

高血圧性心肥大における食塩感受性獲得による交感神経活性化による 心不全発症と脳内シグマ受容体を介するうつ病との関連解明

廣岡 良隆, 伊藤 浩司, 松川 龍一, 中野 正紹

九州大学大学院医学研究院先端循環制御学, 循環器内科学

概要 うつ病は高血圧や心不全など交感神経系が活性化した心血管病にしばしば合併する。脳内シグマ 1 (S1R) 受容体減少は神経活性修飾を介してうつ病の病態機能と関連している。我々は脳内 S1R 受容体減少が高血圧のような圧負荷心不全を悪化させること、特に交感神経活性化とうつ病悪化を介しているという仮説を検討した。大動脈バンディングマウスを作成し、4 週間待った後、高食塩食をさらに 4 週間与えた。このモデル (AB-H) は心不全を生じることを先行研究で観察している。偽手術を行った対照群 (Sham) と比べ、AB-H は交感神経活性増加、左室内径短縮率低下、左室径増大、脳内 S1R 発現減少を認めた。脳室内 S1R 刺激薬である PRE084 投与は、AB-H で脳内 S1R 発現を増加し、交感神経活性を抑制し、心機能を改善した。一方、Sham 群への S1R 拮抗薬である BD1063 の脳室内投与は交感神経活性を増加し、心機能を低下させた。テールサスペンションテストは不動性時間 (immobility time) と張力の大きさ (strain amplitude) によってうつ状態の指標を評価するために用いられるが、Sham に比べ AB-H で、immobility time は増加し、strain amplitude は低下していた。これらの変化は、PRE084 の脳室内投与で減弱した。以上の成績は、圧負荷モデルマウスにおいて脳内 S1R 減少が心不全とうつ病の間の関係に寄与していることを示唆する。

1. 研究背景及び目的

心不全とうつ病 (状態) がしばしば合併することが知られている¹⁻⁴⁾。心不全は予後不良の最終的な心疾患末期像であるし、うつ病も治療は困難である。重要なことに、うつ病は高血圧患者で心不全の危険因子と関連している。さらに、高血圧性心疾患は心不全の主要な原因として認識されている。うつ病と心不全の両方で共通した病態機序のひとつに心血管系調節異常による交感神経活性化がある^{5,6)}。中枢神経系は心不全および高血圧の両者の悪化に寄与している。この過程の詳細な機序は不明であるが、脳内で心不全とうつ病に関する共通な経路があることが考えられる^{7,8)}。

最近、脳内シグマ 1 受容体 (S1R) 発現減少がうつ病の病態に重要な役割を果たしていることが示されている⁹⁾。S1R リガンドはうつ病モデルにおいて抗うつ活性を有していることが報告されている¹⁰⁾。S1R は神経性細胞内カルシウムのレベルや N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体を

介する反応を修飾することが示されている^{11,12)}。これらの研究成果は S1R が神経活性の調節に寄与していることを強く示唆する。神経ステロイドである dehydroepiandrosterone (DHEA) とその硫酸抱合体 (DHEAS) は内因性 S1R アゴニストと認識されている¹³⁾。そして、DHEAS は心不全で減少していることが報告されている¹⁴⁾。したがって、我々は、脳内 S1R 発現が心不全で DHEAS 減少を介して低下しており、この発現低下が交感神経亢進を介した心不全悪化に関与しているのではないかという仮説を立てた。ゆえに、本研究の目的は、脳内 S1R 受容体の心不全とうつ病 (状態) の間の関係の評価することであった。

近年、我々は、食塩負荷を行った圧負荷モデルが高血圧性心疾患から心不全に至るモデルであることを見出した¹⁵⁾。加えて、圧負荷モデルは左室における S1R 発現が低下していることが報告されている^{13,16)}。したがって、本研究では圧負荷モデルを用いた。マウスを用いて、大動脈

バンディングを施行し高食塩食を負荷すると心機能異常が生じる^{15,17)}。我々は、24 時間尿中ノルエピネフリン排泄量測定による交感神経活性、脳内 S1R 発現、うつ状態様の行動様式、選択的 S1R アゴニスト¹⁸⁾である PRE084 や選択的 S1R 拮抗薬¹⁹⁾である BD1063 を脳室内投与した際の交感神経活性、心機能、脳内 S1R 発現、うつ状態様行動様式の変化、そして血中および脳内 DHEAS 濃度を測定した。

2. 研究方法

2.1 動物

本研究は九州大学動物実験倫理委員会によって承認され実施した。雄性 Institute of Cancer Research マウスを使用した。

2.2 心不全モデル

ペントバルビタール麻酔下で、腎動脈上部の腹部大動脈にバンディング手術を施行した。対照群として偽手術を施行した(Sham)。バンディング手術後 4 週間後から 8% NaCl 食塩食を始め 4 週間与えた(AB-H)(図 1 参照)。

2.3 心機能評価

心機能は心エコー法によって評価した。

2.4 血圧、心拍数、交感神経活性の評価

急性実験では交感神経活性は周波数解析で評価した²⁰⁾。血圧と心拍数は右内頸動脈にカニューレーションを行い測定した。慢性実験では 24 時間尿中ノルエピネフリン排

泄量を測定し評価した。

2.5 脳室内(ICV)投与

ペントバルビタール麻酔下で脳固定装置を用いてマウスの脳を固定して、脳室内へカニューレを挿入し固定した。浸透圧ミニポンプを介して脳室内へ薬剤を投与した。つまり、特異的 S1R アゴニストである PRE084 あるいは特異的 S1R 拮抗薬である BD1063 を 4 週間投与した。

2.6 経口薬剤投与

fluvoxamine maleate(シグマ)を餌に混ぜて AB-H に対して 4 週間経口投与した。

2.7 臓器重量

各実験終了時に臓器重量を測定した。

2.8 脳内 S1R 発現の評価

Western blot analysis、reverse transcription PCR で評価した。

2.9 うつ状態様行動様式インデックス

うつ状態はテールサスペンションテストで評価した^{21,22)}。

2.10 血中・脳組織 DHEAS

ELISA 法によって測定した。

2.11 統計

データは平均±標準誤差で表した。分散分析(ANOVA)を用いた。一部適切な比較においては unpaired t-test を使用した。P 値が 0.05 未満を統計学的有意とした。

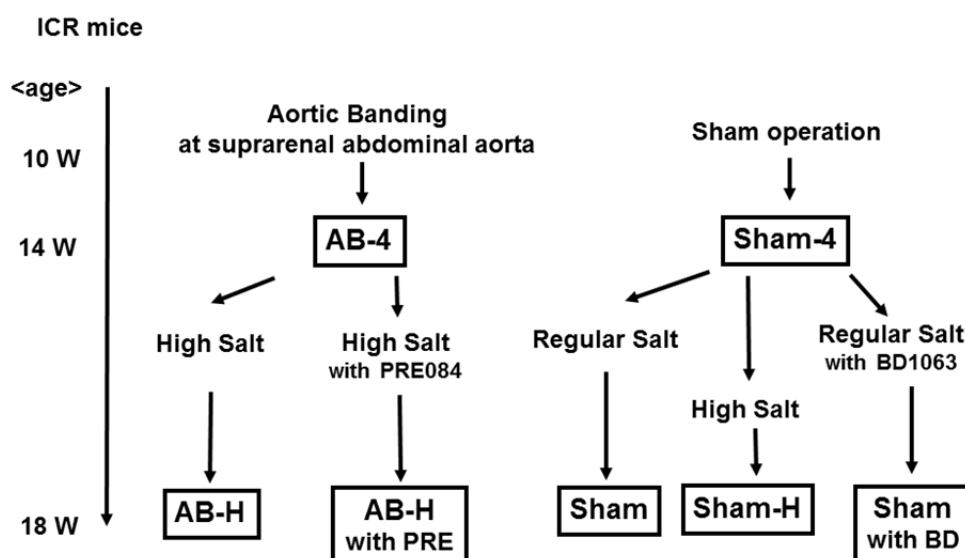


図 1. 実験モデルマウス作成の過程を示す模式図

3. 研究結果

3.1 AB-Hの特徴

心重量、肺重量は AB-H で増加していた。体重自体は AB-H は Sham より少なかった。心エコーでは AB-H で Sham より LV 径の拡大と壁厚も大きくなっていた。内腔短縮率は AB-H で Sham に比べ低下していた(図 2)。尿中ノルエピネフリン排泄量で評価した交感神経活性は Sham に比べ AB-H で増加していた(図 2)。また、Sham では高食塩負荷を行っても上記のパラメーターに変化は生じなかった。テールサスペンションテストでは静止時間が長く張力振幅は低下していた(図 3)。運動活動は AB-H で Sham に比べ少なかった。また、一日の活動変化も少なかった(図 3)。

3.2 脳内 S1R 発現

脳内 S1R 蛋白発現レベルは、AB-H で Sham に比べ減少していた(図 2C)。mRNA レベルは差がなかった。Sham で食塩負荷を行ってもそれらのレベルに変化は生じな

った。

3.3 脳室内 PRE084 急性投与の効果

脳室内へ PRE084 を投与すると AB-H、Sham 群ともに心拍数を低下させた。しかし、その程度は AB-H で小さかった(図 4)。さらに、収縮期血圧の周波数分析で評価した交感神経活性は Sham 群でのみ低下した(図 4)。

3.4 脳室内 PRE084 慢性投与の効果

脳室内 PRE084 慢性投与すると脳内 S1R 蛋白発現レベル(図 5)、mRNA レベルを AB-H で未治療群より増加させた。また、AB-H で増加した交感神経活性を抑制した(図 5)。さらに、心重量増加も抑制した。うつ状態指標の改善も生じた(図 6)。

3.5 fluvoxamine の慢性経口投与の効果

fluvoxamine 慢性経口投与は亢進した交感神経活性を低下させ、心機能を改善した。また、うつ状態の指標も改善した。

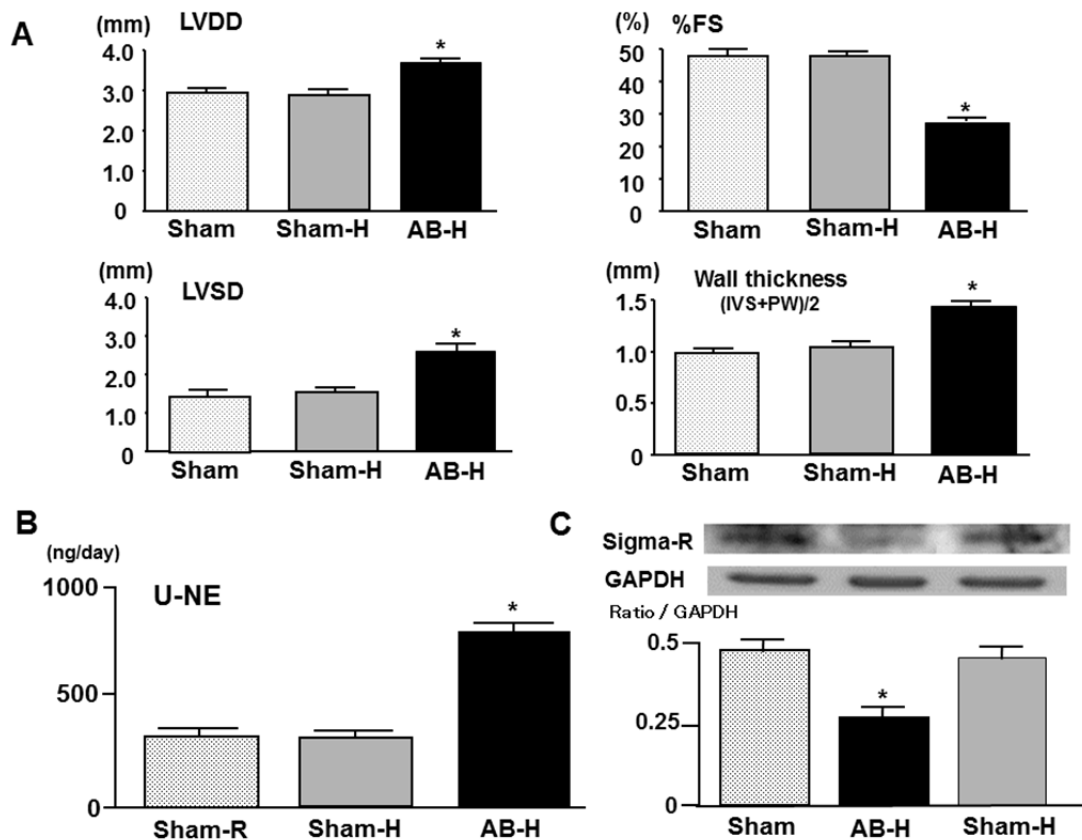


図 2. AB-H マウスにおける心エコー検査での結果(A)および尿中ノルエピネフリン排泄量(B)、Western blot analysis によるシグマ受容体発現量(C)

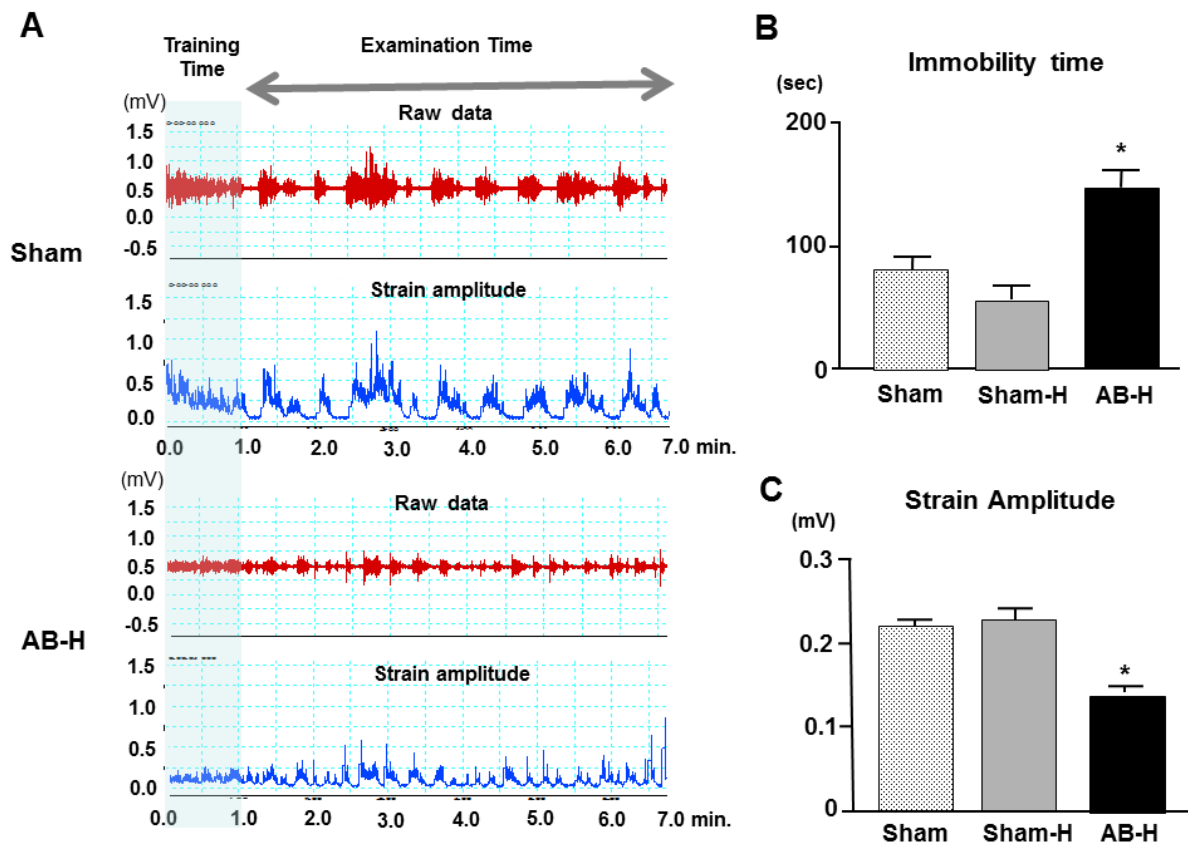


図 3. テールサスペンションテストによる結果。A: 実記録、B: 不動時間、C: 張力振幅

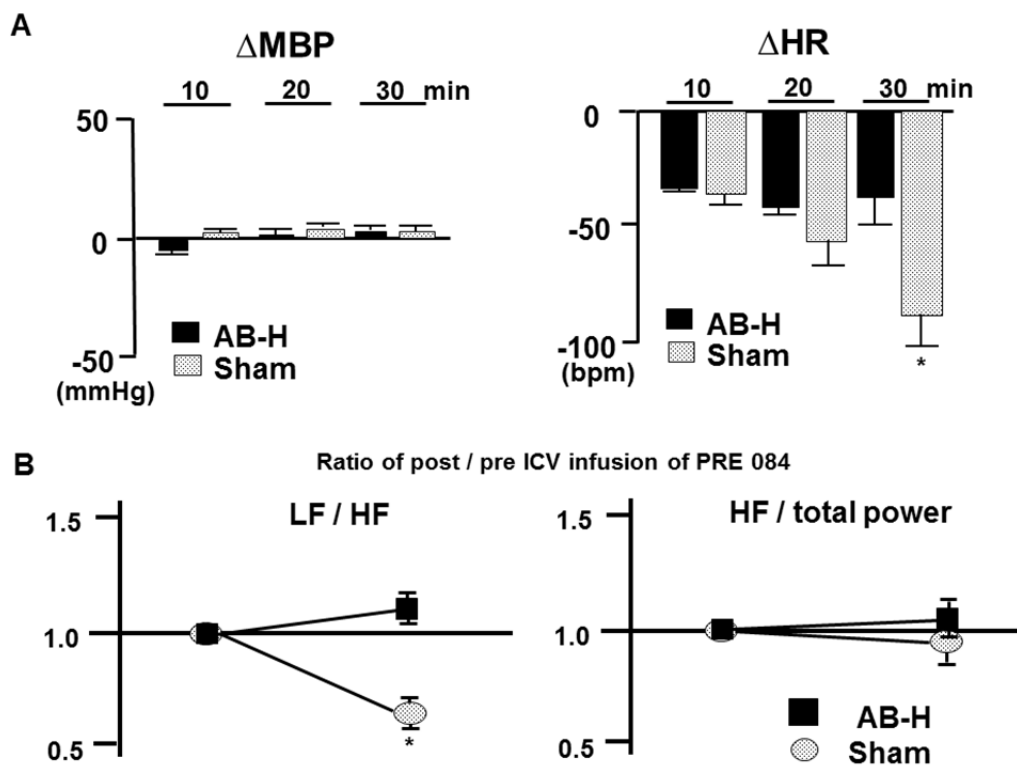


図 4. 脳室内 PRE084 急性投与の効果。A: 血圧および心拍数の時間経過、B: 周波数分析による自律神経機能の評価

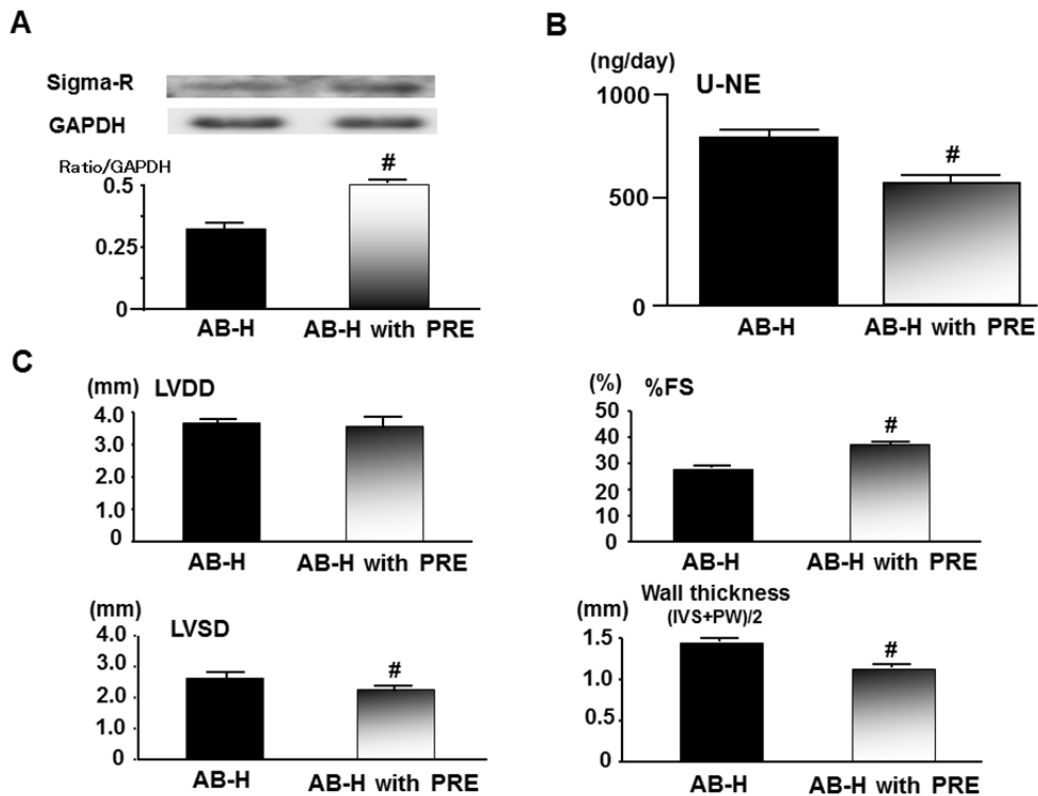


図 5. 脳室内 PRE084 慢性投与の効果。A: 蛋白発現レベル、B: 尿中ノルエピネフリン排泄量、C: 心エコーによる評価の結果

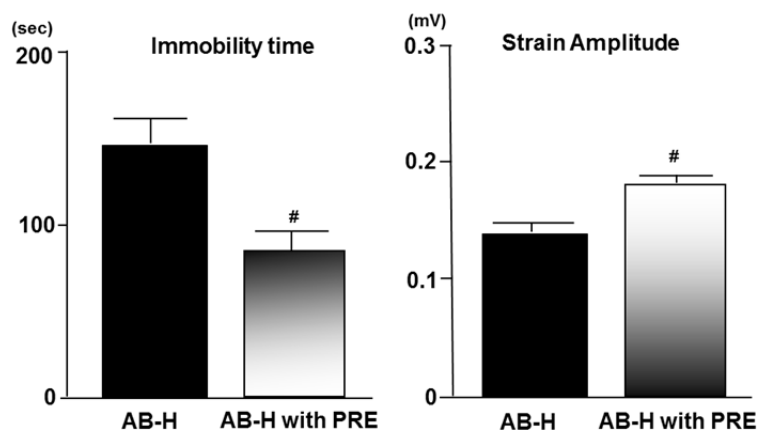


図 6. 脳室内 PRE084 慢性投与の効果、テールサスペンションテストの結果

3. 6 Sham マウスにおける脳室内 BD1063 慢性投与の効果

慢性 BD1063 脳室内投与は交感神経活性を増加させた。内腔短縮率でみた心機能は低下させる傾向が認められた。

3. 7 DHEAS 濃度

血漿 DHEAS 濃度は AB-H で Sham あるいは Sham-H

に比べて低かった。脳組織 DHEAS 濃度も同様に AB-H で低かった。

4. 考 察

本研究の結果は、AB-Hにおいて1)交感神経亢進を伴った心機能低下が生じた、2)脳内 S1R 発現は低下していた、3)うつ状態様行動様式が強かった、4)脳室内急性

S1R アゴニスト投与による交感神経活性と心拍数の減少の反応が小さかった、5) 脳室内慢性 S1R アゴニスト投与は脳内 S1R 発現を増加させ、亢進した交感神経活性を抑制し、心機能、うつ状態を改善した、ことを示す。以上の成績は、AB-H における脳内 S1R 発現低下が亢進した交感神経活性を介して心機能を悪化させうつ状態をも悪化させることを示唆する。

我々は本研究で以前報告した圧負荷 4 週間後から食塩負荷を開始し 4 週間負荷することによって交感神経活性化を伴い、心不全を生じるモデルを用いた。蛋白レベルで脳内 S1R 発現が低下しており、急性アゴニスト刺激に対する交感神経活性の反応は低下していた。一方、mRNA レベルは変化していなかったため AB-H において S1R のターンオーバーが高いのかも知れない²³⁾。

テールサスペンションテストによるうつ状態様行動様式の指標として観察した静止時間が長い(動きの活発性がない)こと、張力振幅が小さい(刺激に対してもがき立ち向かおうとする力が弱い)こと、は心不全で認められる運動耐容能を表しているのかも知れない。しかし、本テストのあとケージに戻した後の運動を観察するとかわりがないようであり、テストの結果はうつ状態を示していると考えられる。さらに、24 時間の活動様式の低下、活動様式の強弱の低下もこの考えを支持するものと考えられる。

脳内 S1R 発現低下の重要性は慢性に S1R 刺激を行った結果、AB-H で交感神経活性、心機能、うつ状態が改善した知見が示唆する。我々の知る限り、脳脊髄液内に PRE084 や BD1063 を慢性的に投与した研究報告はない。我々の投与した薬剤濃度は nmol/mL 単位で特異的に S1R に作用していると考えられる²⁴⁾。さらに、セロトニン再吸収抑制薬でもある全身投与した fluvoxamine もうつ状態改善に加えて交感神経活性化も抑制した。本研究の結果からだけでは、詳細な機序は明らかではない。NMDA 受容体やカルシウム動態の変化が関与していると考えられる。部位的には視床下部、脳幹部が候補部位であり、視床下部の S1R 発現が脳内での分布として多いため²⁵⁾同部位の関与が考えられる。さらに、炎症性サイトカインや活性酸素種産生を促進するミクログリアで S1R 発現が多く、S1R 刺激はミクログリア活性化を抑制することが報告されている²⁶⁾。したがって、神経細胞だけでなくミクログリアの S1R も交感神経活性を修飾している可能性が考えられる。心

不全における交感神経活性化に中枢の酸化ストレスや炎症が関与していることは示唆されており、その機序の一部である可能性が考えられる^{8,27)}。さらに、血漿 DHEAS 濃度が低いことが脳内 S1R 発現低下に関与している可能性も考えられる。DHEAS は主に副腎髄質で産生されるが心不全患者で増加していることが知られており、心不全におけるうつ病の重症度を予知する可能性が示唆されている²⁸⁾。

5. 今後の課題

うつ病はいくつかの病態生理が関わる臨床症候群である。したがって、本研究で示した脳内 S1R とモデル、そしてその評価法だけで説明することは困難な点も多い。他の機序の関与も今後の検討課題であろう。脳内アンジオテンシン1型受容体とつながる抗炎症効果を介した経路も関与している可能性があり、心不全における交感神経活性化の機序として重要であることが知られている^{29,30)}。考察で述べた S1R を介した詳細な機序解明も含め、更なる研究が必要であると考えられる。

文献等

1. Vaccarino V, Kasl SV, Abramson J, Krumholz HM. Depressive symptoms and risk of functional decline and death in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001; **38**:199-205.
2. Jiang W, Alexander J, Christopher E, Kuchibhatla M, Gaudin LH, Cuffe MS *et al.* Relationship of depression to increased risk of mortality and rehospitalization in patients with congestive heart failure. *Arch Intern Med* 2001; **161**:1849-1856.
3. Jünger J, Schellberg D, Müller-Tasch T, Raupp G, Zugck C, Haunstetter A *et al.* Depression increasingly predicts mortality in the course of congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2005; **7**: 261-267.
4. Gradman AH, Alfayoumi F. From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. *Progr Cardiovasc Dis* 2006; **48**: 326-341
5. Barton DA, Dawood T, Lambert EA, Esler MD, Haikerwal D, Brenchley C *et al.* Sympathetic activity in

- major depressive disorder: identifying those at increased cardiac risk? *J Hypertens* 2007; **25**: 2117-2124.
6. Grippo AJ, Moffitt JA, Johnson AK. Evaluation of baroreceptor reflex function in the chronic mild stress rodent model of depression. *Psychosom Med* 2008; **70**: 435-443.
 7. Kang YM, Ma Y, Elks C, Zheng JP, Yang ZM, Francis J. Cross-talk between cytokines and renin-angiotensin in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure: role of nuclear factor- κ B. *Cardiovasc Res* 2008; **79**: 671-678.
 8. Hirooka Y, Kishi T, Sakai K, Takeshita A, Sunagawa K. Imbalance of central nitric oxide and reactive oxygen species in the regulation of sympathetic activity and neural mechanisms of hypertension. *Am J Physiol* 2011; **300**: R818-R826.
 9. Bermack JE, Debonnel G. The role of sigma receptors in depression. *J Pharmacol Sci* 2005; **97**: 317-336.
 10. Skuza G, Rogoż Z. Antidepressant-like effects of PRE-084, a selective σ 1 receptor agonist, in Albino Swiss and C57BL/6J mice. *Pharmacol Res* 2009; **61**: 1179-1183.
 11. Monnet FP. Sigma-1 receptor as regulator of neuronal intracellular Ca^{2+} ; clinical and therapeutic relevance. *Biol Cell* 2005; **97**: 873-883.
 12. Zhang XJ, Liu LL, Jiang SX, Zhong YM, Yang XL. Activation of the sigma receptor 1 suppresses NMDA responses in rat retinal ganglion cells. *Neuroscience* 2011; **19**: 110-116.
 13. Bhuiyan MS, Fukunaga K. Stimulation of sigma-1 receptor signaling by dehydroepiandrosterone ameliorates pressure overload-induced hypertrophy and dysfunction in ovariectomized rats. *Expert Opin Ther Targets* 2009; **13**: 1253-1265.
 14. Moriyama Y, Yasue H, Yoshimura M, Mizuno Y, Nishiyama K, Tsunoda R *et al*. The plasma levels of dehydroepiandrosterone sulfate are decreased in patients with chronic heart failure in proportion to the severity. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**: 1834-1840.
 15. 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* 2009; **104**: 1004-1011.
 16. Tagashira H, Bhuiyan S, Shioda N, Hasegawa H, Kanai H, Fukunaga K. σ 1-receptor stimulation with fluvoxamine ameliorates transverse aortic constriction-induced myocardial hypertrophy and dysfunction in mice. *Am J Physiol* 2010; **299**: H1535-H1545.
 17. Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K. Blockade of mineralocorticoid receptors improves salt-induced left-ventricular systolic dysfunction through attenuation of enhanced sympathetic drive in mice with pressure overload. *J Hypertens* 2010; **28**: 1449-1458.
 18. Su TP, Wu XZ, Cone EJ, Shunkla K, Gund TM, Dodge AL *et al*. Sigma compounds derived from phencyclidine: identification of PRE-084, a new, selective sigma ligand. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; **259**: 543-550.
 19. Sabino V, Cottone P, Zhao Y, Iyer MR, Sterado L Jr, Sterado L *et al*. The sigma receptor antagonist BD-1063 decreases ethanol intake and reinforcement in animal models of excessive drinking. *Neuropsychopharmacology* 2009; **34**: 1482-1493.
 20. Ito K, Hirooka Y, Kimura Y, Sagara Y, Sunagawa K. Ovariectomy augments hypertension through rho-kinase activation in the brain stem in female spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2006; **48**: 651-657.
 21. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology* 1985; **85**: 367-370.
 22. Kumar A, Garg R, Gaur V, Kumar P. Nitric oxide mechanism in protective effects of imipramine and venlafaxine against acute immobilization stress-induced behavioral and biochemical alteration in mice. *Neurosci Lett* 2009; **467**: 72-75.
 23. Stefanski R, Justinova Z, Hayashi T, Takebayashi M, Goldberg SR, Su TP. Sigma1 receptor upregulation after chronic methamphetamine self-administration in rats: a study with yoked controls. *Psychopharmacology* 2004; **175**: 68-75.

24. Rudick RA, Zirretta DK, Herndon RM. Clearance of albumin from mouse subarachnoid space: a measure of CSF bulk flow. *J Neurosci Methods* 1982; **6**: 253-259.
25. Alonso G, Phan V, Guillemain I, Saunier M, Legrand A, Anoaï M *et al.* Immunocytochemical localization of the sigma₁ receptor in the adult rat central nervous system. *Neuroscience* 2000; **97**: 155-170.
26. Aaron AH, Yelenis H, Craig AC Jr, Javier C, Keith RP. Sigma receptors suppress multiple aspects of microglial activation. *Glia* 2009; **57**: 744-754.
27. Zucker IH. Novel mechanisms of sympathetic regulation in chronic heart failure. *Hypertension* 2006; **48**: 1005-1011.
28. Jankowska EA, Drohomirecka A, Ponikowska B, Witkowska A, Lopuszanska M, Szklarska A *et al.* Deficiencies in circulation testosterone and dehydroepiandrosterone sulphate, and depression in men with systolic chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2010; **12**: 966-973.
29. Saavedra JM, Sanches-Lemus E, Benicky J. Blockade of brain angiotensin II AT1 receptors ameliorates stress, anxiety, brain inflammation and ischemia: therapeutic implications. *Psychoneuroendocrinology* 2011; **36**: 1-18.
30. Nasr SJ, Crayton JW, Agarwal B, Wendt B, Kora R. Lower frequency of antidepressant use in patients on renin-angiotensin-aldosterone system modifying medications. *Cell Mol Neurobiol* 2011; **31**: 615-618.

Relationship between Heart Failure Caused by Sympathetic Activation through Acquisition of Salt Sensitivity and Depression via Brain Sigma Receptors

Yoshitaka Hirooka, Koji Ito, Ryuichi Matsukawa, Masatsugu Nakano

Department Advanced cardiovascular Regulation and Therapeutics,
Kyuhusu University Graduate School of Medical Sciences

Summary

Depression often coexists with cardiovascular disease, such as hypertension and heart failure, in which sympathetic hyperactivation is critically involved. Reduction in the brain sigma-1 receptor (S1R) functions in depression pathogenesis via neuronal activity modulation. We hypothesized that reduced brain S1R exacerbates heart failure, especially with pressure overload via sympathetic hyperactivation and worsening depression. Male Institute of Cancer Research mice were treated with aortic banding and, 4 weeks thereafter, fed a high-salt diet for an additional 4 weeks to accelerate cardiac dysfunction (AB-H). Compared with sham-operated controls (Sham), AB-H showed augmented sympathetic activity, decreased % fractional shortening, increased left ventricular dimensions, and significantly lower brain S1R expression. Intracerebroventricular (ICV) infusion of S1R agonist PRE084 increased brain S1R expression, lowered sympathetic activity, and improved cardiac function in AB-H. ICV infusion of S1R antagonist BD1063 increased sympathetic activity and decreased cardiac function in Sham. Tail suspension test was used to evaluate the index of depression-like behavior, with immobility time and strain amplitude recorded as markers of struggle activity using a force transducer. Immobility time increased and strain amplitude decreased in AB-H compared with Sham, and these changes were attenuated by ICV infusion of PRE084. These results indicate that decreased brain S1R contribute the relationship between heart failure and depression in a mouse model of pressure overload.