

令和 2 年 4 月 23 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09729

研究課題名(和文) 血圧変動性増大の動物モデルの同定と病態解明および治療手段の探索

研究課題名(英文) Development of animal models, identification of the mechanisms, and experimental therapeutics for augmented blood pressure variability

研究代表者

加藤 丈司 (Kato, Johji)

宮崎大学・フロンティア科学総合研究センター・教授

研究者番号：20274780

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)：血圧変動性の増大と心血管疾患の関連が指摘されていることから、本研究では、血圧変動性増大の病態生理解析と治療手段探索を目指して動物モデルの同定を試みた。その結果、アンジオテンシン II (Ang II) およびノルアドレナリン (NA) のラットへの持続投与により、血圧日内変動性の増大が生じることが明らかになり、それぞれ、AT1受容体および $\alpha 1$ 受容体を介した作用と考えられた。レニン・アンジオテンシン系や交感神経系の持続的な活性上昇が、血圧変動性増大の原因となる可能性が示唆され、これらのラットは、変動性増大の病態生理や薬剤効果の解析に有用な動物モデルであることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血圧測定値の変動(動揺)が増大すると、心血管疾患リスクが上昇する。しかし、血圧変動性を小さくする治療が、疾患リスクを低下させるかは明らかでなく、有効な治療方法も明確ではない。これらの課題を解決するためには、血圧変動性増大の動物モデル実験系の開発が必要と考え、本研究を実施した。その結果、2種類のモデルを開発できたので、今後、有効な治療方法を見出す研究展開が可能となった。

研究成果の概要(英文)：Because augmented blood pressure variability (BPV) is associated with cardiovascular and renal diseases, the present study was performed to develop animal model of augmented BPV. When infused continuously into rats, angiotensin II (Ang II) and noradrenalin (NA) increased 24h BPV in rats through AT1 and α -1 receptors, respectively. This finding suggests that persistent activation of the renin-angiotensin and sympathetic nervous systems increases BPV, and rats continuously infused with Ang II or NA can be used as models of augmented BPV for studying the pathophysiology and pharmacotherapy of augmented BPV.

研究分野：心血管内科学

キーワード：血圧変動性増大 動物モデル レニン・アンジオテンシン系 交感神経系

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

高血圧は、重要な心血管危険因子であるが、最近、短時間から長時間までの様々な時間軸における血圧値の動揺（血圧変動性）の増大が、高血圧とは独立した危険因子である可能性が、国内外の臨床研究により示されている。血圧変動性の増大は、心不全や腎不全の増悪と関連し、認知症との関係も指摘されている。一般に加齢に伴い、血圧レベルと心血管疾患の関係性が薄れるが、その背景因子として、高齢者における血圧変動性の増大が想定されている。しかし、血圧変動性増大の機序解明や病態生理の理解が不十分であり、変動性増大を伴った高血圧や心血管・腎臓疾患の治療戦略が明確にされていない。その要因の一つは、病態解析や治療手段探索のための適切な動物モデルに乏しいことである。

最近、本研究代表者らは、血圧変動性増大の病態解析や治療手段探索を目的として、動物モデルの開発・同定を試みてきた。その過程で、アンジオテンシン II（Ang II）持続投与ラットでは、血圧上昇のみでなく、24 時間の血圧日内変動が増大することを明らかにし、変動性増大の病態や治療方法を解析するための有用な動物モデルであることを報告した（*Am J Hypertens* 2016；特許第 6583608 号）。一方、高血圧モデルとして汎用されている高血圧自然発症ラット（SHR）では、対照群の WKY と比較して、血圧上昇にもかかわらず変動性増大は全く観察されなかった。すなわち、Ang II 持続投与ラットの血圧変動性増大の機序として、血圧非依存性のメカニズムの存在を示唆している。

Ang II 持続投与により、血圧変動性が増大することは、レニン・アンジオテンシン系（RA 系）の活性亢進が、変動性増大と関連していることを示唆している。一方、RA 系と同様に、交感神経系は、昇圧・体液貯留系として重要な役割を有している。交感神経活性の日内変動は、24 時間血圧日内変動を規定する因子であり、たとえば、早朝の交感神経活性の上昇は、いわゆるモーニングサージを引き起こす。しかし、持続的な交感神経活性の上昇が、血圧変動性に及ぼす影響は不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、血圧変動性の増大について、①：適切な動物モデルの同定と評価を行う、②：機序と病態生理を解明する、③：降圧薬の有用性を含めた治療介入手段を探索する。これらの研究により、血圧変動性増大を合併した高血圧および高血圧関連疾患（心血管疾患、腎疾患、認知症等）の治療向上のための基盤的データを提供することを目的とした。

これらの目的達成を目指して、本研究では、最近、代表者らが、血圧変動性増大のモデル実験系として開発した、Ang II 持続投与ラットを用いて、変動性増大の機序解析、および治療薬探索の実験を行った（研究Ⅰ）。つぎに、交感神経活性の持続的亢進と血圧日内変動の関連を解析することを目的に、ラットにノルアドレナリン（NA）を、持続的に投与して、血圧変動性の変化を観察した。

3. 研究の方法

（研究Ⅰ）

9 週齢の雄性 Wistar ラットを対象に、慢性実験テレメトリーシステムを用いて、無麻酔無拘束下に血圧と心拍数をモニターした。ヒト 24 時間自由行動下血圧測定（ABPM）に準じて、15 分毎に 10 秒間血圧を計測して、平均値をその時点の血圧値とし、24 時間 96 ポイントの血圧変動性を変動係数（CV）にて評価した。14 日間の Ang II（240 pmol/kg/min）持続皮下投与群、Ang II+ロサルタン（30 mg/kg/day）経口投与群、Ang II+ヒドララジン（20 mg/kg/day）経口投与群、Ang II+アゼルニジピン（10 および 30 mg/kg/day）経口投与群と対照群の 6 群を作成した。

（研究Ⅱ）

研究Ⅰと同様に、9 週齢の雄性 Wistar ラットを対象に、テレメトリーシステムを用いて、無麻酔無拘束下に血圧変動性を CV にて評価した。14 日間の NA（30 µg/h）持続皮下投与群、NA+プラazosin（5 mg/day）経口投与群、NA+アテノロール（50 mg/day）経口投与群、対照群の 4 群を作成して比較した。また、14 日間のフェニレフリン（150 µg/h）とイソプロテレノール（30 µg/h）持続皮下投与群を作成して観察した。

4. 研究成果

1) 実験結果

（研究Ⅰ）

本研究代表者らの以前の報告（*Am J Hypertens* 2016）と同様に、Ang II 持続投与群では、7

日および 14 日後の平均収縮期 (SBP) が、対照群と比較して有意に上昇し、SBP の CV も 2 倍以上に増加した (図 1 A)。拡張期血圧 (DBP) および DBP の CV も同様に上昇した。Ang II + ロサルタン経口投与群では、血圧および CV の上昇が有意に抑制された。同様に、Ang II + アゼルニジピン (10、30 mg/kg/day) 経口投与群では、血圧および血圧値 CV が有意に低下したが (図 1 B)、Ang II + ヒドララジン経口投与群では、血圧は有意に低下したが、Ang II による血圧値 CV の増大は抑制されなかった (図 1 C)。ロサルタンおよびアゼルニジピン 30 mg/kg/day 投与は、Ang II による心肥大 (心重量/体重比) を有意に抑制したが、ヒドララジンでは、明らかな抑制効果が見られなかった。

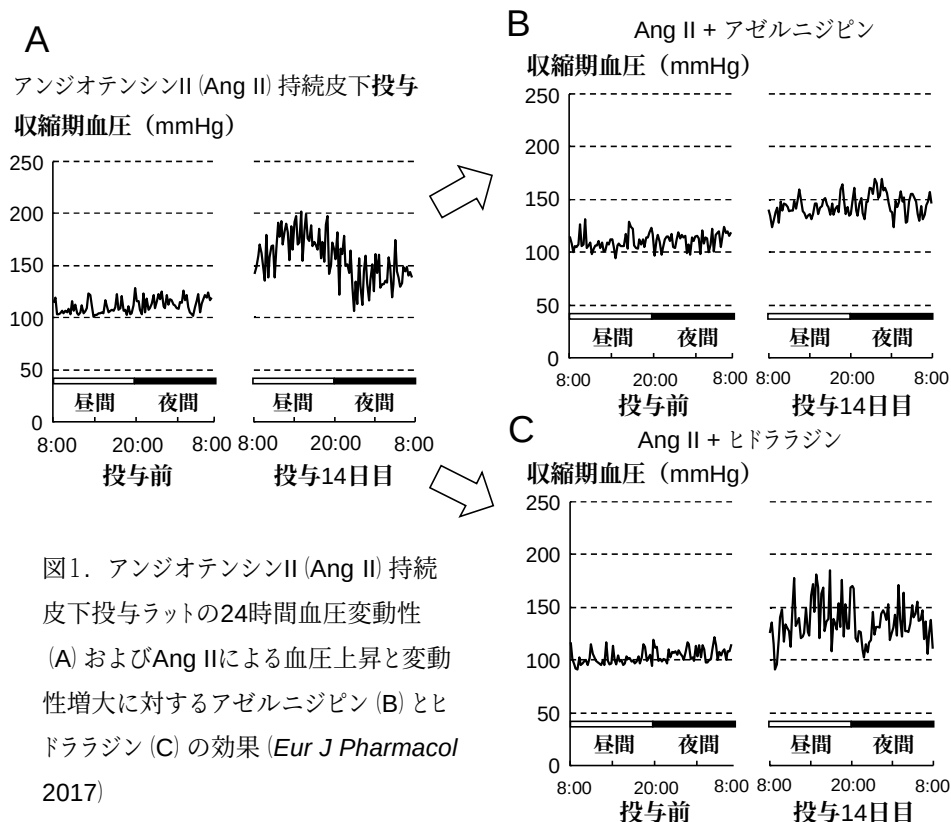


図1. アンジオテンシンII (Ang II) 持続皮下投与ラットの24時間血圧変動性 (A) およびAng IIによる血圧上昇と変動性増大に対するアゼルニジピン (B) とヒドララジン (C) の効果 (*Eur J Pharmacol* 2017)

(研究II)

NA 持続投与群では、7 日および 14 日後の収縮期血圧 (SBP) および SBP の CV が、対照群と比較して有意に増大し (図 2)、拡張期血圧 (DBP) および DBP の CV も同様に上昇した。NA + プラズシン経口投与群では、SBP と DBP の CV が投与 7 日または 14 日後に、部分的に有意に低下した。NA + アテノロール経口投与群では、心拍数は有意に低下したが、NA の持続投与による CV の増大は抑制されなかった。一方、フェニレフリン投与群では、7 日および 14 日後の SBP と DBP は、対照群と比較して軽度上昇し、CV は有意に増大した。イソプロテレンール投与群では、対照群と比較して心拍数は有意に上昇したが、血圧と CV には変化がなかった。

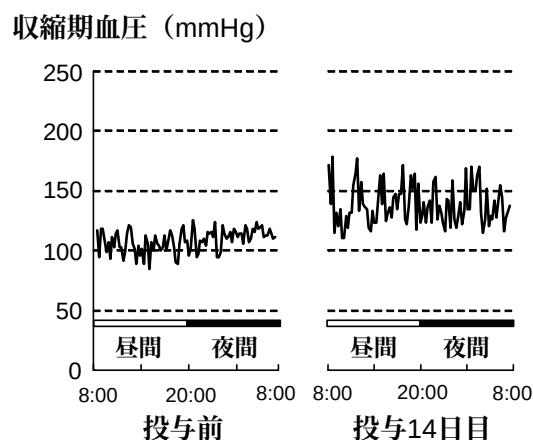


図2. ノルアドレナリン (NA) 持続皮下投与によるラット24時間血圧日内変動の増大 (*J Hypertens* 2020)

2) 結果の考察

Ang II および NA のラットへの持続投与により、24 時間血圧変動性の増大が生じることが明らかになった。Ang II による血圧変動性増大は、ロサルタンにより抑制されたことから、AT1 受容体を介した作用と考えられた。一方、NA 持続投与 (30 μ g/h) により、血圧上昇が軽度 (平均収縮期血圧: 129 mmHg) であるにもかかわらず、有意かつ明確な血圧変動性増大を生じた。NA による血圧変動性増大は、プラゾシンにより部分的に抑制されたが、アテノロールでは抑制されなかった。また、フェニレフリン投与により、NA 投与と同様の血圧変動性増大が観察されたが、イソプロテレノール投与では、心拍数の増加にもかかわらず、変動性増大が観察されなかった。以上より、NA 持続投与による血圧変動性増大は、 α 1 受容体を介した作用と考えられた。

本研究の結果は、RA 系や交感神経系の持続的な活性上昇が、血圧変動性増大の原因となりうることを示唆しており、これらのラットは、24 時間血圧変動性増大の病態生理や薬剤効果の解析に有用なモデルであると思われる (特許取得: 特許第 6583608 号、特許出願: 特願 2019-077536)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Jiang Danfeng, Kawagoe Yukiko, Asada Yujiro, Kitamura Kazuo, Kato Johji	4. 巻 38
2. 論文標題 Augmented blood pressure variability following continuous infusion of noradrenaline in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 314～321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/HJH.0000000000002239	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Tsuruda T, Kato J, Kuwasako K, Kitamura K	4. 巻 111
2. 論文標題 Adrenomedullin: Continuing to explore cardioprotection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 47-54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.peptides.2018.03.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Jiang D, Kawagoe Y, Kuwasako K, Kitamura K, Kato J	4. 巻 806
2. 論文標題 Inhibitory effects of losartan and azelnidipine on augmentation of blood pressure variability induced by angiotensin II in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Eur J Pharmacol	6. 最初と最後の頁 91-95
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2017.04.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Kato J, Kawagoe Y, Jiang D, Kuwasako K, Shimamoto S, Igarashi K, Tokashiki M, Kitamura K	4. 巻 31
2. 論文標題 Plasma levels of natriuretic peptides and year-by-year blood pressure variability: a population-based study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Hum Hypertens	6. 最初と最後の頁 525-529
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/jhh.2017.14	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Sekiguchi T, Jiang D, Murakami M, Hattori Y, Kato J	4. 巻 487
2. 論文標題 β-arrestins negatively control human adrenomedullin type 1-receptor internalization	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 438-443
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.04.083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Ohno H, Yoshida M, Sato T, Kato J, Miyazato M, Kojima M, Ida T, Iino Y	4. 巻 6
2. 論文標題 Luqin-like RYamide peptides regulate food-evoked responses in C. elegans	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e28877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.28877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 —

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 2件／うち国際学会 0件)

1. 発表者名 姜 丹鳳、川越由紀子、北村和雄、加藤丈司
2. 発表標題 長期的ノルアドレナリン持続投与は血圧日内変動を増大させる
3. 学会等名 第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 姜 丹鳳、加藤丈司
2. 発表標題 血圧変動性増大の動物モデル作成による病態生理学および薬理学的解析
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 姜 丹鳳、川越由紀子、北村和雄、加藤丈司
2. 発表標題 ノルアドレナリン（NA）持続投与による血圧変動性増大
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北村和雄、永田さやか、北 俊弘、加藤丈司
2. 発表標題 アドレノメデュリン（AM）とAM誘導体の新規降圧薬としての可能性
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤丈司
2. 発表標題 降圧系生理活性ペプチドの臨床的意義：地域住民健診から得られた知見
3. 学会等名 第55回日本循環器病予防学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 姜丹鳳、川越由紀子、桑迫健二、北村和雄、加藤丈司
2. 発表標題 アンジオテンシンII（Ang II）持続投与による血圧変動性増大に対する長時間作用型ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬（CCB）と利尿薬の効果の比較
3. 学会等名 第22回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 姜丹鳳、川越由紀子、桑迫健二、北村和雄、加藤丈司
2. 発表標題 血圧変動性増大に対する長時間作用型ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬と利尿薬の効果の比較:ラットモデルによる検討
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤丈司
2. 発表標題 新たな心血管危険因子・血圧変動性増大の治療薬探索のための動物モデルの開発
3. 学会等名 LIP横浜オープンイノベーションカンファレンスII
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 姜丹鳳、加藤丈司
2. 発表標題 血圧変動性増大に対する降圧薬の効果の比較：動物モデルを用いた解析
3. 学会等名 第30回血圧管理研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤丈司、川越由紀子、姜丹鳳、桑迫健二、渡嘉敷真理子、北村和雄
2. 発表標題 血中ナトリウム利尿ペプチド（ANP、BNP）レベルと長期血圧変動性の関連
3. 学会等名 第21回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 姜丹鳳、渡嘉敷真理子、川越由紀子、桑迫健二、北村和雄、加藤丈司
2. 発表標題 血圧変動性増大の動物モデルと病態薬理学的解析
3. 学会等名 第53回高血圧関連疾患モデル学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、姜 丹鳳、加藤丈司
2. 発表標題 G 蛋白共役型受容体 (GPCR) を制御するシグナル分子、GPCR キナーゼと β -アレスチンの1型アドレノメデュリン (AM) 受容体の細胞内輸送機構における新規作用
3. 学会等名 第40回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤丈司、姜丹鳳、桑迫健二、渡嘉敷真理子、北村和雄
2. 発表標題 地元自治体健診における過去24年間の高血圧および心血管危険因子コントロール状況と高血圧対策の今後の課題
3. 学会等名 第40回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤丈司、桑迫健二、北村和雄
2. 発表標題 地元自治体における24年間の健診結果の解析と今後の課題
3. 学会等名 第6回臨床高血圧フォーラム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 血圧変動増大の治療薬探索のための動物モデル	発明者 加藤丈司、姜丹鳳	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-077536	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

宮崎大学フロンティア科学総合研究センター生体活性物質探索病態解析ホームページ http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/peptides/katou/jp/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	桑迫 健二 (Kuwasaki Kenji) (20381098)	宮崎大学・フロンティア科学総合実験センター・准教授 (17601)	