

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500793

研究課題名(和文) 運動時の中枢性循環調節機序 視床下部結節乳頭核 延髄孤束核系の役割について

研究課題名(英文) Central mechanisms of cardiovascular regulation during exercise -potential role of the TMN and NTS-

研究代表者

和気 秀文(Waki, Hidefumi)

順天堂大学・スポーツ健康科学部・准教授

研究者番号：50274957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：運動時には血圧と心拍数が上昇する。この現象は一般認識と言っても過言ではない。この循環反応は活動筋や脳への血流分配に寄与しており、運動パフォーマンスの維持に極めて重要である。運動時の循環調節は、自律神経活動を支配する脳の機序に帰するところが大きいとその詳細は今なお不明である。本研究では運動時循環調節に関わる脳内神経経路について調べた。その結果、ヒスタミン作動性神経系による結節乳頭核 - 孤束核系の賦活化がその機序の一部を担っていることが示された。

研究成果の概要(英文)：A single bout of exercise induces a moderate increase in arterial pressure with marked tachycardia. We previously found that the nucleus tractus solitarius (NTS), which is one of cardiovascular centers, is likely involved in regulating cardiovascular system during exercise. More importantly, we found that NTS histamine receptors may play a role in regulating blood pressure during exercise. Since histaminergic neurons are dominantly located in the tuberomammillary nucleus (TMN), we investigated whether the TMN-NTS pathway is involved in the central cardiovascular regulation during exercise. We electrically stimulated the TMN in anesthetized rats and found pressor and tachycardiac responses. The pressor responses were partially inhibited by a H1 receptor antagonist, microinjected into the NTS. Moreover we found that the TMN lesion decreased pressor responses during exercise. These findings suggest that the TMN-NTS pathway is involved in the central pressor responses during exercise.

研究分野：生理学

キーワード：運動 血圧 交感神経 孤束核 結節乳頭核 ヒスタミン 心拍数 循環調節

1. 研究開始当初の背景

(1) 運動時には血圧と心拍数が上昇する。この現象は一般認識と言っても過言ではない。この循環反応は活動筋や脳への血流分配に寄与しており、運動パフォーマンスの維持に極めて重要な反応である。運動時の循環調節は、自律神経活動を支配する脳の機序に帰するところが大きい。しかしその機序の詳細は今なお不明である (Waki, 2012)。

(2) 延髄循環調節中枢のなかでも孤束核 (NTS) は交感神経と副交感神経を同時に調節し、運動時の循環調節に関与していると考えられている。

(3) これまでの研究では、ラットの運動習慣は、NTS におけるヒスタミン H1 受容体の遺伝子発現に影響すること、NTS では他のサブタイプに比べ H1 受容体遺伝子発現量が高く、H1 受容体タンパクは神経細胞に発現していること、NTS への H1 受容体アゴニスト微量注入は、昇圧・頻脈反応 (運動時と似た循環反応) を惹起すること、さらに NTS 内 H1 受容体を介した昇圧反応は、長期の運動習慣により有意に増大すること (可塑性) を明らかにした (Waki et al., 2013)。

(4) ヒスタミン神経細胞の多くは視床下部後部にある結節乳頭核 (TMN) に存在する。以上の背景より、「運動時の循環調節にはヒスタミン作動性神経系による TMN - NTS 系の賦活化が関与する」という仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では上記仮説を検証することを目的に、以下の項目について明らかにした。

(1) ラット TMN におけるヒスタミン陽性神経細胞の局在と、同部位から NTS への神経投射について。

(2) ラット NTS に存在するヒスタミン受容体 H1 の自律神経性循環調節作用 (動脈圧受容器反射) について。

(3) ラット TMN の循環調節作用と、その

作用に関わる NTS の役割について。

(4) 自由行動下ラットの 24 時間循環動態と運動時の循環反応における TMN の役割について。尚この実験では、テレメトリー法を用いることにより、自由行動下ラットから循環動態を計測した。

本研究は、これまでにブラックボックスとして扱われていた運動時循環調節機序について調べるもので、その成果は運動生理学・健康科学分野の発展に大きく貢献すると考える。

3. 研究の方法

本研究は和歌山県立医科大学および順天堂大学の実験動物委員会において承認を受けた後に行われた。

(1) ラット結節乳頭核と孤束核の関係について免疫組織化学的に調べるために、ラットを深麻酔後に灌流固定し、視床下部を中心とした脳スライス標本を作成した。ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) 抗体を用いた免疫組織化学的手法により、ヒスタミン神経細胞を染色し、蛍光顕微鏡によりその脳内の局在について調べた。また、別のラットを用い、麻酔下で NTS へ逆行性蛍光トレーサー (FluoroGold) を微量注入して NTS 投射性神経細胞群を標識し、その脳内の局在と HDC 抗体陽性部位とを比較した。

(2) NTS 内ヒスタミン受容体 H1 の循環調節作用について明らかにするため、麻酔下ラットの NTS へヒスタミン受容体 H1 アゴニスト (2-pyridylethylamine dihydrochloride) を微量投与し、動脈圧、心拍数、交感神経活動、腓腹筋血流量および動脈圧受容器反射へ及ぼす影響について調べた。動脈圧受容器反射は、大腿静脈にフェニレフリン ($\alpha 1$ 受容体アゴニスト) を投与し昇圧させた際の徐脈応答を記録し、反射感度を心拍数変化量 / 昇圧量として算出した。

(3) ラット TMN における循環調節作用に

ついて明らかにするために、麻酔下ラットの TMN をマイクロ同心円電極で刺激し(200 μ A、50Hz、30sec)、動脈圧、心拍数、交感神経活動ならびに腓腹筋血流量を測定した。また、TMN 電気刺激依存性の循環応答が NTS を介した反応か否かについて調べるため、H1 受容体アンタゴニスト (Cetirizine dihydrochloride) を NTS へ微量注入したときの電気刺激応答についても観察した。

(4) テレメトリー法を用いて自由行動下ラットの血圧を測定し、TMN の電気刺激破壊後の 24 時間循環動態および回転ケージによる自発性運動時の循環動態を観察した。麻酔下ラットに血圧測定用送信機を埋め込み、一週間の回復を待ってから、24 時間の連続データを取得した。その後、回転カゴ付ケージに動物を移動させ、暗期の 6 時間の血圧および心拍数と回転カゴ運動のシグナルを記録した。その後、再度動物を麻酔し TMN を電気刺激により破壊した。一週間の回復を待ってから、24 時間血圧および心拍数の記録と、回転カゴによる運動中の循環動態を再び記録した。

4. 研究成果

(1) HDC 抗体を用いてヒスタミン神経細胞の局在について調べた結果、HDC 抗体陽性細胞の多くは、腹側および背側 TMN に局在していた。また、NTS においては線維状のものも標識され、ヒスタミン神経の投射を確認した (Takagishi et al. 2014)。また、NTS への逆行性蛍光トレーサー注入により、腹側 TMN にある細胞群が標識されたことから、ヒスタミン神経を介した腹側 TMN - NTS 経路の存在が示唆された (図 1)。一方背側 TMN には NTS に投射している神経細胞はほとんど見られなかった。視床下部におけるその他の領域では、室傍核に NTS へ投射している細胞群が多く観察され、従来の報告と一致する結果を得た。

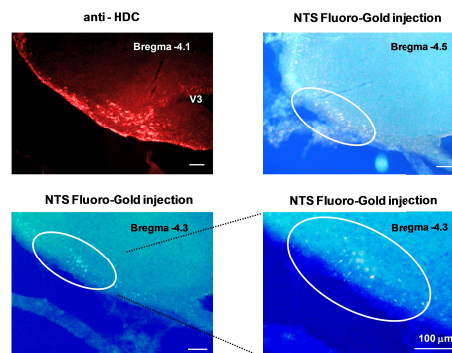


図 1 結節乳頭核内のヒスタミン抗体陽性細胞 (左上) と孤束核 (NTS) 投射性神経細胞 (右上および下) の局在

(2) 麻酔下ラットの NTS へヒスタミン受容体 H1 アゴニストを微量投与した結果、動脈圧、心拍数、交感神経活動、腓腹筋血流量はいずれも増加した。また、動脈圧受容器反射の感度は NTS へのアゴニスト投与により有意に減弱した (Takagishi et al. 2014)。

(3) 麻酔下ラットの腹側 TMN を電気刺激したところ、昇圧・頻脈反応を誘発することがわかった (図 2)。さらに、TMN 刺激による昇圧反応は、NTS への H1 受容体アンタゴニスト注入により部分的に抑制されることが分かった。一方頻脈反応はアンタゴニストの投与により影響を受けなかった (図 3)。

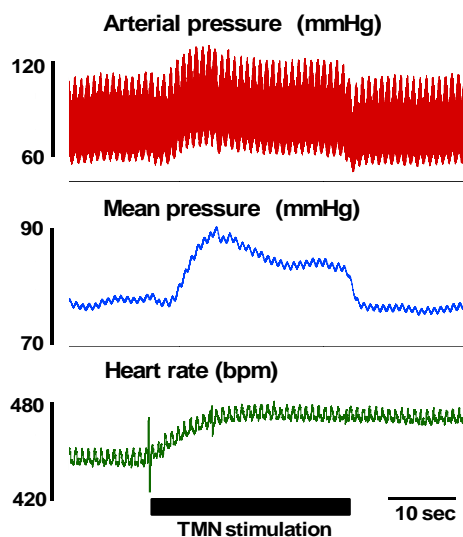


図 2 腹側結節乳頭核 (TMN) 電気刺激による昇圧・頻脈反応

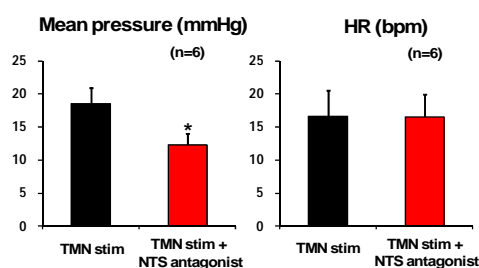


図3 NTS への H1 受容体アンタゴニスト微量注入が TMN 電気刺激依存性循環応答に及ぼす影響

(4) テレメトリーを用いて自由行動下ラットの血圧と心拍数を測定した実験では、TMN を破壊すると、特にラットが活動している暗期に動脈圧が対照群に比べ低値を示した。また運動中の昇圧反応の減弱を認めたものの完全な抑制には至らなかった。

以上より、腹側 TMN - NTS 経路の興奮は、運動開始に伴う血管交感神経活動賦活化に寄与し、動脈圧の上昇を引き起こす一機序であると考えられた (Waki et al., 2014; Waki et al., 2013; Waki, 2012)。しかし、運動時の頻脈作用には同経路以外の機序も存在すると考えられた。結論として、本研究により、運動などの身体活動時の循環調節には腹側 TMN - NTS 経路を介したヒスタミン作動性神経系が少なからず関与していることが示された。

<引用文献>

Waki H, Gouraud S, Bhuiyan MER, Takagishi M, Kohsaka A, Maeda M, Transcriptome of the NTS in exercise-trained spontaneously hypertensive rats: implications for NTS function and plasticity in regulating blood pressure, *Physiological Genomics*, 45, 2013, pp58-67

Waki H, Central mechanisms of cardiovascular regulation during exercise -integrative functions of the nucleus tractus solitarii-, *JPFMSM*, 1, 2012,

Bhuiyan MER, Waki H, Gouraud SS, Takagishi M, Kohsaka A, Maeda M, Histamine receptor H1 in the nucleus tractus solitarii regulates arterial pressure and heart rate in rats, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 310, 2011, ppH523-H529

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

Waki H, Takagishi M, Gouraud SS, Central mechanisms underlying anti-hypertensive effects of exercise training, *J Phys Fitness Sports Med*, 査読有, 3, 2014, pp317-325

DOI: 10.7600/jpfsm.3.317

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpfsm/3/3/3_317/_pdf

Waki H, Gouraud S, Brain inflammation in neurogenic hypertension, *World Journal of Hypertension*, 査読有, 4, 2014, pp1-6

DOI:10.5494/wjh.v4.i1.1

<http://www.wjgnet.com/2220-3168/full/v4/i1/1.htm>

Takagishi M, Gouraud SS, Bhuiyan ME, Kohsaka A, Maeda M, Waki H, Activation of histamine H1 receptors in the nucleus tractus solitarii attenuates cardiac baroreceptor reflex function in rats, *Acta Physiol (Oxf)*, 査読有, 211, 2014, pp73-81,

DOI: 10.1111/apha.12278

Waki H, Gouraud S, Bhuiyan MER, Takagishi M, Kohsaka A, Maeda M, Transcriptome of the NTS in exercise-trained spontaneously hypertensive rats: implications for NTS function and plasticity in regulating blood pressure,

Physiological Genomics, 査読有, 45, 2013, pp58-67

DOI: 10.1152/physiolgenomics.00074.2012

Waki H, Central mechanisms of cardiovascular regulation during exercise -integrative functions of the nucleus tractus solitarius-, JPFSM, 査読有, 1, 2012, pp253-261

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpfsm/1/2/1_253/_pdf

DOI:10.7600/jpfsm.1.253

〔学会発表〕(計10件)

和気 秀文、高岸 美和、グホ サビン、向阪 彰、前田 正信、結節乳頭核 - 孤束核経路は昇圧反応を惹起する、第 92 回日本生理学会大会、神戸コンベンションセンター、神戸市、兵庫県、2015 年 3 月 22

和気 秀文、運動時の中枢性血圧調節とトレーニングによるその可塑性 - 運動療法による抗高血圧効果の機序を探る -、第 50 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会、和歌山県立医科大学 生涯研修センター、和歌山市、2014 年 12 月 5 日

和気 秀文、運動時循環応答の中枢性機序 - 視床下部結節乳頭核 - 延髄孤束核経路の役割、第 69 回日本体力医学会大会、長崎大学、長崎市、2014 年 9 月 19 日

和気 秀文、視床下部結節乳頭核 - 延髄孤束核経路は運動時の昇圧反応に関与する、第 35 回日本循環制御医学会総会、九州大学医学部百年講堂、福岡市、2014 年 7 月 4 日

高岸 美和、和気 秀文、Bhuiyan MER、Gouraud S、向阪 彰、前田 正信、延髄孤束核内ヒスタミン受容体 H1 の動脈圧受容器反射調節作用、第 91 回日本生理学会大会、鹿児島大学、鹿児島市、2014 年 3 月 17 日

和気 秀文、運動時の中枢性循環調節とその可塑性、第 59 回日本宇宙航空環境医学会大会、川崎医療福祉大学、倉敷市、岡山県、2013 年 11 月 22 日

和気 秀文、運動時の中枢性血圧調節機構：延髄孤束核の統合機能を中心に、第 90 回日本生理学会大会、シンポジウム、タワーホール船堀、東京、2013 年 3 月 28 日

和気 秀文、高血圧発症の中枢性機序—延髄孤束核の役割を中心に -、第 65 回日本自律神経学会総会、シンポジウム、都市センターホテル、東京、2012 年 10 月 26 日

和気 秀文、運動時の中枢性循環調節機構 - 延髄孤束核の役割を中心に -、第 67 回日本体力医学会大会、シンポジウム、岐阜都ホテル・長良川国際会議場、岐阜市、2012 年 9 月 14 日

和気 秀文、高血圧の発症と改善に関わる血圧調節中枢(延髄孤束核)の役割、第 10 回かほく運動研究会、特別講演、金沢医科大学、金沢市、2012 年 7 月 5 日

〔図書〕(計1件)

和気 秀文、真興交易(株)医書出版部、ニュー運動生理学(I)(II)第11章 運動と循環-4)心臓血管系の中枢性調節、2014、pp145-153

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和気 秀文 (Waki Hidefumi)

順天堂大学・スポーツ健康科学部・准教授
研究者番号：50274957

(2) 研究分担者

向阪 彰 (Kohsaka Akira)
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：00458051

グホ サビン (Gouraud Sabine)
お茶の水女子大学・理学部・学部教育研究
協力員
研究者番号：30453179