

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461070

研究課題名(和文) 心血管系を支配する交感神経の抑制性シナプス後電位の性質と役割の解明

研究課題名(英文) The mechanism of inhibitory effect by inhibitory postsynaptic potentials via alpha-2 adrenergic receptor

研究代表者

箕浦 慶乃 (Minoura, Yoshino)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：20439467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ラット交感神経節前線維(SPN)パッチクランプ法を用いて、 α_2 受容体を介した間接作用(postsynaptic)について調べた。Norepinephrine (NE)はSPNsを脱分極しその後回復させた。NEによって興奮性シナプス後電位(EPSP)優位のSPNではEPSPの頻度が増加、抑制性シナプス後電位(IPSP)優位のSPNではIPSPのvoltageが増大し、Dexmedetomidineは抑制した。firingの多いSPNの一部では、NEによってfiringが消失した。SPNは α_2 受容体を介したpostsynapticな作用と α_2 受容体を介さない抑制作用があった。

研究成果の概要(英文)：It is unclear that the excitability of sympathetic preganglionic neurons (SPNs) can be inhibited indirectly (presynaptically). We examined the effects of NE or dexmedetomidine hydrochloride (Dxm) on SPNs by analyzing the excitatory and inhibitory postsynaptic potentials (EPSP, IPSPs) using the whole-cell patch clamp technique in spinal cord slice preparations of rats. EPSPs were dominant in 14 SPNs (EPSP-SPNs) and IPSPs were dominant in 6 SPNs (IPSP-SPNs) at baseline. In cases of 19 SPNs, we couldn't analyze postsynaptic potentials due to high frequency firings (firing-SPNs). NE gradually depolarized both types of SPNs and NE increased the EPSP frequency of EPSP-SPNs and EPSP voltage of IPSP-SPNs. Dxm inhibited those effects. In some firing-SPNs, NE induced hyperpolarization and inhibited firings. In these neurons, Dxm had no effect. SPNs received inhibitory modulation through α_2 -adrenergic receptors. Some SPNs can directly be inhibited via effects independent of the α_2 receptor.

研究分野：内科学 循環器内科学

キーワード：交感神経 α_2 受容体

1. 研究開始当初の背景

心血管は自律神経によって制御されている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。特に交感神経作用は臨床医療における高血圧・心不全・たこつぼ心筋症等の心血管系疾患と深く関わり、交感神経の過亢進はそれら心血管系疾患の増悪を来すと考えられる。しかし、副交感神経の作用なしに、交感神経の抑制性作用が働くかはよくわかってなく、交感神経の抑制作用についての報告は少ない。

2. 研究の目的

交感神経の過亢進は高血圧や心疾患の増悪因子である。通常、交感神経は α 受容体を介して negative feedback 作用をもつと考えられているが、その制御システムや feedback 機構についての電気生理学的なメカニズムはよく分かっていない。交感神経の興奮性シナプス後電位 (Excitatory PostSynaptic Potential: EPSP) についての報告は多いが、抑制性シナプス後電位 (Inhibitory PostSynaptic Potential: IPSP) についての報告は少なく、電気生理学的に、また薬理学的に、 α 受容体を介して交感神経の抑制作用が作用するのかどうか、心血管を支配する交感神経節前線維に焦点をあてて調べる。

3. 研究の方法

新生児ラットの脊髄摘出スライス標本での交感神経節前線維 (SPN) に対するホールセルパッチクランプ法を用いた¹⁾。SPN の証明には、腹側の神経根からの刺激による antidromic な電気活動を観察し、実験後検頭して確認した。コントロールで SPN の EPSP と IPSP などの電気生理学的性質を記録観察後、Norepinephrine (NE) ($1\mu\text{M}$) と Dexmedetomidine (Dxm) (10nM) 投与による直接作用 (presynaptically) のみならず、間

接作用 (postsynaptically) を調べるため、EPSP と IPSP の変化を調べた²⁾。

4. 研究成果

SPN の細胞内記録は 39 例行った。パッチクランプ後、SPN には EPSP を優位に呈するタイプ (EPSP-SPN) と IPSP を優位に呈するタイプ (IPSP-SPN) があり、EPSP-SPNs 14 例、IPSP-SPNs 6 例、また活動電位の firing が頻回でシナプス後電位の観察が困難な SPN (firing-SPN) が 19 例であった。Firing-SPN の定義は firing が 0.5Hz 以上のものとした。

Control では EPSP-SPN、IPSP-SPN、firing-SPN に膜電位や膜抵抗の差は認めなかった (膜電位 $-46.0 \pm 2.9\text{ mV}$ in EPSP-SPNs, $-45.1 \pm 1.3\text{ mV}$ in IPSP-SPNs, $-45.5 \pm 3.8\text{ mV}$ in firing neurons, 膜抵抗 $244.1 \pm 202.1\text{ M}\Omega$ in EPSP-SPNs, $164.3 \pm 87.9\text{ M}\Omega$ in IPSP-SPNs, $284.8 \pm 164.7\text{ M}\Omega$ in firing-SPNs)。NE で EPSP-SPN と IPSP-SPN の両者は有意に脱分極し (EPSP-SPN $-46.0 \pm 2.9\text{ mV}$ vs. $-38.8 \pm 3.8\text{ mV}$, $P < 0.05$ 、IPSP-SPNs $-45.1 \pm 1.3\text{ mV}$ vs. $-38.0 \pm 3.2\text{ mV}$, $P < 0.001$)、NE の wash out で脱分極は回復した。EPSP-SPNs では NE によって EPSP の頻度が有意に増加し ($0.75 \pm 0.36\text{ Hz}$ vs. $1.50 \pm 0.93\text{ Hz}$, $P < 0.05$)、IPSP-SPNs では IPSP の voltage が有意に増大した ($3.661.27\text{ mV}$ vs. $-5.75 \pm 2.27\text{ mV}$, $P < 0.001$)。Dxm によってこれら両者の NE に対する反応は有意に消失した (EPSP-SPNs での EPSP の頻度 $0.32 \pm 0.20\text{ Hz}$ vs. $1.50 \pm 0.93\text{ Hz}$, $P < 0.05$ 、IPSP-SPNs での IPSP の voltage $2.80 \pm 1.30\text{ mV}$ vs. $-5.75 \pm 2.27\text{ mV}$, $P < 0.001$)。

firing-SPN ではそのほとんどが EPSP-SPN や IPSP-SPN と同様に、NE によって有意に脱分極し ($-45.5 \pm 3.8\text{ mV}$ vs. $-40.8 \pm 4.2\text{ mV}$, $P < 0.05$)、firing の頻度も増加した ($0.57 \pm 0.06\text{ Hz}$ vs. $1.47 \pm 0.39\text{ Hz}$, $P < 0.05$)。Dxm

によってこれら両者の NE に対する反応は有意に消失した。しかし、一部の firing-SPN(5/19)では、NE によって膜電位は過分極し、完全に firing が抑制された。以上より、 α_2 受容体を介した直接作用 (presynaptic 作用)は、以前の報告と一致し主に抑制作用が得られ、間接作用 (postsynaptic)においても抑制作用をもたらすと考えられた。しかし、少数の firing-SPNs に対する NE の作用は α_2 受容体を介さない反応の可能性も考えられた。

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) Tanabe A, Onimaru H, Suzuki H, Takeyama Y, Homma I. corticotropin-releasing factor on intermediolateral cell column neurons of newborn rats. *Autonomic neuroscience.* 2012;171:36-40

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)

1) Iigaya K, Okazaki S, Minoura Y, Onimaru H. Interaction Between Novel Oscillation Within the Ventromedial Hypothalamus and the Sympathetic Nervous System *Neuroscience* 査読有 10:343:213-221, 2016

2) Tsuzawa K, Minoura Y, Takeda S, Inakagaki K, Onimaru H.

Effects of α_2 -adrenoreceptor agonist dexmedetomidine on respiratory rhythm generation of newborn rats. *Neurosci Lett.* 査読有 15(597):117-20, 2015

3) Onishi Y, Minoura Y, Chiba Y, Onuki T, Ito H, Adachi T, Asano T, Kobayashi Y. Daily dysfunction of autonomic regulation based on ambulatory blood pressure monitoring in patients with neurally mediated reflex syncope. *Pacing Clin Electrophysiol.* 査読有 38(8):997-1004, 2015

4) Onuki T, Ito H, Ochi A, Chiba Y, Kawasaki S, Onishi Y, Munetsugu Y, Kikuchi M, Minoura Y, Watanabe N, Adachi T, Asano T, Tanno K, Kobayashi Y. Single center experience in Japanese patients with syncope. *J Cardiol.* 査読有 66(5):395-402, 2015

5) Chiba Y, Minoura Y, Onishi Y, Inokuchi K, Ochi A, Kawasaki S, Onuma Y, Munetsugu Y, Kikuchi M, Ito H, Onuki T, Watanabe N, Adachi T, Asano T, Tanno K, Kobayashi Y. J wave in patients with syncope. *Circ J.* 査読有 79(10):2216-23, 2015

[学会発表](計 3件)

1) 第 81 回日本循環器学会学術集会 (20170317)

The Effects of sympathetic neuron via α_2 adrenergic receptors (金沢)

2) 第 37 回日本高血圧会総会(20141017)
交感神経節前線維における抑制作用 (横浜)

3) 第 78 回日本循環器学会学術集会 (20140321)

Inhibitory action of sympathetic

preganglionic neurons (大阪)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

箕浦 慶乃 (MINOURA Yoshino)
昭和大学・医学部・講師
研究者番号：20439467

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

鬼丸 洋 (ONIMARU Hiroshi)
昭和大学・医学部・客員教授
研究者番号：30177258

(4) 研究協力者

()