

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592743

研究課題名(和文) 口腔乾燥感誘発と内因性カンナビノイド

研究課題名(英文) Induction of oral dryness and endocannabinoid

研究代表者

稲永 清敏 (INENAGA, Kiyotoshi)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：90131903

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：ラット脳スライス標本およびラットの脳室内に薬物を投与することにより、内因性カンナビノイドの口渇感に対する影響を調べた。実験の結果、内因性カンナビノイドは、口渇中枢の一つである脳弓下器官のGABA性シナプス連絡に影響を与え、神経活動の微調整に寄与していることが推測されたが、ニューロンの自発活動に余り影響を与えなかったことおよび水分・塩分摂取行動に対する効果が認められなかったことより、通常の(正常の)状態では、内因性カンナビノイドは口渇感発現には重要な役割を演じているのではなさそうである、と考えられた。

研究成果の概要(英文)：This study was to clarify a relationship between endocannabinoid and thirst sensation. Male Wistar rats were used in the experiment. First, the effects of endocannabinoids on IPSCs of neurons of the subfornical organ (SFO), which is a thirst center of the brain, recorded from brain slice preparations were investigated with patch clamp method. The CB1 receptor agonist WIN 55,221-2 (WIN) decreased significantly the frequency but not the amplitude of IPSCs. The effect was disappeared with the CB1 antagonist. Next, the endocannabinoids on neural activity of the SFO were investigated with the multi-electrode array (MEA) method. Application of the endocannabinoid anandamide and WIN affected unit activities in only the small number of neurons. The i.c.v. injection of WIN had no effects on water and salt intakes. These suggest that while endocannabinoids affect GABA release in the SFO, they do not play any important role in induction of thirst sensation, if present, in the normal condition.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：内因性カンナビノイド 脳弓下器官 飲水行動

1. 研究開始当初の背景

口腔乾燥症は年々増加しており、高齢者の罹患率は特に高い。原因としては、加齢、シェーグレン症候群などの唾液腺疾患、薬物療法の副作用、X線照射療法後の後遺症、心因性によるものなど多岐に渡っており、「のどの“ 渇き ” thirst」や「口の“ 乾き ” dryness」が複雑に絡み合っていると考えられている。従来、この領域における研究は主に唾液分泌低下症に焦点を絞って進んできた。我々は、口腔乾燥症の成因を、脳内の口渇中枢の関与を考慮することにより口腔乾燥症を包括的に把握できるのではないかと考えている。最近の研究により、内因性カンナビノイドやその受容体が口渇中枢に存在していることが明らかとなった。

2. 研究の目的

本研究は、内因性カンナビノイドと口腔乾燥症との関わりを行動学的・電気生理学的手法を用いて明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

実験にはウイスター系雄性ラットを用いた。(1) シナプス電流に対する内因性カンナビノイドの効果：ラットをペントバルビタールにて深麻酔し、脳を摘出した。200 μm の脳スライス標本を作製し、脳弓下器官ニューロンよりパッチクランプ法にて、IPSC を記録した。還流液中に CB1 アゴニスト WIN 5 μM および CB1 アンタゴニスト AM251 5 μM を投与した。

(2) 脳弓下器官ニューロンの神経活動に対する内因性カンナビノイドの効果：(1) と同じように脳スライス標本を作製した。ただし、切片の厚みは 300 μm であった。脳弓下器官より、多電極記録システム(MEA)を用い、ニューロンの自発活動を記録した。還流液中に WIN 5 μM および 15 μM 、および AM251 5 μM を投与した。ニューロンの自発活動であることを、1 μM TTX を投与することにより確認した。

(3) 水分および塩分摂取行動に対する内因性カンナビノイドの脳室内投与：ラットをペントバルビタールにて麻酔し、側脳室にカニューレを装着した。1 週間後、脳室内に薬物を投与し、水および 0.3M NaCl の摂取量の測定を行った。

4. 研究成果

(1) シナプス電流に対する内因性カンナビノイドの効果：抑制性シナプス後電流(IPSC)に対する WIN 5 μM の効果を調べた(n=9)。IPSC の振幅には影響なかったが、頻度が有意に抑制された(p<0.05)。AM251 は WIN の抑制効果を有意に減弱した(n=4、P<0.005、下図 B)。この結果、内因性カンナ

ビノイドは、脳弓下器官における GABA 性シナプス伝達を CB1 受容体を介してシナプス前性に修飾している可能性が考えられた。

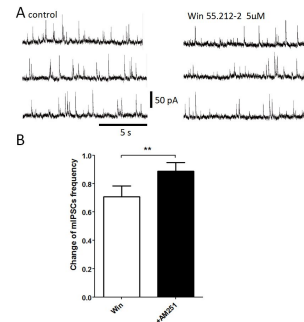


図1. GABA 性シナプス伝達に及ぼす CB1 アゴニストの効果

(2) 脳弓下器官ニューロンの神経活動に対する内因性カンナビノイドの効果：脳弓下器官より記録した、22 個のユニット活動について AEA 10 μM の効果を調べた。2 ユニットが興奮、3 ユニットが抑制を示した。WIN 5 μM (n=21) では、2 ユニットが興奮、3 ユニットが抑制を示した。WIN での抑制効果は、AM251 5 μM の共投与で、調べた 2 ユニットにおいて消失した。(1) の結果より、内因性カンナビノイドが脳弓下器官ニューロンの活動を上昇させることが期待されたが、今回の実験結果から、その関与が余り大きくないことが考えられた。

(3) 水分および塩分摂取行動に対する内因性カンナビノイドの脳室内投与：WIN 1 μg および 5 μg 脳室内投与後 1 時間の水分および 0.3M NaCl 液の摂取量を調べた。WIN では、コントロールと比べ水分および塩分摂取量に変化が認められなかった。一方で、0.1nmol アンジオテンシン(AngII)の脳室内投与では、有意な水分および塩分摂取が認められた。(2) の結果と合わせて考えると、正常な状態では、内因性カンナビノイドは口渇感発現に積極的に関与していないのではないかと考えられた。

内因性カンナビノイドは、ストレスが負荷されると増加し、ストレスを軽減する作用をもつことが知られている。また、アルコール摂取、アルコール中毒とも関係が深い。そこで、上記の結果を、アルコール摂取と喉の渇きとの関係を調べることに生かせないかと考え実験を行っている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

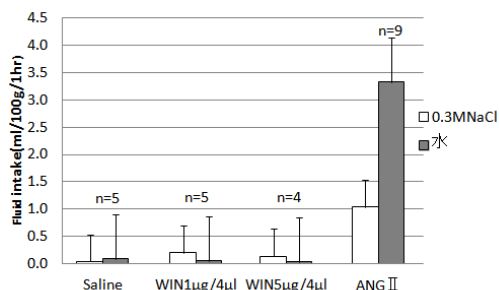


図2 .水分・塩分摂取行動に対するWINの脳室内投与の効果

Asami R, Ono K, Nakanishi O, Inenaga K. Distinct mechanisms underlie the regulation of body fluid balance by neurokinin B and angiotensin II in the rat brain. *Brain Res* (査読有) 1383:179-86, 2011
doi: 10.1016/j.brainres.2011.01.072

Ono K, Asami R, Miyahara N, Nakanishi O, Inenaga K. Neuronal effects of neurokinin B on the rat subfornical organ. *NeuroReport* (査読有) 22:374-8, 2011
doi: 10.1097/WNR.0b013e3283469645

Ono K, Inagaki, Iida T, Wakasugi-Sato N, Hosokawa R, Inenaga K. Distinct effects of cevimeline and pilocarpine on salivary mechanisms, cardiovascular response and thirst sensation in rats. *Arch Oral Biol* (査読有) 57:421-428, 2012
doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.09.013

Miyahara N, Ono K, Hitomi S, Hirase M, Inenaga K. Dopamine modulates neuronal excitability pre- and post-synaptically in the rat subfornical organ. *Brain Res* (査読有) 1447:44-52, 2012
doi: 10.1016/j.brainres.2012.01.063

[学会発表](計 10 件)

1. 稲永清敏, 人見涼露, 小野堅太郎: 体液調節に関与した中枢ニューロンのアルコールに対する応答, 第 54 回歯科基礎医学会, 郡山, 9月14日~16日, 2012年
2. 稲永清敏, 神田修治, 近藤智裕, 田中慶太, 山口高広, 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎: ラットの水および塩分摂取行動に対するエタノールの作用, 第 63 回西日本生理学会, 大分, 平成 24 年 10 月 19 日, 2012 年
3. 稲永清敏, 神田修治, 近藤智浩, 田中慶太, 山口高広, 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎: 二日酔い時における喉の渴きのメカニ

ズム: ラット腹腔内エタノール投与後の飲水行動と脳内 c-Fos 免疫組織, 第 90 回日本生理学会, 船堀, 3 月 27 日~29 日, 2013 年

4. 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎, 柿木保明, 稲永清敏: エタノールおよびアセトアルデヒドのラット脳弓下器官ニューロンに対する作用, 第 90 回日本生理学会, 船堀, 3 月 27 日~29 日, 2013 年
5. 稲永清敏, 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎, 蔵満幸子, 神田修治, 近藤智浩, 田中慶太, 山口高広, 柿木保明: 二日酔いをした時の喉の渴きはアセトアルデヒドが原因でおこる, 第 73 回九州歯科学会総会, 5 月 18 日・19 日, 2013 年
6. Inenaga K, Ujihara I, Hitomi S, Ono K, Kakinoki Y. A mechanism of thirst sensation in hangover, The 11th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscle Sciences, 浜松, 9 月 4 日~7 日, 2013 年
7. 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎, 柿木保明, 稲永清敏: エタノールおよびアセトアルデヒドの口渇中枢ニューロンに対する作用, 第 55 回歯科基礎医学会, 岡山, 9 月 20 日~22 日, 2013 年
8. 稲永清敏, 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎, 柿木保明: 二日酔いで口渇感の原因はアセトアルデヒドが原因でおこる, 第 55 回歯科基礎医学会, 岡山, 9 月 20 日~22 日, 2013 年
9. 氏原泉, 人見涼露, 小野堅太郎, 柿木保明, 稲永清敏: アセトアルデヒドがレニン・アンジオテンシン系を活性化し, 水分・塩分摂取を誘発する, 第 64 回西日本生理学会, 北九州, 10 月 18 日・19 日, 2013 年
10. Inenaga K, Ujihara I, Hitomi S, Ono K, Kakinoki Y. A mechanism of thirst sensation in hangover, The 11th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 福岡, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2013 年

[その他]

ホームページ等

http://www.kyu-dent.ac.jp/docs/research/researcher/inenaga_kiyotoshi.pdf

6 . 研究組織

(1)研究代表者

稲永 清敏 (INENAGA, Kiyotoshi)
九州歯科大学・歯学部・教授
研究者番号：9 0 1 3 1 9 0 3

(2)研究分担者

小野 堅太郎 (ONO, Kentaro)
九州歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号：4 0 3 1 6 1 5 4

(3)研究分担者

人見 涼露 (HITOMI, Suzuro)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：7 0 5 4 8 9 2 4