

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790206

研究課題名(和文) 中枢性高血圧の発生メカニズムの解明：呼吸循環連関からのアプローチ

研究課題名(英文) Investigation into the mechanism of neurogenic hypertension: Approach from the cardio-respiratory relationship

研究代表者

小金澤 禎史 (KOGANEZAWA, TADACHIKA)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：80431691

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：心臓・血管運動を支配する交感神経活動の先天性亢進は、神経性高血圧をもたらす可能性が示唆されているが、その脳内メカニズムは不明なままである。そこで、本研究では、交感神経活動にみられる呼吸性活動に着目し、交感神経活動の異常亢進による神経性高血圧がもたらされる原因についての詳細な解析を行った。その結果、循環調節中枢ニューロン活動の呼吸相特異的な抑制、低酸素環境下に対するATPを介した循環調節中枢ニューロン応答の抑制の存在が明らかとなった。これらの結果は、高血圧にみられる交感神経活動の異常亢進に関するメカニズムをさらに詳細に解明する上で、非常に重要な知見となるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been suggested that congenital enhancement of the cardiovascular sympathetic nerve activity causes neurogenic hypertension. However, the mechanism is still unclear. In this study, with focusing on the respiratory activity of the sympathetic nerve, we tried to analyze the mechanism of neurogenic hypertension which is related with enhancement of the sympathetic nerve activity. As the result, we found the presence of respiratory phase related inhibitory regulation of neurons in the cardiovascular center, and ATP related inhibitory modulation of neurons in the cardiovascular center under condition of hypoxia. This result might be very useful to investigate details of the mechanism of neurogenic hypertension.

研究分野：神経生理学

キーワード：高血圧 交感神経 循環中枢 呼吸中枢 GABA グリシン ATP 低酸素

1. 研究開始当初の背景

(1) 高血圧

高血圧は、脳卒中、腎疾患、心疾患などの原因となる世界的にも極めて重大な疾患である。しかしながら、現時点では、高血圧患者のほとんどが、原因が明確ではない本態性高血圧に分類されており、このような現状においては、血圧調節の基本的なメカニズムを再検討する必要がある。

(2) RVLM ニューロン

in vivo 実験において、心臓・血管運動を支配する交感神経活動を記録すると、自発的な活動を観察できる。また、吻側延髄腹外側部 (RVLM) に存在する交感神経のプレモーター・ニューロン (RVLM ニューロン) から自発的な活動を同時に記録でき、RVLM を破壊すると、交感神経の緊張性放電が消失する。このことから、末梢交感神経の自発的な活動は、循環調節中枢ニューロンの自発性放電に起因するものであり、RVLM ニューロンは交感神経活動を興奮性に駆動しているものと考えられている。また、RVLM ニューロンにより駆動される交感神経活動は呼吸性のリズムをもっており、このことは、RVLM ニューロンに対して呼吸中枢からの周期的な入力があることを示唆している

(3) 中枢性高血圧の原因

これまで、高血圧患者において、心臓・血管運動を支配する交感神経活動の異常亢進、すなわち、神経性高血圧がもたらされている可能性を示唆する報告がなされてきたが、なぜ交感神経活動の異常亢進が発生するのかについての明確な答えは得られていない。しかしながら、近年、高血圧患者では交感神経の呼吸性活動が特に顕著に亢進していること、また、高血圧患者では脳内の先天的な血流不足がみられており、このことが交感神経活動の異常亢進をもたらし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、*in situ* 標本であるラットの人工脳脊髄液灌流標本を用いて、中枢性高血圧の発生原因を検討することをその目的とした。

3. 研究の方法

(1) 標本

実験には、正常または高血圧ラットの人工脳脊髄液灌流標本を用いた。

(2) ニューロンおよび神経活動の記録

RVLM ニューロンからの記録は、細胞外誘導法またはブラインドパッチクランプによる膜電位測定により行った。ガラス吸引双極電極を用いて、横隔神経活動および交感神経活動の記録を行った。交感神経の呼吸性活動を明確化するために、横隔神経の呼吸性活動をトリガーとした交感神経活動の加算平均を行

った。

(3) 薬理的処置

3連ガラス管に薬物 (グルタミン酸、ビククリン (GABAA 受容体拮抗薬)、ストリキニン (グリシン受容体拮抗薬)、NaCN または色素 (ポンタミンスカイブルー) を充填し、RVLM への薬物の微量投与を行った。交感神経プレモーターニューロンが存在する RVLM の同定は、グルタミン酸の微量投与に対する交感神経の興奮性応答を確認することにより行った。P2 受容体の遮断は、P2 受容体拮抗薬 PPADS の灌流液中への投与により行った。

(4) 低酸素刺激

標本全体に対する低酸素刺激は、灌流液を通気させる混合ガスの組成を変化させることによって行った (通常時: 95%O₂, 5%CO₂; 低酸素時: 5%O₂, 8%CO₂)。RVLM の局所性低酸素刺激の際は、ガラス管に充填した NaCN を RVLM へ微量投与することによって行った。

4. 研究成果

(1) 交感神経の呼吸性活動

正常ラットと高血圧ラットから交感神経活動を記録し、横隔神経の呼吸性活動をトリガーとした加算平均波形を作成したところ、高血圧ラットの交感神経の呼吸性活動は正常ラットのそれよりも有意に亢進していた (図1)。このことは、交感神経活動の呼吸性活動の亢進が高血圧をもたらしている可能性を示唆している。

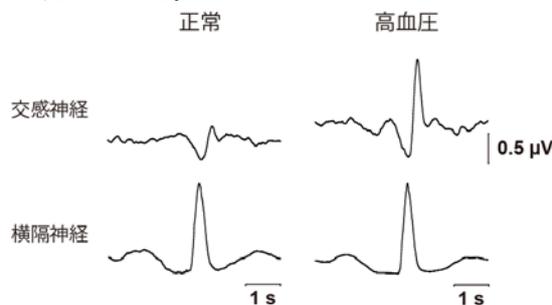


図1 健常ラットおよび高血圧ラットにおける神経活動及び横隔神経活動の Phrenic triggered average

(2) RVLM ニューロンの呼吸性活動の抑制性調節

申請者の先行研究より、高血圧ラットでは RVLM ニューロンへの抑制性入力が増強している可能性が示唆されている。そこで、交感神経の呼吸性活動に対する RVLM ニューロンへの抑制性入力の役割を明らかにするために、RVLM へビククリンまたはストリキニンを投与した前後における交感神経の呼吸性活動の変化を検討した。その結果、ビククリンまたはストリキニンの RVLM への微量投与は、交感神経活動を全体的に上昇させるとともに、交感神経活動の吸息相にみられる

呼吸性活動の振幅を有意に増加させた (図 2,3)。すなわち、RVLM ニューロンに対しては、常に GABA およびグリシン作動性神経からの抑制性入力が存在しているとともに、特に、吸息相特異的な GABA およびグリシン作動性神経からの抑制性入力が存在していることが示唆された。すなわち、交感神経活動亢進による神経性高血圧は、吸息相における GABA およびグリシン作動性神経からの抑制が減弱によりもたらされている可能性が考えられる。

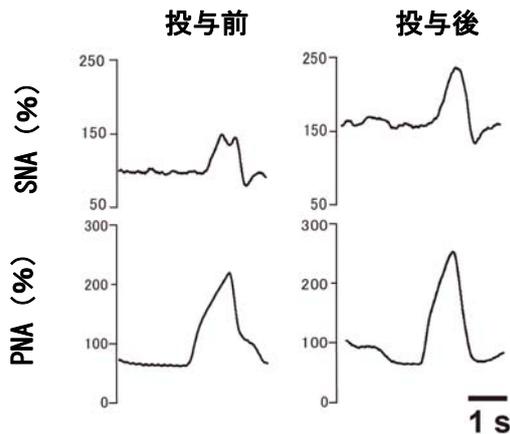


図2 RVLMへのピククリン投与前(左図)及び投与後(右図)に記録された交感神経活動(SNA)及び横隔神経活動(PNA)のPhrenic triggered averageの平均波形。

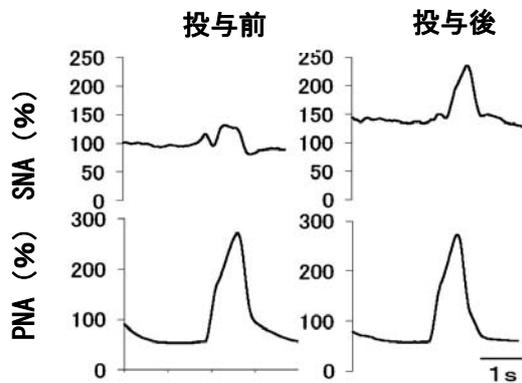


図3 RVLMへのストリキニン投与前(左図)及び投与後(右図)に記録された交感神経活動(SNA)及び横隔神経活動(PNA)のPhrenic triggered averageの平均波形。

(3) 低酸素環境下における RVLM ニューロンおよび交感神経の応答
 高血圧患者および高血圧動物においては、先天的に脳血流が低下している可能性が示唆されている。しかしながら、この先天的な脳血流の低下と交感神経活動の亢進との関連性は明らかになっていない。そこで、低酸素環境下における RVLM ニューロンの活動変化を検討するために、標本全体に低酸素刺激を与えたところ、交感神経活動の亢進と同時に RVLM ニューロンの興奮性応答がみられ

た。さらに、RVLM ニューロンに対するシナプス入力を薬理的に遮断した状況において標本全体に低酸素刺激を与えた場合においても、RVLM ニューロンは興奮性応答を示した。このことは、低酸素環境下では RVLM ニューロンは、他のニューロンからの入力が無くても、RVLM ニューロン自体の特性により低酸素を感受し、その活動を亢進させることを示唆している。すなわち、先天的な脳血流の低下に対し、RVLM ニューロンが興奮性応答を示すことにより、交感神経活動亢進による高血圧が惹起されている可能性が考えられる。

(4) RVLM への局所性低酸素刺激に対する交感神経の応答

RVLM ニューロンの低酸素感受性が高血圧ラットにおける交感神経活動の亢進をもらしている可能性が示唆されたため、RVLM の局所性低酸素に対する交感神経活動への影響を検討した。その結果、RVLM への NaCN の微量投与による局所性低酸素刺激に対して、交感神経は興奮性応答を示した。また、この交感神経の興奮性応答は P2 受容体拮抗薬 PPADS 存在下においてさらに増強した(図 4)。すなわち、低酸素刺激に対する RVLM ニューロンの興奮性応答は、内因性 ATP の関与によって抑制されていることが示唆された。さらに、ストリキニンの RVLM への微量投与後に、同様の実験を行ったところ、P2 受容体拮抗薬 PPADS 存在下における RVLM への NaCN の微量投与による局所性低酸素刺激に対する交感神経の興奮性応答は PPADS 投与後においても変化しなかった。すなわち、低酸素刺激に対する RVLM ニューロンの興奮性応答に対する内因性 ATP の抑制効果は、P2 受容体を介したグリシン作動性神経からのグリシン放出の促進によりもたらされている可能性が示唆された。これらの結果は、脳内低酸素環境下においては、ATP によるグリシン作動性神経を介した RVLM ニューロン活動の抑制促進機構が存在していることを示している。

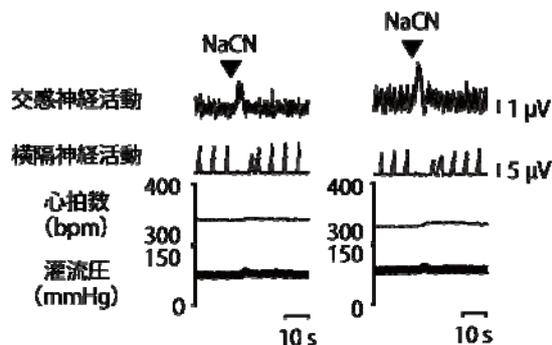


図4 RVLM への NaCN 投与に対する交感神経の応答。PPADS 投与前(左図)と投与後(右図)。▼は NaCN の投与時点を示す。

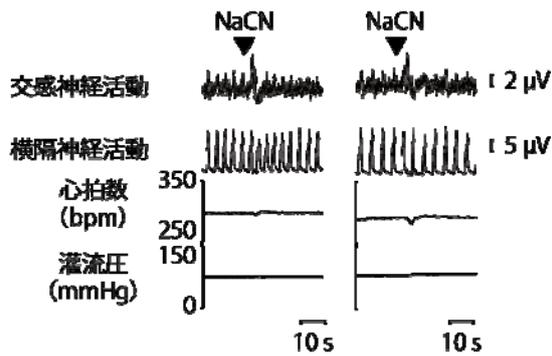


図5 ストリキニン存在下における、RVLMへのNaCN投与に対する交感神経の応答。PPADS投与前(左図)と投与後(右図)。▼はNaCNの投与時点を示す。

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)

- ① Tadachika Koganezawa & Julian F.R. Paton, Intrinsic chemosensitivity of rostral ventrolateral medullary sympathetic premotor neurons in the in situ arterially perfused preparation of rats. *Experimental Physiology*, 98(11), 2014, 1453-1466 査読有
DOI: 10.1113/expphysiol.2014.080069.

[学会発表] (計5件)

- ① 小金澤禎史、ラットの経血管灌流標本においてRVLMニューロンに対するグリシン作動性神経からの入力抑制は心臓・血管交感神経の呼吸性活動を増強する、第92回日本生理学会、第120回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2015年3月21-23日、神戸国際会議場・展示場、神戸
- ② Tadachika Koganezawa, Extracellular ATP attenuates hypoxia-induced excitation of the sympathetic premotor neurons via facilitation of glycinergic transmission in the in situ arterially perfused preparation of rats. *Society of Neuroscience 44th Annual Meeting*, 2014年11月15-19日、Washington Convention Center、Washington D.C.、USA
- ③ 小金澤禎史、ラットの経血管灌流標本において内因性ATPはP2受容体を介してRVLMニューロンの低酸素に対する興奮性応答を減弱させる、第91回日本生理学会大会、2014年3月16-18日、鹿児島大学、鹿児島
- ④ 小金澤禎史、ラットの経血管灌流標本においてRVLMニューロンに対するGABA作

動性神経からの入力抑制は心臓・血管交感神経の呼吸性活動を増強する、第90回日本生理学会大会、2013年3月27-29日、タワーホール船橋、横浜

- ⑤ 小金澤禎史、心臓・血管交感神経の呼吸性リズムと交感神経プレモーターニューロンへの抑制性入力の関係性、第40回自律神経生理研究会、2012年12月1日、日本光電、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小金澤 禎史 (KOGANEZAWA TADACHIKA)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：80432691