

氏 名（本籍） 太 田 昌 宏

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 2736 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 7 年 3 月 8 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 60 年 3 月 31 日
順天堂大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 脳内 Vasopressin (AVP) の分泌動態
－Microdialysis 法による検討－

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 阿 部 圭 志 教 授 平 則 夫

教 授 吉 本 高 志

論文内容要旨

【背景，目的】

脳内において AVP は、視床下部の室傍核 (PVN) と視索上核 (SON) で生合成され、必要に応じ血中へ分泌される。さらに AVP は血中のみならず脳内へも分泌される事を示唆する報告がなされている。近年、microdialysis 法が開発され、脳内のある特定の関心領域において、多くの物質の採取、測定が可能となってきた。そこで我々は、microdialysis 法を用い、脳内へ AVP が分泌されるか否かを確認し、それがどこからどのような刺激で分泌され、また血中への AVP 分泌にいかに関与しているか検討するため以下の二つ実験を行った。

【方法】

Carbachol Study : 雄 Sprague-Dawley rat を用い、エーテル麻酔下でダイアリスプローブを両側の PVN 側方に挿入した。プローブ挿入後直ちに左大腿動静脈にカテーテルを挿入した。手術 24 時間後、意識下、無拘束で実験を行った、プローブは輸注ポンプに接続して灌流し、動脈カテーテルは圧トランスデューサーに接続し血圧、心拍数を測定した。

実験 1 ; 両側のプローブを 0.9% NaCl (2 μ l/min) で 30 分間灌流し灌流液を採取した (period 1)。引き続き、一方のプローブは carbachol (100 μ g/ml saline) で、他方のプローブは 0.9% NaCl でさらに 30 分間灌流した (period 2)。

実験 2 ; プロトコールは実験 1 と同様で period 2 の carbachol の灌流を 10 分間とし残りの 20 分は再び 0.9% NaCl にて灌流した。

実験 1, 2 とともに period 1 の最後と period 2 開始後 10 分, 30 分に採血, 血圧, 心拍数を測定し、同時に同量の donor blood にて置換した。

Hypertonic Saline Study : 10-12 週齢の雄と non-estrous の雌 S-Drat を用い PVN 側方にプローブを挿入した。左大腿動静脈と右外頸動脈にカテーテルを挿入した。手術 24 時間後、意識下、無拘束で実験を行った。動脈カテーテルは圧トランスデューサーに接続し、血圧、心拍数を測定した。外頸静脈のカテーテルからは生食および高張食塩水を投与した。

まず、プローブを 0.9% NaCl (2 μ l/min) で灌流、同時に 0.9% (0.15M) NaCl を外頸静脈より 0.1ml/kg/min で投与した。灌流液を 60 分間採取しこれをコントロールとした (period 1)。次に外頸静脈より 2.5M NaCl を 0.1ml/kg/min で投与し、灌流液をさらに 60 分間採取した (period 2)。Time control として 0-60 分, 60-120 分ともに生食を静脈内投与した。採血、血圧、心拍数測定は実験開始 60, 90, 120 分で Carbachol Study と同様に行った。

【結果】

Carbachol Study : 実験 1 ; 30 分間の carbachol の灌流により D-AVP は約 3 倍に増加し、生食で灌流した側の D-AVP も同様に増加しプローブ間に有意差はなかった。P-AVP は carbachol 灌流開始 10 分後、約 10 倍に上昇し 30 分後も高値を持続した。血圧は 10 分後、30 分後に有意に上昇し、心拍数は 30 分後のみ有意に低下した。

実験 2 ; carbachol の灌流を 30 分より 10 分に短縮すると、carbachol で灌流した側の D-AVP は約 7 倍に増加したのに対し、生食で灌流した側の D-AVP の増加は約 2 倍と有意に少なかった。

P-AVP は経過中有為に上昇したが、その程度は実験 1 に比し小さかった。血圧は 10 分後のみ有為に上昇し、心拍数は変化しなかった。

Hypertonic Saline Study : Time control (TC) では雌雄とも有意な変化はなかった。高張食塩水の投与により血漿浸透圧は有意に上昇し雌雄差は認めなかった。P-AVP は高張食塩水投与後 30 分、60 分に有意に上昇し 60 分後には、有意に雄の方が雌より高かった。血漿浸透圧と P-AVP との相関を見ると AVP 分泌の閾値は雌雄で差はなかったが、その傾きは雄の方が雌より有意に大きかった。他方は、灌流液中の AVP は雌雄とも有意に増加したが、雌の方が雄より有意に高かった。血圧は雌雄とも有意に上昇し、心拍数は有意に低下した。

【考 察】

Carbachol Study : 本実験では、プローブにより PVN が組織学的に障害されている例は、全て実験データから除外した。さらに、プローブ挿入後 24 時間は組織の代謝上、重大な障害は認めないとの報告もあり、今回我々が測定した AVP が組織や神経の障害により漏出したものではなく、PVN 周囲の脳実質へ直接分泌されたものと考えられた。さらに、実験 2 でプローブ間で AVP 濃度に有意差が認められた事は、灌流液中に増加した AVP が明らかに PVN より分泌された事を示すものである。すなわち、灌流液中の AVP が仮に脳脊髄液あるいは血中の AVP の増加を反映するものとするれば、第三脳室より等距離で左右対称に挿入した二つのプローブの D-AVP は同程度に増加するはずである。さらに、negative data としてプローブが PVN より離れた位置に挿入された場合、同様に carbachol で灌流しても AVP は増加しなかった。

以上の結果より、プローブを carbachol にて灌流し PVN を刺激すると、末梢のみならず脳実質内へも AVP が分泌される事が示された。

Hypertonic Saline Study : 高張食塩水の投与にて雌雄とも同様に血漿浸透圧は上昇したが、血中 AVP は雄の方が雌より高かった。血中 AVP のクリアランスに雌雄の性差や雌の estrous cycle は関与していない事が報告されており、さらに AVP 分泌閾値に雌雄差はなく、その傾きが雄の方が雌より有意に大きかった事から、その差は浸透圧受容体の感度の差か、浸透圧受容体からの刺激に対する AVP 分泌細胞の反応性の差と考えられた。さらに、血中 AVP、灌流液中 AVP とともに雌雄差が認められた事は、浸透圧刺激による AVP 分泌に対し性ホルモンが何らかの調節をしている可能性が考えられた。

事実、estradiol が浸透圧に対する AVP 分泌の感度を増加させたとの報告や、性ホルモンが magnocellular neuron に直接に作用するとの報告もある。今回の結果からは、脳内へ分泌された AVP の作用は明らかではないが、PVN や SON に AVP の結合部位が存在する事は事実であり、AVP がこの部位で何らかの作用をしている事は間違いない。

【結 論】

PVN 側方へ挿入したプローブをコリン作動薬である carbachol で灌流する事により、血中 AVP が増加する際、脳内でも AVP が直接 PVN より分泌される事が示された。脳内 AVP は血漿浸透圧の上昇に伴い増加し、雌雄の血中 AVP 分泌調節に重要な働きをしている事が示唆された。

審査結果の要旨

Vasopressin (AVP) は生体内の水・電解質・浸透圧や血圧調節に関与する重要なホルモンである。免疫組織化学により視索上核 (SON) や室傍核 (PVN) 以外にも AVP が存在し、血圧調節に関与することが知られている。また push-pull 法を用いた実験で発熱時に ventral-septal area に AVP が分泌されることや、出血や浸透圧刺激により lateral-septum に AVP が分泌されることも知られている。さらに、電子顕微鏡的にも magnocellular neuron の dendrite から AVP が脳内へ直接分泌されることが知られている。以上のことから、AVP が脳内において体温や血圧、体液調節の neurotransmitter として働いている可能性が示唆されていた。

他方、出血や浸透圧刺激による AVP 分泌や心行動態に雌雄差があることが報告されているが、未だその理由は明らかではない。そこで、著者は Microdialysis 法を用いコリン作動薬による刺激により、AVP が脳内に分泌されるかを、また浸透圧刺激による脳内及び末梢 AVP の分泌に雌雄差があるかを検討するために本研究を行った。

脳内 AVP 分泌を real-time で確認するために、以前は push-pull 法が用いられていた。しかし、この方法は組織の損傷や回収率に問題があり、その測定値が生理的かどうかは議論があった。近年、Microdialysis 法が開発され、より生理的条件下で、特定の関心領域における物質の測定が可能となってきた。しかし、本法を用いペプチドホルモンを測定した報告は少ない。特に Microdialysis 法を用い、末梢からの刺激によって脳内の AVP の変化を検討した報告はなく、また AVP 分泌の雌雄差を血中濃度で比較検討した報告はあるが PVN からの AVP 分泌で検討した報告はない。

筆者は 2 本の Microdialysis プローブを左右の PVN 側方へ挿入し、一方を生食で灌流してコントロールとし他方をコリン作動薬で灌流することで脳実質内にも AVP が分泌されることを確認し、それが PVN から直接分泌されることを明らかにした。また脳内 AVP 濃度及び血中 AVP 濃度は末梢からの浸透圧刺激で増加し、それらの濃度に雌雄差があることを明らかにした。

AVP が PVN 近傍で neurotransmitter として作用し、さらにその分泌動態に雌雄差があることを明らかにした点は独創的で今後の neuroscience の発展に寄与するものと思われ、十分学位に価すると考えられる。