

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23700833

研究課題名（和文）

高血圧モデルにおける血管拡張性神経の伸長を介した降圧効果に関する研究

研究課題名（英文）Antihypertensive effects mediated by extending vasodilatory nerve in hypertensive model.

研究代表者

座間味 義人 (Yoshito Zamami)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：70550250

研究成果の概要（和文）：

研究課題は、高血圧の根治を目指す新規的な作用機序を有する高血圧治療薬を創製することを目的としたものである。In vivo 評価系において、高血圧自然発症ラットに神経成長因子を 4 週間皮下投与し、腸管抵抗血管の血管拡張性神経の分布密度を免疫組織化学的手法により測定したが、対照動物と比較して有意な差は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：

The objective of this research is to produce antihypertensive drug which has new mechanism of action. In immunohistochemistry study, NGF treatment didn't affect vasodilatory nerve fibers in hypertensive rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：高血圧、血管拡張性神経

1. 研究開始当初の背景

世界中では約 10 億人が生活習慣病の代表的疾患である高血圧を罹患しており、その約

70%は降圧目標値に達していないと推定されている。その結果、多くの人が脳卒中や心筋梗塞などの致死性の循環器疾患のリスクにさらされるため、新しい降圧薬の登場が強く

望まれている。また高血圧の大部分を占める本態性高血圧は発症原因が不明であるため、高血圧を根本的に治療する原因療法ではなく、対症療法として各種降圧剤を服用して治療するのが一般的である。しかし一度服用を開始するとほとんどの方が一生涯降圧剤を服用する必要があり、副作用の発現などが問題となっている。

従来、血管周囲神経は血管収縮性交感神経のみが分布し、その神経活動を変化することで血管緊張を調節していると考えられてきた。しかし、本申請者らは強力な血管弛緩ペプチド（カルシトニン遺伝子関連ペプチド、CGRP）を伝達物質とする CGRP 作動性神経が網目状に分布し、この神経活動によって血管拡張が生じることを発見した。その後 CGRP 神経の病態における役割に関する研究において高血圧状態（高血圧自然発症ラット）では、CGRP 神経の分布が減少する結果、血管拡張機能が減弱し、結果として交感神経機能の亢進が生じていることを明らかにし、血管周囲神経リモデリング説を提唱した。これらの変化は本態性高血圧患者においても CGRP 血中濃度が正常人と比較して減少が見られるという報告にも一致する。さらに近年、ラット腸間膜動脈の血管周囲神経を実験的に損傷したモデルにおいて、神経成長因子処置により CGRP 神経が再分布し、再分布された CGRP 神経が血管拡張機能を有することを世界に先駆けて突き止めた。そこで、この CGRP 神経の分布減少が神経成長因子により改善出来れば高血圧治療に応用でき、さらに CGRP 神経の再分布が維持出来ればこれまでの対症療法ではなく高血圧の原因療

法につながるという着想に至った。

2. 研究の目的

高血圧は発症原因が不明であるために対症療法として降圧剤が長期間にわたり使用されている。申請者はこれまでに高血圧状態では血管拡張性神経の分布が減少することを明らかにし、この拡張性神経を再分布できればこれまでの降圧剤のように一時的に血圧を下げるのではなく高血圧の根治につながる考えた。

本研究では血管拡張性神経の分布が減少している高血圧ラットに対して神経成長因子を投与し高血圧が改善されるかどうかを検討し、高血圧の根治を目指す新規的な作用機序を有する高血圧治療薬の創製を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

①in vitro評価系

神経伸長を指標とした in vitro 評価系を用いて、高血圧自然発症ラットから単離した培養脊髄後根節神経細胞における神経成長因子による CGRP 神経伸長作用を検討した。具体的には高血圧自然発症ラットから脊髄後根神経節を摘出しコラゲナーゼ処理し、脊髄後根節神経細胞を単離した。得られた細胞を神経成長因子(100 ng/mL)添加 10%DMEM 培地において 4 日間培養した後抗 CGRP 抗体にて CGRP 陽性神経を染色し神経線維の数をカウントした。

②in vivo評価系

8 週齢の高血圧自然発症ラットおよび対照動物として正常血圧を示す WKY ラットに対し

高血圧自然発症ラットの脊髄後根節神経細胞を採取



4日間10% FBS DMEM培地において培養

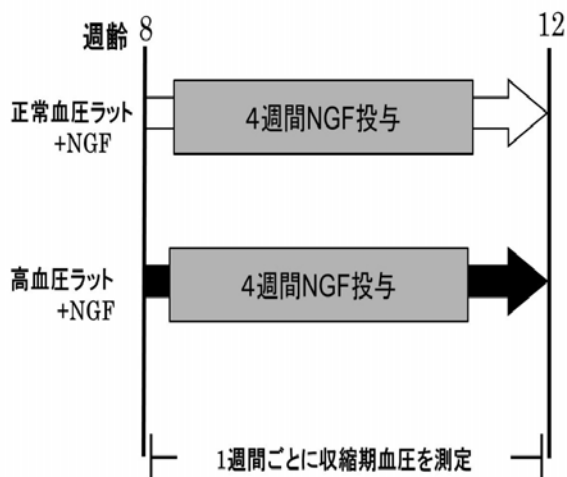


抗CGRP抗体にてCGRP陽性神経を染色



直径120µmの円を描き、交差する点をカウントし、神経線維の数とする

て神経成長因子 (20 µg/kg/day) を 8 週間皮下投与し、1 週間に 1 回尾動脈の収縮期血圧を測定する。さらに神経成長因子与終了後に腸間膜動脈血管床を摘出し、CGRP 神経の分布密度は免疫組織化学的手法を用いて、分布した CGRP 神経の機能は神経薬理学的手法により検討する。



4. 研究成果

①in vitro評価系

高血圧自然発症ラットから単離した培養脊髄後根節神経細胞では神経成長因子処置によりCGRP陽性神経の有意な神経成長作用は確認されなかった。また脊髄後根節神経細胞におけるCGRP mRNAの発現量に関しても神経成長因子添加による影響は認められなかった。

②in vivo評価系

8週齢の高血圧自然発症ラットに対して神経成長因子 (20 µg/kg/day) を浸透圧ミニポンプで4週間皮下投与し、1週間に1回非観血的にtail-cuff plethysmograph法にて尾動脈の収縮期血圧を測定したが、対照動物として用いた正常血圧を示すWKYラットと有意な差は認められなかった。

また神経成長因子を4週間投与した高血圧自然発症ラットから全身血圧の維持に関与する腸間膜動脈血管床を摘出し、血管拡張性神経分布密度を蛍光抗体法を用いて染色し定量したが、こちらの方も対照動物と比較して血管拡張性神経の分布密度は有意な差は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計1件)

① Takatori S, **Zamami Y**, Hashikawa-Hobara N, Kawasaki H. Insulin resistance-induced hypertension and perivascular nerves-an approach to elucidate the mechanisms involved. Nihon Yakurigaku Zasshi. 2012 139(2):70-74.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

座間味 義人 (Yoshito Zamami)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：70550250