

薬理学講座第2

- 教授：川村 将弘 内分泌薬理学
(兼任)
- 教授：木村 直史 呼吸・循環調節の生理学・薬理学，医学教育
- 講師：高野 一夫 呼吸の中枢性調節に関する生理学および薬理学

研究概要

I. 呼吸のリズム形成およびパターン形成機序に関する系統発生学的研究

1. 呼吸リズム形成におけるカップルド・オッシレータ仮説の検証

我々は，両生類の口腔呼吸運動（幼生では鰓呼吸運動）のオッシレータと肺呼吸運動のオッシレータが機能的に結合した結果，基幹羊膜類の呼吸リズム形成機構へ進化したという仮説（カップルド・オッシレータ仮説）を提唱してきた。脊椎動物の換気の機械的メカニズムは，そのタクサ（系統）ごとに異なるが，その基本的リズム形成機構は肺呼吸をおこなう脊椎動物に共通しており，相同であると考えられる。

これまでの研究成績から，カエル（ヒョウガエル *Rana pipiens* およびウシガエル *Rana catesbeiana*）に μ -オピオイド・アゴニストを適用すると，肺呼吸運動（または肺呼吸性活動）の周期は著しく延長するが，口腔呼吸運動（または口腔呼吸性活動）は残存し，その周期はほとんど影響を受けないことを，*in vivo* および *in vitro*（摘出脳幹標本）の実験系において報告してきた。今年度は，カエルの摘出脳幹標本においてオッシレータ間のカップリングを機能的に分離すると考えられるオピオイド（DAMGO）の適用と同時に，環境の塩素イオンを同時に減少させ，口腔呼吸リズム活動と肺呼吸リズム活動に及ぼす影響について検討した。その結果，オピオイド適用と同時に灌流緩衝液中の塩素イオンを減少させると，口腔呼吸のバーストと，これに続く肺呼吸のバースト間隔の変動は著しく増加するが，肺呼吸のバーストとこれに続く口腔呼吸のバースト間の間隔は影響を受けないことが明らかになった。この結果から，口腔呼吸オッシレータの活動を肺呼吸オッシレータにカップリングさせる機構に，塩素イオンに依存する機構が介在する可能性が示唆された。

今回得られた結果と，これまでの研究成績を総合すると，両生類と羊膜類の系統関係から，ヒトを含

む羊膜類の呼吸リズムも結合した2つのオッシレータによって形成されている可能性が考えられた。カップルド・オッシレータ仮説に基づく，ヒトの睡眠時無呼吸症候群の呼吸パターンなど，様々な異常呼吸の発現メカニズムを合理的に説明できる可能性がある。（Calgary 大学，呼吸研究グループとの共同研究）

2. カエル脳幹部呼吸性ニューロン活動の時空間パターンの視覚化

カエルの脳幹内呼吸性ニューロン分布の全体像と，それらの活動の時間的空間的パターンを把握するために，膜電位イメージング法を用いて，カエル摘出脳幹腹側面付近の呼吸性ニューロン活動の視覚化を試みた。三叉神経から導出した肺呼吸性電気活動をトリガーとして，膜電位感受性色素により処理したカエル摘出脳幹標本表面からの膜電位変化に伴う放出光を検出し，加算することによって肺呼吸性ニューロンの分布を検討した。肺呼吸に関連したニューロンの活動は延髄腹側面付近，三叉神経根と舌下神経根部の間に両側性に連なる円柱状に分布していたが，特に第 X 脳神経根と舌下神経根部の間から，肺呼吸性活動に関連した強力な活動（放出光）が検出された。また X 脳神経根と舌下神経根の間やや尾側付近に最も早期に活動を開始する部位が検出され，その活動領域は時間経過と共に主に吻側方向へ拡大した。視覚化された呼吸性ニューロンの分布領域は，これまでの電気生理学的探索では呼吸性ニューロンの記録の報告がない尾側領域まで広がっていた。また，視覚的に明らかにされた呼吸性ニューロンの分布を手がかりとして，細胞外記録を試みたところ，これらの領域から，高密度に様々なパターンの呼吸性ニューロン活動が導出されることが判明した。（兵庫医科大学・生理学および慶応大学医学部，月ヶ瀬リハビリテーションセンター・内科との共同研究）

3. 水棲 *Pipa* 科カエルの摘出脳幹標本の呼吸パターン

完全水棲の *Pipa* 科のカエル（アフリカツメガエル *Xenopus laevis* など）の呼吸には，他の普通種のカエルにはない特徴が見られる。第一に普通種のカエルの呼吸では，通常，肺呼吸サイクルと口腔呼吸サイクルの両方が発現するが，*Pipa* 科のカエルでは，口腔呼吸サイクルが見られない。第二に普通種のカエルでは口腔内への吸気が肺からの呼息に先行するのに対して，*Pipa* 科カエルでは，口腔内への吸気が呼息に後続しており，肺呼吸のステップが，普通種のカエルと一部逆転している。第三に，これら

のカエルには食道および肺などに付着する固有の筋群が見られ、横隔膜の起源ではないかと考えられている。これらの特徴は、*Pipa* 科カエルの水棲への適応の結果と考えられるが、初期両生類は、過去に幾度か水中生活へ回帰した化石的証拠があり、水棲への適応が、基幹羊膜類へ至る両生類、あるいは哺乳類へ至る一部の羊膜類において、横隔膜の発達と呼吸パターンの変化を促進した可能性が考えられる。そこで、*Pipa* 科カエルの口腔呼吸サイクルが、潜水反射の結果として抑制されているの否かを明らかにするために、アフリカツメガエルの摘出脳幹標本を作成し、これより導出された脳神経活動の解析を行った。その結果、反射ループを欠く摘出脳幹標本においても単独の口腔呼吸サイクルが発現せず、間歇的な肺呼吸性活動のみが発現することが示された。さらに呼吸位相の解析を行った結果、*in vivo* の *Pipa* 科カエルの呼吸と同様に、摘出脳幹標本においても呼吸位相の一部が普通種のカエルと逆転していることが確認された。これらの結果から、*Pipa* 科カエルにおいて口腔呼吸サイクルが発現しないのは、潜水反射等による抑制の結果ではなく、中枢性にこのような間歇的な肺呼吸パターンが形成されている可能性が示唆された。水棲の *Pipa* 科カエルの摘出脳幹標本は、カップルド・オッシレータ仮説において口腔呼吸性出力を欠く両生類脳幹標本として、重要なモデルとなる可能性が示唆された。

II. 呼吸の反射性調節に関する研究

1. 迷走神経吸息促進反射と孤束核 P2X 受容体の機能的意義に関する研究

迷走神経吸息促進反射の発現に、ATP-P2X 受容体体系が関与する可能性を検討するために、ウサギの一侧の尾側孤束核内に P2X 受容体遮断薬 PPADS の微量注入を行い、PPADS が迷走神経吸息促進反射の抑制効果を発現する脳幹部位の同定を行った。その結果、PPADS が尾側孤束あるいは孤束核内に注入された場合に吸息促進反射の強い抑制が生じることが明らかとなった。本結果より Hering-Breuer 反射の吸息促進反射発現に孤束核内の P2X 受容体の活性化が関与する可能性が示された（総合医科研・神経生理学研究室との共同研究）。

「点検・評価」

教育面では、医学総論 I 演習（1 年）、医学総論 II 演習（2 年）、医学総論 III 演習（3 年）、コース基礎医科学 II のユニット「生体調節のしくみ」（2 年）、コース基礎医科学 II のユニット、「呼吸器系」および

「循環器系」を担当し、ユニット「循環器系」（2 年）、機能系実習（薬理学）（2 年）、コース研究室配属（3 年）を分担した。医学総論 I 演習の「バイタルサインを診る」体験的演習は 5 年目を迎え、ユニットとして定着したが、演習指導者の確保が今後の課題である。機能系実習（薬理学）のうち、分担テーマの「循環器系に及ぼす自律神経作用薬の影響」についても、実習指導者の養成が今後の課題となっている。少人数教育の導入と拡大により、教育と研究に注がれる時間の比率を比較すると、学生教育の負担が著しく増大する傾向があり、この問題をどのように解決していくか、今後の課題となる。

研究面では、呼吸リズム形成機構のカップルド・オッシレータ仮説において、口腔オッシレータと肺呼吸オッシレータのカップリングに、塩素イオンに依存する機構が介在する可能性を示す実験結果が得られ、論文として公表することができた。カップルド・オッシレータ仮説は、下等脊椎動物からヒトを含む哺乳類の呼吸リズムの形成メカニズムを統一的に説明し得る仮説として、注目を集めつつある。今年度は国内他大学研究機関からの共同研究の申し入れもあり、興味深い結果が得られつつある。また呼吸反射に関する研究においても哺乳類の吸息促進反射を促進するプリン作動性 P2X 受容体が孤束核内に存在する可能性を示唆する実験成績を得た。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Vasilakos K¹⁾, Kimura N, Wilson RJA¹⁾, Remmers JE¹⁾ (¹Univ Calgary). Lung and buccal ventilation in the frog: uncoupling coupled oscillators. *Physiol Biochem Zool* 2006; 79(6): 1010-8.

II. 総説

- 1) 木村直史. 動物実験の動物たち カエルの話 ④ カエルの生理学, 薬理学, そして麻酔科学. *LiSA* 2006; 13(4): 378-81.

III. 学会発表

- 1) 高野一夫, 加藤総夫. 迷走神経吸息促進反射に対する孤束核 P2X 受容体遮断効果は求心性発火頻度依存的である. 第 84 回日本生理学会大会. 大阪, 3 月.