

低酸素暴露がラット喉頭粘膜内のペプチド性神経支配におよぼす影響

Effect of hypoxic exposure on the peptidergic innervation in rat laryngeal mucosa

竹中敏文, 松田秀樹, 林田嘉朗*
渡辺剛, 日下部辰三

Toshifumi TAKENAKA, Hideki MATSUDA, Yoshiaki HAYASHIDA *
Tsuyoshi WATANABE and Tatsumi KUSAKABE

はじめに

哺乳動物を長期間低酸素暴露することにより、呼吸および循環の生理動態に様々な変化を及ぼすことが知られているが、気道粘膜内の末梢神経系の形態学的変化は気管と鼻粘膜について報告されているだけで、喉頭粘膜における詳細な報告は見られない。これまでに、軸索反射を介した生体防御反応と深い関わりがある鼻粘膜内の知覚系神経ペプチドの低酸素暴露による増生を報告し、この増加現象は低酸素環境に対する形態学的順応を表していることを報告した。

本研究は、気道系の生体防御反応に大きく関与している喉頭粘膜を対象にして行なうものであり、ペプチド性神経支配の低酸素暴露による形態学的変化を明らかにすることを目的としたものである。さらに、喉頭粘膜における末梢神経系の生理的機能の一端を解明する点で大きな意義があると共に、末梢神経系と耳鼻咽喉科疾患との関連性の追求に寄与するものと考えられる。

実験方法

慢性低酸素暴露：Wistar系雄ラットをアクリル性チャンバーに入れ、低酸素混合ガスを流入し(10 l/ml)、3ヶ月間低酸素暴露した(図1)。チャンバー内の酸素濃度はガス分析装置で連続的にモニターした。同様なチャンバー内に空気を流入(10 l/ml)したものをコントロール群とした。低酸素暴露ラットの動脈血を採取し、血液ガス(PaO₂, PaCO₂)を分析し、等炭酸ガス低酸素血症であることを確認した。

免疫組織化学的検討：低酸素暴露したラットならびにコントロールラットをネンブタール麻酔した後、左室より4%paraformaldehydeリン酸緩衝液で還流固定した。喉頭を摘出し、同固定液内でさらに8時間後固定した。クリオスタットにて16 μmの凍結切片を作成し、substance P (SP) およびcalcitonin gene-related peptide (CGRP) に対するウサギ抗血清を用いてPAP法で免疫染色した。

喉頭蓋、披裂部、喉頭室、声帯および喉頭腺について光学顕微鏡下で観察し、各部位の上皮内と

上皮下に分布するSPおよびCGRP免疫陽性線維の頻度を低酸素暴露群とコントロール群で比較検討した。

結 果

コントロール群のラット喉頭蓋、披裂部および

Experimental Setup for Hypoxic Exposure



図1

表1 低酸素暴露による喉頭粘膜に分布するSPおよびCGRP免疫陽性神経線維の分布

		SP免疫陽性神経線維		CGRP免疫陽性神経線維	
		コントロール群	低酸素暴露群	コントロール群	低酸素暴露群
喉頭蓋	上皮内	+	+++	++	+++
	上皮下	+++	++++	+++	++++
披裂部	上皮内	+	++++	+++	++++
	上皮下	++	+++	++	+++
喉頭室	上皮内	±	+	+	++
	上皮下	+	+++	++	+++
声帯	上皮内	-	-	-	-
	上皮下	+	+	+	+
喉頭腺			+	+++	++++

一、±、+、++、+++、++++は免疫陽性線維の相対量を示す

喉頭室の上皮直下にはSPおよびCGRP免疫陽性線維が神経叢を形成し、これらの陽性線維の枝の一部が上皮内に侵入していた。上皮内ではCGRP陽性線維の密度がSP陽性線維の密度より高かった。声帯では、上皮下のSPおよびCGRP線維の数は少なく、上皮内には陽性線維は認められなかった。喉頭腺周囲にも少数ではあるが、SPとCGRP陽性線維の存在が確認された。

低酸素暴露群のラット喉頭粘膜ではコントロール群に比べ、上皮内と上皮下の両部位においてSPおよびCGRP陽性線維の数は増加した。特に、喉頭蓋と披裂部の上皮内における陽性線維の増加率は顕著であった。声帯では、低酸素暴露による陽性線維の大きな変化は認められなかった。喉頭腺では、SPおよびCGRP陽性線維は増加した。

コントロール群と低酸素暴露群のラット喉頭粘膜にける、SP陽性線維とCGRP陽性線維の相対的分布を表1に示す。

考 察

慢性低酸素暴露により、喉頭粘膜内の、特に、喉頭蓋と披裂部におけるSP免疫陽性神経線維数とCGRP免疫陽性神経線維数は増加傾向を示すことが明かとなった。これまでに、鼻粘膜等の上気道に存在するSPおよびCGRP含有神経線維が低酸素暴露により増加することを報告しているが、気道

粘膜内のこれらのペプチド性神経線維の増加は、慢性低酸素状態に順応した状態を示していると考えられる。また、粘膜上皮内のSP線維とCGRP線維は知覚神経由来であることから、喉頭粘膜の知覚機構は低酸素環境下では感受性の亢進を来しているものと考えられる。喉頭は気道の防御機構にとって重要な部位であるので、喉頭における知覚機構の亢進は低酸素状況下における様々な生理機構との関連性が推測される。

声帯部では、SPとCGRP陽性線維の分布は少なく、低酸素暴露による変化は認められなかった。声帯は発声器であるので、知覚神経機構の関与は少ないのかも知れない。喉頭腺周囲のSPおよびCGRP線維も低酸素暴露により増加したが、気道系の腺組織は軸索反射による知覚系の神経ペプチド性神経支配を受けているので、低酸素環境下では腺分泌が亢進していることが想像される。

本研究は平成11-12年度文部省科学研究費（基盤研究C）および国士舘大学体育学部体育研究所の平成12年度研究助成により行なった。

稿を終わるにあたり、平成12年度プロジェクト研究「高地トレーニングにおける筋線維の増強に関する研究」は、例数を加えつつ目下継続中であることを申し添える。