

氏名(本籍)	黒河内 健太郎 (福岡県)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	甲第 175 号
学位授与年月日	令和 5 年 3 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 2 項該当
学位論文題名	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
論文審査委員	(主査) 折 戸 謙 介 (副査) 村 上 賢 藤 井 洋 子

論 文 内 容 の 要 旨

【はじめに】

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、延髄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、本研究では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、失神の因子となる病態のコントロールを行い、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態の変化：雄の Wister 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 μ m 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、延髄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みられた。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な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みられ、CRD 群と CRD+NK₁A 群の比較では CRD+NK₁A 群のほうが c-Fos 陽性細胞の数が有意に少なかった。

【総括】

Neurokinin-1 受容体拮抗薬は結腸直腸拡張刺激によって誘発された反射を抑制する可能性が示唆された。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選択的 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。

論文審査の結果の要旨

1. 論文の背景

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約 40%が該当するとの報告があり、獣医療でも一般的に認められる。本疾病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。獣医臨床分野では、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。治療として咳嗽などの原因除去を目的とした薬物投与や昇圧剤投与、生活指導が行われているが、体循環中枢調節機構に主眼を置いた治療法は確立されていないのが現状であった。

2. 論文の内容

研究 1 では、神経調節性失神に対する現在の治療の問題提起となった、犬の神経調節性失神症例の診断から治療指針について考察している。研究 2 では、神経調節性失神の体循環中枢調節病態を解明するため、ラット結腸直腸拡張モデルを用いて、反射性血圧降下時の脳内活性化部位を明らかにしている。さらに体循環中枢調節に関わる神経機構として neurokinin-1 (NK₁)受容体に着目し、病態との関連性を受容体拮抗薬を用いて明らかにしている。一連の研究成果として、体循環中枢調節機構に着目した新しい神経調節性失神の治療として NK₁ 受容体拮抗薬の有用性について提示している。

研究 1 犬の神経調節性失神

研究 1 では、臨床徴候や血圧、心拍数、院内およびホルター心電図など多角的な検査により神経調節性失神と診断した症例を紹介している。咳嗽が原因であったため鎮咳薬の投与を開始した。しかし、原因療法では改善が認められない症例が少なくないこと、人においては、発作の恐怖から外出できない患者がいることから、多角的な治療方法の開発が必要であると認識した。そのひとつとして申請者は、神経調節性失神の病態を体循環中枢調節機構の立場から明らかにし、治療薬の可能性について追究することにした。

研究 2 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

ラットにおいて、下部消化管を拡張刺激すると血圧が低下する。申請者はこれを消化管刺激による体循環抑制機構の発現、すなわち神経調節性失神の要因を明らかにするモデルと考えた。血圧および心拍数が長期間にわたり安定するウレタンで麻酔したラットの結腸直腸にバルーンを挿入し拡張させると血圧が低下した。あらかじめ NK₁ 受容体拮抗薬を投与しておくと血圧低下が抑制されることが明らかになった。

脳内神経活動を c-Fos 陽性細胞数で評価したところ、孤束核ではバルーン拡張で増加したが、NK₁ 受容体拮抗薬を投与してもその増加は抑制されなかった。一方で尾側延髄腹外側野もバルーン拡張で

c-Fos 陽性細胞数は増加し、NK₁ 受容体拮抗薬でその増加が抑制された。このような組織学的検証により、尾側延髄腹外側野から吻側延髄腹外側野への抑制性支配が神経調節性失神誘発に関係しており、この神経伝達に NK₁ 受容体が関与していること、さらには NK₁ 受容体拮抗薬が体循環中枢調節機構に作用する神経調節性失神治療薬として有用である可能性を明らかにした。

3. 論文審査

1) テーマの立て方

本研究の目的を犬の神経調節性失神治療の問題解決に向けており、病態メカニズム解明を追究し新規治療薬を模索していることから、臨床に即した実学的な研究である。体循環中枢調節機構に着目した治療法は、今後の神経調節性失神治療へ新しいコンセプトを導入するという点で、有用性が高い研究テーマである。

2) 研究の背景

神経調節性失神は獣医療だけでなく、人医療でも罹患者が少なくない疾病である。失神のきっかけとなる原因に着目した治療方法や血圧降下を抑制するための昇圧薬投与といった対症療法がおこなわれているが、治療法に選択肢が少ないことを申請者は症例を経験することで気づき、新たな治療法に関する研究が必要であると考えた。

3) 研究の方法

第 1 章では神経調節性失神の現在の診療について把握、調査し、第 2 章では現在行われていない中枢病態機序解明、治療薬の提案を行っていることから、本研究には一貫性がある。

ラットの結腸直腸を拡張すると、知覚神経の上行性刺激が下行性副交感神経優位な状態を形成し体循環を抑制する。中枢経路が神経調節性失神と同様であることから、この実験方法を本研究で応用している。脳内の神経伝達に関わる因子のうち、延髄に多く分布している NK₁ 受容体の関与について着目した。実験には中枢性循環調節の実験として適切な数のラットを用いており、統計方法は関連研究報告を参考にして、理にかなったものになっている。

4) 研究の結果

第 1 章では咳嗽による神経調節性失神 1 例について報告しているが、恐怖や疼痛、興奮などによる情動失神や、咳嗽だけでなく、排便や排尿、嚥下など他の状況失神についても症例のデータ収集をすることが望ましい。しかし確定診断まで至らなかった症例や、合併症のため純粋な神経調節性失神ではない症例が多かったため、症例数を増やすまでに至らなかった。一方で申請者は、得られた症例の循環動態に関するデータを多角的に把握、理解することで、神経調節性失神治療における臨床上の問題点を的確にとらえていた。

第2章では、ラットにおいて非刺激群、結腸直腸拡張刺激群、結腸直腸拡張刺激+NK₁阻害薬投与群を作成し、循環動態(血圧)と共に、脳組織における c-Fos 陽性細胞数を定量化して客観的に分析し結果を導いている。ウレタン麻酔を用いることで安定した血圧、心拍数が得られたため、血圧や心拍数のわずかな変化も捉えることができた。図表の作成は的確で、体循環中枢調節機構の説明には模式図を用いるなど、わかりやすくするための工夫を施していた。

5) 考察と結論

本研究では、神経調節性失神の体循環中枢調節病態メカニズムとして血圧低下に着目しているが、実際の症例では徐脈が原因で失神を生じる例も少なくない。また失神は、消化管刺激の他に、咳嗽や嘔下などによっても引き起こされる。これらの状況変化が知覚神経へ伝わるインパルスの大きさや時間は異なる可能性が高いことから、本研究で明らかにした結腸直腸刺激による血圧低下へのNK₁受容体関連経路が、他の原因による失神でも同様に重要であるか否かについては、今後精査が必要である。人および獣医臨床における神経調節性失神に対するNK₁受容体拮抗薬の有用性についても今後の課題である。申請者は本研究で明らかにしたことと共に、このような解決すべき課題について明確な問題意識を持っている。

6) 参考文献

本論文では、研究の背景や結果の考察、展望等について適切な内容の参考文献が適切に引用されている。

4. 審査結果

小動物臨床における課題を基礎研究に落とし込み、多角的に精査することで神経調節性失神の中枢病態メカニズムを追究し、可能性のある治療薬を提示した。本論文の内容や専門的分野および外国語の学力と発表会での質疑応答に対する適切な対応を考慮すると、申請者は博士としての専門知識を十分に有することが認められ、本研究は獣医学上、また小動物臨床、薬理学的にも意義ある業績として高く評価できることから、博士(獣医学)の学位を授与するのに相応しいと判定した。