

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23792335

研究課題名（和文） 糖尿病性自律神経障害が引き起こす循環制御機構の障害メカニズムの  
解明研究課題名（英文） Elucidation of trouble circulation mechanism caused by Diabetic  
autonomic neuropathy

研究代表者

朴 曾士 (BOKU AIJI)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：50587566

研究成果の概要（和文）：糖尿病ラットでは急性出血の際に、延髄孤束核 Intra Medial に c-Fos 陽性細胞の発現を認めた。これはコントロールラットでフェニレフリンを投与し、圧受容体反射を誘発させた時と同様の発現様式であった。以上より、糖尿病ラットにおいて急性出血時に Bezold-Jarisch 反射が亢進し、出血に対する代償機転が早期に破綻する現象には、迷走神経が深く関与していることが判明した。

研究成果の概要（英文）：In the diabetic rat, I observed the onset of the c-Fos positivity cellular in the rachidian-bulb solitary nucleus Intra Medial on the occasion of an acute hemorrhage. This was the same pattern of manifestation as the time of prescribing a phenylephrine for a control rat, and making a baroreceptor reflex induce. As mentioned above, in the diabetic rat, it became clear that the vagus was involving deeply in the phenomenon which the Bezold-Jarisch reflex rose at the time of an acute hemorrhage and the compensatory mechanism over a staxis fails at an early stage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：歯科麻酔学

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病の合併症の一つである神経障害は糖尿病の初期から発生し、特に心血管系自律神経障害 (Cardiovascular Autonomic Neuropathy : CAN) は、安静時頻脈、起立性低血圧、運動不耐性を引き起こし、心臓突然死の原因ともなる。麻酔管理においても、糖尿病患者の循環管理では細心の注意

が必要となる。事実、CAN を有する糖尿病患者は、麻酔導入時に血圧低下をきたす頻度や血圧を維持するための昇圧剤の使用頻度が高いことが報告されている。

一方、急性出血に対する生体の反応を熟知しておくことは、麻酔管理上、非常に重要である。教科書的には、出血による循環

血液量の減少は単に交感神経活動を亢進させるとの記載が多いが、詳細に分類すると、sympathoexcitatory phase、それに続くsympathoinhibitory phase、そして出血性ショックへと進行するrecompensatory phaseの3つの相から成る。この間、生体は、動脈圧受容体反射、心肺圧受容体反射、Bezold-Jarisch反射などを介して、急性出血に対応する。しかし、CANを有する糖尿病患者では、出血に対するこのような代償機転が正常に機能しない可能性がある。本研究開始前、覚醒下の糖尿病モデルラットを用いて、急性出血時の循環動態と自律神経活動を検討した結果、糖尿病ラットでは動脈圧受容体感受性が低下しているにも関わらず、出血に対するsympathoinhibitory phaseにおいて、心拍数の減少(Bezold-Jarisch反射)が著明に亢進することが判明した。しかしながら、なぜBezold-Jarisch反射が亢進するのか等、詳細なメカニズムについては不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、糖尿病性自律神経障害により発生する循環の反射性制御機構の障害メカニズムにおけるBezold-Jarisch反射の関与について解明することである。

具体的には、以下の点を明らかにする。

(1) 急性出血時によりBezold-Jarisch反射を誘発させた場合の圧受容体反射の一次中継核である延髄孤束核におけるc-Fosの発現を、糖尿病モデルラットと正常ラットで比較する。

(2) フェニレフリン投与によって圧受容体反射を誘発させた場合の圧受容体反射

の一次中継核である延髄孤束核におけるc-Fosの発現を、糖尿病モデルラットと正常ラットで比較する。

## 3. 研究の方法

平成23年度には、急性出血時の延髄孤束核におけるc-Fos陽性細胞の発現程度を糖尿病モデルラットと正常ラットで比較する。

### (1) 糖尿病モデルラットの作成

- ① 実験には12週齢、体重300~350gの雄性Wistar-Kyotoラット(WKY)を用いる。
- ② WKYを12時間絶食とした後、膵臓β細胞破壊薬であるストレプトゾトシン(以下STZ、65mg/kg)を腹腔内に投与し、I型糖尿病を発症させる。
- ③ STZ投与後11日目の糖尿病ラットに対し、ペントバルビタール麻酔下に、大腿動脈より動脈圧測定および脱血用のポリエチレンカテーテルを、頸静脈より薬剤投与用のカテーテルを挿入する。カテーテルは皮下を經由して頸部背側より導出する。

### (2) 糖尿病ラットの循環動態・自律神経活動の評価

- ① カテーテル挿入72時間後、遮光性の高いアクリルチャンバーに入れ、大腿動脈に挿入したカテーテルを圧トランスデューサーに接続する。
- ② 循環動態・自律神経活動の評価には、圧トランスデューサーから得られた動脈圧波形を用いる。取り込んだ動脈圧波形のピーク値を収縮期血圧(SBP)とし、その間隔から心拍数(HR)を算出する。

- ③ 動脈圧波形認識および自律神経解析は、全自動循環動態・自律神経系活性解析ソフトウェア（フラクレット™、大日本住友製薬、現有）を使用する。ウェーブレット法を用いた周波数解析を行い、SBPのゆらぎの低周波成分（0.25～0.75Hz）の振幅（SBP-LF）、HRのゆらぎの高周波成分（0.75～3.0Hz）の振幅（HR-HF）を算出する。
- ④ SBP-LF、HR-HFはそれぞれ交感神経系活性、副交感神経系活性の指標（Cerutti, C. et al : Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats : a spectral analysis approach. Am. J. Physiol 1991 261, 1292-1299）とする。

（3）急性出血による循環動態・自律神経活動および Bezold-Jarisch 反射経路の検討

- ① 対照値として、安静状態における SBP、HR、血圧・心拍ゆらぎを記録した後、循環血液量の約 20%に相当する量の血液を脱血する。
- ② その後ラットの脳を取り出し、延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞の発現を糖尿病モデルラットと正常ラットで比較検討する。

平成 24 年度には、フェニレフリンを投与し、圧受容体反射を誘発させた際の延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞の発現程度を糖尿病モデルラットと正常ラットで比較する。

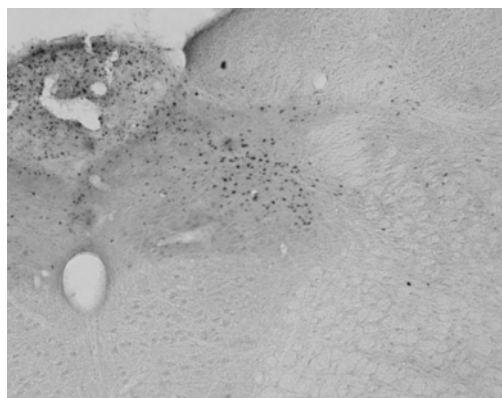
（4）圧受容体反射経路の検討

具体的には上記（1）（2）の手順に加え

- ① フェニレフリンを  $0.75 \mu\text{g}/0.03\text{ml}/\text{min}$  にて 30 分間持続投与し、圧受容体反射を誘発する。
- ② その後ラットの脳を取り出し、延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞の発現を糖尿病モデルラットと正常ラットで比較検討する。

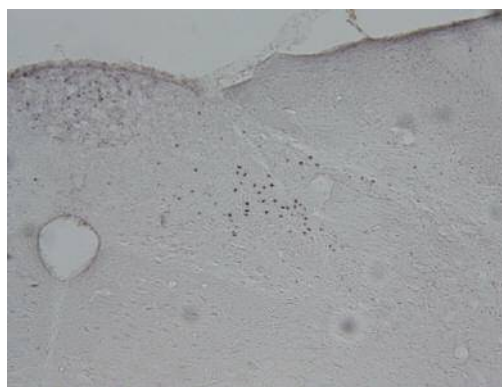
4. 研究成果

平成 23 年度の結果



糖尿病ラットにおける急性出血時の延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞

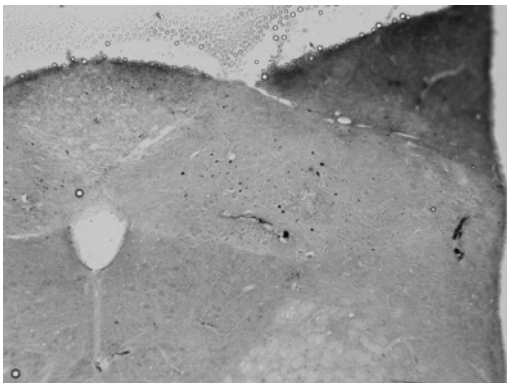
Intra Medial に c-Fos 陽性細胞の発現を認める



正常ラットにおける急性出血時の延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞

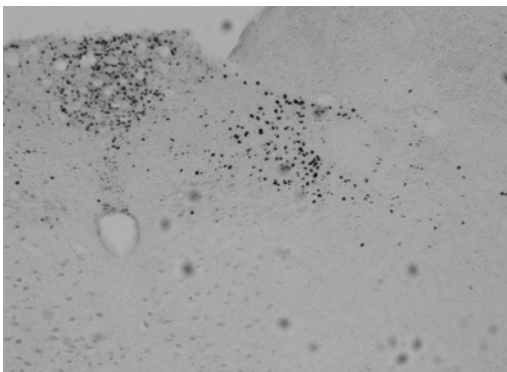
Intra Medial に c-Fos 陽性細胞の発現を認めるものの、その数は糖尿病ラットと比較し、少ない

平成 24 年度の結果



糖尿病ラットにおけるフェニレフリン投与時の延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞

延髄延髄孤束核に c-Fos 陽性細胞の発現を認めない



正常ラットにおけるフェニレフリン投与時の延髄孤束核における c-Fos 陽性細胞

Intra Medial に c-Fos 陽性細胞の発現を認める

#### 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

朴 曾士 (BOKU AIJI )

大阪大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：50587566