

氏 名	柴 加奈子
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学 位 記 号 番 号	博理工甲第 714 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	ラット嗅球血流の交感神経性調節とその加齢変化
論 文 審 査 委 員	委員長 教 授 町田 武生 委 員 教 授 井上 金治 委 員 教 授 坂井 貴文 委 員 准教授 小林 哲也

論文の内容の要旨

【序論】

脳血管は、上頸神経節に起始する交感神経性アドレナリン作動性神経の投射を受けることが報告されている。これまでに所属研究室において、ラット大脳皮質血流に及ぼす頸部交感神経幹電気刺激の効果が調べられており、低頻度刺激では β アドレナリン受容体を介する増加反応が、高頻度刺激では一過性の増加に続き α アドレナリン受容体を介する減少反応が起こることが明らかにされている。これらの反応は約 30 か月齢の老齢ラットでも成熟ラットと同様に維持される。

嗅球血管にも交感神経の投射があるが、それらが同様の血管拡張および血管収縮を調節するか否かについては調べられていない。申請者はすでに大脳皮質と嗅球との間に、脳血流調節の局所的な多様性がある可能性を示唆した(Shiba et al., 2006)。これは、ニコチン静脈内投与によって誘導される大脳皮質血流反応は、血液脳関門を通らない交感神経節遮断薬(ヘキサメソニウム)には影響を受けないことが報告されていたのに対し、嗅球血流反応はヘキサメソニウムにより消失したためである。嗅球血管に投射する交感神経にあるニコチン性受容体の活性化がニコチン誘導性反応に関与する可能性があり、嗅球血流に対する自律神経性調節の研究が重要である。また、嗅球においては、アルツハイマー病をはじめとする老化関連神経変性疾患の初期から典型的組織病変が見られ、嗅覚障害も生じることから、嗅球は大脳皮質よりも加齢の影響を受けやすい可能性が考えられる。

そこで本研究では、ラット嗅球血流に及ぼす頸部交感神経幹電気刺激の効果とその加齢変化を調べることを目的とした。

【方法】

実験には、ウレタンで麻酔した 4-6 か月齢(成熟群)と 18-21 か月齢(老齢群)の Wistar 系雄ラットを用いた。人工呼吸下で呼吸と体温を生理的範囲内に維持して実験を行った。大腿動脈において全身平均動脈血圧を連続的に記録した。両側の頸部交感神経幹を露出し、迷走神経と大動脈降圧神経を分離して切断した。その切断端を電極に乗せ、0.5 ms の矩形波電気刺激を、10 V の刺激強度、種々の頻度で 1 分間一側性あるいは両側性に与えた。開頭後、嗅球背側表面(B +7.0, L 1.5)にレーザードップラー血流計を設置し、嗅球血流を測

定した。また、CCD カメラを用いて、嗅球表面上の軟膜動脈径の変化を観察した。さらに、 α アドレナリン受容体遮断薬(フェノキシベンザミン)を静脈内に投与した後に、同様の電気刺激を行ったときの嗅球血流反応を調べた。

【結果と考察】

成熟群において、嗅球血流は、20 Hzの頸部交感神経幹両側刺激により、刺激開始後10秒以内に減少し始め、刺激終了時に $25\pm 3\%$ 低下した。同様の刺激により、嗅球の軟膜動脈径が約10%減少したことから、嗅球の血管収縮に伴って嗅球血流が減少することが示された。嗅球血流は、5-30 Hzの刺激により刺激頻度依存性に減少し、30 Hz刺激時に $31\pm 4\%$ 減少した。20-30 Hzの高頻度刺激では、嗅球血流は血圧の変化に独立して減少した。2-10 Hzの低頻度刺激では、半数例において、刺激開始直後のわずかな血圧上昇に伴う一過性の血流増加が起こり、その後、減少した。20 Hz一側刺激は、両側刺激と同様に嗅球血流を減少させた。同側刺激に対する反応の大きさは、対側刺激よりもわずかに大きく、両側刺激よりもわずかに小さい傾向があった。この結果は、一側の頸部交感神経節に起始する神経線維が同側だけでなく対側の脳血管にも投射するという組織化学的報告に合致する。また、20 Hz両側刺激による嗅球血流反応は、フェノキシベンザミン前投与により消失したことから、 α アドレナリン受容体を介する反応であることが示された。

これまで交感神経による収縮性支配は脳血管では一般に弱いと言われていたが、嗅球では大脳皮質に比べて強いことが明らかとなった(30 Hz刺激時、31%減少 vs. 14%減少)。申請者が報告したニコチン投与による嗅球血流増加反応のメカニズムの一つとして、ニコチンが血管周囲のアドレナリン作動性神経終末からのノルアドレナリン放出を抑制する可能性が考えられる。

老齢群においても交感神経刺激により嗅球血流は減少したが、成熟群と比較すると反応の特徴に違いが見られた：1) 最小の有意な反応を起こすのに、より高頻度の刺激が必要であった；2) 各刺激頻度に対する反応の大きさは、成熟群の半分程度であった；3) より低頻度で反応が最大に達した。この結果から、嗅球は大脳皮質よりも老化に対する抵抗性が低いことが予測される。嗅球血流の調節機能の低下は、ヒトやラットで報告されている、嗅球体積、嗅細胞数、嗅覚感受性の加齢に伴う低下に関与する可能性がある。

【結語】

嗅球血管は交感神経により α アドレナリン受容体を介して収縮性に調節されること、この調節機能は約20か月齢の老齢ラットで低下することが示された。

論文の審査結果の要旨

当該論文審査委員会は、平成 21 年 2 月 17 日 16 時より理学部 9 番教室において、多数の聴衆を得て公開により論文発表会を開催した。

申請者は脳自体を制御する神経機構の解析に関心を抱き、脳に酸素と栄養を供給する血流の自律神経による調節の仕組みとその加齢・老化の解明に取り組んできた。

脳血管は上頸神経節に起始するアドレナリン作動性交感神経の投射を受けることが知られ、頸部交感神経幹の電気刺激による大脳皮質血流は、低頻度刺激では β アドレナリン受容体を介する増加反応が起こる一方、高頻度刺激では一過性の増加のあと α アドレナリン受容体を介する減少反応が見られる。しかし、これらの実験は技術的に極めて困難で、得られた結果の再現性に問題がある場合が多く、この分野の研究は進展していない。

申請者は、実験技術的な問題をさまざまな工夫により克服して、刺激により変動する血圧と血流量とを区別して制御する方法を確立した上、先ず、嗅覚情報の脳への入口である嗅球の血流調節の神経支配の解析を試みた。動物界全体を考えれば、嗅覚は生存と生殖に不可欠な感覚であり嗅球は重要な位置にある。アルツハイマー病など老年性の神経変性疾患も嗅覚系に先ず生じる。老年性の嗅覚障害は、脳・神経の加齢・老化が嗅覚系に現れた一例である。

嗅球には、嗅神経が入る嗅糸球層に大脳基底部に起始するアセチルコリン作動性神経が、動脈に翼口蓋神経節からの副交感神経が、それぞれ投射している。この動脈は前大脳動脈より分岐したもので、一方、嗅糸球層には毛細血管が分布している。ラットに 30~300 μ g/kg のニコチンを静脈内投与しニコチン性アセチルコリン受容体を刺激したところ、血圧上昇とともに用量依存的に嗅球血流が増した。血流増大は血圧上昇の二次的反応ともみられるため、ニコチンを内頸動脈内に投与し、血圧上昇を起こさずに血流量を増すことに成功した。つまり、ニコチンが脳または頭蓋のニコチン性アセチルコリン受容体に作用することによって嗅球血流を増加させたと考えられる。交感神経節遮断薬のヘキサメソニウムを静脈内投与すると、ニコチンによる血流増大が抑制されたことから、嗅球でのこの血流増大がニコチン性アセチルコリン受容体を介していることが明らかとなった。

このとき、大脳皮質血流もニコチン投与により増大するが、同じ交感神経節遮断薬を投与しても影響は受けない。大脳皮質と嗅球とでは脳血流調節機構に違いがあり、特に嗅球血流の自律神経性調節には大脳とは異なるしくみが想定された。そこで、嗅球血流に及ぼす頸部交感神経幹電気刺激の効果を加齢変化とともに調べた。

ウレタン麻酔下でラットの頸部交感神経幹を両側とも露出させ、迷走神経と大動脈降圧神経を分離切断し、切断端に電極を載せ、0.5ms の矩形波電気刺激を刺激強度 10V でさまざまな頻度により 1 分間一側性または両側性に与えた。開頭後、嗅球背面の特定位置にレーザードップラー血流計を置き、嗅球血流を測定した。また、嗅球表面の軟膜動脈径を CCD カメラで測定した。

成体ラットの嗅球血流は、頸部交感神経幹への 20Hz 両側刺激により 10 秒以内に減少し始め、刺激終了時に 25% 減少した。同様の刺激により嗅球軟膜動脈径は 10% 減少したことから、嗅球の血管収縮に伴って嗅球血流が減少すると考えられた。嗅球血流は 5~30Hz の刺激で刺激頻度依存的に減少し、30Hz 刺激時に 31% 減少した。2~10Hz の低頻度刺激では刺激開始直後にわずかな血圧上昇が見られ、これに伴う一過性の血流増加が見られ、その後減少する例があったが、20~30Hz の高頻度刺激では血圧変化とは独立の血流減少があった。

20Hz 一側刺激でも血流減少を生じたが、同側刺激が対側刺激よりやや大きい減少を示し、この結果

は、一側の頸部交感神経節に起始する神経繊維が同側だけでなく対側の脳血管にも投射することを示した。20Hz 両側刺激による嗅球血流反応は、 α アドレナリン受容体遮断薬フェノキシベンザミンの前処理により消失したことから、 α アドレナリン受容体を介する反応であることが知られた。

これまで、交感神経による血管収縮性支配は脳血管では弱いとされてきたが、嗅球では 31% 減少とかなり顕著であり、申請者が既に報告したニコチン投与による嗅球血流増加反応のメカニズムと同様、ニコチンが血管周囲のアドレナリン作動性神経終末からのノルアドレナリン放出を抑制する可能性が示唆された。

一方、老齢ラットでも、交感神経刺激により嗅球血流は減少したが、成体ラットと比較して、反応を起こさせるのに高頻度の刺激が必要であり、各刺激頻度に対する反応の大きさも半分程度になっていることなど、老化に伴う反応の低下が知られた。

このように、当該の学位申請論文は、脳血流の自律神経による調節機構に関して、嗅覚情報の脳への入口である嗅球の血流調節の交感神経性調節の解析に取り組み、 α アドレナリン受容体を介する収縮性調節を明らかにしたものである。

その内容は、定評ある国際誌に既に 2 報の第 1 著者原著論文として報告され、また、関連の共著原著論文 1 編を国際誌に発表している。研究の端緒となったニコチン性アセチルコリン受容体刺激の研究は、2004 年の日本自律神経学会での発表で高く評価され、当該学会誌への原著論文ないし総説を招待掲載する栄誉を与えられている。

以上より、当論文審査委員会は、当該の学位申請論文は、博士論文として十分に相応しいものと判断した。