

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09455

研究課題名(和文) 交感神経ネットワークの  $\alpha_2$  受容体を介する抑制作用の解明研究課題名(英文) The inhibitory effects sympathetic nervous system via  $\alpha_2$ -adrenergic receptor

研究代表者

箕浦 慶乃 (Minoura, Yoshino)

昭和大学・医学部・兼任講師

研究者番号：20439467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：新生児ラットの脊髄スライス標本では、交感神経節(SPN)はノルアドレナリン(NA)で脱分極しシナプス後電位(EPSPやIPSP)は増加・増大し、Dxmで抑制された。しかしNEが抑制的に作用し、その抑制作用はDxmによって変化しなかったSPNも認めた。さらに明確な反応をみるために、延髄-交感神経幹摘出標本を用いて同様の実験をしたが違いはなかった。他の  $\alpha_2$  受容体に作用すると考えられる薬剤(Phenylephrineなど)に対する反応も違いを認めなかった。以上より、 $\alpha_2$  受容体でのオートレセプター作用に関連する延髄アドレナリン産生C1ニューロンに注目し、グルタミン酸放出の観察実験を現在は施行している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交感神経システムにおける  $\alpha_2$  受容体を介した抑制作用についてはよくわかっていない。我々は、興奮下でオートレセプターによる抑制作用が機能しない場合、交感神経活動過亢進からカテコラミン過剰状態になり、心血管疾患の増悪に関与している可能性があるとの仮説を立てた。本研究は交感神経の抑制作用を薬理的、電気生理学的に考察し、交感神経過亢進が引き起こす疾患においてもそのメカニズムの考察に重要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：It was reported that NE depolarized the SPNs and NE significantly increased the frequency and voltage of EPSP and IPSP. Dxm after application of NE decreased the EPSP frequency and EPSP voltage and IPSP voltage of the SPN. However, in some SPNs, NE induced membrane hyperpolarization and completely inhibited firings. Dxm had no effect in these SPNs. Next, we tried similar experiments using medulla - spinal cord - sympathetic nerve trunk preparation to see clearly inhibitory effects via  $\alpha_2$ -adrenergic receptor. However, we could not have clear effects. Other agents (Phenylephrine, Atipamezole, Corticotrophin releasing factor) also did not show any clear effects. Based on the above, we are studying the mechanisms of regulation of glutamic acid release via  $\alpha_2$  receptor by adrenergic C1 neuron.

研究分野：循環器内科

キーワード：交感神経 抑制作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

交感神経の過亢進は様々な疾患の増悪を来たすが、その制御のメカニズムについてはよく分かっていない。交感神経システムには  $\alpha_2$  受容体を介してシナプス前膜から放出されたノルアドレナリン(NA)を受け取って自分自身の NA の放出を抑える negative feedback 作用があり、我々は、交感神経興奮下でこの抑制作用がうまく作用しない場合、カテコラミン過剰状態が生じると考えた。一方で、交感神経節前ニューロン (SPN) における  $\alpha_2$  受容体を介した negative feedback 作用がそれより末梢の遠心性交感神経(Efferent sympathetic nerve fibers: ESNF)や交感神経系臓器に抑制作用をもたらすのかよく分かっていない。延髄(SPN)-交感神経幹-交感神経臓器という連絡が保たれた標本を用いて、交感神経システムの中での  $\alpha_2$  受容体を介した抑制作用を電気生理学的、薬理的に考察する。過度なストレスによる交感神経の過亢進により生じると考えられている、たこつぼ心筋症患者の  $\alpha_2$  受容体遺伝子異常と関連した研究に発展できる可能性も期待される。

## 2. 研究の目的

脊髄スライス標本による SPN のホールセルパッチクランプ法による細胞内記録法<sup>1)</sup>を用いて、以前我々は SPN は NA で脱分極しシナプス後電位(EPSP や IPSP)は増加・増大し、Dxm で抑制されたことを報告した<sup>2)</sup>。しかし一方で、いくつかの SPN では、NE は抑制的に作用し、その抑制作用は Dxm によって変化しなかった。また、 $\alpha_2$  受容体の反応の程度は個体差が大きかった。以上を踏まえて、脊髄スライス標本ではなくさらに大きな交感神経システムの中での  $\alpha_2$  受容体による交感神経抑制作用を電気生理学的、薬理的に考察する。

## 3. 研究の方法

新生児(0-3 日齢)ラットの延髄-脊髄 - 交感神経幹標本を用いた。ラットから交感神経幹を摘出するのは比較的困難であり、速やかに劣化せずに摘出するため蛍光実体顕微鏡を用いてその位置や構造を把握した。脊髄 Intermediolateral cell column (IML)に位置する SPN に NA やストレス物質、またデキサメドミジン( $\alpha_2$  受容体作動薬)・アンチセダン( $\alpha_2$  受容体拮抗薬)注入し、遠心性交感神経での出力を観察した。さらに、興奮性シナプス後電位(EPSP)や抑制性シナプス後電位(IPSP)をブロックする CNQX、ピククリンなどを投与し、その後 NA、デキサメドミジン・アンチセダン投与による遠心性交感神経での電気活動を測定した。

## 4. 研究成果

SPNのホールセルパッチクランプ法による細胞内記録法を用いて、SPNはNAで脱分極しシナプス後電位(EPSPやIPSP)は増加・増大し、Dxmで抑制されたことを報告した<sup>2)</sup>。しかしいくつかのSPNでは、NEは抑制的に作用し、その抑制作用はDxmによって変化しなかった。その一方で、 $\alpha_2$ 受容体の反応の程度は個体差が大きかった。そこで、もっと大きな交感神経システムであれば反応がより大きくみられ個体差も小さくなると予想し、延髄-脊髄 - 交感神経幹摘出標本を用いて<sup>3)</sup>SPNの  $\alpha_2$ 受容体を介する反応を電気生理学的、薬理的に観察する実験を施行したが、脊髄スライス標本に比べより大きい反応は予想に反してみられなかった。さらに延髄-脊髄 - 交感神経幹摘出標本を用い、NEやDxm以外の  $\alpha_2$

受容体に作用すると考えられる薬剤(Phenylephrine、Atipamezole、Corticotropin releasing factor)に対する反応も観察したが明らかな違いを認めることができなかった。(ここまでは2016年度基盤研究C 16K09455での研究内容)

以上の結果を踏まえて、大きな交感神経系である延髄-脊髄 - 交感神経幹摘出標本を用いることを断念し、さらに  $\alpha_2$  受容体でのオートレセプター作用に関連性が考えられる延髄アドレナリン産生 C1 ニューロンに注目し、C1 ニューロン SPN における  $\alpha_2$  受容体を介したグルタミン酸放出の観察実験を施行している。

#### 引用文献

- 1) Minoura Y, Onimaru H, Homma I, Kobayashi Y. The electrophysiologic responses of sympathetic preganglionic neurons to angiotensin II and aldosterone. *Am J physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009 Sep;297(3):R699-706.
- 2) Minoura Y, Onimaru H, Homma I, Kobayashi Y. Modulation of sympathetic preganglionic neuron activity via adrenergic receptors. *Hypertension Res*. 2018 41(7), 499-505.
- 3) Oyama Y, Iigaya K, Minoura Y, Okabe T, Izumizaki M, Onimaru H. An in vitro experimental model for analysis of central control of sympathetic nerve activity. *J Physiol Sci*. 2017 67(5), 629-635.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshino Minoura et al.	4. 巻 41
2. 論文標題 Modulation of sympathetic preganglionic neuron activity via adrenergic receptors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 499-505
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41440-018-0049-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kamon Iigaya, Yoshino Minoura, Hiroshi Onimaru et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of Feeding-Related Peptides on Neuronal Oscillation in the Ventromedial Hypothalamus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 E292
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm8030292	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yoshino Minoura et al.	4. 巻 41
2. 論文標題 Modulation of sympathetic preganglionic neuron activity via adrenergic receptors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 499-505
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oyama Yuji, Iigaya Kamon, Minoura Yoshino, Okabe Toshitaka, Izumizaki Masahiko, Onimaru Hiroshi	4. 巻 67
2. 論文標題 An in vitro experimental model for analysis of central control of sympathetic nerve activity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 629 ~ 635
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12576-017-0549-5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Oyama Y, Onimaru H, Iigaya K, Minoura Y
2. 発表標題 Angiotensin II enhanced peripheral sympathetic nerve activity in the brainstem-spinal cord preparation from newborn rats.
3. 学会等名 The international society for autonomic neuroscience 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----