

9126 食塩と血圧調節機構の相互関係と高血圧発症予防に関する研究

荻原 俊男(大阪大学)

中枢を介した昇圧刺激のひとつとしての高張食塩水ラット側脳室内投与塩水投与時に対する昇圧機構の解明を目的として、延髄腹外側部におけるアミノ酸系神経伝達物質の動態を観察した。ペントバルビタールによる持続麻酔下に、ラットを脳定位固定装置に固定し脳マイクロダイアリシス用のプローベを吻側延髄腹外側部(RVLM)に挿入し、血圧・心拍数は大腿動脈より直接法で測定した。延髄に挿入したプローベはRinger液で毎分 $1\mu\text{L}$ で灌流した。得られたサンプルは、カラムで分離後アミノ酸はOPA発色反応を用いて254nmの吸光を測定することにより定量した。実験は、手術後60分の回復時間の後3点の基準値を採取し、脳室内に1.5Mの高張食塩水または対照液として0.15Mの生理食塩水を $40\mu\text{L}$ 注入後20分毎に延髄灌流液のサンプルを測定した。

高張食塩水または対照液としての等張食塩水脳室内投与に伴うRVLMでのグルタミン酸の放出量と、高張食塩水投与時のRVLMとその1mm内側と外側におけるグルタミン酸放出量の経時的变化を比較すると、グルタミン酸のRVLMにおける放出量は高張食塩水投与に伴い基準値の約2倍に増加し、対照液投与群に比べて80分まで明らかな放出の増加を認めた。高張食塩水投与時のこの反応はRVLMで他の部位での反応と比べて明らかに顕著であり、これらの事よりグルタミン酸はこの部位で神経伝達物質としての役割を担っていることが示唆された。グリシンの放出量は、グルタミン酸と同じく高張食塩水脳室内投与に伴い、対照液としての等張食塩水投与に比べて40分後まで有意な放出量増加を示した。高張食塩水投与時のこの反応はRVLMでは他の部位での反応と比べて明らかに顕著であり、これらの事よりグリシンもまたこの部位で神経伝達物質として働いていることが示唆された。さらに、高張食塩水脳室内投与に伴う、RVLMでのGABA放出量の経時的变化は、対照液としての等張食塩水投与に比べて持続的な放出量増加を示した。高張食塩水投与時のこの反応はRVLMは他の部位での反応と比べて明らかに顕著であり、これらの事よりGABAもまたこの部位で神経伝達物質として働いていることが示唆された。

以上より、側脳室内への急性の高張食塩水投与によって延髄腹外側部のグルタミン酸、グリシン、GABAなどのアミノ酸の放出量の変動が観察され、この変動と血圧上昇との関連から、これらのアミノ酸がこの部位において神経伝達物質として作用していることが示唆された。

9126 食塩と血圧調節機構の相互関係と高血圧発症予防に関する研究

萩原 俊男(大阪大学)

研究目的

われわれは、中枢を介した昇圧刺激のひとつとして高張食塩水側脳室内投与に関して研究を行ってきた。前年に引続き今年はこの側脳室内高張食塩水投与に対する昇圧時の延髄腹外側部における各種神経伝達物質の動態の解明を試みた。

脳室内高張食塩水投与による昇圧の機序の解明に関する歴史的な背景はスウェーデンの Anderssonら¹⁾に端を発している。彼らは1972年、ヤギの第三脳室内に高張食塩水を急速注入した際の昇圧と抗利尿、ナトリウム利尿が見られることを報告した。1974年にはChiuとSawyer²⁾がこの現象が交感神経遮断薬であるグアネチジンの前投与で消失する事から、交感神経系の関与を示唆した。1983年には、Takishita, Ferrarioは、この昇圧は脳内レニン・アンジオテンシン系を介したのではない事を報告している³⁾。さらに、視床下部の第三脳室前腹側壁を破壊するとこの昇圧が消失することが証明されている。この部位は脳弓下器官、終板器官などの食塩、あるいはアンジオテンシンII感知部位が密集している。また、Kawano, Ferrario⁴⁾は、脳室内高張食塩水投与により、血中ノルエピネフリン、コルチゾール、バゾプレッシンが反応性に上昇し、逆に血漿レニン活性、腎交感神経活性は低下する事を報告した。一方、ラット大槽内に高張食塩水を投与したSasakiら⁵⁾はバゾプレッシンがこの昇圧に重要な役割を果していることを報告している。さらにKawanoらは、心房性ナトリウム利尿ペプチドの分泌が増加することを報告している⁶⁾。我々は、高張食塩水側脳室内投与時にラット延髄腹外側部におけるノルエピネフリンの放出が反応性に低下する事、またこの部位でのエピネフリンの動きは観察し得ないことを報告した⁷⁾。この研究をさらに発展させ本年度の報告テーマである延髄腹外側部のアミノ酸性神経伝達物質の動態の解明を試みた。

研究方法

本研究で使用した脳マイクロダイアリシス法は1983年頃よりスウェーデンの、Ungerstedtら⁸⁾のグループによって開発された方法で、in vivoの状態、部位によっては無麻酔無拘束下に、脳内神経伝達物質の動態の定量的測定や、逆に脳内へ特定の物質を選択的に注入し得るなどの特徴を有する。そのプローブは二層の構造を有しており、これを直接脳の様々の位置に刺入し、その

先端にある透析膜を介して濃度勾配に従って物質をやりとりする。すなわち、脳内の物質は灌流液中へと取り込まれ、これを経時的に採取して種々の検出装置を用いて分析測定する。逆に、灌流液中に特定の物質を入れることにより、脳の特定の部位にその物質を供給し得る。また、必要に応じては無麻酔の状態で脳内の神経伝達物質の動態が観察できる方法である。

今回の実験で脳マイクロダイアリシス用のプローベを吻側延髄腹外側部(RVLM)に挿入した。ラットは脳定位固定装置に固定後背側よりRVLMを穿刺する。ペントバルビタールを用いて持続麻酔し、数時間の実験の間ほぼ一定の血圧と心拍数を保つようにした。血圧・心拍数は大腿動脈より直接法で測定した。延髄に挿入したプローベはRinger液で毎分 $1\mu\text{L}$ で灌流した。得られたサンプルはカラムで分離後アミノ酸はOPA発色反応を用いて254nmの吸光を測定することにより定量した。実験は、手術後60分の回復時間の後3点の基準値を採取し、脳室内に1.5Mの高張食塩水または対照液として0.15Mの生理食塩水を $40\mu\text{L}$ 注入後20分毎に延髄灌流液のサンプルを測定した。

結果と考察

図1に各種アミノ酸の基準放出量の絶対量を示す。各種アミノ酸の中央に示すカラムがRVLMの値で、それぞれ1mm内側と外側での値をその両側に示してある。この部位ではグリシンや γ -aminobutylic acid(GABA)の放出量が多くみられた。またグルタミン酸はこの部位でその周囲に比べて有意に高い放出量を示している。しかし、値の個体差が大きく、直接的な比較が困難であるため、経時的に各アミノ酸の放出量の変化をRVLMを中心とする3点で観察し、比較する方法をとった。

図2にRVLMでの高張食塩水あるいは対照液としての等張食塩水脳室内投与に伴う、RVLMでのグルタミン酸の放出量の経時的变化を左に、高張食塩水投与時のRVLMとその1mm内側と外側におけるグルタミン酸放出量の経時的变化を右に示した。グルタミン酸の放出量は高張食塩水投与に伴い基準値の約2倍に増加し、対照液投与群に比べて80分まで明らかな放出の増加を認めた。高張食塩水投与時のこの反応はRVLMで他の部位での反応と比べて明らかに顕著であり、これらの事よりグルタミン酸はこの部位で神経伝達物質としての役割を担っていることが示唆された。グリシンの放出量に関してはグルタミン酸と同じく高張食塩水脳室内投与に伴うRVLMでのグリシン放出量の経時的变化は対照液としての等張食塩水投与に比べて40分後まで有意な放出量増加を示した。高張食塩水投与時のこの反応はRVLMでは他の部位での反応と比べて明らかに顕著であり、これらの事よりグリシンもまたこの部位で神経伝達物質として働いていることが示唆された。

タウリンの放出量に関しては、高張食塩水脳室内投与に伴うRVLMでのタウリン放出量の経時的变化は対照液としての等張食塩水投与に比べて60分後まで有意な放出量増加を示したが、高張食塩水投与時のこの反応はRVLMで

はその他の部位の反応と比べても有意な差はみられず、これらの事よりタウリンの放出量は高張食塩水の投与により変化するが、この部位で神経伝達物質として働いているか否かは疑問であった。さらに、高張食塩水脳室内投与に伴う、RVLMでのGABA放出量の経時的変化は、対照液としての等張食塩水投与に比べて140分後までの持続的で有意な放出量増加を示した。高張食塩水投与時のこの反応はRVLMは他の部位での反応と比べて明らかに顕著であり、これらの事よりGABAもまたこの部位で神経伝達物質として働いていることが示唆された。以上をまとめると側脳室内への急性の高張食塩水投与によって延髄腹外側部のグルタミン酸、グリシン、GABAなどのアミノ酸の放出量の変動が観察され、この変動と血圧上昇との関連から、これらのアミノ酸がこの部位において神経伝達物質として作用していることが示唆された。

これらの結果は、圧受容器反射や中枢性の血圧調節におけるVLMの重要性と、さらにその部位に存在する、興奮性・抑制性様々のアミノ酸性ニューロンにさらに機能的な裏付けを与えるものと考ええる。漠然とした概念的存在であった血管運動中枢が、延髄腹外側部という明確な形態と機能とを備えた部位として次第にその姿を現しつつあり、我々の研究がその解明に微力ながら寄与することを期待している。しかし、まだまだ未解決の部分は多く、今後血圧調節機構の研究からさらに高血圧の発症維持に対する中枢の役割の解明というさらに大きなテーマが残されている。

文献

- 1) Andersson B, Eriksson L, Fernandez O, Kolmodin C-G and Oltner R:
Centrally mediated effects of sodium and angiotensin II on arterial blood pressure and fluid balance. *Acta Physiol Scand* 85:398-407, 1972.
- 2) Chiu PJS, Sawyer WH: Third ventricular injection of hypertonic NaCl and natriuresis in cats. *Am J Physiol* 226: 463-469, 1974.
- 3) Takishita S, Ferrario CM: Lack of interaction between a hypertonic NaCl stimulus and the brain renin-angiotensin system. *Am J Physiol* 244: H471-H478, 1983.
- 4) Kawano Y, Ferrario CM: Neurohumoral characteristics of cardiovascular response due to intraventricular hypertonic NaCl. *Am J Physiol* 247:H422-428, 1984.
- 5) Sasaki S, Takeda K, Okajima H, Takahashi H, Yoshimura M, Nakagawa M and Ijichi H: Pressor responses to intracisternal injection of hypertonic NaCl in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 6:349-354, 1984.
- 6) Kawano Y, Yoshida K, Hirata Y, Yoshimi H, Kuramochi M, Ito K and Omae T: Influence of sodium concentration in cerebrospinal fluid on plasma atrial natriuretic peptide in conscious rats. *Clin Sci* 74: 49-52, 1988.
- 7) Katahira K, Mikami H, Tsunetoshi T, Kohara K, Otsuka A, Nagano M, Ogihara T: Increase in the blood pressure and decrease in the norepinephrine release in the ventrolateral medulla during intraventricular administration of hypertonic NaCl. *Pflugers Arch* 414:719-725, 1989.
- 8) Zetterstrom T, Sharp T, Marsden CA and Ungerstedt U: In vivo measurement of dopamine and its metabolites by intracerebral dialysis: Changes after d-amphetamine. *J Neurochem* 41:1769-1773, 1983.

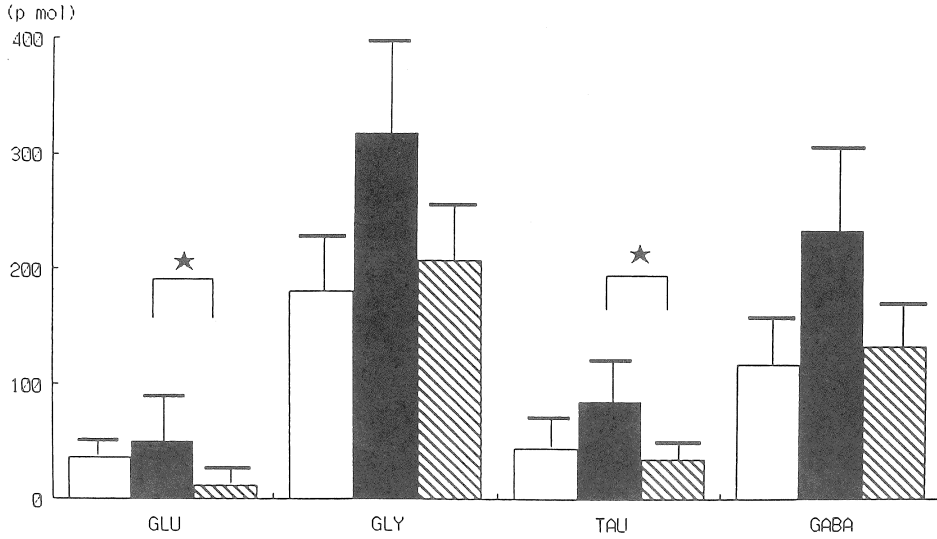


Figure 1. Difference in the amino acid release among 3 points: the rostral ventrolateral medulla (RVLM) and 1 mm lateral or medial to it. GLU: glutamate, GLY: glycine, TAU: taurin, GABA: γ -aminobutylic acid. * $P < 0.05$ vs RVLM

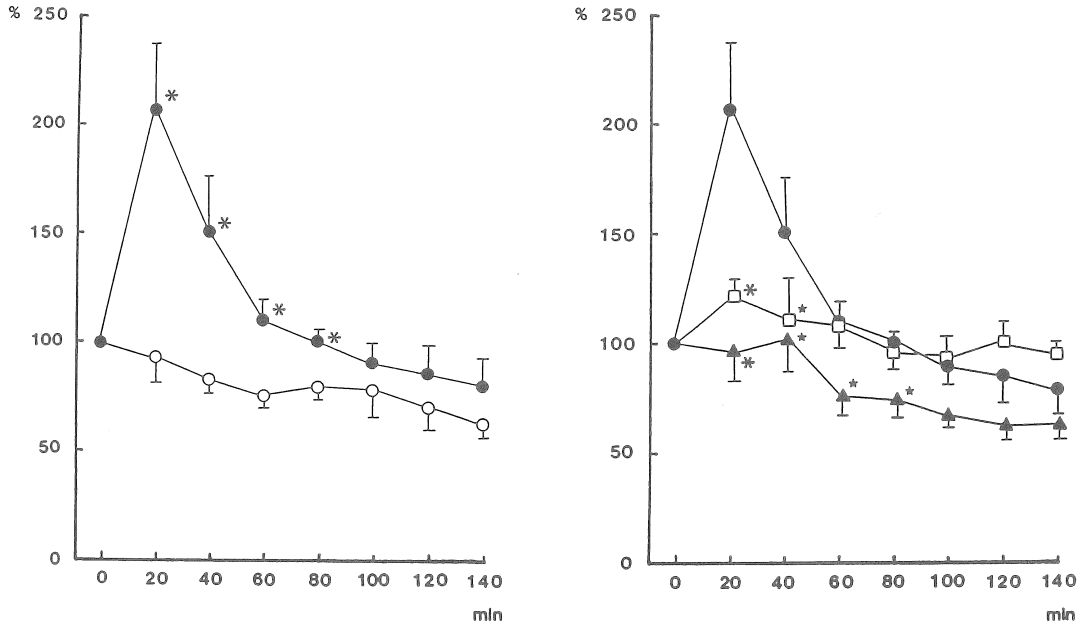


Figure 2. Chronological changes in glutamate release in the RVLM in response to intracerebroventricular administration of 1.5 M hypertonic NaCl.
 Left panel: comparison between hypertonic NaCl ICV (●---●) and isotonic NaCl ICV (○---○). * $P < 0.05$ vs control.
 Right panel: comparison among 3 points with the RVLM in the midst.
 RVLM (●---●), 1 mm lateral to the RVLM (□---□), 1 mm medial to the RVLM (▲---▲). * $P < 0.05$ vs RVLM.

STUDIES ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SALT AND BLOOD PRESSURE CONTROL MECHANISMS AND THE PREVENTION OF HYPERTENSION

Chronological changes in the release of amino acid in the rat
ventrolateral medulla in response to hypertonic NaCl injection
to the lateral ventricle

Toshio Ogihara
Hiroshi Mikami, Katsutoshi Katahira

Department of Geriatric Medicine
Osaka University Medical School
Osaka 553, Japan

Summary

This study was performed to see if there is any change in the release of amino acids in the rat rostral ventrolateral medulla (RVLM) in response to administration of hypertonic NaCl (1.5 M) into the lateral cerebroventricle (ICV). Brain microdialysis method was used to determine the chronological change in the release of various amino acid neurotransmitters from the RVLM and its adjacent points (1 mm lateral and medial to the RVLM). Among the amino acids tested, glutamate had the most significant elevation amounting to twice as much as noted in control group as well as in those adjacent points 20 min after ICV injection of 1.5 M NaCl solution. Glycin and γ -aminobutylic acid had also a significant peak in comparison with the control group. These results suggest that these amino acids are functioning as neurotransmitters in the RVLM mediating the blood pressure elevation seen in response to acute injection of hypertonic NaCl into the lateral ventricle of the rat.