

学 位 論 文 題 名

麻酔下のラットにおける皮膚の機械的刺激による
CORTICOSTERONE, LUTEINIZING HORMONE
(LH) 及び TESTOSTERONE の反射性分泌調節

学位論文内容の要旨

1. 目 的

皮膚感覚刺激は内臓機能に影響を及ぼすことが知られており、治療にも応用されている。しかしながら、その作用発現の生理学的機序は明確ではない。近年来、実験動物に麻酔をかけ情動反応の影響を除去した上で、皮膚に対する種々の刺激が心臓、胃腸管、膀胱、副腎髄質等の自律機能を反射性に調節することが実証されてきた。例えば、副腎交感神経活動及び副腎髄質からのカテコールアミン分泌は皮膚の刺激に反射性に反応し、その際、侵害性機械的刺激で亢進し、非侵害性機械的刺激で抑制される相反する影響を受ける。これらの知見に加え、皮膚感覚刺激のホルモン分泌機能への影響を知ることは皮膚感覚刺激の生体への影響を理解する上で重要と考えられる。そこで、本研究では皮膚の刺激が、麻酔条件下で情動の影響を除去した状態で、副腎皮質からの corticosterone 分泌、下垂体前葉からの luteinizing hormone (LH) 分泌、及び精巣からの testosterone 分泌に影響するかどうか、その際、皮膚の侵害性機械的刺激の影響と非侵害性機械的刺激の影響に違いがあるかどうかを明らかにすることを第1の目的とした。

また、内分泌機能の加齢変化について、下垂体-副腎皮質機能は加齢に伴いよく維持されるのに対し、下垂体-精巣機能は減弱することが示唆されている。このことは、ホルモンの基礎分泌濃度及び下垂体ホルモン刺激に対する *in vivo* 及び *in vitro* の反応性を調べることによって明らかにされてきた。したがって、体性感覚刺激による内分泌機能への反射性反応の加齢に伴う変化に興味をもたれる。そこで皮膚の刺激によるこれらのホルモンの反射性分泌調節が、加齢動物でも認められるかどうかを明らかにすることを第2の目的とした。

2. 方 法

Pentobarbital 麻酔下の Wistar 系オスラット（13～22週齢の若齢成熟群及び24～27ヶ月齢の

加齢群)を用いた。0830 hに麻酔導入後、気管、右側総頸動脈、右側総頸静脈に挿管し、人工呼吸器に接続した。手術は0930 hまでに完了し、採血開始まで動物を安静状態に置いた。実験中はインフュージョンポンプを用い、pentobarbital 及び gallamine triethiodide を継続的に注入した。終末呼気炭酸ガス濃度、血圧、直腸温をモニターし、各々一定の範囲の値を維持するようにした。

皮膚の侵害性機械的刺激は、両側後肢足蹠を10分間、外科鉗子で pinching して加えた。皮膚の非侵害性機械的刺激は、両側後肢を10分間、歯ブラシで brushing して加えた。また、コントロール群では皮膚に刺激を与えず採血のみ行った。

採血は大腿静脈に挿入留置したカニューレより行った。血漿 corticosterone の分析のための採血実験では、1430 h～1630 hに15分間隔で採血した(刺激前に3回、刺激後に6回)。血漿 LH 及び血漿 testosterone の分析のための実験では血液を1400 h～1730 hに30分間隔で採取した(刺激前に1回、刺激後に7回)。

血漿 corticosterone の分析は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で行った。血漿 LH 及び血漿 testosterone の分析は radioimmunoassay (RIA) で行った。

皮膚刺激の血漿ホルモンレベルへの影響の評価は paired *t* - test で行った。若齢成熟群ラットと加齢群ラットのホルモンの安静状態での基礎濃度の有意差検定は Student's *t* - test で行った。

3. 結 果

- 1) 麻酔下安静状態での血漿 corticosterone, 血漿 LH 及び血漿 testosterone : 麻酔下で皮膚に刺激を加えずに安静状態を保った若齢成熟ラットの血漿 corticosterone は1430 h～1630 hの2時間、ほぼ一定であった。また、血漿 LH 及び血漿 testosterone は1400 h～1730 hの2.5時間、ほぼ一定の値を示した。
- 2) 皮膚に対する侵害性機械的刺激の血漿 corticosterone, 血漿 LH 及び血漿 testosterone への影響 : 両側後肢足蹠の侵害性機械的刺激の後、若齢成熟群ラットの血漿 corticosterone, 血漿 LH, 及び血漿 testosterone は有意に増加した。血漿 corticosterone の増加は刺激終了直後より見られ、刺激後約1時間持続した。一方、血漿 LH は刺激終了後30分と60分に有意に増加し、血漿 testosterone は刺激後60分～150分に有意に増加した。
- 3) 皮膚に対する非侵害性機械的刺激の血漿 corticosterone, 血漿 LH 及び血漿 testosterone への影響 : 両側後肢の非侵害性機械的刺激後も若齢成熟ラットの血漿 corticosterone, 血漿 LH 及び血漿 testosterone はいずれも刺激前と同等の値を維持した。

- 4) 加齢群ラットの麻酔下安静状態の血漿 corticosterone, 血漿 LH 及び血漿 testosterone :
加齢群ラットの麻酔下安静状態での血漿 corticosterone 及び血漿 LH は若齢成熟群の値とほぼ等しかった。一方, 加齢群ラットの麻酔下安静状態の血漿 testosterone は若齢成熟群の値に比べ, 有意に低値であった ($p < 0.01$)。
- 5) 加齢群ラットでも, 血漿 corticosterone は両側後肢足蹠の侵害性機械的刺激後に有意に増加した。この増加反応の大きさ及び時間経過について, 加齢群ラットと若齢成熟群ラットの間に顕著な差異は見られなかった。
- 6) 加齢群ラットにおける皮膚の侵害性機械的刺激の血漿 LH 及び血漿 testosterone への影響: 加齢群のラットの血漿 LH 及び血漿 testosterone は, 両側後肢足蹠の侵害性機械的刺激の終了直後から刺激終了約 3 時間まで, 刺激直前と同等の値を示した。

4. 考 察

若齢成熟ラットにおいて, 皮膚の侵害性刺激は副腎皮質からの corticosterone 分泌, 下垂体前葉からの LH 分泌, 精巣からの testosterone 分泌を有意に増加させることが明らかとなった。この成績は情動の影響を除去した麻酔動物を用いて得られたことから, 皮膚感覚入力からこれらのホルモン分泌への反射性調節のあることが示唆された。一方、皮膚の非侵害性機械的刺激はこれらのホルモン分泌には影響しなかった。

加齢群ラットにおいて, 皮膚の侵害性機械的刺激は, 血漿 corticosterone を有意に増加させた。一方, 加齢群では, 同じ皮膚の侵害性機械的刺激の後, 血漿 LH 及び血漿 testosterone は変化しなかった。この成績は, 皮膚の侵害性機械的刺激によって血漿 LH 及び血漿 testosterone が増加する若齢成熟群の成績と対照的であった。今回, 侵害性体性感覚刺激の下垂体前葉及び精巣の分泌機能への影響と副腎皮質の分泌機能への影響は加齢に伴い異なる変化をすることが明らかとなった。すなわち, 侵害性体性感覚刺激による副腎皮質からの corticosterone 分泌亢進は, 加齢に伴い維持されるが, 侵害性体性感覚刺激による下垂体前葉からの LH 及び精巣からの testosterone 分泌亢進は加齢に伴い減弱することが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 正 道

副 査 教 授 本 間 研 一

副 査 教 授 斉 藤 秀 哉

- 1) 皮膚刺激が、麻酔下で情動の影響を除去した状態で, corticosterone, luteinizing hormone (LH), 及び testosterone 分泌に影響するかどうか, その際, 皮膚の侵害性機械的刺激と非侵害性機械的刺激の影響に違いがあるかどうかを明らかにする。2) 皮膚の刺激によるこれらのホルモンの反射性分泌調節が, 加齢動物でも認められるかどうかを明らかにすることを目的として実験を行った。

Pentobarbital 麻酔下の Wistar 系オスラット (13~22週齢の若齢成熟群及び24~27ヶ月齢の加齢群) を用いた。皮膚の侵害性機械的刺激は, 両側後肢足蹠を10分間, 外科鉗子で pinching, 非侵害性機械的刺激は, 両足後肢を10分間, 歯ブラシで brushing して加えた。また, コントロール群では皮膚に刺激を与えず採血のみを行った。corticosterone の分析のため大腿静脈に挿入留置したカニューレより1430 h~1630 hに15分間隔で採血した (刺激前に3回, 刺激後に6回)。血漿 LH 及び血漿 testosterone の実験では血液を1400 h~1730 hに30分間隔で採取した (刺激前に1回, 刺激後に7回)。corticosterone の分析は高速液体クロマトグラフィーで, LH 及び testosterone の分析は radioimmunoassay で行った。

- 1) 侵害性機械的刺激の後, 若齢成熟群ラットの corticosterone は刺激終了直後より有意に増加し約1時間持続した。LH は刺激終了後30分と60分に有意に増加し, testosterone は50~150分後に有意に増加した。
- 2) 非侵害性機械的刺激によって若齢成熟群ラットの corticosterone, LH 及び testosterone はいずれも有意の変化を示さなかった。
- 3) 加齢群ラットの麻酔下安静状態での corticosterone 及び LH は若齢成熟群の値に比べ, 有意に低値であった ($p < 0.01$)。
- 4) 加齢群ラットにおける侵害性機械的刺激後に corticosterone は有意に増加した。LH 及び testosterone は約3時間まで変化はみられなかった。

この発表に対し, 斉藤秀哉教授から1) pinching の後 corticosterone, LH, testosterone の間に反応の時間差があるが, これをどう考えるか? 2) brushing による副腎皮質と髄質の反応のちがいをどう考えるか? 3) 老齢ラットで corticosterone は若齢ラットと同様の反応

を示すのに LH, testosterone では示さないのはどう説明するか？ 4) 体性神経刺激によりホルモン反応をひきおこす中枢機序は？, 本間教授からは 1) 麻酔下に不動化して, 情動反応を除いたという説明であったが, もし無麻酔, 無拘束動物でしらべた場合実験データに差がでると思うか？ 2) circadian rise が通常見られる時間帯にみられなかった理由は？さらに藤本征一郎教授からは 1) 麻酔とくに pentobarbital は LH その他のホルモンを抑制するとされている。何故 pentobarbital を用いたか？ 2) pentobarbital は微量でも排卵に影響がでる。麻酔深度はどのようにコントロールしたか？等々の質問がなされた。発表者はこれらに対し適切妥当な返答をなし得た。さらに副査の斉藤秀哉教授, 本間研一教授に個別に試問をうけ合格と判定された。

本研究は皮膚感覚刺激のホルモン分泌機能への影響を corticosterone, luteinizing hormone 及び testosterone を用いて若齢ラットで明らかにし, さらに老齢ラットでそれらがどのように変わって行くかを明らかにしたものであり, 博士 (医学) の学位を授与するにふさわしい論文と認められる。