

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08171

研究課題名(和文)呼吸循環連関に關する脳内ネットワークの解明：本態性高血圧の原因とは？

研究課題名(英文) Investigation into neural network of cardiorespiratory interactions

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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題において、高血圧モデルラットでは、交感神経の呼吸性活動の増強が見られ、この呼吸性活動の増強は、吸息相においてみられる循環調節中枢ニューロン(RVLMニューロン)の過分極の減弱によってもたらされていることが明らかとなった。さらに、このRVLMニューロンの吸息相依存的な過分極成分の減弱は、RVLMニューロンへの興奮性入力の前進によりもたらされていることが示唆された。また、RVLMニューロンへの正常呼吸における呼吸性活動調節には、硫化水素合成酵素による内因性硫化水素の合成が必須であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：This project demonstrated that in hypertensive rats, reduction of inspiratory hyperpolarization on the cardiovascular sympathetic premotor neurons (RVLM neurons) enhances respiratory activity of the cardiovascular sympathetic nerve. And, the reduction of inspiratory hyperpolarization on RVLM neurons is caused by activation of excitatory inputs to the RVLM neurons. Moreover, the respiratory modulation into RVLM neurons in eupnea is maintained by endogenous hydrogen sulfide which is produced by hydrogen sulfide synthase.

研究分野：自律神経生理

キーワード：循環調節 高血圧 交感神経 呼吸循環連関

## 1. 研究開始当初の背景

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機構を再検討する必要がある。

*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0ニューロン (RVLMニューロン) からも自発的な活動を同時に記録でき、RVLMを破壊すると、心臓・血管運動交感神経の緊張性放電が消失する。このことから、心臓・血管交感神経の自発的な活動は、RVLMニューロンの自発性放電に起因するものであり、RVLMニューロンは心臓・血管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心臓・血管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。

近年、高血圧モデル動物において、呼吸活動自体は正常であるにも関わらず、呼吸のリズムと同期した心臓・血管交感神経活動が増強されていることが報告されており、このことは、脳内での呼吸-循環連関の異常が高血圧を惹起している可能性を示唆している。また、特筆すべきことに、この高血圧モデル動物においては、成熟期での高血圧の発症に先行して、新生児期における心臓・血管交感神経活動の亢進が観察される。

すなわち、高血圧モデル動物や高血圧患者においては、橋・延髄内に広く分布している呼吸中枢からRVLMニューロンへの興奮性の駆動力が増強しており、これにより、呼吸活動に同期した心臓・血管交感神経活動も高まり、末梢血管抵抗の増大および心機能亢進による恒常的な血圧上昇がもたらされている可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、心臓・血管交感神経活動にみられる呼吸性リズムに着目し、呼吸中枢と心臓・血管運動調節中枢の間のニューロンネットワークを詳細に解析し、なぜ、心臓・血管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のかについて、その本態を解明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、正常ラットまたは自然発症型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、ブライント

パッチクランプによる膜電位測定により行った。また、RVLMニューロンの脊髄への投射を確認するために、脊髄背外側索の電気刺激に対する逆行性スパイクの有無を確認した。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。交感神経およびRVLMニューロンの呼吸性活動調節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、RVLMニューロンの発火頻度および膜電位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 (GABA<sub>A</sub>受容体拮抗薬)、ストリキニン (グリシン受容体拮抗薬)、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。硫化水素の合成阻害は、硫化水素合成酵素 (cystathionine  $\beta$ -synthase; CBS) 阻害薬ハイドロキシラミンの灌流液中への投与による行った。

## 4. 研究成果

### (1) 交感神経およびRVLMニューロンの呼吸性活動

正常ラットと自然発症型高血圧ラットの交感神経の呼吸性活動を比較したところ、自然発症型高血圧ラットにおいて、吸息相における呼吸性活動の有意な増強が見られた。したがって、これまでの報告同様、正常ラットと比較して、自然発症型高血圧ラットでは交感神経の呼吸性活動が増強しており、これが高血圧をもたらしている可能性が確認された。さらに、RVLMニューロンに対する呼吸性入力をパッチクランプ記録による膜電位測定により確認したところ、正常ラットにおいてみられる吸息相依存的過分極が、自然発症型高血圧ラットでは減弱していることが明らかとなった。このことは、吸息相におけるRVLMニューロンの過分極の減弱が、交感神経の呼吸性活動を亢進させ、その結果として、高血圧がもたらされている可能性を示唆している。

### (2) RVLMニューロンの呼吸性活動と抑制性入力の関連性

正常ラットと自然発症型高血圧ラットの交感神経の呼吸性活動とRVLMニューロンに対する抑制性入力の関係性を明らかにするために、RVLMニューロンに対する抑制性入力を遮断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、正常ラットにおいて、GABA<sub>A</sub>受容体遮断薬ビククリンまたはグリシン受容体遮断薬ストリキニンのRVLMへの投与は、交感神経活動を全体的に上昇させた (図1, 2)。特に、交感

神経の吸息相にみられる呼吸性活動を有意に増加させた(図3、4)。さらに、自然発症型高血圧ラットにおけるビククリンまたはストキニンのRVLMへの投与においても、同様に、交感神経活動は全体的に有意に上昇し(図5、6)、交感神経活動の吸息相にみられる呼吸性活動は有意に増加した(図7、8)。また、ビククリンまたはストリキニンのRVLMへの投与による交感神経活動の全体的な活動および呼吸性活動の増加の程度に、正常ラットと自然発症型高血圧ラットの間で有意な差はみられなかった。ゆえに、RVLMニューロンのパッチクランプ記録でみられた自然発症型高血圧ラットにおけるRVLMニューロンの吸息相における過分極の減弱は、RVLMニューロンへの抑制性入力への減弱によるものではなく、呼吸相依存的な興奮性入力の亢進によるものであると考えられる。したがって、高血圧ラットにみられる交感神経の呼吸性活動の亢進は、RVLMニューロンへの吸息相における興奮性入力の増強に基づくものであることが示唆された。このことは、呼吸性の交感神経活動の異常亢進に基づく高血圧の本態解明において、非常に重要な知見であると考えられる。

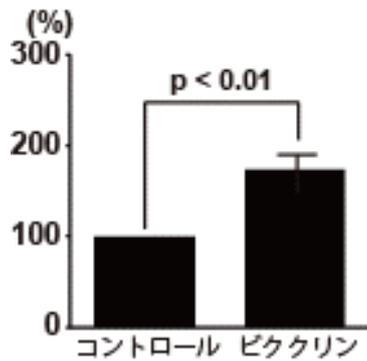


図1 正常ラットにおけるGABA<sub>A</sub>受容体遮断薬ビククリン投与前(コントロール)および投与後(ビククリン)の交感神経の全体的な活動の変化

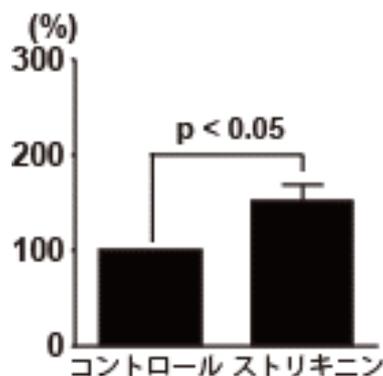


図2 正常ラットにおけるグリシン受容体遮断薬ストリキニン投与前(コントロール)および投与後(ストリキニン)の交感神経の全体的な活動の変化

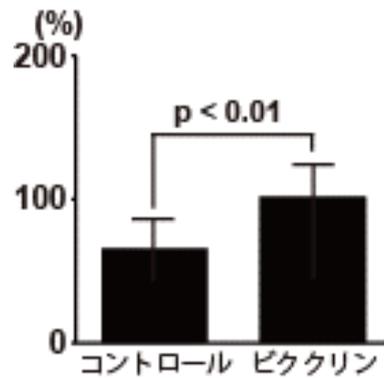


図3 正常ラットにおけるGABA<sub>A</sub>受容体遮断薬ビククリン投与前(コントロール)および投与後(ビククリン)の交感神経の呼吸性活動の変化

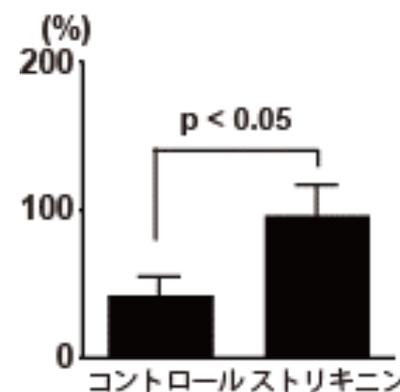


図4 正常ラットにおけるグリシン受容体遮断薬ストリキニン投与前(コントロール)および投与後(ストリキニン)の交感神経の呼吸性活動の変化

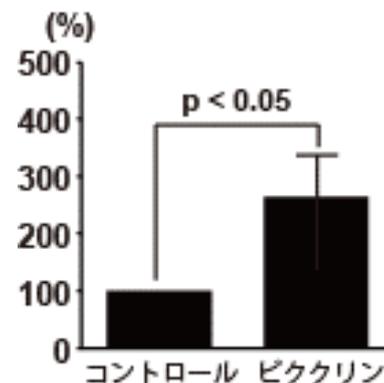


図5 自然発症型高血圧ラットにおけるGABA<sub>A</sub>受容体遮断薬ビククリン投与前(コントロール)および投与後(ビククリン)の交感神経の全体的な活動の変化

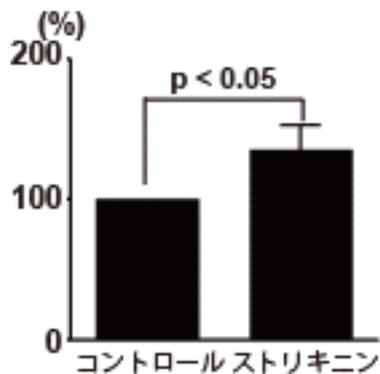


図6 自然発症型高血圧ラットにおけるグリシン受容体遮断薬ストリキニン投与前（コントロール）および投与後（ストリキニン）の交感神経の全体的な活動の変化

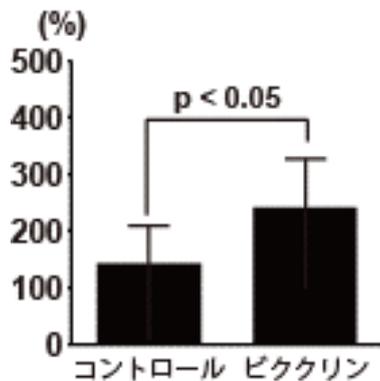


図7 自然発症型高血圧ラットにおけるGABA<sub>A</sub>受容体遮断薬ピククリン投与前（コントロール）および投与後（ピククリン）の交感神経の呼吸性活動の変化

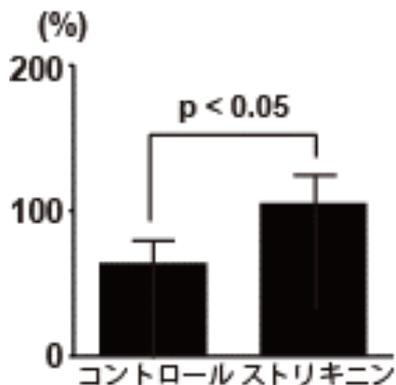


図8 自然発症型高血圧ラットにおけるグリシン受容体遮断薬ストリキニン投与前（コントロール）および投与後（ストリキニン）の交感神経の呼吸性活動の変化

### (3) 硫化水素合成酵素の抑制に対する呼吸活動の変化

さらに交感神経活動の呼吸性活動の成因を詳細に解析する上で、交感神経の呼吸性活動を動的に変化させる方法を見出すために、硫化水素合成酵素の阻害による呼吸活動への影響を検討した。その結果、硫化水素合成酵素のうち、CBSの阻害薬であるハイドロキシラミンの存在下において、横隔神経は

Gasping様の呼吸活動を示した。また、その際、交感神経活動からは横隔神経活動に同期した吸息相特異的な活動が観察された。したがって、通常交感神経の呼吸性活動の維持には、CBSを介した脳内の硫化水素の合成が必須であることが示唆され、硫化水素の合成を調節することで、交感神経の呼吸性調節を実験的に変化させることが可能であることが示された。今後、本手法を利用することにより、RVLMニューロンの呼吸性調節様式をさらに詳しく解析できる可能性がある。

### (4) 結論

自然発症型高血圧ラットでは、交感神経の呼吸性活動の増強が見られ、この呼吸性活動の増強は、吸息相においてみられるRVLMニューロンの過分極の減弱によってもたらされていることが明らかとなった。さらに、このRVLMニューロンの吸息相依存的な過分極成分の減弱は、RVLMニューロンへの興奮性入力亢進によりもたらされていることが示唆された。このことは、心臓・血管交感神経活動の異常亢進に基づく高血圧疾患の本態解明につながるものと考えられる。今後、RVLMニューロンへの呼吸相依存的興奮性入力亢進の詳細をさらに明らかにする必要があるが、その際の一つの方法として、硫化水素合成酵素の阻害により、いかにRVLMニューロンへの呼吸性入力が動的に変化するのかを詳細に解析する有用な方法を得ることができた。

### 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計2件)

- ① 小金澤禎史、大部千夏、魚津沙織、ラット経血管灌流標本において内因性ATPはRVLMニューロンの低酸素に対する興奮性応答を抑制的に調節する、第95回日本生理学会大会、2018年3月28-30日、高松
- ② 小金澤禎史、魚津沙織、ラットの経血管灌流標本において硫化水素産生系の抑制はgaspingを誘発する、第93回日本生理学会大会、2016年3月22-24日、札幌

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

小金澤 禎史 (KOGAEZAWA, Tadachika)  
 筑波大学・医学医療系・助教  
 研究者番号：80431691