

高血圧ラットの動脈系化学受容細胞における ノルアドレナリン合成酵素活性の変化

Changes in the noradrenaline synthase activity of arterial chemoreceptor cells in spontaneously hypertensive rats (SHR)

磯 中 理 沙*, 川 上 倫*, 山 本 欣 郎**, 松 田 秀 樹***, 日 下 部 辰 三****

Risa ISONAKA*, Tadashi KAWAKAMI*, Yoshio YAMAMOTO**
Hideki MATSUDA*** and Tatsumi KUSAKABE****

頸動脈小体は動脈血中の酸素分圧および炭素ガス分圧の変化を検出する末梢動脈系化学受容器である。頸動脈小体には化学受容細胞(グロムス細胞)が存在し、ノルアドレナリンやドーパミンを合成・分泌して刺激の受容を抑制的に調節している。ラットを短期間(12時間)低酸素暴露すると、頸動脈小体のカテコラミン合成の律速酵素である tyrosine hydroxylase (TH) やノルアドレナリン合成酵素である dopamine β -hydroxylase (DBH) の発現が増強し、長期間暴露(2週間)では、頸動脈小体の容積が増加することをこれまでに報告してきた。一方、高血圧自然発症ラットでは低酸素暴露したラットと同様に、低酸素に対する頸動脈小体の感覚応答が増強することも報告されている。従って、高血圧自然発症ラットの頸動脈小体において、低酸素暴露した動物と同様の化学受容メカニズムの変化が生じている可能性が推測される。

そこで今回は、高血圧症の病態モデルである高血圧自然発症ラット(SHR)における頸動脈小体の形態変化を各種組織計測により検討し、さらに、カテコラミン合成に関わる酵素(TH、DBH)の発現についても免疫組織学的検討を加えた。

実験動物には、高血圧自然発症ラット(SHR/izm、雄16週齢、n=3)およびSHR/izmのコントロールとして対照ラット(WKY/izm、雄16週齢、n=3)を用いた。ネンブータル麻酔下で4%パラホルムアルデヒドおよび2%ピクリン酸を含む0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定後、実態顕微鏡下で頸動脈分岐部を採取し、常法に従い8 μ mのクリオスタット連続切片を作成した。

頸動脈小体の形態変化を調べるために、hematoxylin eosin (HE) 染色および tyrosine hydroxylase (TH) に対する抗体を用いた免疫染色を行った。TH免疫染色後に、立体再構築ソフト(Delta Viewer)を用いて頸動脈小体をコンピュータ上で立体再構築しその総容積を測定した。また、頸動脈小体におけるDBH発現の変化を調べるために、DBHに対する抗体とグロムス細胞のマーカータンパク質であるシナプトフィジンに対する抗体を用いて二重蛍光染色を行った。染色後、画像解析ソフト(Image J)を用いてグロムス細胞におけるDBH免疫反応性をグレースケールにより数値化した。さらに、頸動脈小体内のDBH陽性神経の分布を調べるために、画像解

* 北里大学医学部生理学 (Department of Physiology, Kitazato University School of Medicine)

** 岩手大学農学部獣医細胞システム学 (Laboratory of Veterinary Biochemistry and Cell Biology, Faculty of Agriculture, Iwate University)

*** 横浜市立大学医学部耳鼻咽喉科 (Department of Otolaryngology, Yokohama City University School of Medicine)

**** 国士舘大学体育学部スポーツ医科学科 (Department of Sport and Medical Science, Kokushikan University)

析により単位面積当たりに占めるDBH陽性神経線維の密度を計測した。

これまでも示されている様に、高血圧自然発症ラット (SHR) では頸動脈小体は内頸動脈に沿って扁平化し (図 1a-d)、THの免疫染色像から作成した頸動脈小体の立体再構築像は肥大拡張しており、その容積は対照ラットに比べ有意 ($p < 0.05$) に増加した。イムノプロット法で検討すると、高血圧ラットおよび対照ラットではTHおよびDBHの染色性は類似しており、カテコールアミン合成酵素のタンパク発現量には差は認められなかった。THの免疫染色像では、免疫陽性反応は頸動脈小体の化学受容細胞および近接する神経線維に認められ、その分布様式は高血圧ラットおよび対照ラット間で類似していた (図 1a, b)。DBHの免疫染色像では、化学受容細胞は強い陽性反応を示し、免疫陽性神経線維は主として血管周囲に認められた。DBH免疫陽性化学受容細胞は、対照ラットと比較して高血圧ラットで有意 ($p < 0.05$) に高い頻度で認められたが、免疫陽性神経線維の出現頻度は低かった (図 1c, d)。高血圧ラットに認められたDBH強陽性化学受容細胞は細長い細胞質突起を伸ばしており、頸動脈小体内に散在していた。高血圧ラットおよび対照ラットでは、DBH免疫陽性神経線維は血管と化学受容細胞の周囲に認められた。

本実験結果から、高血圧自然発症ラットでは頸動脈小体の容積が増加するという低酸素環境下の動物の所見と類似した特徴を示すことが明らかとなった。すなわち、頸動脈小体の容積増加が生じることで、その低酸素感受性が増加することが考えられる。また、化学受容細胞でDBHの発現が増強す

ることから、高血圧状態においては低酸素環境下とは無関係に化学受容細胞におけるノルアドレナリン合成能が高まっていることが示唆された。ノルアドレナリンは頸動脈小体の興奮を抑制するという薬理的報告が知られている。また、高血圧自然発症ラットの定常酸素濃度における頸動脈小体の感覚神経応答および分時換気量は正常血圧のラットと変わらないという結果も報告されている。以上のことを勘案すると、定常酸素濃度において高血圧自然発症ラットでは、頸動脈小体の興奮はノルアドレナリンによって抑制的に調節されている可能性が推測される。

高血圧は致命的疾患のリスクファクターであり、非薬物療法の中でスポーツは大きな意味を持つ。スポーツと降圧効果の関連を考慮する際に、本研究課題の結果は基礎データを提供するものであると考えられる。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所・平成27年度研究助成ならびに、一部は日本学術振興会・平成27年度科学研究費 (基盤研究C) 助成により行なわれた。

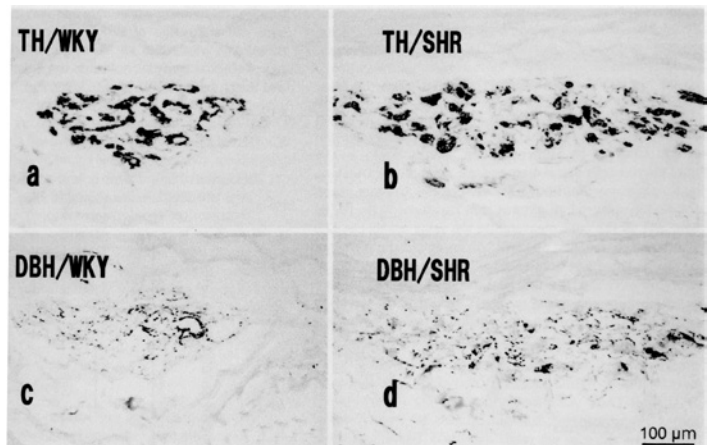


図1 対照ラット (WKY/ism: a, c) および高血圧自然発症 (SHR/ism: b, d) の頸動脈小体におけるTHとDBH免疫染色像

対照ラットと比較して高血圧自然発症ラットの頸動脈小体は内頸動脈に沿って伸長・扁平化していた (b, d)。THの染色性は両ラット間で大きな変化は認められなかった (a, b)。DBHの染色性は、対照ラットでは主に神経線維に陽性反応が観察された (c)。高血圧自然発症ラットでは対照ラットと比較してDBH陽性神経線維は減少し、DBH陽性の化学受容細胞が多数みられた (d)。