

## 慢性低酸素環境下の動脈系化学受容器における ペプチド性神経支配の免疫組織化学的研究

### Peptidergic innervation in the chronically hypoxic rat carotid body

日下部 辰三, 林田 嘉朗\*, 竹中 敏文

Tatsumi KUSAKABE, Yoshiaki HAYASHIDA \*  
and Toshifumi TAKENAKA

哺乳動物を長期間低酸素状態に暴露すると、動脈血中の酸素、炭酸ガスおよび水素イオン濃度等の変化を感受し呼吸調節を司る器官である頸動脈小体 (Carotid body) の容積は数倍に増大し、化学受容細胞 (Type I cell, Glomus cell) は過形成を示す。化学受容細胞内の有芯小胞の大型化、細胞質突起の洞様毛細血管壁への接近、求心性および遠心性シナプスの変化等が認められ、酸素要求量の低い下等脊椎動物の化学受容細胞と極めて類似した形態学的特徴を示す。生理学的には、化学受容細胞における酸素および炭酸ガスの知覚機構を増強させ、その結果、呼吸反射の活性化が促進すると推測されている。

本研究では、慢性低酸素状況下のラット頸動脈小体におけるペプチド性神経支配を各種神経ペプチド (サブスタンスP、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、vasoactive intestinal polypeptide、neuropeptide Y) に対する抗体を用い免疫組織化学的に検討し、さらには共焦点レーザー顕微鏡を用いて三次元的にも把握し、低酸素状況下での循環および呼吸の動態に深い関係を持つ化学受容機構の『構造-機能連関』の一端を解明しようとした。

Wistar系ラット (7週令) を低酸素下 (10% O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, 3-4% CO<sub>2</sub>) にて3ヶ月飼育した (図1)。これを慢性低酸素暴露群とし、正常 (大気圧) 環境下にて同期飼育ラットをコントロール群とした。4%パラホルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定し、頸動脈小体採取し、常法に従い16μmの凍結切片を作成した。一次抗体としてサブスタンスP (SP)、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)、vasoactive intestinal polypeptide (VIP)、およびneuropeptide Y (NPY) に対するウサギ抗血清を使用し、PAP法に従い免疫染色した。

SP、CGRP、VIPおよびNPY免疫活性は頸動脈小体内の血管および化学受容細胞周囲に分布する神経線維に認められた (図2a-d)。これらの神経ペプチド免疫陽性神経線維は多数のvaricositiesを持っていた。コントロール群 (Normoxia) のラット頸動脈小体における単位面積当たりの各種ペプチド含有神経線維の密度およびその絶対数は、NPYを含有する線維が極めて多く、次にVIP、CGRP、SPを含有する線維の順であった。長期間 (3ヶ月) 低酸素暴露後の血管系の拡張を伴う肥大した頸動脈小体では、VIPおよびNPY線維の絶

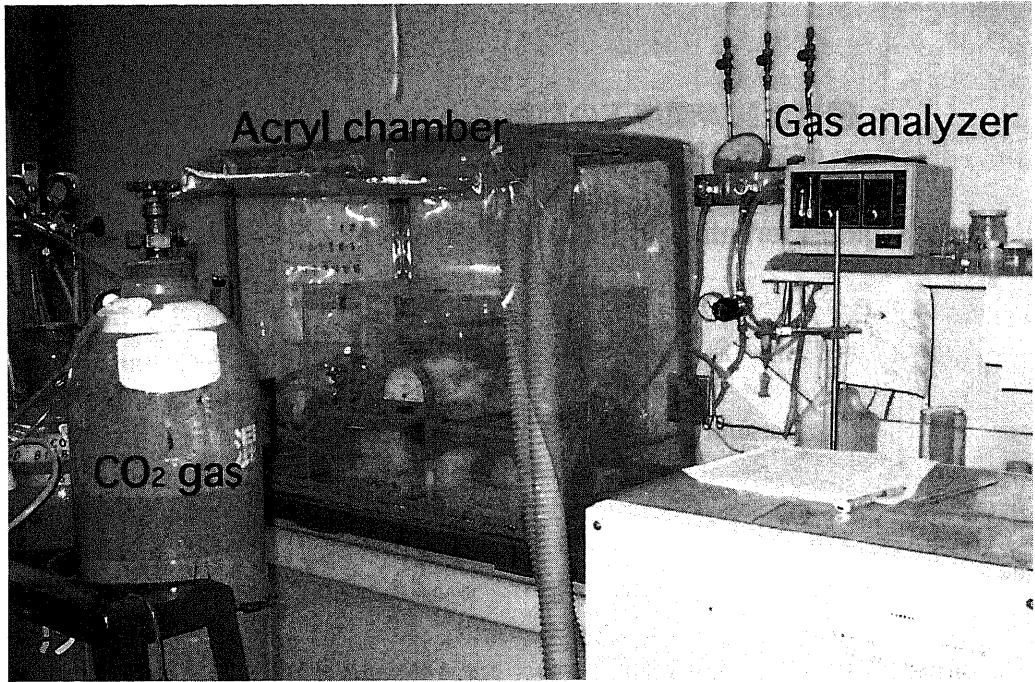


図1 低酸素曝露装置

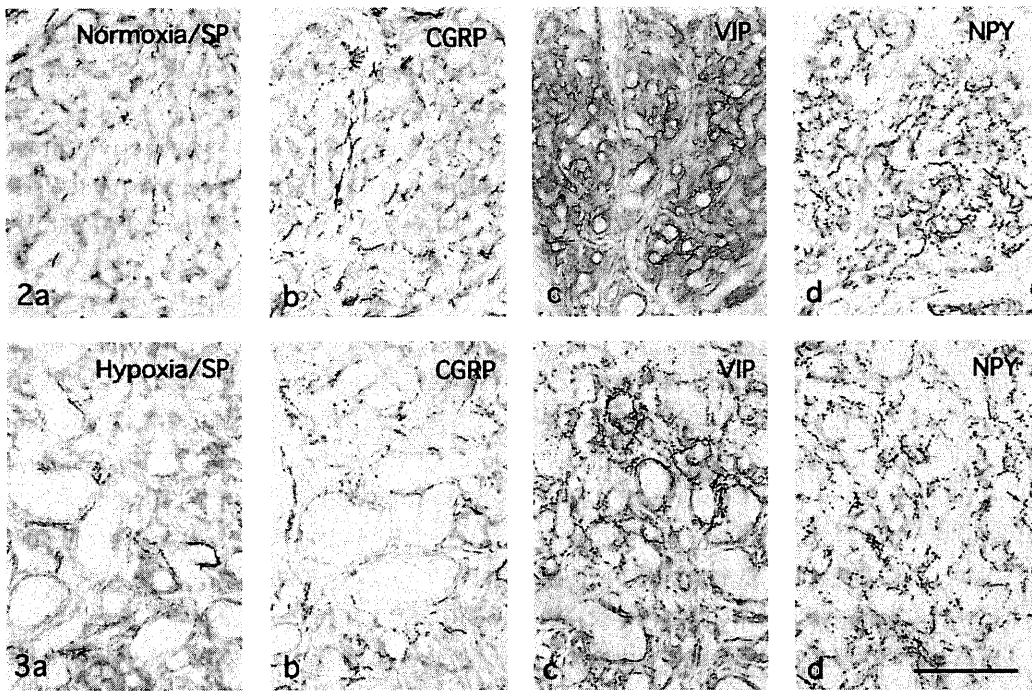


図2-3 コントロール群(Normoxia)および低酸素曝露群(Hypoxia)の頸動脈小体におけるペプチド性神経線維の分布

対数はそれぞれ3.88および2.22倍に増加 ( $p < 0.005$ ) するが、SPとCGRP線維の絶対数には変化がなかった (図3a-d)。一方、単位面積当たりの密度は、VIP線維は1.8倍に増加 ( $p < 0.01$ ) し、SPおよびCGRP線維は50%以下に減少 ( $p < 0.005$ ,  $p < 0.01$ ) したが、NPY線維の密度には変化が見られなかった (図4)。コントロール群および低酸素暴露群ともに、SP、CGRP、VIPおよびNPY免疫陽性な化学受容細胞は認められなかった。

ペプチド性神経支配の変化は低酸素環境への形態学的順応を示すと共に、これらの神経ペプチドは血管作動性であることから、頸動脈小体内の血流を変えることにより間接的に低酸素環境下における化学受容機構の調節に関与している可能性を示していると考えられる。さらに、慢性低酸素環境下の肥大した頸動脈小体における血管の拡張は、一部にはVIPの血管拡張作用によるものであ

ると推測される。

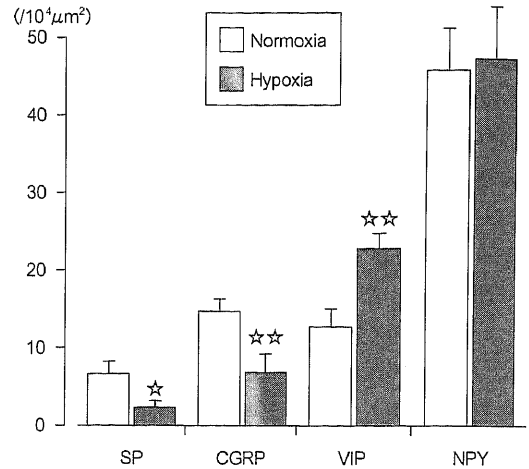


図4 ペプチド性神経線維の分布密度の比較

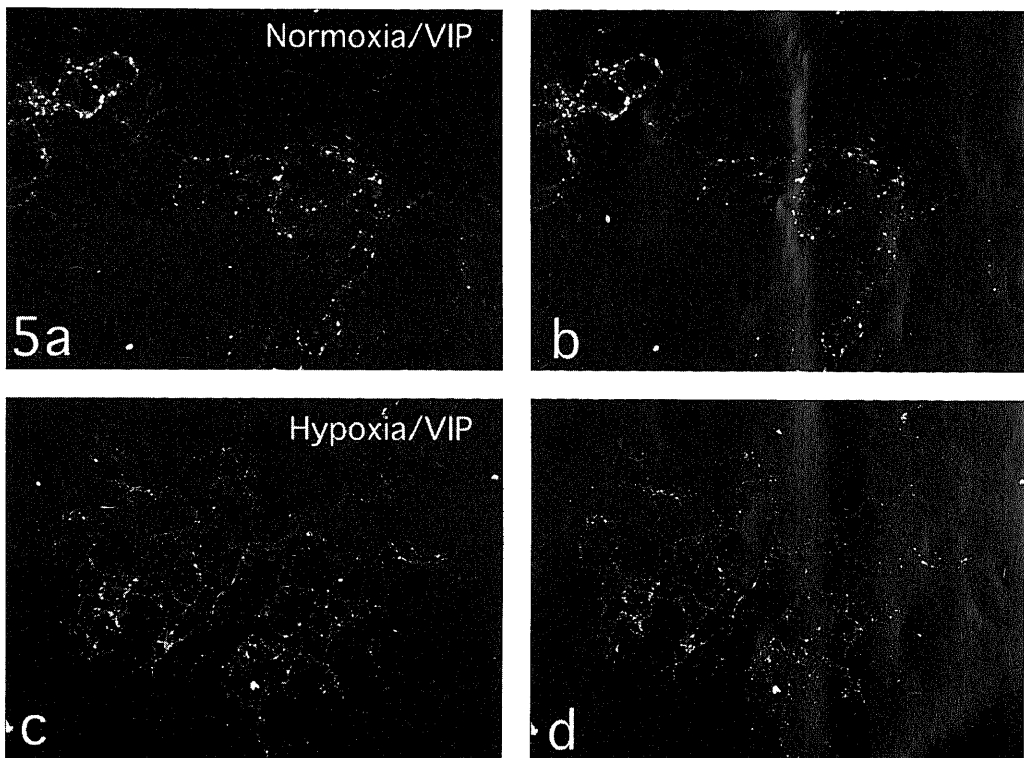


図5 共焦点レーザー顕微鏡によるVIP陽性神経線維の立体構築像 (aとb、cとdはステレオペアー)

正常環境下（Normoxia）および慢性低酸素環境下（Hypoxia）におけるペプチド性神経支配を三次元的に把握するために共焦点レーザー顕微鏡を用い検討した。二次抗体として抗ウサギFITC標識IgGを用いて免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡（Olympus）で観察した。約30枚の光学的切片を三次元構築ソフトウェアを用い再構築し、立体構築像を作成した。

頸動脈小体に分布するペプチド性神経線維は主として血管周囲を取り囲む形で存在し、特に、VIP線維で顕著であった（図5a-d）。

今回検討した神経ペプチドは血管作動性であることから、頸動脈小体内の循環動態を変えることにより間接的に低酸素環境下における化学受容機構の調節に関与している可能性を推測したが、三次元構築像の観察から血管系との関係がより明確となった。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所の平成13年度研究助成により行なわれた。