

無麻酔・無拘束ラットの
循環系に対する
アミノ酸の中樞作用

竹本 裕美

①

無麻酔・無拘束ラットの
循環系に対する
アミノ酸の中樞作用

竹本裕美

目次

序文	1
第 I 章 無麻酔・無拘束ラットの血圧に 中枢性に影響を与えるアミノ酸	6
はじめに	6
1. 実験方法	7
2. 実験結果	9
3. 考察	10
4. 小括	12
第 II 章 アミノ酸の中枢内投与による血行動態の変化	13
はじめに	13
1. 実験方法	15
2. 実験結果	21
2-1. 降圧アミノ酸による血行動態の変化	21
2-2. 昇圧アミノ酸による血行動態の変化	25
3. 考察	31
3-1. 血行動態について	31
3-2. 各アミノ酸の中枢内での生理的役割	38
4. 小括	42

第三章 昇圧アミノ酸による血圧の中枢性制御機構	43
はじめに	43
1. 実験方法	45
2. 実験結果	46
3. 考察	49
4. 小括	53
総括	54
結語	56
謝辞	59
引用文献	60

— 序文 —

覚醒行動下の動物の循環系は、突然血圧が低下することもなく、必要に応じて必要な組織に血流が再分配されることによって円滑に調節されている。

従来、比較的大きな動物でしか行えなかった局所血流の測定が、近年のエレクトロニクスの発展に伴い、実験動物として取扱いが容易なラットでも可能になり、覚醒下のラットの行動時においても血流の再分配に関する研究が行われるようになった。入内島らは、電磁流量計による血流測定法で、ラットが毛づくろいをするときは後肢から頸動脈へ血流をシフトさせ、ホイールでの自発走行時には逆方向の頸動脈から後肢へのシフトが起きることを観察した(1, 2)。血圧は、毛づくろい時に10mmHg上昇し、自発走行に際しては殆ど変わらなかった。入内島はこの現象を、Konrad Lorenzが提唱した fixed action pattern の概念を用いて考察した(3)。fixed action pattern とは、動物の行動観察から、本能的、常同的、種特異的な協調的動作様式に対して作られた概念で、内的あるいは知覚刺激によって生じる基本的な行動様式を保持したままの一連の動作をさす。すなわち、軽い意図的なしぐさから驚愕反応までの異なる程度の一連の動作で、reflexより複雑である(4)。入内島はこの概念を行動にともなう循環系の常同的な変化にも拡張して用い、循環系は局所血流

が増えるときに、フィードフォワード的に fixed action pattern を発動し、他の部位での血流を減少させることによって、血圧の低下を防ぐものと考えた(3)。

末梢レベルでの主たる血圧調節が、おもに血管と心臓に走行する自律神経によって行われることから、fixed action pattern generator は中枢に存在すると考えるのが妥当であろう。そうであれば、この generator の実体は、シナプスを介して連なる neural network と言うことになる。

循環中枢については、麻酔した動物の延髄を電氣的に刺激すると血圧を上げる部位と下げる部位があること(5)から、延髄を中心として存在すると考えられてきた(6)。さらに、最近、化学物質や neurotransmitter を中枢に微量注入する実験から、視床下部、橋、小脳、延髄等に広範に血圧を変化させる部位があり、延髄腹外側部に脊髄への final common pathway を送る部位があることがわかってきた(7-10)。また、現在、循環調節の研究は、麻酔動物を使った圧受容体反射について精力的に行なわれている。この反射の出力部として近年脚光を浴びている延髄腹外側の吻側部は、視床下部や体性感覚神経(somatic afferents)からも多くの入力を受けている(11)。したがって、循環の調節には多くの neural circuits が関与していることに疑いの余地はなく、fixed action pattern generator として neural network の存在を考えることも可能であろう。

一方、neural circuit や network で主役をなす neurotransmitter については、近年、生化学的に多くの物質が同定されつつあるものの、中枢内での neuron の数やその機能の複雑さを考慮すれば、McGeer ら (12) が述べているように、既知物質だけでは説明がつかず、まだ多くの未知の neurotransmitter が存在すると考えられる (13)。たとえば、ノルアドレナリンは、交感神経終末部から遊離されるカテコールアミンであるが、中枢神経にもノルアドレナリン含有ニューロンが多数あり、アドレナリン α_2 受容体を介して、降圧的に作用することが知られている。しかし、無麻酔下の SHR (spontaneously hypertensive rat: 高血圧自然発症ラット) (14) あるいは正常血圧ラットの麻酔による降圧時 (15) の脳脊髄液中ノルアドレナリン濃度は必ずしも血圧の変化を反映していない。このように既知の限られた物質のみで血圧調節について論ずるには限界があるように思われる。

また、血圧は総末梢血流抵抗と心拍出量によって規定される物理的指標であり、循環系の中枢性制御を論ずるには、中枢から自律神経あるいは液性因子を介して変化する血流レベルでのパラメーターを計測することが不可欠である。

そこで本研究では、まず、血液脳関門によって末梢血液とは隔てられている脳脊髄液中に、末梢血液と比べて濃度が低く抑えられている種々アミノ酸 (16) を投与する実験系を

確立し、この系を用いて、無麻酔動物の循環系に対する中枢性化学刺激物質としての可能性を求めた。そして、さらに、アミノ酸による血圧調節の作用機序を血流レベルで解析し、中枢性制御への関与を考察した。

γ -アミノ酪酸 (GABA)、グルタミン酸は neurotransmitter として近年認められるようになったアミノ酸で、動物の脳室または大槽に注入したとき GABA は血圧を下げ (17)、グルタミン酸 (18) は血圧を上げる。脳室は数 cm H₂O の陽圧を受けており、脳脊髄液は脳室周囲の脈絡叢で血液から濾過・分泌により生成され、大槽を経由してクモ膜下腔へと流れ静脈系に吸収される (19)。したがって、本研究でも、脳室への逆流が起こりにくく、その上延髄周辺への拡散が期待される大槽内に慢性的にカニューレを留置した。そして、この大槽内にカニューレを通してアミノ酸を注入したときの血圧の変化を観察して、L-プロリン、L-アルギニン等で昇圧作用 (20、21)、そして GABA、グリシンと共に L- α -アラニン、L-セリン等で降圧作用 (21、22) が見られることを明らかにした。

さらに、これらの血圧の変化に対する局所血流の寄与を、無麻酔・無拘束ラットで解析し、昇圧時は内臓域の血管が収縮し (23-25)、降圧時は後肢域の血管が弛緩すること (25、26) を明らかにすることによって、アミノ酸による循環系への中枢作用が一様でないことを示した。また、昇

圧時のL-プロリンの徐脈作用は圧反射を介するもので（
24）、同時にヴァゾプレッシンの遊離を伴っており（27）、
L-アルギニンの交感神経を介する昇圧作用（23）と異なる
機序が関与していることを示した。これらの知見は、循環系
に対する中枢性制御機構に、交感神経を介する pathway
と視床下部-脳下垂体を介する pathway が機能的に存在し、L-
プロリンあるいはL-アルギニンによって作動し得ることを
示している。

これらの研究の詳細を、次の3章にわたって述べる。

第 I 章 無麻酔・無拘束ラットの血圧に中枢性に 影響を与えるアミノ酸 (20-22)

はじめに

アミノ酸の脳脊髄液濃度は血漿濃度の約 $1/3$ で、システイン、プロリン、トリプトファン等、種類によっては、検出限界程度しか含まれていない (16)。これらのアミノ酸の濃度勾配は、血液・脳関門によって保たれていると思われるが、著者は、中枢内でこれらのアミノ酸にタンパク質の前駆体以上の役割があるために、中枢内濃度が低いと考えた。そして、ラットの血液・脳関門の脳側にこのアミノ酸を直接作用させて、血圧に対する中枢作用を観察した。投与方法は、より生理的条件に近い、無麻酔・無拘束下でも行なえる脳室内注入とし、大槽内に慢性的にカニューレを留置した。大槽内に注入した溶液は、血圧に関する中枢のある延髄周辺に局限して拡散すると期待される。アミノ酸の注入量は血圧変化を確実に観察するために、最高 $10 \mu\text{モル}/10 \mu\text{l}$ (1 M)、難溶性の時は飽和濃度とした。

1. 実験方法

大槽内カニューレ

雄性Wistarラット(250-400g)をチアミラール50mg/kg, i. p. で麻酔後、大槽内と大動脈末端部にポリエチレン製カニューレを挿入し固定した(図2, 図3)。カニューレ作製の詳細については引用文献14を参照頂きたい。大槽内カニューレの先端はできるだけ吻側に向けた。

血圧の観察

ラットが手術から充分回復した2-3日後、無麻酔・無拘束の状態で飼育用プラスチック容器に入れたまま(図4)、人工脳脊髄液(註)に溶解した、最高1M、難溶性の時は飽和濃度の22種類のアミノ酸溶液(表1)10 μ lを大槽内カニューレに注入して、動脈血圧の変化をスクリーニングした。測定装置については、第II章の1. 実験方法に記した。

(註)人工脳脊髄液:

グルコース 0.335g、尿素 0.18g、NaCl 3.655g、KCl 0.11g、MgCl₂ 0.12g を485mlの蒸留水に溶解後、100°C、40分間滅菌して、7% NaHCO₃溶液を加えて500mlとし、さらに、メンブレンフィルター(0.2 μ m)で濾過した溶液。

表1 血圧に対する作用のスクリーニングのために大槽内に
注入した22種類のアミノ酸の種類と量

L- α -alanine 10 μ mol	L-leucine 1 μ mol
L-arginine 10 μ mol	L-lysine 10 μ mol
L-asparagine 1.4 μ mol	L-methionine 1 μ mol
L-aspartic acid 0.3 μ mol	L-phenylalanine 0.18 μ mol
L-cysteine 2 μ mol	L-proline 10 μ mol
GABA 10 μ mol	sarcosine 10 μ mol
L-glutamic acid 59 nmol	L-serine 10 μ mol
L-glutamine 2 μ mol	taurine 5 μ mol
glycine 10 μ mol	L-tryptophan 56 nmol
L-histidine 5 μ mol	L-tyrosine 25 nmol
L-isoleucine 3 μ mol	L-valine 7.6 μ mol

2. 実験結果

L-プロリン (10 μ モル)、L-アルギニン (10 μ モル)、L-システイン (2 μ モル)、L-アスパラギン酸 (0.3 μ モル)、L-アスパラギン (1.4 μ モル) で、10-30分間の持続的な昇圧作用が得られ、グリシン、GABA、L-セリン、L- α -アラニン、サルコシン (各10 μ モル)、タウリン (5 μ モル) で30-60分間の持続的な降圧作用を得た (図1-1)。

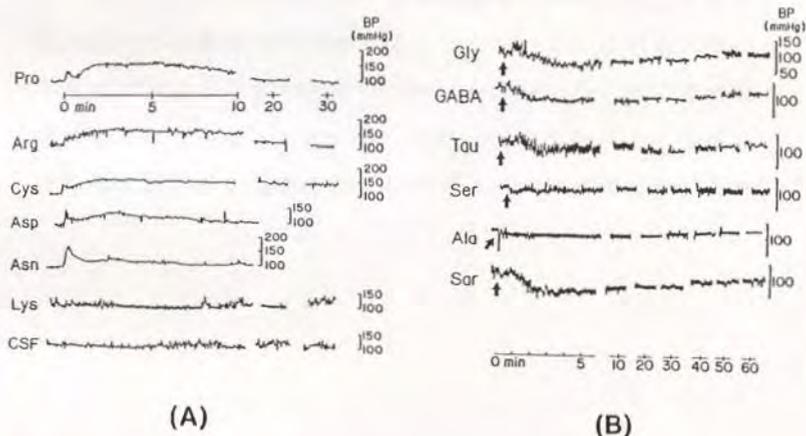


図1-1 アミノ酸の大槽内投与による血圧の変化

アミノ酸の注入量は図1-2に示す量と同じ。昇圧時 (A) と降圧時 (B) でタイムスケールが異なることに注意。

3. 考察

本スクリーニングにより、すでに中枢性に血圧を変化させることが報告されているグリシン、GABA、タウリン、L-アスパラギン酸、L- α -アラニン(15, 17, 28, 29)以外のアミノ酸である、L-プロリン、L-アルギニン、L-システイン、L-セリン、サルコシンにも血圧を変化させる中枢性作用があることが明らかになった(図1-2)。L-グルタミン酸の脳室内投与でも、血圧が変化することが報告されている(17, 29)が、本スクリーニングで用いた飽和溶液(59 nモル)では観察されなかった。これは、注入量が作用部位で有効量に達していないためと思われる。中枢内にはまだ多くの未知の neurotransmitter が存在すると考えられている(12)が、既知物質のなかにも、中枢内でその役割がある可能性を、本スクリーニングにより示した。

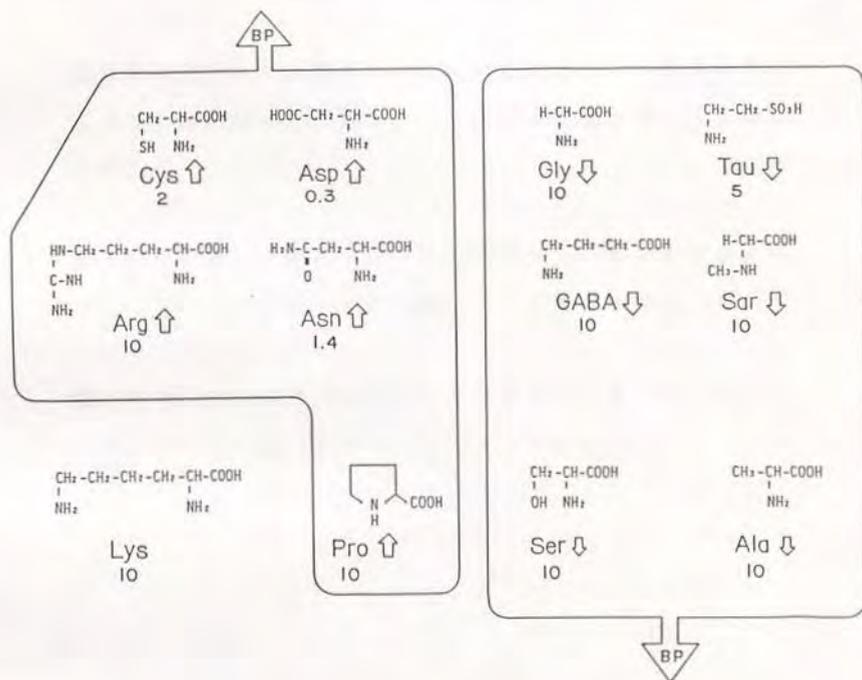


図 1-2 アミノ酸の構造式とスクリーニングの結果

BP: blood pressure. アミノ酸の下の数値は注入量を示す。

単位は μM 。矢印は上向きで上昇、下向きで下降を示す。

小さな矢印は作用が小さいことを示す。

4. 小括

---小括---

慢性的に留置した大槽内カニューレに次のアミノ酸を注入したとき、無麻酔・無拘束ラットの血圧が変化することを明らかにした。

昇圧作用：L-アルギニン、L-プロリン、L-システイン、
L-アスパラギン酸、L-アスパラギン

降圧作用：GABA、グリシン、タウリン、L-セリン、
L- α -アラニン、サルコシン

第 II 章 アミノ酸の中枢内投与による血行動態の変化 (23-26)

はじめに

数種のアミノ酸を無麻酔・無拘束ラットの大槽内に注入すると血圧が変化することを第 I 章で述べた。血圧は心拍出量と末梢抵抗によって規定される物理量で、中枢を刺激して血圧が変化するまでには、心臓あるいは血管レベルでのこれらの両因子の変化が寄与している。したがって、循環調節の研究ではこのレベルでの中枢による作用を検討することが不可欠である。末梢抵抗の変化を反映する局所血流量に関しては、最近、無麻酔・無拘束ラットでも測定が可能になった(3)。そこで、本章では、この方法を用いて、アミノ酸刺激により中枢性に血圧を変化させたときの心拍数と局所血流を同時に記録し、中枢を介する心臓・血管への作用を検討した。

局所血流の変化を観察するアミノ酸としては、降圧作用を示したアミノ酸のうち、neurotransmitter として認められている GABA と、認められつつあるグリシン、昇圧作用を示したアミノ酸のうち、中枢でも NO の基質として注目を集めている L-アルギニン(30)と予備実験で徐脈作用を示した L-プロリンを用いた。

局所血流は、血流量の多い 3 箇所の血管、上腸間膜動脈、

大動脈末端、腎動脈で測定した。ラットの安静時におけるこの3箇所の血流量の和は、心拍出量の約60%である。

1. 実験方法

血流測定用プローブの装着と血圧測定用及び薬物注入用

カニューレの挿入

大槽内にカニューレを挿入（詳細は第1章の実験方法を参照）後一週間以上経ったラット（図2）に再び麻酔（チアミラール 50mg/kg, i.p.）を施し、励磁用コイルを内蔵した電磁流量計用プローブを血管周囲に固定し（図3）、他端を後頭部に導出・縫着した。同時に、血圧及び心拍数測定用カニューレを大動脈末端部または総頸動脈に、薬物注入用カニューレを頸静脈に留置した（図3）。流量計用プローブは、上腸間膜動脈、腎動脈、大動脈末端のいずれか一箇所に着し、一匹のラットに一個埋め込んだ。

カニューレはポリエチレンチューブsp10とsp19（夏目製作所）を熱風下、溶融接続して作製した。

循環パラメーターの観察

ラットが餌・水を摂取するほどに回復した手術後2-3日に、飼育用の透明なプラスチック容器にいたままの状態（図4）で、アミノ酸を大槽内に注入後、局所血流・血圧・心拍数を同時に記録した。

血流測定用プローブの校正 (31)

ラットをベントバルビタールで腹腔内麻酔 (30mg/kg) 後、腹部大動脈を露出して内径がフィットする部位にプローブをはめ込み、その部位より末梢側の血管分枝と大動脈を結紮した。大動脈の末梢側から心臓方向に既知量の生理食塩水を注入し、レクチコーダに流量を記録して、記録紙上の波高と流量の関係を求めた。各プローブについて予め校正値を求めておき、実際の記録では、血流を一時的に止めてゼロ点を決め (ゼロ点校正)、校正値から流量を算出した。

局所末梢血流抵抗

大動脈血圧を局所血流で除して求めた。

アミノ酸の注入量

GABA、グリシン、L-プロリンは $10 \mu\text{モル} / 10 \mu\text{l}$ 、L-アルギニンは $5 \mu\text{モル} / 10 \mu\text{l}$ とした。

自律神経節遮断

ヘキサメトニウムより効力が強い (32, 33) クロルイソソダミン 2.5mg/kg (bolus injection) を静脈カニューレに注入した。

調圧神経の切除

ラットにプローブを埋め込む3-5日前に、Kriegerの方法(34)に従って行なった。大槽内カニューレ留置後、充分回復したラットをチアミラルで麻酔(50mg/kg, i.p.)後、頸部を露出して、大動脈神経とその分枝を切断し、内頸動脈起始部の洞神経を剝離した。

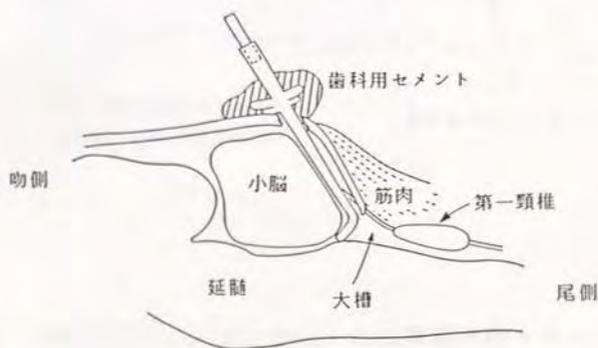


図2 ラットの矢状面における大槽内カニューレの挿入位置

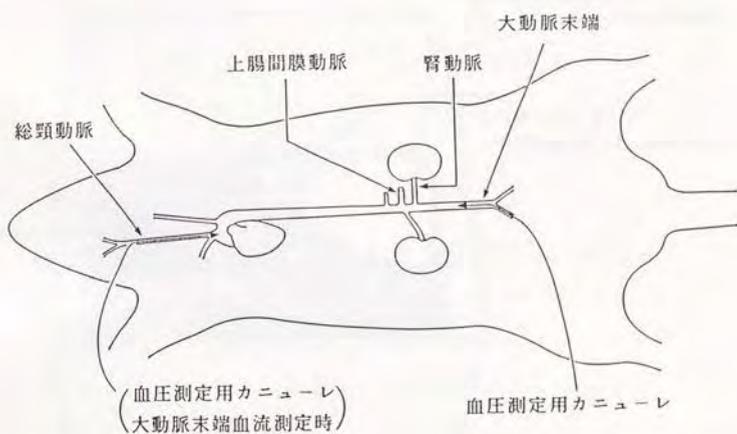


図3 流量計用プローブと血圧・心拍数測定用カニューレの
 装着・挿入位置

流量計用プローブは上腸間膜動脈、腎動脈、大動脈末端のい
 ずれか一箇所装着した。

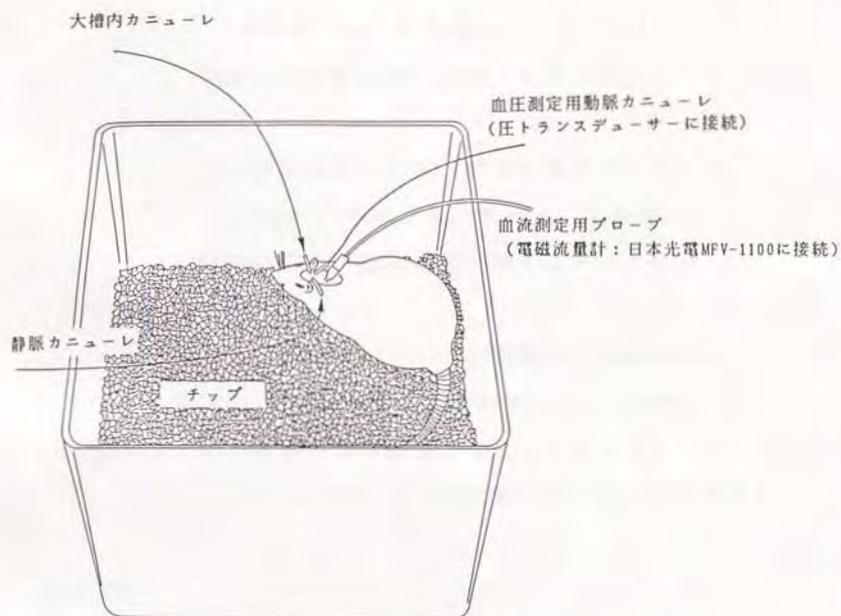


図4 無麻酔・無拘束ラットにおける循環パラメーターの測定

循環パラメーターの測定装置

血圧測定装置：

圧トランスデューサー（オリエンテック

M P U - 0 . 5 - 2 9 0 - 0 - III）

増幅器（日本光電 A P - 6 2 1 G）

血流測定装置：

血流測定用プローブ（日本光電 F X シリーズ）

内径：1 mm, 1.5 mm, 2 mm.

電磁流量計（日本光電 M F V - 1 1 0 0）

心拍数測定装置：

血圧脈波をオペアンプで増幅し、Schmidt-

trigger回路を通した自作のカウント回路。

記録計：オシログラフ（岩通 S S - 7 6 0 3）

レクチコーダー（日本光電 R J G - 4 0 2 4）

統計処理

データは平均値 \pm S. D.で示した。平均値間の差の検定は、t-testあるいは分散分析とdunnettのテストで行なった。

2. 実験結果

2-1. 降圧アミノ酸による血行動態の変化

GABA 10 μ モルをラットの大槽内に注入したとき、血圧、心拍数、上腸間膜動脈血流 (SMF: superior mesenteric flow)、腎動脈血流 (RF: renal flow) は低下したが、大動脈末端の血流 (HQF: hindquarter flow, 主に後肢に流れる) には変化がなかった (図5)。グリシン 10 μ モルによる血圧、心拍数、局所血流による変化も、作用が持続的である点を除いて、GABAと同様であった。

局所血流抵抗はGABA、グリシンともにHQR (hindquarter resistance) のみ減少したが、グリシンはGABAよりも持続的な作用を示した (図6)。

クロルイソソダミンの静注による節遮断後の血流抵抗の変化 (10分後) は、GABA注入後10分の変化と、RR (renal resistance) での変化を除いて同様で、HQRの減少が顕著であった (図7)。ただし、クロルイソソダミンを静注した10例のラットのうち4例ではHQRに抵抗の減少が観察されなかった。

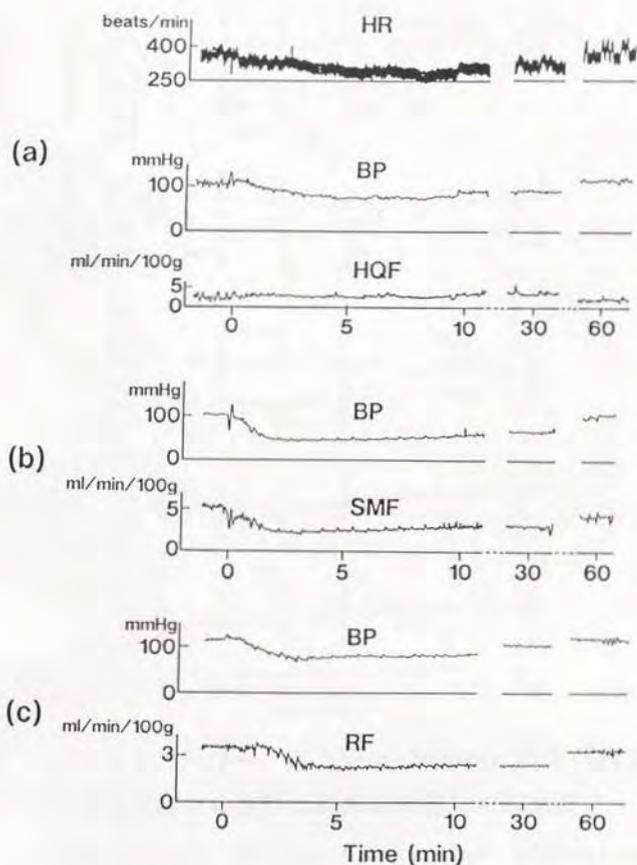


図5 GABA注入時の血圧(BP)・心拍数(HR)・局所血流の同時記録

(a) 大動脈末端の血流(HGF)、(b) 上腸間膜動脈血流(SMF)、(c) 腎動脈血流(RF)

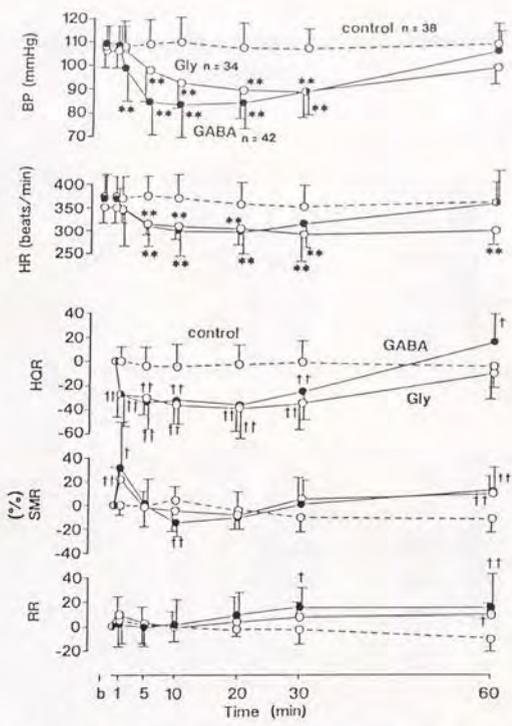


図6 GABA 10 μ mol, グリシン 10 μ mol の大槽内注入による降圧時の心拍数と局所血流抵抗の経時変化

BP: blood pressure, HR: heart rate, HQR: hindquarter resistance, SMR: superior mesenteric resistance, RR: renal resistance, b: before injection. データは平均値 \pm SD で示した。** p < 0.01 は、経時変化を一元配置分散分析後、Dunnett テストしたときの注入前の値に対する有意レベルを表わし、+ p < 0.05, ++ p < 0.01は、t-test による control群との間の有意レベルを表わす。

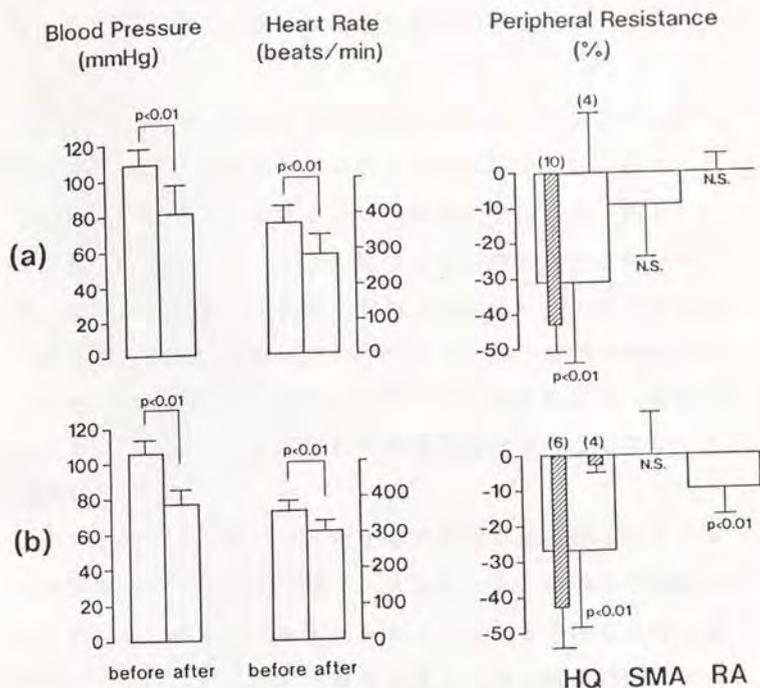


図7 GABAの大槽内注入と自律神経節遮断による降圧作用時の循環パラメーターの変化 (a) GABAを大槽内注入後10分の循環パラメーター、(b) chlorisondamine Cl, 2.5 mg/kgを静注後の循環パラメーター. HQ: hindquarter, SMA: superior mesenteric artery, RA: renal artery. データは平均値 \pm S Dで示した。p<0.01は処理前後の値のpaired t-testによる有意レベルを表わす。n.s.: not significant. HQの斜線カラムは大きなカラムのデータを任意に2群に分けたときの平均値とS Dを示している。平均値と共にS Dが小さくなったことから、4匹のラットでは節遮断薬がHQ抵抗を低下させていないことがわかる。

2-2. 昇圧アミノ酸による血行動態の変化

L-アルギニン5 μ モルを大槽内に注入して血圧が上昇したとき、H Q Fは増え、S M FとR Fは減少した(図8)。心拍数については、必ずしも一定の傾向を示さず(図8)、平均値ではコントロールとの間に有意な差が認められなかった(図9)。血圧が平均で25%上昇したL-アルギニン注入5分後、局所血流抵抗は、S M R (superior mesenteric resistance)で平均80%、R Rで60%の有意な上昇を示したが、H Q R (-10%)では有意差が認められなかった(図9)。

L-プロリン10 μ モルによる昇圧時には、図10 a-cに示すように、心拍数の低下、S M FとR Fの減少が観察され、H Q Fは注入直後は増えたものの2-3分後には注入前のレベルに戻った。L-プロリン注入10分後の昇圧時には、心拍数の有意な低下と、S M R及びR Rの平均240%、70%の有意な上昇とH Q Rの-6%の変化が観察された(図11)。L-プロリン注入1分後、H Q Rの有意な減少とともに心拍数の有意な上昇が観察された。L-プロリン注入10分後の徐脈作用は圧受容体反射の入力神経である調圧神経を切断したラットでは観察されなかったが、注入1分後の頻脈は観察された(図10 d、12)。調圧神経を切除したラットの心拍数 (458 ± 7.1 beats/min, n=8) は、正常ラット

のそれ (383 ± 9.6 , $n=23$) に比べて大きかった。また、血圧も図10dのL-プロリン注入前にみられるように不安定であった。

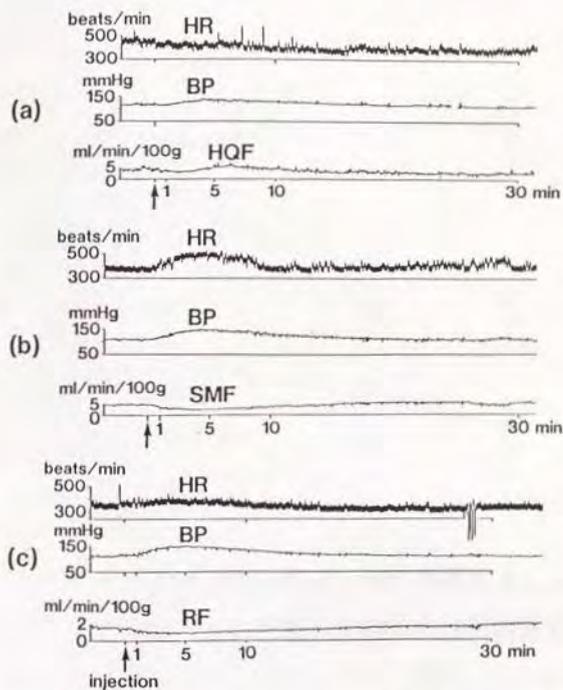


図8 L-アルギニン (5μ モル) 注入時の血圧 (BP) ・心拍数 (HR) ・局所血流の同時記録
(a) 大動脈末端部の血流 (HGF)、(b) 上腸間膜動脈血流 (SMF)、(c) 腎動脈血流 (RF)。

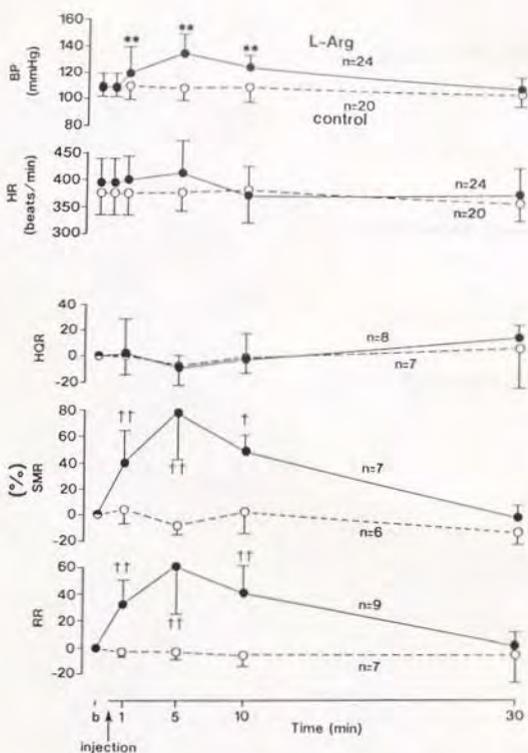


図9 L-アルギニン(5 μ モル)の大槽内注入による
昇圧時の無麻酔ラットの局所血流抵抗の経時変化

BP: blood pressure, HR: heart rate, HQR: hindquarter resistance, SMR: superior mesenteric resistance, RR: renal resistance. データは平均値 \pm S Dで示した。

** $p < 0.01$ は、経時変化を一元配置分散分析後、Dunnett テストしたときの注入前の値に対する有意レベルを表わし、

+ $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ は、t-test によるcontrol群との間の有意レベルを表わす。

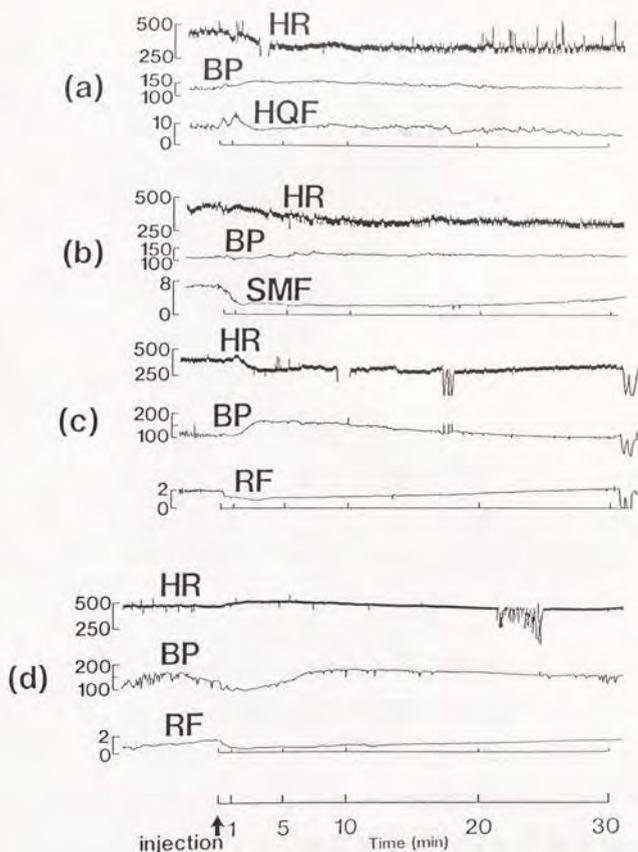


図10 L-プロリン(10 μ モル)注入時の血圧・心拍数・局所血流の同時記録

(a) 大動脈末端部の血流(HQF)、(b) 上腸間膜動脈血流(SMF)、(c) 腎動脈血流(RF)、(d) 調圧神経切除ラットの腎動脈血流(RF)。BP: blood pressure (mmHg), HR: heart rate (beats/min), F: flow (ml/min/100g).

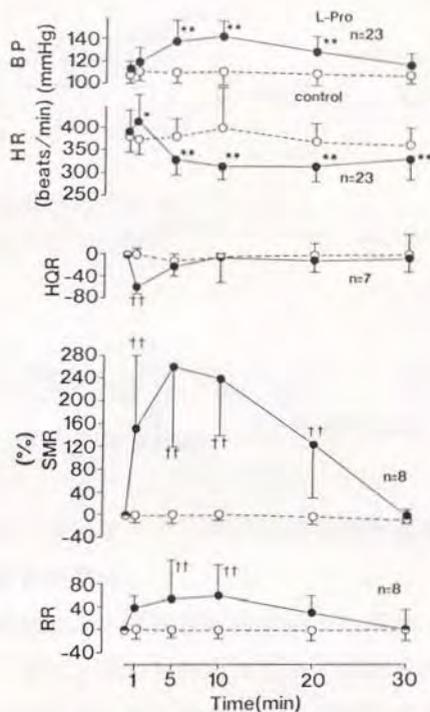


図11 L-プロリン10 μ モルの大槽内注入による昇圧時の無麻酔ラットにおける局所血流抵抗の経時変化

BP: blood pressure, HR: heart rate, HQR: hindquarter resistance, SMR: superior mesenteric resistance, RR: renal resistance. データは平均値 \pm SDで示した。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ は、経時変化を一元配置分析後、Dunnnett テストしたときの注入前の値に対する有意レベルを表わし、++ $p < 0.01$ は、paired t-testによるcontrolとの間の有意レベルを表わす。

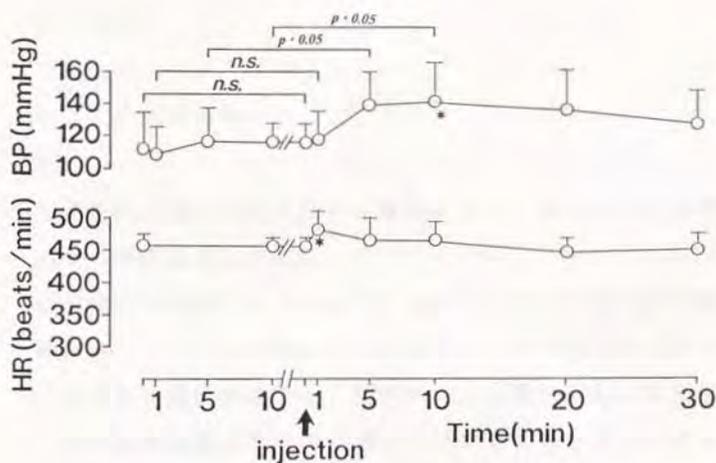


図12 L-プロリンを大槽内注入した調圧神経切除ラットの心拍数の変化

調圧神経切除によって血圧は安静時でも動揺した(図10dの注入前)ので、L-プロリンによる昇圧作用の判別が難しくなった。そこで、注入前後の10分間の値をそれぞれ2元配置分散分析した。注入前の10分間では有意な変化が認められず、注入後には変化が認められた。* $p < 0.05$ は Dunnett のテストによる有意レベルを示す。また、注入前後の10分間の対応する血圧の値を paired t-test で検定したとき、イタリック体で示したように、5分後と10分後に有意差が認められた。n.s.: not significant. BP: blood pressure, HR: heart rate.

3. 考察

3-1. 血行動態について

表2に大槽内に注入した4種類のアミノ酸による循環系に対する作用をまとめた。

慢性的に留置したカニューレを介してアミノ酸を無麻酔・無拘束ラットの大槽内に注入したとき、GABAとグリシンではともに血圧が低下し、同時に、心拍数と局所血流抵抗のうち特に大動脈末端のみが減少していることが明らかになった。血圧が心拍出量と末梢抵抗によって規定される物理量であることを考慮すると、GABAとグリシンによる降圧機構は、これらの両ファクターの寄与によるものと思われる。また、これらのアミノ酸による降圧時の局所血流の変化は節遮断薬クロルイソソダミンによるそれとほぼ同様であったので、大動脈末端の供血域の血管を緊張性に調節している交感神経の抑制を介したものと思われる。しかし、クロルイソソダミンを静注した10匹のラットのうち4匹のラットでは大動脈末端の血流抵抗に変化がなかった(図7)。これは、この部位の基礎緊張が交感神経以外に、神経性あるいは中枢を介する液性因子による寄与も受けていて、circadian rhythm等のため、測定時にはクロルイソソダミンによって変化しない基礎緊張状態にあったためかもしれない。

L-アルギニンとL-プロリンによる昇圧時には、L-アルギニンでは上腸間膜血流及び腎動脈血流抵抗のみ上昇し、L-プロリンではこれらの抵抗の上昇とともに徐脈作用が観察された。L-プロリンによる徐脈作用は、調圧神経切除ラットでは、むしろ、注入1分後の頻脈として観察された(図12)。したがって、L-アルギニンとL-プロリンによる昇圧機序は末梢抵抗、特に内臓領域の血流抵抗の上昇によるもので、L-プロリンでは、昇圧による圧・受容体反射のために徐脈作用が生じたと考えられる。L-プロリン注入後1分の頻脈時、同時にHQRの有意な低下(図11)も認められた。これは、おそらく、中枢刺激により副腎からアドレナリンが血中に放出されて後肢の血管を拡張させ(3)、同時に心臓に作用して頻脈を起こしたためと思われる。L-アルギニンの注入では、HQR及び心拍数に有意な変化が観察されなかったことより、これらの中枢刺激作用はL-プロリンに特異的なものであると考えられる。

血圧が変化したときの局所血流抵抗は、GABAとグリシンによる降圧時には大動脈末端のみ減少し、L-アルギニンとL-プロリンによる昇圧時には大動脈末端に変化はなく内臓領域の血管が上昇した。すなわち、総末梢血流抵抗の減少あるいは上昇には、測定した3箇所(3)の血管床いずれもが同程度に寄与しているわけではなく、特定の血管床によるものであった。

表2 アミノ酸による循環系に対する作用のまとめ

	GABA	Gly	L-Arg	L-Pro
局所血流抵抗				
大動脈末端血流抵抗	↓	↓	→	→
上腸間膜動脈血流抵抗	→	→	↑	↑
腎動脈血流抵抗	→	→	↑	↑
心拍数				
	↓	↓	→	↓ *
血圧				
	↓	↓	↑	↑

* 血圧上昇による圧受容体反射のため

延髄の腹外側吻側部のニューロンは脊髄側核に軸索を送り、血管や心臓を緊張性に調節していると考えられている(35, 36)。特にアドレナリン含有ニューロンであるC1ニューロン(37)が交感神経節前線維に延髄から投射するニューロンであるといわれていた。しかし、最近 Granata と Kitai(38)は、活動電位を記録した腹外側吻側部のニューロンにピオシチンを注入後、アドレナリン合成に特異的な酵

素 phenylethanolamine-N-methyltransferase (PNMT) を検出する二重免疫組織蛍光法を行い、PNMT 含有ニューロンは、活動電位が血圧の変化と同期した神経細胞とは異なることを示した。したがって、腹外側吻側部の脊髄側角に下降する線維の neurotransmitter の種類については未だ結論は出せない。しかし、腹外側吻側部を壊すと、視床下部 (39)、室頂核 (40) の中枢刺激や somatosympathetic reflex (40, 41)、脳虚血による刺激によって生じる循環パラメーターの変化は消失するので、この部位が種々の異なる中枢への入力に対する共通の出力側の経路として重要であることには変わらない。

延髄腹外側部のニューロンは血管への交感神経活動を介して血流を調節していると期待されるが、本研究で得られた結果と同様に各血管床に対するコントロールは一様では無いことが示されている (35, 42-46)。Hays と Weaver (44) は、麻醉下ラットの腹外側吻側部を刺激すると、グリシンは splenic nerve と mesenteric nerve よりも renal nerve を強く抑制することを示した。さらに、Beluli と Weaver (46) は、GABA_A レセプターのアゴニスト、muscimol を用いて麻醉下ラットの腹外側吻側部を抑制的に刺激することによって、renal nerve と splenic nerve を緊張性に興奮させている選択的な部位を特定しようとしたが、限局した部位を特定することはできなかった。muscimol 刺激は

抑制ではなく約10%の神経をむしろ興奮させた。Beluliら(46)は、これは、延髄の神経細胞が脱抑制 disinhibition を受けたためであり、血管に分布する交感神経を緊張性にコントロールしているニューロンは延髄腹外側吻側部に広く分布していて、局所の神経回路が各神経に対して選択的に作用すると考察している。

一方、血管床を緊張性にコントロールしている部位は腹外側部以外にも示されている。Coxら(47)は、麻酔したラットの腹外側部より正中線側(rostral ventromedial medulla, RVMM)をリドカインで局所麻酔すると、血圧・腎血流抵抗・上腸間膜血流抵抗の下降とともに大動脈末端血流抵抗の顕著な減少が見られることを報告したが、腹外側部ではこれらのパラメーターは変化しなかった。彼らの結果は、本研究で得られたGABAとグリシンの大槽内注入によるパラメーターの変化と似た傾向ではあるが、RVMMは延髄表面から約1mmの深さにあり、GABAやグリシンが拡散によってRVMMに到達する可能性は小さく、直接ここに作用したとは、考えにくい。また、これらの研究は麻酔下で行なわれているので、麻酔薬の影響を考慮すると、無麻酔下で行なわれた本研究との単純な比較はできない。

おそらく、交感神経節前線維に投射するニューロン、そしてこのニューロンに関係する神経回路は、運動・呼吸に関係した回路・上位中枢・反射経路等から多くの terminals をも

つ複雑な回路であり、アミノ酸は、大槽内注入後拡散で到達可能な延髄（橋？）表面の血流レベルの変化を起こす回路のシナプスを刺激して血圧を変化させたのであろう。

アミノ酸の作用部位について本研究で得られる知見は延髄周辺という大まかなものである。しかし、GABAとグリシンによる降圧時、圧・受容体反射を介する頻脈はみられず、逆に徐脈作用が観察され、L-プロリンによる昇圧時に、圧・受容体反射に基づく徐脈作用が得られたことから、GABAとグリシンの中樞における作用部位は、L-プロリンのものとは異なり、圧・受容体反射の神経回路のシナプスに作用していると思われる。グリシンの降圧作用はGABAに比べて持続的であったが、これには、グリシンによる圧・受容体反射の抑制メカニズムがGABAと異なる可能性、GABAの取り込みあるいは代謝システムの方が速やかに作動している可能性等が考えられる。

L-アルギニンの昇圧時にも徐脈作用が観察されなかったことより、L-アルギニンも圧・受容体反射を抑制しており、この神経回路のシナプスに作用した可能性も否定できない。著者は、L-アルギニンが毛づくろいを有意に起こすことから（本論分では触れていない、文献23）、行動に連動した血圧調節の神経回路を介して圧受容体反射回路に抑制的に作用していると考えている。実際、L-アルギニンによって生じた毛づくろい行動と同期する頻脈や昇圧は数例のラットで

認められた。しかし、昇圧を起こしているとき毛づくろいをするという逆の関係は必ずしも得られなかった。この毛づくろいと循環の関係における矛盾は、大槽内投与による物質の拡散部位がカニューレの先端位置に依存しており必ずしも再現的ではないので、現在のところ、L-アルギニンの作用部位が複数あるために起きたと考えている。

3-2. 各アミノ酸の中枢内での生理的役割

局所血流抵抗の変化を調べた4つのアミノ酸、GABA、グリシン、L-アルギニン、L-プロリンの中枢内での生理的役割として、neurotransmitter、neuromodulatorあるいはその基質という可能性がある。しかし、neurotransmitterあるいはneuromodulatorの構造と類似しているために、false transmitter様の作用を発現しただけで、生理的条件下では起こり得ない可能性も否定できない。

neurotransmitterとしての役割は、中枢内局在、電気生理学的なreleaseの証明、薬理的及び生化学的な受容体と取り込みまたは代謝に関する証明が必要である。これらの研究については、GABAではかなり詳細に進んでいる。

GABA

GABAは中枢内に広く分布する抑制性 neurotransmitterとして認められているアミノ酸である。GABA及びGABA合成酵素(glutamic acid decarboxylase, GAD)の中枢内分布や、GABA及びGABA-A、GABA-Bレセプターのアゴニストやアンタゴニストによる血圧への作用を調べることにより、血圧調節に関係した神経回路での役割が、示唆されている(48, 49)。著者の実験では、大槽内にアミノ酸を注入しているので、作用部位は延髄(橋?)と思

われるが、麻酔したラットの延髄に微量注入したGABA-Aレセプターのアンタゴニストであるピククリンは腹側吻側部で昇圧反応、腹側尾側部で降圧反応を起こすことより、血管運動活動の維持と反射にGABAが内因性に関与していると考えられ(50)、生理的な状態での血圧調節におけるGABAの役割は充分期待されることである。

ラットを用いた実験において、GABAは、この他、麻酔下、nucleus tractus solitarius (NTS)でGABA-Bレセプターを介して昇圧作用(51)、dorsal rapheではGABA-Aレセプターを介して降圧作用(52)、また、麻酔下ではなく覚醒下でのhypothalamus(53)と、麻酔下及び覚醒下での側脳室内投与(17, 54, 55)で降圧作用を起こすことが報告されている。

グリシン

グリシンについては、1987年にJohnsonとAscher(56)が、グルタメートのNMDAレセプターにアロステリックに作用して、興奮性伝達を増強することを発見して以来、neuromodulatorとしての役割が想定されている(57)。NTS(58)、側脳室(17)、延髄腹部(44, 59)に作用させると血圧が下がることが報告されている。NTSでの作用はGABAと異なること、また、大槽内に投与した本実験でも作用がGABAに比べて持続的であったことから

GABAと異なる生理的役割をもつことが期待される。

L-アルギニン

L-アルギニンは、最近、NO(30)、agmatine(60)、kyotorphine(61)の基質として、中枢においてもその役割が期待されているアミノ酸である。

Togashiらは、NO生成阻害剤、N-メチル-L-アルギニンを麻酔したラットの延髄腹側部に注入して昇圧及び、腎交感神経活動の上昇を観察している(62)。そして、コントロールとして用いたN-メチル-D-アルギニン及びL-アルギニン(各1 μ モル)ではこれらの作用は観察されなかったと報告している(62)。しかし、著者の実験においては、L-アルギニン5 μ モルを無麻酔ラットの延髄背側部近くの大槽に注入して昇圧作用を得た。次の第III章で述べるが、これは、交感神経を介する作用である点も、Togashiらの昇圧機序と同様である。Togashiらの実験条件と最も異なるのは、麻酔の有無である。確かに、ベントバルビタール麻酔による予備実験で、L-アルギニン10 μ モルの大槽内投与による昇圧作用は観察されなくなった。しかしながら、同様に予備実験で、無麻酔ラットにNOの基質の競合的拮抗薬であるN-メチル-L-アルギニンを注入すると降圧作用ではなく、L-アルギニンと同じでより持続的な昇圧作用が得られた。作用部位に関しては、Togashiらはカニューレ先端を延髄腹側に

向けており、著者の背側とは異なる。しかし、背側から腹側に流れて作用する可能性は大きく、大槽を通して背側に注入した5 μ モルのアミノ酸も拡散後希釈されるので腹側の1 μ モルと用量的にそれほど差があるとは考えにくい。ただし、背側部にもL-アルギニンによる作用部位があると考えれば、麻酔下でのTogashiらの実験結果との矛盾は説明できるかもしれない。しかし、NO生成酵素を基質阻害するN-メチル-L-アルギニンでも昇圧作用が得られることから、NOがその作用本体であるとは考えにくい。L-アルギニンによる昇圧作用の作用本体としては、そのほか、イミダゾリンレセプターの中枢性内因物質として最近同定された agmatin (61)、Ty r - A r g のジペプチドである kyotorphin (61) の可能性もある。これからの研究によって、矛盾点は説明されると期待される。

L-プロリン

Snyder ら (63) は、大脳皮質のシナプトソームへのL-プロリンの取り込みを観察しており、さらに、最近、Fremeau らはラットの脳のL-プロリントランスポーターをクローン化しその発現を調べ(64)、L-プロリンの neurotransmitter としての可能性が期待されている。したがって、L-プロリンが中枢に作用して血圧を上げるという著者による観察は、循環調節における生理的役割を示唆するものである。

4. 小括

— 小括 —

- 1) GABAおよびグリシンは、ともに心拍数と大動脈末端の血流抵抗の減少により血圧を下げることを明らかにした。
- 2) 大動脈末端の血流抵抗の減少は、節遮断薬クロロイソソグタミンによる変化と同様であることから、後肢域への交感神経の活動低下によるものと思われる。
- 3) L-アルギニンの大槽内注入による昇圧時、上腸間膜血管と腎血管の血流抵抗は同程度上昇しており、心拍数と大動脈末端血流には変化が無いことを明らかにした。
- 4) L-プロリンによる昇圧時には心拍数は低下、上腸間膜血管と腎血管の血流抵抗は上昇しているが、大動脈末端の血流抵抗には変化が無いことを明らかにした。また、調圧神経切除ラットを用いて、徐脈作用が圧受容体反射を介する二次的な作用であることを明らかにした。

第 III 章 昇圧アミノ酸による血圧の中枢性制御機構

(22, 26)

はじめに

アミノ酸により血圧に変化があったラットの大槽内カニューレに色素を注入すると、色素は第4脳室底に逆流することは稀でほとんどの場合延髄周辺を染めた。したがって、現在のところ、大槽内注入したアミノ酸の作用部位は延髄と考えている。この延髄を刺激したときの血流制御機構として考えられる末梢への出力経路は、図13に示すように、脊髓側角を介する交感神経経路と視床下部を介するヴァゾプレッシン分泌経路である。L-アルギニンとL-プロリンはともに大槽内に注入したとき、内臓域の血流抵抗を上昇させて、血圧を上げることが第II章で述べた。したがって、本章では、これらの2経路のアミノ酸による昇圧機序への関与を、上腸間膜血流と血圧の変化をモニターしながら、神経節遮断薬とヴァゾプレッシンV1アンタゴニストを用いて検討した。

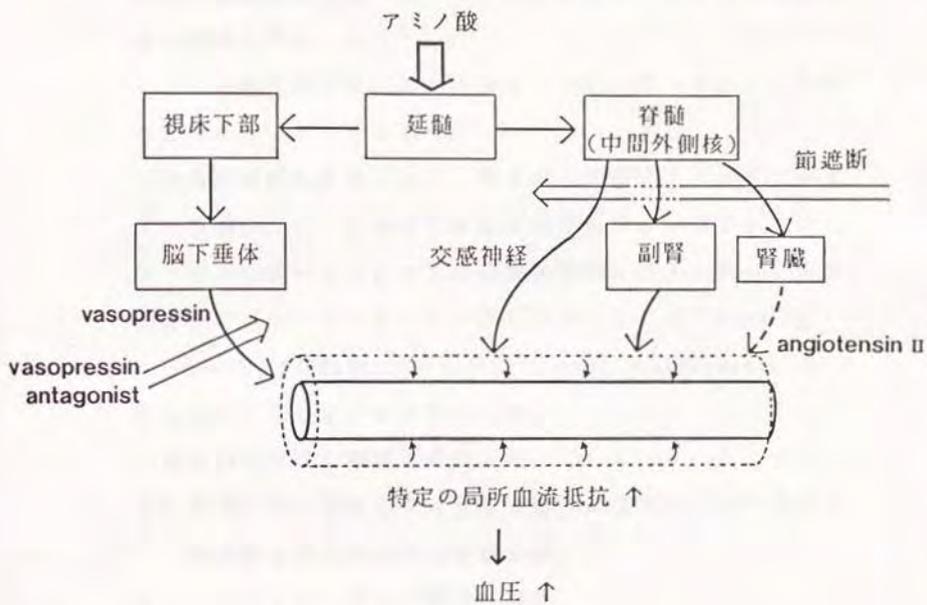


図13 中枢内投与したアミノ酸による昇圧機序

1. 実験方法

大槽内カニューレ、血圧測定用カニューレ、薬物注入用静脈カニューレの挿入、上腸間膜血流測定用プローブの装着、及び、回復後の循環パラメーターの観察は、第II章の実験方法と同様に行なった。

アミノ酸の注入は、L-プロリン、L-アルギニンともに $5 \mu\text{mol} / 10 \mu\text{l}$ とした。

自律神経節遮断薬として、第II章と同様にクロロイソングダミンを用い、 $0.5 \text{mg} / \text{kg} / \text{min}$ をシリンジポンプ（ラーゼル社 A-99）で10分間持続的に注入した（i.v.）。

ヴァゾプレッシン V1 アンタゴニストとして manning compound、 $(\text{d}(\text{CH}_2)_5^1, \text{O-Me-Tyr}^2, \text{Arg}^8)$ -vasopressin を bolus に $10 \mu\text{g} / \text{kg}$ 静注した。

薬物投与は次の順序で行なった。

- 1) まず、アミノ酸をラットの大槽内に注入して昇圧及び上腸間膜血管収縮作用を確認した。
- 2) クロロイソングダミン静注（註）。
- 3) アミノ酸を再び大槽内に注入、昇圧作用が得られたときは4)に進む。
- 4) 昇圧時ヴァゾプレッシンアンタゴニストを静注。

（註）クロロイソングダミンはこれ自身が節遮断作用により降圧・徐脈作用を起こすので、前投与した。

2. 実験結果

図14に節遮断後のアミノ酸投与による血圧と血流の記録を示した。大槽内注入したL-アルギニンによる昇圧・上腸間膜血管収縮作用は、クロルイソングミン静注後は観察されなかった(図14-A)。一方、L-プロリンによるこれらの作用は節遮断後も観察されたが、ヴァゾプレッシン拮抗薬の静注により、速やかに消失した(図14-B)。図15に節遮断薬及びヴァゾプレッシンアンタゴニストの静注によるアミノ酸の昇圧・上腸間膜血管収縮作用への影響をまとめた。大槽内注入後5分のL-アルギニンによる昇圧・血管収縮作用は、クロルイソングミンで節遮断後、共に有意($p < 0.01$, $p < 0.05$ by paired t-test)に減少した。一方、L-プロリンによる昇圧作用は逆に有意($p < 0.01$)に増強し、昇圧時に静注したヴァゾプレッシンアンタゴニストによって血管収縮作用と共に有意に消失した(共に $p < 0.01$)。

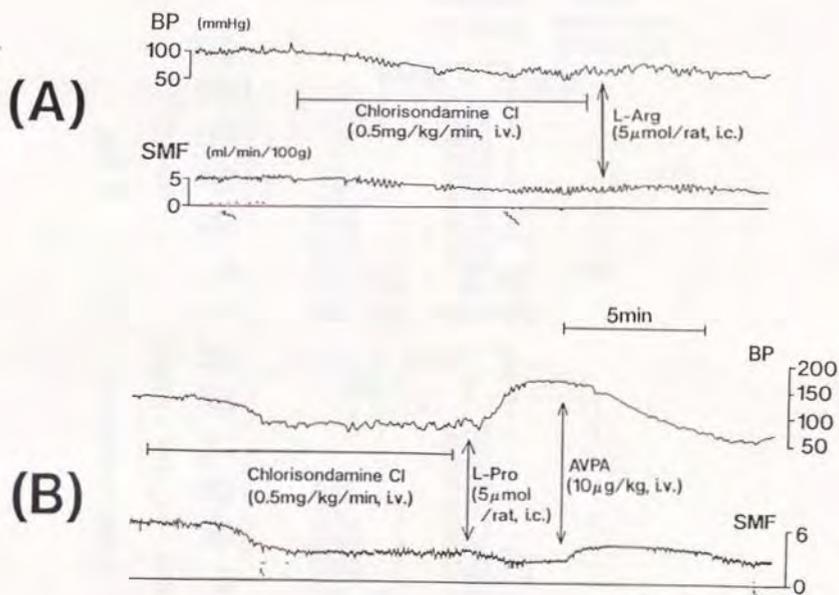


図 14 節遮断薬とヴァソプレッシンアンタゴニストの
静注による昇圧・上腸間膜血管収縮作用の変化

BP: blood pressure, SMF: superior mesenteric flow,
L-Arg: L-arginine, L-Pro: L-proline, AVPA: arginine
vasopressin V1 receptor antagonist.

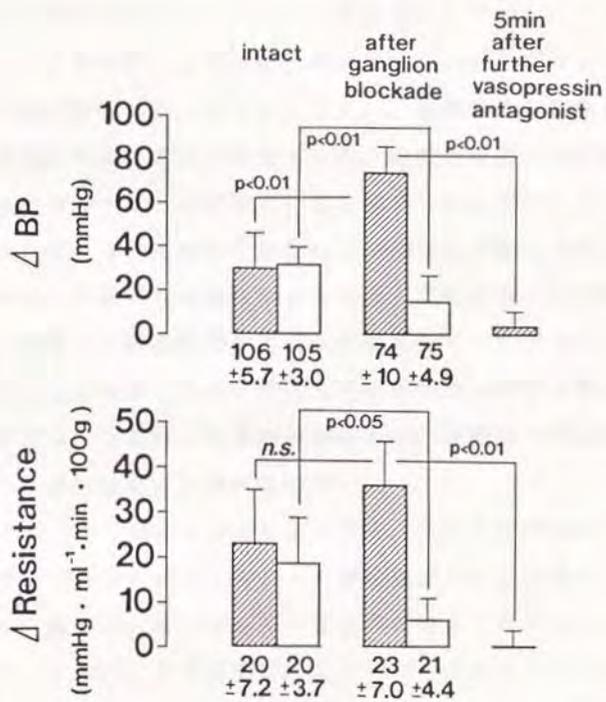


図15 節遮断及びヴァソプレッシンアンタゴニストの
 静注によるアミノ酸の昇圧・末梢血管収縮作用への影響
 平均値 \pm S.D. 斜線カラムはL-プロリン5 μ モル(n=6)、
 白カラムはL-アルギニン5 μ モル(n=7)による血圧
 と上腸間膜血流抵抗の絶対値の変化を示す。カラムの下にア
 ミノ酸注入前の値を示した。

3. 考察

節遮断薬クロロイソソダミンの静注によって、L-アルギニンによる昇圧・血管収縮作用は減弱し、L-プロリンによるそれは増強した(図14, 15)。節遮断薬は副交感神経及び交感神経の両方に作用するが、血管平滑筋は交感神経によってコントロールされていると考えられるので、L-アルギニンによる昇圧機序は血管への交感神経活動の上昇、特に、内臓域への選択的な興奮によるものと思われる。しかし、最近、血管にも節遮断薬に反応しない非コリン性非アドレナリン性のCGRP(65)等のペプチドを含む神経支配が報告されており、これらの末梢神経による血流調節の可能性もあり、今後の研究の展開が興味深い。

一方、L-プロリンによって増強した血管収縮作用はヴァゾプレッシンアンタゴニストの静注後速やかに消失し、血圧も5分後には、L-プロリン注入前の値まで低下した(図14, 15)。この結果は、L-プロリンによる昇圧機序にヴァゾプレッシンの分泌が関与していることを示している。L-プロリンは延髄周辺に作用していると思われるので、延髄から視床下部-脳下垂体への経路を介してヴァゾプレッシンは血液中に放出されたと考えられる。

ヴァゾプレッシンを産生する視床下部の神経分泌ニューロンの電気活動に影響を与える神経伝達物質として、電気生理学的に、ノルアドレナリン、アセチルコリン、ドーパミン、

ヒスタミン、セロトニン、GABA、アンジオテンシンⅡ、ナトリウム利尿ペプチド、エンドセリン、インターロイキン 1β 、リユーモルフィンが報告されている(66)。これらのうち、ノルアドレナリン(67)、GABA(68)、アンジオテンシンⅡ(69)では、ヴァゾプレッシン血中放出の血圧調節への関与が示唆されている。L-プロリンによるヴァゾプレッシン血中放出の血圧調節への関与についての理解は、これからの研究に頼るところが大きい。しかしながら、ヴァゾプレッシン放出という中枢からの output に、多くの伝達物質が関与していて、放出されたヴァゾプレッシンがいろいろな状況下で体液および循環調節の機能を果していることは確からしい。

本章と第Ⅱ章の結果を合わせると、L-アルギニンとL-プロリンの大槽内注入による昇圧作用は、図16のメカニズムによるものと思われる。すなわち、L-アルギニン(A)は延髄に作用して、専ら交感神経系を介して内臓域の血管を収縮させて血圧を上げた。心拍数は必ずしも低下しないので、圧受容体反射はL-アルギニンによって抑制を受けていると思われる。一方、L-プロリン(B)は、延髄に作用して、主に視床下部-下垂体経路を刺激して血中にヴァゾプレッシンを放出し、抵抗血管を収縮させて血圧を上げた。さらに、血圧上昇による圧受容体反射の活性化により、心拍数は二次的に低下した。この際、節遮断薬による副腎への交感神経抑

制作用は完全で無いことから（図13）、アドレナリンの作用の関与も否定できない。

これらの知見は、循環系に対する中枢性制御機構に交感神経を介する pathway と視床下部-脳下垂体を介する pathway が機能的に存在し、L-プロリンあるいはL-アルギニンによって半選択的に作動し得ること、また、これらのアミノ酸は圧・受容体反射回路に対して特異性が異なる化学刺激物質として作用し得ることを示している。生理的条件下でこれらのアミノ酸が循環調節に関与しているか否かについては、今後の課題である。

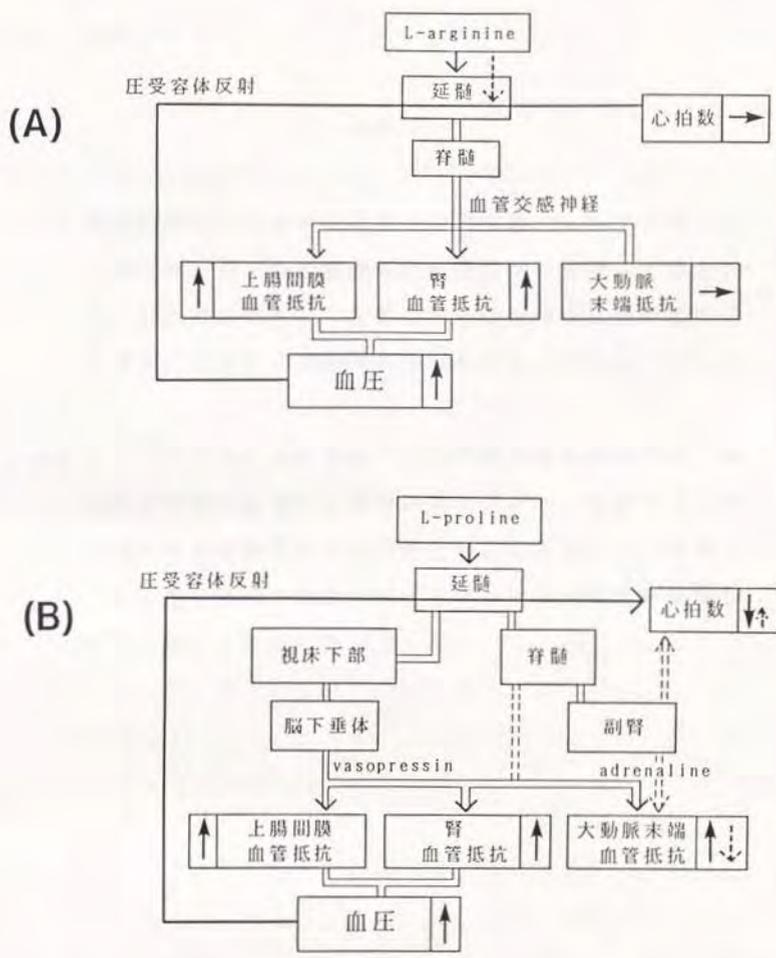


図16 大槽内投与したL-アルギニン(A)とL-プロリン(B)による昇圧機序

4. 小括

--小括--

- 1) 節遮断薬クロルイソソダミンの静注後、L-アルギニンによる昇圧・上腸間膜血管収縮作用がなくなったことから、L-アルギニンによるこれらの作用は交感神経を介するものであることが明らかになった。

- 2) L-プロリンによる昇圧・上腸間膜血管収縮作用は、節遮断薬の静注後増強したが、ヴァゾプレッシンV1アンタゴニストの静注により消失したことより、L-プロリンによるこれらの作用にヴァゾプレッシンの分泌が関与していることが明らかになった。

— 総括 —

- ① 無麻酔・無拘束ラットの血圧に中枢性に影響を与えるアミノ酸として、L-アルギニン、L-プロリン、L-システイン、L-アスパラギン酸、L-アスパラギンで昇圧作用、GABA、グリシン、タウリン、L-セリン、L- α -アラニン、サルコシンで降圧作用が得られることを明らかにした。
- ② 無麻酔・無拘束ラットの局所血流の測定により、GABAとグリシンによる降圧時には大動脈末端の血流抵抗が減少し、L-アルギニンとL-プロリンによる昇圧時には上腸間膜及び腎動脈血流抵抗が上昇することを明らかにした。また、L-プロリンによる徐脈作用は、調圧神経を切除すると消失することから、血圧上昇による圧受容体反射によることを明らかにした。
- ③ L-アルギニンの昇圧・血管収縮作用は節遮断によって減弱したが、L-プロリンの昇圧作用は逆に増強し、ヴァゾプレッシンアンタゴニストの静注により両作用は速やかに消失した。すなわち、L-アルギニンは専ら交感神経を介する内臓域の血管収縮により血圧上昇を起こし、L-プロ

リンの昇圧作用にはヴァゾプレッシンの寄与があることを明らかにした。

以上をまとめると、本研究により、既に神経伝達物質として認められているアミノ酸以外に新たに数種のアミノ酸に中枢刺激物質としての役割があることを明らかにし、さらに、4種類のアミノ酸による血圧変化時の局所血流の変化は一様でないこと、昇圧アミノ酸はそれぞれ中枢内で異なる神経経路を刺激して局所血流を変化させることを明らかにした。

— — 結 語 — —

血圧調節の研究は、従来より、麻酔した動物の中枢を電気刺激して末梢の神経活動電位及び血圧を観察することにより行なわれてきた。その際、末梢の神経活動電位は血管に対しては交感神経、心臓に対しては交感神経あるいは迷走神経由来の活動電位と考えられてきた。しかし、これらの神経活動電位は実際には血管あるいは心臓の機能変化を介して血圧を変化させているはずであり、また、実際に観察している神経活動電位が循環系にのみ影響する自律神経由来であるという保障はない。中枢の電気刺激も生理的条件下では起こり得ない現象であり、刺激自体も特定の神経に対する特異性はなく、通電を受けた部位全体が興奮する。また、麻酔薬自身が降圧作用を有しており、生理的条件と異なることも忘れてはならない。

このような点を考慮すると、無麻酔・無拘束ラットの中枢を化学刺激して血流レベルで観察するという循環調節解明へのアプローチは、さらに、化学刺激による active site が明らかになれば、より有効な手段になり得る。本研究で用いたアミノ酸の active site は未だ不明である。しかしながら、この無麻酔・無拘束ラットの中枢を化学刺激して血流レベルで観察する方法で、GABA、グリシン、L-アルギニン、L-プロリンによって生じる循環系の変化は一様ではないこ

とが明らかになり、さらに、昇圧性に作用するアミノ酸、L-アルギニンとL-プロリンは循環調節に関係した異なる神経回路のシナプスに作用して血圧を上げる可能性が示唆された。

今後、これらの化学刺激物質の生体内での役割が、生化学的、薬理的、解剖学的に追究されて、循環中枢ネットワークでの意味づけが明らかになることが期待される。

第Ⅲ章では、L-アルギニンとL-プロリンによる中枢性昇圧作用が同じ機序で生じていないことを、節遮断薬とヴァゾプレッシンアンタゴニストを用いて示した。両アミノ酸は程度に差はあるものの表2にまとめたように、末梢血流抵抗のうち内臓域のみ収縮させ、見かけ上中枢を介して同じ血管床に作用していたが、L-アルギニンは交感神経のみ、L-プロリンはヴァゾプレッシン分泌を介して昇圧作用を起こしていた。このように、“血圧を上げる”という現象1つに対しても、その中枢内機序には複数の可能性がある。また、本論文では、血管交感神経の興奮=血管収縮として局所血流抵抗の変化を解釈したが、著者は最近、無麻酔・無拘束ラットの局所血流の測定により、ノルアドレナリンによる血管抵抗の上昇が大動脈末端では生じず、全血管床がノルアドレナリンに対して一様に収縮しているわけではないことを観察した(70)。つまり、交感神経による血管平滑筋の安静時にお

ける緊張が血流を神経性にコントロールしているという解釈は、全血管床に対して成り立つものではないようである。このように、血流レベルでの調節機構については中枢による調節だけではなく、末梢レベルからも確認をすることが重要であると思われる。

— — 謝 辞 — —

本研究は、広島大学医学部生理学教室でなされたものであり、御助言・御討論を頂きました入内島十郎教授、原凶作製等快く御協力頂きました小林孝技官を始めとする医学部の皆様に心から感謝の意を表します。

また、本研究は、生理学会、アミノ酸に関連した国際学会、薬理学会、関連セミナーでの発表、関連領域の方々との個人的 discussion, suggestion, criticism, そして encouragement なくしては遂げられなかったと思います。とくに、*Japanese Journal of Physiology* の referee の先生方の厳しくも熱意ある comments には、負うところが大きかったように思います。ここに、これら国内外の、本研究に関心をよせて親身に相談にのって下さった研究者の方々に深甚なる謝意を表します。

そして、本研究をまとめるにあたり、御校閲と御便宜を頂きました東京大学薬学部薬品作用学教室 斎藤洋教授に厚く御礼申し上げます。本研究の発表にあたり、種々御助言・御討論頂きました松木則夫助教授を始めとする東京大学薬学部薬品作用学教室の皆様に深く感謝致します。

— 引用文献 —

- 1) Mizuma, E., Takemoto, Y. and Iriuchijima, J.
: Redistribution of cardiac output during grooming
of the rat. *Jpn. J. Physiol.* 37: 49-57, 1987.
- 2) Takemoto, Y. and Iriuchijima, J. : Blood flow
redistribution during spontaneous wheel walk of the
rat. *Jpn. J. Physiol.* 39: 847-855, 1989.
- 3) 入内島十郎: 微小循環の神経体液性調節。呼と循, 37:
699-705, 1989.
- 4) Shepherd, G.M. : *Neurobiology*. 2nd Ed. Oxford Univ.
Press, New York, pp 396-397, 1988.
- 5) Alexander, R.S. : Tonic and reflex functions of
medullary sympathetic cardiovascular centers. *J.*
Neurophysiol. 9: 205-217, 1946.
- 6) Strahlendorf, J.C. and Strahlendorf, H.K. :
Brain stem and cerebellar mechanisms of cardio-
vascular control. In *Neural Control of Circulation*.
Academic Press, Inc., London, pp 23-50, 1980.
- 7) Calaresu, F.R., Ciriello, J., Caverson, M.M.,
Cechetto, D.F., and Krukoff, T.L. : Functional
neuroanatomy of central pathways controlling the
circulation. In *Hypertension and the Brain*. Ed. by

- G.P. Guthrie, Jr. Futura, New York, pp 3-21, 1984.
- 8) Reis, D.J. : The brain and hypertension : reflections on 35 years of inquiry into the neurobiology of the circulation. *Circulation* 70(suppl. III): III31-III45, 1984.
 - 9) Jordan, D. and Spyer, K.M. : Brainstem integration of cardiovascular and pulmonary afferent activity. *Progress in Brain Research* 67: 295-314, 1986.
 - 10) Calaresu, F.R., and Yardley, C.P. : Medullary basal sympathetic tone. *Ann. Rev. Physiol.* 50: 511-524, 1988.
 - 11) Kumada, M., Terui, N. and Kuwaki, T. : Arterial baroreceptor reflex: Its central and peripheral neural mechanisms. *Progress in Neurobiology* 35: 331-361, 1990.
 - 12) McGeer, P.L., Eccles, J.C. and McGeer, E.G. : In *Molecular neurobiology of the mammalian brain*. 2nd. ed. Plenum Press, New York, pp 152, 1987.
 - 13) Agranoff, B.W. : Neurotransmitters - Neurotransmitters and synaptic transmission. *Federation Proc.* 34: 1911-1914, 1975.
 - 14) Takemoto, Y. : An improved method for using cisternal cerebrospinal fluid in conscious rats for

- application in the measurement of catecholamines.
Jpn. J. Physiol. 41: 665-669, 1991.
- 15) Takemoto, Y. : Decreases in catecholamine concentrations of cisternal cerebrospinal fluid and plasma in rats caused by pentobarbital anesthesia.
Jpn. J. Physiol. 42: 141-145, 1992.
- 16) Davson, H., Welch, K., and Segal, M.B. : Some special aspects of the blood-brain barrier. Part III Amino acids. In Physiology and Pathophysiology of the Cerebrospinal Fluid. Ed. by H. Davson, K. Welch, and M.B. Segal. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, and New York, pp 269-301, 1987.
- 17) Persson, B. : Cardiovascular effects of intra-cerebroventricular GABA, glycine and muscimol in the rat. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 313: 225-236, 1980.
- 18) Chelly, J., Kouyoumdjian, J.C., Mouille', P., Huchet, A.-M. and Schmitt, H. : Effects of L-glutamic acid and kainic acid on central cardiovascular control. European J. Pharmacol. 60: 91-94, 1979.
- 19) Davson, H., Welch, K. and Segal, M.B. : Physiology and Pathophysiology of the Cerebrospinal Fluid. Ed.

by H. Davson, K. Welch, and M.B. Segal, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York, pp 1-13, 1987.

- 20) Takemoto, Y. : Amino acids with central pressor effect in conscious rats. *Jpn. J. Physiol.* 40: 561-565, 1990.
- 21) Takemoto, Y. : Cardiovascular effects of centrally injected amino acids in conscious rats. In *Frontiers and new horizons in amino acid research*. Ed. by K. Takai. Elsevier Science Publishers B.V. pp 485-489, 1992.
- 22) Takemoto, Y. : Central depressor effects of amino acids in conscious normotensive and two-kidney, one-clip renovascular hypertensive rats. *Jpn. J. Physiol.* 41: 717-724, 1991.
- 23) Takemoto, Y. : Regional vasoconstriction and excessive grooming induced by L-arginine injection into the cisterna magna of conscious rats. *Jpn. J. Physiol.* 43: 389-402, 1993.
- 24) Takemoto, Y. : Superior mesenteric vasoconstriction by L- but not D-proline intracisternally applied to conscious rats. submitted.

- 25) Takemoto, Y. : Evidence for heterogeneous effects of centrally injected amino acids on hemodynamics in conscious rats. In Central Nervous System and Blood Pressure Control 1993. Ed. by H. Takahashi, Yubunsha Publishing, Tokyo, 1993.
- 26) Takemoto, Y. : Preferential hindquarter vasodilation in the hypotension induced by GABA injection into the cisterna magna of conscious rats. Jpn. J. Physiol. 43: 561-565, 1993.
- 27) Takemoto, Y. Involvement of vasopressin release in pressor action of cisternal L-proline. submitted.
- 28) Gillis, R.A. : Neurotransmitters involved in the central nervous system control of cardiovascular function. In Circulation, Neurobiology and Behavior. Ed. by O. Smith, R.A. Galosy, and S.M. Weiss, Elsevier Science Publishing, New York, Amsterdam, Oxford, pp 41-53, 1982.
- 29) Sgaragli, G., and Pavan, F.: Effects of amino acid compounds injected into cerebrospinal fluid spaces, on colonic temperature, arterial blood pressure and behavior of the rat. Neuropharmacology 11: 45-56, 1972.

- 30) Schmidt, H.H.H.W., Wilke, P., Evers, B., and Boehme, E. : Enzymatic formation of nitrogen oxides from L-arginine in bovine brain cytosol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165: 284-291, 1989.
- 31) 日本光電工業株式会社センサー部：血流測定 Q & A, 1984.
- 32) Abdel-Rahman, A.-R.A. : Inadequate blockade by hexamethonium of the baroreceptor heart rate response in anesthetized and conscious rats. *Arch. int. Pharmacodyn.* 297: 68-85, 1989.
- 33) 谷山 敏太郎：神経節作用薬. *New 薬理学*, 田中千賀子、加藤隆一編集, 南江堂, pp 245, 1989.
- 34) Krieger, E.M. : Neurogenic hypertension in the rat. *Circ. Res.* 15: 511-521, 1964.
- 35) Ross, C.A., Ruggiero, D.A., Park, D.H., Joh, T.H., Sved, A.F., Fernandez-Pardal, J., Saavedra, J.M., and Reis, D.J. : Tonic vasomotor control by the rostral ventrolateral medulla: effect of electrical or chemical stimulation of the area containing C1 adrenaline neurons on arterial pressure, heart rate, and plasma catecholamines and vasopressin. *J. Neurosci.* 4: 474-494, 1984.

- 36) Granata, A.R., Ruggiero, D.A., Park, D.H., Joh, T.H., and Reis, D.J. : Brain stem area with C1 epinephrine neurons mediates baroreflex vaso-depressor responses. *Am. J. Physiol.* 248: H547-H567, 1985.
- 37) Hoekfelt, T., Fuxe, K., Goldstein, M., and Johansson, O. : Immunohistochemical evidence for the existence of adrenaline neurons in the rat brain. *Brain Res.* 66: 235-251, 1974.
- 38) Granata, A.R., and Kitai, S.T. : Intracellular analysis in vivo of different barosensitive bulbo-spinal neurons in the rat rostral ventrolateral medulla. *J. Neurosci.* 12: 1-20, 1992.
- 39) Hilton, S.M., Marshall, J.M., and Timms, R.J. : Ventral medullary relay neurones in the pathway from the defence areas of the cat and their effect on blood pressure. *J. Physiol. (Lond)* 345: 149-166, 1983.
- 40) McAllen, R.M. : Mediation of the fastigial pressor response and a somatosympathetic reflex by ventral medullary neurones in the cat. *J. Physiol. (Lond)* 368 : 423-433, 1985.

- 41) Stornetta, R.L., Morrison, S.F., Ruggiero, D.A., and Reis, D.J. : Neurons of rostral ventrolateral medulla mediate the somatic pressor reflex. *Am. J. Physiol.* 256: R448-R462, 1989.
- 42) Beluli, D.J., and Weaver, L.C. : Differential control of renal and splenic nerves without medullary topography. *Am. J. Physiol.* 260: H1072-H1079, 1991.
- 43) Dampney, R.A.L., and McAllen, R.M. : Differential control of sympathetic fibres supplying hindlimb skin and muscle by subretrofacial neurones in the cat. *J. Physiol. (Lond)* 395: 41-56, 1988.
- 44) Hayes, K., and Weaver, L.C. : Selective control of sympathetic pathways to the kidney, spleen and intestine by the ventrolateral medulla in rats. *J. Physiol. (Lond)* 428: 371-385, 1990.
- 45) Lovick, T.A. : Differential control of cardiac and vasomotor activity by neurones in nucleus paragigantocellularis lateralis in the cat. *J. Physiol. (Lond)* 389: 23-35, 1987.
- 46) Beluli, D.J., and Weaver, L.C. : Areas of rostral medulla providing tonic control of renal and splenic nerves. *Am. J. Physiol.* 261: H1687-H1692, 1991.

- 47) Cox, B.F., and Brody, M.J. : Subregions of rostral ventral medulla control arterial pressure and regional hemodynamics. *Am. J. Physiol.* 257: R635-R640, 1989.
- 48) Gillis, R.A., Yamada, K.A., DiMicco, J.A., Williford, D.J., Segal, S.A., Hamosh, P., and Norman, W.P. : Central γ -aminobutyric acid involvement in blood pressure control. *Federation Proc.* 43: 32-38, 1984.
- 49) DiMicco, J.A., Abshire, V.M., Shekhar, A., and Wible, J.H. Jr. : Role of GABAergic mechanisms in the central regulation of arterial pressure. *European Heart Journal* 8(suppl. B): 133-138, 1987.
- 50) Willette, R.N., Barcas, P.P., Krieger, A.J., and Sapru, H.N. : Endogenous GABAergic mechanisms in the medulla and the regulation of blood pressure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 230: 34-39, 1984.
- 51) Sved, J.C., and Sved, A.F. : Cardiovascular responses elicited by γ -aminobutyric acid in the nucleus tractus solitarius : evidence for action at the GABA-B receptor. *Neuropharmacology* 28: 515-520, 1989.

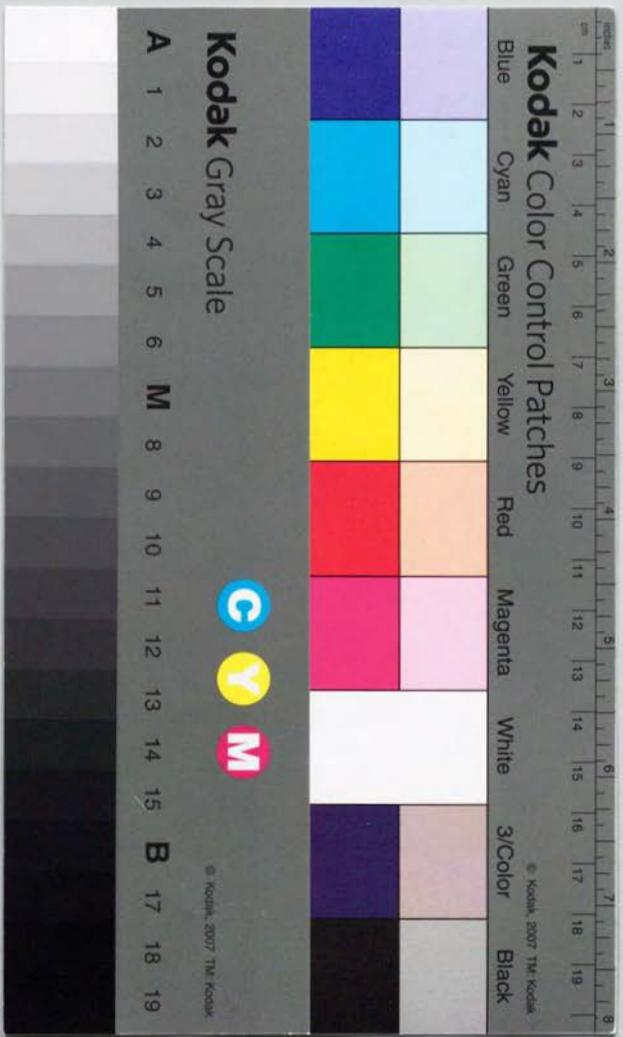
- 52) Robinson, S.E., Rice, M.A., and Davidson, W.
: A GABA cardiovascular mechanism in the dorsal raphe of the rat. *Neuropharmacology* 25: 611-615, 1986.
- 53) Wible, J.H.Jr., Luft, F.C., and DiMicco, J.A.
: Hypothalamic GABA suppresses sympathetic outflow to the cardiovascular system. *Am. J. Physiol.* 254: R680-R687, 1988.
- 54) Sasaki, S., Lee, L.-C., Iyota, I., Kambara, S., Okajima, H., Inoue, A., Takahashi, H., Takeda, K., Yoshimura, M., Nakagawa, M., and Ijichi, H.
: Central GABA-ergic stimulation attenuates hypertension and hypothalamic hyperactivity in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 4(suppl. 3): s171-s174, 1986.
- 55) Unger, T., Becker, H., Dietz, R., Ganten, D., Lang, R.E., Pettig, R., Schoemig, A., and Schwab, N.A. : Antihypertensive effect of the GABA receptor agonist muscimol in spontaneously hypertensive rats: role of the sympathoadrenal axis. *Circ. Res.* 54: 30-37, 1984.
- 56) Johnson, J.W. and Ascher, P. : Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons.

- Nature 325: 529-531, 1987.
- 57) Kemp, J.A., and Leeson, P.D. : The glycine site of the NMDA receptor - five years on. Trends in Pharmacol. Sci.14: 20-25, 1993.
- 58) Talman, W.T. and Robertson, S.C. : Glycine, like glutamate, microinjected into the nucleus tractus solitarii of rat decreases arterial pressure and heart rate. Brain Res. 477: 7-13, 1989.
- 59) Dean, C. and Coote, J.H. : A ventromedullary relay involved in the hypothalamic and chemoreceptor activation of sympathetic postganglionic neurones to skeletal muscle, kidney and splanchnic area. Brain Res. 377: 279-285, 1986.
- 60) Li, G., Regunathan, S., Barrow, C.J., Eshraghi, J., Cooper, R., and Reis, D.J. : Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. Science 263: 966-969, 1994.
- 61) Ueda, H., Yoshihara, Y., Fukushima, N., Shiomi, H., Nakamura, A., and Takagi, H. : Kyotorphin (tyrosine-arginine) synthetase in rat brain synaptosomes. J. Biol. Chem. 262: 8165-8173, 1987.
- 62) Togashi, H., Sakuma, I., Yoshioka, M., Kobayashi, T., Yasuda, H., Kitabatake, A., Saito, H., Gross,

- S.S., and Levi, R. : A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262: 343-347, 1992.
- 63) Snyder, S.H., Young, A.B., Bennett, J.P., and Mulder, A.H. : Synaptic biochemistry of amino acids. *Federation Proc.* 32: 2039-2047, 1973.
- 64) Fremeau, R.T. Jr., Caron, M.G., and Blakely, R.D. : Molecular cloning and expression of a high affinity L-proline transporter expressed in putative glutamatergic pathways of rat brain. *Neuron* 8: 915-926, 1992.
- 65) Taguchi, T., Kawasaki, H., Imamura, T., and Takasaki, K. : Endogenous calcitonin gene-related peptide mediates nonadrenergic noncholinergic depressor response to spinal cord stimulation in the pithed rat. *Circ. Res.* 71: 357-364, 1992.
- 66) 山下博、長友敏寿：神経分泌ニューロンの電気的性質と化学感受性。日本生理誌，55：85-99，1993。
- 67) Brooks, D.P., Crofton, J.T., and Share, L. : Role of catecholamines in the regulation of vasopressin release. In *Vasopressin: Cellular and Integrative Functions*, Ed. by A.W. Cowley, Jr., J.-F. Liard, and D.A. Ausiello, Raven Press, New York, pp 341-

- 347, 1988.
- 68) Feldberg, W., and Rocha E Silva, M.Jr. :
Vasopressin release produced in anaesthetized cats
by antagonists of γ -aminobutyric acid and glycine.
Br. J. Pharmac. 62: 99-106, 1978.
- 69) Unger, T., Rascher, W., Schuster, C., Pavlovitch,
R., Schoemig, A., Dietz, R., and Ganten, D. :
Central blood pressure effects of substance P and
angiotensin II: role of the sympathetic nervous
system and vasopressin. Eur. J. Pharmac. 71: 33-42,
1981.
- 70) Takemoto, Y., and Watanabe, T.X. : Heterogenous
effects of vasopressin, angiotensin II, adrenaline,
and noradrenaline on regional vascular resistance in
conscious rats. Jpn. J. Pharmacol. 64(suppl.1): 330,
1994.





Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black

Kodak Gray Scale

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19



© Kodak, 2007 TM Kodak