

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461112

研究課題名(和文)心不全における心 脳連関による脳内異常：食塩感受性と食塩嗜好性獲得の機序解明

研究課題名(英文)Heart-brain communication for salt-sensitive sympathoexcitation in heart failure

研究代表者

伊藤 浩司 (Ito, Koji)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員

研究者番号：10452757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：心不全患者における減塩の重要性は広く認識され、実際塩分摂取が心不全増悪の誘因となることもまれではない。我々は慢性圧負荷による心肥大モデルにおいて、過剰な食塩摂取によって生じる心不全増悪機序として、脳内視床下部Naチャンネル(ENaC)増加によるNa感受性交感神経活性化の関与を明らかにしてきた。今回の研究において、その機序として、心負荷に伴い求心性心臓交感神経活性化が生じる。その結果、視床下部における炎症性サイトカインが増加する。脳内炎症によってENaC発現が増加する。食塩負荷により交感神経活性化、血圧上昇を来す一連のメカニズムを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Recently, we demonstrated that salt intake leads to sympathoexcitation due to the activation of the hypothalamic epithelial sodium channels (ENaCs) in heart failure. The aim of the present study was to clarify the mechanism of ENaCs activation in heart failure. The cardiac sympathetic afferent (CSA) is stimulated in heart failure, therefore we stimulated the CSA in mice by epicardial application of capsaicin. The capsaicin treatment upregulated the expression levels of the hypothalamic ENaCs with the increase in TNF- α . Arterial pressure (AP) and heart rate (HR) were increased by intracerebroventricular infusion of a high-Na-containing artificial cerebrospinal fluid in capsaicin-treated mice compared to that in control mice. In addition, the salt diet augmented AP, HR in capsaicin-treated mice but not in control mice. We show that CSA stimulation leads to an upregulation of hypothalamic ENaCs mediated via an increase in TNF- α and results in increased salt sensitivity.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 交感神経 心脳 臓器連関 食塩

1. 研究開始当初の背景

心不全は現在でも依然予後不良であり、新たな視点に立った治療法の開発が望まれる。特に、近年注目されている左室駆出率 (EF) が保たれた心不全 (HFpEF, Heart Failure with preserved EF) は、主な背景疾患が高血圧性心臓病 (HHD, Hypertensive heart disease) であることから、今後は患者が急増することが危惧される。しかも、その予後は LVEF が低下している心不全 (HFrEF, HF with reduced EF) と同等に悪く、有効な治療法が未だ確立していないのが現状である。

申請者は、これまで HFpEF モデル (HHD モデル) として、圧負荷モデルを作成し、LVEF が保たれている時期から、脳内自律神経中枢である視床下部における Na チャネル (ENaC) が増加し、食塩感受性交感神経活性化を来すことを明らかにした。この一連の研究により、体液性因子に変化が生じない HFpEF の状態で既に何らかのシグナルが心臓から脳、特に視床下部に送られることで、易交感神経活性化状態になり、新たなストレスが加わることで、容易に交感神経活性化を来し、心不全悪化に結びつく可能性が考えられた。しかし、根本である「如何に脳が心臓への圧負荷を感知しているか？」という疑問は未解決である。

これまでの基礎研究において、心不全に共通して求心性心臓交感神経 (CSA, Cardiac sympathetic afferent) 刺激が生じることが報告され、さらに近年 CSA 刺激による脳内炎症性サイトカインの増加も報告されている。つまり、心不全では神経性情報伝達により脳内炎症が惹起されている可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では心不全における病態悪化機構の根本的問題点として、神経性心→脳コミュニケーションに焦点をあて、その機序の解明を目指すものである。特に神経性心→脳コミュニケーションとして、求心性心臓交感神経 (CSA, Cardiac sympathetic afferent) に着目して、「心不全→CSA 刺激による脳内炎症→脳内 RAS 活性化→食塩感受性、嗜好性獲得→交感神経活性化→心不全悪化」というサイクルの存在を確認し、心不全における心脳連関をターゲットとした有効な治療法開発を目指す。

3. 研究の方法

<概要>

本研究では心不全モデルとして圧負荷モデルを作成した。それらのモデルを用いて、まず、心不全モデルにおける脳内視床下部における「炎症性サイトカイン増加→MR 活性化→RAS 活性化機序」を確認し、さらに食塩感受

性交感神経活性化の再確認と食塩嗜好性の存在を確認する。

上記脳内変化と求心性心臓交感神経 (CSA) 活性化との関連を確認するため、心不全モデルでの心表面へのレシニキラトキシン貼付による CSA 遮断効果、また Sham 群での心表面へのカプサイシン貼付による CSA 刺激効果を検討する。さらに、より特異的に CSA 刺激と脳内変化の関連を検討するため、CSA 末端に存在するカプサイシン受容体 [Transient receptor potential v1 (TRPV1)] 欠損マウスを用いて検討を行う。

<詳細>

(1) 心不全モデルの作成

10 週齢雄 ICR (Institute Cancer Research) マウスの腹部大動脈 banding (27G 針) による圧負荷モデル作成を行い、コントロール群には、sham 手術を行う。

(2) 心不全モデルにおける脳内 MR-RAS 活性評価

視床下部を用いて、ミネラルコルチコイド受容体 (MR) 発現、MR 活性化の指標として serum glucocorticoid induced kinase1 (SGK1) 発現、さらに、アンジオテンシン II 受容体 (AT1R) の発現増加を確認する。

(3) 心不全モデルでの脳内炎症の評価 (炎症性サイトカインの測定)

視床下部での炎症性サイトカイン発現をウェスタンブロット法、また濃度を ELISA 法により測定する。同時に血液サンプルを採取し、血中炎症性サイトカイン濃度も評価を行う。

(4) 心不全モデルでの食塩感受性交感神経活性化の確認

交感神経活動は、24 時間蓄尿による尿中カテコラミン排泄量測定で行う。

(5) カプサイシン左室前面貼付 CSA 刺激による上記脳内分子機構の変化を確認し、さらに CSA を脱感作させた場合の脳内分子機構の変化を確認する。

(6) CSA 刺激により食塩感受性が亢進するか否かを確認する。食塩感受性は、経口食塩負荷に対する尿中カテコラミン排泄量 (交感神経活動) の変化と、脳室内 Na 微量投与による血圧心拍数変化で評価する。

(7) CSA 刺激の誘因 (CSA 左室表面神経末端に存在する) となる TRPV1 の役割を検討するため、TRPV1 ノックアウトマウスを用いて、上記評価を行う。

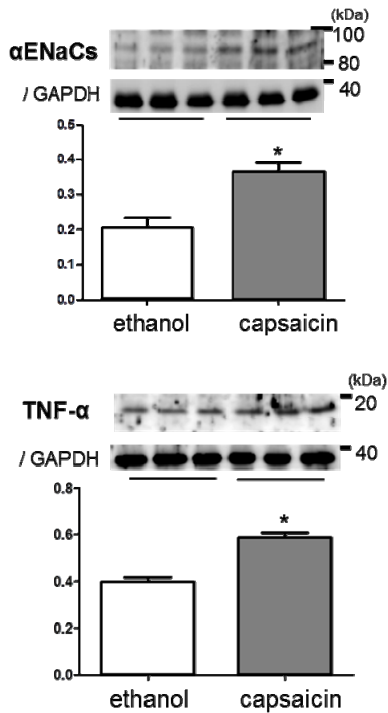
4. 研究成果

(1) 圧負荷モデルにおける脳内分子機構変化の確認

心不全モデル（圧負荷モデル）において視床下部組織における MR 発現及び SGK1 発現 (MR 活性化指標) の発現増加を確認した。更に、RAS 活性化の指標として AT1R 発現増加も確認した。

(2) CSA 刺激による脳内分子機構変化

正常マウスを用いて、左室前面にカプサイシンを浸したろ紙を貼付することで、左室心筋に分布する CSA 神経末端 (TRPV1) を刺激したところ、3 日後の時点で視床下部における炎症性サイトカイン (TNF- α) と Na チャネル (ENaC) に発現増加を認めた。また、TNF- α 阻害剤 (エタネルセプト) が、この ENaC 発現増加を抑制することも確認した。



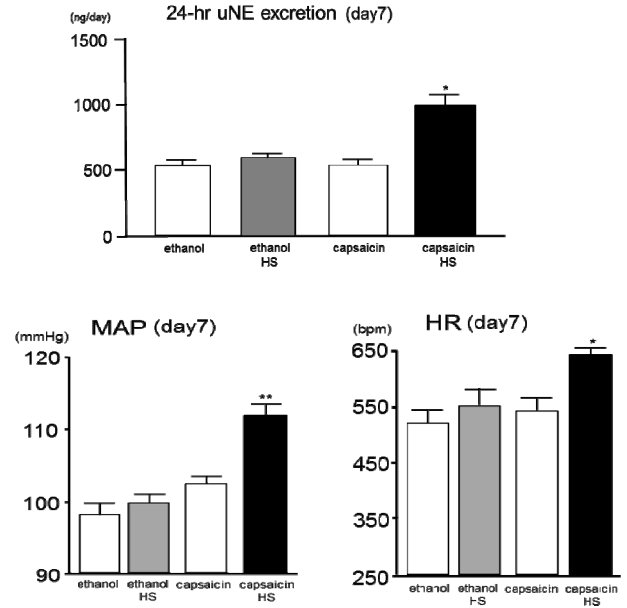
(3) CSA 脱感作による脳内分子機構変化

上記脳内分子機構の変化が CSA 刺激に伴う変化であることを確認するため、レシニキラトキシンを左室前面に貼付し CSA を脱感作することで心→脳の神経性連絡を絶ったところ、上記炎症性サイトカインや ENaC 発現が低下傾向を認めた。

(4) CSA 刺激による食塩感受性獲得の確認

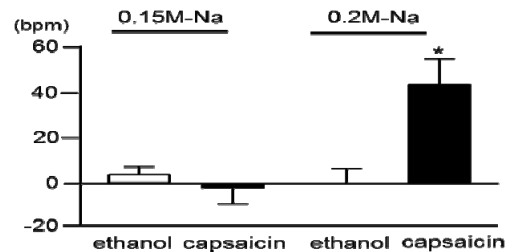
正常マウスへの CSA 刺激で、3 日後に視床下部 ENaC 発現増加が確認できたことから、この 3 日後から 5 日間の経口食塩負荷 (HS) を行ったところ、対照群 (エタノール左室前面貼付) に比べて、有意に尿中カテコラミン排泄量の増加を認め、食塩感受性交感神経活性化が生じている

ことが確認できた。また、血圧測定においても、CSA 刺激+食塩負荷により有意な血圧上昇と心拍数増加を認めた。

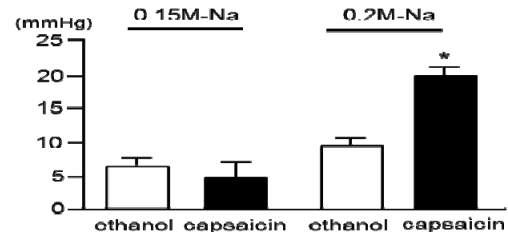


更に、直接的に脳内への Na 作用が増強していることを確認するため、脳室内へ高 Na の人工脳せき髄液を微量投与し、その際の血圧、心拍数変化を確認したところ、CSA 刺激群では、対照群に比べて有意に大きな血圧上昇と心拍数上昇を示した。

<血圧の変化>



<心拍数の変化>



(5) TRPV1 ノックアウトマウスでの検討

TRPV1 ノックアウトモデルを用いて検討では、左室前面へのカプサイシン貼付での昇圧反応消失は認めなかった。また、慢性圧負荷による心肥大も抑制されることを確認した。

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)

Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K.
Cardiac sympathetic afferent stimulation induces salt-sensitive sympathoexcitation through hypothalamic epithelial Na channel activation.
Am J Physiol Heart and Circ Physiol
308(5): H530-H539, 2015. 査読有
DOI: 10.1152/ajpheart.00586.2014.

[学会発表] (計5件)

① 伊藤 浩司
心肥大モデルにおける食塩感受性交感神経活性化～神経性心脳連関の重要性
第44回日本心臓血管作動物質学会(招待講演)
2015年2月7日
高松センタービル
(香川県高松市)

② 伊藤 浩司
高血圧における交感神経活性化; 脳内低分子量G蛋白活性化の役割および圧負荷心における食塩感受性獲得脳内機序の解明
第37回日本高血圧学会総会(招待講演)
2014年10月18日
パシフィコ横浜
(神奈川県横浜市)

③ Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K.
Cardiac sympathetic afferent reflexes stimulation causes salt sensitivity via upregulation of the hypothalamic TNF-ENaCs-AVP pathway.
第78回日本循環器学会学術集会
2014年3月21日
東京国際フォーラム
(東京都千代田区)

④ 伊藤 浩司、廣岡 良隆、砂川 賢二
「圧負荷モデルにおける食塩感受性交感神経活動亢進にはコルチコステロンによる視床下部ミネラルコルチコイド受容体活性化が関与する」
第17回日本心血管内分泌代謝学会
2013年11月22日
千里ライフサイエンスセンター
(大阪府豊中市)

⑤ 伊藤 浩司
「心脳連関による脳内 Na チャネル活性

化と食塩感受性獲得」
第23回日本病態生理学会
2013年8月3日
東京慈恵会医科大学 大学1号館
(東京都港区)

[図書] (計0件)

[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

伊藤 浩司 (Ito, Koji)
九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員
研究者番号: 10452757

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: