

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06854

研究課題名(和文) ラット延髄の昇圧性アミノ酸・L-システイン刺激による末梢血流再配分の解析

研究課題名(英文) Peripheral blood flow redistribution induced by pressor amino acid L-cysteine stimulations of the rat medulla

研究代表者

竹本 裕美 (Takemoto, Yumi)

広島大学・医系科学研究科(医)・講師

研究者番号：60188224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：身体に一定量しかない血液は必要な時必要とする器官にあたかも水道の蛇口を捻るように神経性に血管径を変えて速やかにやりくりされるが、その神経活動を調節する脳内の仕組みはまだ解明されていない。本研究では、脳で統合された情報の出口である延髄に着目し、微量のアミノ酸・L-システインで化学刺激して、全身の血管に分布する交感神経および頭部血管への副交感神経を調節する反応部位を詳細に調べ、血流再配分の解明を目指した。その結果、1) 交感神経による筋血流と頭部血流の反応部位が状況依存的に異なること、2) 頭部血管を拡張する副交感神経の起始部が従来の上および下唾液核より広く分布することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生命維持に必須の循環系調節メカニズムはその重要性から歴史的に多くの研究者の関心を集め、解明が進んでいる分野の一つである。しかしながら、中枢ネットワークが関与する血流の再配分の仕組みについてはいまだ手が付けられていない。本研究では、脳で統合された情報の出口である延髄における筋および頭頸部への血流調節部位を明らかにしたので、引き続き延髄に始まる中枢ネットワークの接続や機能の解明が進み、脳血流の管理、生命維持に直結した医療の進歩に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Limited amount of blood in the body is quickly distributed via autonomic nerves' regulation as if twisting a tap to the organs that need blood when needed, but the mechanism in the brain has not yet been elucidated. In this study, we focused on the medulla oblongata of rats, which regulates sympathetic nerves distributed in blood vessels throughout the body and parasympathetic nerves to head blood vessels. We chemically stimulated the medulla with trace amounts of the amino acid L-cysteine, measuring muscle blood flow or cranial blood flow. We clarified that the reaction sites of muscle and cranial blood flow in the medulla are different dependent on the body situation and the parasympathetic nerve origin is wider than the conventional salivary nucleus.

研究分野：自律機能の中枢ニューロナルネットワーク

キーワード：血流再配分 総頸動脈 筋血流 RVLM昇圧野 PcRt 交感神経前運動ニューロン 自律神経の中枢 延髄

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

身体内に一定量しか血液は、必要とする器官に速やかに再配分される。例えばラットのグルーミングおよび走行時、後肢と頭頸部間でこれらの行動に伴って血流が相互にシフトする。各器官への血管径を調節して血流を再配分する神経回路が脳に存在すると考えられ、その全貌解明に向けて関心が集まりつつある。延髄吻側腹外側 (RVLM) には、全身の血管交感神経の活動を調節し血圧を緊張性に維持する重要なニューロン群があり、血流再配分への関与が期待される。ネコではこの RVLM 野の血流調節部位について機能局在が報告されているが、ラットではまだ詳細が不明である。我々は、特に後肢と頭頸部の血流を調節するラット RVLM 野のニューロン群の分布の解明を目指して、本研究を計画した。

全身の血管は交感神経だけで血管径が調節されるが、頭頸部(および生殖器官)の血管はさらに副交感神経支配を受け二重調節されている。したがって、後肢の筋血流は RVLM 野の交感神経前運動ニューロンがもっぱら調節し、頭頸部血流は交感神経に加えてさらに副交感神経活動の調節も受ける。頭頸部への副交感神経(脳神経)起始部は、RVLM より吻側の唾液核にあるとされており、研究開始当初は研究対象に入れてなかった。しかし、RVLM の刺激実験の際に副交感神経性と思われる血流増加作用が得られたので、急遽本研究の一環として副交感神経起始部についても詳しく調べ、従来の認識より広い場所に広がることを明らかにした。

2. 研究の目的

延髄 RVLM 野のニューロン群の細胞体はほかの多くの脳部位から興奮性の投射を受けており、シナプス部分の神経終末から出る化学物質が細胞体や樹状突起のレセプターに結合すると RVLM ニューロンが活性化され、つづく血管交感神経興奮で血管が収縮し該当器官への血流量が減少する。レセプターに作用する化学物質をシナプス外から注入しても同じ効果が得られる。本研究では、血流量調節ニューロナルネットワークのアウトプット部分の要のひとつである RVLM 野を中心としたラット延髄の自律機能関連領域における化学刺激に対する筋血流と頭頸部血流反応部位の分布を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) L-システインによる化学刺激

従来から代謝型興奮性アミノ酸レセプター (mEAAR) とイオンチャネル型興奮性アミノ酸レセプター (iEAAR) の両方を刺激するグルタミン酸が化学刺激剤として使われてきたが、多くの自律機能は延髄の iEAAR を介しており、グルタミン酸刺激では mEAAR 活性化による何らかの機能修飾があり、結果に影響を及ぼす可能性がある。我々は、ニューロモデューラ候補アミノ酸・L-システインが iEAAR を活性化して中枢性循環作用を発揮することを明らかにしてきたので、化学刺激剤として L-システインを選択した。

(2) 筋血流反応部位のマッピング

頭部をフレームに固定した麻酔ラットの腹側の延髄表面を露出し、主に後肢に流れる腹部大動脈に血流測定用プローブを装着、総頸動脈に血圧測定用チューブを挿入し、血流、血圧、血流抵抗(血圧/血流)をモニターしながら、延髄腹側表面に刺入したガラスキャピラリーを通して L-システインを表面から 0.7-0.8 mm の深さに繰り返し微量注入して、循環反応と部位をマッピングした。

RVLM 野では基本的に昇圧および血流低下反応が得られた。しかし、数か所で降圧および血流増加反応が観察されたので、副腎交感神経を介する反応を想定し、アドレナリンによる筋血管拡張作用の関与をレセプター拮抗薬の静脈注射後の血流反応で調べた。

(3) 頭頸部血流反応部位のマッピング

前項と逆に、総頸動脈に血流測定用プローブを装着、腹部大動脈に血圧測定用チューブ先端を留置して、RVLM 野およびさらに吻側背側の延髄深部における循環反応と部位をマッピングした。

交感神経性部位のマッピング：RVLM 昇圧野および延髄尾側腹外側 (CVLM) 降圧野の血流反応を、頭頸部への交感神経を切除したラットでも調べて両野における血流反応が交感神経性であることを確かめた。

副交感神経性部位のマッピング：交感神経を切断したラットの RVLM の刺激で稀に血流増加反応が観察されたので、副交感神経性である可能性をさらに追及した。交感神経を切除したラットと無傷のラットを用意して、副交感神経起始部である上および下唾液核が存在する背側周辺までキャピラリーを深く刺入して、総頸動脈血流反応部位の広がりを見極めた。

外頸および内頸動脈反応のマッピング：総頸動脈が分岐した外頸動脈は筋肉、皮膚、顎下腺等の頭頸部の外部、内頸動脈は脳、眼などの頭頸部の内部に流れる。副交感神経性血流反応部位に外頸および内頸動脈に対応した局在があるかを、それぞれ内頸動脈および外

頸動脈の結索後、総頸動脈に装着したプローブで血流を測定しながら、循環反応をマッピングして調べた。

4. 研究成果

- (1) **血圧反応と同じ筋血流反応部位 (RVLM):** ラット延髄腹外側の吻側 (RVLM) 昇圧野、および尾側 (CVLM) 降圧野を L-システインで微量刺激すると、RVLM の昇圧部位では主に筋血流低下 (血管収縮) 反応、CVLM の降圧部位では筋血流増加 (血管拡張) 反応が得られ、どの反応部位も血圧変化と同期しており、筋血管径の調節が血圧レベルに直結することが推測される (ref.1)。
- (2) **局在する総頸動脈血流反応部位 (RVLM):** ほとんどのラットで RVLM 昇圧野のうち尾側で血管収縮反応が得られ、筋血流部位と異なり反応局在があった。上頸神経節切除により頭頸部への交感神経を遮断したラットでは、RVLM 昇圧野および CVLM 降圧野に、対応する血流変化はなかったため無傷ラットの反応は交感神経性である (ref.2)。
- (3) **器官によって異なる交感神経性反応部位の分布 (まとめ):** これらの結果より、筋血流と頭頸部への血流を交感神経性に調節する延髄腹外側のニューロンの機能的な分布には違いがあることが明らかとなった。すなわち、筋血流に反応するすべての場所は血圧レベルと連動し、総頸動脈血流に反応する場所は血圧反応部位の一部だけであった。RVLM に分布する血管交感神経の前運動ニューロンは、支配する器官によって異なる前運動ニューロンが活動して器官の機能に応じた調節をする可能性が示唆された (refs.1,2)。
- (4) **予期せぬ嬉しい成果:** 本研究では目的に対して以上の成果をもたらしたが、実験の過程で予期せぬ結果が得られたので追及し、幸運なことに長きにわたる疑問に答えを与えることができた。以下のとおりである。

アドレナリン分泌による血流反応部位の発見: RVLM 昇圧野に、降圧および筋血流増加反応を示す場所が数か所混在していたので、副腎交感神経が活性化してアドレナリンが分泌され筋血管のレセプターを介して血流増加を起こした可能性をブロッカーで追及し、L-システインが選択的に RVLM 野に混在する副腎交感神経の前運動ニューロンを活性化することを明らかにした (ref.1)。従来、mEAAR と iEAAR の両方を活性化するグルタミン酸が化学刺激に使われてきたが、RVLM 内のアドレナリン分泌をひき起こす場所はいままで特定できていなかった。

唾液核より広い副交感神経性反応部位を発見: RVLM 昇圧野にはアドレナリン分泌に伴う降圧部位が点在するが、それとは明らかに異なる部位、すなわち血圧変化を伴うことなく総頸動脈血流が約 20% 増加する部位が RVLM 昇圧野の吻側に稀に観察された (ref.2)。この部位は頭頸部への交感神経を切断したラットでも観察され副交感神経性と思われたので、起始部 (唾液核) との関連を追及した。より背側深部、より吻側を化学刺激した結果、Parvocellular reticular formation (PcRt) の吻側に、頭頸部の血管を拡張するニューロンが板状に長く分布することが機能的に証明された (ref.3)。従来、第 10 および第 11 脳神経 (副交感神経性) の起始部は上および下唾液核に限局するとされてきた。

混在する外頸および内頸動脈血流反応部位: 総頸動脈は外頸動脈と内頸動脈に分岐して、それぞれ頭頸部表面の筋、皮膚、腺等と内部の脳、眼等に供血するので、PcRt 吻側の副交感神経起始部に内外器官に対応する局在があるかを外頸動脈血流と内頸動脈血流を測定しながら調べたが、PcRt の両血流反応部位は混在していた (ref.4)。おそらく身体内外からの情報や、体性および自律神経性の運動ニューロンの情報が iEAAR を介して入力され、統合されながら、必要とする器官への副交感神経が活性化されて速やかに血流が再配分されるものと思われる。

Refs.

Takemoto Y. Muscle vasodilator response via potential adrenaline secretion to L-cysteine microinjected in rostral ventrolateral medulla of rats. *Auton. Neurosci.* 224: 102644, 2020. doi.org/10.1016/j.autneu.2020.102644

Takemoto Y. Topographic carotid vasoconstriction in the rostral ventrolateral medulla of rats. *Auton. Neurosci.* 229: 102720, 2020. doi.org/10.1016/j.autneu.2020.102720

Takemoto Y. An origin of carotid vasodilation extends along the full extent of the parasympathetic parvicellular reticular region in the rat brainstem. *Auton. Neurosci.* 232: 102786, 2021. doi.org/10.1016/j.autneu.

2021.102786

Takemoto Y. Parasympathetic brainstem origin sites of triggered external and internal carotid vasodilation are not distributed topographically in the rat. *Neurosci. Lett.* 755: 135904, 2021.doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135904

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takemoto Yumi	4. 巻 224
2. 論文標題 Muscle vasodilator response via potential adrenaline secretion to L-cysteine microinjected in rostral ventrolateral medulla of rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Autonomic Neurosciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autneu.2020.102644	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 該当する
1. 著者名 Takemoto Yumi	4. 巻 229
2. 論文標題 Topographic carotid vasoconstriction in the rostral ventrolateral medulla of rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Autonomic Neurosciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autneu.2020.102720	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 該当する
1. 著者名 Takemoto Yumi	4. 巻 232
2. 論文標題 An origin of carotid vasodilation extends along the full extent of the parasympathetic parvicellular reticular region in the rat brainstem	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Autonomic Neurosciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autneu.2021.102786	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 該当する
1. 著者名 Takemoto Yumi	4. 巻 755
2. 論文標題 Parasympathetic brainstem origin sites of triggered external and internal carotid vasodilation are not distributed topographically in the rat	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2021.135904	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 該当する

1. 著者名 Takemoto Yumi	4. 巻 70 (s1)
2. 論文標題 Microinjections of an ionotropic excitatory amino acid receptors activator L-cysteine identified a parasympathetic carotid vasodilator response zone that spans the rat brainstem?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 s101
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 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 該当する

1. 著者名 Takemoto Yumi	4. 巻 68(s1)
2. 論文標題 Mapping of hindquarter resistance responses to stimulation with glutamate or an ionotropic excitatory amino acid candidate L-cysteine in the rat ventrolateral medulla.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 s118
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 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10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Glutamate stimulation of the pre-sympathetic RVLM pressor area produces hindlimb vasodilation in baroreceptor-denervated rats
3. 学会等名 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society 2016
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Muscle blood flow responses mapped in the rat autonomic ventrolateral medulla areas with microinjections of an ionotropic excitatory amino acid L-cysteine
3. 学会等名 The International Society for Autonomic Neuroscience 2017 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Mapping of hindquarter resistance responses to stimulation with glutamate or an ionotropic excitatory amino acid candidate L-cysteine in the rat ventrolateral medulla
3. 学会等名 95th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan 2018
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 L-Cysteine's carotid flow responses mapped in pre-sympathetic areas of the rat ventral medulla
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Society 2019 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Carotid flow responses to L-cysteine mapped in the partially carotid-denervated rat ventral medulla
3. 学会等名 11th Congress of the international society for autonomic neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Microinjections of an ionotropic excitatory amino acid receptors activator L-cysteine identified a parasympathetic carotid vasodilator response zone that spans the rat brainstem?
3. 学会等名 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 L-Cysteine's carotid flow responses mapped in pre-sympathetic areas of the rat ventral vedulla
3. 学会等名 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan and 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Society) Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Carotid flow responses to L-cysteine mapped in the partially carotid-denervated rat ventral meculla
3. 学会等名 11th Congress of the international society for autonomic neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 Microinjections of an ionotropic excitatory amino acid receptors activator L-cysteine identified a parasympathetic carotid vasodilator response zone that spans the rat brainstem?
3. 学会等名 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takemoto Yumi
2. 発表標題 L-Cystein's carotid flow responses mapped in pre-sympathetic areas of the rat ventral medulla
3. 学会等名 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan and 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Society) congress (国際学会)
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------