

神経調節性失神の病態メカニズム解明と
薬物治療への応用

Elucidation of the pathomechanism of vasovagal syncope and its
potential application to pharmacotherapy

2023年2月

麻布大学大学院 獣医学研究科
獣医学専攻 博士課程
生理学

DV1905 黒河内 健太郎

論文要旨

緒言

神経調節性失神は血管迷走神経性失神、状況失神、頸動脈洞症候群からなり、様々な誘因によって交感神経抑制と副交感神経緊張が惹起され血圧低下や徐脈を呈する病態である。獣医臨床分野においても、犬で排便・排尿・咳嗽・嘔下によって自律神経反射が誘発された失神が報告されている。この反応は刺激受容器から求心性神経を介して孤束核へと入力し、延髄腹外側野を経由して迷走神経と交感神経の遠心路に投射すると考えられているが、その病態生理の詳細に関しては未だ不明な部分が多い。そこで本研究では延髄に多く分布している **neurokinin-1** 受容体に着目した。**Neurokinin-1** 受容体は延髄を中心として中枢神経系に広く発現し、種々の行動、内分泌および自律神経機能に関与している。内因性リガンドである **substance-P** とともに侵害受容、情動 (不安や抑うつ) および嘔吐などへ影響することが示されている。これらの生理学的な背景を受け、**neurokinin-1** 受容体の拮抗薬を用いることで、自律神経が関与した反射を抑制できる可能性があると考えた。本研究の第 1 章では犬の神経調節性失神における臨床例を報告し、その治療方針および治療における課題に関して考察した。第 2 章ではラットを用い、結腸直腸拡張によって反射性の血圧降下を誘発させた実験モデルを作成した。選択的 **neurokinin-1** 受容体拮抗薬であるホスアプレピタントを投与した群と、生理食塩水を投与した群で、その循環動態の変化を観察した。続いてラットの脳組織を使用し、**c-Fos** 法を用いて延髄最後野、孤束核および尾側延髄腹外側野における神経活動評価を実施し

た。これらの実験によって得られた結果から、自律神経反射における **neurokinin-1** 受容体の関与と、その拮抗薬の薬物治療への応用の可能性について考察した。

第 1 章 犬の神経調節性失神の症例報告

背景

神経調節性失神は獣医臨床分野で排便・排尿・咳嗽・嚥下に関連した状況失神としてしばしば遭遇する疾患である。神経調節性失神の治療は主に誘因の排除や、発生した不整脈に対する薬物療法が中心となるが、その治療選択肢は限られている。この度、各種検査を実施し神経調節性失神と臨床診断した僧帽弁閉鎖不全症の犬の症例を経験したため、その病態・治療に関する考察を行った。

症例

症例は咳嗽および興奮時に失神を繰り返しており、僧帽弁閉鎖不全症の診断を受けていた。失神の原因精査のため麻布大学附属動物病院に紹介来院した。

経過および考察

心臓超音波検査および胸部レントゲン検査を実施し、僧帽弁粘液腫様変性性疾患：**ACVIM Stage B1** と診断された。この重症度では明確な臨床徴候がみられないのが一般的であり、器質的心疾患は失神の主因ではないと思われた。失神発作は咳嗽および興奮と関連して発生していることから神経調節性失神の可能性が高いと考えられたため、ホルター心電図検査を実施した。ホルター心電図の装着期間中、咳嗽時に洞停止が出現した。臨床徴候および検査所見から神経調節性失神と臨床診断した。本症例では失神の誘

因となっている咳嗽に対し、内科的治療を開始した。加えて、興奮・運動時にも洞停止を呈している可能性があったため、過度な興奮や運動を控えるよう生活指導を行った。神経調節性失神には上記のような治療選択がとられるものの、根治は困難であり、しばしば対症療法的な方針をとることになる。求心性の迷走神経刺激に対しては誘因の排除を主軸とし、遠心性経路すなわち徐脈や血圧降下に対してはそれぞれの事象に対する薬物療法を行うことが主な治療となる。しかしながら反射回路である中枢神経に着目した治療は未だ確立されていない。そこで、神経調節性失神発現時の中枢神経における伝達経路を解明し、新たな薬物療法を提案することを本研究の目的とした。

第2章 反射性血圧降下誘発ラットにおける循環動態の変化と延髄における neurokinin-1 受容体の関与

背景

神経調節性失神の症例に対する主な治療アプローチは、失神の誘因となる生活イベントを避け、時に不整脈に対する薬物治療を行うこととなる。しかしながら、自律神経反射経路そのものに着目した薬物治療は未だ確立されていない。そこで、神経調節性失神発現時の中枢神経における反射経路に着目し、求心性迷走神経と延髄を介した伝達経路を薬理的にブロックすることで病態のコントロールが可能なのではないかと着想した。第2章では自律神経反射を誘発したラットを用いて neurokinin-1 受容体拮抗薬の効果を検証した。続いて、自律神経反射経路に関与するとされる延髄最後野、孤束核、尾側延髄腹外側野の神経活動を c-Fos 法で評価することによって、neurokinin-1 受容体

と自律神経反射経路の関連を検証した。

材料および方法

結腸直腸拡張による循環動体の変化

雄の Wistar ラットを用い、ウレタン麻酔下で実験を行った。ラットは結腸直腸拡張群 (CRD 群) とホスアプレピタント投与群 (CRD+NK₁A 群) に分類した。麻酔導入後、肛門から 6 cm の深さまで直径 2 cm の拡張バルーンを挿入した。結腸直腸拡張手技の開始 40 分前に、CRD 群では生理食塩水 10 ml/kg を、CRD+NK₁A 群ではホスアプレピタント 30 mg/kg を腹腔内投与した。結腸直腸拡張手技は 10 秒間で拡張圧を目標値まで上昇させ、40 秒間目標値を維持し、10 秒かけて 0 mmHg に下降させた。この操作を合計 3 回、目標拡張圧 40、60、80 mmHg の順で実施し、拡張間のインターバルはそれぞれ 5 分間確保した。

延髄における神経活動評価

結腸直腸拡張手技の終了後に灌流固定を行い、脳を摘出した。ビブラトームを使用して厚さ 50 μm の組織切片を作成し、ABC 法および DAB 法を用いて延髄最後野、孤束核および尾側延髄腹外側野における c-Fos 陽性細胞の定量的な比較を行った。加えて、組織学的な陰性コントロールとして、結腸直腸拡張を行わない非刺激群 (Control 群) のラットを用意した。

結果および考察

結腸直腸拡張によって、いずれの拡張圧においても拡張前から有意な血圧降下が見

られた。今回の実験モデルでは結腸直腸拡張による求心性迷走神経刺激によって交感神経活性の低下が惹起されたものと考えられ、神経調節性失神の病態を部分的に再現していると思われた。CRD 群と CRD+NK₁A 群の両群間の比較では、80 mmHg 拡張時において CRD 群と比較して CRD+NK₁A 群で有意に血圧の変化幅が小さかった。なお心拍数は両群で有意差はみられなかった。この結果から、選択的 neurokinin-1 受容体拮抗薬の全身投与は結腸直腸拡張によって誘発された血圧降下を抑制する可能性が示された。

神経活動評価では、延髄最後野の c-Fos 陽性細胞数は群間で有意差はみられなかった。孤束核では Control 群と比較して CRD 群で c-Fos 陽性細胞が有意に多くみられたが、CRD 群と CRD+NK₁A 群で有意差はみられなかった。一方、尾側延髄腹外側野では Control 群と比較して CRD 群および CRD+NK₁A 群で c-Fos 陽性細胞が有意に多く、CRD 群と CRD+NK₁A 群の比較では CRD+NK₁A 群で c-Fos 陽性細胞の数が有意に少なかった。

総括

本研究は neurokinin-1 受容体拮抗薬であるホスアプレピタントの投与により、結腸直腸拡張で引き起こされる血圧降下が抑制されることを明らかにした。反射性血圧降下における延髄の神経活動は、延髄への求心性入力領域である延髄最後野や孤束核では群間で有意差がみられなかったのに対し、抑制性の投射を担う尾側延髄腹外側野では有意な差がみられた。このことから neurokinin-1 受容体は延髄内の神経伝達経路でその役割を担っていると考えられた。本研究の結果は、臨床現場で治療選択肢の限られる神経調節

性失神に対し、**neurokinin-1** 受容体拮抗薬が新たな治療選択肢としての可能性を有することを示した。今回は排便失神の部分的再現方法として結腸直腸拡張を選択したが、今後は異なる自律神経反射モデル動物においても **neurokinin-1** 受容体拮抗薬の有用性について検討する必要がある。本研究成果は、獣医臨床分野のみならず人医療における神経調節性失神の治療確立に貢献すると考えられる。

Abstract

Introduction

Neurally mediated syncope refers to a condition in which the balance between sympathetic and parasympathetic tone is disrupted by various triggers, leading to hypotension and bradycardia. In veterinary medicine, syncope has been observed in dogs due to triggers such as defecation, urination, coughing, and swallowing. However, the underlying mechanism remains unclear. This study focuses on neurokinin-1 receptors, which are widely expressed in the central nervous system and play a role in various functions, including pain, emotion, and emesis. The study hypothesis is that an antagonist of the neurokinin-1 receptor may be used to inhibit autonomic-mediated reflexes. The study consists of three chapters: Chapter 1 reports a clinical case of neurally mediated syncope in a dog, Chapter 2 describes an experimental model of reflex-induced hypotension in rats, and evaluated neural activity in the medulla oblongata of the rats using the c-Fos method. The results suggest a potential role for neurokinin-1 receptor antagonists in treating autonomic reflexes.

Chapter 1: Case Report of neurally mediated syncope in a Dog

Background

Neurally mediated syncope is a frequently encountered condition in veterinary medicine as situational syncope related to defecation, urination, coughing, and swallowing. This report describes a case of a dog with typical neurally mediated syncope.

Case

The patient had repeatedly been fainting during coughing and was being diagnosed of mitral regurgitation. She was referred to Azabu University Veterinary Hospital to investigate the cause of her syncope.

Progress and Discussion

After performing echocardiography and chest radiography, a mitral valve myxomatous degenerative disease diagnosis was ACVIM Stage B1. The cardiac disease did not appear to be the primary cause of syncope, as no clear clinical signs are common in this disease severity. The history of syncope were associated with coughing, a neurally mediated syncope was considered likely, and a Holter electrocardiogram was performed. During Holter ECG, sinus arrest appeared just before the onset of syncope. Based on clinical signs and Holter ECG findings, a clinical diagnosis of neurally mediated syncope was made. The patient was followed up with medical therapy for a cough. Although treatment options are available for neurally mediated syncope as mentioned above, it is often difficult to cure completely, and symptomatic treatment is often necessary. Therefore, I decided to delineate a mechanism of reflex hypotension by focusing on the reflex circuit in the central nervous system and to find out a new drug candidate of the central mechanism.

Chapter 2: Involvement of the Neurokinin-1 Receptor and Circulatory Changes in Rats with Reflex Hypotension

Background

The primary therapeutic approach for cases of neurally mediated syncope, as described in Chapter 1, is to control the pathophysiological conditions that contribute to syncope

and then avoid life events that trigger syncope, sometimes with pharmacological treatment that increases the basal heart rate. However, no medical treatment have yet been developed focusing on the autonomic reflex pathway. Therefore, this research focused on the reflex pathways in the central nervous system during neurally mediated syncope and hypothesized that pharmacological blockade of the afferent vagal and medulla oblongata pathways would allow control of the condition.

Materials and Methods

Colorectal Distension

Male Wister rats were used for the experiments under urethane anesthesia. Rats were classified into a colorectal distension group (CRD group) and a fosaprepitant group (CRD+NK₁A group). After induction of anesthesia, a distension balloon with a diameter of 2 cm was inserted to a depth of 6 cm from the anus. In Group CRD, 10 ml/kg of saline solution was administered intraperitoneally before colorectal distension; in Group CRD+NK₁A, 30 mg/kg of fosaprepitant was administered as well. Colorectal distension was performed for 10 s to increase the balloon pressure to the target value, maintained at the target value for 40 s, and then lowered to 0 mmHg over 10 s. This procedure has performed three times at target distension pressures of 40, 60, and 80 mmHg, in that order, with an interval of 5 min between each stimulus.

c-Fos immunoreactive cells

The tissue sections 50 μm thick were prepared using a vibratome, and a quantitative comparison of c-Fos positive cells in the area postrema, the nucleus of the solitary tract, and the caudal ventrolateral medulla was performed using ABC and DAB methods. Rats in the non-stimulated group (Control group), in which no colorectal distension technique was performed, were also prepared as histologically negative controls.

Results and Discussion

A significant decrease in blood pressure was observed with colorectal distension compared to pre-stimulation at all balloon pressures. A slight increase in heart rate was observed only during 80 mmHg distension. Comparison between the CRD and CRD+NK₁A groups showed that at 80 mmHg distension, blood pressure was significantly lower in the CRD+NK₁A group than in the CRD group, suggesting that the afferent vagal stimulation induced a decrease in sympathetic nerve activity. The CRD+NK₁A group showed a significantly smaller change in blood pressure at 80 mmHg distension than the CRD group. There was no significant difference in heart rate between the two groups. These results suggest that the administration of a selective neurokinin-1 receptor antagonist may attenuate the hypotension induced by colorectal distension.

Chapter 2 demonstrated that neurokinin-1 receptor antagonists might attenuate the hypotension induced by colorectal distension. The c-Fos method was used to evaluate the neuronal activity in the medulla oblongata, the nucleus of the solitary tract, and the ventral lateral area of the caudal medulla oblongata, which are thought to be involved in autonomic reflex pathways, to investigate the association between neurokinin-1 receptors and vagal reflexes by evaluating neuronal activity in the medulla oblongata, the area postrema, the nucleus of the solitary tract, and the caudal ventrolateral medulla by the c-Fos method.

The number of c-Fos-positive cells in the area postrema did not differ significantly between groups. In the nucleus of the solitary tract, more c-Fos-positive cells were found in the CRD group than in the Control group, but there was no difference between the CRD and CRD+NK₁A groups. On the other hand, in the caudal ventrolateral medulla,

the number of c-Fos-positive cells was lower in the CRD+NK₁A group than in the CRD group.

Conclusion

The present study suggests that neurokinin-1 receptor antagonists may inhibit reflexes evoked by colorectal distension. Neuronal activity in the present study did not differ between groups in the area postrema and the nucleus of the solitary tract, which are afferent input areas to the medulla oblongata. In contrast, it did differ in the caudal ventrolateral medulla, which is responsible for the inhibitory projection. This suggests that neurokinin-1 receptors play a role in neurotransmitter pathways within the medulla oblongata. Based on the pharmacological properties of neurokinin-1 receptor antagonists, they may suppress blood pressure variability in autonomic reflexes induced by stimulation of receptors other than colorectal distension. It is necessary to investigate the usefulness of selective neurokinin-1 receptor antagonists in different types of stimuli of autonomic reflexes in the future. The results of this study will contribute to the establishment of the treatment of neurally mediated syncope in the veterinary medicine and human medicine.

目 次

緒言	1
第 1 章 犬の神経調節性失神の 1 症例	4
第 1 節 はじめに	4
第 2 節 症例	4
第 3 節 考察	6
第 5 節 図表	9
第 2 章 反射性血圧降下誘発ラットにおける循環動態の変化と延髄における neurokinin-1 受容体の関与	13
第 1 節 はじめに	13
第 2 節 材料と方法	14
動物	14
結腸直腸拡張手技	15
延髄組織の固定、切片化、染色	16
顕微鏡学的評価	17
統計解析	17
第 3 節 結果	18
結腸直腸拡張による循環動態の変化	18
c-Fos 陽性細胞数	19

第4節 考察	19
総括	28
謝辞	31
参考文献	33

緒言

神経調節性失神は人医療において、意識消失で救急搬送された患者の 39%が該当すると報告されており、失神の最も一般的な病態であると考えられる (山口 & 田中, 2015)。獣医臨床分野では犬で一般的にみられる疾患であり、一過性の意識消失を呈した症例のうち 47%が神経調節性失神であったと報告されている (Perego et al., 2020)。したがって、神経調節性失神は人医療・獣医療ともに一般的に遭遇しうる疾患であるといえる。神経調節性失神の病態は血管迷走神経性失神、状況失神、頸動脈洞症候群からなり、様々な誘因によって交感神経抑制と副交感神経緊張が惹起され血圧低下や徐脈を呈する疾患である (今泉 & 安部, 2006; 野原, 2009)。なかでも状況失神は特定の状況下で上記の反応が引き起こされる失神であり、ヒトや犬で排便・排尿・咳嗽・嚥下・息止め (バルサルバ法)・嘔吐などに関連した失神が報告されている (Brignole et al., 2018; Fukushima et al., 2018; Perego et al., 2020; Santilli et al., 2019)。なお、直腸を介した反射は人医療において、排便失神 (Bae et al., 2012)、経直腸的超音波ガイド下前立腺生検 (Kölükçü et al., 2019)、人工肛門灌流 (Sadahiro et al., 1995) に関連して発生がみられる。これらの神経調節性失神はいずれの誘因においてもその反射の経路は類似し、刺激受容器から求心性神経を介して孤束核へと入力した後、延髄腹外側野を經由して迷走神経と交感神経の遠心路に投射すると考えられる (Holstein et al., 2012; Reis et al., 1984)。

人医療における神経調節性失神の治療は、失神の誘因を避け、前駆症状出現時に回避行動をとるなど、生活指導を行うことを主軸としており、病態によっては昇圧剤や抗不

整脈などの薬物治療が選択される。さらに、重症例や治療抵抗性の患者には有効な治療法が少ないためペースメーカー設置が選択される場合がある。しかしながら本邦の人医療のガイドラインにおけるペースメーカー設置は、起立調節訓練法などを行っても十分な効果が得られなかった例に対して考慮すべきであるとされており、安易な侵襲的治療への警鐘となっている (井上博, 2012)。獣医療でも同様に生活指導や失神要因の排除が重要であり、時に徐脈性不整脈に対する薬物療法 (Kanno & Suzuki, 2017; 新家 et al., 2019) やペースメーカー設置 (Fukushima et al., 2018) が選択される。上記のように反射回路における求心性あるいは遠心性の自律神経路に対する治療は人医療・獣医療ともに行われるものの、反射経路の中枢に着目した薬物療法は現時点で確立されていない。そこで本研究では **neurokinin-1** 受容体に着目した。

Neurokinin-1 受容体は孤束核を含む中枢神経系に広く発現しており、種々の行動、内分泌および自律神経機能などに幅広く関与している (Maggi, 1995)。内因性リガンドである **substance-P** とともに侵害受容、情動 (不安や抑うつ) および嘔吐などへ影響することが示されており、自律神経調整にも関与すると考えられている (Mistrova et al., 2016)。**Neurokinin-1** 受容体は延髄、特に疑核、孤束核、延髄腹内側部に分布することが知られている (Wang et al., 2001)。これらの生理学的な背景を受け、延髄で分布が多く見られる **neurokinin-1** 受容体の拮抗薬を用いることによって、自律神経調節に関連する反射を抑制できれば、神経調節性失神の新しい治療選択肢となる可能性があると考えた。

本研究の第1章では犬の神経調節性失神における臨床例を報告し、その治療方針に関して考察を行った。第2章では過去の報告 (Li et al., 2006) をもとに結腸直腸拡張によって反射性血圧降下を誘発させたラットを作成し、選択的 **neurokinin-1** 受容体拮抗薬であるホスアプレピタントを投与した群と、生理食塩水を投与した群での循環動態の変化を観察した。続いて、**c-Fos** 法を用いて延髄最後野、孤束核および尾側延髄腹外側野における神経活動の評価を行った。これらの実験によって得られた結果から、神経調節性失神における **neurokinin-1** 受容体の関与とその拮抗薬の薬物治療への応用の可能性について考察し、神経調節性失神に対する新たな治療選択肢の提案を行うことを本研究の目的とした。

第1章 犬の神経調節性失神の1症例

第1節 はじめに

失神は主に心血管疾患、肺疾患、代謝性疾患、神経疾患で見られる徴候である (Nelson & Couto, 2020)。心血管疾患における失神は、脳の循環血液量低下によって引き起こされ、心拍出量低下、不整脈、末梢血管抵抗の変化、自律神経系の関与などの要因が絡んだ複合的な病態であると考えられる (野原, 2009)。なかでも、心原性失神には不整脈疾患や器質的心疾患が該当し、これらの疾患では予後が制限されるため鑑別が重要となる。そのため、実際に失神を疑う症例に遭遇した場合、その病態が器質的心疾患に起因するのか、神経調節性失神によって引き起こされているのかについて、臨床経過や検査所見から総合的に判断する必要がある。また、神経調節性失神の治療は誘因となっている病態の排除や、発生した不整脈に対する薬物療法が中心となるが、その治療選択肢は限られている。この度、各種検査を実施し神経調節性失神と臨床診断した僧帽弁閉鎖不全症の犬の症例を経験したため、その病態・治療に関する考察を行った。

第2節 症例

症例はミックス犬、体重 4.0 kg、11 歳 6 ヶ月齢、避妊雌。失神を主訴にかかりつけ動物病院を受診した。失神後の脱力は 10 秒程度続き、復帰後は直ちに失神前の意識状態に戻るとのことであった。非発作時の運動性および元気食欲は良好であった。かかりつけ動物病院の診察時に聴診で心雑音が聴取されており、心疾患と失神の関連性も含め

た精査のため麻布大学附属動物病院に紹介来院した。

来院時の身体検査では、体温 39.8°C、BCS 6/9、呼吸数 60 回/分、心拍数 180 回/分、聴診では左側心尖部を最強点とする **Grade 4/6** の収縮期雑音が聴取された。血圧測定はドプラ法を用いて測定し、収縮期血圧 128–142 mmHg であった。胸部レントゲン検査では椎骨心臓サイズ **9.7** 椎体、胸部気道の挙上や気管分岐部の虚脱などの所見は確認されなかった (**図 1**)。心臓超音波検査では **B** モード法で僧帽弁尖の肥厚および中隔尖の逸脱がみられ、左心房大動脈比は **1.24** であった。右心房・右心室内腔の拡大や心室中隔壁の変位などの明らかな肺高血圧を疑う所見は確認されなかった。カラードプラ法で僧帽弁逆流が確認された。**M** モード法では体重標準化左心室拡張末期径が **1.56**、左室内径短縮率は **67%** であった (**図 2**)。ドプラ法で左室拡張早期流入血流速は **1.09 m/s** であった。上記検査所見から米国内科学会のコンセンサスガイドライン (**Keene et al., 2019**) をもとに僧帽弁粘液腫様変性性疾患: **Stage B1** と臨床診断した。容量負荷所見は明らかではなく、失神を呈する病態ではないと判断し、無治療経過観察とした。標準肢誘導心電図検査では心拍数 **189 bpm**、P 波高 **0.3 mV**、R 波高 **2.7 mV**、PQ 間隔 **60 ms**、QRS 幅 **30 ms** であり、特筆すべき異常所見は検出されなかった (**図 3**)。

これらの検査結果から器質的心疾患に起因する失神の可能性が否定的であり、失神には不整脈疾患あるいは神経調節性失神が関与していると考えた。ホルター心電図検査を提案・実施し、**3** 日間の連続記録を行った。観察期間終了後にホルター心電図の回収・解析を行い、平均心拍数 **128** 回/分、最小心拍数 **36** 回/分、最大心拍数 **241** 回/分であっ

た。観測期間中、平常時は正常洞調律であったが、咳嗽が続いた時間帯では洞停止が散見され、心室活動の停止時間は最大で 4.3 秒であった (図 4)。以上の結果から神経調節性失神 (咳嗽失神) と臨床診断した。本症例では主に咳嗽が反射の誘因となっていると思われたため、鎮咳薬の使用を開始した。加えて、興奮・運動時にも洞停止を呈している可能性があるため、過度な興奮や運動は避けるよう生活指導を行った。

第 3 節 考察

ヒトおよび犬の臨床報告において、神経調節性失神単独での予後は比較的良好とされている (Perego et al., 2020; Soteriades et al., 2002)。その一方で、重症心不全に続発する失神は予後不良因子とみなされる (Borgarelli et al., 2008)。そのため、失神の徴候がある場合には器質的心疾患の有無を評価することが重要である。今回の症例では僧帽弁閉鎖不全症が存在したものの経過は良好であったため、重症心不全に続発する失神は否定的であった。失神発生の経過とホルター心電図所見から神経調節性失神と臨床診断した。

神経調節性失神の発生機序に関しては諸説あるが、左室機械受容器感受性亢進、圧受容器反射亢進、循環血液量の減少、神経体液性因子の亢進、脳循環の調節異常、精神・心理的要因などが増悪因子として考えられている (野原, 2009)。人医療の失神ガイドラインの治療指針 (井上博, 2012) では生活指導、増悪因子の是正、薬物治療、非薬物治療などを組み合わせて治療を行うことが提唱されている。本症例では咳嗽による気管受容器を介した求心性迷走神経刺激、胸腔内圧上昇による静脈環流の減少に続く心拍出量

の低下、脳脊髄圧上昇による脳血流低下などの病態が失神を引き起こしたと思われる。

そのため、本症例では失神の誘因となっている咳に対して鎮咳薬を使用して治療を行うことで、失神の症状も緩和すると判断した。

上記のような失神の誘因に対する治療が奏功しない場合には、徐脈に対する薬物療法も治療の選択肢となりうる。シロスタゾールは抗血小板薬として承認されているホスホジエステラーゼⅢ阻害薬であり、心筋細胞内のカルシウム濃度を上げることによって心拍数を上昇させる効果があるため、徐脈性不整脈の治療として用いられる (Kanno & Suzuki, 2017)。他にも抗コリン作用をもつクレマスチンフマル酸塩が有効であるとの報告がある (新家 et al., 2019)。また、興奮や頻拍が失神のトリガーになっていることが強く疑われる場合には β 遮断薬で失神の抑制を試みるケースも考えられるが、徐脈の悪化や心停止時間の延長などの危険性を孕むことになるため慎重な投与が必要である。非薬物治療では QOL の改善を目的としたペースメーカ設置が選択肢になりうる (Fukushima et al., 2018)。本症例のようなケースでも内科治療への反応が乏しい場合にはペースメーカ設置が適応になると考えられる。他にも、実験犬において心臓迷走神経のアブレーションにより遠心性迷走神経を焼灼することで反射を抑制した報告も存在する (Xia et al., 2011)。神経調節性失神には上記のような治療選択がとられるものの、根治は困難であるため、しばしば対症療法的な方針をとることになる。求心性の迷走神経刺激に対しては誘因の排除を主軸とし、遠心性経路すなわち徐脈や血圧降下に対してはそれぞれの事象に対する薬物療法を行うことになるが、反射回路である中枢神経に着

目した治療は確立されていない。そこで本研究では過去の神経調節性失神の臨床報告 (Perego et al., 2020) および本症例における経験・考察を通して、神経調節性失神発現時の中樞神経における伝達経路に着目した。求心性迷走神経と延髄を介した伝達経路を薬理的にブロックすることで病態のコントロールが可能なのではないかと着想し、後述する反射性血圧降下を誘発したラットを用いた実験を計画した。

第5節 図表

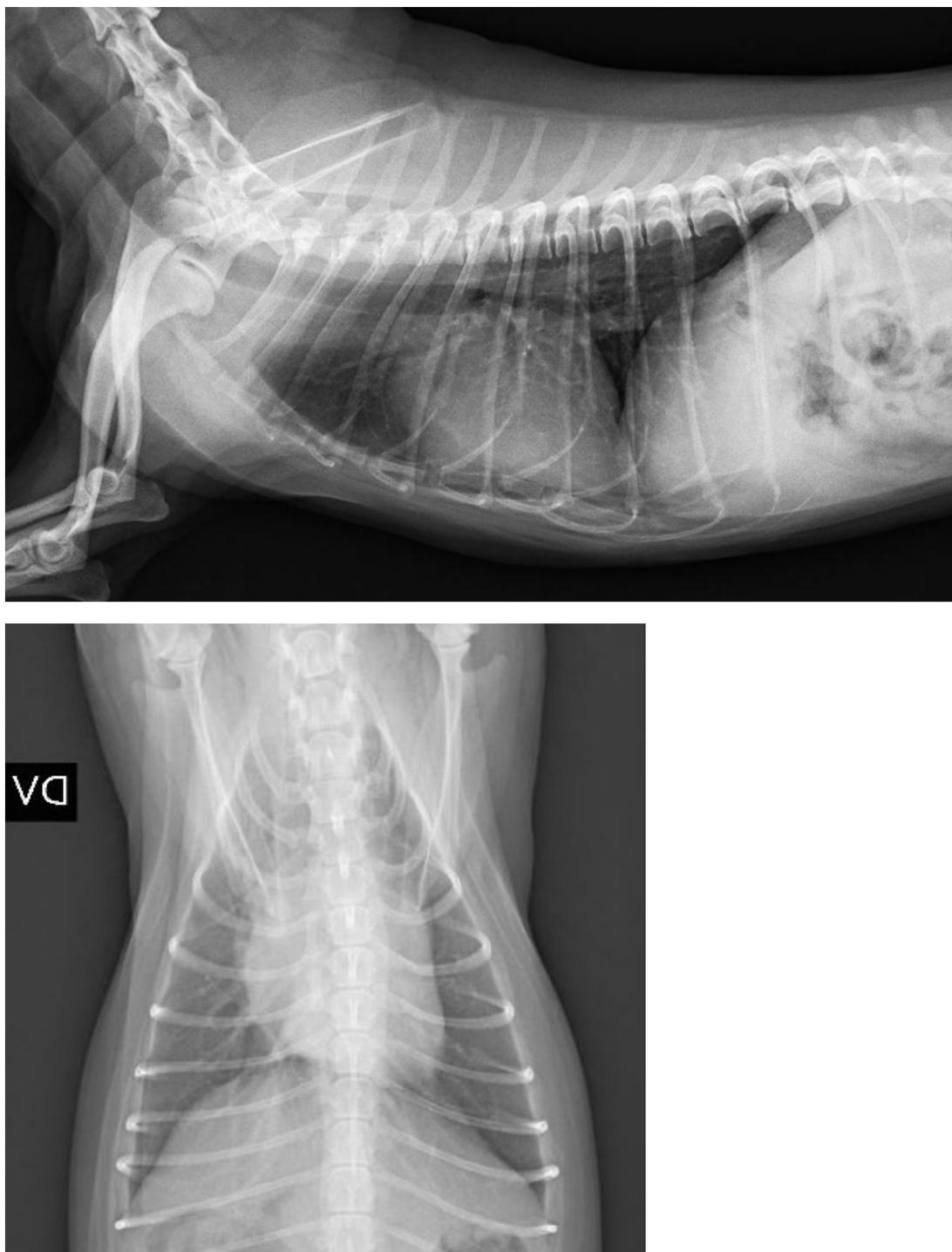


図1: 胸部レントゲン検査 (上図: 右下側面像、下図: 背腹像)

椎骨心臓サイズ 9.7 椎体、気管や気管支、肺野に特筆すべき異常はみられなかった。

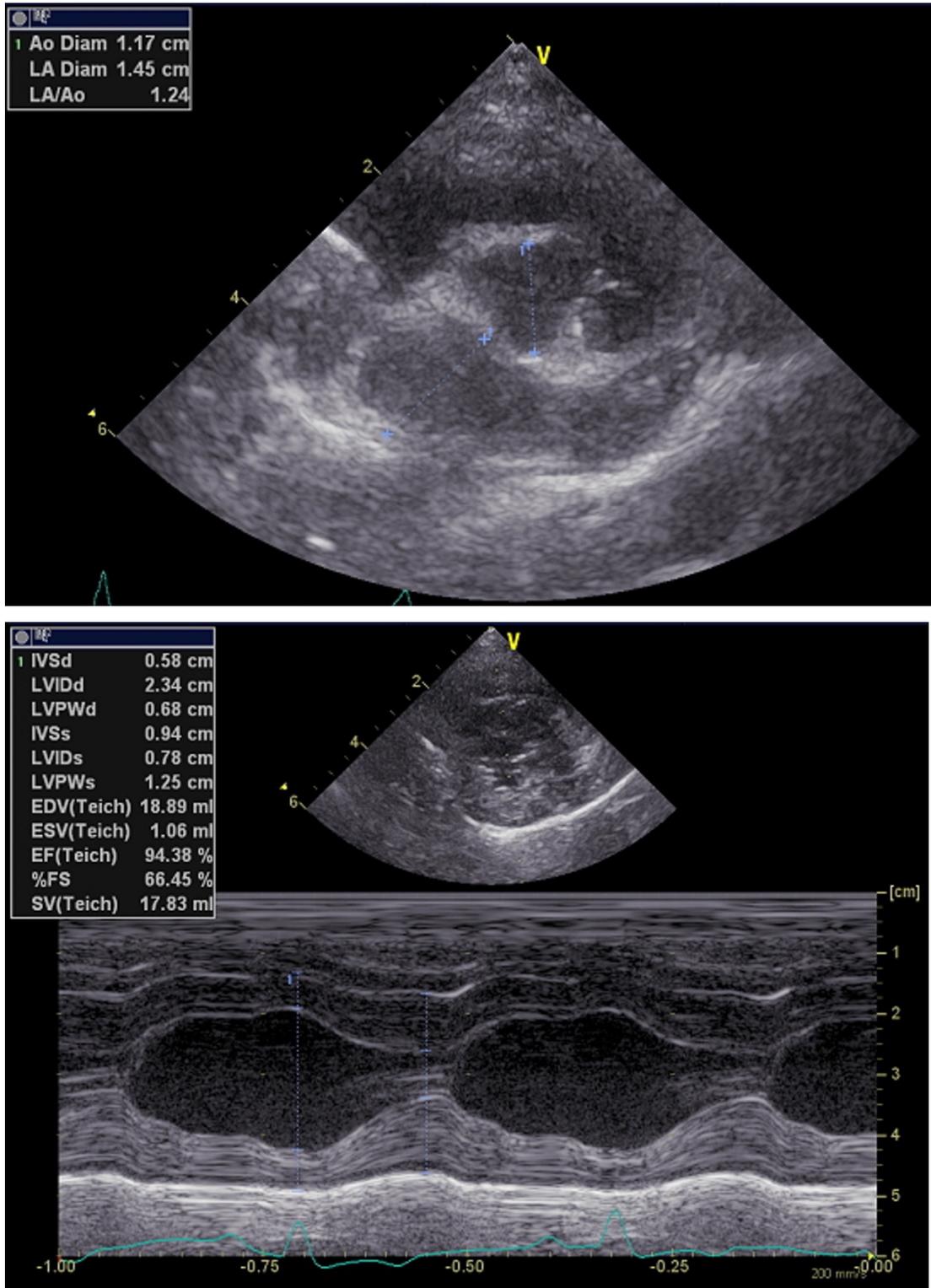


図 2: 右側傍胸骨における、心基底部短軸断面像の B モード法 (上図) および乳頭筋腱索レベルの M モード法 (下図)。左心房・左心室内腔の拡大所見はない。

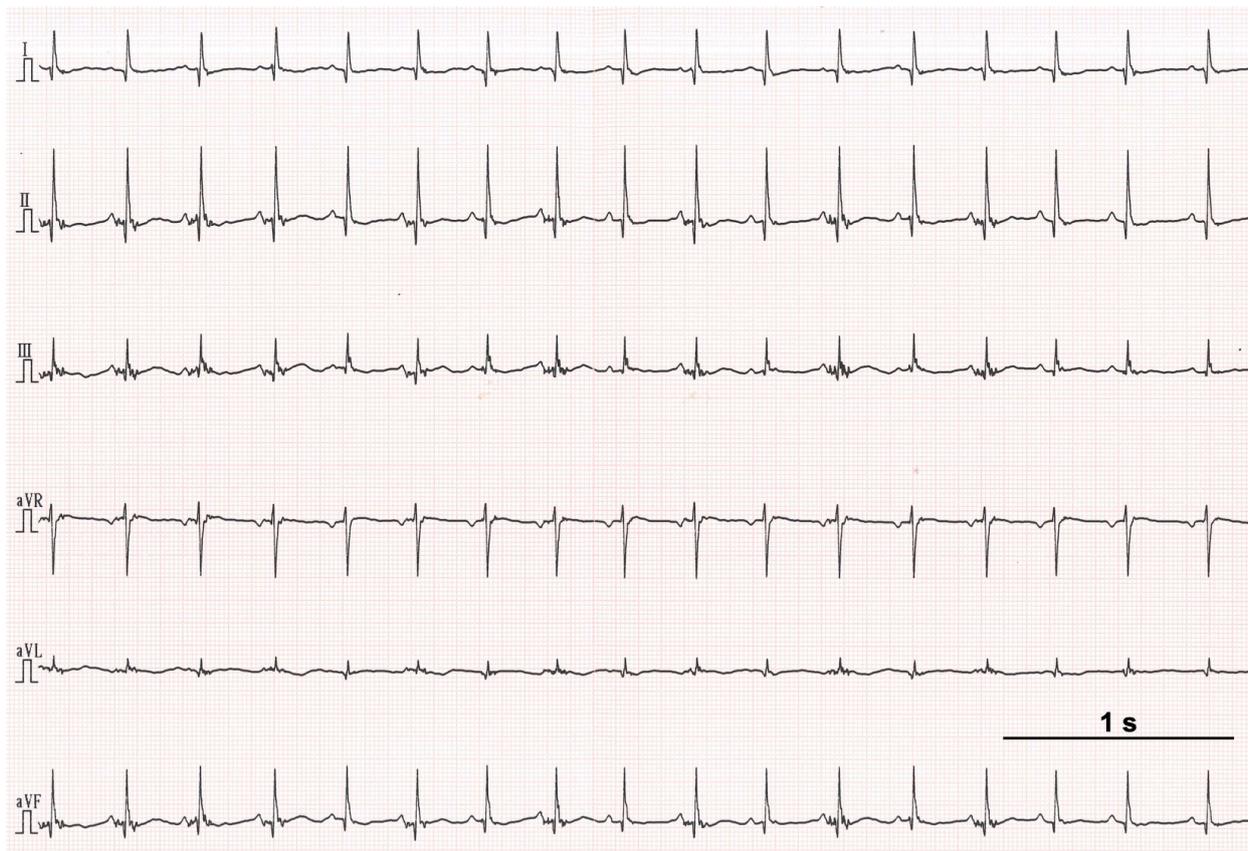


図 3: 院内標準肢誘導心電図所見

心拍数 189 bpm、P 波高 0.3 mV、R 波高 2.7 mV、PQ 間隔 60 ms、QRS 幅 30 ms。

正常洞調律であり、特筆すべき異常所見はなかった。

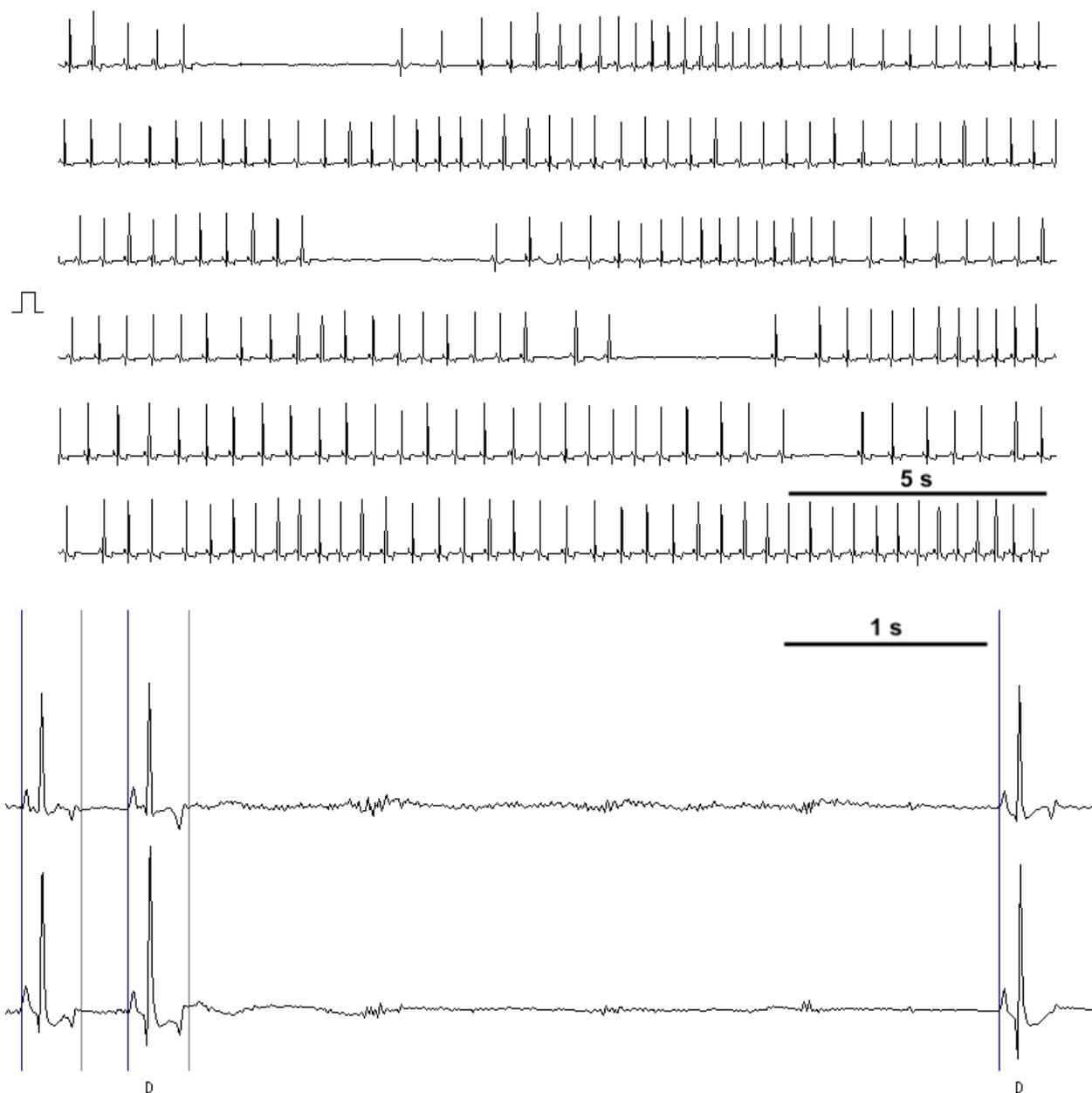


図4：洞停止時のホルター心電図；咳嗽時の圧縮波形（上図）および最大休止期（下図）。

咳嗽が続いた時間帯でP波およびQRS群の消失（洞停止）が散見された（上図）。観測期間中、最大で4.3秒間の洞停止がみられた（下図）。

第2章 反射性血圧降下誘発ラットにおける循環動態の変化と延髄における neurokinin-1 受容体の関与

第1節 はじめに

神経調節性失神の治療は、自律神経反射回路における求心路および遠心路をターゲットとした治療は存在するものの、中枢の反射経路に対する薬物療法は確立されていない。そこで本研究では中枢神経の刺激伝達に関与する薬剤が自律神経反射に影響を及ぼし、失神の病態コントロールが可能となるのではないかと着想し、実験を計画した。

自律神経反射における中枢神経経路の探索は、過去の研究で延髄腹外側野のニューロンにおける様々な神経伝達物質の関与が挙げられている (Polson et al., 1992; Reis et al., 1984)。近年、neurokinin 受容体ファミリーが中枢神経系に分布し、内因性リガンドである substance-P とともに侵害受容、情動 (不安や抑うつ) および嘔吐などへ影響することが明らかとなりつつある。加えて、これらの受容体は心血管調節機構にも関与しているといわれている (Mistrova et al., 2016)。この neurokinin 受容体ファミリーの3つのペプチド (substance-P、neurokinin-A、neurokinin-B) は、哺乳類において中枢神経の神経伝達物質としての役割が証明されている (Maggi, 1995)。なかでも substance-P は、ラット脳内に最も多く存在する神経ペプチドであり (Arai & Emson, 1986)、中枢循環系の調節や行動の制御に大きく寄与している (Itoi et al., 1992)。このことから、substance-P に高い親和性を持つ neurokinin-1 受容体が延髄において神経調節性失神の反射調節に関与していると仮定し、neurokinin-1 受容体の拮抗薬を用いるこ

とによって自律神経を介した反射を抑制できる可能性があると考えた。

結腸直腸拡張バルーンを用いたラットの先行研究では、腸管機械受容器への拡張刺激によって反射性血圧降下が誘発されたことが報告された (Li et al., 2006)。この手技は内臓痛モデルとしても使用され、覚醒ラットでは侵害性内臓刺激によって腰仙髄に **c-Fos** 発現を誘導するが (Traub et al., 1992)、この反応は麻酔や鎮痛によって抑制される (Ness & Gebhart, 1988; Traub et al., 1995) ことが知られる。本研究では麻酔下での結腸直腸拡張刺激により反射性血圧降下を誘発した実験モデルを用い、**neurokinin-1** 受容体拮抗薬によって血圧降下反応が抑制されると仮説を立てて検証した。さらに、**c-Fos** 法を用いて延髄の神経活性を評価し、反射性血圧降下における **neurokinin-1** 受容体の関与とその薬効領域に関する調査・考察を行った。本研究により、神経調節性失神のメカニズム解明と新たな治療法の提案が期待できると考えた。

第2節 材料と方法

動物

実験動物の取り扱いには麻布大学実験動物ガイドラインに基づいて実施された (麻布大学実験動物倫理委員会承認番号:191205-8)。体重 250–350 g の Wistar ラット (SLC、静岡、日本) 18 匹を用いた。ラットは 3 匹ごとに $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $60 \pm 10\%$ の湿度の部屋のケージ (225 mm × 338 mm × 140 mm) に収容し、12 時間の明暗スケジュールで水とペレット (CREA Rodent Diet CE-2[®]; CREA Japan Inc、東京、日本) を自由摂取させた。すべての個体で、少なくとも 1 週間の馴化期間の後に実験が開始された。18 匹のラット

を結腸直腸拡張による介入群 (CRD 群) と neurokinin-1 受容体拮抗薬投与群 (CRD+NK₁A 群) に 6 匹ずつ、組織学的な陰性コントロールのための非介入群 (Control 群) に 6 匹を分類した。Control 群は CRD 群、CRD+NK₁A 群と同様に麻酔の導入・維持・管理を実施し、結腸直腸拡張の手技は実施せずに、続く脳摘出の手技へと進んだ。

結腸直腸拡張手技

結腸直腸拡張の手技は、先行研究 (Li et al., 2006) に基づく手法に修正を加えて行った。ラットは 1.2 g/kg のウレタンを腹腔内投与することにより実験に必要な麻酔深度を得た。本研究の予備実験では他の麻酔薬で血行動態の安定化が困難であったため、麻酔下で血圧・心拍数が安定するウレタン麻酔が必要であると考えた。ウレタンの調製、使用、保管はガイドライン (Guidelines for Urethane, UC San Diego, 2016) に従って厳重に管理した。麻酔導入後、大腿動脈にカテーテルを留置し、動脈圧と心拍数を記録した。気管にカニューレションを施し、保温マットとブランケットを用いて体温を維持した。実験中、動物の体位は仰臥位で保たれた。結腸直腸拡張は、ラテックスグローブで作成した 2.0 cm のバルーンを肛門から挿入し、バルーンの先端を 6.0 cm の深さに設置した後に、空気でバルーンを拡張させることで実施した。加圧は室温の空気を満たした注射器を用い、T 字型コックで接続した圧力変換器を用いてバルーンの圧力をコントロールした。結腸直腸拡張は 10 秒間かけて目標圧へ到達させ、40 秒間目標圧を維持した後、10 秒かけて圧力を解放した。目標拡張圧 40、60、80 mmHg の順に拡張を行い、拡張間のインターバルは最低 5 分間を確保した。血圧およびバルーン拡張圧の測定は圧

力変換器 (DX-300、日本光電工業、東京)を用い、アナログ・デジタル変換器 (PowerLab 4/26、ADInstruments、Dunedin、New Zealand) を用いてデジタル信号に変換して記録・解析した。結腸直腸拡張中に記録された平均動脈圧の最大変化を拡張前の計測値と比較した。

延髄組織の固定、切片化、染色

結腸直腸拡張の実験が終了したラットは、90 分間の麻酔維持を行った後、10 mM リン酸緩衝生理食塩水 (100 ml) で経心臓灌流し、その後、4%パラホルムアルデヒド固定液 (500 ml) を用いて灌流固定を行った。灌流固定後、脳を摘出して 4°C で 2 日間の後固定を行った後、組織学的処理を行うまでリン酸緩衝生理食塩水で冷蔵保存 (4°C) した。組織ブロックはビブラトーム (Microslicer DTK-1000、Dosaka、京都、日本) を用い、延髄全体を 50 μ m 厚の連続切片にした。続いて 3%過酸化水素を含む 10 mM リン酸緩衝生理食塩水で 20 分間浸漬して内因性ペルオキシダーゼを不活性化し、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄 (3 分×5 回) 後、切片をブロッキング液 (1%正常ヤギ血清含有リン酸緩衝生理食塩水) に 1 時間浸漬した。アビジン-ビオチン複合体法は過去の研究の手法 (Kakiuchi et al., 2014; Pete et al., 2002) に修正を加えて実施した。まず、一次抗体 (polyclonal rabbit anti-c-Fos; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, United States) をブロッキング液で 1:10,000 に希釈し、切片を室温で 24 時間浸漬した。次に一次抗体をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄し (3 分×5 回)、1:200 に希釈した二次抗体 (biotinylated IgG、Vector Laboratories、Burlingame、CA、United States) で 90 分間インキュベート

した。二次抗体をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄後 (3分×5回)、Vectastain ABC キット (Vector Laboratories、Burlingame、CA、United States) を用いてアビジン-ビオチン免疫ペルオキシダーゼ反応を得た。続いて、DAB 染色法で 10 分間のペルオキシターゼ反応を行うことによって免疫反応を可視化した。免疫反応の可視化は、過去の研究を参考に塩化ニッケルをペルオキシダーゼ反応に加えることによって得た (Haxhiu, 1996)。染色した切片はポリ-L-リジンコート処理されたスライドにマウントし、顕微鏡で組織を観察した。

顕微鏡学的評価

延髄最後野と孤束核の領域は、brain map (Paxinos & Watson, 1998) に基づいて定義した (Horn, 2007)。尾側延髄腹外側野は外側網様体核と疑核に囲まれた領域と定義した (Stornetta et al., 2009; Wang et al., 2001)。c-Fos 免疫反応細胞の観察および画像記録はデジタルカメラ (EOS Kiss、Canon、東京、日本) を用い、各領域の大きさと構造に応じた倍率でデジタル化した。デジタル化した画像は ImageJ (National Institutes of Health、Bethesda、MD) を用いて延髄最後野、孤束核、尾側延髄腹外側野における c-Fos 陽性細胞数をカウントした。

統計解析

データの統計解析は R (R version 4.0.4; R Foundation for Statistical Computing、Vienna、Austria) を用いた。Shapiro-Wilk 検定で正規性を評価した後、数値は正規分布では平均値±標準偏差、非正規分布では中央値[四分位範囲]で表した。結腸直腸拡張前後

の血圧の変化の比較には、正規分布の場合は **paired t-test** を、非正規分布では **Wilcoxon signed-rank test** を用いた。群間の血圧および心拍数の比較には、正規分布の場合は **Welch's t-test** を、非正規分布では **Mann-Whitney U test** を使用した。c-Fos 陽性細胞数の群間比較には正規分布の場合は **Tukey-Kramer test** を、非正規分布では **Steel-Dwass test** を使用した。 $P < 0.05$ を統計的に有意と判定した。

第3節 結果

結腸直腸拡張による循環動態の変化

結腸直腸拡張による典型的な循環動態の変化を図5に示す。血圧は結腸直腸拡張の開始後から速やかに低下し、圧力を解放すると徐々に回復する様子が確認された。結腸直腸拡張開始前の血圧は CRD 群と CRD+NK_{1A} 群でそれぞれ 89 ± 11 、 84 ± 11 mmHg ($P = 0.47$)、心拍数はそれぞれ 431 ± 40 、 419 ± 30 bpm ($P = 0.57$) であり有意差はみられなかった。

結腸直腸拡張前後の血圧の変動幅は拡張圧 40、60、80 mmHg でそれぞれ -3.9 ± 1.9 、 -5.2 ± 2.0 、 -8.0 ± 2.0 mmHg であり、いずれの拡張圧でも結腸直腸拡張前の値から有意な血圧降下がみられた (いずれも $P < 0.01$)。心拍数の変動は 40、60 mmHg の拡張圧では有意差はみられなかったが 80 mmHg の拡張圧で有意な上昇がみられた (それぞれ 0.3 ± 1.0 、 0.4 ± 1.0 、 1.2 ± 1.1 bpm; $P = 0.57$ 、 0.42 、 0.04)。

いずれの群においても結腸直腸拡張による血圧降下は結腸直腸拡張の拡張圧に依存してより低下する傾向がみられ、拡張圧 80 mmHg においてその変化幅は顕著となり、

CRD 群と CRD+NK₁A 群の間に有意差がみられた (図 6A)。一方、心拍数はいずれの拡張圧においても群間での有意差はみられなかった (図 6B)。

c-Fos 陽性細胞数

延髄最後野および孤束核における代表的な組織像を図 7 に、尾側延髄腹外側野における組織像を図 8 に示す。延髄最後野の c-Fos 陽性細胞数は Control 群、CRD 群と CRD+NK₁A 群でそれぞれ 882 ± 43 、 974 ± 154 、 990 ± 198 /rat であり、群間で有意差はみられなかった (図 9A)。孤束核ではそれぞれ 907 ± 235 、 1628 ± 530 、 1504 ± 526 /rat であり、Control 群と CRD 群で有意な差がみられたが、Control 群と CRD+NK₁A 群および CRD 群と CRD+NK₁A 群の間では有意差はみられなかった (図 9B)。尾側延髄腹外側野では Control 群、CRD 群と CRD+NK₁A 群でそれぞれ 450 ± 140 、 1157 ± 296 、 784 ± 194 /rat と、それぞれの群間で有意な差がみられた (図 9C)。

第 4 節 考察

本章では neurokinin-1 受容体拮抗薬であるホスアプレピタントの投与により、結腸直腸拡張で引き起こされる血圧降下が抑制されることを明らかにした。

先行研究では substance-P 共役毒素を用いて孤束核の neurokinin-1 受容体を選択的に阻害することで、体性感覚入力によって誘発された動脈圧受容器-心拍反射が抑制されたとしている (Potts et al., 2007)。また別の研究 (Culman et al., 1997) では、中枢に投与された neurokinin-1 受容体拮抗薬が不快刺激に随伴する心血管系反応を抑制することが実証された。本研究の結果は、選択的 neurokinin-1 拮抗薬であるホスアプレピタン

トの全身投与が結腸直腸拡張によって誘発された自律神経反射を抑制する可能性を示し、**c-Fos** 法を用いた延髄の神経活動評価では、尾側延髄腹外側野における **c-Fos** 活性がホスアプレピタント投与によって抑制されることが示唆された。

c-Fos 蛋白は、神経細胞活性のマーカーとして使用され (**Greenberg et al., 1986**)、実験動物における脳の活動領域を調べるのに有用な方法の一つである。ラットの結腸直腸拡張に関する過去の研究では、腸管機械受容器への刺激によって血圧降下と腎交感神経活性の低下がみられることが報告されており (**Li et al., 2006**)、同等のラットモデルを用いた本研究では、結腸直腸拡張によって孤束核と尾側延髄腹外側野で **c-Fos** 陽性細胞の増加が確認されたことから、この現象は延髄の自律神経回路を経由した反射であることが示唆された。

前庭刺激によって迷走神経反射を誘発したラットの研究では、延髄の自律神経経路に関連する領域に **c-Fos** 蛋白が蓄積したことが報告されている (**Holstein et al., 2012**)。本研究では結腸直腸拡張によって孤束核と尾側延髄腹外側野で **c-Fos** 陽性細胞の増加が見られており、同様の結果が得られたと考えられる。孤束核は刺激受容器から求心性神経を介して延髄へと入力する最初の領域であり、さらにそこから尾側延髄腹外側野を経由して交感神経核である吻側延髄腹外側野に抑制性の投射をされると考えられている (**Holstein et al., 2012; Reis et al., 1984**)。そのため、求心性刺激によって惹起された孤束核および尾側延髄腹外側野の神経活動の高まりは、交感神経抑制、すなわち末梢血管拡張を引き起こし、血圧低下に至ったと考えられる。

内臓迷走神経と中枢神経との関係にはいくつかの報告が存在し、例えば大腸迷走神経は延髄最後野に終始するとされる (Zhao et al., 2022)。しかしながら、本研究では結腸直腸拡張によって延髄最後野における **c-Fos** 陽性細胞の増加はみられなかったことから、本研究の手法においては延髄最後野の関与は低いと思われた。この結果は延髄最後野における **neurokinin-1** 受容体の分布が、延髄の他の部位に比べて少ないことに関連している可能性がある (Nakaya et al., 1994)。

本章の実験ではホスアプレピタントの投与の有無で、延髄最後野と孤束核の **c-Fos** 陽性細胞数に差はなかった。一方、尾側延髄腹外側野ではホスアプレピタントの投与によって **c-Fos** 陽性細胞数の減少がみられた。これらの現象は、**neurokinin-1** 受容体が延髄内の経路において、孤束核から尾側延髄腹外側野への投射過程に関与している可能性を示すものであると考えられた (図 10)。

第5節 図表

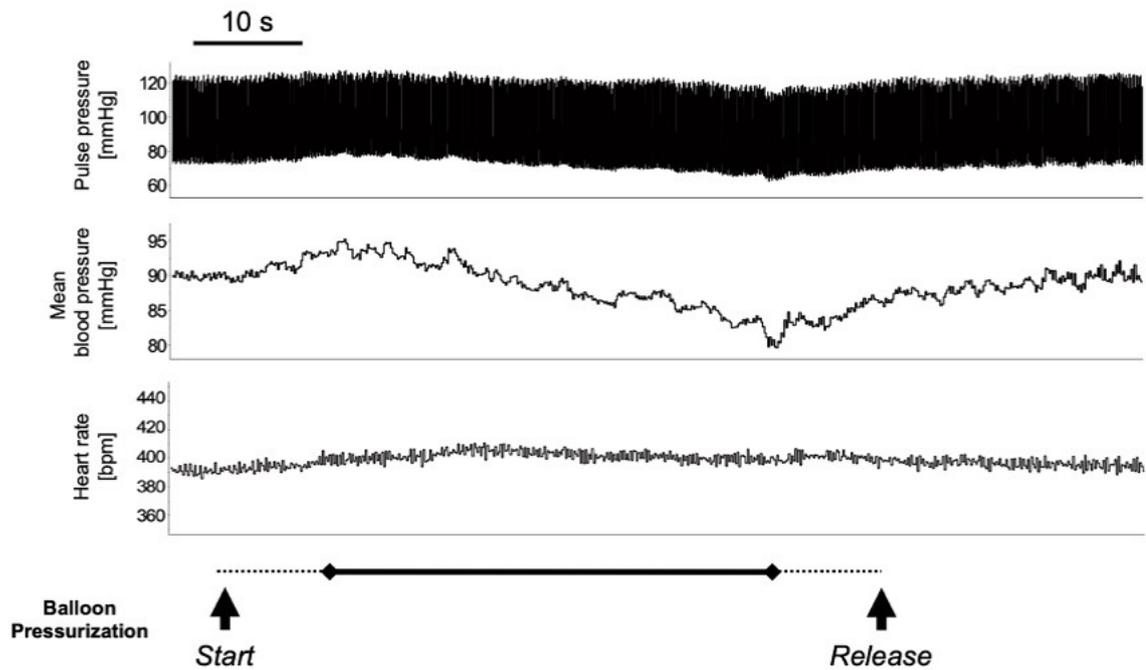


図5: 結腸直腸拡張を行った際の循環動態の典型的な反応 (バルーン圧: 80 mmHg)。拡張の手順は、目標圧へ10秒かけて徐々に上昇させ (破線)、40秒かけて維持し (実線)、その後10秒かけて開放する (破線) ことで合計60秒間の結腸直腸拡張を行った。動脈圧は拡張直後に軽度の上昇を示した後に顕著な低下がみられ、圧を解放すると徐々に拡張前の値に戻る様子が確認された。

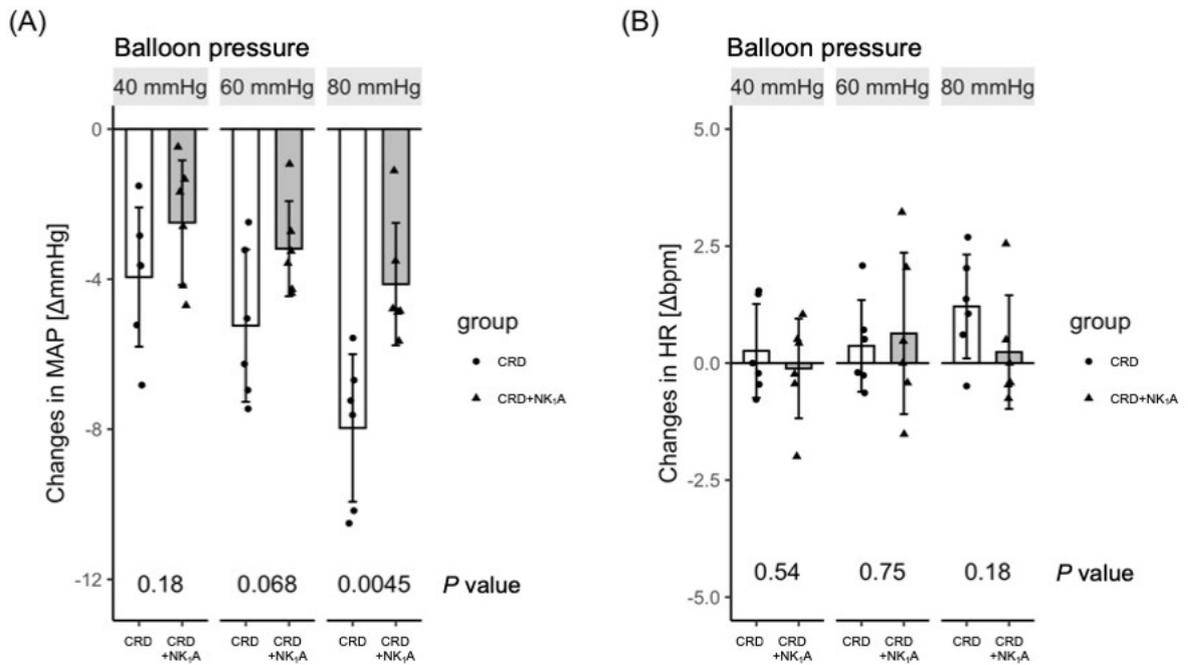


図 6: 結腸直腸拡張術前後の平均動脈圧 (MAP) および心拍数 (HR) の変化

平均動脈圧の変化を (A)、心拍数の変化を (B) に示す。結腸直腸拡張はバルーン圧 40、60、80 mmHg で拡張した。拡張処置の 40 分前に、CRD 群 (n=6) には生理食塩水を、CRD+NK₁A 群 (n=6) にはホスアプレピタント (30 mg/kg) を腹腔内投与した。データは拡張前後の変化幅の平均値を棒グラフで表し、標準偏差をエラーバーで表した。

$P < 0.05$ を統計的に有意と判定した。P 値: Welch's t-test

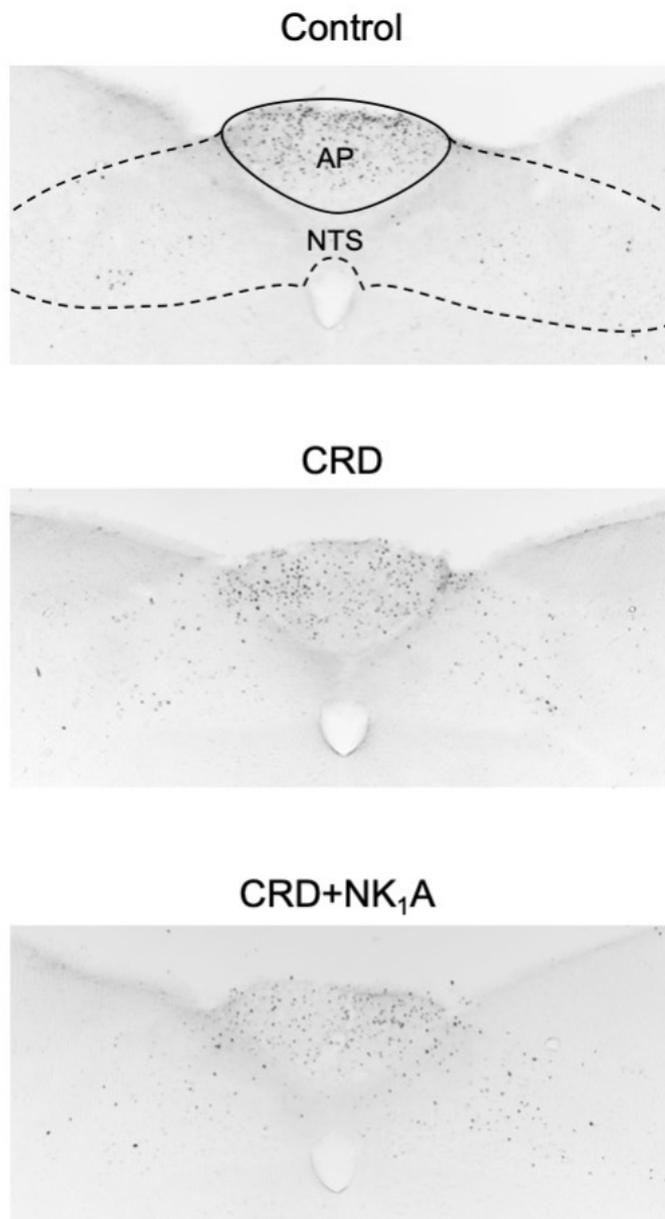


図 7: 延髄最後野および孤束核における代表的な組織像 (Control 群 vs. CRD 群 vs. CRD+NK₁A 群)

AP: 延髄最後野 (the area postrema)、NTS: 孤束核 (the nucleus of the solitary tract)

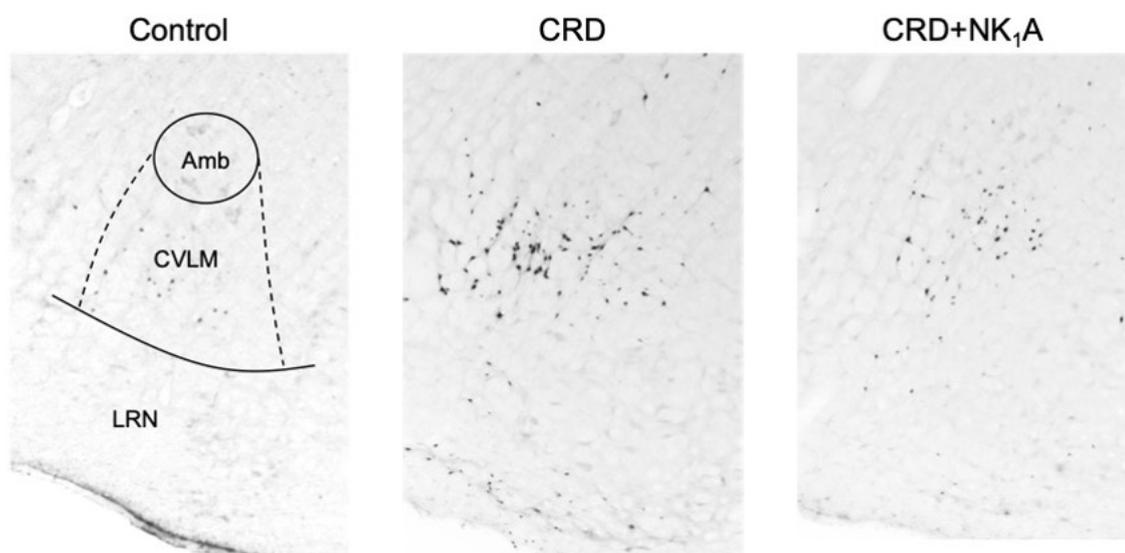


図 8: 尾側延髄腹外側野における代表的な組織像 (Control 群 vs. CRD 群 vs. CRD+NK₁A 群)

CVLM: 尾側延髄腹外側野 (the caudal ventrolateral medullary region)、Amb: 疑核 (the nucleus ambiguus)、LRN: 外側網様体核 (the lateral reticular nucleus)

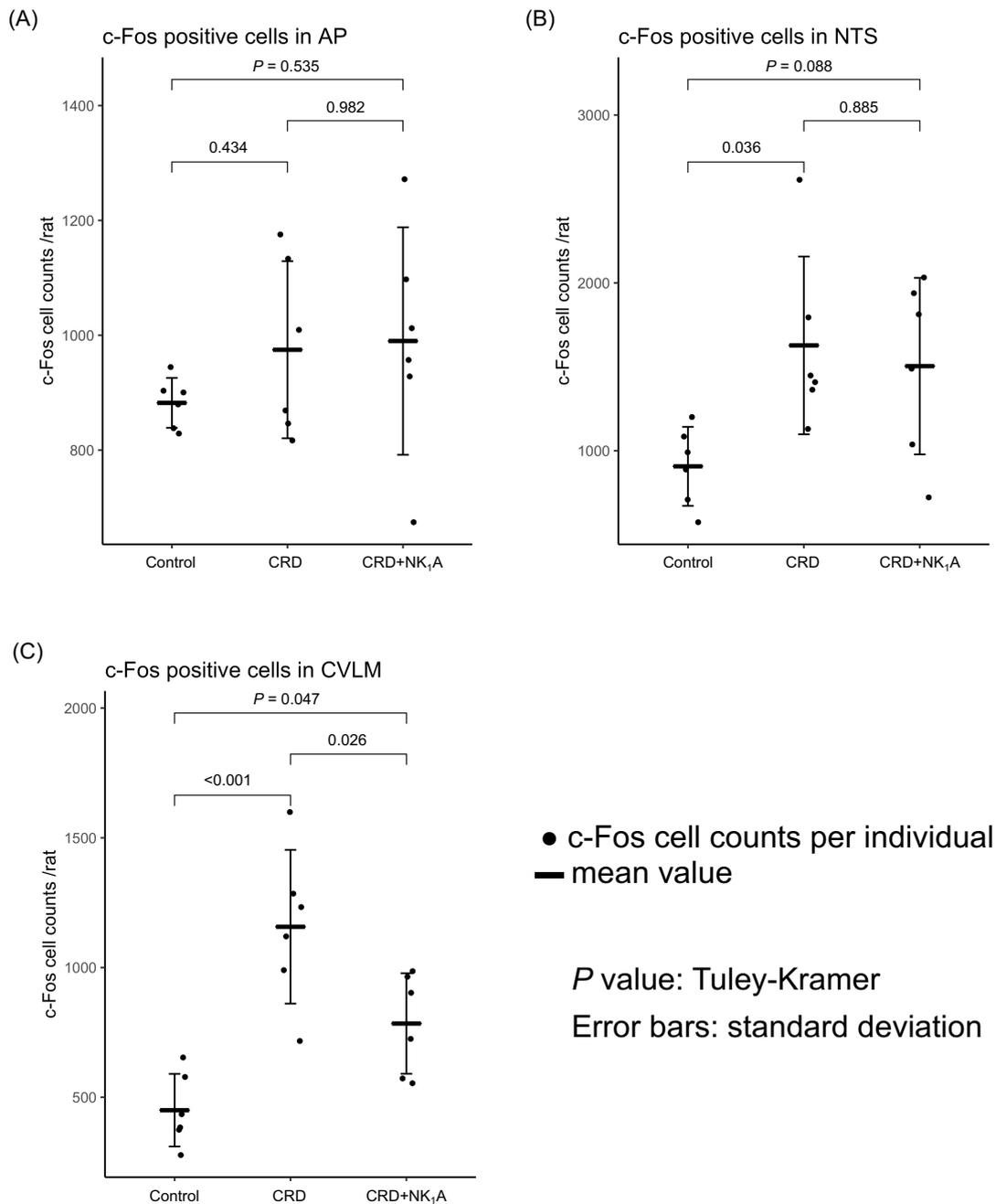


図 9: 延髄最後野 (A)、孤束核 (B)、尾側延髄腹外側野 (C) における c-Fos 陽性細胞数 CRD 群 (n=6)、CRD+NK₁A 群 (n=6)、Control 群 (n=6) で比較。データは平均値を太線で表し、標準偏差をエラーバーで表した。P<0.05 を有意と判定した (P 値: Tukey-Kramer test)。AP: 延髄最後野 (the area postrema)、NTS: 孤束核 (the nucleus of the solitary tract)、CVLM: 尾側延髄腹外側野 (the caudal ventrolateral medullary region)

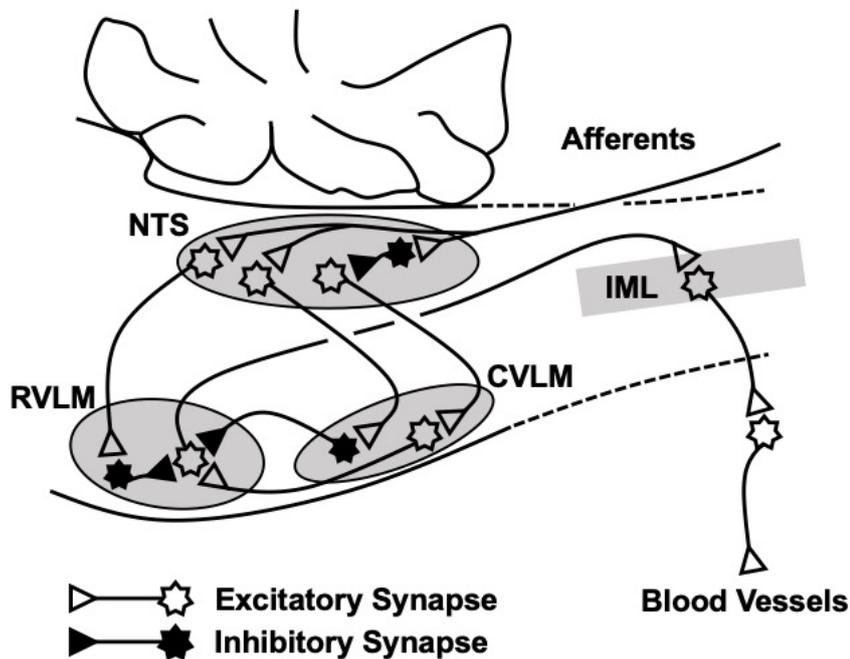


図 10: 自律神経調整を担うと推定される延髄内経路を示す模式図; 過去の報告 (Dampney et al., 2003) から引用改変

直腸刺激によって引き起こされた求心性刺激は孤束核へと入力し、続く CVLM の神経活動の活性化によって、抑制性ニューロンを介して血圧降下を示すと考えられる。選択的 neurokinin-1 受容体拮抗薬を用いることで、NTS から CVLM へ投射する過程が抑制されたと考察した。NTS: 孤束核 (the nucleus of the solitary tract)、CVLM: 尾側延髄腹外側野 (the caudal ventrolateral medullary region)、RVLM: 吻側延髄腹外側野 (the rostral ventrolateral medullary region)、IML: 脊髓中間外側核 (the nucleus intermediolateralis)

総括

本研究では神経調節性失神発生時の反射経路における延髄での神経活動に注目し、結腸直腸拡張によって孤束核と尾側延髄腹外側野における神経活動の活性化が起きること、尾側延髄腹外側野における神経活動がホスアプレピタントの投与によって抑制されることを明らかにした。

結腸直腸拡張による腸管刺激は、無麻酔ラットの実験では内臓疼痛を惹起し、頻脈などの心血管反応を引き起こす (Ness & Gebhart, 1988)。しかし、本研究では心拍数の大きな変化は検出されなかった。これは、麻酔が内臓運動反応を打ち消したためであると考えられる (Ness & Gebhart, 1988; Traub et al., 1995)。本研究では一部のラットで平均血圧が刺激開始時にわずかに上昇し、その後低下した。この二相性の反応は、脊髄を介した交感神経反射 (Traub et al., 1992) と、それに続く脳幹を介した副交感神経反射 (Mönnikes et al., 2003) によるものであると考えられた。加えて、結腸直腸拡張に対する心血管系の反応は麻酔薬の種類や深さに依存し、その反応の程度はしばしば変動することが知られているため (Ness & Gebhart, 1988)、個体ごとにその反応に差が出た可能性がある。本研究のように結腸直腸拡張によって血圧降下を得られた一方、心拍数の変化が乏しいという特徴は、先行研究のウレタンを用いた循環動態の変化と類似していた (Ness & Gebhart, 1988)。自律神経反射における心拍数の変化を観察する場合には、異なる実験系が必要であると思われた。

Neurokinin-1 受容体の非中枢神経系作用も血圧に影響を与える可能性があり、末梢作

用に関する報告がいくつかある。まず、neurokinin-1 受容体拮抗薬には substance-P に対する影響だけでなく、末梢交感神経における neurokinin-A 遮断作用も持ち合わせており、これが局所的に血管内皮反応を抑制した可能性がある (Kaczynska et al., 2016)。結腸直腸拡張ラットを用いた先行研究では、neurokinin-A が内臓痛に関与することが示されている (Julia et al., 1994)。すなわち、neurokinin-1 受容体は中枢神経系の迷走神経反射のみならず、疼痛、腸管受容体、血管平滑筋にも関与している可能性があるため、結果の解釈にはこれらの反応も考慮する必要がある。

本研究で得られた結果は、結腸直腸拡張による刺激が延髄を経由して血圧降下を引き起こすことを明らかにした。この反応はホスアプレピタントの投与を行った際に、結腸直腸拡張によって延髄の「入力領域」である孤束核の神経活動には差が出なかったのに対し、「抑制領域」の尾側延髄腹外側野の神経活動には差があることが示された。つまり、神経調節性失神の反射経路において、neurokinin-1 受容体の関与は延髄内の伝達過程で起こっている可能性が示された。この現象には様々な受容体や神経細胞が相互に関与している可能性があるため、その自律神経ネットワークの詳細を明らかにするためにはさらなる研究が必要である。

人医療では、消化管の刺激受容体を介した迷走神経反射と思われる様々な現象が報告されているが (Bae et al., 2012; Kölükçü et al., 2019; Neri et al., 2007; Sadahiro et al., 1995)、これらの反射を抑制する有効な方法は確立していない。より安全に臨床検査や治療を行うためには、このような有害事象の発生を抑制することが重要である。本研究

の結果は、臨床現場で治療選択肢の限られる神経調節性失神に対し、**neurokinin-1** 受容体拮抗薬が新たな治療選択肢としての可能性を有することを示した。

本研究は **neurokinin-1** 受容体拮抗薬が延髄でその効能を発揮することを明らかにしたため、腸管拡張以外の受容器への刺激による自律神経反射においても同様に血圧変動を抑制する可能性を有していると考えられる。今回は排便失神の部分的再現方法として結腸直腸拡張を選択したが、今後は異なる自律神経反射モデル動物においても選択的 **neurokinin-1** 受容体拮抗薬の有用性について検討する予定である。**Neurokinin-1** 受容体に着目した本研究の成果は、ヒトのみならず動物の臨床医学に新たな治療の可能性をもたらすと考えられる。

謝辞

稿を終えるにあたり、終始懇切なるご指導を賜りました麻布大学生理学第二研究室
折戸謙介教授、JASMINE どうぶつ循環器病センター 上地正実氏に深甚なる謝意を表
します。御助言、御校閲を賜りました麻布大学獣医分子生物学研究室 村上賢教授、同
小動物外科学研究室 藤井洋子教授に深謝いたします。最後に、小動物外科学研究室
新実誠矢先生には、症例情報の収集にご協力いただきました。厚く御礼申し上げます。

本論文の一部は以下に公表した

Kuroguchi, K., Uechi, M., & Orito, K. (2022). **Involvement of neurokinin-1 receptors in the autonomic nervous system in colorectal distension-induced cardiovascular suppression in rats.** *Frontiers in Pharmacology*, 13:1020685.

<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1020685>

参考文献

1. Arai, H., & Emson, P. C. (1986). Regional distribution of neuropeptide K and other tachykinins (neurokinin A, neurokinin B and substance P) in rat central nervous system. *Brain Research*, 399(2), 240-249. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91514-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91514-3)
2. Bae, M. H., Kang, J. K., Kim, N. Y., Choi, W. S., Kim, K. H., Park, S. H., Lee, J. H., Yang, D. H., Park, H. S., Cho, Y., Chae, S. C., & Jun, J. E. (2012). Clinical characteristics of defecation and micturition syncope compared with common vasovagal syncope. *Pacing and Clinical Electrophysiology*, 35(3), 341-347. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8159.2011.03290.x>
3. Borgarelli, M., Savarino, P., Crosara, S., Santilli, R. A., Chiavegato, D., Poggi, M., Bellino, C., La Rosa, G., Zanatta, R., Haggstrom, J., & Tarducci, A. (2008). Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(1), 120-128. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.0008.x>
4. Brignole, M., Moya, A., de Lange, F. J., Deharo, J. C., Elliott, P. M., Fanciulli, A., Fedorowski, A., Furlan, R., Kenny, R. A., Martin, A., Probst, V., Reed, M. J., Rice, C. P., Sutton, R., Ungar, A., van Dijk, J. G., & Group, E. S. C. S. D. (2018). 2018 ESC Guidelines for the diagnosis and management of syncope. *European Heart Journal*, 39(21), 1883-1948. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy037>
5. Culman, J., Klee, S., Ohlendorf, C., & Unger, T. (1997). Effect of tachykinin receptor inhibition in the brain on cardiovascular and behavioral responses to stress. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280(1), 238-246.
6. Dampney, R. A. L., Polson, J. W., Potts, P. D., Hirooka, Y., & Horiuchi, J. (2003). *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23(4/5), 597-616. <https://doi.org/10.1023/a:1025080314925>
7. Fukushima, R., Araie, T., Itou, N., Kawaguchi, T., Yamada, S., Yoshimura, A., Goya, S., Shimada, K., Uchida, T., Kishimoto, M., & Machida, N. (2018). Canine case of swallowing syncope that improved after pacemaker implantation. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(3), 460-464. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0451>
8. Greenberg, M. E., Ziff, E. B., & Greene, L. A. (1986). Stimulation of neuronal acetylcholine receptors induces rapid gene transcription. *Science*, 234(4772), 80-83. <https://doi.org/10.1126/science.3749894>
9. Haxhiu, M. A. Y. K. E. B. C. N. S. (1996). CO₂-induced c-fos expression in the CNS catecholaminergic neurons. *Respir Physiol Respiration physiology*, 105(1-2), 35-45.
10. Holstein, G. R., Friedrich, V. L., Jr., Martinelli, G. P., Ogorodnikov, D., Yakushin, S. B., & Cohen, B. (2012). Fos expression in neurons of the rat vestibulo-autonomic pathway activated by sinusoidal galvanic vestibular stimulation. *Frontiers in Neurology*, 3, 4. <https://doi.org/10.3389/fneur.2012.00004>
11. Horn, C. C. C. M. C. A. (2007). Brain Fos expression during 48 h after cisplatin treatment: Neural pathways for acute and delayed visceral sickness. *Autonomic neuroscience : basic &*

- clinical*, 132(1-2), 44-51.
12. Itoi, K., Tschöpe, C., Jost, N., Culman, J., Lebrun, C., Stauss, B., & Unger, T. (1992). Identification of the central tachykinin receptor subclass involved in substance P-induced cardiovascular and behavioral responses in conscious rats. *European Journal of Pharmacology*, 219(3), 435-444. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(92\)90485-m](https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90485-m)
 13. Julia, V., Morteau, O., & Buéno, L. (1994). Involvement of neurokinin 1 and 2 receptors in viscerosensitive response to rectal distension in rats. *Gastroenterology*, 107(1), 94-102. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(94\)90065-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(94)90065-5)
 14. Kaczynska, K., Jampolska, M., & Szereda-Przestaszewska, M. (2016). The role of vagal pathway and NK1 and NK2 receptors in cardiovascular and respiratory effects of neurokinin A. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 43(9), 818-824. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12594>
 15. Kakiuchi, H., Kawarai-Shimamura, A., Kuwagata, M., & Orito, K. (2014). Tranexamic acid induces kaolin intake stimulating a pathway involving tachykinin neurokinin 1 receptors in rats. *European Journal of Pharmacology*, 723, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.11.038>
 16. Kanno, N., & Suzuki, T. (2017). Long term effects of cilostazol in a dog with sick sinus syndrome. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(6), 1031-1034. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0018>
 17. Keene, B. W., Atkins, C. E., Bonagura, J. D., Fox, P. R., Häggström, J., Fuentes, V. L., Oyama, M. A., Rush, J. E., Stepien, R., & Uechi, M. (2019). ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(3), 1127-1140. <https://doi.org/10.1111/jvim.15488>
 18. Köllükçü, E., Beyhan, M., & Atılgan, D. (2019). Factors affecting complications of transrectal ultrasound-guided prostate biopsy: A cohort study with 403 patients in a single center. *Journal of Surgery and Medicine*. <https://doi.org/10.28982/josam.519931>
 19. Li, W. M., Suzuki, A., & Cui, K. M. (2006). Responses of blood pressure and renal sympathetic nerve activity to colorectal distension in anesthetized rats. *Journal of Physiological Sciences*, 56(2), 153-156. <https://doi.org/10.2170/physiolsci.RP001106>
 20. Maggi, C. A. (1995). The mammalian tachykinin receptors. *General Pharmacology*, 26(5), 911-944. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(94\)00292-u](https://doi.org/10.1016/0306-3623(94)00292-u)
 21. Mistrova, E., Kruzliak, P., & Chottova Dvorakova, M. (2016). Role of substance P in the cardiovascular system. *Neuropeptides*, 58, 41-51. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2015.12.005>
 22. Mönnikes, H., Rüter, J., König, M., Grote, C., Kobelt, P., Klapp, B. F., Arnold, R., Wiedenmann, B., & Tebbe, J. J. (2003). Differential induction of c-fos expression in brain nuclei by noxious and non-noxious colonic distension: role of afferent C-fibers and 5-HT3 receptors. *Brain Research*, 966(2), 253-264. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)04197-5](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)04197-5)
 23. Nakaya, Y., Kaneko, T., Shigemoto, R., Nakanishi, S., & Mizuno, N. (1994). Immunohistochemical localization of substance P receptor in the central nervous system of the adult rat. *Journal of Comparative Neurology*, 347(2), 249-274. <https://doi.org/10.1002/cne.903470208>

24. Nelson, R. W., & Couto, C. G. (2020). *Small animal internal medicine* (5th ed.). Elsevier. <https://ci.nii.ac.jp/ncid/BB2931735X>
25. Neri, E., Caramella, D., Vannozzi, F., Turini, F., Cerri, F., & Bartolozzi, C. (2007). Vasovagal reactions in CT colonography. *Abdominal Imaging*, 32(5), 552-555. <https://doi.org/10.1007/s00261-006-9055-6>
26. Ness, T. J., & Gebhart, G. F. (1988). Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoaffective reflexes in the rat. *Brain Research*, 450(1-2), 153-169. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91555-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91555-7)
27. Paxinos, G., & Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (4th ed.). Academic Press. <https://ci.nii.ac.jp/ncid/BA35014810>
28. Perego, M., Porteiro Vázquez, D. M., Ramera, L., Lombardo, S. F., Pane, C., Bontempi, L. V., & Santilli, R. A. (2020). Heart rhythm characterisation during unexplained transient loss of consciousness in dogs. *Veterinary Journal*, 263, 105523. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105523>
29. Pete, G., Mack, S. O., Haxhiu, M. A., Walbaum, S., & Gauda, E. B. (2002). CO(2)-induced c-Fos expression in brainstem preprotachykinin mRNA containing neurons. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 130(3), 265-274. [https://doi.org/10.1016/s0034-5687\(02\)00013-0](https://doi.org/10.1016/s0034-5687(02)00013-0)
30. Polson, J. W., Halliday, G. M., McAllen, R. M., Coleman, M. J., & Dampney, R. A. (1992). Rostr-caudal differences in morphology and neurotransmitter content of cells in the subretrofacial vasomotor nucleus. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 38(2), 117-137. [https://doi.org/10.1016/0165-1838\(92\)90232-6](https://doi.org/10.1016/0165-1838(92)90232-6)
31. Potts, J. T., Fong, A. Y., Anguelov, P. I., Lee, S., McGovern, D., & Grias, I. (2007). Targeted deletion of neurokinin-1 receptor expressing nucleus tractus solitarii neurons precludes somatosensory depression of arterial baroreceptor–heart rate reflex. *Neuroscience*, 145(3), 1168-1181. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.01.001>
32. Reis, D. J., Ross, C. A., Ruggiero, D. A., Granata, A. R., & Joh, T. H. (1984). Role of adrenergic neurons of ventrolateral medulla (the C1 group) in the tonic and phasic control of arterial pressure. *Clinical and Experimental Hypertension. Part A: Theory and Practice*, 6(1-2), 221-241. <https://doi.org/10.3109/10641968409062562>
33. Sadahiro, S., Noto, T., Tajima, T., Mitomi, T., Miyazaki, T., & Numata, M. (1995). Fluctuation of blood pressure and pulse rate during colostomy irrigation. *Diseases of the Colon and Rectum*, 38(6), 615-618. <https://doi.org/10.1007/bf02054121>
34. Santilli, R. A., Giacomazzi, F., Porteiro Vázquez, D. M., & Perego, M. (2019). Indications for permanent pacing in dogs and cats. *Journal of Veterinary Cardiology*, 22, 20-39. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2018.12.003>
35. Soteriades, E. S., Evans, J. C., Larson, M. G., Chen, M. H., Chen, L., Benjamin, E. J., & Levy, D. (2002). Incidence and prognosis of syncope. *New England Journal of Medicine*, 347(12), 878-885. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012407>
36. Stornetta, R. L., Spirovski, D., Moreira, T. S., Takakura, A. C., West, G. H., Gwilt, J. M., Pilow

- sky, P. M., & Guyenet, P. G. (2009). Galanin is a selective marker of the retrotrapezoid nucleus in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 512(3), 373-383. <https://doi.org/10.1002/cne.21897>
37. Traub, R. J., Pechman, P., Iadarola, M. J., & Gebhart, G. F. (1992). Fos-like proteins in the lumbosacral spinal cord following noxious and non-noxious colorectal distention in the rat. *Pain*, 49(3), 393-403. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90247-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90247-9)
38. Traub, R. J., Stitt, S., & Gebhart, G. F. (1995). Attenuation of c-Fos expression in the rat lumbosacral spinal cord by morphine or tramadol following noxious colorectal distention. *Brain Research*, 701(1-2), 175-182. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00990-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00990-5)
39. Wang, H., Stornetta, R. L., Rosin, D. L., & Guyenet, P. G. (2001). Neurokinin-1 receptor-immunoreactive neurons of the ventral respiratory group in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 434(2), 128-146. <https://doi.org/10.1002/cne.1169>
40. Xia, Y., Zhao, W., Yang, Z. J., Zhang, J. Y., Zhao, L., Gu, X. J., Zhao, X., Lü, F., Wu, Z. G., & Liao, D. N. (2011). Catheter ablation of cardiac fat pads attenuates Bezold-Jarisch reflex in dogs. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 22(5), 573-578. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8167.2010.01922.x>
41. Zhao, Q., Yu, C. D., Wang, R., Xu, Q. J., Dai, P., Zhang, L., & Chang, R. B. (2022). A multidimensional coding architecture of the vagal interoceptive system. *Nature*, 603(7903), 878-884. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04515-5>
42. 井上博. (2012). 失神の診断・治療ガイドライン(2012年改訂版). 日本循環器学会.
43. 今泉, 勉., & 安部, 治. (2006). 失神の診断と治療. メディカルレビュー社. <https://ci.nii.ac.jp/ncid/BA75288775>
44. 山口, 陽., & 田中, 博. (2015). 当院へ救急搬送された意識消失982例の検討. *日本臨床救急医学会雑誌*, 18(4), 570-574. <https://doi.org/10.11240/jsem.18.570>
45. 新家, 俊., 新家, 重., & 斉藤, 孝. (2019). 神経調節性失神に対してクレマスチンフマル酸塩が奏功したイヌの1例. *動物の循環器*, 52(1), 21-26. <https://doi.org/10.11276/jsvc.52.21>
46. 野原, 隆. (2009). 失神を究める. メジカルレビュー社. <https://ci.nii.ac.jp/ncid/BA89956826>