

正中視索前核へのグルタミン酸およびGABA受容体機構による 脳弓下器官でのアンジオテンシンII受容によって誘発される飲水行動の調節

田中 淳一*, 高橋 眞琴*

(キーワード: 脳弓下器官, 正中視索前核, 飲水行動, グルタミン酸, γ -アミノ酪酸)

1. はじめに

特別支援学校には、重度・重複障害や病弱の児童・生徒をはじめとして、脳機能の障害に起因する嚥下障害、摂食障害、水分摂取に課題を有する場合が散見される。しかしながら、学校教育における支援では、教員をはじめとする支援者は、児童・生徒の嚥下障害、摂食障害、排泄機能の障害、水分摂取上の課題を理解しつつも、児童・生徒の様子や表情を確認し、養護教諭等に相談しながら、日々の実践を行っている状況がある。本来ならば、基本的な生理学的知識についても、重度・重複障害や病弱の児童・生徒に携わる教員や支援者は、理解しておく必要があるだろう。

本研究においては、水分代謝に注目し、特に、飲水行動のメカニズムについて解明を試みることを目的としている。脳の血管構造は、末梢とは異なっており、脳内に余分な物質等が入ってこないようなシステム、すなわち血液-血液脳関門というものが存在する。しかしながら、脳内には、血液-脳関門が欠如している場所が7つあるといわれている。その一つが脳弓下器官 (subfornical organ, SFO) (図1) といわれる場所である。SFOにはアンジオテンシンII (angiotensin II, ANG II) 受容体が存在し、末梢血のANG IIを受容し、飲水行動および血圧調節と関連がある脳内の領域と神経連絡を持っている (Lind and Johnson, 1982)。その1つに正中視索前核 (median preoptic nucleus, MnPO) (図1) があり、SFOからの密接な神経支配を受けている (Lind and Johnson, 1982; Tanaka and Nomura, 1993; Tanaka, Fujisawa, et al., 2003)。

MnPOは、体液量及び血圧調節の維持に重要な働きをもつことが知られている。SFOからMnPOに至る神経路には、グルタミン酸 (glutamate, Glu) 作動性神経および γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 作動性神経の存在が知られている (Milolva and Renaud, 2010) が、それぞれの神経系の働きについては解明されていないのが現状である。そこで、Glu受容体遮断薬またはGABA受容体遮断薬をMnPOへの投与が、SFOへのANG II微量投与による飲水行動におよぼす影響をラットにおいて観察することにした。

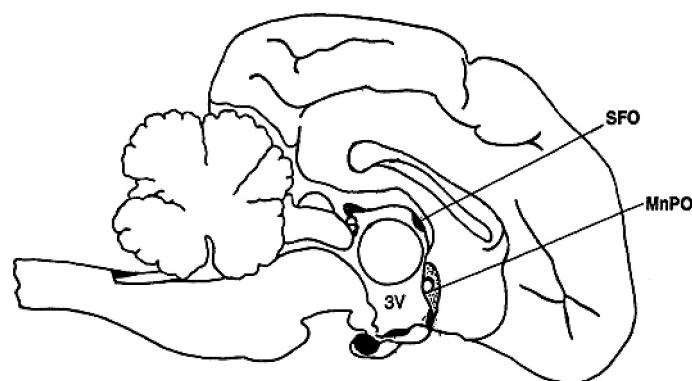


図1 ラット脳のサジタル断面図 (筆者作成)

2. 方法

本研究は、日本神経科学会の動物実験基準に従って行った。実験は、ペントバルビタール麻酔下(60mg/kg i.p.)で行った。十分に麻酔のかかったラットを脳定位固定装置に固定した。

2-1 動物

日本チャールズリバー社(厚木市, 神奈川県)より購入した Wistar 系雄ラット(260-320g, 13-14週令, 50匹)を用いた。

2-2 ガイドカニューレの挿入

SFO へのガイドカニューレの挿入には AG-8 (Eicom 社製) を, MnPO へのガイドカニューレの挿入には AG-12 (Eicom 社製) を用いた。両部位の脳地図上の挿入位置は, SFO が 1.0mm posterior to bregma, 0.0 mm lateral to the midline, 4.4 mm ventral to the cortical surface で, MnPO は 0.3mm posterior to bregma, 0.0mm lateral to the midline, 6.6 mm ventral to cortical surface とした。両カニューレの頭蓋骨への固定は, ステンレススチール製ネジとデンタルセメントにより行なった。

2-3 実験手順

ガイドカニューレ装着の5日後, 薬物投与を行い, 飲水量と飲水を開始する時間(潜時)を測定した。ラットをケージから取り出し, ガイドカニューレの中に, 注入用のステンレスチューブを挿入した。注入用チューブは, 約1mのテフロンチューブおよびガラスシリンジに接続しており, 注入用ポンプ(EP-60, Eicom 社製)で薬物投与を行なった。いずれの薬物の注入速度は, 0.2 μ L/min とした。薬物投与後20分間における飲水の潜時と量を測定した。

2-4 薬物

SFO には, ANG II (Asp¹-Ile⁵-ANG II) を50pmol 投与した。MnPO には, N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型受容体遮断薬である dizocilpine (MK801) を15nmol, non-NMDA 型であるキスカル酸(quisqualic acid)型またはカイニン酸(kainic acid)型受容体遮断薬である 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione (CNQX) を40nmol 投与した。また, GABAA 受容体遮断薬である bicuculline methiodide (Bic) を100pmol, あるいは GABAB 受容体遮断薬である phaclofen (Phac) を100 pmol 投与した。いずれの薬物も生理食塩水(Saline)に溶解したものをを用いた。

2-5 カニューレ部位の確認

実験終了後, 薬物投与部位に2%の Pontamine Sky Blue 溶液0.2 μ L を注入して, 注入部位を染色した。その後, ペントバルビタールの大量投与を行い, 脳を摘出した。50 μ m の脳組織標本を作製し, Neutral red で染色し, 顕微鏡下で注入部位の確認を行った。

2-6 統計処理

データは, 平均値 \pm 標準誤差で示した。分析は繰り返しのある一元配置の分散分析を用い, その後, t 検定により解析を行った。

3. 結果

図2は, MnPO への Glu 受容体遮断薬による遮断効果を表している。SFO への ANG II 投与は, 著しい飲水行動を引き起こすことが示された。その ANG II 投与による飲水量は, MnPO への NMDA 型受容体遮断薬 MK 801 または non-NMDA 型受容体遮断薬 CNQX の投与により有意に抑制された(いずれも $P < 0.01$)。

一方, 表1で見られる様に, 飲水行動を開始するまでの潜時には影響を及ぼさなかった。

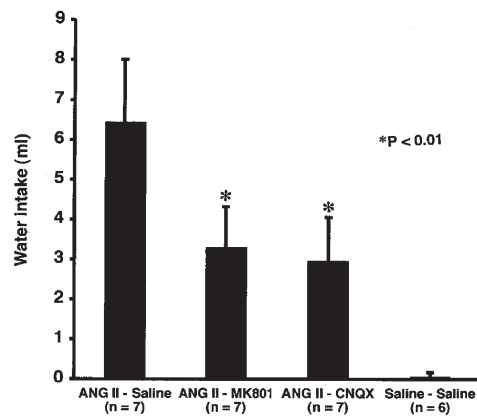


図2 SFO への ANG II 投与による飲水量の増加と飲水量に及ぼす MnPO への Glu 受容体遮断薬投与の影響 (n は、使用ラット数を示す)

表1 SFO への ANG II 投与により誘発される飲水行動の潜時

ANG II-Saline	23 ± 8 s
ANG II-MK801	26 ± 7 s
ANG II-CNQX	21 ± 10 s

図3に MnPO への GABA 受容体遮断薬投与による ANG II 投与誘発性の飲水量の遮断効果を示す。SFO への ANG II 投与により飲水量の増加が観察された。この ANG II 投与による飲水量は、MnPO への GABAA 受容体遮断薬 Bic あるいは GABAB 受容体遮断薬の投与により飲水行動が有意に増加した (いずれも $P < 0.05$)。

しかしながら、ANG II 投与により飲水行動を開始するまでの潜時には影響を及ぼさなかった。

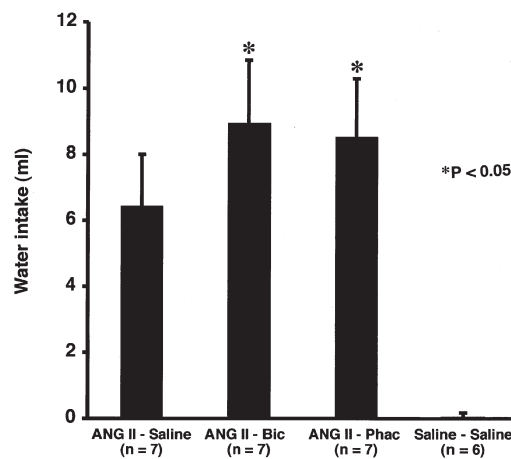


図3 SFO への ANG II 投与による飲水量の増加と飲水量に及ぼす MnPO への GABA 受容体遮断薬投与の影響 (n は、使用ラット数を示す。)

表2 SFO への ANG II 投与により誘発される飲水行動の潜時

ANG II-Saline	23 ± 8 s
ANG II-Bic	29 ± 11 s
ANG II-Phac	28 ± 9 s

4. 考察

SFO からの MnPO への Glu 作動性神経路は、ANG II による飲水量の調節に対して少なくとも関与しており、飲水量を増加させることが示唆された。詳細なメカニズムについては不明であるが、飲水行動の維持あるいは調節する機能を有していることが容易に考えられる。Glu 受容体には、よく知られているように、NMDA 受容体と non-NMDA 受容体、代謝型受容体 (Misoslav and Renoud, 2010) 等があるが、NMDA および non-NMDA 受容体が飲水行動の調節において同様の作用をもつことが本研究から示された。一般的に、NMDA 受容体は、学習・記憶等に関与しているということが既に証明されており、その他の受容体は、早い伝達反応をつかさどっているといわれている。これらの受容体が、MnPO においていかなる役割を持つかを解明することが今後の課題と考えられる。

一方、GABA 作動性神経は、一般的に神経活動を抑制することが知られている。本研究の結果においては、受容体タイプの差異は観察されなかった。MnPO は、水分のみならず血圧調節等とも関係をもっている。例えば、抗利尿ホルモンを分泌する視床下部室傍核と連絡があり、体液量維持のための統合部位である (Tanaka, 1989) とも考えられることから、SFO からの抑制性入力を持つ意義の解明が必要とされる。

学校教育における支援においても、教員をはじめとする支援者は、病弱や重度・重複障害がある児童・生徒の嚥下障害、摂食障害、排泄機能の障害、水分摂取上の課題について、普段の塩分摂取量など生理学的指標と関連付けながら検討することが必要であると推察される。

文献

- Lind RW, Jonson AK, Subfornical organ–median preoptic connections and drinking responses to angiotensin II, *J. Neurosci.* 2 (1982) 1043–1051.
- Miloslov K, Renoud LP, Metabotropic glutamatergic and GABAergic inputs from the subfornical organ, *J. Neurophysiol.* 103 (2010) 1104–1113.
- Tanaka J, Involvement of the median preoptic nucleus in the regulation of paraventricular vasopressin neurons by the subfornical organ in the rat, *Exp. Brain Res.* 76 (1989) 47–54.
- Tanaka J, Fujisawa, Nomura, GABAergic modulation of the ANG II-induced drinking response in the rat medial preoptic nucleus, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 76 (2003) 43–51.
- Tanaka J, Nomura M, Involvement of neurons sensitive to angiotensin II in the median preoptic nucleus in the drinking response induced by angiotensin II activation of the subfornical organ in rats, *Exp. Neurol.* 119 (1993) 235–239.

Glutamatergic and GABAergic Mechanisms in the Median Preoptic Nucleus Modulate the Water Intake Induced by Angiotensin II Acting at the Subfornical organ in Rats

TANAKA Junichi* and TAKAHASHI Makoto*

The subfornical organ (SFO), a circumventricular structure lacking the normal blood–brain barrier, is a target site of circulating angiotensin II (ANG II) for elicitation of drinking and pressor responses. The SFO sends glutamatergic, γ -aminobutyric acid (GABA) ergic and angiotensinergic fibers to the median preoptic nucleus (MnPO). The present study was carried out to clarify whether glutamatergic and GABAergic receptor mechanisms in the MnPO participate in the modulation of drinking response elicited by ANG II activation of the SFO. The effects of pretreatment with the N-methyl-D-aspartate (NMDA), non-NMDA, GABAA, and GABAB receptor antagonists in the MnPO on the drinking response caused by microinjections of ANG II into the SFO were examined. Prior injections of either dizocilpine (MK801), a NMDA antagonist, or 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione (CNQX), a non-NMDA antagonist, significantly reduced the ANG II-induced water ingestion, indicating that the glutamatergic receptor system in the MnPO may serve to enhance or maintain the drinking behavior in response to the SFO inputs activated by circulating ANG II. Pretreatment with either the GABAA antagonist bicuculine methiodide or the GABAB antagonist phaclofen in the MnPO significantly increased the water intake caused by ANG II injected into the SFO, showing the inhibitory action of GABAergic receptor mechanisms on drinking responses to the SFO inputs activated by ANG II. These findings provide the evidence for involvement of both glutamatergic and GABAergic receptor mechanisms are implicated in the modulation of water intake caused by ANG II acting at the SFO.

*Special Needs Education, Naruto University of Education