

Title	拘束水浸により惹起した実験小動物のストレス症状の実験薬理学的解析
Author(s)	米田, 良三
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/32960
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	菜 田 良 三
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 5 1 4 5 号
学位授与の日付	昭和 56年 1 月 28日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	拘束水浸により惹起した実験小動物のストレス症状の 実験薬理学的解析
論文審査委員	(主査) 教授 岩田平太郎 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 青沼 繁 教授 三浦 喜温

論 文 内 容 の 要 旨

緒 言

ストレスが生体に負荷された場合、生体側には当然防御機構が働き、このことを homeostasis と称している。しかしストレスが homeostasis を超えると生体には種々の疾患が現われてくる。ところでストレスを負荷した時の生体反応については実験動物を用いて多くの研究が行われている。数年前、われわれは実験動物の飼育環境温度を反復して律動的に変更し、数日間飼育した場合、一般ストレスでは見られない特異な病的症状が生じてくることを見出した。この動物に対しわれわれは SART (Specific stress caused by alternation of rhythm in temperature) 動物と命名し、このストレス症状について生理的薬理学的見地から多くの研究を行ってきた。特にその摘出十二指腸における自律神経の unbalance についての薬理学的解析から、SART ストレス動物は partial vagotonia 症を呈する病態に陥っていることが明らかになった。¹⁻³⁾

しかし、生体には SART ストレスのような症状とは逆の sympathicotonia 症状が生じる可能性も考えられる。そこで、SART とは異なり急性で激しいストレスである拘束水浸ストレス (Restraint and water immersion stress, RWIS) を動物に負荷した場合の、摘出平滑筋臓器における acetylcholine (ACh) と noradrenaline (NA) の反応性を調べ、その薬理学的解析を行った。次いでこれら SART ストレス動物ならびに RWIS 動物の両者に対する、神経鎮静剤 Neurotropin (NSP)⁴⁻⁷⁾ の作用について検討した。

本 論

第 1 章 SART ストレス動物の生理機能変化と NSP の作用

(1) SART ストレス動物の作成

マウスの飼育環境温度を反復して変更して飼育するために7種類の条件を設定し飼育実験を行った。その結果「午前10時から午後5時までは1時間間隔で24℃と8℃を交替、午後5時から翌日午前10時までは8℃」という条件で数日間飼育した場合に限り、他の設定条件に比し体重自然増加の抑制が顕著であった。われわれは、この場合のストレスをSARTストレスとした。この際、マウスの実験で8℃という下限温度は、最近では4℃と訂正している。またラットでは-3℃が適当であることを確認している。

(2) SART ストレス動物の生理機能変化におよぼすNSPの作用

SART ストレスマウス、ラットでは、体重自然増加の抑制を始め摘出十二指腸におけるACh反応性低下など多くの生理機能変化、GSRあるいは各種臓器重量、血液や血清の臨床化学的検査⁸⁾より、副腎皮質機能亢進⁹⁾のみならず、広範囲に異常が認められた、その痛覚閾値は、一般のストレスとは逆に低下し、この低下には副腎の関与が認められなかった、以上の症状を総合的に見て、SART ストレス動物は臨床家のいう自律神経失調症¹⁰⁾に類似した症状を呈するものと思われる。さらに摘出十二指腸におけるACh反応性低下についての薬理学的実験から、このストレス動物はpartial vagotonia 症を呈する病態に陥っていると考えられ、このことはmuscarinic receptorの数の減少を意味する生化学的薬理学的実験成績からも支持されている。¹¹⁾

次いで、このSART ストレス動物に神経鎮静剤NSPを投与したところ、これらの諸症状は緩解し、しかも著明な鎮痛作用が認められた。またSART ストレス動物は、NSPのみならず重要な漢方薬の一つである柴胡の成分saikosaponinの薬効解析にも利用されている。

第Ⅱ章 RWIS 動物の摘出臓器における薬物の反応性に対する薬理学的解析

RWISは、Takagi et al¹²⁾¹³⁾の方法に準じddY系雄性マウスやWistar系雄性ラットを18時間以上絶食させた後、拘束水浸を行って作成した。RWISマウスまたはラットの摘出十二指腸ならびに精管における薬物の反応性はマグヌス氏法を用いその等張性収縮または弛緩について検討した。

(1) RWIS マウスの摘出十二指腸におけるACh反応性の経時変化

マウスにRWISを負荷すると、摘出十二指腸のACh反応性は、負荷3時間の時最大値を示しnormalに比し50%以上も上昇したのに比し、絶食あるいは拘束のみではその反応性には、normalと差異は見られなかった。このことより、RWISのACh反応性上昇は、拘束に加えて水浸ストレスが加わった強度のストレスにより生じたもので、以下の実験ではマウスに18時間の絶食後3時間のRWISを負荷することとした。

(2) RWIS 動物の摘出十二指腸と精管におけるACh, KCl, BaCl₂またはNAの反応性

RWISマウス摘出十二指腸におけるAChのdose-response curveから、ACh反応性上昇については、affinityは全く変わらないが、intrinsic activityの方が上昇することがわかった。次にKClやBaCl₂による収縮反応については、KClの高濃度でその反応性上昇が、またBaCl₂では若干の反応性上昇が認められた。一方NAの弛緩反応についてRWISラットを用い検討したところ、ACh

とは逆に低下が認められた。

以上より、RWIS マウス、ラットでは、平滑筋の筋収縮要素そのものには変化がなく、交感神経の過緊張による receptor site の変性が考えられる。そこで NA の反応性が ACh の反応性より鋭敏な臓器とされている精管を用いて実験を行ったところ、十二指腸の場合と同様交感神経の緊張が上昇しているという推察が得られる成績となった。

(3) RWIS ならびに SART ストレスマウス摘出十二指腸の ACh 反応性変化におよぼす薬物前投与の影響

RWIS 負荷前のマウスに自律神経作用薬を投与し、摘出十二指腸の ACh 反応性を調べたところ自律神経作用薬の投与では、SART ストレスマウス摘出十二指腸における ACh 反応性低下に対する効果とは全く逆の結果が得られた。すなわち、SART ストレスの ACh 反応性低下を阻止したところの NA または atropine は RWIS では無影響であった。しかし SART ストレスで無影響であった α -methyl dopa, guanethidine, ACh または neostigmine は何れも RWIS の ACh 反応性上昇を阻止した。

これらの成績は、RWIS が SART ストレスとは逆に交感神経の過緊張を来しているという推定を側面より支持するものである。つまり、RWIS 動物は partial sympatheticotonia 症を呈する病態に陥っていると考えられる。この際、NSP は両ストレスによる ACh 反応性変化を共に著明に阻止することが認められた。

第三章 RWIS 動物における partial sympatheticotonia 症の発生機序についての薬理的解析

RWIS 動物における partial sympatheticotonia 症の発生機序について副腎ならびに自律神経系の関与の面から検討した。副腎の関与については、副腎皮質ホルモンまたはその遮断薬の投与、あるいは adrenalectomy¹⁴⁾ (副腎摘出) を行い検討した。また自律神経系の関与については、交感神経変性剤の投与、¹⁵⁻¹⁹⁾ vagotomy²⁰⁾ (迷走神経切断) または sympathectomy²¹⁾ (腹腔神経節・節後線維除去) などの実験を行った。

(1) 副腎よりの影響

先ず、RWIS 負荷前のマウスに副腎皮質ホルモン dexamethasone とその作用阻害剤 metopirone または spironolactone をそれぞれ投与したが、摘出十二指腸の ACh 反応性上昇には何ら影響をおよぼさなかった。次に、副腎摘出マウスに RWIS を負荷したところ、その ACh 反応性上昇は normal と RWIS control との中間まで抑制され、また精管においても同様 ACh 反応性上昇が抑制された。特に精管における NA の反応性低下は著明に抑制された。しかし、この副腎摘出動物における RWIS による ACh 反応性上昇は、dexamethasone の投与によって何ら影響を受けなかった。

以上より、RWIS における ACh または NA の反応性変化には、副腎がある程度関与しているが、そのうち皮質はほとんど無関係で、むしろ髄質側の関与が大きいと推察される。

(2) 自律神経よりの影響

Serotonergic neuron 変性剤である 5, 6 -dihydroxytryptamine を RWIS 負荷前に投与して

においても、ACh反応性上昇には無影響であった。しかし、adrenergic neuron 変性剤である 6-hydroxydopamine ならびに 6-hydroxydopa 投与では ACh 反応性上昇を明らかに阻止した。次に、ストレス負荷 5 日前に vagotomy を行っておいた場合には、十二指腸または精管のいずれにおいても、ACh 反応性の上昇と、NA 反応性の低下という現象において変化は認められなかった。しかし sympathectomy では、いずれの臓器においても、ACh 反応性上昇ならびに NA 反応性の低下を阻止したが、特に NA 反応性低下に対する阻止が著明であった。すなわち、RWIS 動物の摘出十二指腸および精管における ACh や NA の反応性変化は、adrenergic neuron 変性剤の投与あるいは sympathectomy によって阻止されたことになる。

以上より、RWIS 動物が partial sympatheticotonia 症を呈することを明確に証明したものといえよう。

考 察

RWIS マウスやラットの摘出十二指腸と精管において、ACh 反応性の上昇が認められるのに比し、NA 反応性は逆に低下することが認められ、このことから交感神経の過緊張が推定された。Antiadrenergic や cholinergic drugs の前投与によって、いずれも RWIS 負荷による ACh 反応性上昇が阻止され、しかもこの成績は SART ストレス動物における partial vagotonia 症と全く逆であった。このことから、RWIS が partial sympatheticotonia 症を呈する病態に陥っていることがより一層明確になったものといえよう。次にこの病症状はいかなる機序によって生じているかについて検討した。その結果、副腎では特に髄質の関与が考えられる。一方自律神経系では、vagotomy によって全く影響を受けず、sympathectomy によって partial sympatheticotonia 症状が著明に阻止された。すなわち sympathectomy によって RWIS 動物の交感神経の過緊張が緩解されたことを意味し、RWIS 動物が partial sympatheticotonia 症を呈することを強く証明したことになる。

NSP についてはその薬理作用から考えて中枢抑制作用が主作用と考えられているが、今回の実験で partial vagotonia 症である SART ストレス症状を緩解すると同時に partial sympatheticotonia 症である RWIS 症状をも改善したことは、他の薬物に見られない特長を持つものとして大変興味深い。

引用文献

1. 喜多富太郎, 奏多恵子, 飯田順子, 石田定広; 日薬理誌 **75**, 33 (1979)
2. T. Kita and T. Hata; Japan. J. Pharmacol., **29**, (Suppl), 29p (1979)
3. T. Hata, T. Kita, J. Iida, H. Yoshida, S. Uchida and S. Isida; J. Pharm. Dyn., **1**, 338 (1978)
4. 滝野増市; 人体自律神経の病態生理, 修文館, 東京 (1950)
5. M. Takino and Y. Takino; "Allergy and Asthma" P. 203 Maruzen, Tokyo (1956)
6. 滝野義忠, 滝野増市; 皮膚臨床 **12**, 126 (1970)
7. 奥田稔他; 耳鼻臨床 **72**, 779 (1979)

8. 米田良三, 菅原國一, 喜多富太郎, 奏多恵子, 飯田順子, 石田定広, 大場康寛; 応用薬理**18**, 587 (1979)
9. 青沼 繁, 小浜靖弘, 陳 英俊, 屋敷伸治, 江川 宏; 薬誌**96**, 1313 (1976)
10. 阿部達夫, 筒井末春; 「自律神経失調症」, 金原出版 (1967)
11. S. Uchida, K. Takeyasu, Y. Noguchi, H. Yoshida, T. Hata and T. Kita; Life Science, **22**, 2197 (1978)
12. K. Takagi and S. Okabe; Japan. J. Pharmacol., **18**, 9 (1968)
13. K. Takagi, Y. Kasuya and K. Watanabe; Chem. Pharm. Bull., **12**, 465 (1964)
14. 熊谷雄一; 「医化学実験講座」6 B 内分泌P40中山書店, 東京 (1972)
15. 鍋島俊隆, 伊奈みどり, 亀山 勉; 日薬理誌**73**, 907 (1977)
16. T. Segawa, K. Sakamoto and F. Naitoh; Japan. J. Pharmacol., **25**, 612 (1975)
17. C. C. Porter, J. A. Totaro and C. A. Stone; J. Pharmacol. exp. Ther., **140**, 308 (1963)
18. D. E. Clarke, H. H. Smookler, J. Hadinata, C. Chi and H. Barry, III; Life Science, **11**, 97 (1972)
19. C. Sachs and G. Jonsson; J. Neurochem., **19**, 1561 (1972)
20. 榊原幸雄; 臨床外科**33**, 193 (1978)
21. 鎌田勝雄, 粕谷 豊, 渡辺 稔; 日薬理誌**74**, 225 (1978)