

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：84404

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670413

研究課題名(和文) 高血圧発症における延髄心臓血管中枢の微小循環機能障害の役割

研究課題名(英文) Role of microvascular dysfunction in the cardiovascular center for development of hypertension

研究代表者

白井 幹康 (Shirai, Mikiyasu)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・部長

研究者番号：70162758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：高血圧発症前の4か月齢高血圧自然発症ラット(SHR)の延髄細動脈は、低酸素に対して特異的に異常心答(血管収縮)を示すことを、放射光微小血管造影法を用いて見出した。腎臓と腰部の交感神経活動(SNA)を無麻酔下SHRで1か月記録したところ、体血圧上昇過程でこれらのSNAは増大しなかった。慢性間歇的低酸素ラットでは、体血圧上昇に比例してこれらのSNAは増大した。しかし、肺SNA増大に肺動脈圧上昇を伴わず、脳室内 α_1 遮断薬投与によるSNA抑制で低酸素の直接的肺循環昇圧効果が得られたことから、SNA増大は肺循環降圧効果を有すると考えられた。以上の結果は、血圧調節における延髄の虚血環境の重要性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：We applied synchrotron radiation microangiography to young (4-week-old) spontaneously hypertensive rat (SHR) whose blood pressure is usually normal and found that arterioles in the medulla oblongata show abnormal responses (vasoconstriction) specifically with acute hypoxic exposure. In the unanesthetized young SHR, we measured renal and lumbar sympathetic nerve activity (SNA) for a month and found no significant SNA increase despite progressive rise in systemic blood pressure. In the chronic intermittent hypoxic rat, the SNA increased in proportion to blood pressure rise, but pulmonary SNA increase is not accompanied by pulmonary pressor response during acute hypoxic exposure. The inhibition of SNA increase with central α_1 receptor blockade disclosed the hypoxic pulmonary pressor response, suggesting the SNA increase attenuates the hypoxic pulmonary response. These data suggest an important role of the ischemic state of the cardiovascular center for controlling SNA and blood pressure.

研究分野：循環生理学

キーワード：高血圧 交感神経活動 心臓血管中枢 延髄微小循環 高血圧自然発症ラット 間歇的低酸素 肺循環

1. 研究開始当初の背景

近年、高血圧の誘引とされる交感神経活動の増大の原因として、心臓血管中枢のレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系(RAAS)の活性化や一酸化窒素(NO)の低下などが示唆されている。他方申請者は、SPring-8 放射光微小血管造影法を用い、高血圧に至っていない4週齢の自然発症高血圧ラット(SHR)において、延髄心臓血管中枢の微小循環の低酸素応答が、WKY(対照)の応答と比較して、まったく逆の収縮応答であることを新たに見出した。低酸素状態での血管収縮は、血管内皮のNO産生低下や α_2 アドレナリン受容体活性低下を示唆し、心臓血管中枢の虚血を増悪すると予測される。

2. 研究の目的

本研究では、高血圧発症過程において、心臓血管中枢の微小循環異常は血圧上昇以前からあり、この異常は心臓血管中枢の自律神経調節機構の変調のトリガーとなり得るといふ仮説の基に、高血圧発生前後における心臓血管中枢微小循環の機能的変化と、血圧並びに交感神経活動の変化との関係を、高血圧モデルラットを用いて調べることを目的とした。

3. 研究の方法

実験には高血圧発症前の4週齢SHR、Dahl食塩感受性ラット(Dahl-S)、2-kidney、one-clip(2K1C)ラット、睡眠時無呼吸症候群モデルラット(間歇的低酸素+高炭酸ガスを8時間/日で1ヶ月間負荷する)並びに各々の対照ラットを用いた。無麻酔・自由行動下で、腎臓および腰部交感神経活動の計測および血圧測定を同時に行い、これらパラメータの高血圧発症過程での変化を調べた。麻酔下で、心臓血管中枢(延髄領域)の放射光微小血管造影(椎骨動脈造影)をSPring-8で行い、心臓血管中枢の微小循環応答を調べた。

4. 研究成果

麻酔下ラットに微小血管造影法を応用して椎骨動脈造影による延髄微小循環の可視化を行い、高血圧を発症する前の生後4か月のSHRと対照ラットで微小循環応答を比較した。10% O_2 の吸入に対して、延髄細動脈は、対照では拡張したが、SHRでは収縮した。アンジオテンシン-II及びノルアドレナリンの静脈内投与に対して、いずれのラットの延髄細動脈も同程度に収縮した。一酸化窒素合成酵素阻害薬(L-NAME)に対して、やはり同程度に収縮した。以上より、高血圧発症前のSHRの延髄細動脈は、昇圧因子(アンジオテンシン-II、ノルアドレナリン)や内因性一酸化窒素に対する異常応答はなく、低酸素に対して特異的に異常応答を示すことが示唆された。

高血圧発症モデルラットの腎臓および腰

部交感神経活動並びに体血圧を無麻酔、自由行動下で1か月記録することで、高血圧発症過程において血圧上昇と交感神経活動が比例関係にあるかを調べた。その結果、SHR、Dahl-Sラットおよび2K1Cラットでは、体血圧上昇過程で腎臓および腰部交感神経活動は有意に変化しないことが判明した。そこで、別の高血圧発症モデルとして、睡眠時無呼吸症候群モデルラットを調べた。その結果、体血圧上昇に並行して腎臓および腰部交感神経活動が増大することが分かった。このラットでは、肺交感神経活動も亢進したが、肺循環の昇圧はともなわなかった。また、急性低酸素(10% O_2)負荷時、正常ラットと比較して、肺交感神経活動の著明な亢進と極めて弱い肺血管収縮応答が生じた(微小血管造影法で確認)。正常ラットでは急性低酸素で顕著な肺血管収縮応答が起こることを考慮すると、このラットでの肺交感神経活動亢進は肺循環に対して降圧効果を有するか、少なくとも昇圧効果はないものと考えられた。そこで、脳室内へ α_1 アドレナリン受容体遮断薬(メトプロロール)を急性投与し、交感神経活動を抑制した。その結果、正常ラットと同等の急性低酸素に対する肺血管収縮応答が得られたことから、睡眠時無呼吸症候群モデルラットの交感神経活動増大は、肺循環に対して降圧効果を有することが示唆された。

以上から、高血圧発症に交感神経活動の増大がどの程度重要かは不明であるが、血圧調節における延髄の虚血環境の重要性が示唆された。また、間歇的低酸素時の交感神経活動増大の血圧に対する効果は、体循環と肺循環で異なる可能性が示唆された。

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10件)(全て査読有)

1. Shirai M, Tsuchimochi H, Nagai H, Gray E, Pearson JT, Sonobe T, Yoshimoto M, Inagaki T, Fujii Y, Umetani K, Kuwahira I, Schwenke D. Pulmonary vascular tone is dependent on the central modulation of sympathetic nerve activity following chronic intermittent hypoxia. *Basic Res Cardiol* 2014 Sep; 109(5):432.

2. Nagai H, Kuwahira I, Schwenke DO, Tsuchimochi H, Nara A, Inagaki T, Ogura S, Fujii Y, Umetani K, Shimosawa T, Yoshida K, Pearson JT, Uemura K, Shirai M. β_2 -adrenergic receptor-dependent attenuation of hypoxic pulmonary vasoconstriction prevents progression of pulmonary arterial hypertension in intermittent hypoxic rats. *PLoS ONE* 2014 Oct 28; 9(10):e110693.

3. Kawada T, Akiyama T, Shimizu S, Sata Y, Turner MJ, Shirai M, Sugimachi M. Acute effects of arterial baroreflex on sympathetic nerve activity and plasma norepinephrine concentration.

Auton Neurosci 186: 62-68, 2014.

4. Sonobe T, Tsuchimochi H, Schwenke DO, Pearson JT, Shirai M. Treadmill running improves hindlimb arteriolar endothelial function in type 1 diabetic mice as visualized by X-ray microangiography. *Cardiovasc Diabetol* 2015 May 13;14:51.

5. Hashimoto-Kataoka T, Hosen N, Sonobe T, Arita Y, Yasui T, Masakia T, Minami M, Inagaki T, Miyagawa S, Sawa Y, Murakami M, Kumanogoh A, Yamauchi-Takihara K, Okumura M, Kishimoto T, Komuro I, Shirai M, Sakata, Y, Nakaoka Y. Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 112(20):E2677-86, 2015.

6. Kidoya H, Naito H, Muramatsu F, Yamakawa D, Jia W, Ikawa M, Sonobe T, Tsuchimochi H, Shirai M, Adams RH, Fukamizu A, Takakura N. APJ Regulates Parallel Alignment of Arteries and Veins in the Skin. *Dev Cell* 33(3):247-59, 2015.

7. Nara A, Nagai H, Shintani-Ishida K, Ogura S, Shimosawa T, Kuwahira I, Shirai M, Yoshida K. Pulmonary arterial hypertension in rats due to age-related arginase activation in intermittent hypoxia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 53(2): 184-192, 2015.

8. Shirai M, Joe N, Tsuchimochi H, Sonobe T, Schwenke DO. Ghrelin suppresses sympathetic hyper-excitation in acute heart failure in male rats - assessing centrally and peripherally mediated pathways. *Endocrinology* 156(9):3309-16, 2015.

9. Waddingham MT, Edgley AJ, Astolfo A, Inagaki T, Fujii Y, Du CK, Zhan DY, Tsuchimochi H, Yagi N, Kelly DJ, Shirai M, Pearson JT. Chronic Rho-kinase inhibition improves left ventricular contractile dysfunction in early type-1 diabetes by increasing myosin cross-bridge extension. *Cardiovasc Diabetol* 2015 Jul 22;14:92.

10. Shimizu S, Kawada T, Akiyama T, Turner MJ, Shishido T, Kamiya A, Shirai M, Sugimachi M. Guanfacine enhances cardiac acetylcholine release with little effect on norepinephrine release in anesthetized rabbits. *Auton Neurosci* 187:84-87, 2015.

〔学会発表〕(計8件)

1. 白井幹康. SPring-8放射光を用いた小動物心血管機能の in vivo イメージング. 関西実験動物研究会 第123回研究会(招待講演) 2014年9月27日 大阪大学医学部

2. 白井幹康. SPring-8 先端放射光画像による新たな肺循環研究. 1204 Scientific Exchange Meeting in Tokyo. (特別講演) 2014年12月4日 帝国ホテル東京

3. Shirai M, Joe N, Tsuchimochi H, Schwenke DO. Ghrelin acts directly on the CNS to suppress cardiac sympathetic tone and arrhythmia following acute myocardial infarction in rats.

92th Annual Meeting of Japan Physiological Society (Kobe, March 21 2015)

4. Tanaka M, Abe K, Oka M, Schwenke DO, Shirai M, Kuwahira I, Hirooka Y, Hoka S, Sunagawa K. Critical protective role of endogenous nitric oxide in established severe pulmonary arterial hypertension in rats. American Heart Association scientific session (Florida, Nov 10 2015)

5. Pearson J, Chen Y, Inagaki I, Fujii Y, Schwenke D, Edgley A, Umetani K, Zhan Y, Yoshimoto M, Tsuchimochi H, Nagai H, Kuwahira I, Evans R, Shirai M. Chronic intermittent hypoxia accelerates coronary microcirculatory dysfunction in young insulin resistant Goto-Kakizaki rats. 93th Annual Meeting of Japan Physiological Society (Sapporo, March 22 2016)

6. Tsuchimochi H, Inagaki I, Shirai M. Fluorescence imaging identification of autonomic nerve fibers and measurement of their activities in vivo Thy1-YFP transgenic mice. 93th Annual Meeting of Japan Physiological Society (Sapporo, March 22 2016)

7. Schwenke D, Diong C, Shirai M. Sympathetic hyper-excitation in obesity and pulmonary hypertension; relevance to the Obesity Paradox. 93th Annual Meeting of Japan Physiological Society (Sapporo, March 23 2016)

8. Sukumaran V, Inagaki I, Tsuchimochi H, Shirai M. Exercise training attenuates the development of diabetic cardiomyopathy through modulating inflammation and oxidative stress. 93th Annual Meeting of Japan Physiological Society (Sapporo, March 24 2016)

〔図書〕(計3件)

1. 永井恒志、土持裕胤、ジェームズ ピアソン、白井幹康. 慢性間歇的低酸素による肺高血圧発症を抑制する 受容体を介した肺血管拡張機構の発見 - 放射光高解像度微小血管造影の応用研究 - 循環器病研究の進歩. XXXVI (1)橋本信夫監修 協和企画 pp.83-94, 2015.

2. Shirai M, Yagi N. Cardiovascular Medicine in Spring-8 (Review Article). SPring-8 Research Frontiers 2014, ed. by N. Yagi, SPring8/JASRI, pp. 12-15, 2015.

3. Pearson JT, Shirai M, Umetani K. Role of Rho-Kinase in early diabetic coronary vasoconstriction. SPring-8 Research Frontiers 2014, ed. by N. Yagi, SPring8/JASRI, pp. 36-37, 2015.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白井幹康 (SHIRAI MIKIYASU)
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・部長
研究者番号：70162758

(2) 研究分担者

土持裕胤 (TSUCHIMUCHI HIROTSUGU)
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長
研究者番号：60379948

(3) 連携研究者

稲垣薫克 (INAGAKI TADAKATSU)
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・上級研究員
研究者番号：20638366