

低酸素下におけるラット前庭神経外側核ニューロン 活動の選択的抑制

京都大学脳神経外科学教室（指導・菊池晴彦教授）

吉 田 眞 三

〔原稿受付：昭和61年12月25日〕

Selective Inhibition of Neuronal Activities in Lateral Vestibular Nucleus in the Rat under Cerebral Hypoxia

SHINZO YOSHIDA

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. HARUHIKO KIKUCHI)

Electrophysiological studies were performed to elucidate the effects of hypoxia on the neuronal activities of the lateral vestibular nucleus (LVN) and spinal trigeminal nucleus (STN) using rats anesthetized with chloral hydrate. When the animals inhaled a mixture of 5% O₂ with 95% N₂ gas for 3.5 min, Pa(O₂) and Pa(CO₂) decreased from 85.3 and 32.2 mmHg to 22.4 and 24.6 mmHg, respectively and arterial blood pressure decreased from 108 mmHg to 55.4 mmHg within 3 min with a transient elevation to 160.9 mmHg 10–30 sec after the onset of the inhalation. Under these conditions, there was an inhibition of the postsynaptic components of the evoked field potential and spikes of monosynaptic neurons in the LVN upon vestibular nerve stimulation. The spontaneous firing and glutamate-induced firing of the LVN neurons were also inhibited, although a transient increase in the spontaneous firing was usually observed 10–30 sec after the inhalation. In contrast, the evoked field potential and spikes of neurons in the STN upon tooth pulp stimulation were not inhibited during hypoxia, although spontaneous firing of the STN neurons was decreased 2–3 min after the inhalation. These results suggest that the LVN neurons are sensitive to hypoxia while the STN neurons are not. In addition, the inhibition of transmission of the monosynaptic neuron in the LVN is probably due to inhibition of excitability of the postsynaptic neuron itself, although the possibility cannot be excluded that the vestibular presynaptic terminals are simultaneously affected by hypoxia. The present results also suggest the functional vulnerability of the central equilibrium system to the specific brain insult such as hypoxia and cerebral ischemia.

Key words: Hypoxia, Lateral vestibular nucleus, Spinal trigeminal nucleus, Rat, Single neuron activity.

索引語：低酸素，前庭神経外側核，三叉神経脊髄路核，ラット，単一ニューロン活動。

Present address: Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

緒 言

椎骨脳底動脈領域の虚血^{2,41)},あるいは低酸素状態⁴⁾において,めまいは,しばしば認められる症状の一つである.このめまいの発現と密接に関連するとされている前庭神経外側核ニューロン活動²⁸⁾は,抗めまい薬である diphenhydramine^{21,40)} および betahistine⁴²⁾ さらに平衡障害をきたす ethanol¹⁹⁾ により抑制され,また,脳血流量を増加するとされている ATP³¹⁾ および cinnarizine¹⁰⁾ により,その活動は亢進するなど,薬物に対する特異な反応性が知られている.一方,前庭神経から前庭神経外側核ニューロンへの神経伝達物質は,acetylcholine であろうという実験的証拠^{9,20,24,29,33,43)} があり,また低酸素状態での神経機能の低下には,acetylcholine 系の抑制が関与することが,示唆されている^{11,14,25)}.これらの事より著者は,前庭神経核ニューロンは脳虚血および低酸素に対する感受性が高く,このような状態で生じる平衡障害の発現に密接に関連しているのではないかと想定した.

低酸素状態において神経伝達が可逆的に抑制されることは,これまで大脳皮質¹⁵⁾, 脊髄^{5,8)}, 網膜³²⁾, 交感神経節⁷⁾, マイスネル神経叢⁴⁴⁾ および海馬スライス^{16,27,37)} において報告されているが,前庭神経核における研究はない.本研究では,低酸素下での前庭神経外側核ニューロンの機能的脆弱性の有無を明らかにする目的で,以下のような電気生理学的実験を行った.

1. ラット低酸素モデルにおいて,前庭神経外側核ニューロンの低酸素状態に対する反応性について,前庭神経刺激による誘発フィールド電位および単一ニューロン活動を記録することにより検討した.また,これを,三叉神経脊髄路核において歯髄刺激により得られる誘発フィールド電位および単一ニューロン活動に対する低酸素状態の影響と,比較検討した.

2. さらに,低酸素の影響が,前庭神経終末部に対するものか,シナプス後ニューロン自体に作用するのかという点を明らかにするために,glutamate を microiontophoresis 法により記録ニューロン近傍に投与し,それにより得られるスパイク発射の増加に対する低酸素吸入の影響も検討した.

実験材料および方法

体重 310-350 g の雄性 Wister rat を用い,抱水クロール麻酔下 (300 mg/kg, 腹腔内) に実験を行った.気管カニューレを挿入した後, gallamine triethiodide

(80 mg/animal, 腹腔内) により非動化し人工呼吸器 (成茂, AR-2) により室内空気下に維持した.実験中,動物の体温は heating pad により 36.5-37.5°C に保持した.

1) 低酸素負荷

5%O₂+95%N₂ の組成の低酸素濃度ガス (製鉄化学) を,人工呼吸器を通して 3分30秒間吸入させることにより低酸素状態とし,この間における誘発フィールド電位および単一ニューロン活動の変化について検討した.また,同時に大腿動脈血圧の測定および低酸素吸入前および吸入 3分後において,動脈血を採取しガス分析 (Radiometer Copenhagen, ABL-30) を行った.

2) 前庭神経および歯髄刺激

前庭神経刺激のために,側頸部より鼓胞 (tympanic bulla) を開き,中耳腔内にはいった後,正円窓内および卵円窓近傍にそれぞれ一本ずつステンレススティール製電極を挿入し,歯科用セメントにて固定した.また,歯髄刺激¹⁸⁾のために,上門歯よりステンレススティール製双極電極を歯髄に刺入した.前庭神経末梢または歯髄には,電気刺激装置 (日本光電, SEM-7103) を用い,単一矩形波 (持続 0.2 msec, 0.1-0.2 mA) を 1.6秒に 1回の頻度で与えた.

3) 誘発フィールド電位

ラット脳定位固定装置 (成茂, SN-2) に固定した後,後頭部頭蓋骨を除去し,前庭神経外側核または三叉神

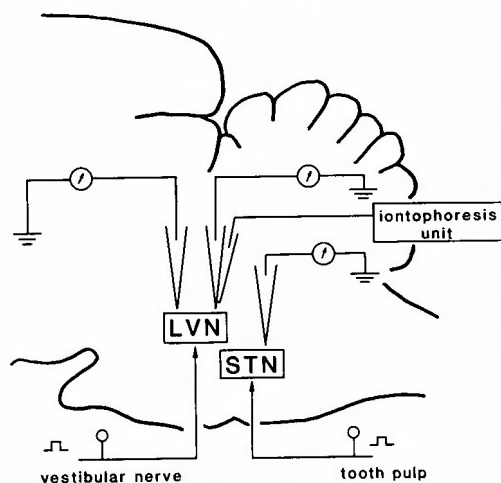


Fig. 1. Schematic representation of the experimental procedures
LVN: lateral vestibular nucleus, STN: spinal trigeminal nucleus.

経脊髄路核に記録用のガラス管封入銀製微小電極（電気抵抗約 $1\text{ M}\Omega$ ）を刺入した。記録電極刺入部位は、Paxinos and Watson の脳座標図³⁴⁾に従い、前庭神経外側核は、P:2.1, L:2.3, H:-5.0~-6.0 に、また三叉神経脊髄路核は P:2.3, L:2.6, H:-6.0~-7.0 とした (Fig. 1). 末梢神経刺激により得られた誘発フィールド電位は、万能2~4現象メモリーオシロスコープ（日本光電, VC-10）にて、増幅、記録し、連続撮影装置（日本光電, RLG-6201）を用いて撮影した。少なくとも連続して10回以上の反応を記録し、刺激 artifact

より各波ピークまでの潜時、および、ピークよりピークまでの振幅を計測した。

4) 単一ニューロン活動

ガラス管封入銀製微小電極（電気抵抗約 $1\sim 2\text{ M}\Omega$ ）を用い、誘発フィールド電位と同一の前庭神経外側核および三叉神経脊髄路核において細胞外に単一ニューロン活動を記録した。実験終了後、記録部位に通電（0.1 mA, 1分間）を行い、脳をホルマリン固定後、凍結切片を作成し、cresyl violet にて染色し、当核部位における電極の位置を確認した (Fig. 2).

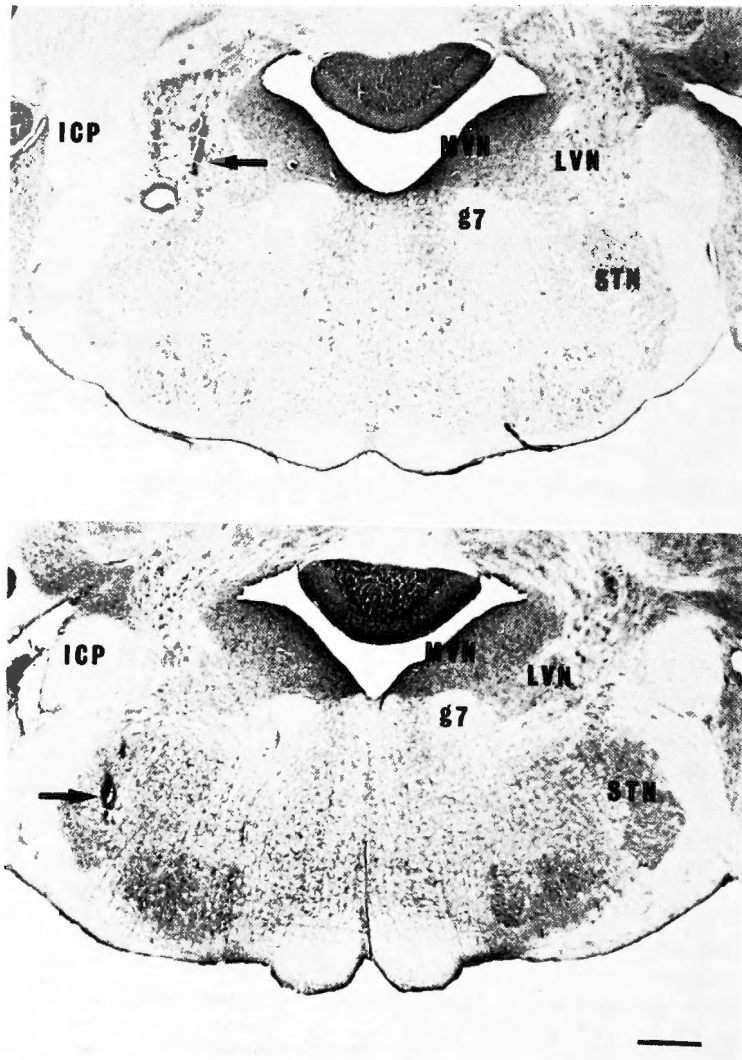


Fig. 2. The sites of recording microelectrodes. Arrows in photos A and B indicate the position of tips of the electrodes in the lateral vestibular nucleus (LVN) and spinal trigeminal nucleus (STN), respectively. (Abbreviation) g7: genu of facial nerve, ICP: inferior cerebellar peduncle, MVN: medial vestibular nucleus. Horizontal bar: 1 mm

a) 自発発火

前庭神経外側核では、回転刺激に应答するニューロンの自発発火に対する低酸素の影響を検討した。すなわち、ラットを脳定位固定装置に固定した後、手動式回転台上に載せ、これを時計および反時計方向にそれぞれ 180° 回転させることにより、前庭三半器官に水平角加速度刺激を加え、これに应答する単一ニューロンを、前庭神経外側核において同定した後、そのニューロンの自発発火について、低酸素吸入の及ぼす影響を検討した。三叉神経脊髄路核においては、歯髄刺激に反応するニューロンを同定し、その自発発火について検討した。単一ニューロンの自発発火は、オシロスコープにより増幅した後、パルスカウンター（ダイヤモンドカル、DSE-325）を介して、ペンレコーダー（日本光電、RJG-4022）にて連続記録した。

b) 誘発スパイク

誘発フィールド電位の実験の場合と同様の方法により、末梢前庭神経および歯髄を刺激した時に誘発される前庭神経外側核および三叉神経脊髄路核単一ニューロンのスパイクについて、低酸素吸入の影響を検討した。記録も誘発フィールド電位の実験方法に準じ、低酸素吸入前後にそれぞれ連続10回以上の反応を記録し、第一スパイクまでの潜時と誘発スパイク数を計測した。単一ニューロン毎のこれら計測値の平均値について、低酸素吸入前後において、Student's-t による検定を行った。さらに検討した前庭神経外側核12個、三叉神経脊髄路核7個のニューロンについて、それぞれ平均誘発スパイク数とスパイク潜時を求め、Student's-t 検定により、低酸素吸入前後の有意差検定を行った。

c) glutamate に対する反応

上記の記録用ガラス管封入銀製微小電極に貼り合わせた7極微小ガラス管に、1 M monosodium L-glutamate (Sigma), 1 M acetylcholine chloride (第一製薬), 3 N NaCl を充填し、微小定電流供給装置（日本光電、S-5125B）を用い、microiontophoresis 法により、前庭神経外側核における記録ニューロン近傍に、これらの薬物を投与した (Fig. 1)。前庭神経刺激を行い前庭神経外側核ニューロンを同定したのち、glutamate 20-50 nA を5秒間、または acetylcholine 50-100 nA を1分間投与した。ニューロンの発火は、自発発火の実験と同様の方法により、ペンレコーダを用い連続記録を行い、glutamate 投与により増加する発火に対する低酸素の影響を検討した。低酸素ガス吸入中は、glutamate を30秒間で投与した。

実験結果

1) 動脈血ガスに対する低酸素ガス吸入の影響

PaO₂ は、低酸素吸入前において 85.3±1.7 mmHg (n=22, mean±S.E. 以下同様) であり、5%O₂ の吸入開始3分後において、22.4±0.7 mmHg (n=22) となり著明な低酸素血症を呈した。また、PaCO₂ も低酸素吸入前には、32.2±1.1 mmHg (n=22) が、低酸素吸入3分後に 24.6±0.7 mmHg (n=22) と低下した。しかし、前庭神経外側核および三叉神経脊髄路核についての実験に使用したそれぞれ11例の動物において、pH, PaO₂ および PaCO₂ を検討したが、そのいずれにおいても、両群間に有意な差は認められなかった (Table-1)。

2) 動脈血圧に対する影響

低酸素吸入前の血圧は、108±3.4 mmHg (n=29) であった。低酸素吸入10~30秒後に、血圧は一過性の上昇を示した後、次第に低下し、1分30秒後には、65.0±4.4 mmHg (n=29) と有意に低下し、この血圧の低下は吸入終了まで持続した。低酸素吸入中止後は、血圧は速やかに上昇し低酸素吸入前値に比較して有意な高値を示した (Fig. 3)。また、血液ガス同様、前庭神経外側核および三叉神経脊髄路核について実験を行った。

Table 1. Effects of 5% O₂ gas inhalation on arterial blood gas

	pH	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)
control			
LVN#1 (n=11)	7.40±0.02	85.7±3.0	33.2±1.5
STN#2 (n=11)	7.42±0.01	84.9±1.9	31.4±1.6
Total (n=22)	7.41±0.01	85.3±1.7	32.2±1.1
5%O ₂ 3 min			
LVN#1 (n=11)	7.40±0.01	23.2±0.9	24.9±1.1
STN#2 (n=11)	7.40±0.01	21.6±1.0	24.3±0.9
Total (n=22)	7.40±0.01	22.4±0.7	24.6±0.7

Values are mean±S.E. LVN#1 and STN#2 show the data obtained from the experiments on lateral vestibular nucleus (LVN) and spinal trigeminal nucleus (STN), respectively.
n: number of animals.

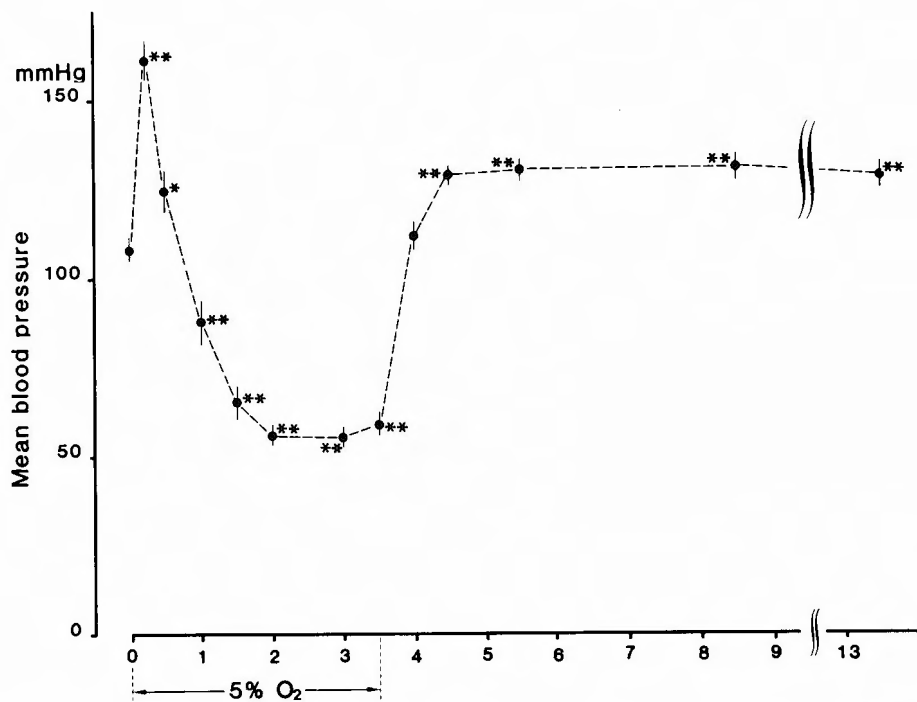


Fig. 3. Time course of the effects of 5% O₂ gas inhalation on arterial blood pressure. Values are mean $\pm$ standard error (vertical bar).

** : significantly different from the value before the gas inhalation at $p > 0.01$.

動物群間には、低酸素吸入後における血圧の一過性上昇およびその後の血圧低下に有意な差は認められなかった (Table-2).

3) 誘発フィールド電位に対する影響

前庭神経刺激により前庭神経外側核においてネコにおける実験の場合と同様に^{39,38)}、3成分よりなる誘発フィールド電位が得られ、それぞれ P, N₁ および N₂ と名づけた (Fig. 4). P波はシナプス前成分であ

り、N₁ および N₂ 波はそれぞれシナプス後成分のうちの単シナプス性および多シナプス性成分と考えられる。これら各成分の平均ピーク潜時は、それぞれ0.31, 1.04および 2.05 msec ($n=6$) であった。また、P, N₁ および N₂ 波のピークからピークまでの平均電位、すなわち Fig. 4 に示すようにP波ではPからP'まで、N₁波では、P'からN₁まで、またN₂波ではN₁'からN₂までの平均振幅は、それぞれ272, 385および90 μ V

Table 2. Effects of 5% O₂ gas inhalation on arterial blood pressure

	control	5% O ₂ inhalation			recovery ^{#3} 10 min
		10 sec	1 min	3 min	
LVN ^{#1} ($n=17$)	111.5 $\pm$ 4.8	166.6 $\pm$ 8.4	94.7 $\pm$ 9.1	56.4 $\pm$ 3.2	134.8 $\pm$ 4.4
STN ^{#2} ($n=12$)	102.9 $\pm$ 4.2	152.9 $\pm$ 10.2	77.5 $\pm$ 7.4	54.1 $\pm$ 2.0	116.1 $\pm$ 4.5
Total ($n=29$)	108.0 $\pm$ 3.4	160.9 $\pm$ 6.5	87.6 $\pm$ 6.2	55.4 $\pm$ 2.0	127.1 $\pm$ 3.6

Values are mean $\pm$ S.E. (mmHg). LVN1^{#1} and STN^{#2} show the data obtained from the animals for the experiments on lateral vestibular nucleus (LVN) and spinal trigeminal nucleus (STN), respectively. recovery^{#3}: 10 min after the cessation of 5% O₂ gas inhalation. n: number of animals

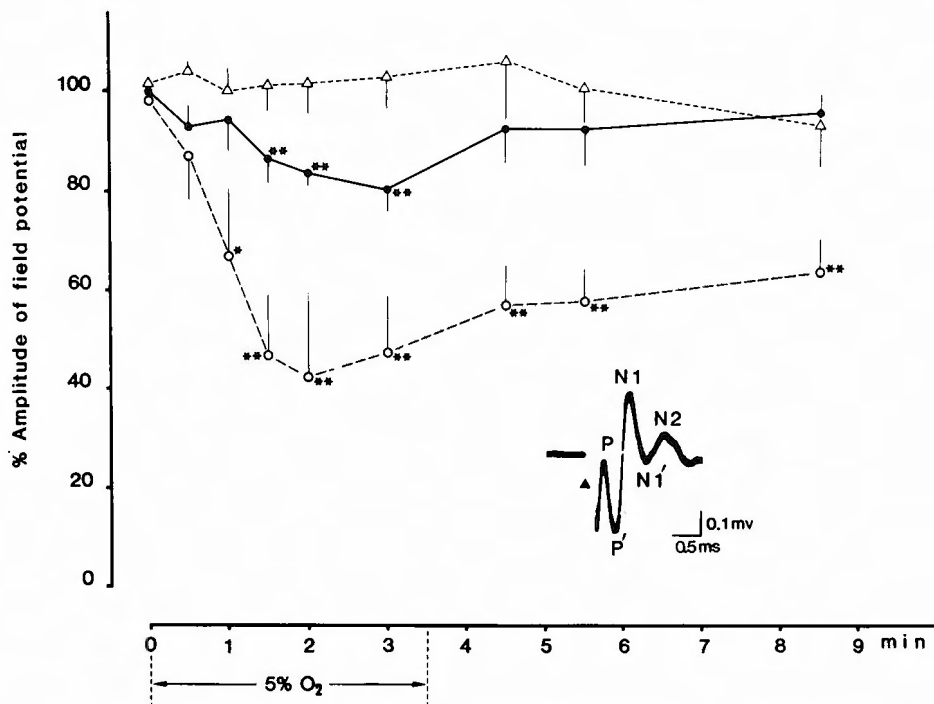


Fig. 4. Effects of 5% O_2 gas inhalation on the amplitude of the field potential evoked by vestibular nerve stimulation (Δ) in the lateral vestibular nucleus. The amplitudes of P, N1 and N2 waves were measured from P to P', from P' to N1 and from N1' to N2, respectively. Each value is expressed as % of the values before the gas inhalation. Δ —: P, $\bullet$ — $\bullet$: N1, $\circ$ — $\circ$: N2. Vertical bars: standard errors. Number of animals: 6. * and **: significantly different from the values before the gas inhalation at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

($n=6$)であった。これら誘発フィールド電位の各成分について、低酸素吸入の影響を検討した結果を Fig. 4 および Table-3 に示す。3分30秒間の低酸素吸入において、P波は振幅、潜時共に影響を受けなかった。一方、N₁波の振幅は、低酸素吸入1分30秒後より有意 ($p < 0.01$) に減少し、3分後において吸入前値の80.2%となった。また、N₂波は、低酸素吸入により、N₁波よりもさらに強い抑制を受け、低酸素吸入1分後より抑制され、3分後には吸入前値の47.4%にまで減少した。低酸素吸入中止1分後には、N₁波の振幅は、ほぼ前値に回復したか、N₂波の回復は不完全であった。一方、N₁およびN₂波の潜時は、低酸素の吸入により延長の傾向がみられたが、統計的に有意な変化ではなかった。

三叉神経脊髄路核においては、歯髄刺激により N₁ および N₂ と呼ばれる2成分よりなる誘発フィールド電位が得られる¹⁸⁾ (Fig. 5)。N₁波はシナプス前成分、N₂波はシナプス後成分とされている。これら各成分

の平均ピーク潜時は、それぞれ0.53および1.21 msec ($n=5$)であり、N₁波 (N₁からN_{1'}まで) およびN₂波 (N₂からN₁まで)の平均電位はそれぞれ266および74 μV ($n=5$)であった。低酸素3分30秒間の吸入により、N₁およびN₂波の振幅ならびに潜時は、共に有意の影響を受けなかった (Fig. 5, Table-3)。

4) 単一ニューロンの自発発火に対する影響

水平角加速度刺激に反応する前庭神経外側核ニューロンは、回転方向に対するニューロン自発発火の反応の様式により、type I から type IV まで分類されている^{26, 38, 39)}。すなわち、発火頻度が同側への回転時に増加し、反対側への回転時に減少するものを type I、この逆の反応を示すニューロンを type II、さらにどちら側への回転でも増加するものを type III とし、どちら側への回転でも減少するものを type IV として分類されている。検討した16個の前庭神経外側核ニューロンのうち、type I は4個、type II は10個、type III は2個であり、type IV は認められなかった。検討した16

Table 3. Effects of 5% O₂ gas inhalation of field potentials in the lateral vestibular nucleus (LVN) upon vestibular nerve stimulation and the spinal trigeminal nucleus (STN) upon tooth pulp stimulation

		control		5% O ₂ inhalation 3 min		recovery#	
		amp. (%)	latency (msec)	amp. (%)	latency (msec)	amp. (%)	latency (msec)
LVN (n=6)	P	100	0.31±0.01	102.9± 6.3	0.34±0.02	93.5±7.8	0.32±0.01
	N1	100	1.04±0.08	80.2± 3.5**	1.21±0.09	95.9±3.3	1.12±0.09
	N2	100	2.05±0.13	47.4±10.8**	2.33±0.12	63.6±5.6	2.03±0.16
STN (n=5)	N1	100	0.53±0.03	97.1± 6.8	0.55±0.06	95.4±7.8	0.51±0.05
	N2	100	1.21±0.08	95.3± 4.9	1.29±0.09	96.8±6.9	1.23±0.09

P, N1, and N2 in the LVN, and N1 and N2 in the STN: See Figs. 4 and 5, respectively
The amplitudes (amp.) are expressed as % of those before the gas inhalation. The values are mean±S.E. n: number of animals
recovery#: 5 min after cessation of the gas inhalation.
**: significantly different from the respective values before the gas inhalation at p<0.01

個中13個のニューロンの自発発火は、Fig. 6A に示すように低酸素吸入開始後、10〜30秒にわたり一過性に

自発発火が増加し、その後次第に減少し、3分後には吸入前値の 11.9/sec から 0〜4/sec へと減少した。

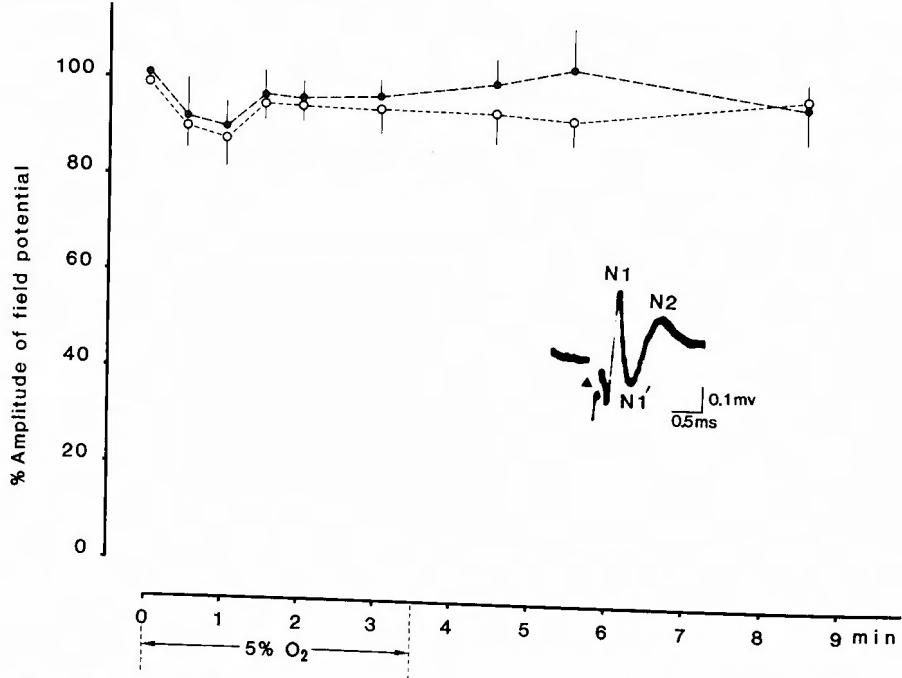


Fig. 5. Effects of 5% O₂ gas inhalation on the amplitude of the field potentials evoked by tooth pulp stimulation (▲) in the spinal trigeminal nucleus. The amplitudes of N1 and N2 waves were measured from N1 to N1' and N1' to N2, respectively. Each value is expressed as % of the values before the gas inhalation. ●—●: N1, ○—○: N2. Vertical bars: standard errors. Number of animals: 5

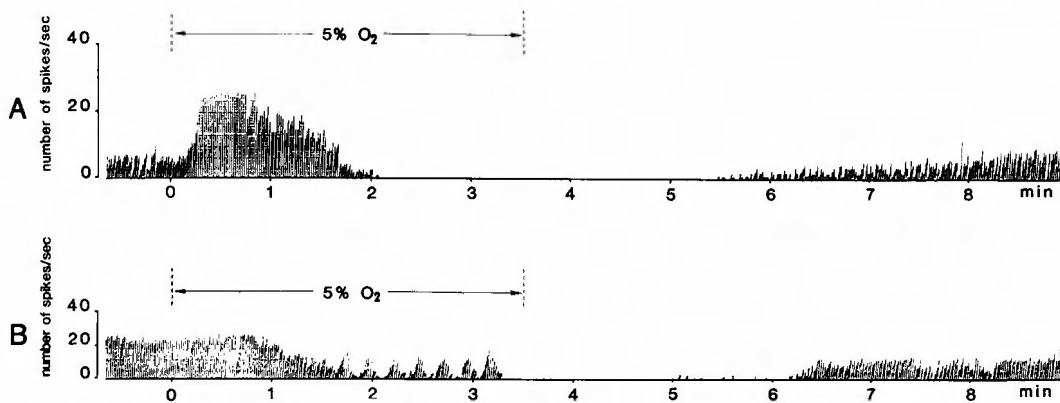


Fig. 6. Effects of 5% O₂ gas inhalation on the spontaneous firing of lateral vestibular nucleus neurons. A: The neuron showing a transient increase in firing and then a decrease with hypoxia. B: The neuron in which the firing rate was gradually decreased during hypoxia.

一方、残りの3個では、Fig. 6Bに示すように低酸素吸入直後より、発火頻度の増加は認められず、次第に減少した。しかし、低酸素吸入中止5～10分後より発火数は徐々に回復し吸入前の値に戻った。検討した16個において、平均スパイク数は吸入前 15.2 ± 3.0 /sec

から吸入30秒後には 21.6 ± 3.2 /sec に増加し、3分後には 2.5 ± 1.7 /sec へと有意に減少した (Fig. 7)。なお、ニューロンの type 別による低酸素吸入に対する反応の差異は認められなかった。

三叉神経脊髄路核ニューロンでは、10個のニューロ

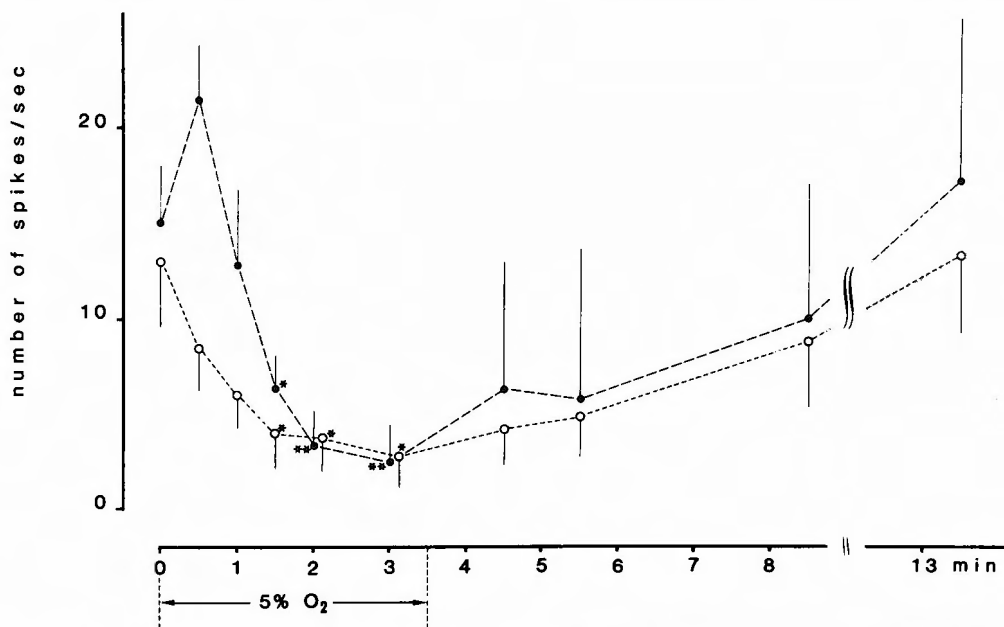


Fig. 7. Time course of the effects of 5% O₂ gas inhalation on the spontaneous firing of single neurons in the lateral vestibular nucleus (LVN) and spinal trigeminal nucleus (STN). Values are mean spikes/sec during each 10 sec. ●—●: LVN neuron (n=16), ○---○: STN neuron (n=10). Vertical bars: standard errors. * and **: significantly different from the values before the gas inhalation at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

ンについて検討したが、10個中8個のニューロンにおいて抑制を認め、他の2個は影響を受けなかった。しかしながら、前庭神経外側核ニューロンで見られたような一過性の自発発火の増強を認めたものは、検討した10個中1個のみであった。

5) 単一ニューロンの誘発スパイクに対する影響

前庭神経刺激により、ネコにおけると同様¹⁰⁾に、潜時約 1 msec で発火する単シナプス性ニューロンと、潜時 2 msec 以上で発火する多シナプス性ニューロンとが記録されたが、今回の実験では、単シナプス性ニューロンについてのみ検討した。すなわち、検討した12個のニューロンの前庭神経刺激により誘発される平均スパイク数および潜時は、それぞれ1.47個、および1.14 msec であった。低酸素吸入3分後において、検討した12個中8個のニューロンにおいてスパイク発射の有意な抑制が認められた (Fig. 8)。抑制を認めた8

個のニューロンの平均誘発スパイク潜時は 1.29 ± 0.10 msec であったのに対し、抑制を受けなかった4個の平均スパイク潜時は 0.90 ± 0.10 msec であり、前者に比べて短く、両者の間には有意な差が認められた。これら12個のニューロンの平均値について検討したところ、平均誘発スパイク数は低酸素吸入開始1分30秒後より有意 ($p < 0.01 \sim 0.05$) に減少し、吸入3分後には0.54に減少した。この抑制は吸入終了まで続き、吸入中止5~10分後には前値にほぼ回復した (Fig. 9, Table-4)。

三叉神経脊髄路核において、歯髄刺激に応答する7個のニューロンについて低酸素吸入の影響を検討した。歯髄刺激により誘発される平均スパイク数および潜時は、それぞれ、1.79個および2.85 msec ($n=7$) であった。この誘発スパイクは、3分30秒間の低酸素の吸入により、検討した7個のニューロンのすべてにおいて

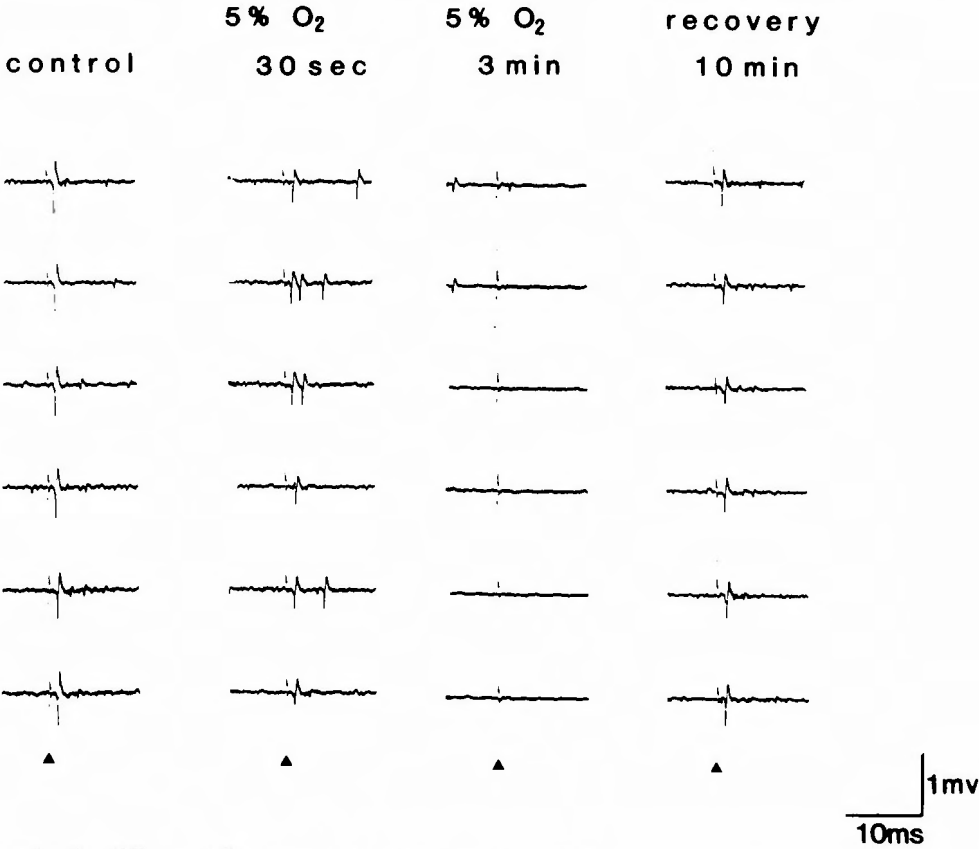


Fig. 8. Effects of 5%O₂ gas inhalation on spikes of the monosynaptic neuron in the lateral vestibular nucleus upon vestibular nerve stimulation After the cessation of 5%O₂ gas inhalation, the spikes were recovered. ▲ stimulus artifact

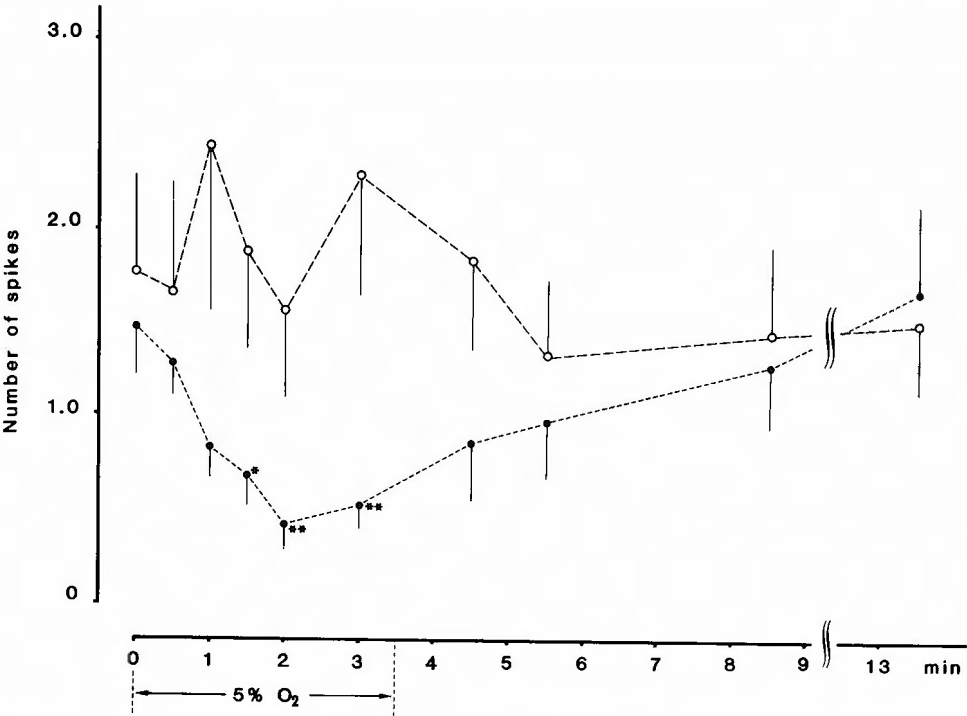


Fig. 9. Time course of the effects of 5% O₂ gas inhalation on spikes of neurons in the lateral vestibular nucleus (LVN) upon vestibular nerve stimulation and in the spinal trigeminal nucleus (STN) upon tooth pulp stimulation ●—●: LVN (n=12), ○—○: STN (n=7). Values are mean±standard error (vertical bar). * and **: significantly different from the values before the gas inhalation at p<0.05 and p<0.01, respectively

抑制されなかった. 7 個のニューロンの平均誘発スパイク数は低酸素吸入により, むしろ増加傾向がみられたが, 統計的には有意な変化ではなかった. (Fig. 9, 10 および Table-4).

6) 前庭神経外側核ニューロンの glutamate 反応に対する影響
前庭神経外側核における17個の単シナプス性ニューロンの glutamate 反応に対する低酸素吸入の影響を検

Table 4. Effects of 5% O₂ inhalation on evoked spikes of neurons in the lateral vestibular nucleus (LVN) upon vestibular nerve stimulation and in the spinal trigeminal nucleus (STN) upon tooth pul stimulation

		control	5% O ₂ inhalation 3 min	recovery# 10 min
LVN (n=12)	number of spikes	1.47±0.26	0.54±0.14**	1.69±0.47
	latency (msec)	1.14±0.08	1.89±0.43	1.20±0.13
STN (n=7)	number of spikes	1.79±0.51	2.31±0.67	1.51±0.34
	latency (msec)	2.85±0.75	3.18±1.14	3.07±0.82

Values are mean±S.E. recovery#: 10 min after the cessation of 5% O₂ gas inhalation. **: significantly different from the values before the gas inhalation at p<0.01
n: number of neurons

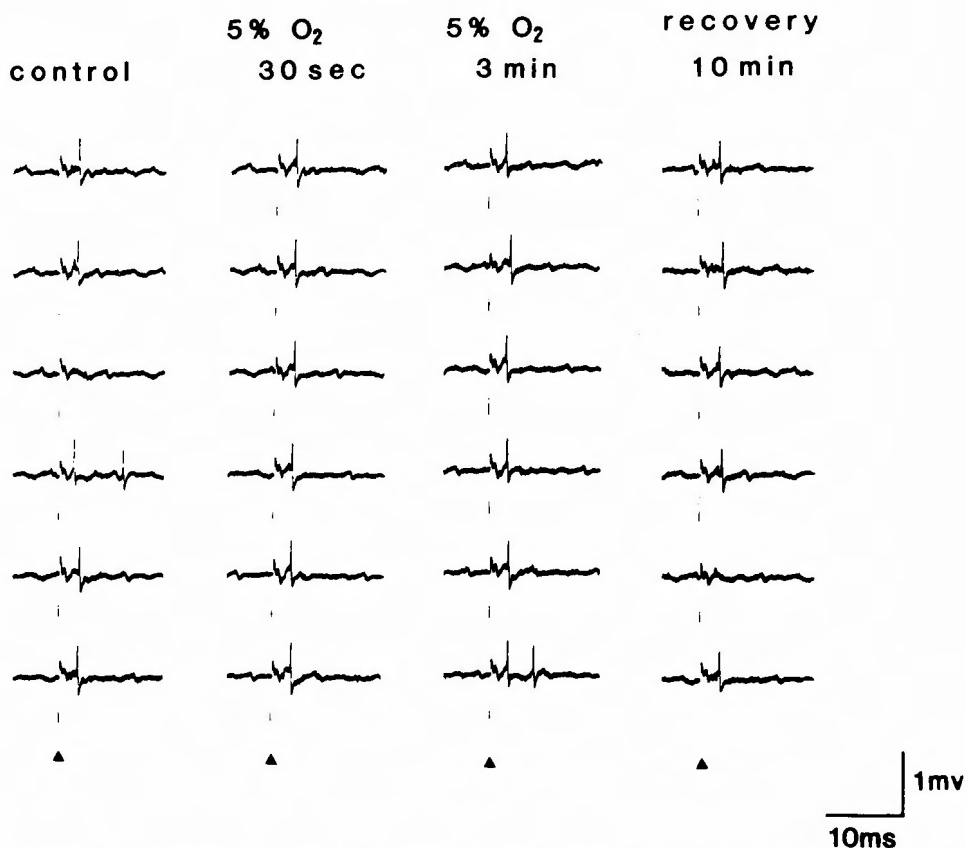


Fig. 10. Effects of 5%O₂ gas inhalation on spikes of neurons in the spinal trigeminal nucleus upon tooth pulp stimulation ▲: stimulus artifact

討した. glutamate を5秒間投与し、ニューロンの発火数が50-70/secとなるように glutamate の投与量を決定した. glutamate を5秒間投与した時の最大スパイク数/sec を低酸素吸入前、吸入中および吸入中止後にそれぞれ計測した. Fig. 11 に示すように低酸素吸入開始後、glutamate により誘発される発火数の増加

は漸次抑制され、吸入中止後次第に回復した. このような低酸素吸入による glutamate 反応の抑制は、検討した17個のニューロンのうち13個において認められた. 残りの4個のニューロンでは、低酸素吸入に対する glutamate 反応の抑制は有意ではなかった. 17個のニューロンの glutamate 反応の平均値に対する低酸素吸

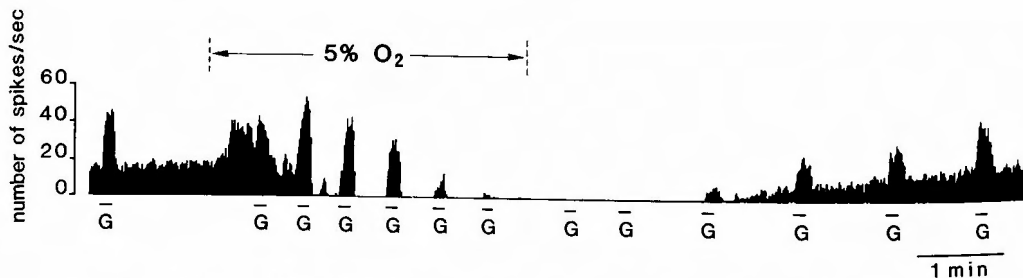


Fig. 11. Effects of 5%O₂ inhalation on glutamate-induced firing of monosynaptic neuron in the lateral vestibular nucleus. Glutamate (G) is microiontophoretically applied at a dose of 40 nA during the period indicated with respective solid underline.

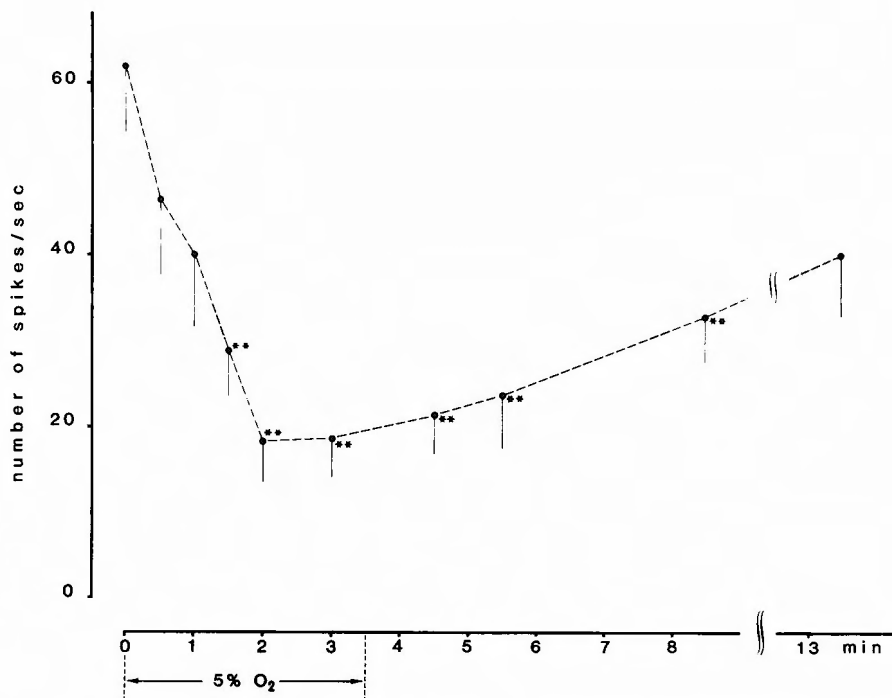


Fig. 12. Time course of the effects of 5% O₂ gas inhalation on glutamate-induced firing of the monosynaptic neurons in the lateral vestibular nucleus. Values are mean ± standard error (vertical bar). Number of neurons: 17

** : significantly different from the value before the gas inhalation at $p < 0.01$

入の影響は, Fig. 12 に示すように, 低酸素吸入 1 分 30 秒後より有意 ($p < 0.01$) に抑制された. また, 検討した 17 個のうち, 5 個のニューロンにおいては, acetylcholine の投与により, 自発発火数の 50% 以上の増加が見られた. これら 5 個のニューロンのうち 3 個において, 低酸素吸入による抑制が認められ, 一方, acetylcholine により発火数が増加しない他の 12 個のニューロンでは, 12 個中 11 個のニューロンにおいて glutamate 反応は, 低酸素吸入により抑制された. すなわち acetylcholine に反応するニューロンの glutamate 反応と acetylcholine に反応しないニューロンの glutamate 反応は, ともに低酸素吸入により抑制され, 両ニューロン群間には差を認めなかった.

考 察

5% O₂ + 95% N₂ の組成の低酸素濃度ガスを吸入させることにより, 3 分後には著明な低酸素血症が得られた. この条件下において, 前庭神経外側核では, 前庭神経刺激によって得られる誘発フィールド電位のシナプス後電位のうちの単シナプス性成分である N₁ 波,

および多シナプス性成分である N₂ 波の両者がともに抑制され, さらに, 単一ニューロンの自発発火および前庭神経刺激による誘発スパイクが, 共に誘発フィールド電位の抑制時と同様の時間経過で抑制された. 一方, 同様の低酸素吸入条件下で, 三叉神経脊髄路核ではニューロンの自発発火の抑制は認められたが, 歯髄刺激による誘発フィールド電位および単一ニューロンの誘発スパイクは, 抑制的な影響を受けなかった.

pH, Pa(O₂) および Pa(CO₂) のいずれも, 前庭神経外側核における実験に使用した動物群と三叉神経脊髄路核における実験に使用した動物群において差は認められず, また, ともに血圧の低下を認めたが, 両群間にその程度の差はなかった. これらのことにより, 低酸素状態における両群間の反応の差が, 実験条件の違いより生じたとは考えがたい. 従って, 低酸素状態において, 三叉神経脊髄路核ニューロンでは, 歯髄などからの刺激の伝達は影響を受けないが, 前庭神経外側核ニューロンは感受性が高く, 低酸素状態により末梢前庭からの入力伝達が抑制されると結論できる.

前庭神経外側核誘発フィールド電位において, シナ

プス前成分であるP波は低酸素吸入の影響を受けなかったことから、前庭神経における軸索伝導は、少なくとも今回の低酸素条件下では正常に機能していると考えられる。したがって、前庭神経外側核ニューロンにおける伝達の抑制は、前庭神経シナプス前終末からの神経伝達物質の放出の抑制、またはシナプス後ニューロンにおける受容体の抑制、あるいはシナプス後ニューロン自体の興奮性の抑制のいずれか、あるいはこれらの抑制効果が重なったことによると考えられる。

これまでの報告では、シナプス伝達が低酸素により最も早期に障害されるという点については一致しているか、抑制を受ける部位については意見の一致を見ない。Collewijnら⁹⁾は、ネコの脊髄運動ニューロンでの大動脈遮断による全脳虚血モデルにおいて、順行性のスパイクが、逆行性のスパイクより、より早期に抑制されることより、シナプス前終末における抑制が、最も早期に起こるとした。また、Ecclesら⁸⁾もネコの脊髄運動ニューロンにおいて、低酸素吸入時におこるシナプス前終末における脱分極が、シナプス伝達の抑制の原因であるとした。しかしながら、*in vitro*の海馬スライスにおける実験では、低酸素により興奮性シナプス後電位(EPSF)が消失した後も、まだシナプス前電位が残存する事²²⁾から、シナプス後ニューロンにおける変化がシナプス伝達抑制の原因であるとしている。

一方、低酸素下におけるシナプス伝達の抑制がシナプス前終末における神経伝達物質に関連した変化によるものと考え方があ。なかでも acetylcholine 系の変化が関与していることを示唆する幾つかの報告がある。酸素代謝と acetylcholine 合成は密接に関連しており^{11,25)}、人で精神症状を呈する程度の低酸素により、けっし類の脳において、acetylcholine 合成が減少する^{12,14)}ことが示されている。また、*in vitro*において、低酸素下で acetylcholine 遊離の低下¹⁷⁾が起こること、交感神経節においてエネルギー代謝や軸索伝導には影響をおよぼさない程度の低酸素で、コリン性伝達が抑制される⁷⁾ことなどの報告がある。

一方、前庭神経外側核において、acetylcholine が前庭神経より単シナプス性ニューロンへの神経伝達物質であるという神経化学的^{9,29)}、組織化学的^{23,33)}および電気生理学的^{20,24,29,43)}証拠があり、今回の実験において前庭神経外側核ニューロンにおける伝達が低酸素条件下で選択的に抑制されたことは、acetylcholine 系の抑制に基づくという可能性も考えられる。

しかしながら、細胞体に直接作用し非特異的にニュー

ロンの自発発火の頻度を増加させる³⁵⁾ glutamate を前庭神経外側核ニューロンに microiontophoresis 法により投与した場合、glutamate に対する反応は、低酸素吸入により、誘発フィールド電位、および単シナプス性ニューロンの誘発スパイクと同様の時間経過で抑制され、さらに、acetylcholine に反応するニューロンも反応しないニューロンも glutamate に対する反応において差はみられなかった。これらのことは、勿論前庭神経シナプス前終末部での変化の可能性を直接否定するものではないが、シナプス後ニューロンにおける興奮性の低下それ自体が、今回の低酸素条件下で前庭神経外側核ニューロンにみられた選択的な抑制に関与していることを示していると考えられる。

前庭神経外側核ニューロンにおいては、低酸素吸入開始後、一過性に増加し、その後抑制されるという自発発火の二相性の変化が、検討した80%以上のニューロンにおいて認められた。このような低酸素下におけるニューロンの自発発火の二相性の変化は、大脳皮質および脊髄ニューロンにおいても認められており^{13,36)}末梢の chemoreceptor を介し上行性網様体を賦活するためとする説⁶⁾と、ニューロンに対する低酸素の直接作用により膜の脱分極をおこし、一過性に興奮性が高まるためとする説^{3,36)}がある。今回用いた低酸素モデルにおいては、血圧は、低酸素吸入開始後一過性に上昇を示した後、次第に低下した。この血圧の経過とニューロンの自発発火の変化の経過とは、良く一致する。血管拡張作用を有し、脳血流を増加させるとされている ATP³¹⁾ および clinnarizine¹⁰⁾ が、前庭神経外側核ニューロンの興奮性を高めることが報告されており、本実験におけるニューロンの自発発火の一過性の亢進は、血流の変化によるものである可能性も否定できない。

結 語

平衡感覚の第一次中継核である前庭神経外側核のニューロン活動に対し、低酸素負荷がいかなる影響を及ぼすかを解明するため、同じ延髄にあり知覚感覚の第一次中継核である三叉神経脊髄路核ニューロンのそれと比較しつつ、ラットを用いて電気生理学的方法により研究した。

1) 5%酸素+95%窒素の組成よりなる低酸素濃度ガスを3分30秒間吸入させることにより、低酸素状態とした。この条件下で吸入3分後に P_{aO_2} は、85.3 mm Hg (n=22) から 22.4 mmHg に低下し、十分な低酸

素血症が得られた。血圧は低酸素吸入後、一過性の上昇がみられたが、その後平均コントロール値 108.0 mmHg (n=29) から 55.4 mmHg へ低下し、吸入中止後速やかに吸入前値に回復した。

2) 前庭神経外側核においては、低酸素吸入により、前庭神経刺激による誘発フィールド電位の後シナプス成分の単シナプス性電位 N_1 波および多シナプス性電位 N_2 波、さらに単シナプス性ニューロンにおける誘発スパイク、ならびに glutamate による発火頻度の増加が、いずれも同様の時間経過で抑制された。前庭神経外側核ニューロンの自発発火は16個の全例において抑制を認めたが、80%以上のニューロンで、一過性にスパイク発射の増大が認められ、血圧の変動と平行した動きを示した。

3) 比較とした三叉神経脊髄路核においては、低酸素ガス吸入下において、ニューロンの自発発火は10個中8個のニューロンにおいて抑制されたが、歯髄刺激による誘発フィールド電位および誘発スパイクはいずれも影響を受けなかった。

以上より、前庭神経外側核ニューロンにおける末梢からの刺激伝達は、低酸素条件下において選択的抑制を受け、この抑制は、シナプス後ニューロンの興奮性の低下によるものと結論される。また、低酸素や脳虚血等に対し中枢前庭神経系は機能的に脆弱であることが、示唆された。

稿を終えるに臨み、御校閲を賜りました京都大学名誉教授半田 肇先生（現浜松労災病院院長）、京都大学脳神経外科学教室教授菊池晴彦先生、京都大学薬理学教室教授高折修二先生に深甚なる感謝の意を捧げます。また終始実験の御指導を頂きました京都大学薬理学教室助教授笹 征史先生、および御鞭撻御討論を頂きました京都大学脳神経外科学教室講師石川正恒先生に深謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Akopyan NS, Baklavadzhyan OG, Karapetyan MA: Effects of acute hypoxia on the EEG and impulse activity of the neurons of various brain structures in rats. *Neurosci Behav Physiol* **14**: 405-411, 1984
- 2) Burns RA: Basilar-vertebral artery insufficiency as a cause of vertigo. *Otolaryngol Clin N Amer* **6**: 287-300, 1973.
- 3) Chalozonitis N: Stimulation and depression of neurons by change in gas partial pressures and pH. *J Physiol (Lond)* **202**: 2-3, 1969.
- 4) Cohen MM: Clinical aspects of cerebral anoxia. In *Handbook of clinical neurology* vol. 27. edited by Vinken PJ, Bruyn GW, North-Holland Publishing Company 1976, p. 39-51.
- 5) Collweil H, Van Harreveld A: Intracellular recording from cat spinal motoneurons during acute asphyxia. *J Physiol (Lond)* **185**: 1-14, 1966.
- 6) Dell P, Hygelin A, and Bonvallet M: Effects of hypoxia on the reticular and cortical diffuse systems. In *Cerebral anoxia and the EEG*. edited by Gastout H, Meyer J, Springfield 1961, p. 46-58.
- 7) Dolivo M: Metabolism of mammalian sympathetic ganglia. *Fed Proc* **33**: 1043-1048, 1974.
- 8) Eccles RM, Løying Y, Oshima T: Effects of hypoxia on the monosynaptic reflex pathway in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* **29**: 315-332, 1966.
- 9) Feldberg W, Vogt J: Acetylcholine synthesis in different regions of the central nervous system. *J Physiol (Lond)* **107**: 372-381, 1948.
- 10) Fujimoto S, Sasa M, Takaori S, et al: Selective effect of cinnarizine on the vestibular nucleus neurons. *Arch Otorhinolaryngol* **221**: 37-45, 1978.
- 11) Gibson GE, Jope R, and Blass JP: Decreased synthesis of acetylcholine accompanying impaired oxidation of pyruvic acid in rat brain minces. *Biochem J* **148**: 17-23, 1975.
- 12) Gibson GE, Blass JP: Impaired synthesis of acetylcholine in brain accompanying mild hypoxia and hypoglycemia. *J Neurochem* **27**: 37-42, 1976.
- 13) Gibson GE, Duffy TE: Impaired synthesis of acetylcholine by mild hypoxic hypoxia or nitrous oxide. *J Neurochem* **36**: 28-33, 1981.
- 14) Gibson GE, Peterson C and Sansone J: Decreases in amino acid and acetylcholine metabolism during hypoxia. *J Neurochem* **37**: 192-201, 1981.
- 15) Gorman ALF: Differential patterns of activation of the pyramidal system elicited by surface anodal and cathodal cortical stimulation. *J Neurophysiol* **29**: 547-564, 1966.
- 16) Hansen AJ, Hounsgaard J, Jahnsen H: Anoxia increases potassium conductance in hippocampal nerve cells. *Acta Physiol Scand* **115**: 301-310, 1982.
- 17) Hirch JA, Gibson GE: Selective alteration of neurotransmitter release by low oxygen in vitro. *Neurochem Res* **9**: 1039-1049, 1984.
- 18) Igarashi S, Sasa M, Takaori S: Feedback loop between locus coeruleus and spinal trigeminal nucleus neurons responding to tooth pulp stimulation in the rat. *Brain Res Bull* **4**: 75-83, 1979.
- 19) Ikeda Y, Takaori S, Takaori S: Selective effect of ethanol on the vestibular nucleus neurons in the cat. *Japan J Pharmacol* **30**: 665-673, 1980.

- 20) Ito J, Sasa M, Takaori S, et al: Electrophysiologic evidence for involvement of acetylcholine as a neurotransmitter in the lateral vestibular nucleus. *Otolaryngol Head Neck Surg* **89**: 1025-1029, 1981.
- 21) Jaju BP, Wang SC: Effects of diphenhydramine and diphenhydramate of vestibular neuronal activity of cat: A search for the locus of their antinotion sickness action. *J Pharmacol Exp Ther* **176**: 718-724, 1971.
- 22) Kass IS, Lipton P: Mechanisms involved in irreversible anoxic damage to the in vitro hippocampal slice. *J Physiol (Lond)* **332**: 459-472, 1982.
- 23) Kimura H, McGeer PL, Peng JH, et al: The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immuno-histochemistry in the cat. *J Comp Neurol* **200**: 151-201, 1981.
- 24) Kirsten EB, Sharma JN: Microiontophoresis of acetylcholine, histamine and their antagonists on neurons in the medial and lateral vestibular nuclei of the cat. *Neuropharmacology* **15**: 743-753, 1976.
- 25) Ksiezak H, Gibson GE: Acetylcholine synthesis and CO₂ production from variously labelled glucose in rat brain slices and synaptosomes. *J Neurochem* **37**: 88-94, 1981.
- 26) Lannou J, Precht W, Cazin L: The postnatal development of functional properties of central vestibular neurons in the rat. *Brain Res* **175**: 219-232, 1979.
- 27) Lipton P, Whittingham TS: The effect of evoked potential in the in vitro Hippocampus. *J Physiol (Long)* **287**: 427-438, 1979.
- 28) Matsuoka I: Vestibular pharmacology. *Folia Pharmacol Japon* **77**: 337-346, 1981.
- 29) Matsuoka I, Domino EF: Cholinergic mechanism in the cat vestibular system. *Neuropharmacology* **14**: 201-210, 1975.
- 30) Matsuoka I, Domino EF: Effects of cholinergic agonists and antagonists on nucleus vestibularis lateralis unit discharge to vestibular nerve stimulation in the cat. *Acta Otolaryngol* **80**: 422-428, 1975.
- 31) Mori T, Sasa M, Takaori S, et al: Effects of adenosine triphosphate on neuron activities in the lateral and medial vestibular nuclei. *Arch inter Pharmacodyn Ther* **274**: 129-138, 1985.
- 32) Negishi K, Sugawara K: Evidence for the anoxia sensitivity of the synaptic region at the outer plexiform layer in the fish retina. *Vision Res* **13**: 983-987, 1973.
- 33) Palkovits M, Jacobowitz DM: Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase-containing neurons in the rat brain. II Hindbrain (mesencephalon, rhombencephalon). *J Comp Neurol* **157**: 29-42, 1974.
- 34) Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, 1982.
- 35) Phillis JW: The excitatory amino acids. In: *The Pharmacology of Synapses* edited by Phillis JW, Pergamon Press, 1966, p. 230-234.
- 36) Speckmann EJ, Caspers H, and Bingmann D: Actions of hypoxia and hypercapnia on single mammalian neurons. In: *Oxygen Transport to Tissue: Instrumentation, Methods and Physiology* edited by HI Bicher, DF Bruley Plenum Press, New York, P. 245-250, 1973.
- 37) Schiff SJ, Somjen GG: Hyperexcitability following moderate hypoxia in hippocampal tissue slices. *Brain Res* **337**: 337-340, 1985.
- 38) Shimizu H, Precht W: Tonic and kinetic responses of cat's vestibular neurons to horizontal angular acceleration. *J Neurophysiol* **28**: 991-1013, 1965.
- 39) Shimazu H, Precht W: Inhibition of central vestibular neurons from the contralateral labyrinth and its mediating pathway. *J Neurophysiol* **29**: 467-492, 1966.
- 40) Takatani T, Sasa M, Takaori S, et al: Effects of diphenhydramine iontophoretically applied onto neurons in the medial and lateral vestibular nuclei. *Japan J Pharmacol* **33**: 557-561, 1983.
- 41) Troost BT: Episodic vertigo in current therapy edited by Cohn HF, WB Saunders, 1979, p. 699-703.
- 42) Unemoto H, Sasa M, Takaori S, et al: Inhibitory effect of betahistine on polysynaptic neurons in the lateral vestibular nucleus. *Arch Otorhinolaryngol* **236**: 229-236, 1982.
- 43) Yamamoto C: Pharmacologic studies of norepinephrine, acetylcholine and related compounds in Deiters' nucleus and the cerebellum. *J Pharmacol Exp Ther* **156**: 39-47, 1967.
- 44) Yokoyama S, Ozaki T, Kajituka T: Excitation conduction in Meissner's plexus of rabbit small intestine. *Amer J Physiol* **232**: E109-E113, 1977.