

## 脳内活性酸素種による交感神経活動亢進 — 高血圧は脳の異常 —

岸 拓 弥\*, 荒 木 周一郎\*, 廣 岡 良 隆\*

### はじめに

高血圧の発症機序は未だ不明であり、高血圧の大多数は成因が分からない本態性高血圧である。本態性高血圧には遺伝的素因と環境的素因があり、それらはモザイク説として示されている。その要因の一つである神経性素因が本態性高血圧の約4割に関係があるとされている<sup>1)</sup>。循環調節は延髄にある延髄孤束核 (nucleus tractus solitarii: NTS) や頭側延髄腹外側野 (rostral ventrolateral medulla: RVLM) によって調節されており、なかでも RVLM は交感神経活動を規定する循環中枢として知られている (Dampney 1994, Guyenet 2006)。それらの循環調節に関わる神経核において神経活動を調節するものとしてグルタミン酸やγアミノ酪酸といった興奮性および抑制性のアミノ酸や、一酸化窒素が知られている<sup>2-7)</sup>。

高血圧の発症進展の機序に血管や腎臓における活性酸素種が重要な増悪因子であることが示されている<sup>8)</sup>。近年、脳、特に循環調節に関わる神経核において活性酸素種が重要な調節因子であること、さらには脳内活性酸素種が交感神経活動亢進を介した高血圧の原因となっているという報告が、我々を含めて相次いでいる<sup>9-17)</sup>。脳内活性酸素種が高血圧や各種循環器疾患における循環調節異常の原因であることは、血管や心筋・腎臓だけではない、脳における新たな治療ターゲットであることを示唆するものであり、今後益々注目が集まると期待される。ここでは、我々の研究成果を中心に、脳内活性酸素種の高血圧における重要性を紹介する。

### 脳延髄交感神経活動中枢 (RVLM) における 活性酸素種は交感神経活動を亢進させる

脳卒中易発症性高血圧ラット (SHRSP) は、交感神経活動が極めて亢進している高血圧モデルラットである。SHRSP の RVLM における活性酸素種を、thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) 法および electron spin resonance (ESR) 法を用いて測定し、正常血圧ラットに比し、いずれの方法でも有意に活性酸素種が上昇していることを我々が世界で初めて報告した<sup>9)</sup>。さらに、superoxide の消去剤である tempol を RVLM に microinjection すると血圧・心拍数の低下が SHRSP で正常血圧ラットよりも有意に大きいことや、ミトコンドリア由来の superoxide 消去酵素である MnSOD を組み込んだアデノウイルスベクターによる RVLM 局所への遺伝子導入の結果、数日間にわたり RVLM 局所で過剰発現させて無麻酔覚醒下で活性酸素種を減少させると、交感神経活動が低下することも明らかにした<sup>9)</sup>。すなわち、この結果から、RVLM での活性酸素種が交感神経活動亢進を介して高血圧の原因となっている可能性が示唆された。同様の結果が、同じく高血圧モデルラットである自然発症高血圧ラット (SHR) においても報告されている<sup>17)</sup>。

活性酸素種と一酸化窒素 (NO) の関係についても RVLM において興味深い結果を我々は報告した。RVLM における NO は交感神経活動を低下させること、その機序に NO による GABA 産生増加があることを以前報告した<sup>4-7)</sup>。活性酸素種と NO は相互消去作用があることから、RVLM における活性酸素種による交感神経活動亢進の機序の一つに、活性酸素種による NO の作用の減弱があるとも考えられる。また、NO 合成酵素である eNOS を RVLM

\*九州大学大学院医学研究院循環器内科学

に過剰発現させると交感神経活動が低下するのに対し、iNOS を過剰発現させると逆に交感神経活動が亢進することを報告した<sup>13)</sup>。その機序として、iNOS の過剰発現では単なる NO の産生増加ではなく過剰な NO の産生増加による活性酸素種増加が考えられた。

これらの成績は、RVLM における活性酸素種が高血圧の発症・維持に深く関わることを強く示唆するものである。さらに、高血圧の病態理解および治療において、神経性循環調節や RVLM が重要であることを強く認識させるものである。

### 延髄孤束核 (NTS) における活性酸素種の役割

NAD(P)H oxidase は脳における活性酸素種の重要な産生源であり<sup>18)</sup>、その活性化には small G 蛋白である Rac が非常に重要であることが言われている<sup>19)</sup>。我々は、SHRSP の NTS において Rac-NAD(P)H oxidase が活性化していること、さらに dominant negative Rac を組み込んだアデノウイルスベクターを SHRSP の NTS で過剰発現させることで Rac を抑制すると、活性酸素種抑制および交感神経活動が低下することを報告した<sup>11)</sup>。また、superoxide の消去酵素である CuZnSOD を NTS に過剰発現させても同様の結果になることも明らかにした<sup>11)</sup>。すなわち、NTS においても、活性酸素種が交感神経活動を亢進させ、その産生源として Rac-NAD(P)H oxidase が重要であることが明らかとなった。圧受容器反射の回路において最終的な出力神経核である RVLM だけでなく圧受容器からの入力を最初に受ける NTS でも活性酸素種が交感神経活動を亢進させることから、循環調節や高血圧における脳内活性酸素種の重要性、さらには脳内活性酸素種が高血圧の新規治療ターゲットとなる可能性を理解する必要がある。

### 高血圧・心不全の病態への関与

高血圧における RVLM や NTS の活性酸素種増加が交感神経活動亢進を介した血圧上昇機序に深く関与していることは我々が世界に先駆けて報告した<sup>9,11)</sup>。腎臓においても、片側腎障害により作成した高血圧モデルラットで交感神経活動が亢進していること、その機序に脳内活性酸素増加が関与していることが報告されている<sup>20)</sup>。すなわち、脳内

活性酸素は交感神経活動亢進を介した高血圧の重要な発症・維持・増悪因子である。

心不全においても、交感神経活動の過剰な活性化がその病態に深く関与していることが示されている。その機序として、血中・組織中におけるレニン・アンジオテンシン系の活性化がある。このことは、脳内においても重要であり、活性化したレニン・アンジオテンシン系による NAD(P)H oxidase を介した活性酸素種増加が交感神経活動を亢進させていると考えられる。心不全モデルにおいてアンジオテンシン受容体拮抗薬による脳内機序を介した交感神経活動抑制<sup>21)</sup>や、脳内 AT1 受容体の upregulation が心不全モデルで認められること<sup>22)</sup>などの成績はこのことを示唆するものであり、心不全治療において脳内活性酸素種が重要な治療ターゲットとなる可能性がある。

### 脳内活性酸素産生源について

活性酸素種の産生には、アンジオテンシン II が深く関与していると考えられている<sup>18)</sup>。アンジオテンシン II 刺激による NAD(P)H oxidase を介した super oxide の産生は脳における活性酸素種の重要な産生源であり<sup>18)</sup>、その活性化には AT1 受容体および small G 蛋白である Rac が非常に重要であることがいわれている<sup>19)</sup>。Angiotensin II の中枢投与による血圧上昇が、MnSOD や Cu/ZnSOD を組み込んだアデノウイルスベクターの脳室内投与により抑制されることが報告されている<sup>18)</sup>。また、SHR や SHRSP の RVLM において MnSOD や CuZnSOD の活性が低下していることも示されていて、活性酸素種の産生系亢進だけでなく細胞質やミトコンドリアにおける活性酸素種消去系の低下も関与していることが示唆されている<sup>9)23)</sup>。その他、xanthine oxidase や NOS アンカップリングなども関係している。

### 細胞内機序について

脳内で増加した活性酸素種が、どのような細胞内機序で神経活動を変化させ、交感神経活動を亢進させているかについては、未解明の点が多い。アンジオテンシン II による中枢性昇圧反応は、NAD(P)H oxidase を介した superoxide 産生を生じ、さらに p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK)

の活性化を介しているということが示されている<sup>24)</sup>が、それ以外にも様々な redox 感受性情報伝達系の異常や、神経細胞アポトーシスが循環調節異常の原因となっている可能性についての検討も行われており<sup>23,25,26)</sup>、今後注目すべき研究領域である。

**治療薬**

降圧薬において、脳内に作用し、脳内酸化ストレス抑制を介した交感神経活動抑制作用を有するものについて、我々を含め報告されている。

長時間作用型の Ca 拮抗薬は、降圧に伴う反射性交感神経活動亢進が認められないとされているが、この機序に中枢性の交感神経活動抑制、特に RVLM における酸化ストレス抑制が関与しているかどうかを我々は検討した。SHRSP に対する amlodipine の内服により降圧のみならず交感神経活動が抑制されること、RVLM における活性酸素種が低下すること(同等に降圧する hydralazine では認められなかった)から、amlodipine が RVLM に作用して活性酸素種産生を抑制し交感神経活動を低下させた可能性が示唆された<sup>14)</sup>。このことは、降圧薬が血管だけでなく脳に作用して効果を発揮するという新しい概念であり、今後の新たな薬剤使用基準や薬剤開発において注目すべきである。また、従来の Ca 拮抗薬よりも臨床において心拍数・交感神経活動抑制が明らかであると報告されている<sup>27)</sup> azelnidipine においても、RVLM における抗酸化作用を介した交感神経活動抑制作用があることを報

告した<sup>16)</sup>。

Atorvastatin は HMG-CoA 変換酵素阻害薬(スタチン)であり、強力なコレステロール低下作用を有する。しかし、それ以外にも様々な pleiotropic 作用が報告されている。我々は脳に作用して循環調節異常を改善する治療薬として atorvastatin に関する研究を行っている。SHRSP に atorvastatin を内服させると軽度の降圧・交感神経活動低下を認め、脳内において eNOS や nNOS の増加と NO 産生増加を認めた<sup>6)</sup>。さらに、RVLM における活性酸素種が低下することも報告した<sup>10)</sup>。この成績は、内服の atorvastatin が脳、特に RVLM に作用して活性酸素種抑制・NO 産生増加を介した交感神経活動抑制作用を有することを示唆するものである。さらに、血圧低下とは無関係に循環調節機能の重要な指標である動脈圧受容器反射を atorvastatin が改善することも示した<sup>28)</sup>。高血圧や心不全に対する脳内活性酸素種をターゲットとした治療において、スタチン系薬剤は重要な役割がある可能性がある。

**ESR について**

酸化ストレス評価法として、我々は以前より生体電子スピン共鳴/スピンプローブ法(ESR 法)を用いている。これまで中枢神経における活性酸素の測定は、侵襲的方法によらざるを得なかった<sup>29)</sup>。しかし、ニトロキシラジカルは安定で毒性の少ない有機フリーラジカルで、生体に投与された後、電子スピン共鳴法により定量的にモニタリングで

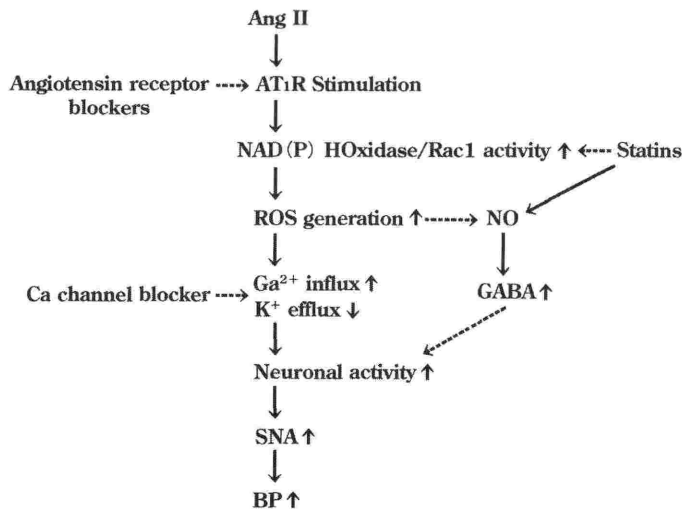


図1

き<sup>30)31)</sup>, 酸化ストレスに鋭敏に反応することが言われており<sup>32)</sup>, 細胞膜通過性のニトロキシルラジカルをスピンプローブとして用いることにより脳の酸化ストレスを評価することが可能となった<sup>33)34)</sup>. この手法は, *in vivo* で脳内の酸化ストレスを測定することが可能であることから, 今後のこの領域でも研究において重要なツールとなることが期待される.

## おわりに

脳内における活性酸素種と交感神経活動亢進の機序についての図を示す(図1). 正常状態においても脳内に活性酸素種は存在するため, どのレベルからが交感神経活動亢進を惹き起こすのかなど, 今後解明すべき点は多いが, 以前より言われている, 脳内の循環調節に関与する神経核でのレニン・アンジオテンシン系の亢進による交感神経活動活性化は, 活性酸素種産生増加を介したものであることは明らかであるといえる. 今後は, その産生増加の機序だけでなく, その下流についての研究を進めていくことで, 高血圧の神経性機序の解明や新たな治療ターゲットの開発, さらに脳内の老化の解明にもつながることが期待される.

## 文 献

- 1) Esler M, Kaye D: Is very high sympathetic tone in heart failure a result of keeping bad company? *Hypertension* 2003; 42: 870-2.
- 2) Dampney RA: Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev* 1994; 74: 323-64.
- 3) Guyenet PG: The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 335-46.
- 4) Kishi T, Hirooka Y, Sakai K, et al: Overexpression of eNOS in the RVLM causes hypotension and bradycardia via GABA release. *Hypertension* 2001; 38: 896-901.
- 5) Kishi T, Hirooka Y, Ito K, et al: Cardiovascular effects of overexpression of endothelial nitric oxide synthase in the rostral ventrolateral medulla in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2002; 39: 264-8.
- 6) Kishi T, Hirooka Y, Mukai Y, et al: Atorvastatin causes depressor and sympatho-inhibitory effects with upregulation of nitric oxide synthase in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2003; 21: 379-86.
- 7) Kishi T, Hirooka Y, Kimura Y, et al: Overexpression of eNOS in the RVLM improves impaired baroreflex control of heart rate in SHRSP. *Hypertension* 2003; 41: 255-60.
- 8) Paravicini TM, Touyz RM: Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res* 2006; 71: 247-58.
- 9) Kishi T, Hirooka Y, Kimura Y, et al: Increased reactive oxygen species in rostral ventrolateral medulla contribute to neural mechanisms of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 2004; 109: 2357-62.
- 10) Kishi T, Hirooka Y, Shimokawa H, et al: Atorvastatin reduces oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 2008; 30: 3-11.
- 11) Nozoe M, Hirooka Y, Koga Y, et al: Inhibition of Rac1-derived reactive oxygen species in nucleus tractus solitarius decreases blood pressure and heart rate in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2007; 50: 62-8.
- 12) Peterson JR, Sharma RV, Davisson RL: Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2006; 8: 232-41.
- 13) Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, et al: Overexpression of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla causes hypertension and sympathoexcitation via an increase in oxidative stress. *Circ Res* 2005; 96: 252-60.
- 14) Hirooka Y, Kimura Y, Nozoe M, et al: Amlodipine-induced reduction of oxidative stress in the brain is associated with sympatho-inhibitory effects in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2006; 29: 49-56.
- 15) Koga Y, Hirooka Y, Araki S, et al: High salt diet increases blood pressure via oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2008; 31: 2075-83.
- 16) Konno S, Hirooka Y, Araki S, et al: Azelnidipine inhibits the sympathetic nerve activity via antioxidant effects in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 52: 555-60.
- 17) Tai MH, Wang LL, Wu KL, et al: Increased superoxide anion in rostral ventrolateral medulla contributes to hypertension in spontaneously hypertensive rats via interactions with nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2005; 38: 450-62.
- 18) Zimmerman MC, Dunlay RP, Lazartigues E, et al: Requirement for Rac1-dependent NADPH oxidase in the cardiovascular and dipsogenic actions of angiotensin II in the brain. *Circ Res* 2004; 95: 532-9.
- 19) Infanger DW, Sharma RV, Davisson RL: NADPH oxidases of the brain: distribution, regulation, and function. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 1583-96.
- 20) Ye S, Zhong H, Campese VM, et al: Oxidative stress

- mediates the stimulation of sympathetic nerve activity in the phenol renal injury model of hypertension. *Hypertension* 2006; 48: 309-15.
- 21) Zucker IH: Brain angiotensin II: new insights into its role in sympathetic regulation. *Circ Res* 2002; 90: 503-5.
  - 22) Liu D, Gao L, Roy SK, et al: Neuronal angiotensin II type 1 receptor upregulation in heart failure: activation of activator protein 1 and Jun N-terminal kinase. *Circ Res* 2006; 99: 1004-11.
  - 23) Chan SH, Tai MH, Li CY, et al: Reduction in molecular synthesis or enzyme activity of superoxide dismutase and catalase contributes to oxidative stress and neurogenic hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 2028-39.
  - 24) Chan SH, Hsu KS, Huang CC, et al: HADPH oxidase-derived superoxide anion mediates angiotensin II-induced pressor effect via activation of p38 mitogen-activated protein kinase in the rostral ventrolateral medulla. *Circ Res* 2005; 97: 772-80.
  - 25) Kishi T, Hirooka Y, Konno S, et al: Atorvastatin improves the impaired baroreflex control of stroke-prone spontaneously hypertensive rats through the anti-oxidant effect in the RVLM. *Clin Exp Hypertens* (in press)
  - 26) Kishi T, Hirooka Y, Sunagawa K: Impaired neurogenesis in the rostral ventrolateral medulla causes hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *American Heart Association Scientific Sessions* 2007.
  - 27) Kishi T, Hirooka Y, Sunagawa K: Ras/Raf p38MAPK/ERK pathway is activated in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *American Heart Association Scientific Sessions* 2008.
  - 28) Kishi T, Hirooka Y: The effect of azelnidipine on the sympathetic nerve activity and baroreflex control in the patients with hypertension. *Ther Res* 2007; 28: 101-6.
  - 29) Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB: Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: R431-44.
  - 30) Swartz HM, Sentjurc M, Morse PD: Cellular metabolism of water-soluble nitroxides: effect on rate of reduction of cell/nitroxide ratio, oxygen concentrations and permeability of nitroxides. *Biochim Biophys Acta* 1986; 888: 82-90.
  - 31) Utsumi H, Muto E, Masuda S, et al: In vivo ESR measurement of free radicals in whole mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 172: 1342-8.
  - 32) Miura Y, Hamada A, Utsumi H: In vivo ESR studies of antioxidant activity on free radical reaction in living mice under oxidative stress. *Free Radic Res* 1995; 22: 209-14.
  - 33) Anzai K, Saito K, Takeshita K, et al: Assessment of ESR-CT imaging by comparison with autoradiography for the distribution of a blood-brain-barrier permeable spin probe, MC-PROXYL, to rodent brain. *Magn Reson Imaging* 2003; 21: 765-72.
  - 34) Lee MC, Shoji H, Miyazaki H, et al: Assessment of oxidative stress in the spontaneously hypertensive rat brain using electron spin resonance (ESR) imaging and in vivo L-Band ESR. *Hypertens Res* 2004; 27: 485-92.