OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32960
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【13】

氏名・(本籍)	米田良三
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 5145 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い出した。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の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の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 al[12][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，mormal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, $BaCl_2$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は全く変らないが，intrinsic activityの方が上昇することがわかった。次にKClや$BaCl_2$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$BaCl_2$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-methyldopa, 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 sympathicotonia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Ⅲ章　RWIS動物におけるpartial sympathicotonia症の発生機序についての薬理学的解析

RWIS動物におけるpartial sympathicotonia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adreanalectomy[14]（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]vagotomy[20]（迷走神経切断）またはsympathectomy[21]（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

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 sympathicotonia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 sympathicotonia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 sympathicotonia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 sympathicotonia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 sympathicotonia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）