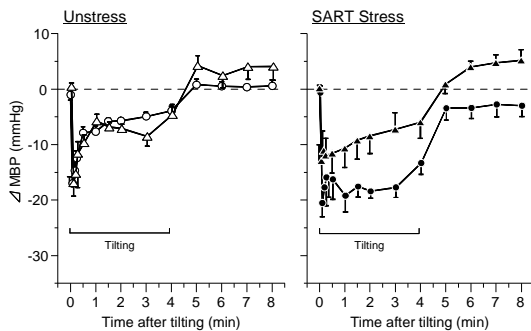


Fig. 3 Effects of phenylephrine on time-related changes in MBP caused by tilting in anesthetized rats. ○, △: Unstressed rats and ●, ▲: SART-stressed rats. Data show the mean ± S.E.M. of 9 unstressed and 7 SART-stressed rats. Phenylephrine, 1 μg/kg/min, i.v. (△, ▲), was continuously administered by i.v.-infusion from 15 min before tilting.

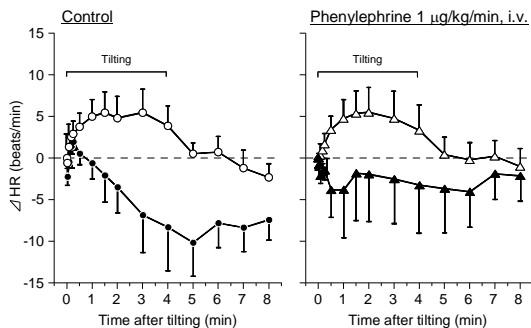


Fig. 4 Effects of phenylephrine on time-related changes in HR caused by tilting in anesthetized rats. ○, △: Unstressed rats and ●, ▲: SART-stressed rats. Data show the mean ± S.E.M. of 9 unstressed and 7 SART-stressed rats. Phenylephrine 1 μg/kg/min, was continuously administered by i.v.-infusion from 15 min before tilting.

②OH の各指標への影響

Phenylephrine 投与開始 15 分後の結果を Fig.5 に示した。MD は非ストレスラットでは投与前 17.3 ± 1.0 mmHg, 投与後 18.8 ± 2.4 mmHg とほとんど変化はなかったが、SART ストレスラットでは 24.3 ± 2.1 mmHg から 14.7 ± 2.9 mmHg へ有意に小さくなった。また、%Reflex は非ストレスラットでは投与前 79.2 ± 3.0 %, 投与後 81.8 ± 8.5 % とほとんど変化はなかったが、SART ストレスラットでは投与前の 25.9 ± 7.0 % というほとんど反射が見られなかった状態から投与後は 72.6 ± 20.2 % へ大幅に増大し、非ストレスラット

並みの値になった。また、体位変換刺激の総合的な指標と考えられる AUC は非ストレスラットでは投与前 25.5 ± 1.9 mmHg·min, 投与後 30.6 ± 3.4 mmHg·min でほとんど変化しなかったが、SART ストレスラットでは投与により 68.9 ± 6.8 mmHg·min から 35.3 ± 12.1 mmHg·min にまで著しく減少し、非ストレスラット並みの値になった。このように、非ストレスラットにはほとんど影響のみられない用量の Phenylephrine の投与により SART ストレスによる OH の悪化が改善された。

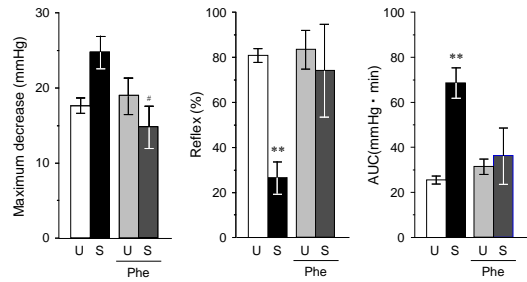


Fig. 5 Effects of Phenylephrine on Orthostatic Hypotension Parameters in Tilting in Rats

Phe: Phenylephrine, 1 μg/kg/min, i.v.. Data show the mean ± S.E.M. from 9 unstressed rats (U) and 7 SART-stressed rats (S). **P<0.01 vs respective unstressed control group. *P<0.05 vs respective control group (Tukey's test).

③血管収縮反応への影響

次に in vitro 実験による血管平滑筋の Phenylephrine 添加による収縮反応を Fig.6 に示した。胸部大動脈では非ストレス群に比べ SART ストレス群の反応性が有意に減少していた。総頸動脈でも、差は小さいが胸部大動脈と同様に SART ストレス群で反応性低下が見られた。一方、上腸間膜動脈では SART ストレス群の Phenylephrine に対する反応性が非ストレス群よりも有意に増大していた。

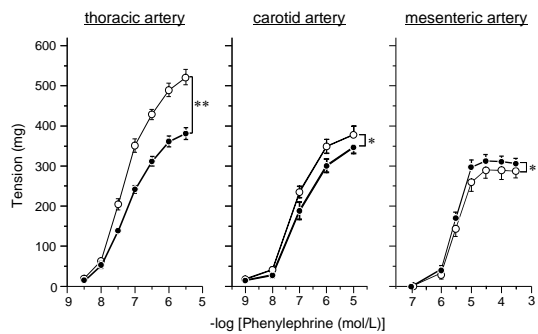


Fig.6 Influence of SART Stress on phenylephrine-induced contraction in the isolated rat various arteries. Data show the mean with S.E.M. of 7 to 16 preparations. ○: Unstressed rats, ●: SART-stressed rats. **P<0.05, **P<0.01 vs the unstressed rats (Two-way ANOVA).

OH と称しても、その発現する症状は様々である。起立直後性低血圧、体位性頻脈症候群、神経調節性失神、遅延性起立性低血圧などに細分類する研究者もいる。しかしながら何れの症状であれ、いわゆる OH に対する治療は、選択的 α₁ 受容体刺激薬を使用して交感神経機能の改善を図る対症療法である。

今回使用した SART ストレスラットでは、

麻酔下の実験ではあるが、Head-up tilt によって起こる OH 症状が非ストレスラットにおけるより高度に発現することが認められ、その OH は血圧変動状況から 4 タイプに分類することが出来、さらにそのタイプは上記の人での 4 タイプの OH の分類に類似している。

Phenylephrine の投与により、SART ストレスラットでは体位変換刺激による MD、%Reflex 及び AUC のいずれの指標においても、OH の改善が認められた。また、MD が有意に減少したことから、SART ストレスラットでは末梢血管における交感神経系の緊張が低下していることが示唆され、さらに末梢血管が弛緩状態にあることが推察されたこと。交感神経系の調節障害も原因の一つではないかと考えられた。

血圧には腸間膜動脈など末梢の細動脈の血管抵抗性が大きく反映していることが知られている。また下肢と腹筋の筋力低下ならびに静脈収縮力の低下による血液灌流量低下や心拍出量低下に抵抗血管である細動脈収縮不全が加わると起立時に低血圧が生じ、いわゆる OH が起こる。SART ストレス負荷により各種血管平滑筋の phenylephrine に対する収縮反応は、胸部大動脈及び総頸動脈では低下し、腸間膜動脈では増大していた。SART ストレスラットでは非ストレスラットに比べ血流量は総頸動脈では低下しているが、腹部大動脈及び腸間膜動脈では増加していることや、血漿ノルアドレナリン (NA) 濃度は非ストレスラットのそれよりも数倍高いことなどが既に知られている。これらのことは血管反応性の低下に大きく関与していると考えられる。ヒトにおいては起立により血漿 NA 濃度は 4-5 倍上昇する。すなわち、SART ストレスラットでは起立時の交感神経緊張低下状態に加えて、胸部大動脈における血管収縮反応が著しく低下しているため総頸動脈での血流量が低下、さらに腸間膜動脈への血流量の増加が原因となって、起立時に一過性の脳虚血状態が起こり OH の発現を強くしている可能性が考えられる。

すなわち選択的 α_1 受容体刺激薬 Phenylene は立位による血圧低下を軽減し、その低下からの回復である血圧上昇の程度を上昇させ、立位による徐脈を抑制し、SART ストレスによる起立性低血圧を軽減させた。現在臨床で使用されている起立性低血圧の治療薬分類の一つである選択的 α_1 受容体刺激薬により OH に対する改善効果が認められたことから、SART ストレスラットは起立性低血圧のモデルとしての一面をより確かなものとし、この面における研究に有用なツールになり得ると考えられる。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

船上仁範, 伊藤栄次, 秦多恵子. ラットにおける SART ストレス誘発起立性低血圧に対する α_1 受容体刺激薬 Phenylephrine の効果. 第 51 回日本心身医学会総会ならびに学術講演会 (仙台), 2010 年 6 月 27 日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

船上 仁範 (FUNAKAMI YOSHINORI)

近畿大学・薬学部・助教

研究者番号 : 70449833

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :