

圧負荷心肥大における食塩感受性獲得機構としての炎症性サイトカインを介した交感神経活性化機構の解明

廣岡 良隆, 伊藤 浩司, 甲木 雅人, 中野 正紹

九州大学大学院医学研究院先端循環制御学講座

概要 高血圧および高血圧性心肥大は心不全発症の基礎疾患として最も多く、入院を繰り返し、高齢化社会を迎えその対策はますます重要になっている。また、高血圧、心不全ではうつ病を合併することが多く、両者をつなぐ鍵となる共通点として交感神経活性化が生じていることが知られている。我々は、圧負荷心肥大モデルにおいて食塩負荷を行うと交感神経活性化が生じ、心肥大から心不全発症へつながることを報告してきた。そこで、本研究では、高血圧性心肥大ラットに食塩を負荷した際に交感神経活性化が生じる機序として、炎症性変化が脳内鉱質コルチコイド(MR)の活性化を介しているか否かを明らかにすることを目的に研究を行った。脳卒中易発症自然発症高血圧ラット(SHRSP)に8%食塩負荷を2週間行い、血圧、交感神経活性、炎症性サイトカイン、MRおよびMR活性化の指標であるSgk1の発現レベルを測定した。その結果、血圧、交感神経活性化が認められ、血漿IL-1 β 増加が認められた。さらに、脳内視床下部でTNF- α 、IL-1 β 、IL-6の発現増加が認められた。また、脳内視床下部のMR自体の発現レベルは変わらなかったが、Sgk1発現は増加していた。選択的MR阻害薬であるeplerenoneを全身投与すると食塩負荷に伴う昇圧や交感神経活性化は抑制された。同時に脳内視床下部サイトカインレベル、MR活性化(Sgk1発現レベル)も抑制された。以上の成績は、高血圧モデルにおける食塩負荷による交感神経活性化に脳内視床下部炎症性サイトカイン増加、MR活性化が関与していることを示唆する。

1. 研究目的

高血圧および高血圧性心肥大は心不全発症の基礎疾患として最も多く、入院を繰り返す。また、うつ病を合併した心不全患者の予後はきわめて不良であることが疫学的にも示され注目されている¹⁻³⁾。我々は圧負荷による高血圧性心肥大モデルにおける食塩感受性獲得機構に伴う交感神経活性化が心不全発症に関わっていることを見出した⁴⁾。そして、この活性化機構に脳内鉱質コルチコイド受容体(MR)／上皮型Naチャンネル(ENaC)の活性化が関与していること、このモデルで心不全発症に伴いうつ病と関連するシグマ受容体発現が低下していることを見出した^{5,6)}。これらの成績は高血圧性心肥大患者における食塩感受性亢進による交感神経活性化がMR活性化を介して、心不全発症やうつ病の合併に関与している可能性を示唆する。

全身の炎症性サイトカイン増加により、脳内のサイトカイン

が増加することが知られている⁷⁾。脳内サイトカインの増加は交感神経系を活性化する^{8,9)}。しかし、その機序はよく理解されていない。本研究では、圧負荷心肥大高血圧モデルにおいて、どのようにして食塩感受性を獲得するのかについて、循環血液中ホルモンや神経性リンクによって炎症性サイトカインが関与しているか否かについて明らかにすることを目的に研究を行った。

2. 研究方法

実験には高血圧モデルである脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット(SHRSP)および大動脈にバンディングを施行し食塩負荷を行う圧負荷心肥大マウスを使用した。

SHRSPに8週間食塩負荷(8%)を行い、その経過中の血圧(テールカフ法)、前後での交感神経活性化の評価(尿中ノルエピネフリン排泄量)測定、血中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 測定(ELISA法)、脳視床下部におけるTNF- α 、

IL-6、IL-1 β 、MR、Sgk1 発現を Western blot 法で評価した。また、別の群として MR 阻害薬である eplerenone を経口投与 (100 mg/kg/day) を食塩負荷と同時に 2 週間行い同様の検討を行った。

3. 研究結果

3.1 食塩負荷 SHRSP における血圧の変化および交感神経活性の変化

SHRSP に食塩負荷を行うと著明な血圧上昇が認められた。しかし、eplerenone を経口投与しておくとその血圧上昇は明らかに抑制された (Fig. 1)。SHRSP は対照正常血圧ラットに比べると交感神経活性化が生じていることが知られている。食塩を負荷するとさらなる交感神経活性化が

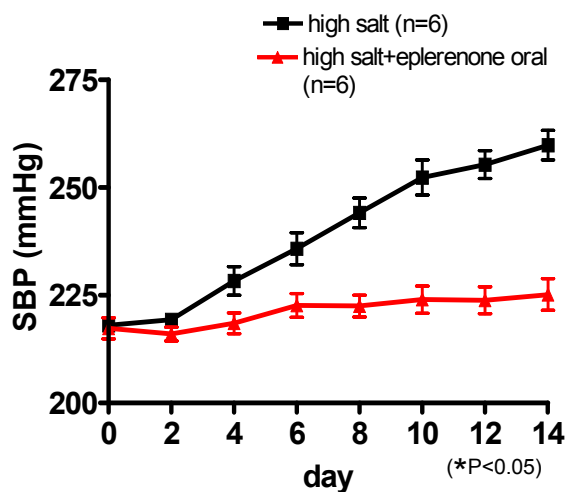


Fig. 1. 全身の MR 阻害により高食塩負荷による昇圧を抑制する

生じたが、eplerenone 投与群ではその活性化は抑制されていた (Fig. 2)。

3.2 脳内視床下部 MR 活性化および炎症性サイトカインに対する全身投与 eplerenone の効果

SHRSP に対して食塩負荷を行うと視床下部 MR の発現自体は変わらなかったが、その活性化の指標である Sgk1 の発現は増加していた。しかし、eplerenone 全身投与によって脳内視床下部 Sgk1 の発現は抑制された (Fig. 3)。さらに、視床下部炎症性サイトカインレベルも食塩負荷で増強し、全身 eplerenone 投与で抑制された (Fig. 4)。

3.3 血中サイトカインレベルの変化

血漿 IL-1 β 、IL-6 レベルは食塩負荷で増強し、eplerenone 投与でその反応は抑制された (Fig. 5)。

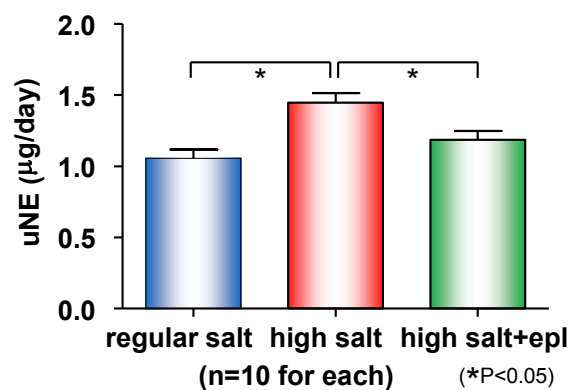


Fig. 2. 全身の MR 阻害により高食塩負荷による交感神経活性化を抑制する

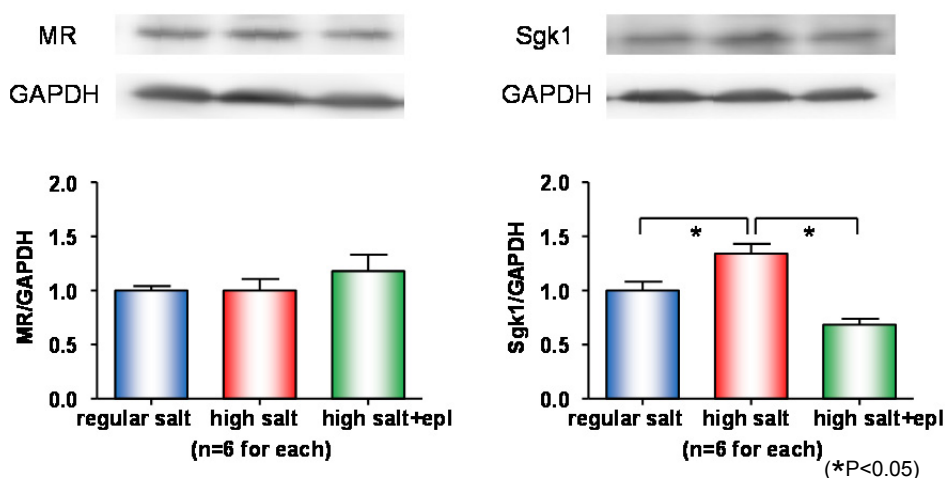


Fig. 3. 全身の MR 阻害により視床下部 MR 活性化を抑制する

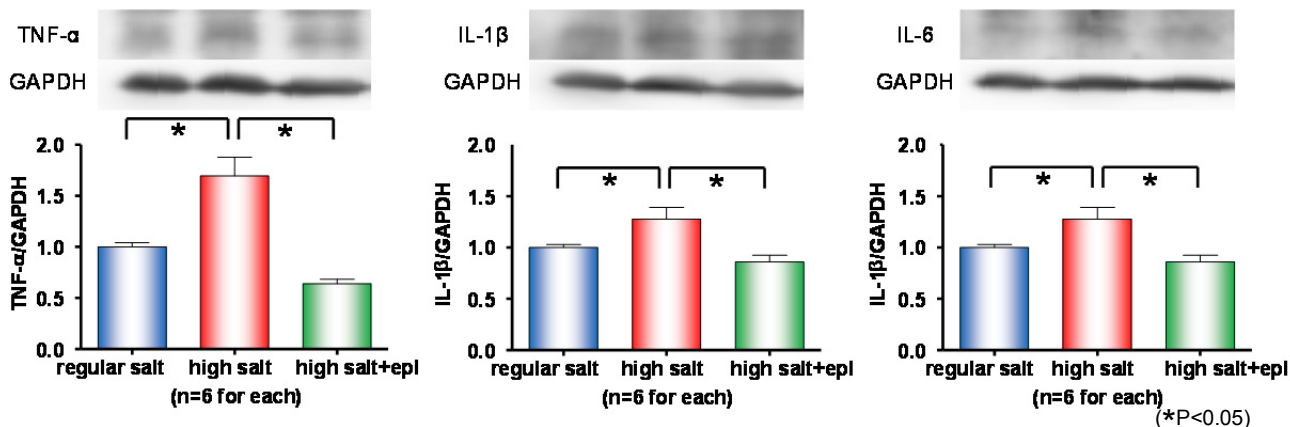


Fig. 4. 全身のMR阻害により視床下部MR活性化を抑制する

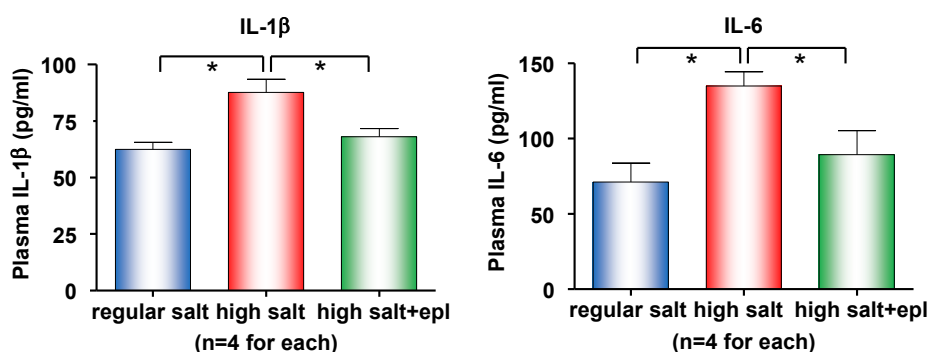


Fig. 5. 血中IL-1βとIL-6は高食塩負荷により増加し、エプレレノン経口投与により減少する

3. 4 バンディング圧負荷マウスでの脳内サイトカイン

大動脈バンディングを行い、4週間経てから食塩負荷を行うと圧負荷心肥大から心不全が生じること、その前に交感神経活性化が生じていることを確認した。脳内視床下部におけるサイトカインではIL-1βが増加していることを見出した。

4. 考 察

本研究の成績は、高血圧性圧負荷モデルラットに食塩を負荷した際に、血中ならびに脳内視床下部の炎症性サイトカインが増加すること、そしてMR活性化を介した交感神経活性化につながっていることを示唆する。さらに、全身投与したMR拮抗薬であるeplerenoneがこれらの反応を抑制した。このことは全身投与したMR拮抗薬は少なくとも一部脳内機序を介して交感神経抑制作用を有することが考えられる。

今までの研究によって、高血圧性心肥大に伴い、食塩

感受性に伴う交感神経活性化が心不全への進展に関わっていること、脳内MR活性化がENaC系と相まって交感神経活性化を生じることを明らかにしてきた^{4,5)}。本研究では、炎症性サイトカインの増加が高血圧モデルにおいて食塩負荷を行うことによって生じることを示した。これは循環血液中のみならず脳内視床下部で生じる。Lipopolysaccharideを全身投与し炎症を惹起すると脳内サイトカインレベルも増加することは報告されている⁷⁾。脳内でのサイトカインが交感神経活性化につながっていることも報告されている。そこにはprostaglandin E₂が関与していることが示唆されている⁸⁾。また、脳内で視床下部と心臓血管中枢である頭側延髄腹外側野(rostral ventrolateral medulla)の活性化も生じることが示されている⁸⁾。視床下部のサイトカインは交感神経を活性化するのみならず心臓交感神経反射も活性化する⁹⁾。今回の観察によって、高血圧性心肥大に食塩負荷を行うと末梢炎症性サイトカインレベルの変化のみならず脳内視床下部の炎症性サイ

トカインの増加が認められた。どのようにして脳内サイトカインレベルが増加するのかについては不明である。しかし、心筋梗塞モデルではそのような変化が生じることが知られている。脳内サイトカインが交感神経系活性化を生じるとは報告されているが、本研究では、食塩負荷モデルでおそらくサイトカインを介した MR 活性化が交感神経活性化につながっていることを示唆するものである。

また、今回、全身投与した eplerenone が食塩負荷による脳内視床下部のサイトカイン、MR 活性化を抑制し、血圧上昇、交感神経活性化を抑制した。我々は、脳内脈絡叢における MR 活性化、ENaC 活性化が SHRSP の交感神経系活性化および高血圧の機序の一部であることを報告している¹⁰⁾。また、食塩負荷によって増強すること、脳室内に投与した eplerenone がその反応を抑制することも示した¹⁰⁾。SHRSP において脳内の MR 活性化は心臓血管中枢である頭側延髄腹外側野(rostral ventrolateral medulla)でも生じており、交感神経活性化に関与している¹¹⁾。MR 活性化から交感神経活性化につながる経路にはアンジオテンシン1型受容体が重要な役割を果たしていることも示した¹²⁾。今回、全身投与した eplerenone が有効であったことは、脳内機序を考える上で重要であることを示唆するとともに臨床経口投与するわけであるのでこの機序が関与している可能性がある。収縮機能が低下した心不全モデルラットでは脳内 MR 活性化、炎症性変化、交感神経活性化が生じていることが報告されている¹³⁾。さらに、最近の心不全患者に対する MR 拮抗薬の有効性の機序として中枢神経系・自律神経系の関与が示唆されている^{14,15)}。また、拡張機能不全に対する有効性も示唆されており¹⁶⁾、本研究で認められた機序が関与している可能性が考えられる。

5. 今後の課題

高血圧性心不全において炎症性サイトカインが増加することは認められた。心筋梗塞後モデルでは炎症性変化はより大きいことが推察される。しかし、循環血液中炎症性サイトカインが増えた後、脳内で炎症性サイトカインが増える機序はまだ理解されていない。少なくとも脳内 MR 活性化が引き続き生じて交感神経活性化につながっていることは示された。今後、末梢臓器からの神経性リンクも含め機序を解明していく必要がある。心臓交感神経反射によ

る交感神経活性化増強については圧負荷心肥大、食塩負荷モデルで確認しており、炎症性変化との関与についての検討を行っていく。また、最近腎除神経と心肥大との関連が報告されているため腎臓とのリンクについても検討する必要がある。

文 献

- 1) Pelle AJ, Pederson SS, Schiffer AA, Szaboó B, Widdershoven JW, Denollet J. Psychological distress and mortality in systolic heart failure. *Circ Heart Fail* 3 : 261-267, 2010.
- 2) Pereira VH, Cerqueira JJ, Palha JA, Sousa N. Stressed brain, diseased heart: a review on the pathophysiologic mechanisms. *Int J Cardiol* 166: 30-37, 2013.
- 3) Moraska AR, Chamberlain AM, Shah ND, Vickers KS, Rummans TA, Dunlay SM, Spertus JA, Weston SA, McNallan SM, Redfield MM, Roger VL. Depression, healthcare utilization, and death in heart failure: a community study. *Circ Heart Fail* 6: 387-394, 2013.
- 4) Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K. Acquisition of brain Na sensitivity contributes to salt-induced sympathoexcitation and cardiac dysfunction in mice with pressure overload. *Circ Res* 104: 1004-1011, 2009.
- 5) Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K. Blockade of mineralocorticoid receptor improves salt-induced left-ventricular systolic dysfunction through attenuation of enhanced sympathetic drive in mice with pressure overload. *J Hypertens* 28: 1449-1458, 2010.
- 6) Ito K, Hirooka Y, Matsukawa R, Nakano M, Sunagawa K. Decreased brain sigma-1 receptor contributes to the relationship between heart failure and depression. *Cardiovasc Res* 93: 33-40, 2012.
- 7) Benicky J, Sánchez-Lemus E, Honda M, Pang T, Orecna M, Wang J, Leng Y, Chung D-M, Saavedra JM. Angiotensin II AT1 receptor blockade ameliorates brain inflammation. *Neuropsychopharmacol* 36: 857-870, 2011.
- 8) Zhang Z-H, Wei S-G, Francis J, Felder RB. Cardiovascular and renal sympathetic activation by blood-borne TNF-alpha in rat: the role of central

- prostaglandins. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284: R916-R927, 2003.
- 9) Shi Z, Gan X-B, Fan ZD, Zhang F, Zhou YB, Gao XY, De W, Zhu GQ. Inflammatory cytokines in paraventricular nucleus modulate sympathetic activity and cardiac sympathetic afferent reflex in rats. *Acta Physiol* 203: 289-297, 2011.
- 10) Nakano M, Hirooka Y, Matsukawa R, Ito K, Sunagawa K. Mineralocorticoid receptors/epithelial Na⁺ channels in the choroid plexus are involved in hypertensive mechanisms in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 36: 277-284, 2012.
- 11) Nakagaki T, Hirooka Y, Matsukawa R, Nishihara M, Nakano M, Ito K, Hoka S, Sunagawa K. Activation of mineralocorticoid receptors in the ventrolateral medulla is involved in hypertensive mechanisms in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 35: 470-476, 2012.
- 12) Ito K, Hirooka Y, Nakano M, Honda N, Matsukawa R, Sunagawa K. Role of hypothalamic angiotensin type 1 receptors in pressure overload-induced mineralocorticoid receptor activation and salt-induced sympathoexcitation. *Hypertens Res* 2013 (in press).
- 13) Felder RB. Mineralocorticoid receptors, inflammation and sympathetic drive in a rat model of systolic heart failure. *Exp Physiol* 95:19-25, 2009.
- 14) Rogers JK, McMurray JJV, Pocock SJ, Zannad F, Krum H, van Veldhuisen DJ, Swedberg K, Shi H, Vincent J, Pitt B. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms: analysis of repeated hospitalizations. *Circulation* 126: 2317-2323, 2012.
- 15) Zannad F, Stough WG, Rossignol P, Bauersachs J, McMurray JJV, Swedberg K, Struthers AD, Voors AA, Ruyope JM, Bakris GL, O'Connor CM, Gheorghide M, Mentz RJ, Cohen-Solal A, Maggioni AP, Beygui F, Filippatos GS, Massy ZA, Pathak A, Piña IL, Sabbah H, Sica DA, Tavazzi L, Pitt B. Mineralocorticoid receptor antagonists for heart failure with reduced ejection fraction: integrating evidence into clinical practice. *Eur Heart J* 33: 2782-2795, 2012.
- 16) Edelmann F, Wachter R, Schmidt AG, Kraigher-Krainer E, Colantonio C, Kamke W, Duvinage A, Stahrenberg R, Durstewits K, Löffler M, Dungen H-D, Tschöpe C, Hermann-Lingen C, Halle M, Hasenfuss G, Gelbrich G, Pieske B, for the Aldo-DHF Investigators. Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *JAMA* 309: 781-791, 2013.

Mechanism Involved in Activation of the Sympathetic Nervous System Induced by Salt-Sensitivity Acquisition in Pressure-Overload Cardiac Hypertrophy

Yoshitaka Hirooka, Koji Ito, Masato Katsuki, Masatugu Nakano

Kyushu University Graduate School of Medical Sciences
Department of Advanced Cardiovascular Regulation and Therapeutics,
Department of Cardiovascular Medicine

Summary

Hypertension and hypertensive hypertrophy are the common basic disorders of the occurrence of heart failure. Those patients often admit the hospitals and it is getting important to take measures for them at the time of aging. In addition, hypertension and heart failure are associated with depression and activation of the sympathetic nervous system is one of the common features between them. We demonstrated that high salt intake elicits sympathoexcitation in mice with pressure overload leading to heart failure. Therefore, we determined to investigate whether inflammatory changes activate mineralocorticoid receptors (MR) in the brain thereby causing sympathoexcitation in hypertensive rats. Stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) were fed with a high salt diet (8%) for 2 weeks and measured blood pressure, sympathetic activity, proinflammatory cytokines, and MR expression levels. We found that high salt intake induced blood pressure elevation and sympathoexcitation associated with the increased plasma IL-1 β concentration. Furthermore, we found that the increase expression levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in the hypothalamus of the brain. In addition, a marker of MR activation, Sgk1 expression levels were increased in the hypothalamus. Systemic administration of a selective MR blocker, eplerenone, markedly attenuated the increases in blood pressure and sympathetic activity induced by high salt intake. Hypothalamic expression levels of cytokines Sgk1 were also attenuated. These results suggest that inflammatory cytokines and activation of MR in the hypothalamus of the brain increase sympathetic activity in hypertensive rats with high salt intake.