

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 2 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590797

研究課題名（和文） 神経調節性失神におけるアドレナリン動態の検討

研究課題名（英文） The Role of Adrenaline in Neurally Mediated Syncope

研究代表者

佐藤 恭子（SATO KYOKO）

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：80335942

研究成果の概要（和文）：我々は神経調節性失神 (Neurally Mediated Syncope, NMS) 患者におけるアドレナリンの役割を頭位挙上時の血行動態反応の違いと各種自律神経機能の指標および末梢血管収縮と関連の深い α_{2B} アドレナリン受容体 (α_{2B} -AR) 遺伝子の多型性解析を中心に検討した。心臓自律神経機能において患者群と対照群に有意差は認めなかったが、ベースラインにおける血漿ノルアドレナリン値は患者群において有意に高値であった。 α_{2B} -AR 遺伝子においてグルタミン酸 (Glu) リピート数の違いによる 3 つの多型 (Glu12/12、Glu12/9、Glu9/9) が認められた。NMS 群と HUT 有症者における多型は Glu12/12 もしくは Glu12/9 であり、Glu9/9 は認められず、 α_{2B} -AR 遺伝子における Glu リピート数と立位負荷時の循環動態との関連が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Syncope is a common problem associated with a poor quality of life. A majority of patients suffer from neurally mediated syncope (NMS), which is poorly understood in its pathophysiology. We evaluated cardiovascular autonomic functions as well as genetic polymorphisms of the α_{2B} adrenoceptors (α_{2B} -AR) predisposed to NMS patients (n=8, age 39±11 year, BMI 24±4 kg/m²) and healthy subjects (n=10, age 30±7 year, BMI 25±3 kg/m²). The standard autonomic function test (AFT) and head-up tilt (HUT) test were performed on each subject. Plasma catecholamines (CATs), renin, and aldosterone were measured after 30 minutes supine and at the end of the HUT. Twenty-four-hour urine collections were used to measure sodium and CATs excretion. A polymorphism of glutamic acid (Glu) repeats (Glu 12 or Glu 9, amino acids residues 301-303) present in the α_{2B} AR was identified. We had three Glu 12/12, twelve Glu 12/9, and two Glu 9/9 subjects among the NMS patients and healthy controls; all of the NMS patients showed Glu 12/9. Syncopal subjects had Glu12/12 or Glu12/9 whereas subjects who had Glu9/9 did not have orthostatic symptom (OS). Therefore, we will investigate the possibility of this polymorphism as a marker of human vasomotor responses during orthostatic stress using subjects with and without NMS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	800,000	360,000	1,160,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,140,000	4,540,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：神経調節性失神、アドレナリン、自律神経、アドレナリンレセプター

1. 研究開始当初の背景

失神は一般人口集団において、約 30%が生涯に一度は経験する比較的頻度の多い症状であり、救急外来受診患者の約 3%、入院患者の 6%を占めるとされている。この内で多くを占めるものが器質的心疾患を伴わない神経調節性失神 (Neurally Mediated Syncope, NMS)によるものである。

頻回に起きる NMS は患者の生活の質を落とすにも関わらず、その機序は十分に解明されておらず、病態生理に基づく治療に限界があった。我々は失神発作時に血漿アドレナリン値が著明に上昇する現象に注目し、本研究において NMS 患者におけるアドレナリンの役割を神経薬理学的見地とアドレナリン受容体の遺伝子多型性の評価による統合的な検討を行った。

2. 研究の目的

(1) 頭位挙上試験時のアドレナリン分泌の検討

古典的 NMS のモデルとして、立位による低静脈還流をトリガーとして交感神経活動が亢進し、これに伴う心収縮・心拍数上昇が左室壁の無髄性迷走神経繊維 (C-繊維) を介する迷走神経緊張によって血管拡張と徐脈を来たし失神するとされる “Ventricular Theory” が挙げられる。

一方で、近年アドレナリンが失神時、特に失神発作に先立って上昇することが報告されている。我々は NMS でのアドレナリン上昇がストレス反応によるアドレナリン分泌亢進によるものか、あるいはクリアランスの減少によるものかを NMS 患者群とコントロール群において検討した。

(2) α_{2B} アドレナリン受容体遺伝子多型性の検討

アドレナリンに対する反応は、アドレナリン受容体の遺伝的不均一性も原因の一つと考えられ、特にアドレナリンがノルアドレナリンに比べて大きな親和性を示す末梢 α_2 アドレナリン受容体の遺伝的多型が関与していることが考えられる。

α_{2B} アドレナリン受容体 (α_{2B} -AR) においては細胞内ループの 12 グルタミン酸繰り返し配列からの 3 グルタミン酸欠損に関連する遺伝子多型が知られており、ヒトにおいて 13 - 22%を占めるホモ欠損と α_{2B} -AR の “down-regulation” に寄与すると思われる血管収縮との関連が知られている。逆に 3 グルタミン酸が保たれたホモ接合では作動薬による血管拡張が強められていると考えら

れる。従って我々は NMS において α_{2B} -AR におけるグルタミン酸繰り返し配列の遺伝子多型との関連を中心に検討した。

3. 研究の方法

NMS 患者 8 名 (39±11 歳、男性 5 名)、及びコントロール (CTL) 群として健常者 10 名 (30±6 歳、男性 7 名) に対し、循環自律神経機能試験 (autonomic function test, AFT)、Head-up tilt (HUT) 試験における血漿カテコラミン濃度の上昇と、アドレナリン α_{2B} 遺伝子多型解析と NMS の誘発率を検討した。

(1) AFT: 検査当日、被験者は心電図、血圧カフ、非観血的連続血圧測定装置を装着され、以下の定型的循環自律神経機能検査が行われた。①ベースライン記録 (5 分間臥位安静)、②0.1Hz 呼吸統制 (3 分間)、③30 秒間過呼吸前後の血圧記録、④Valsalva 試験 (15 秒間)、⑤ハンドグリップ試験 (3 分間)、⑥寒冷昇圧試験 (1 分間)

(2) HUT: AFT 終了後、上腕静脈より血漿カテコラミン、レニン、アルドステロン等の採血用点滴ラインを取り、0、20、40、60 度各 10 分ずつの段階的 HUT が行われた。静脈採血は 20 度挙上直前と 60 度挙上後 10 分後、あるいは被験者に前失神症状が現れたときに行われた。HUT にて被験者に前失神症状を伴う著明な低血圧 (収縮期血圧 < 70 mmHg) を認めるときには HUT は中断された。

(3) 24 時間蓄尿中カテコラミン、ナトリウム (Na) 量: 検査前日午前 8 時より翌日午前 8 時まで 24 時間蓄尿検体より測定を行った。

(4) アドレナリン受容体遺伝子配列解析: NMS 群、CTL 群の双方より得られた静脈血サンプルより DNA 抽出及びシーケンシングを行った。 α_{2B} -AR 遺伝子多型はプライマー 5' -AGGGTGTGTTGTGGGCATCTCC-3' と 5' -CAAGCTGAGGCCGAGACACTG-3' を用いたアッセイで評価をおこなった。

サンプルの α_{2B} -AR 遺伝子配列 (1, 350 塩基対) において、サンプル間の相同性を計算するために CLUSTAL W を用いることによってアライメントを行った。

得られた連続変数は平均±標準偏差で表現し、Mann-Whitney U test を用いて解析を行い、両側 p 値 < 0.05 を有意水準とした。

4. 研究成果

採血が得られた 17 例の α_{2B} -AR 遺伝子配列 (1, 350 塩基対) において、各サンプル間におけるグルタミン酸 (Glu) 301-303 残基で Glu リピート数における違い (Glu12 または

Glu9)を確認することが出来た。今回の我々の対象者では3種類の多型性(Glu12/12 3名, Glu12/9 12名, Glu9/9 2名)を認めた(下表参照)。我々のサンプルでは全NMS患者がGlu12/9を保持しており、HUT中に前失神症状を認めた者(4名)Glu12/12もしくはGlu12/9であり、Glu9/9を持つ者は前失神症状を認めなかった(下表参照)。

表： α_{2B} -AR遺伝子多型とHUT時の症状

#	診断	性別	年齢	前失神症状	α_{2B} -AR
1	CTL	M	32	無	Glu12_12
2	CTL	F	35	有	Glu12_12
3	CTL	F	44	無	Glu12_12
4	CTL	M	38	有	Glu12_9
5	CTL	M	24	無	Glu12_9
6	CTL	M	26	無	Glu9_9
7	CTL	F	24	無	Glu9_9
8	CTL	M	27	無	Glu12_9
9	CTL	M	27	無	Glu12_9
10	NMS	F	28	有	Glu12_9
11	NMS	F	34	無	Glu12_9
12	NMS	M	57	無	Glu12_9
13	NMS	M	42	無	Glu12_9
14	NMS	F	35	無	Glu12_9
15	NMS	M	57	無	Glu12_9
16	NMS	M	29	無	Glu12_9
17	NMS	M	34	有	Glu12_9

AFTによる循環自律神経機能検査ではCTL群、NMS群間で有意差を認めなかった。ベースラインでの血漿ノルアドレナリン値はNMS群において有意に高値であったが、(204±78 vs. 124±54pg/mg, p=0.0386)ベースラインでの血漿アドレナリンとHUT後の血漿ノルアドレナリン、アドレナリンの増加には両群で明らかな差を認めなかった。ベースライン及びHUT後の血漿レニン、アルドステロン濃度の変化も両群間で同様であった。

Glu9/9のCTL群ではベースラインでの血漿レニン値がGlu9/9, Glu9/12に比べて有意に高値(2.50±0.13 ng/mL/hr vs. 0.70±0.57 ng/mL/hr, p<0.013)であったが、HUT前後の血漿カテコラミン、レニン、アルドステロン値には有意差は認めなかった。

NMS群とCTL群間で年齢、BMI、24時間尿中Na、アドレナリン、ノルアドレナリン排泄量に有意差はみられなかったが、NMS群ではCTL群に比べ24時間尿中ドーパミン排泄量が有意に高かった(1.4±1.6 vs. 0.5±0.1 μ g/mg.CRE, p=0.0167)。一方で、Glu12/12またはGlu12/9とGlu9/9間では尿中ドーパミン排泄量に差を認めなかった。

これらの所見は多遺伝子による複合的因子と環境因子等がヒトにおける立位負荷への反応に影響している可能性を示唆していると考えられる。

今後は引き続きNMS、CTL両群のサンプル数の増加を図り、ヒトにおける立位等の重力負荷時における血管運動性変化と α_{2B} -AR遺伝子多型及び他のアドレナリンレセプター遺伝子多型との関係を検討する。また、アドレナリン受容体は進化的保存性に優れており、ヒトの二足歩行による重力負荷との関連の進化的解析も行われる予定である。

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1件)

Kyoko Sato, Tomoyoshi Komiyama, Hiroyuki Kobayashi, Kuniaki Otsuka, Possible Association of Human Adrenoceptors Polymorphism in Neurally Mediated Syncope, The Autonomic Nervous System, 2013, in press, 査読有

[学会発表] (計3件)

① Kyoko Sato, Tomoyoshi Komiyama, Hiroyuki Kobayashi, Kuniaki Otsuka, The Application for Genetic Evaluation of Human Adrenoceptors Polymorphism in Neurally Mediated Syncope, The 35th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2012/12/12, Fukuoka

② 佐藤 恭子, 小見山智義, 西村芳子, 柴田興一, 小林広幸, 大塚邦明, ヒトアドレナリンレセプター遺伝子多型性と起立性調節障害との関連性について, 第65回日本自律神経学会総会, 2012/10/26, 東京

③ Kyoko Sato, Tomoyoshi Komiyama, Hiroshi Kamiguchi, Ayako Mikami, Hiroyuki Kobayashi, Kuniaki Otsuka, Possible Association of Human Adrenoceptors Polymorphism in Neurally Mediated Syncope The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 12/14/2011, Yokohama

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 恭子 (SATO KYOKO)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：80335942

(3) 連携研究者

小林 広幸 (KOBAYASHI HIROYUKI)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：60195807

(3) 連携研究者

小見山 智義 (KOMIYAMA TOMOYOSHI)
東海大学・医学部・准教授
研究者番号：60439685

(3) 連携研究者

三上 礼子 (MIKAMI AYAKO)
東海大学・医学部・講師
研究者番号：50564697

(3) 連携研究者

磯崎 充宏 (ISOZAKI MITSUHIRO)
東海大学・医学部・助教
研究者番号：90424332
(2010年度のみ)