

令和 5 年 5 月 10 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08639

研究課題名(和文)動物モデル実験系の開発に基づいた血圧変動性増大の病態薬理学的研究

研究課題名(英文)Pathophysiological and pharmacological study on augmented blood pressure variability by animal models

研究代表者

加藤 丈司(Kato, Johji)

宮崎大学・フロンティア科学総合研究センター・教授

研究者番号：20274780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アンジオテンシンII(Ang II)またはノルアドレナリン(NA)の持続投与により、血圧変動性増大ラットモデルが作成可能である。本研究では、動物モデル実験系の開発に基づき、血圧変動性増大の機序・病態生理解明および実験的治療を目指した。その結果、Ang IIまたはNA投与ラットにおいて、変動性指標と臓器障害との関連を解明し、モデルとしての意義が明確になった。また、Ang II投与ラットの血圧変動性増大の機序として、圧受容器反射機能低下と弓部大動脈中膜肥厚が関連しており、これらの変化は、カルシウム拮抗薬により抑制された。すなわち、血圧変動性増大を病態薬理学的に考察するうえで、重要な知見がえられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高血圧に加えて、血圧値の動揺(血圧変動性)の増大が、心血管疾患の危険因子であり、腎疾患や認知症との関連も指摘されている。すなわち、血圧変動性への治療介入が、これらの疾患の発症予防や進展抑制につながる可能性がある。本研究により、血圧変動性増大の動物モデル実験系の有用性が明らかになり、同モデルを用いることにより、変動性増大の病態解明と治療手段探索のための研究が、今後、広く展開されることが期待される。血圧変動性への治療介入は、心血管疾患、腎疾患、認知症の有効な予防・治療手段となる可能性があり、疾患予防の観点より社会的貢献につながりうる。

研究成果の概要(英文)：We reported that rats chronically infused with angiotensin II (Ang II) or noradrenaline (NA) are animal models of augmented blood pressure variability (BPV). This study was performed to explore the mechanism and effective drugs for BPV based on development of animal models. We clarified that various parameters for BPV were closely associated with cardiac hypertrophy, showing usefulness of those models. Both impaired baroreceptor reflex sensitivity and aortic medial thickening were found to be involved in augmented Ang II-induced BPV, while a calcium channel blocker attenuated those Ang II-induced alterations, alleviating BPV. Thus, we obtained significant information for the pathophysiology and therapeutic approach for augmented BPV.

研究分野：循環器内科学

キーワード：血圧変動性 動物モデル実験系 実験的治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高血圧に加えて、血圧値の動揺(血圧変動性)の増大が、心血管疾患の危険因子であり、変動性増大と腎疾患や認知症との関連も指摘されている。血圧変動性への治療介入が、これらの疾患の発症予防や進展抑制につながる可能性がある。しかし、変動性増大の病態生理の解明が不十分で、治療手段が明確でなく、これらの課題を解決するための動物モデル実験系にも乏しい。本研究代表者(以下、代表者)らは、血圧変動性増大の病態解明と治療手段の探索のためには、動物モデル実験系による課題解決が必要と考えモデル開発を始めた。そして、アンジオテンシン II (Ang II) またはノルアドレナリン (NA) を、一定期間、ラットに持続的に投与することで、血圧 24 時間日内変動増大モデル作成が可能であることを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、動物モデル実験系の開発をとおして、血圧変動性増大の病態生理を明確にし、治療手段の探索を行うことである。

研究 : 代表者らが開発した Ang II、NA、およびフェニレフリン (Phe) 持続投与ラットを用いて適切な血圧変動性の指標と血圧変動性が心肥大に与える影響について検討した。すなわち、これらのラットを用いた血圧変動性増大モデル実験系の確立を目指した。

研究 : Ang II 持続投与モデルの変動性増大の機序について、血圧と心拍数 (HR) の相関、圧受容器反射感度 (baroreceptor reflex sensitivity; BRS)、圧受容器の局在部位・大動脈弓部の組織変化、に焦点を当てつつ解析し、カルシウム拮抗薬 (CCB)・アゼルニジピンの効果も観察した。

3. 研究の方法

研究 : 9 週齢雄性 Wistar ラットの動脈にカテーテルを留置し、無麻酔無拘束下で血圧を測定するテレメトリーシステムを用いて、昼間夜間に分けて 15 分毎の血圧を計測して 24 時間日内変動を評価した(各 48 ポイント測定)。Control 群、14 日間の Ang II 持続皮下投与群 (5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)、Ang II+アゼルニジピン (30 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$)、Ang II+ヒドララジン (20 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$)、NA 持続皮下投与群 (30 $\mu\text{g}/\text{h}$)、Phe 持続皮下投与群 (150 $\mu\text{g}/\text{h}$) を作成し、血圧値の標準偏差 (SD)、変動係数 (CV)、Average Real Variability (ARV)、Variability Independent of Mean (VIM) の 4 つの血圧変動性評価指標を求めた。Ang II グループ (Control 群、Ang II、Ang II + アゼルニジピン、Ang II + ヒドララジン投与群) と NA グループ (Control 群、NA、Phe 投与群) に分けて、血圧変動性の指標、血圧変動性と心肥大の関係を評価した。

研究 : 研究 同様に、テレメトリーシステムを用いて、無麻酔無拘束下にて圧波形を連続モニタリングした。Control 群、14 日間の Ang II 持続皮下投与群 (5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)、Ang II+アゼルニジピン経口投与群 (30 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$) を作成した。血圧日内変動は、昼間夜間に分けて 15 分毎の血圧値(各 48 ポイント測定)の SD にて評価し、BRS の算出にはシーケンス解析を用いた。14 日間の Ang II 投与終了後に弓部大動脈を摘出し、大動脈横断面の HE 染色標本を作成し、画像解析ソフトにより中膜面積を定量した。

4. 研究成果

1) 研究の結果

研究 : 各群の心重量体重比(HW/BW)を Control 群と比較すると、Ang II、NA 投与群で有意に増加した。平均血圧(MBP)は Ang II、NA、Phe 投与群で上昇し、MBP の血圧変動性(BPV)は、Ang II、NA、Phe、Ang II + ヒドララジン投与群で増大した。Ang II、NA、Phe 投与により、MBP の BPV 指標はいずれも上昇し、Ang II による血圧変動性増大はアゼルニジピンにより抑制された。Ang II グループでは、HW/BW と血圧変動性の 4 つの指標は有意な正の相関を示した。NA グループでは、昼間の SD、ARV、VIM が HW/BW と有意に正相関した。HW/BW を従属変数、MBP と BPV 指標を説明変数として重回帰分析を行ったところ、MBP のみでなく、血圧変動性も心肥大の規定因子として抽出された。

研究 : Ang II 持続投与 7 日後、14 日後に、血圧上昇と血圧変動性増大が観察された(図 1)。Ang II 投与前、15 分毎の血圧値は心拍数と有意に正相関し、血圧変動は交感神経活動と関連していると考えられた。しかし、投与 7 日後の血圧は、心拍数と有意な逆相関となり、血

圧上昇時の交感神経系抑制が推測され、さらに14日後には、このような血圧と心拍数の相関は消失した(図2、3)。Ang II投与7日後、BRSの僅かな低下が観察され、14日後にはBRSは有意に低下し(図4) Ang II投与14日後、大動脈弓部の中膜が有意に肥厚していた(図5)。アゼルニジピンは、Ang IIによる一連の変化(血圧上昇、変動性増大、血圧とHRの相関およびBRSの経時的变化、大動脈中膜肥厚)を有意に抑制した(図5)。

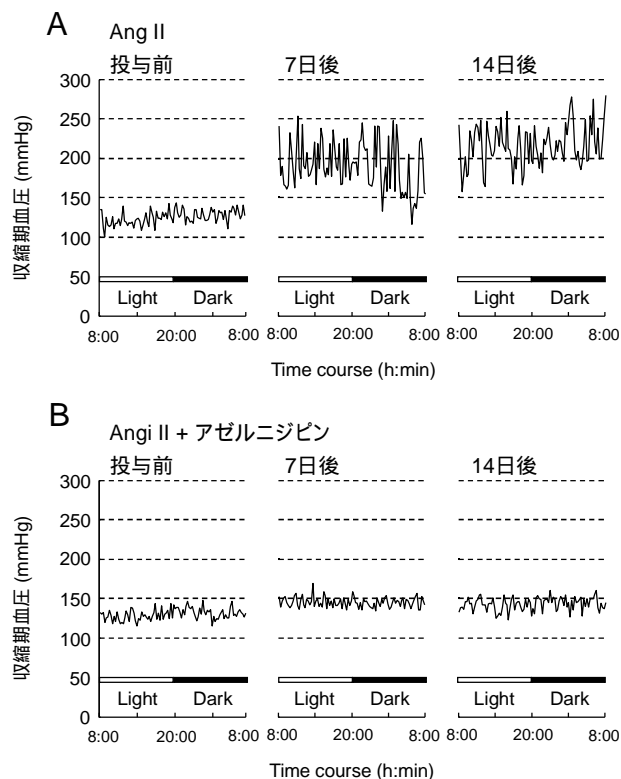


図1. アンジオテンシンII(Ang II)による血圧変動性増大(A)とアゼルニジピンの効果(B). グラフは15分毎の血圧値

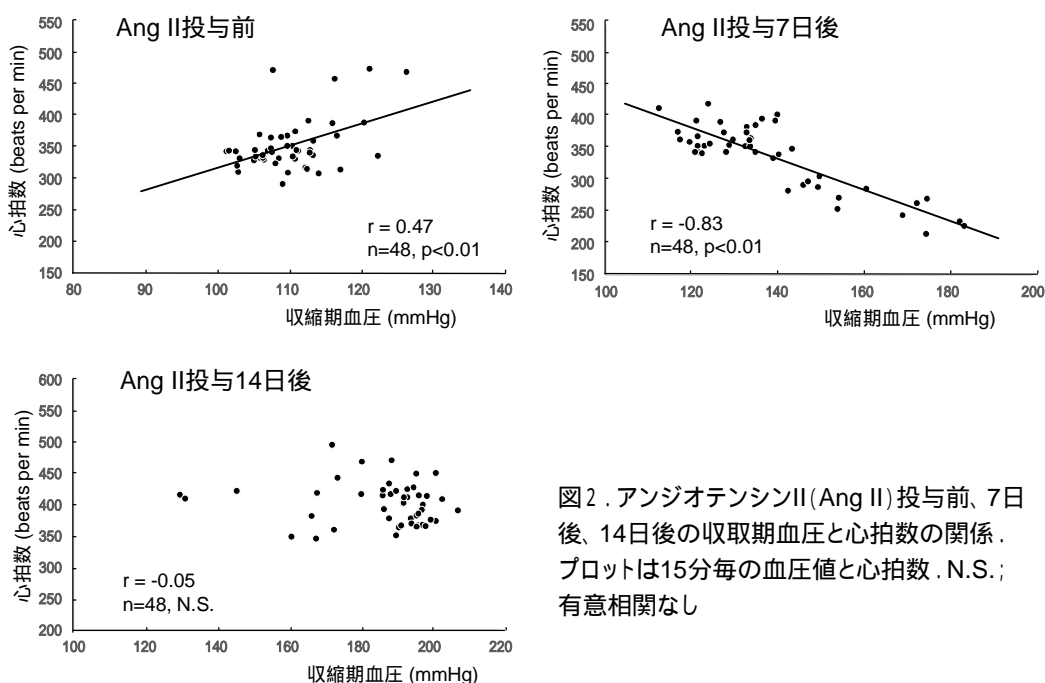


図2. アンジオテンシンII(Ang II)投与前、7日後、14日後の収縮期血圧と心拍数の関係. プロットは15分毎の血圧値と心拍数. N.S.; 有意相関なし

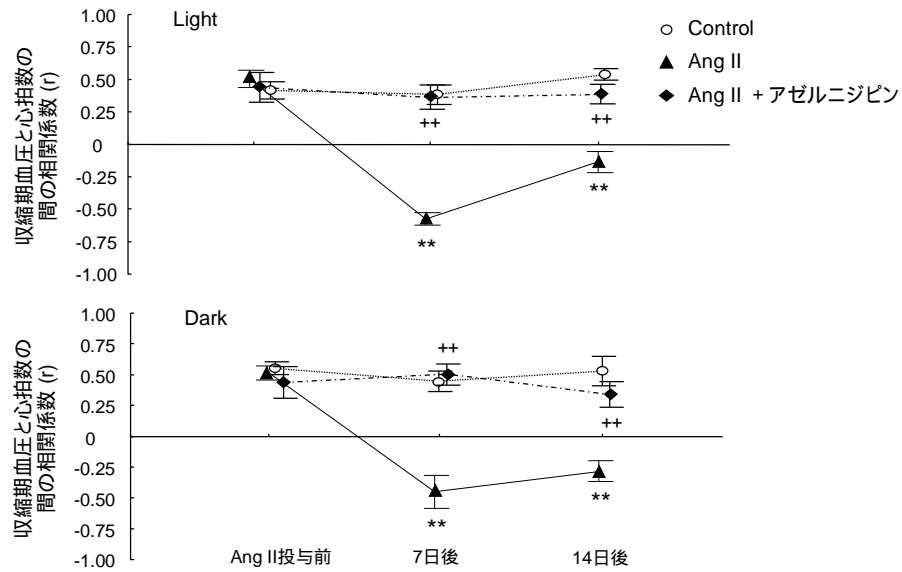


図3. アンジオテンシンII (Ang II) 投与による血圧と心拍数の関係の経時変化とアゼルニジピンの効果. **P<0.01, vs. Control, **P<0.01, vs. Ang II.

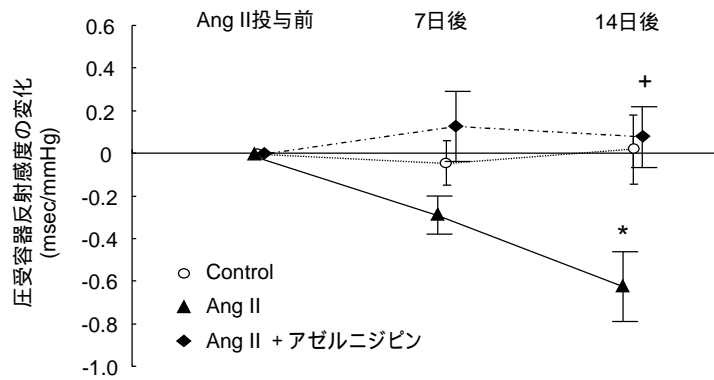


図4. アンジオテンシンII (Ang II) 投与による圧受容器反射感度の低下とアゼルニジピンの効果. *P<0.05, vs. Control, *P<0.05, vs. Ang II.

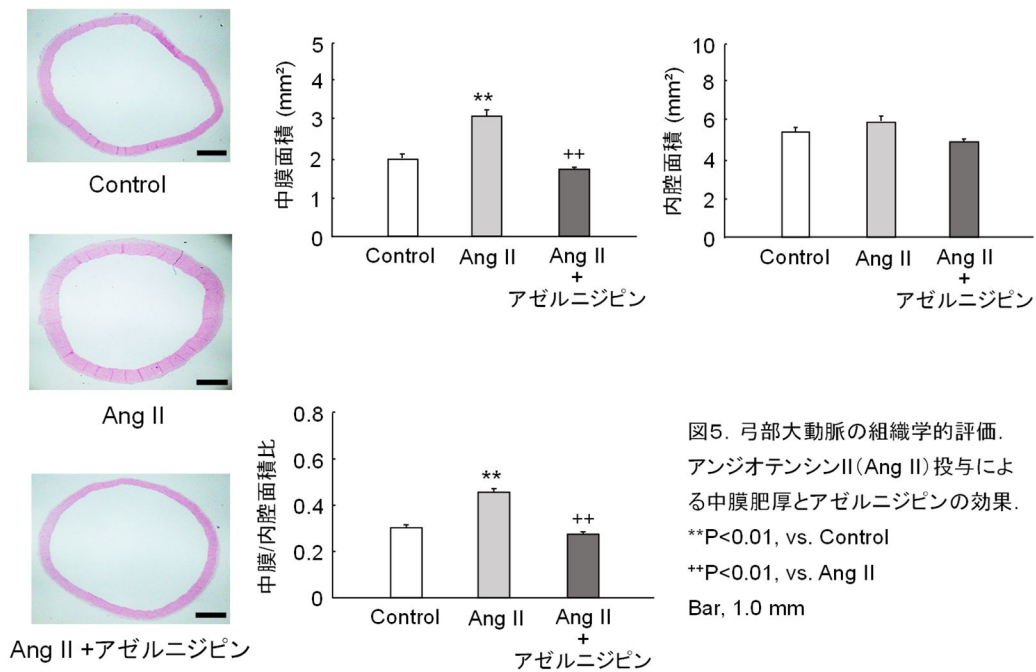


図5. 弓部大動脈の組織学的評価. アンジオテンシンII (Ang II) 投与による中膜肥厚とアゼルニジピンの効果. **P<0.01, vs. Control **P<0.01, vs. Ang II Bar, 1.0 mm

2) 結果の考察

これまでの臨床研究では、血圧変動性増大を定量評価する場合、複数の指標が用いられてきた。標準偏差 (SD) および変動係数 (CV) は、算出が比較的容易であり、一般的に用いられる統計指標であることから、SD や CV が用いられてきた。しかし、SD や CV は、平均値の影響を受けること、および経時的変化の要素が加味されていないことから、ARV や VIM が用いられた研究も散見される。しかし、どの指標がより適切なものであるかは明確にされていない。本研究では、研究において、代表者らが開発した2種類の血圧変動性増大ラットモデルを用いて、変動性増大と臓器障害の関係を、心肥大をマーカーとして解析した。その結果、いずれのモデルにおいても、血圧変動性増大が血圧とは独立して心肥大に関連することが判明した。また、BPV の4種類の指標 (SD、CV、ARV、VIM) は、同等に心肥大と関連することから、同ラットモデルにおいては、これらの4指標、いずれを用いても病態の評価が可能と考えられた。

次に、研究では、Ang II 持続投与ラットを用いて、血圧変動性増大の病態生理の解析と実験的治療を試みた。Ang II 投与14日後の血圧変動性増大は、血圧とHRの相関関係の消失、BRS低下を伴っており、血圧変動性増大機序の一つとして、弓部大動脈中膜肥厚による圧受容器感度の低下が推測された。なお、Ang II 投与早期の7日目においては、BRS低下は軽微であり、Ang II による間欠的血圧上昇が血圧変動性増大の機序として推測された。アゼルニジピンは、Ang II 投与による一連の血圧変動性に関連した変化を抑制し、変動性増大に対するCCBの臨床的效果と矛盾のない実験結果と考えられた。これまでの臨床研究では、大血管肥厚や硬度上昇と血圧変動性増大の密接な関係が報告されている。研究の結果は、Ang II 投与ラットは、血圧変動性が増大したヒト症例と、部分的に共通した病態生理を有していることを示唆している。すなわち、血圧変動性増大の病態生理解析および治療手段探索において、代表者らが開発した血圧変動性増大ラットモデルの有用性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Jiang D, Matsuzaki M, Kawagoe Y, Kitamura K, Tsuruda T, Kaikita K, Asada Y, Kato J	4. 巻 2023
2. 論文標題 Analysis of mechanisms for increased blood pressure variability in rats continuously infused with angiotensin II	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Renin Angiotensin Aldosterone Syst	6. 最初と最後の頁 4201342
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2023/4201342	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tsuruda T, Yamashita A, Otsu M, Koide M, Nakamichi Y, Sekita-Hatakeyama Y, Hatakeyama K, Funamoto T, Chosa E, Asada Y, Udagawa N, Kato J, Kitamura K	4. 巻 11
2. 論文標題 Angiotensin II induces aortic rupture and dissection in osteoprotegerin-deficient mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc	6. 最初と最後の頁 e025336
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.122.025336	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kato J, Kawagoe Y, Jiang D, Ida T, Shimamoto S, Igarashi K, Kitamura K	4. 巻 142
2. 論文標題 Plasma adrenomedullin level and year-by-year variability of body mass index in the general population	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170567
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.peptides.2021.170567	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kuroishi N, Nagata S, Akashi E, Ashizuka S, Kato J, Yamasaki M, Kitamura K	4. 巻 170
2. 論文標題 Development of a novel human adrenomedullin derivative: human serum albumin-conjugated adrenomedullin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Biochem	6. 最初と最後の頁 445-451
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jb/mvab057. PMID: 33964134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakai N, Ohno H, Yoshida M, Iwamoto E, Kurogi A, Jiang D, Sato T, Miyazato M, Kojima M, Kato J, Ida T	4. 巻 559
2. 論文標題 Characterization of putative tachykinin peptides in <i>Caenorhabditis elegans</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 197-202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.04.063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishikimi T, Kato J	4. 巻 11
2. 論文標題 Cardiac Peptides-Current Physiology, Pathophysiology, Biochemistry, Molecular Biology, and Clinical Application	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biology	6. 最初と最後の頁 330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biology11020330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Johji	4. 巻 132
2. 論文標題 Natriuretic peptides and neprilysin inhibition in hypertension and hypertensive organ damage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170352 ~ 170352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2020.170352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Danfeng Jiang, Minami Matsuzaki, Yukiko Kawagoe, Kazuo Kitamura, Koichi Kaikita, Yujiro Asada, Johji Kato
2. 発表標題 Mechanism for increased blood pressure variability and effect of azelnidipine in rats infused with noradrenaline
3. 学会等名 The 29th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松崎美南、姜 丹鳳、川越由紀子、加藤丈司
2. 発表標題 血圧変動性が心肥大に与える影響と変動性の評価指標の検討
3. 学会等名 第26回日本心血管内分泌代謝学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Danfeng Jiang, Yukiko Kawagoe, Yujiro Asada, Kazuo Kitamura, Johji Kato
2. 発表標題 Augmented Blood Pressure Variability Following Continuous Infusion of Noradrenaline in Rats
3. 学会等名 Joint Meeting ESH-ISH 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤丈司、川越由紀子、姜丹鳳、松崎美南、北村和雄
2. 発表標題 地域住民における血中ナトリウム利尿ペプチド濃度と高血圧発症
3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒石領子、永田さやか、加藤丈司、山崎基生、北村和雄
2. 発表標題 ヒト血清アルブミンを用いたアドレノメデュリン新規誘導体の開発
3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤丈司、川越由紀子、姜丹鳳、松崎美南、井田隆徳、北村和雄
2. 発表標題 血中ナトリウム利尿ペプチド濃度と高血圧発症
3. 学会等名 第25回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤丈司、川越由紀子、姜丹鳳、北村和雄
2. 発表標題 Association between body mass index (BMI) variability and plasma adrenomedullin (AM) in the general population
3. 学会等名 第24回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>宮崎大学フロンティア科学総合研究センター https://www.miyazaki-u.ac.jp/frontier/index.html 生理活性物質探索病態解析分野 http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/peptides/katou/</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鶴田 敏博 (Tsuruda Toshihiro) (10389570)	宮崎大学・医学部・教授 (17601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------