

## 論文の内容の要旨

論文題目 Sympatho-inhibitory effect of adrenomedullin in the brain on  
salt-sensitive hypertension

和訳 (食塩感受性高血圧に対する脳内アドレノメデュリンの  
中枢性交感神経抑制効果)

指導教官 藤田敏郎 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 12年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 藤田恵

私の所属研究室では以前より中枢性機序による交感神経活動の亢進が関与している可能性を示してきた。幼若の高血圧自然発症ラット (SHR) で高食塩食負荷により血圧がさらに上昇することが知られているが、これは腎交感神経活動の増大や、動脈圧受容器反射の減弱を伴っていた。交感神経の中樞特性を評価する目的で、大動脈神経を直接電気刺激した際の腎交感神経活動を測定すると、その反応はやはり減弱しており食塩感受性高血圧では中枢神経に異常を来していることが確認された。我々以外にも、Wyss らは食塩感受性高血圧ラットの前部視床下部における中枢性交感神経活動の調節が障害されているという成績を報告している。このように、食塩感受性高血圧には中枢神経が重要な関与

をしているものと考えられる。

食塩感受性高血圧を呈する SHR や Dahl rat では高食塩食摂取により、脳脊髄液中のナトリウム濃度が上昇するという報告がある。高張食塩水の脳室内投与は交感神経活動の亢進を介して血圧を上昇させるので、このメカニズムを解明することにより食塩感受性高血圧の中枢性昇圧機序を推測しようとの立場がある。

一方、食塩感受性高血圧の病態において活性酸素種が重要な働きを担っている可能性が言われている。さらに近年、末梢血管や腎臓における作用のみならず、酸化ストレスが交感神経活動を介する血圧調節に関与している可能性を示す成績が散見されるようになった。Takatomi らは SHR に対し抗酸化剤である Tempol を静脈投与すると血圧、心拍数、交感神経活動が低下することを示している。

そこで私は抗酸化作用を有する生理活性ペプチドであるアドレノメデュリン (Adrenomedullin; AM) に着目した。AM は末梢において降圧作用を呈し、循環調節に関与していることが明らかになっているが、最近臓器保護としての抗酸化作用に注目が集まっている。さらに末梢のみならず中枢神経系 (CNS) にも存在し、代謝循環調節に関わっている可能性が報告されている。以上の背景をまとめると、①中枢性機序による交感神経活動亢進が、食塩負荷による血圧上昇を説明する因子の一つである、②高張食塩水の脳室内投与は交感神経活動の亢進を介して血圧を上昇させる、③食塩感受性高血圧の病態において活性酸素種が重要な働きを担っている、④活性酸素が交感神経活動の亢進を介して高血圧の進展に寄与している、⑤抗酸化作用を有する生理活性ペプチドである AM は末梢のみならず中枢神経系にも存在し、循環調節系に関わっている、という5点になる。これらを踏まえ、AM が中枢においても抗酸化作用を発揮し、さら

には交感神経活動を抑制する方向に働いているのではないかという仮説を立てた。本研究では、食塩感受性高血圧において脳内 AM が抗酸化作用により中枢神経系に影響し、交感神経活動を介した血圧調節に寄与している可能性を検討した。

実験動物として普通食 (0.6%) もしくは高食塩食 (8%) で4週間飼育した4~8ヶ月齢の雄 AM ノックアウトマウス (KO) および野生型マウス (WT) を用いた。AM(-/-) は胎生致死だったため、AM(+/-)に対し実験を行った。ウレタン麻酔下に各群マウスの気管、大腿動静脈、側脳室にカテーテルを挿入し、脳定位固定装置に固定、pancuronium bromide 投与により筋弛緩させ人工呼吸下に大内臓神経を露出、双極電極上に留置し、人工脳脊髄液もしくは高張食塩水 (0.3, 1.5 M) の側脳室投与時の血圧、心拍数、神経活動の変化を記録した。また、抗酸化剤の Tempol を側脳室に前投与した後 1.5 M 高張食塩水投与を行い同様に反応を観察した。更に別のマウスを用い、イソフルレン吸入麻酔下で手術後、麻酔からの回復を 2 時間待った後無麻酔無拘束の状態を高張食塩水 (0.3-1.5 M) を側脳室に投与し、血圧、心拍数の変化を測定した。高張食塩水曝露時の摘出マウス脳が産生する活性酸素量を、lucigenin を用いた化学蛍光発光法により測定した。また各群マウス脳の AM 含量を radioimmuno assay 法を用いて測定した。

普通食マウスでは、高張食塩水投与により血圧は用量依存性に上昇し、その上昇率は KO (0.3 M:  $13.2 \pm 3.1\%$ , 1.5 M:  $22.0 \pm 2.7\%$ ) と WT (0.3 M:  $10.9 \pm 2.0\%$ , 1.5 M:  $19.1 \pm 3.1\%$ ) の間に有意差は認められなかった。高食塩食では、KO における血圧上昇率 (0.3 M:  $22.5 \pm 2.7\%$ , 1.5 M:  $35.5 \pm 5.7\%$ ) は、WT (0.3 M:  $13.2 \pm 1.2\%$ , 1.5 M:  $20.0 \pm 2.1\%$ ) よりも有意に大きかった ( $p < 0.05$ )。高食塩食 KO における血圧の用量反応曲線は他の3群と比較し有意に上方にシフトしていた (Figure 1. 左)。血圧と同様、高張食塩水投与により交感神経活動も用量依存性に上昇し、その上昇率は高食塩食 KO において

他の3群よりも有意に大きかった (Figure 1. 右)。無麻酔無拘束のマウスにおいても血圧反応は同様の結果を示した。高張食塩水による血圧、交感神経活動の上昇は Tempol の前投与により抑制され、十分量の Tempol 投与後においては KO においても大きく抑制された。KO 脳において、高張食塩水投与に対する活性酸素産生量は WT と比較し有意に大きかった。脳の AM 含量は、WT も KO も普通食に比較し高食塩食群で有意に増加していたが、高食塩食 KO では高食塩食 WT に比較し有意に少なく、血圧や交感神経活動と逆相関を示した。

以上の結果より、脳内 AM は抗酸化作用により CNS に影響し、交感神経活動抑制を介して食塩感受性高血圧に対する拮抗因子の一つとして働く可能性がある」と結論された。

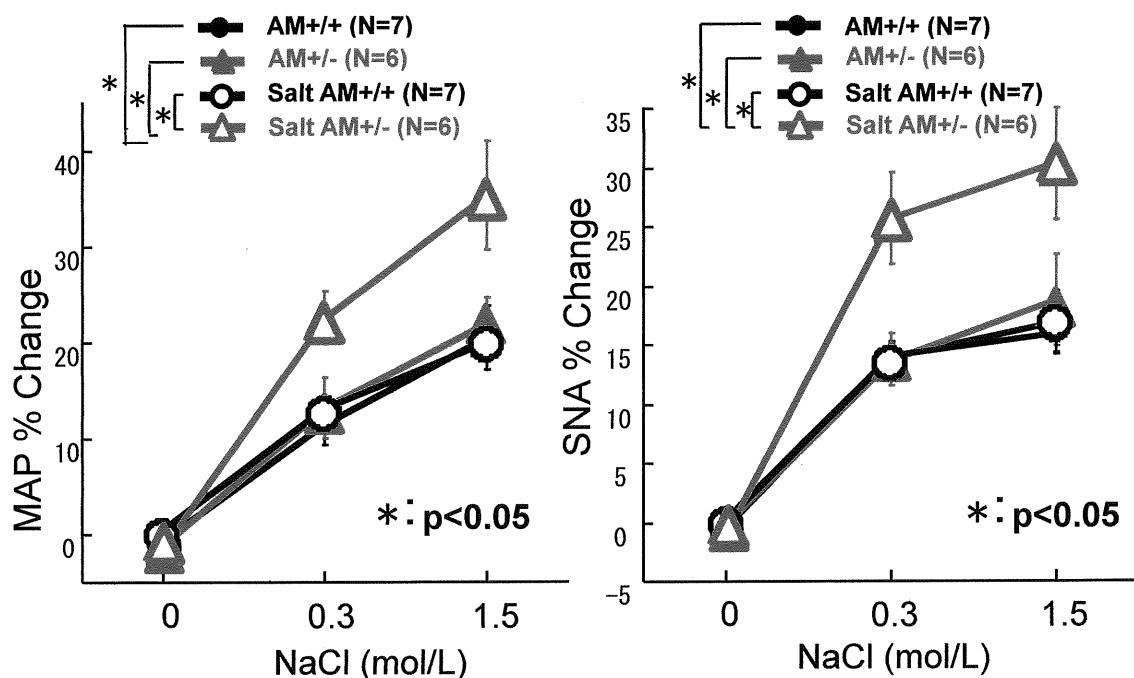


Figure 1. 麻酔下マウスにおける高張食塩水側脳室投与の平均血圧 (MAP)、交感神経活動 (SNA) への影響のまとめ