

Title	Tyramine-induced endogenous noradrenaline efflux from in situ cardiac sympathetic nerve ending in cats
Author(s)	高内, 祐司
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46184
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	高内裕司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19865 号
学位授与年月日	平成 17 年 12 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Tyramine-induced endogenous noradrenaline efflux from <i>in situ</i> cardiac sympathetic nerve ending in cats (チラミンにより誘発される心臓交感神経終末ノルアドレナリン分泌の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 真下 節 (副査) 教授 堀 正二 教授 白倉 良太

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

チラミンは交感神経終末から多量のノルアドレナリン (NA) を分泌させることが知られ、その応答は交感神経終末の NA 貯蔵能の研究に用いられてきた。チラミンによる NA 分泌は、チラミンが神経終末で uptake₁ carrier によって取り込まれ、その結果 uptake₁ carrier を介して逆行性に細胞質 NA を分泌 (非開口性 NA 分泌) するためとされている。細胞質 NA 濃度は NA 合成、代謝、シナプス小胞への輸送と漏出などにより調節されるため、これらの因子がチラミンの NA 分泌に影響することが示唆されているが、*in vivo* でこれらの因子がどの程度関与しているかは明らかにされていない。従来からの研究は放射性同位体でラベルした外因性 NA 応答を調べたものが多く、外因性 NA は神経終末内に不均一に分布するため、交感神経終末 NA 動態を十分に反映していなかった。我々は心臓ダイアリシス法を用いて、心臓交感神経終末 NA 動態を *in vivo* で評価する方法を確立してきた。その結果、測定した心筋間質 NA 濃度が交感神経終末 NA 分泌の指標となり、NA 代謝産物である dihydroxy-phenylglycol (DHPG) は細胞膜を容易に透過するので、心筋間質 DHPG 濃度が神経終末細胞質 NA 濃度を反映することを明らかにしてきた。本研究の目的は、*in situ* 心臓交感神経終末におけるチラミンによる内因性 NA 分泌が、NA 動態を修飾する因子によってどのように影響を受けるかを検討することである。

〔 方法ならびに成績 〕

ペントバルビタール麻酔下の左開胸猫の左室心筋にダイアリシスプローブを植え込んだ。一方よりインジェクションポンプにてリングル液を 10 μ l/min で灌流し、他方より心筋透析液を採取し、その NA 濃度および DHPG 濃度を高速液体クロマトグラフィ・電気化学検出法で測定し、心筋間質濃度の指標とした。チラミン (600 μ M) はプローブを介して局所投与し、シナプス小胞や細胞質の NA 動態を修飾する薬剤で前処置し、チラミンによる透析液 NA と DHPG 濃度応答を比較解析した。

チラミンの局所投与による血行動態の変化は認めなかった。

透析液 NA 濃度はチラミン投与前、 19.4 ± 10.5 (平均 \pm 標準誤差、pg/ml) から投与開始 5 分で 3466 ± 409 まで上昇し、以後漸減したが、60 分後も 1241 ± 123 と高値を示した。時間-NA 濃度曲線は濃度対数軸で強い一次回帰を

示し、チラミンによる NA 分泌は一相性であることを示唆した。NA の生成酵素阻害剤 (メチルチロシン; 100 mg/kg) を腹腔内に前投与した群ではチラミンによる NA 分泌は減少し、神経終末細胞質での NA の代謝酵素阻害剤 (パルジリン; 1 mM) を局所に前投与した群では、チラミンによる NA 分泌は増大した。こうした結果はチラミンの NA 応答が神経終末の NA 含量を反映したものと考えられる。一方、パルジリン (10 mM) を局所に前投与した群では、チラミンによる NA 分泌は減少した。パルジリンの前投与が自発的な NA 分泌を引き起こし、神経終末の NA 含量を減少させたためと考えられる。またシナプス小胞への NA 取り込み阻害剤 (レセルピン; 1 μ M) を局所に前投与した群では、チラミンによる NA 分泌は変化しなかった。レセルピンが小胞から細胞質への NA 移動を引き起こすが、神経終末全体の NA 含量に影響しないためと考えられる。

透析液 DHPG 濃度はチラミン投与前、 161 ± 15 (pg/ml) から投与開始 10 分で 302 ± 31 まで上昇し、以後漸減し前値に復した。メチルチロシン群ではチラミン投与前値は減少し、チラミンによる DHPG 応答は減弱した。レセルピン群ではチラミン投与前値は上昇したが、チラミンによる DHPG 濃度は上昇せず漸減した。こうした細胞質 NA 濃度の指標となる DHPG 応答はシナプス小胞から細胞質への NA の漏出と細胞質からの NA 分泌による増減を反映し、チラミンによる NA 分泌はチラミン投与前 DHPG 濃度よりもむしろ DHPG 変動の累積総和に相関していた。

[総 括]

チラミンの局所投与により透析液 NA 濃度は速やかに上昇し、その後次第に減少した。この NA 分泌量は交感神経終末 NA を枯渇するとされる心筋虚血による NA 分泌に匹敵するほど大きく、交感神経終末の NA 貯蔵量に相当すると考えられる。チラミンによる NA 分泌は DHPG 変動に相関することから、シナプス小胞から細胞質への NA 漏出を伴っており、細胞質 NA 含量よりもむしろ神経終末全体の NA 含量に相関すると考えられる。ダイアリシス法を用いた実験モデルは、*in situ*、*in vivo*における心臓交感神経終末 NA 動態研究に適しており、チラミンの局所投与と透析液 NA 濃度、DHPG 濃度の測定を通して、様々な病態での神経終末の異常や NA 含量を評価することが可能である。

論文審査の結果の要旨

本論文は、交感神経刺激アミンであるチラミンによる交感神経終末からの内因性 NA 放出応答を、心臓ダイアリシス法を用いて検討したものである。チラミンの局所投与により急速な NA 分泌が起こり、その後次第に減少した。この NA 分泌量は星状神経節最大電気刺激の NA 分泌量の数十倍で、心虚血時に起こる非開口 NA 分泌に匹敵する。チラミンによる NA 分泌は DHPG 変動に相関することから、シナプス小胞から細胞質への NA 漏出を伴っており、細胞質内 NA だけでなく、小胞内 NA を含めた神経終末全体の NA 含量を反映すると考えられた。チラミンの局所投与に対する透析液 NA 濃度及び DHPG 濃度応答を観察することにより、様々な病態モデルで交感神経終末機能を決定する終末内 NA 含量を評価することが可能である。

本研究は *in situ*、*in vivo*における心臓交感神経機能評価の基礎研究となるものであり、この知見は移植医療や再生医療に不可欠な神経再生を評価する研究において、基礎研究から臨床研究への橋渡しの役割を担う可能性がある。実際に本研究をさらに発展させて、心筋虚血・再灌流モデルでの交感神経終末機能の評価にも応用しており、本論文は学位の授与に値すると考えられる。