

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860618

研究課題名(和文)多臓器連関から捉えた治療抵抗性高血圧の分子生物学的機序の解明及び新規治療法の開発

研究課題名(英文)Molecular mechanism of resistant hypertension in terms of brain-organ linkage

研究代表者

荒井 隆秀 (ARAI, TAKAHIDE)

慶應義塾大学・医学部・講師(非常勤)

研究者番号：00383894

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：腎動脈支配交感神経除神経療法が臨床の現場では注目されているが、同治療のメカニズムについては未知な事も多い。本研究においては高血圧モデルラットを用いて、腎動脈支配交感神経の中樞が視床下部傍室核の一部にあることを示し、高血圧群においては同部位における、CCL2などのケモカインの発現が上昇していることを確認した。これらを同部位に注入すると腎動脈レベルで高血圧を惹起する液性因子の発現が上昇することを確認した。中樞から末梢に至るこの経路の変化は同治療のメカニズムを説明する上で重要であると思われる

研究成果の概要(英文)：Renal denervation therapy attracts attention in the clinical settings, but there are many unknown things about the mechanism of the treatment. I showed that the center of sympathetic nerve which innervates renal artery exists in one part of the hypothalamic paraventricular nucleus using a hypertensive model rat in this study and confirmed that the expression of chemokines such as CCL2 in the site increased in the hypertension group. We also confirmed that the onset of humoral factor to induce hypertension at a renal artery level when we injected these factors into the hypothalamic site. The change from central part to the peripheral seems to be important in explaining a mechanism of the treatment.

研究分野：分子循環器病学

キーワード：治療抵抗性高血圧 腎動脈除神経療法

1. 研究開始当初の背景

心臓支配神経には、自律神経である交感神経と副交感神経および知覚神経が存在する。我々はこれまで心臓交感神経および心臓知覚神経の発生に関する研究を行い、この領域において世界レベルの研究実績を積み重ねてきた。

心臓はその発生における交感神経支配において、神経栄養因子(NGF)の発現が必須であるが、エンドセリン-1がNGFの発現を制御していることを世界で初めて報告した(Ieda M, J Clin Invest, 2004)。また、交感神経は心外膜側に偏在して分布するが、その分布において神経軸索発現因子セマフォリン 3Aの心内膜側の発現が重要であることを発見した(Ieda M, Nat. Med, 2007)。また心臓知覚神経に関して、発生段階においてNGFの発現が必須であることを明らかにしてきた(Ieda M, Circulation, 2006)。現在では心臓支配副交感神経の発生に関する研究も進めている段階である。

心臓支配自律神経の発生段階における研究とともに我々は様々な心臓の病態における心臓自律神経に関する研究を進めてきた。肥大大心や不全心では、心筋におけるIL-6サイトカインファミリーに属するLIFやカルジトロピン1(CT-1)の発現が亢進し、これが交感神経細胞に作用することで幼若神経マーカーを発現し、交感神経機能を低下させる(交感神経細胞の幼若化)ことを見いだした(Kimura K, Circ Res, 2007)。さらに驚くべきことに、心肥大から心不全へと病態が進行すると、LIFおよびCT-1は、交感神経を副交感神経に分化転換することを発見した(Kanazawa H, J Clin Invest, 2009)。更に心臓知覚神経に関して、糖尿病においてはNGF発現が減少しているため知覚神経が減少しているものの、NGFを補充することで知覚神経が回復することを明らかにした(Ieda M, Circulation, 2006)。これらの成果を更に発展させ、交感神経を介した“脳心連関”に関わる研究も行ってきた。その代表的な例として、ストレス心筋症において、視床下部傍室核におけるCCL2などのケモカインの発現上昇が交感神経活動興奮を惹起し、左星状神経節においてNeuropeptide Y(NPY)などの発現上昇をもたらすこと、ノルアドレナリンとの相互作用で心機能低下をもたらすことを明らかにした。これらの経験を活かし、今回は難治性高血圧に対する新たな治療法である、カテーテルによる“腎動脈交感神経除神経療法”をテーマにした。高血圧患者数は4000万人とも言われており、40歳以上では実に2人に1人の割合で罹患していると言われており、これまで様々な薬物療法により、コントロールが試みられてきたが、何種類もの薬物療法にも関わらず血圧コントロールが困難なケースも少なからず存在した。そのような

中、2009年に腎動脈交感神経除神経療法が発表された(Krum H et al. Lancet 2009)。これは腎動脈にカテーテルを挿入し、腎動脈周囲の交感神経を焼灼する方法である。その有効性と安全性に関しては様々な報告がなされている。しかしながら、なぜ高血圧の治療が腎動脈の交感神経除神経のみで可能なのかについては、未知のことも多い。高血圧による腎実質障害などが求心性経路により視床下部傍室核を興奮させ、その刺激が交感神経を伝わる。その結果、腎臓におけるレニンアンギオテンシン系を活性化、カテコラミン発現の増加などが、高血圧の発症・維持に関わっているという説もあるが、未だ証明はされていない。本研究においては腎動脈交感神経除神経療法で血圧が低下するメカニズムを解明するとともに、この治療法を更に発展させた、新たな治療法の開発を目的とする。

2. 研究の目的

本研究では腎動脈交感神経除神経療法に関して以下の検討を行う。

- (1)高血圧動物モデルを作成する。
- (2)腎臓を支配する交感神経の中枢部位を逆行性トレーサーを用いて正確に同定を行う。
- (3)高血圧モデルにおける中枢部位の変化の同定
- (4)中枢が興奮する際に交感神経を介して腎動脈レベルで起きる液性因子の変化を同定する。
- (5)高血圧動物モデルにおいて、腎動脈交感神経の遮断、および(3)(4)で同定した液性因子の阻害による血圧コントロールを実証する。
- (6)これらの臨床応用を検討する。

3. 研究の方法

- (1)高血圧動物モデルの作成
高血圧動物モデルとして、ダール食塩感受性ラットを用いる。これは、6週齢から高塩分食を与えることで高血圧を呈するラットである。これを用いて安定的に高血圧モデル動物が作成できることを確認する。
- (2)腎臓を支配する交感神経の中枢部位の同定
高血圧の治療が腎動脈の交感神経除神経のみで可能なのかについては、高血圧による腎実質障害などが求心性経路により視床下部傍室核を興奮させ、その刺激が交感神経を伝わる。その結果、腎臓におけるレニンアンギオテンシン系を活性化、カテコラミン発現の増加などが、高血圧の発症・維持に関わっているという説がある。そのために、まず腎臓を支配する交感神経の中枢部位を正確に同定する必要がある。そのために、逆行性トレーサーである、pseudorabies virus (PRV)

を用いる。これはシナプスを乗り越えて逆行性に神経をトレースできる性質がある。そのため、末梢臓器の中枢を同定することができる。

(3)高血圧モデルにおける中枢部位の変化の同定

(2)で同定した腎臓を支配する交感神経の中枢をマイクロサンプリングし、コントロール群と高血圧群で DNA の発現を比較検討する。

(4)(3)で同定した中枢で変化する因子を中枢にマイクロインジェクションした際に、腎動脈レベルで生ずる液性因子の変化を ELISA 法にて同定する。

(5)高血圧モデル動物における、腎動脈交感神経遮断の効果、阻害薬の効果検討

高血圧モデル動物の腎動脈交感神経を物理的に遮断することで、臨床で行われる腎動脈交感神経焼灼療法を動物において模倣する方法を確立する。また高血圧モデルで上昇している液性因子の阻害薬を投与することによる血圧低下作用の検討を行う。

(6)臨床応用の検討

モデル動物を用いて得られた知見を生かすべく、ブタなどの大動物を用いた検討を更に行い、臨床応用への可能性を検討する。

4. 研究成果

(1)高血圧動物モデルの作成

ダール食塩感受性ラットに、6週齢から高塩分食を与えた。投与前収縮期 101mmHg であったが、11週齢(投与5週)で収縮期 202mmHg となっており、確かに高血圧を呈するラットを作成できることを確認した。

(2)腎臓を支配する交感神経の中枢部位の同定

PRV を腎動脈周囲組織に投与することで、腎動脈支配交感神経の中枢の同定を試みた。その結果視床下部傍室核の一部が PRV によりトレースされることを確認した(図1)。

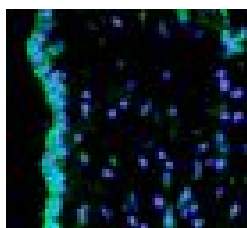


図1 PRV を腎動脈周囲交感神経に投与した際にトレースされた視床下部傍室核の一部。

(3)高血圧モデルにおける中枢部位の変化の同定

(2)で同定した腎臓を支配する交感神経の中枢をマイクロサンプリングし、コントロール群と高血圧群で DNA の発現を比較検討した。その結果 CCL2, CXCL1 といったケモカインの発現が上昇していることを確認した(図2、3)。これらのケモカインは一般的に炎症に関わるケモカインであるとされている。

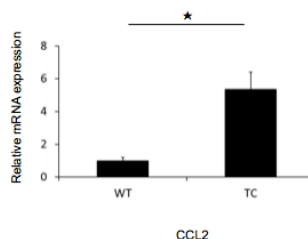


図2 視床下部において、高血圧モデル群では CCL2 の発現量が優位に増加している。

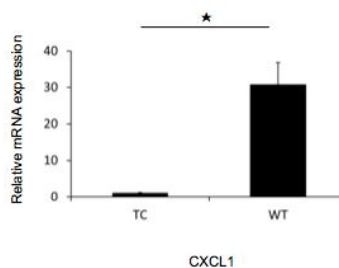


図3 視床下部において、高血圧モデル群では CXCL1 の発現量が優位に増加している。

(4)(3)で同定した中枢で変化する因子を中枢にマイクロインジェクションした際に、腎動脈レベルで生ずる液性因子の変化の同定

視床下部傍室核に CCL2 や CXCL1 といったケモカインをマイクロインジェクションしたところ、インジェクション前と比較して血圧が約 1.5 倍に上昇することを確認した。さらに腎動脈レベルにおいて、アンジオテンシン、カテコラミン、NPY などの液性因子が上昇していることを確認した。

(5)高血圧モデル動物における、腎動脈交感神経遮断の効果、阻害薬の効果検討

高血圧動物モデルにおいて腎動脈周囲を露出し、交感神経を結紮することで交感神経の遮断を試みた。一部において、血圧低下が認められたものの、血圧低下が認められない個体も認められた。この要因として、一つは

動物モデルにおけるこの手技が困難であることが挙げられる。また手技の問題だけでなく、腎動脈交感神経の遮断だけでは血圧低下が得られない個体も存在する可能性を示唆している。これは実際の臨床でもこの治療に抵抗性の症例も存在することから、今後はどのような個体でこの治療が有効で、どのような個体でこの治療が有効でないか見極める必要性があると思われる。

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0件)

〔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〕

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

荒井 隆秀 (ARAI TAKAHIDE)

慶應義塾大学・医学部・講師(非常勤)

研究者番号：00383894

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし