

(別紙1)

論 文 の 内 容 の 要 旨

氏 名	池 亀 静 香		
論文題目	Roles of Central Amygdala and Hypothalamic Paraventricular Nucleus Neuronal Activities in Regulating Sympathetic Nerve Activity in Conscious Rats. (意識下ラットの交感神経活動調節に果たす扁桃体中心核神経活動と視床下部室傍核神経活動の役割)		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	委員長		
	委 員		
	委 員		
	委 員		
	委 員		
内 容 の 要 旨			
<p>交感神経は、循環調節に主要な役割を果たす。循環機能は、恐怖や不安など精神ストレスにより変化するが、その変化の背景は不明である。視床下部室傍核あるいは扁桃体中心核は交感神経活動の調節に関与する上位中枢神経核であるが、恐怖や不安などの精神ストレス時に交感神経活動や循環機能にどのような影響を及ぼしているのか不明である。本論文は、視床下部室傍核あるいは扁桃体中心核神経活動、腎および腰部交感神経活動、さらに動脈圧と心拍数を自由行動下のラットで同時に連続測定したものである。中枢神経および末梢神経活動は麻酔の影響をうけるため、無麻酔での神経活動の計測が必要である。しかし、自由行動下のラットの数マイクロボルトの微弱な神経電位計測は、様々な技術的な困難を克服する必要がある。本研究の室傍核あるいは扁桃体中心核神経活動と交感神経活動の同時計測は、これまで報告がない技術的なチャレンジであり、恐怖や不安に対する神経応答の検討は意識下の動物でのみ行える実験であり意義がある。本論文は4章から構成されている。</p> <p>第1章は、扁桃体中心核神経活動と腎および腰部交感神経活動の同時測定の方法の検討と、日常行動時の扁桃体中心核神経活動と交感神経活動および循環動態との関係について検討したものである。Wistar系雄ラットを使用し、実験の5日前に麻酔下で、腎及び腰部交感神経活動、心電図、筋電図測定用電極を慢性留置した。回復期を4日とり、再度麻酔をし、扁桃体中心核神経活動、脳波測定用電極と動脈圧測定用カテーテルを慢性留置した。扁桃体中心核神経活動測定用電極は、エポキシコートされた直径100<math>\mu</math>mのステンレス線2本を2芯シールドケーブルに接続し作成し、脳神経の細胞外電位の音を確認しながら、電極を脳内に挿入した。半日以上の回復期をとり、ラットの自由行動下で実験を行った。実験中は目視による行動観察を行い、脳波および筋電図の結果から、ラットの行動をレム睡眠時、ノンレム睡眠時、覚醒安静時、ムービング時、グルーミング時に分類した。行動がノンレム睡眠から覚醒安静、移動行動、グルーミングへの移行時に、扁桃体中心核神経活動と腎交感神経活動、腰部交感神経活動、心拍数、および筋電図との間には有意(<math>P&lt;0.05</math>)の直線関係が認められたが、扁桃体中心核神経活動と動脈圧との間には有意の相関が見られなかった。レム睡眠期は、扁桃体中心核神経活動と交感神経活動および循環動態の関係は、これらの直線関係から</p>			

逸脱した点にあった。以上、扁桃体中心核は腎及び腰部交感神経活動と心拍数を密接に調節する神経ネットワーク内に位置することが明らかとなった。

第2章は、扁桃体中心核神経活動が恐怖想起時の交感神経活動と循環動態応答に果たす役割について検討した研究である。ラットを使い、電極とカテーテルの慢性留置方法は、第1章に準じた。加えて、アニソール香料を使い、匂いによる恐怖条件付けを行った。恐怖条件付け後、ラットはアニソールの提示に対してフリージングを持続させた。また、扁桃体中心核神経活動は、アニソール提示中に増加し、提示終了後もその増加が持続した。腎交感神経活動は、アニソールの提示前後で有意な変化はなかったが、腰部交感神経活動はアニソールの提示に対して増加し、その増加が維持された。以上の結果から、匂いによる恐怖の想起は、扁桃体中心核神経活動と腰部交感神経活動を増加させ、その増加が維持されることが示された。

第3章は、視床下部室傍核神経活動と腎および腰部交感神経活動の同時測定法の検討と、日常行動時の室傍核神経活動と腎および腰部交感神経および循環動態との関係について検討したものである。ラットを使い、電極とカテーテルの慢性留置方法は第1章に準じた。加えて、室傍核神経活動、腎および腰部交感神経活動、心拍数および動脈圧の周波数解析を行い神経情報伝達の周波数について検討を加えた。行動がノンレム睡眠から覚醒安静、移動行動、グルーミングへの移行時に、室傍核神経活動と、腎交感神経活動、腰部交感神経活動、心拍数、筋電図との間には、すべて有意( $P < 0.05$ )の直線相関が認められた。しかし、動脈圧との間には有意な相関はなかった。周波数解析の結果、ノンレム睡眠時の室傍核神経活動は、超低周波(0.02-0.20Hz)と低周波(0.2-0.6Hz)のピークがあり、交感神経活動、腰部交感神経活動、心拍数、動脈圧と共通していた。以上、室傍核神経活動は、腎および腰部交感神経活動、心拍数を調節する神経ネットワークに属し、超低周波と低周波帯での情報伝達が行われていることが示された。

第4章は、恐怖記憶の想起による室傍核神経活動の変化と、室傍核神経活動の変化が腎及び腰部交感神経活動、心拍数、動脈圧の応答に果たす役割を検討した。ラットを使い、電極とカテーテルの慢性留置方法は第1章に準じた。加えて、1日2回、音(条件刺激; 5秒)に続いて短時間の電気ショック(非条件刺激; 0.1mA、1秒)をラットに与え、音が鳴るとショックが与えられることを学習させた。恐怖条件付けの結果、ラットは恐怖条件付けされた音に対してフリージング行動を示すようになった。室傍核神経活動は恐怖条件付け前と後で同様の増加反応を示した。また、恐怖条件付けされた音に対して腎及び腰部交感神経活動と動脈圧は増加し、腰部交感神経活動は音提示終了後も増加を維持した。以上、音の条件刺激の提示による恐怖記憶の想起が室傍核神経活動の増加を維持し、この増加の維持が腎及び腰部交感神経活動の地域差を生じさせ、腰部交感神経活動の増加を維持させることが明らかとなった。

以上の結果より、扁桃体中心核神経活動と室傍核神経活動は、日常行動や恐怖の想起時にその状況に応じて腎および腰部交感神経活動の調節に関与していることが明らかとなった。ノンレム睡眠からグルーミングにいたる身体活動の増加に対して、扁桃体中心核神経活動と室傍核神経活動は交感神経活動に正の相関関係をもって影響を及ぼしていることが示された。しかし、扁桃体中心核神経活動と室傍核神経活動は動脈圧とは有意な相関を示さなかった。匂いと電気ショックによる恐怖条件づけモデルでは、恐怖記憶想起による扁桃体中心核神経活動はその変化に可塑性があり、恐怖条件付けにより条件刺激中の増加が獲得され、交感神経活動調節に影響を及ぼしていることが示された。一方、室傍核神経活動は条件刺激に増加反応を示すが、恐怖想起後に増加が維持された。以上、交感神経活動調節に関わる中枢神経核のネットワークは可塑性があり、状況によって交感神経活動を多様に変化させ、状況に応じた循環調節を行っていることが示された。

(別紙2)

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名	池 亀 静 香		
論文題目	Roles of Central Amygdala and Hypothalamic Paraventricular Nucleus Neuronal Activities in Regulating Sympathetic Nerve Activity in Conscious Rats. (意識下ラットの交感神経活動調節に果たす扁桃体中心核神経活動と視床下部室傍核神経活動の役割)		
審査委員	区分	職 名	氏 名
	委員長		
	委 員		
	委 員		
	委 員		
	委 員		
要 旨			
<p>交感神経は、日常の行動変化時や恐怖や不安など精神ストレス時の循環機能の調節に主要な役割を果たす。視床下部室傍核あるいは扁桃体中心核は交感神経活動の調節に関与する中枢神経核であるが、日常行動や恐怖や不安などの精神ストレス時に交感神経活動や循環機能にどのような影響を及ぼしているのか不明である。本論文は、視床下部室傍核あるいは扁桃体中心核神経活動、腎および腰部交感神経活動、さらに動脈圧と心拍数を自由行動下のラットで同時に連続測定したものである。中枢神経および末梢神経活動は、麻酔の影響をうける。そのため、無麻酔での神経活動の計測が必要である。しかし、自由行動下のラットの数マイクロボルトの微弱な電位の計測は、様々な技術的な困難を克服する必要がある。本研究の室傍核神経活動あるいは扁桃体中心核神経活動と交感神経活動の同時計測は、これまで報告がない技術的なチャレンジであり、恐怖や不安に対する神経応答の検討は意識下の動物でのみ行える実験であり、意義がある。本論文は4章から構成されている。</p> <p>第1章は、扁桃体中心核神経活動と腎および腰部交感神経活動の同時測定の方法の検討と、日常行動時の扁桃体中心核神経活動と交感神経活動および循環動態との関係について検討したものである。Wistar系雄ラットを使用し、実験の5日前に麻酔下で、腎及び腰部交感神経活動、心電図、筋電図測定用電極を慢性留置した。回復期を4日とり、再度麻酔をし、扁桃体中心核神経活動、脳波測定用電極と動脈圧測定用カテーテルを慢性留置した。ラットの自由行動下で実験を行った。結果、行動がノンレム睡眠から覚醒安静、移動行動、グルーミングへの移行時に、扁桃体中心核神経活動と腎交感神経活動、腰部交感神経活動、心拍数、および筋電図との間には有意(<math>P&lt;0.05</math>)の直線関係が認められたが、扁桃体中心核神経活動と動脈圧との間には有意の相関が見られなかった。レム睡眠期は、扁桃体中心核神経活動と交感神経活動および循環動態との関係は、これらの直線関係から逸脱した点にあった。以上、扁桃体中心核は腎及び腰部交感神経活動と心拍数を密接に調節する神経ネットワーク内に位置することが明らかとなった。</p>			

第2章は、扁桃体中心核神経活動が恐怖想起時の交感神経活動と循環動態応答に果たす役割について検討した研究である。ラットを使い、電極とカテーテルの慢性留置方法は、第1章に準じた。加えて、アニソール香料を使い、匂いによる恐怖条件付けを行った。恐怖条件付け後、ラットはアニソールの提示に対してフリージングを持続させた。また、扁桃体中心核神経活動は、アニソール提示中に増加し、提示終了後もその増加が持続した。腎交感神経活動は、アニソールの提示前後で有意な変化はなかったが、腰部交感神経活動はアニソールの提示に対して増加し、その増加が維持された。以上の結果から、匂いによる恐怖の想起は、扁桃体中心核神経活動と腰部交感神経活動を増加させ、その増加が維持されることが示された。

第3章は、視床下部室傍核神経活動と腎および腰部交感神経活動の同時測定法の検討と、日常行動時の室傍核神経活動と腎および腰部交感神経および循環動態との関係について検討したものである。ラットを使い、電極とカテーテルの慢性留置方法は第1章に準じた。加えて、室傍核神経活動、腎および腰部交感神経活動、心拍数および動脈圧の周波数解析を行い神経情報伝達の周波数について検討を加えた。行動がノンレム睡眠から覚醒安静、移動行動、グルーミングへの移行時に、室傍核神経活動と、腎交感神経活動、腰部交感神経活動、心拍数、筋電図との間には、すべて有意( $P < 0.05$ )の直線相関が認められた。しかし、動脈圧との間には有意な相関はなかった。周波数解析の結果、ノンレム睡眠時の室傍核神経活動は、超低周波(0.02-0.20 Hz)と低周波(0.2-0.6 Hz)のピークがあり、交感神経活動、腰部交感神経活動、心拍数、動脈圧と共通していた。以上、室傍核神経活動は、腎および腰部交感神経活動、心拍数を調節する神経ネットワークに属し、超低周波と低周波帯での情報伝達が行われていることが示された。

第4章は、恐怖記憶の想起による室傍核神経活動の変化と、室傍核神経活動の変化が腎及び腰部交感神経活動、心拍数、動脈圧の応答に果たす役割を検討した。ラットを使い、電極とカテーテルの慢性留置方法は第1章に準じた。加えて、1日2回、音(条件刺激; 5秒)に続いて短時間の電気ショック(非条件刺激; 0.1 mA、1秒)をラットに与え、音が鳴るとショックが与えられることを学習させた。恐怖条件付けの結果、ラットは恐怖条件付けされた音に対してフリージング行動を示すようになった。室傍核神経活動は恐怖条件付け前と後で同様の増加反応を示した。また、恐怖条件付けされた音に対して腎及び腰部交感神経活動と動脈圧は増加し、腰部交感神経活動は音提示終了後も増加を維持した。以上、音の条件刺激の提示による恐怖記憶の想起が室傍核神経活動の増加を維持し、この増加の維持が腎及び腰部交感神経活動の地域差を生じさせ、腰部交感神経活動の増加を維持させることが明らかとなった。

以上より、扁桃体中心核神経活動と室傍核神経活動は、日常行動時には、レム睡眠期を除き、腎および腰部交感神経活動と同方向に相関をもって変化することが明らかとなった。さらに、扁桃体中心核神経活動と室傍核神経活動は可塑性があり、恐怖条件づけにより条件刺激時の変化が増した。この可塑性のある変化が、恐怖想起時の腎および腰部交感神経活動および心拍数と動脈圧の応答を変化させる一因になっている可能性が示唆された。

以上の研究結果は、第1章は *Experimental Physiology* 誌(IF=2.97)に2022年に筆頭著者として論文掲載されている。第2,3,4章は投稿予定である。さらに、共著論文として *Frontier in Physiology* (2022, 13巻, IF=4.755)、*Experimental Physiology* (2021, 106巻, IF=2.97) *Hypertension* (2019, 74巻, IF=10.19)に発表されている。

また、筆頭著者として、2019年米国オーランドの *Experimental Biology* および2019年神戸でのアジア・オセアニア生理学会連合国際学会で筆頭著者として発表を行っている。国内学会では、筆頭著者で4報発表している。

よって、本学位申請論文は、奈良女子大学博士(生活環境学)の学位を授与されるに十分な内容を有していると判断した。