

## iPRECIOマイクロインフュージョンポンプを用いた、より少ない用量での5-HT(セロトニン)投与による血圧降下作用の発見

Michigan State University, East Lansing MI  
Robert Patrick Davis, Gregory D. Fink, Bridget Seitz, Stephanie Watts

### 要約 /Summary

慢性的なセロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン; 5-HT)注入は、持続的な血圧(BP)の低下を引き起こします。この研究室では以前にも、SD (Sprague Dawley)ラットで7日間、浸透圧ポンプを経て投与される連続皮下注入法を用い、5-HTの降圧作用を検討しています。我々は、5-HTの投与量増加が、血圧の、より大きな減少に帰着すると仮定しました。5-HTまたは賦形剤(Vehicle)を、最初、一定の速度で48時間、iPRECIOポンプを介して皮下注入(s.c. : subcutaneous injection)投与し、その後、48時間投与を停止した後、最終的に45mg/kg/分まで段階的に高めたドーズ量を投与しました。平均動脈圧は、DSIラジオテレメトリーでモニターしました。本実験では、以前採用したよりもより少ない5-HT(セロトニン)投与量で、SD(Sprague Dawley)ラットにおける降圧効果が誘発される事が証明されました。更なる実験が進行中です。

### 序論 /Introduction

セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン、5-HT)は、消化管の腸クロム親和性細胞と中枢神経系の縫線核によって主に合成される血管作用性アミンです。5-HT(セロトニン)は、血管平滑筋の強力な収縮薬と言われ、能動的にセロトニン輸送体(SERT)によって受け入れられ、細胞内のモノアミン酸化酵素(MAO:monoamine oxidase)によって、不活性代謝産物(5-ヒドロキシインドール酢酸(5-HIAA))へと、急速に代謝されます。セロトニン輸送体(SERT)は、血小板、内皮細胞と平滑筋細胞に存在します。(1)

高血圧と5-HT(セロトニン)の関係を示唆する研究結果があります。これらの研究では、正常血圧のヒト・動物コントロールと比較し、高血圧のヒト・動物両モデルにおいて、血漿遊離5-HTの上昇が示唆され(2-3)、5-HT受容体拮抗剤が、選択された高血圧モデル動物において血圧を降下させることを示唆しています(4)。

高血圧動物の動脈は5-HTの収縮剤作用に異常に強い反応を示し、そして、選択的な5-HT再取り込み抑制因子は血圧を上昇させます(5-7)。この証拠にもかかわらず、最近の知見では、5-HTには、雄の酢酸デオキシコルチコステロン(DOCA)-塩高血圧性と正常血圧性(Sham)のラットにおいて、血圧を下げる驚くべき能力があることを証明しています。(8)

本研究は、5-HT送達率の増加が、SD(Sprague Dawley)ラットの血圧を、段階的により減少させる結果に帰着するかどうかについて調査しようと試みました。

### 材料と方法 /Materials and Methods

#### [テレメトリー]

イソフルラン麻酔下で、雄のSD(Sprague Dawley)ラット左鼠径部領域の1-1.5cmの切開を通じて、ラジオ・テレメトリー・デバイス(Data Sciences International, St. Paul, MN)を皮下に埋込みました。テレメトリー・デバイスのカテーテルを、腹膜壁から3-5mm遠位の左大腿動脈より導入し、先端のセンサー部を腹部大動脈へ進めました。ラットは、手術後3-4日の回復期間を経て、3-4日のベースライン測定を行いました。実験期間全体を通じて、平均動脈圧(MAP)と心拍数(HR)を記録しました。ラットは、腹腔内ペントバルビタールナトリウム(60mg/kg)を使用して安楽死させ、心臓穿刺によって全血を収集しました。胸部大動脈、頸動脈、頸静脈と胸部大静脈を、基礎的な5-HT測定のために取り出しました。

#### [iPRECIOマイクロインフュージョンポンプ]

類似した麻酔方式を使用した第2の手術中に、iPRECIOポンプ(Primetech, Tokyo Japan)を、頸部の基底に作成した小さな切開を通して埋込みました。鈍的剥離を用い、肩甲骨の間に小さな皮下ポケットを作成(図3)しました。ポンプを挿入し、切開した皮膚を閉じて縫合しました。回復後、5-HTまたは賦形剤を、各ポンプにロードしました。5-HT溶液は、percreatinine complexと1%アスコルビン酸(抗酸化剤(0.02g/ポンプ))を用い、各時点で二つの方法-ANOVA分析と事後検定によって評価しました。溶液は1N HClで溶かし、pHバランス(~7)を4N NaOHで調整しました。

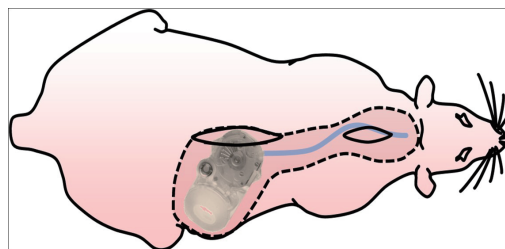


図3

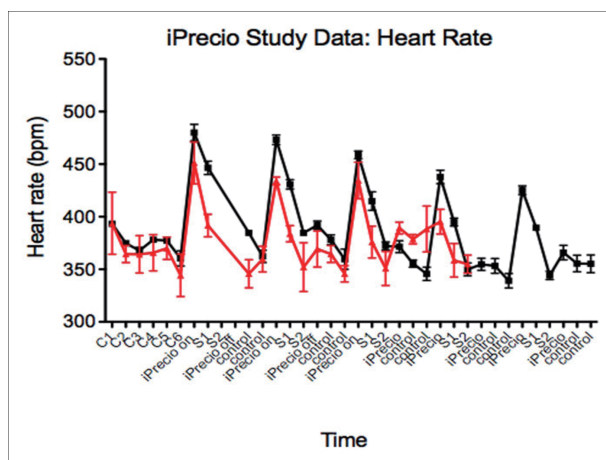


図1: 酢酸デオキシコルチコステロン(DOCA)-塩高血圧性ラット(3n: 赤線)とシャム正常血圧性ラット(5n:黒線)における、慢性的な5-HT投与の心拍数(HR)への影響 C=control, S=infusion

結果 /Results

iPRECIOマイクロ・インフュージョンポンプは、我々の研究室に、5-HTの増加させた投与量を、単一・覚醒下・自由活動下動物に投与する作用を調査するための革新的なツールを提供しました。我々は、以前の用量と比較し、SD(Sprague Dawley)ラットに対する5-HTの増加させた用量を投与することにより、血圧は、次第により大きく減少する結果に帰着することを仮定しました。この実験では、増加させた5-HTが血圧を次第に降下させることはなく、SD(Sprague Dawley)ラットにおいて降圧作用を誘発するには、より少ない用量の5-HTでよいことが証明されました。(図1・2) これらの知見から、将来の実験では、より少ない用量でよいこと、特に特定の5-HT作用薬(アゴニスト)に焦点を定めた実験にとって意味があることが示唆されます。

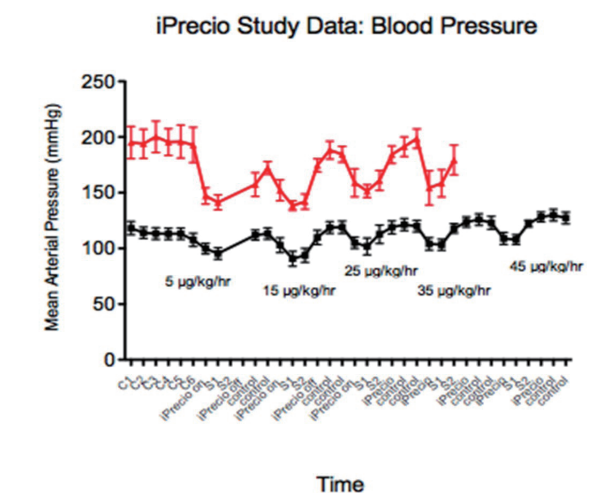


図2: 酢酸デオキシコルチコステロン(DOCA)-塩高血圧性ラット(3n: 赤線)とシャム正常血圧性ラット(5n:黒線)における、慢性的な5-HT投与の平均血圧(MAP)への影響 C=control, S=infusion

討論 /Discussion

この研究室は、5-HTに対する用量反応の代わりに、同じ価値の効果を、以前行った時よりも、より少ない用量で成し遂げることが可能であることを発見しました。この発見は、自由活動下モデルにおいては、既存の技術では不可能でした。iPRECIOは、既存のインフュージョン方法からの技術的な進歩であることが証明されたと共に、この研究室が、生理学的な検索能力と動物福祉を向上させる一方で、化合物・労働・経費を節約させる意思決定を前進させることを可能にしました。この研究室はiPRECIOポンプの性能に満足して、更なる実験でこの製品を使用する計画です。

- Ni, W. et al. The Serotonin Transporter is Present and Functional in Peripheral Arterial Smooth Muscle. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2004. 43: 770-781.
- B. Brenner, J.T. Hamey, B.A. Ahmed, B.C. Jeffus, R. Unal, J.L. Mehta, and F. Kilic. Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter. *J Neurochem*. (2007) 102: 206-215.
- Carrasco G, Cruz MA, Gallardo V, Miguel P, Lagos M, and Gonzalez C (1998) Plasma and platelet concentration and platelet uptake of serotonin in normotensive and preeclamptic pregnant women. *Life Sci* 62: 1323-1332.
- Brenner B, Hamey JT, Ahmed BA, Jeffus BC, Unal R, Mehta JL, Kilic F (2007) Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter. *J Neurochem* 102: 206-215.
- Watts SW and Fink G (1999) 5-HT<sub>2B</sub>-receptor antagonist LY-272015 is antihypertensive in DOCA-salt-hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 276: 944-952.
- Watts SW (2005) 5-HT in systemic hypertension; foe, friend or fantasy? *Clin Sci* 108: 399-412.
- Amsterdam JD, Garcia-Espana F, Fawcett J, Quitkin FM, Reimherr FW, Rosenbaum JF, and Beasley C (1999) Blood pressure changes during short-term fluoxetine treatment. *J Clin Psychopharmacol* 19: 9-14.
- Diaz, J. Ni, W. Thompson, J, King A, Fink G, Watts SW. (2008) 5-hydroxytryptamine lowers blood pressure in normotensive and hypertensive rats. *JPET*. 325: 1031-1038



●お問合せ先(iPRECIO総発売元・DataSciences社日本総代理店):  
**プライムテック株式会社**  
 東京都文京区小石川 1-3-25 小石川大国ビル9F  
 (東京)Phone:03-3816-0851 (大阪)06-6310-8077  
 www.primetech.co.jp infusion@primetech.co.jp



2012.07 (rev01)





thoracic vena cava were harvested for basal 5-HT measurements.

#### iPRECIO® micro infusion pump:

During a second surgery using a similar anesthetic regimen, the iPRECIO® pump (Primetech, Tokyo Japan) was implanted through a small incision made at the base of the neck. Using blunt dissection a small subcutaneous pocket between the scapulae was created. (Figure 3) The pump was inserted and the skin sutured closed. Post recovery 5-HT or vehicle was loaded on each pump. The 5-HT solution was assessed by a two-way mixed design ANOVA and post-hoc testing at each time point with percreatinine complex and 1% ascorbic acid, antioxidant (0.02 g/pump). The solution was dissolved in 1N HCl, and a pH-balance (~7) is achieved with 4N NaOH.

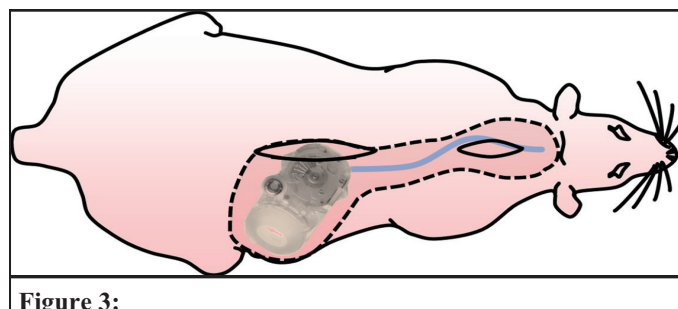


Figure 3:

#### Results

The iPRECIO® micro infusion pump offered our laboratory an innovative tool to investigate the effects of delivering increasing doses of 5-HT to a single, conscious, freely moving, animal. We hypothesized that delivery of increasing doses of 5-HT to the S.D. rat would result in progressively greater reductions in BP when compared to the previous dose(s). This study demonstrated that increasing 5-HT did not progressively lower BP and that a smaller dose of 5-HT is required to elicit a hypotensive effect in the S.D. rats. (Figure 1& 2) These findings suggest that future experiments can be conducted at a lower dose, and is particularly relevant to studies focused on specific 5-HT agonists.

#### Discussion

This lab did discover that instead of a dose response to 5-HT, we were able to achieve an equivalent effect at a much lower dose than had been previously studied. This discovery would not have been possible in a fully ambulatory model with existing technology.

The iPRECIO® proved to be a technologic advancement from existing infusion methods and enabled this lab to make decisions moving forward that will save compound, labor and money while increasing physiologic relevance and overall animal welfare. This lab is pleased with the performance of the iPRECIO® pump and intends to use this product in further study.

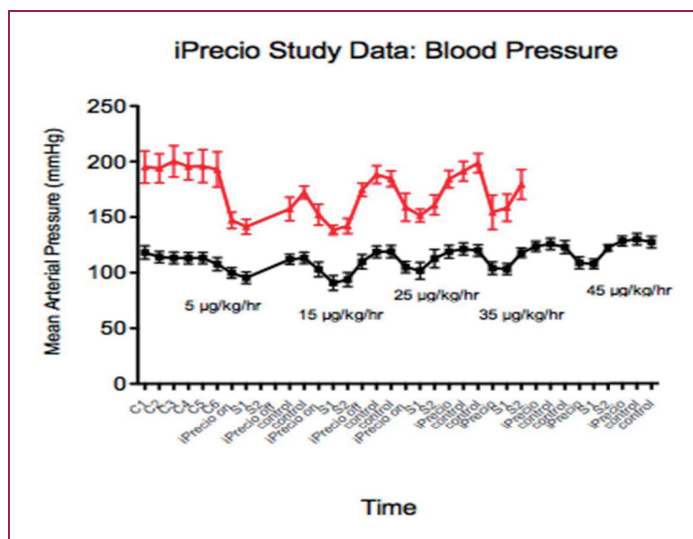


Figure 2: . Effect of chronic 5-HT administration on mean arterial pressure (MAP) in 3 DOCA-salt hypertensive rats (red) and 5 sham normotensive rats (black).

1. Ni, W. et al. The Serotonin Transporter is Present and Functional in Peripheral Arterial Smooth Muscle. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2004. 43: 770-781.
2. Brenner, J.T. Harney, B.A. Ahmed, B.C. Jeffus, R. Unal, J.L. Mehta, and F. Kilic. Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter. *J Neurochem*. (2007) 102: 206-215.
3. Carrasco G, Cruz MA, Gallardo V, Miguel P, Lagos M, and Gonzalez C (1998) Plasma and platelet concentration and platelet uptake of serotonin in normotensive and preeclamptic pregnancies. *Life Sci* 62: 1323-1332.
4. Brenner B, Harney JT, Ahmed BA, Jeffus BC, Unal R, Mehta JL, Kilic F (2007) Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter. *J Neurochem* 102: 206-215.
5. Watts SW and Fink G (1999) 5-HT<sub>2B</sub>-receptor antagonist LY-272015 is antihypertensive in DOCA-salt-hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 276: 944-952.
6. Watts SW (2005) 5-HT in systemic hypertension; foe, friend or fantasy? *Clin Sci* 108: 399-412.
7. Amsterdam JD, Garcia-Espana F, Fawcett J, Quitkin FM, Reimherr FW, Rosenbaum JF, and Beasley C (1999) Blood pressure changes during short-term fluoxetine treatment. *J Clin Psychopharm* 19: 9-14.
8. Diaz, J. Ni, W. Thompson, J. King A, Fink G, Watts SW. (2008) 5-hydroxytryptamine lowers blood pressure in normotensive and hypertensive rats. *JPET*. 325: 1031-1038