全身振動刺激に対するラット脳内ドーパミン代謝 およびドーパミン関連ペプチドの応答

The Effects of Whole Body Vibration on Dopamine Metabolism and Dopamine-related Peptides in the Rat Brain

金沢大学医学部公衆衛生学教室

中 村 裕 之

Hiroyuki Nakamura

Department of Public Health, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa

In order to clarify the involvement of the central nervous system (CNS) in the responses of organisms to exposure to whole body vibration, dopamine (DA) metabolism and levels of DA-related neuropeptides: substance P-like immunoreactivity (SP-LI), somatostatin-like immunoreactivity (SRIF-LI) and neurotensin-like immunoreactivity (NT-LI) in various discrete regions of the rat brain were examined in the following three groups; a group exposed to whole body vibration (4G, 20 Hz, 1.5 hours), a group exposed to noise (68-72 dB(A), 1.5 hours) associated with the driving of a vibration generator, and a control group. Simultaneously, changes of both rectal temperatures and plasma corticosterone levels and the development of gastric ulcers were examined as indices of the autonomic-endocrine function.

1. Rectal temperatures and plasma corticosterone levels were increased by the exposure to whole body vibration, as compared with those of the group exposed to noise. Furthermore, gastric ulcers developed in all of the rats exposed to whole body vibration.

2. The whole body vibration increased the DA turnover rate in the frontal cortex and the nucleus accumbens, compared with those in the noise group. SP-LI in the nucleus accumbens was also increased significantly.

3. The striatal SRIF-LI was increased in the rats subjected to whole body vibration.

4. SP-LI and SRIF-LI in the amygdala were increased in the whole body vibration group as compared with in the noise group. A significant increase of NT-LI was also observed in the hypothalamus.

5. SP-LI was reduced and NT-LI was increased in the frontal cortex of the rats exposed to whole body vibration.

6. The noise exposure caused no changes in rectal temperature, plasma corticosterone levels or gastric mucosa. However, the DA turnover in the amygdala increased significantly compared with that of the control group, suggesting that the DA neurons projecting to the amygdala were involved in emotional changes induced by the exposure to noise stress.

7. The combined effects of noise and whole body vibration could not be observed in this study.

In conclusion, the findings obtained in the present study indicate that DA systems in the CNS, especially the mesocortical DA system, may be involved in various responses of the organism, including emotional changes in a functional relationship with SP, SRIF and NT neuron systems in various brain regions when subjected to whole body vibration.

Key words: Whole body vibration, Rat brain, Dopamine metabolism, Substance P, Somatostatin, Neurotensin

全身振動, ラット脳, ドーパミン代謝, サブスタンスP, ソマトスタチン, ニューロテンシン

緒 言

産業の発展にともない、物理的環境因子の生体に及ぼす影響が労働あるいは生活環境において問題にされるようになってきた。本研究はこの物理的環境因子のうちの全身振動を対象とした。全身振動は、局所振動と異なり、振動が全身に伝達される場合をいい、それには地盤振動によって誘起される家屋の振動や産業職場での車輛による振動などがある。

全身振動による影響や障害は、共振振動数が臓器によって異なるので、暴露される振動数によって様々である。一般に、自律神経-内分泌系への影響を主体とし、循環器系、呼吸器系、消化器系の症状が出現するが、さらに精神症状、聴力の減退、内耳の変化などもみられる。これらの変化のうち、全身振動刺激による物理的伸展力や牽引力が直接臓器に働き、障害を引き起こした結果と考えられるものもある。しかしその多くは、皮膚や深部組織に存在する振動感受器や前庭器官に達した情報が脊髄あるいは脳幹を介し、さらに上位の中樞神経系に伝達され、処理された結果によると考えることができる。したがって、全身振動による生体反応の発現機序を明らかにするには、生体の機能を統御している中樞神経系との関連で究明する必要がある。

ところで、脳内神経伝達物質を介するニューロン間の情報伝達機構が複雑な脳機能の基盤となっているのは周知の通りである。ところが、全身振動刺激と脳内神経伝達物質との関係を系統だてて検討した研究はほとんどない²⁾。全身振動による生体反応が一種のストレス反応と考えることができるとすれば、刺激の入力方法や伝達系が異なると想定される拘束、寒冷、電気ショックストレスに共通して観察される生体反応が全身振動の際にもみられることは想像に難くない。したがって、全身振動の際に中枢神経が果たす役割を知るには、上述したストレスの脳内神経伝達物質に対する影響と全身振動刺激に際して見いだされる変化とを比較検討することは極めて有意義と考えられる。

脳内モノアミンニューロンがストレスに際して賦活化されることは良く知られている³⁻⁶⁾。とりわけ情動と中樞

一終脳系のドーパミン (DA) ニューロンとの関連が論じられてきた^{6,7)}。ところが、最近、神経ペプチド、特にサブスタンスP (SP)⁸⁾、ソマトスタチン (SRIF)⁹⁾、ニューロテンシン (NT)^{10,11)} による DA ニューロンの調節作用を示唆する成績が数多く報告されている。そこで、本研究では、全身振動刺激に際して観察される生体反応と中枢神経系の応答との関係を明らかにする目的で、全身振動をラットに負荷し、体温、血中コルチコステロン、胃粘膜病変を調べるとともに、ストレスとの関連が推測されている脳内各部位の DA 代謝および上述の神経ペプチドを測定し、考察を加えた。

対象および方法

使用した動物は、10-11週齢、体重 330 ± 4.0 g の Wistar 系雄性ラットである。ラットは、実験開始前2週間、オリエンタル固形飼料 MF および水の自由摂取が可能なホームケージで、3-4匹を一群として、12時間周期の明暗サイクルの飼育室 ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度50%) において飼育した。実験室の暗騒音は、40 dB(A)程度であり、後述する実験時の器械駆動による騒音に比べ、十分小さい。

振動負荷装置は、Electromagnetic Shaker (EMIC, 513-A), Vibration Amplifier (TACHIKAWA, TA-100), Function Oscillator (NF-MODEL, E1011), Vibration Meter (EMIC, 505-D)を組合わせて構成されている。この装置から発振される振動数20 Hz, 振動加速度4.0 Gの正弦波垂直振動をラットの脊柱のほぼ垂直方向に負荷した(以後、全身振動群と略称)。なお、ラットは振動台上に固定した特殊ケージ内に入れ、全身が等しく振動に暴露されるように配慮した。

振動負荷装置の駆動に際して、Fig. 1に示すような周波数特性を持つオールパスで68-72 dB(A)の騒音が発生する。そこで、ラットを全身振動負荷で用いたのと同じケージに入れ、振動負荷装置に接した場所に置き、この騒音に暴露したラットを騒音群とした。また、上述したケージに入れ、実験室に1.5時間放置したラットを対照群とした。本研究で、対照群、騒音群、実際には同時に騒音にも暴露される全身振動群間の比較を行ったのは、今回の実験条件で全身振動を負荷した際に暴露される騒

音の影響の有無を明らかにするためである。なお、騒音レベルの測定には、騒音計 (リオン NA-3) を用いた。

Fig. 1 Frequency analysis of noise associated with driving of the vibration generator.

対照群, 騒音群, 全身振動群は, それぞれ5匹であった。ラットは, 実験開始前の24時間, 水を摂取させる以外は, 絶食させた。実験開始は, 午前10時30分~11時の間とし, 実験中は水, 飼料のいずれも摂取させなかった。実験終了後直ちに断頭し, 脳幹血をEDTA加ビーカーに採取する一方, 嗅球を除く全脳を取り出した。摘出脳から氷上で厚さ1mmの前額断切片を作製し, Marley¹²⁾の方法に準じて前頭葉皮質, 側坐核, 線条体, 海馬, 扁桃核, 視床, 視床下部の試料を作成し, 脳の部位別検索に供した。すなわち, 前頭葉皮質は前頭葉先端から2mmの切片で嗅球を除いた部位, 視床下部は乳頭核を除く全ての視床下部の切片, 扁桃核は皮質核と前部扁桃核領域を除く部位の切片, 海馬と視床はそのすべての領域を用い, また, 側坐核, 線条体は直視下で内径2mmのpunch out用の針を用いてpunch outした。作成した試料は, 測定までの間-80°Cで保存した。

1. 体温の測定

体温は, 実験開始前, 開始後0.5時間, 1時間, 1.5時間の計4回, サーミスタプローブを肛門から約5cm挿入し, サーミスタ温度計 (TAKARA, Model D-925) を用いて測定した。

2. 血中コルチコステロンの測定

採取した血液は, 直ちに遠心分離 (3000 rpm, 20 min) して血漿を分離し, -80°Cで凍結保存した。測定には, Silber¹³⁾の蛍光法を用いた。

3. 胃粘膜病変の評価

開腹して胃を摘出し, 胃粘膜病変の有無を実体顕微鏡を用いて調べた。評価には, Bhargava¹⁴⁾のulcer indexを用いた。

4. ドーパミン (DA) とホモバニリン酸 (HVA) の

測定

同一の脳組織中のDAとその代謝産物のHVAを測定した。測定は, YANAKO L-2000型高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にYANAKO VMD 101型電気化学検出器 (ECD) を組み合わせたHPLC-ECD法を用いた。使用したカラムは内径4mm, 長さ25cmのYanapak ODS-Tである。

脳組織に0.4N過塩素酸 (PCA) (0.1mM EDTAを含む) を2ml加えて超音波破砕し, 遠心分離 (4°C, 13000 rpm, 20 min) した。沈渣は組織蛋白量の測定に供した。上清に0.025N塩酸1.25ml, 塩化ナトリウム2g, n-ブタノール5mlを加えて振とう, 再び遠心分離 (4°C, 3000 rpm, 5 min) し, ブタノール層にn-ヘプタン5ml, 0.1N塩酸1mlを加えて振とう, 再び遠心分離 (4°C, 3000 rpm, 5 min) し, 水層をDAの測定に供した。また, 有機層8.0mlに0.2M塩酸500μlを加えてpHを8.5に調節し, 再び遠心分離 (4°C, 3000 rpm, 5 min), 水層をHPLC-ECDに注入してHVAを測定した。DA測定の移動相にはクエン酸ナトリウムに2Mのクエン酸を添加し0.1M pH4.5に調節したものを, HVAの測定にはDAの移動相に0.1M酢酸 (10%メタノール, 0.1mM EDTA含む) を加えpH4.0としたものを用いた。DA, HVAの測定の移動相の流速は1.0 ml/min, 設定加電圧は+0.8 V vs. Ag/AgClとした。

5. サブスタンス P 様免疫活性 (SP-LI), ソマトスタチン様免疫活性 (SRIF-LI), ニューロテンシン様免疫活性 (NT-LI) の測定

測定は, 2抗体固相法による酵素免疫測定法 (EIA法) を用いる Arai¹⁵⁾の方法に従った。

(1) 使用薬品および器具

使用した薬品・器具は以下の通りである:

合成SP: Sigma Chemical Company, 抗SP抗体 (第1抗体); UCB-Bioproducts, 合成SRIF-14; ペプチド研, 抗SRIF抗体 (第1抗体); Amersham International plc, 合成NT; ペプチド研, 抗NT抗体 (第1抗体); Amersham International plc, 抗rabbit IgG (第2抗体); Miles-Yeda, horseradish peroxidase (HRP); 東洋紡, o-phenylenediamine dihydrochloride (OPD); Sigma Chemical Company, bovine serum albumin; Sigma Chemical Company, Tween 20; 和光純薬, microplate; Dynatech Laboratories (flat bottom microeliza plate 96 well/plate). WasherにはBiotec Sera Washer-96, 吸光度の測定にはCorona社製 Microplate Photometer (MTP-22) を使用した。

(2) 測定方法

脳組織は、氷冷した0.1 N 酢酸 1 ml 中で超音波破碎し、10分間の煮沸後に2回遠心分離（4℃, 3000 rpm, 20 min）を行い、上清を凍結乾燥した。遠心分離で得られた沈渣は組織蛋白量の測定に供した。SP-LI, SRIF-LI, NT-LIの測定に際して、試料は適当な倍率に assay buffer (0.14M phosphate buffer, pH 7.4, 25 mM EDTA, 0.5% bovine serum albumin, 0.05% Tween20 を含む) で希釈し、それらのペプチドを測定した。SP, SRIF, NT 抗体はそれぞれ 1 ml の assay buffer に溶解したのち、0.2 ml ずつ分注して-80℃に保存した。使用に際して、assay buffer で分注した抗体を100倍に希釈して用いた。

Assay buffer 100 μ l, 標準もしくは検体50 μ l, 各ペプチドに対する抗体50 μ l を含む反応液を前もって Arai らの方法で第2抗体を吸着させた microplate に入れ、4℃1夜反応させた。翌日、標識抗原 (HRP-SP, HRP-SRIF, HRP-NT のそれぞれの conjugate: 125倍希釈したもの) 100 μ l を加えて、2時間反応させたあと、Washer で microplate を洗浄した。第2抗体と結合した標識抗原の酵素活性を測定するために、OPD 736 ng/ml, 0.88 mM H₂O₂ を含む phosphate citric acid buffer (0.1 M citric acid, 0.2 M NaH₂PO₄, pH 5.2) を microplate 中で室温で40分間反応させて、492 nm の吸光度を測定した。試料の濃度は作成した標準曲線より求めた。

(3) 酵素免疫測定法 (EIA 法) の検討

Arai ら¹⁵⁾の方法に準拠して測定した EIA 法の特異性を確認するために、Sephadex G-50カラム (1×46 cm) を用いて SP, SRIF, NT について gel chromatography を行った。溶媒に 1 N 酢酸 (0.1% bovine serum albumin を含む) を用いた。SP-LI と NT-LI の検討には視床下部を、SRIF-LI の検討には前頭葉皮質を用いた。脳組織に含まれる各ペプチドを上述した手順で抽出し、凍結乾燥した。その試料を0.5 ml の溶媒に溶かし、全量をカラムに通し、fraction collector で 1 ml ずつ採取した。採取した試料は再び凍結乾燥し、assay buffer 0.5 ml に溶解したのち、EIA 法で各 fraction 中のペプチド濃度を測定した。また、標準として合成 SP, 合成 SRIF-14, 合成 NT 1.5 ng/ml を含む溶媒0.5 ml をそれぞれカラムに通し、試料と同じ手順で各 fraction に含まれる SP-LI, SRIF-LI, NT-LI 濃度を測定し、試料で得られた結果と比較、検討した。

SP-LI, SRIF-LI, NT-LI の測定に使用した凍結乾燥試

料の一部を assay buffer で適当な濃度に希釈し、各々の抗体を用いて EIA 法で測定し希釈曲線を作った。得られた希釈曲線と各々の standard の標準曲線を比較した。

6. 蛋白測定

組織蛋白の定量は、Lowry ら¹⁶⁾の方法に従った。標準として、1 N NaOH に溶解した bovine serum albumin を用いた。

7. 統計処理

対照群, 騒音群, 全身振動群の3群の比較は単一要因分散分析によった。多重比較には Tukey の方法を用い、有意水準は危険率5%水準 (両側検定) で有意差ありとし、また危険率10%未満を傾向ありとした。

成 績

1. 体温の変化 (Fig. 2)

時間経過に従って、0.5時間、1時間、1.5時間の体温について3群を比較した。全身振動群は、いずれの時点においても、騒音群、対照群に比べて有意な高値を示した。しかも、全身振動群の体温は、全身振動負荷開始後の時間経過とともに上昇し、また、いずれの時点においても実験開始直前の測定値と比べ有意に上昇していた。騒音群と対照群との間には、いずれの時点でも、有意差はみられていない。また、これら両群では、実験開始直前と1.5時間後の測定値の間にも有意差は認められなかった。

Fig. 2 The effects of noise and whole body vibration on core temperature of the rat. Each value represents the mean $\pm$ standard error obtained from 5 rats. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. Statistically significant as compared to the corresponding values of noise: ** $p < 0.01$ and of control: ** $p < 0.01$.

Table 1 The effects of noise and whole body vibration (W.B.V) on levels of plasma corticosterone of the rat.

	Plasma Corticosterone Concentration		
	Control	Noise	W.B.V.
($\mu\text{g/dl}$)	23.9(1.50)	24.3(2.25)	34.8** (3.00)

Each value represents the mean (standard error) obtained from 5 rats. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. Significantly different from the values of noise: * $p < 0.05$. Significantly different from the values of control: ** $p < 0.05$.

2. 血中コルチコステロン濃度 (Table 1)

全身振動群の測定値は、騒音群あるいは対照群のいずれの群と比べても、有意に高い値を示した。しかし、騒音群と対照群の間では有意差はみられなかった。

3. 胃粘膜病変の発現

対照群、騒音群の全例に、胃粘膜病変が全くみられなかった。他方、全身振動群では、全例の腺胃部に小出血を伴った糜爛あるいは出血を伴った線状潰瘍が認められた。潰瘍の重篤度を考慮した ulcer index を用いた評価では、その値は平均22であった。

4. 脳各部位の DA および HVA 含有量

全身振動群の側坐核 DA 含有量は、騒音群に比べて有意の上昇、対照群に比べて上昇傾向を示した。前頭葉皮質、線条体、海馬、扁桃体、視床、視床下部の DA 含有量は、検討した3群の間で有意差がみられていない。全身振動群の側坐核 HVA 含有量は、騒音群、対照群に比

べて有意に上昇していた。また、全身振動群の扁桃体と視床の HVA 含有量は、対照群に対してのみ有意な上昇を示した (Table 2)。さらに、HVA/DA 比を各部位で調べてみると、全身振動群の前頭葉皮質 HVA/DA 比は、騒音群や対照群に比べて有意な増加を示し、また、側坐核でも全身振動群の HVA/DA 比が対照群に比べて有意に増加していた。扁桃体では、全身振動群だけでなく騒音群においても、対照群に比べて、HVA/DA 比の有意な増加が認められている (Table 3)。

5. 脳内神経ペプチド

(1) 酵素免疫測定法 (EIA 法) の検討

Fig. 3~5 は、SP, SRIF, NT の典型的な標準曲線を示したものである。視床下部および線条体抽出試料を用いた時の SP, SRIF, NT の希釈曲線は、それぞれの標準曲線と平行関係にあった。Fig. 6, Fig. 8 に示すように、標準とした SP, NT の gel chromatography で得られた fraction 濃度のピークは、視床下部抽出試料での fraction 濃度のピークと一致していた。このことは、本研究で用いた EIA 法によって測定された試料中の SP と NT が、それぞれの標準物質と免疫学的に同質であることを示している。Fig. 7 は、前頭葉皮質抽出試料を用いて検討した SRIF の結果を示したものである。試料中の SRIF-LI は、fraction number 33番に小さなピークが、また37番に大きなピークが出現した。一方、合成 SRIF-14 の fraction 濃度のピークは後者の37番のピークと一致していた。測定に使用した SRIF 抗体が SRIF-28 とも交差反応を示すことが知られているので、以上の成績から、本測定法で測定される SRIF-LI は、SRIF-14 だけで

Table 2 The effects of noise and whole body vibration (W.B.V.) on levels of dopamine (DA) and homovanillic acid (HVA) in 7 discrete regions of the rat brain.

	DA (ng/mg protein)			HVA (ng/mg protein)		
	Control	Noise	W.B.V.	Control	Noise	W.B.V.
Frontal cortex	1.65(0.136)	1.67(0.19)	1.48(0.182)	0.401(0.043)	0.35(0.079)	0.487(0.060)
Nucl. accumbens	16.5 (2.98)	9.42(1.11)	44.9**(16.3)	1.14 (0.205)	0.99(0.125)	5.87**(1.94)
Striatum	25.0 (1.99)	28.5 (2.12)	24.7 (2.73)	2.95 (0.341)	2.63(0.255)	2.30 (0.226)
Hippocampus	5.16(0.409)	6.50(1.38)	6.08(0.445)	0.75 (0.080)	1.12(0.183)	1.24 (0.181)
Amygdala	7.27(2.51)	9.58(2.61)	13.4 (2.87)	0.68 (0.229)	1.19(0.069)	1.87*(0.357)
Thalamus	0.85(0.205)	1.11(0.091)	1.28(0.195)	0.147(0.032)	0.19(0.051)	0.213*(0.039)
Hypothalamus	16.5 (1.61)	17.2 (3.51)	15.9 (1.17)	2.77 (0.173)	2.10(0.311)	2.70 (0.309)

Each value represents the mean (standard error) obtained from 5 rats. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. Significantly different from the values of noise: * $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Significantly different from the values of control: * $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table 3 The effects of noise and whole body vibration (W.B.V.) on levels of HVA/DA in 7 discrete regions of the rat brain.

	HVA/DA		
	Control	Noise	W.B.V.
Frontal cortex	0.242(0.013)	0.204(0.030)	0.337*** (0.028)
Nucl. accumbens	0.072(0.008)	0.111(0.021)	0.143* (0.029)
Striatum	0.118(0.006)	0.095(0.013)	0.101(0.017)
Hippocampus	0.147(0.014)	0.184(0.025)	0.202(0.029)
Amygdala	0.095(0.006)	0.148* (0.024)	0.145* (0.014)
Thalamus	0.190(0.038)	0.165(0.037)	0.179(0.047)
Hypothalamus	0.177(0.025)	0.133(0.021)	0.175(0.025)

Each value represents the mean (standard error) obtained from 5 rats. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. Significantly different from the values of noise: * $p < 0.1$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$. Significantly different from the values of control: * $p < 0.1$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

Fig. 3 Competitive inhibition curve of antibody-bound HRP-conjugated substance P by synthetic substance P (standard curve): crude hypothalamus and crude striatum extract. Each microplate contained diluted synthetic substance P (standard; B), enzyme blanks (nonspecific binding; NSB), and a well without free antigen (B_0). B/B_0 (%) expresses the $(B-NSB)/(B_0-NSB)$ ratio.

Fig. 4 Competitive inhibition curve of antibody-bound HRP-conjugated somatostatin by synthetic somatostatin (standard curve), crude hypothalamus and crude striatum extract. Each microplate contained diluted synthetic somatostatin (standard; B), enzyme blanks (nonspecific binding; NSB), and a well without free antigen (B_0). B/B_0 (%) expresses the $(B-NSB)/(B_0-NSB)$ ratio.

なく、SRIF-28をも含めたSRIF-LIということになる。

(2) サブスタンスP様免疫活性 (SP-LI) (Table 4)

全身振動群の前頭葉皮質SP-LIは、騒音群に比べて有意な低下、対照群に比べて低下傾向を示した。側坐核と扁桃体のSP-LIは、騒音群および対照群に比べ全身振動群で有意に上昇していた。また、全身振動群の視床SP-LI

は、対照群に比べて有意な上昇を示した。線条体、海馬、視床下部のSP-LIは、3群間で有意差が認められない。

(3) ソマトスタチン様免疫活性 (SRIF-LI) (Table 4)

全身振動群のSRIF-LIは、騒音群および対照群に比べ、線条体と扁桃体において有意な上昇を示した。他の部位では、3群の間に有意差は認められなかった。

Fig. 5 Competitive inhibition curve of antibody-bound HRP-conjugated neurotensin by synthetic neurotensin (standard curve), crude hypothalamus and crude striatum extract. Each microplate contained diluted synthetic neurotensin (standard; B), enzyme blanks (nonspecific binding; NSB), and a well without free antigen (B₀). B/B₀ (%) expresses the (B-NSB)/(B₀-NSB) ratio.

Fig. 6 Elution profile of the substance P-like immunoreactivity (SP-LI) in hypothalamus extract (solid line). The column was calibrated with blue dextran (void volume; V₀), synthetic substance P (broken line) and methylene blue (total volume; V_t).

Fig. 7 Elution profile of the somatostatin-like immunoreactivity (SRIF-LI) in frontal cortex extract (solid line). The column was calibrated with dextran (void volume; V₀), synthetic somatostatin-14 (broken line) and methylene blue (total volume; V_t).

Fig. 8 Elution profile of the neurotensin-like immunoreactivity (NT-LI) in the hypothalamus extract (solid line). The column was calibrated with blue dextran (void volume; V₀), synthetic neurotensin (broken line) and methylene blue (total volume; V_t).

Table 4 The effects of noise and whole body vibration (W.B.V.) on levels of substance P-like immunoreactivity (SP-LI) and somatostatin-like immunoreactivity (SRIF-LI) in 7 discrete regions of the rat brain.

	SP-LI (ng/mg protein)			SRIF-LI (ng/mg protein)		
	Control	Noise	W.B.V.	Control	Noise	W.B.V.
Frontal cortex	0.47(0.063)	0.50(0.050)	0.24** (0.085)	2.86(0.595)	3.18(0.737)	2.00(0.401)
Nucl. accumbens	2.00(0.309)	2.31(0.483)	3.84** (0.419)	4.15(0.683)	4.78(0.786)	4.48(0.736)
Striatum	2.03(0.253)	1.85(0.493)	3.43(1.67)	1.44(0.237)	1.56(0.256)	3.32** (0.545)
Hippocampus	0.43(0.055)	0.48(0.240)	0.20(0.043)	0.88(0.144)	1.08(0.178)	0.68(0.112)
Amygdala	0.91(0.123)	1.00(0.216)	1.84** (0.261)	1.22(0.200)	1.38(0.227)	3.33*** (0.548)
Thalamus	0.15(0.408)	0.19(0.414)	0.21* (0.151)	0.75(0.201)	0.82(0.218)	0.50(0.115)
Hypothalamus	2.11(0.458)	2.67(1.54)	1.28(0.247)	31.9 (6.39)	31.9 (6.39)	31.7 (5.21)

Each value represents the mean (standard error) obtained from 5 rats. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. Significantly different from the values of noise: * $p < 0.1$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.
Significantly different from the values of control: * $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table 5 The effects of noise and whole body vibration (W.B.V.) on levels of neurotensin-like immunoreactivity (NT-LI) in 7 discrete regions of the rat brain.

	NT-LI (ng/mg protein)		
	Control	Noise	W.B.V.
Frontal cortex	0.09 (0.011)	0.09 (0.013)	0.17 **** (0.024)
Nucl. accumbens	0.20 (0.021)	0.16 (0.028)	0.17 (0.025)
Striatum	0.13 (0.018)	0.12 (0.011)	0.12 (0.012)
Hippocampus	0.17 (0.029)	0.15 (0.026)	0.13 (0.034)
Amygdala	0.10 (0.019)	0.09 (0.014)	0.11 (0.027)
Thalamus	0.10 (0.013)	0.10 (0.021)	0.12 (0.015)
Hypothalamus	0.96 (0.114)	0.68 (0.099)	1.29 *** (0.129)

Each value represents the mean (standard error) obtained from 5 rats. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. Significantly different from the values of noise: * $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.
Significantly different from the values of control: * $p < 0.1$, * $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

(4) ニューロテンシン様免疫活性(NT-LI) (Table 5)
全身振動群の NT-LI は、騒音群および対照群に比べて、前頭葉皮質において有意な上昇を示した。また、全身振動群の視床下部 NT-LI は、騒音群に比べて有意な上昇、対照群に比べて上昇傾向を示した。他の部位では、3 群間で有意差は認められなかった。

考 察

全身振動を負荷されたラットは、先に述べたように同

時に騒音にも暴露されることになるので、全身振動負荷による生体反応は、騒音との複合影響の可能性がある。したがって、本研究で観察された生体反応が全身振動負荷単独によるか否かを明らかにする必要がある。それには、対照群、騒音群、全身振動群の 3 群を比較し、前 2 群の間に違いがなく、騒音群と全身振動群との間に有意差が認められた場合に、これを全身振動負荷の影響による変化と推測することが可能である。一方、対照群と騒音群との間で有意差が認められた場合のうち、騒音群と

全身振動群の間に違いが認められなければ、騒音による影響、また、これら 2 群の間にも有意差があれば複合影響による変化が大きいと考えることができる。成績の項では、対照群、騒音群、全身振動群の 3 群を比較したが、ここでは全身振動負荷そのものの影響、騒音の影響、騒音と全身振動負荷による複合影響の有無の順で考察を進めていく。

1. 全身振動負荷に対する生体反応と脳内物質の応答について

(1) 自律神経—内分泌系の変化

1) 体温の変化：体温は、全身振動負荷開始後、時間経過とともに上昇した。この体温の上昇は、外部から加わった力を考慮する必要があるが、主として、全身振動による前庭脊髄反射、あるいはそれをさらに上位で統制する中枢（例えば小脳や視床）による筋緊張の高まりとそれに伴う筋のエネルギー代謝の亢進によると考えられる¹⁾。

2) 血中コルチコステロン値の変化：下垂体—副腎皮質系が全身振動負荷によって亢進し、血中コルチコステロン値が上昇することは良く知られた事実である¹⁷⁾。また、振動負荷強度と血中コルチコステロン値との相関が Ariizumi ら¹⁸⁾によって報告されている。今回の実験とほぼ同条件（振動数 20 Hz、振動加速度 4 G、5 時間）でラットに全身振動を負荷した菅原ら¹⁷⁾の実験では、血中コルチコステロン値の上昇率は 1.65 倍であり、今回の成績は 1.43 倍であった。5 時間と 1.5 時間という負荷時間の長短があるにも拘らず、上昇率に大幅な違いはみられない。

いろいろなストレス負荷に際しての下垂体—副腎皮質系の亢進は、生体の恒常性を維持する機構と関連した非特異的反応とみなされている。したがって、全身振動負荷で観察された血中コルチコステロン値の上昇も、他のストレスの場合と同様に、非特異的反応と考えられる。この発現機構を統制する化学的メッセンジャーである脳内神経伝達物質反応については後の項で考察することにする。

3) 胃粘膜病変の発現：全身振動負荷したラットの全例で胃粘膜病変が観察された。岡田ら^{19,20)}は、ヒトでの全身振動による障害の一つとして胃腸障害の出現を報告している。また、ラットに 10 G 程度の強い振動加速度を負荷した場合、胃腸出血が認められる²¹⁾が、その発現機序として、強い振動加速度による物理的牽引力や伸展力の直接的な臓器の損傷が考えられている。しかし、今回の実験条件は 4 G と比較的弱い振動加速度であったので、

観察された胃粘膜病変は非特異的な反応であるストレス潰瘍と考えられる。

(2) 全身振動負荷に対する脳内 DA とペプチド

1) 脳内 DA 代謝回転：全身振動負荷終了後の脳を用いて、HVA/DA 比で脳内 DA 代謝回転を検討したところ、DA 代謝回転は、騒音群に比べて、前頭葉皮質で有意に上昇していた。ストレスによる情動の変化と中脳—皮質系 DA ニューロンの賦活化は、従来からしばしば指摘されている所見である^{6,7,21)}。したがって、拘束や電気ショックストレス負荷の場合と同様、全身振動負荷が情動変化をもたらすストレスであることが窺い知れた。側坐核では、DA 含有量と HVA 含有量はともに有意な上昇を示したが、HVA/DA 比に変化がみられなかった。しかし、DA 代謝産物の HVA の含有量が増加したことは、中脳—辺縁系 DA ニューロンの賦活化を示唆している。ストレスによるこの DA 系の賦活化に関しては未だ意見の一致をみていない。Thierry ら⁶⁾は 20 分間の電気ショックストレス負荷、また、Watanabe は²²⁾ 30 分間の拘束ストレス負荷によって側坐核の DA 代謝回転の亢進を認めているが、Deutch ら⁷⁾は Thierry ら⁶⁾とほぼ同じ条件で変化を認めていない。一方、綱島²³⁾は、ごく最近、側坐核 DA 代謝回転が 3 時間の拘束ストレス負荷で低下、3 時間の寒冷ストレス負荷で亢進傾向を示したと報告している。諸家によるこのような成績は、ストレス負荷に対する中脳—辺縁系 DA 系の反応がストレスの種類や負荷時間と関連することを示唆している。

2) SP-LI の応答：全身振動負荷によって SP-LI に変化のみられた部位は、前頭葉皮質、側坐核、扁桃体の 3 部位であった。即ち、SP-LI は前頭葉皮質で低下したが、他の部位で上昇した。SP-LI は脳内に広く分布し、また、免疫組織化学的手法により脳内 SP ニューロン系の分布の詳細も明らかにされている²⁴⁾。最近、SP が中脳—辺縁系 DA 系機能と深い関わりを持つことを示唆する成績が報告されている。Kalivas ら²⁵⁾は、側坐核への SP 注入が同部位の DA 代謝回転を亢進させることから、SP が中脳—辺縁系 DA 系機能を賦活すると推測している。また、Elliott ら²¹⁾は、前被蓋野 (VTA) への SP 局所注入が電気ショックストレス負荷と同じ機序で、中脳—皮質系 DA ニューロンを賦活すると報告している。さらに、電気ショックストレス負荷によって生ずる VTA での SP の減少は放出の増大によると Lisoprawski ら²⁶⁾は推論している。ところが、側坐核 SP-LI の増加と中脳—辺縁系 DA ニューロンの賦活化を示唆する DA 代謝回転を認めた全身振動負荷での成績は、上述した諸家の

推論で説明するのが困難である。ペプチドの伝達様式はモノアミンのそれと同様に考えることができないので、ペプチド含有量の増加を合成の増加あるいは放出の減少と推論するのは慎重でなければならない。Hökfeltら²⁷⁾によると、モノアミンは神経終末において合成され、シナプス間隙に放出されても、素早くシナプス間隙から取り込まれて不活化されるのに対し、ペプチドは細胞内で合成され、軸索をゆっくり下り、放出されても細胞間隙に長く留まっているという。したがって、当該ペプチドニューロンが“extrinsic”か“intrinsic”かによっても、代謝の様態は大きく異なると考えられる。しかし、Deutchら²⁸⁾は、20分の電気ショック負荷実験で、ペプチドの素早い代謝回転を認めている。いずれにしても前駆物質や代謝産物を含め、ペプチドの代謝様式の詳細が明らかでない現在、側坐核 SP-LI の増加が同部位でみられた DA の代謝亢進となんらかの関連があるという推測にとどめなければならない。なお、今回の結果と拘束ストレス負荷によって側坐核 DA の代謝低下と SP-LI の減少を認めた綱島²⁹⁾の成績で共に DA 代謝と SP-LI の間に正の相関がみられているのは注目される。

扁桃体での SP-LI および SRIF-LI の増加 (後述) も重要な所見と考えられる。分界条を介する SP 神経路として扁桃体一分界条床核、視床下部外側部の系が Sakanaka²⁹⁾によって証明されている。また、この系は Enkephalin, SRIF, NT などの他のペプチドの共通経路^{30,31)}でもある。したがって、前述した扁桃体とストレス反応との深い関係や全身振動負荷による SP-LI と SRIF-LI の変化を考慮すれば、両ペプチドが扁桃体一分界条床核、視床下部外側部の系を介して視床下部、さらに下垂体に影響を及ぼし、ストレス時におけるホルモンの分泌反応を調節していることを示唆する所見とも考えられる。

前頭葉皮質 SP-LI の低下は、非常に興味深い所見である。それは、ごく最近、綱島²⁹⁾は、拘束および寒冷ストレス負荷のいずれでも前頭葉皮質で SP-LI が低下することを見だし、ストレスに共通した変化と推測しているからである。この推論は、著者の今回の全身振動負荷での成績によって裏付けられたといえる。Jones ら³²⁾の霊長類を用いた研究によると、大脳皮質内の SP 含有ニューロンは“intrinsic”なニューロンであるという。したがって、ストレスによる SP-LI 低下に中脳一皮質系 DA ニューロンがどのように関与しているかだけでなく、他の神経伝達物質との関連についても検討する必要がある

と思われる。

3) SRIF-LI の応答：SRIF は、視床下部に高濃度に存在するが、特に、正中隆起や弓状核に多いことは良く知られている³³⁾。前視床下部から正中隆起に至る SRIF の投射路³⁴⁾を介する下垂体前葉ホルモンの調節、特に GH 分泌の抑制作用は、現在知られている数少ない中枢作用の一つとして注目されている。

ところで、血中 GH 分泌がストレスによって抑制されることが知られている³⁵⁾。Terry ら³⁶⁾は、30分間の強制ストレス負荷によって正中隆起での SRIF の低下を見だし、この GH 分泌低下を SRIF が下垂体門脈系に放出されるためと推測している。しかし、今回の実験がほぼ視床下部全体といった単位で検討した結果であるとはいえ、視床下部 SRIF-LI は全く変化をきたさなかった。高山ら³⁷⁾は、3時間拘束実験で同様の結果を見だしている。仮に視床下部からの SRIF 放出が起きているとすれば、入力線維からの SRIF の放出あるいは放出分に相当した SRIF が視床下部で合成されたと考えられる。視床下部からの SRIF の放出は、扁桃体一分界条床核、視床下部外側部を介した放出が最も考えられる。即ち、扁桃体 SRIF の増加は、SP だけでなく SRIF もまたこの系に関与していることを示唆する所見と考えられる。さらに、SP や NT が *in vitro* で視床下部から SRIF の放出を促進するという知見³⁸⁾と後述する視床下部領域における NT の変化は、SRIF が SP とともに、全身振動負荷に際し、扁桃体一分界条床核、視床下部外側部の系を通し、正中隆起からの下垂体ホルモン分泌の調節に関与するという仮説を支持するものである。この仮説をより確かなものにするには、視床下部をさらに細分割して SRIF の消長を調べる必要がある。

著者の今回の実験では、DA ニューロンの神経終末が豊富な線条体の SRIF-LI が全身振動負荷で増加した。Garcia-Serilla ら³⁹⁾は、SRIF の脳室内投与により線条体や辺縁系の DA 代謝回転が亢進することを、また、Beal ら⁹⁾は、SRIF を一側の線条体に投与すると、同側の線条体 DA 代謝の亢進と反対側の DA 代謝の低下がみられると報告しているが、Chesselet ら⁴⁰⁾がいうように、線条体 SRIF は、黒質一線条体 DA 系の神経終末からの DA 放出を調節しているようである。一般に、黒質一線条体系の DA ニューロンはストレスによって亢進しないと考えられている^{6,7)}。今回の実験で得られた成績はこの推論を支持するものである。したがって、全身振動負荷に際して増加した線条体 SRIF-LI がこの領域に投射されている DA ニューロンの機能にいかなる影響を与え

るかを言及するのは困難である。しかし、線条体 SRIF ニューロンが他の領域に軸索を送っている証拠がなく⁴¹⁾、また、SRIF が同側の DA ニューロンには促進的に、反対側の DA ニューロンには抑制的に働くということを考慮すれば、今回の全身振動負荷実験で両側で DA 代謝回転に変化が認められなかったことも理解できる。この推論をより確かなものにするには、神経切断実験などによる *in vivo* での検討が必要である。

今回の SRIF-LI 測定に用いた抗体は、SRIF-28 に対して交差性が認められたので、SRIF-LI も同時に測定したことになる。したがって、その存在が少ないとはいえ、SRIF-14 以上の生理活性を有すると考えられている⁴²⁾ SRIF-28 を分離定量することはさらに意義深いと考えられる。

4) NT-LI の応答: NT-LI は、対照群、騒音群に比べて、全身振動群の前頭葉皮質において有意な上昇を示した。視床下部 NT-LI もまた、全身振動群において、対照群、騒音群に比べて、有意に上昇した。他の部位では、3 群間で差異はみられていない。

Nemeroff ら⁴³⁾ は、NT の脳内投与が胃潰瘍の発生を抑制することから、ストレスに際しての NT の中枢性関与を示唆した。また、Kalvas ら⁴⁴⁾ は、VTA の A10 領域で NT が DA ニューロンにおいて DA と共存しており、同部位への NT 注入が中脳一辺縁系 DA ニューロンを活性化することを見いだしている。さらに、Hernandez ら⁴⁵⁾ は、拘束寒冷ストレスラットでは、NT がその活性化をなお一層強めると報告している。これらの知見は、NT が特に中脳一辺縁系 DA ニューロンを介してストレス反応に関与することを示唆している。Deutch ら²⁸⁾ は、ごく最近、電気ショックストレス負荷による VTA での NT の上昇を見だし、NT の放出の増加を想定し、NT による DA ニューロンの活性化の証拠としている。今回の実験でみられた全身振動負荷に際しての中脳一辺縁系 DA ニューロンの活性化が、VTA における NT を介したものかは、VTA 領域の NT-LI を調べていないので明らかでないが、全身振動負荷によって側坐核での NT-LI が変化しなかったことから、少なくとも NT が側坐核において中脳一辺縁系 DA ニューロンを活性化したとは考え難い。この知見は、Deutch ら²⁸⁾ の報告と一致している。したがって、全身振動負荷による中脳一辺縁系 DA ニューロンの活性化には VTA における NT の関与があったと想定される。また、他の DA ニューロン系との関係で考察すると、全身振動によって線条体 NT-LI だけでなく、黒質一線条体系 DA ニューロンの代

謝回転にも変化がみられていないことから、NT が線条体の DA ニューロン神経終末において関与するとは考え難い。

ところで今回の実験では、Deutch ら²⁸⁾ の報告と異なり、前頭葉皮質 NT-LI の上昇がみられた。しかし、中脳一皮質系 DA ニューロンの神経終末が分布するこの領域での NT-LI は、中脳からの DA ニューロン中に DA と共存するものとは考え難く、先述の SP-LI と同様に、最近の知見から大脳皮質における“intrinsic”なニューロンに由来すると考えられている³²⁾。したがって、全身振動負荷に際しての前頭葉皮質 DA 代謝の上昇と SP-LI の増加との関係を明らかにするには、別の観点からの検討が必要とされる。

中脳領域ほど進んだ知見は未だ報告されていないが、視床下部における DA 系と NT との関連について興味深い報告が行われている。Hökfelt ら¹¹⁾ は、視床下部弓状核において DA ニューロンと NT ニューロンとが共存して見いだされ、しかもこの NT ニューロンは室傍核から正中隆起付近への投射路と混在しているとし、これらの NT ニューロン系が下垂体前葉の FSH, LH, GH, TRH などのホルモン分泌を制御しているのではないかと想定している。また、Uhl ら³⁰⁾ は、NT と Enkephalin とが共存するニューロンを見だし、扁桃核から、ホルモン分泌を統制する部位に近い境界条床核への経路を明らかにしている。今回の全身振動負荷実験でみられた視床下部 NT-LI の上昇が、どの経路の NT ニューロン系に由来するかは明確ではないが、視床下部における NT ニューロン系が下垂体ホルモン分泌と密接な関連を持つとする知見を考慮すれば、視床下部の NT が、ストレスの際の下垂体一脳下垂体系系の亢進あるいは SRIF による GH 分泌の抑制を統制していると想像するに難くない。また、Sheppard ら³⁸⁾ は、NT が視床下部からの SRIF の放出を促進することを見いだしていることも注目される。結局、全身振動負荷の際には、扁桃核一視床下部の経路から、さらに視床下部内を経て正中隆起に至る下降性ニューロンにおいて SP, SRIF, NT が互いに関連し合って下垂体ホルモン分泌に影響を与えることが推測される。またごく最近、Moldow ら⁴⁶⁾ が拘束ストレス負荷による下垂体一脳下垂体系系の賦活化は、視床下部 CRF-LI の合成、放出の増加によると説明しているが、ストレスの際に観察されるコルチコステロンの上昇に、視床下部 NT が CRF を介して関与しているとも考えられる。

2. 騒音に対する生体反応と脳内 DA 代謝の変化について

今回の実験でラットに暴露された騒音は、全身振動負荷に際して振動負荷装置から発生するもので、騒音レベルはオールパスで68-72 dB(A)と小さかった。この騒音負荷で観察された生体反応は、DA 代謝回転を反映すると考えられている HVA/DA 比の扁桃体における上昇だけであった。扁桃体は、視覚と聴覚を含む知覚の統合領域と考えられている大脳皮質から線維投射を受け^{47,48)}、心血管系、呼吸器系を含む自律神経系などの中枢である脳幹と線維連絡を有している⁴⁹⁾。扁桃体の破壊は動物に怒りや不快などの情動表出を消失させ^{50,51)}、また、ストレスに際しては、扁桃体は ACTH を介する下垂体-副腎皮質系の反応に対して抑制的に働くことが知られている⁵²⁾。この様に、ストレスに際しての情動表出や生体反応の調節に欠かせない部位で、しかも A8-10からの DA ニューロンの投射を受けている扁桃体⁵³⁾で、騒音負荷によって DA 代謝回転の亢進がみられたことは注目される。

ごく最近、Beaulieu ら⁵⁴⁾は、拘束ストレス負荷によって血中 ACTH 値の上昇と扁桃体 DA 含有量の増加を見だし、DA 含有量の増加は DA 代謝回転の抑制によると推論している。著者の今回の結果は、この報告と全く反対である。扁桃体における DA 代謝回転の動態が間接的であっても扁桃体の機能を反映すると仮定できれば、Beaulieu ら⁵⁴⁾の報告との違いは、負荷したストレスの強度というより、むしろ負荷したストレスの違いによると考えることができる。この推論は、全身振動負荷で、血中コルチコステロン値の上昇だけでなく、扁桃体 DA 代謝回転の亢進もまたみられていることから支持される。

3. 騒音と全身振動負荷による複合影響の有無について

対照群と騒音群および騒音群と全身振動群の間にも有意差が認められた観察項目はなかった。したがって本研究において騒音と全身振動の明らかな複合影響が存在するとは考えにくい。これは騒音レベルが68-72 dB(A)と小さかったためであり本質的な複合影響効果はより大きい騒音レベルで観察可能になると思われる。

結 論

全身振動による生体反応を制御、調節している中枢神経系の複雑なニューロン間の情報伝達機構を解明するため、ラットを対象として、振動数20 Hz、振動加速度4.0 Gの全身振動を1.5時間暴露した全身振動群、振動負荷装置の駆動に際して発生する騒音（オールパスで68-72 dB(A)、1.5時間）を暴露した騒音群、騒音を負荷しない以外は全く同条件とした対照群の3群について脳内各領域

のドーパミン (DA) 代謝および DA 関連ペプチドであるサブスタンス P 様免疫活性 (SP-LI)、ソマトスタチン様免疫活性 (SRIF-LI)、ニューロテンシン様免疫活性 (NT-LI)、さらに体温、血中コルチコステロンの応答、胃粘膜病変を比較、検討した。

1. 全身振動群の体温は、0.5時間、1時間、1.5時間の各時点のいずれにおいても、騒音群に対して、有意な高値を示した。全身振動群の血中コルチコステロン値もまた、騒音群に比べて、有意な高値を示した。また、全身振動群では、腺胃部の糜爛あるいは線状潰瘍が認められた。この病変は、従来から指摘されているように、全身振動負荷が生体のホメオスタシスを変化させる外力であって、生体にとってストレスとして働くことを示す所見と考えられた。

2. 全身振動負荷は、中脳一皮質系の DA ニューロン機能を活性化した。したがって、全身振動負荷が拘束ストレスや電気ショックストレスと同様に、情動変化をもたらすストレスの一つであることが窺い知れた。

3. 全身振動負荷による側坐核 SP-LI の増加と同部位における DA の代謝亢進が同時に認められたことは、側坐核における両者の間の機能的関連性を示唆している。

4. 全身振動負荷による扁桃体 SP-LI および SRIF-LI の増加は、扁桃体 SP、SRIF が扁桃体-分界条床核、視床下部外側部の系を通して視床下部下垂体に影響すること、また視床下部領域 NT-LI の増加は、視床下部内の NT ニューロンが正中隆起を介して、下垂体ホルモン分泌を調節していることを示唆していると推測された。しかも、これらのペプチドニューロンが視床下部内で相互に作用する機構の存在が推測され、この機構がストレスに際しての下垂体ホルモン分泌反応の制御に関与するのではないかと想定された。

5. 前頭葉皮質 SP-LI の低下は、ストレスに共通の変化と結論づけられた。なお全身振動負荷では、NT-LI の増加も認められた。これらの変化は DA 以外の神経伝達物質との関連によって生じた可能性も考慮する必要があると考えられた。

6. 全身振動負荷によって、線条体 SRIF-LI が増加した。SRIF が線条体の DA 代謝に影響を与えることが知られていることから、線条体 SRIF の増加が、DA ニューロンにいかなる影響を与えるかは、種々の破壊による神経切断実験などによる in vivo のさらなる検討が必要であると考えられた。

7. 騒音群では、体温の変化、血中コルチコステロン値の変化、胃粘膜病変は観察されなかったが、扁桃体 DA

代謝回転には、対照群に比べて、有意な亢進がみられた。このことは、扁桃体へ投射している DA ニューロンの騒音負荷に対する微妙な情動変化の発現への関与を示唆している。

8. 対照群と騒音群および騒音群と全身振動群の間にも有意差が認められた観察項目はなく、故に、本研究の条件において騒音と全身振動の明らかな複合影響の存在は認め難い。

以上の結果から、全身振動負荷の作用による情動の変化を含めたさまざまな生体反応は、今回の研究で検討した DA をはじめとしたその他の古典的伝達物質と脳の各領域における SP, SRIF, NT などのペプチドとが機能的に密接に関連し合って発現することが窺い知れた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただきました恩師岡田晃教授に深甚なる謝意を表します。また、終始御指導いただきました財団法人東京都精神医学総合研究所精神薬理研究室、諸治隆嗣博士に深く感謝いたします。

本論文の一部は第33回日本宇宙航空環境医学会総会(1987年11月、米子市)および NIHON UNIVERSITY SYMPOSIUM ON AEROSPACE SCIENCE (1987年12月、TOKYO) において発表した。

文 献

- 1) 岡田 晃, 鈴木勝己: 振動障害—研究動向と診療の実際—, 篠原出版, 東京, (1982).
- 2) Ariizumi, M. and Okada, A.: Effects of whole body vibration on biogenic amines in rat brain, *Br. J. Ind. Med.*, **42**, 133-136 (1985).
- 3) Kvetnansky, R., Palkovits, M., Mitro, A., Torda, T. and Mikwaj, L.: Catecholamines in individual hypothalamic nuclei of acutely and repeatedly stressed rats, *Neuroendocrinology*, **23**, 257-267 (1977).
- 4) Tanaka, M., Kohno, Y., Nakagawa, R., Nishikawa T., Tsuda, A. and Nagasaki, N.: Immobilization stress increases serotonin turnover in the extended brain regions in the rat, *Med. J.*, **30**, 35-43 (1983).
- 5) Tanaka, M., Kohno, Y., Nakagawa, R., Ida, Y., Takeda, S. and Nagasaki, N.: Time-related differences in noradrenaline turnover in rat brain,

- Pharmacol. Biochem. Behav.*, **16**, 315-319 (1982).
- 6) Thierry, A.M., Tassin, J.P., Blanc, G. and Glowinski, J.: Selective activation of the mesocortical DA system by stress, *Nature (London)*, **263**, 242-244 (1976).
- 7) Deutch, A.Y., Tam, S.-Y. and Roth, R.H.: Foot-shock and conditioned stress increase 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the ventral tegmental area but not substantia nigra, *Brain Res.*, **333**, 143-146 (1985).
- 8) Waldmeier, P.C., Kam, R. and Stocklin, K.: Increased dopamine metabolism in rat striatum after infusions of substance P into the substantia nigra., *Brain Res.*, **159**, 223 (1978).
- 9) Beal, M.F. and Martin, J.B.: The effect of somatostatin on striatal catecholamines, *Neurosci. Lett.*, **44**, 271-276 (1984).
- 10) Nemeroff, C.B., Hernandez, D.E., Luttinger, D., Kalivas, P.W. and Prange, A.J., Jr.: Interactions of neurotensin with brain dopamine systems., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **400**, 330-334 (1982).
- 11) Hökfelt, T., Everitt, B.J., Theodorsson-Norheim, E. and Goldstein, M.: Occurrence of Neurotensinlike Immunoreactivity in Subpopulations of Hypothalamic, Mesencephalic, and Medullary Catecholamine Neurons, *J. Comp. Neurol.*, **222**, 543-559 (1984).
- 12) Marley, P.D., Rehfeld, J.F. and Emson P.C.: Distribution and Chromatographic Characterisation of Gastrin and Cholecystokinin in the Rat Central Nervous System, *J. Neurochem.*, **42**, 1523-1535 (1984).
- 13) Silber, R.H., Busch, R.D. and Oslapas, R.: Practical Procedure for Estimation of Corticosterone or Hydrocortisone, *Clinical Chem.*, **4**, 278-285 (1958).
- 14) Bhargava, K.P., Dass, M., Gupta, G.P. and Gupta, M.B.: Study of central neurotransmitters in stress-induced gastric ulceration in albino rats, *Br. J. Pharmacol.*, **68**, 765-772 (1980).
- 15) Arai, H., Moroji, T., Kosaka, K. and Iizuka, R.: Extrahypophyseal Distribution of α -Melanocyte Stimulating Hormone (α -MSH)-like Immunoreactivity in Postmortem Brains from Normal

- Subjects and Alzheimer-Type Dementia Patients, *Brain Res.*, **377**, 305-310 (1986).
- 16) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *J. Bio. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 17) 菅原直毅, 長野千枝子, 照井和幸, 岡田 晃: 振動刺激によるラットの副腎・血清中コルチコステロンと NADP (H) の変化, *日衛誌*, **27**, 347-352 (1972).
- 18) Ariizumi, M. and Okada, A.: Effect of Whole Body Vibration on the Rat Brain Content of Serotonin and Plasma Corticosterone, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **52**, 15-19 (1983).
- 19) 岡田 晃: 全身振動による影響, 障害, *労働科学*, **41**, 9-18 (1965).
- 20) 岡田 晃: 騒音, 振動, *内科*, **27**, 864-869 (1971).
- 21) Elliott, P.J., Alpert, J.E., Bannon, M.J. and Iversen, S.D.: Selective activation of mesolimbic and mesocortical dopamine metabolism in rat brain by infusion of a stable substance P analogue into the ventral tegmental area, *Brain Res.*, **363**, 145-147 (1986).
- 22) Watanabe, H.: Activation of Dopamine Synthesis in Mesolimbic Dopamine Neurons by Immobilization Stress in the Rat, *Neuropharmacology*, **23**, 1335-1338 (1984).
- 23) 網島浩一: 拘束・寒冷ストレスに対する自律神経—内分泌系および脳内神経伝達物質の応答, *十全医学雑誌*, **96**, 520-536 (1987).
- 24) 沖 充, 堂本時夫: サブスタンス P, *生体の科学*, **37**, 192-196 (1986).
- 25) Kalivas, P.W. and Miller, J.S.: Substance P Modulation of Dopamine in the Nucleus Accumbens, *Neurosci. Lett.*, **48**, 55-59 (1984).
- 26) Lisoprawski, A., Blanc, G. and Glowinski, J.: Activation by stress of the habenulo-interpeduncular substance P neurons in the rat, *Neurosci. Lett.*, **25**, 47-51 (1981).
- 27) Hökfelt, T., Johansson, O., Ljungdahl, A., Lundberg, J.M. and Schultzberg, M.: Peptidergic neurones, *Nature*, **284**, 515-521 (1980).
- 28) Deutch, A.Y., Bean, A.J., Bissette, G., Nemeroff, C.B., Robbins, R.J. and Roth, R.H.: Stress-induced alterations in neurotensin, somatostatin and corticotropin-releasing factor in mesotelencephalic dopamine system regions, *Brain Res.*, **417**, 350-354 (1987).
- 29) Sakanaka, M., Shiosaka, S., Takatsuki, K., Inagaki, S., Takagi, H., Senba, E., Kawai, Y., Matsuzaki, T. and Tohyama, M.: Experimental immunohistochemical studies on the amygdalofugal peptidergic (substance P and somatostatin) fibers in the stria terminalis of the rat, *Brain Res.*, **221**, 231-242 (1981).
- 30) Uhl, G., Goodman, R., Kuhar, M. et al.: Enkephalin and neurotensin; immunohistochemical localization and identification of an amygdalofugal pathway, In: *Endorphins* (eds. Costa, E. and Trabucci, M.) Raven Press, New York, 71-87, (1978).
- 31) Uhl, G.R., Goodman, R.R., Kuhar, M.J., Childers, S.R. and Snyder, S.H.: Immunohistochemical mapping of enkephalin containing cell bodies, fibers and nerve terminals in the brain stem of the rat, *Brain Res.*, **166**, 75 (1979).
- 32) Jones, E.G. and Hendry, S.H.C.: Peptide-Containing Neurons of the Primate Cerebral Cortex Neuropeptides, In: *Neurologic and Psychiatric Disease* (eds. Martin, J.B. and Barchas, J.D.) Raven Press, New York, 163-178 (1986).
- 33) Brownstein, M., Arimura, A., Sato, H., Schally, A.V. and Kizer, J.S.: The Regional Distribution of Somatostatin in the Rat Brain, *Endocrinology*, **96**, 1456-1461 (1975).
- 34) Patel, Y.C., Hoyte, K. and Martin, J.B.: Effect of Anterior Hypothalamic Lesions on Neurohypophyseal and Peripheral Tissue Concentrations of Somatostatin in the Rat, *Endocrinology*, **103**, 712-715 (1979).
- 35) Taché, Y., Ruisseau, P.D., Ducharme, J.R. and Collu, R.: Pattern of adenohypophyseal hormone changes in male rats following chronic stress, *Neuroendocrinology*, **26**, 208-219 (1978).
- 36) Terry, L.C. and Crowley, W.R.: The effects of exercise stress on somatostatin concentrations in discrete brain nuclei, *Brain Res.*, **197**, 543-546 (1980).

- 37) 高山晴彦, 貫名 至, 太田善介, 広瀬由起子, 小川紀雄: 脳内ペプチドに及ぼす拘束ストレスの影響, 医学のあゆみ, **136**, 699-700 (1986).
- 38) Sheppard, M.C., Kronheim, S. and Pimstone, B. L.: Effect of substance P, neurotensin and the enkephalins on somatostatin release from the rat hypothalamus in vitro, *J. Neurochem.*, **32**, 647-649 (1979).
- 39) Garcia-Sevilla, J.A., Magnusson, T. and Carlsson, A.: Effect of intracerebroventricularly administered somatostatin on brain monoamines turnover, *Brain Res.*, **155**, 159-164 (1978).
- 40) Chesselet, M.F., Reisine, D., Somatostatin regulates dopamine release in rat striatal slices and cat caudate nuclei, *J. Neurosci.*, **3**, 232-236 (1983).
- 41) Takagi, H.: Distribution of peptides in basal ganglia, *Prog. Brain Res.*, **66**, 35-71 (1986).
- 42) Schally, A.V., Huang, W.Y., Chang, R.C.C., Arimura, A., Redding, T.W., Millar, R.P., Hunkapiller, N.W. and Hood, L.E.: Isolation and structure of pro-somatostatin: A putative somatostatin precursor from pig hypothalamus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 4489-4493 (1980).
- 43) Nemeroff, C., Hernandez, D.E., Orlando, R.C. and Prange, A.J., Jr.: Cytoprotective effect of centrally administered neurotensin on stress-induced gastric ulcers, *Am. J. Physiol.*, **242**: G342-G346 (1982).
- 44) Kalvas, P.W.: Interactions between Neuropeptides and Dopamine Neurons in the Ventromedial Mesencephalon, *Neuroscience & Behavioral Reviews*, **9**, 573-587 (1985).
- 45) Hernandez, D., Stanley, D.A., Melvin, J.A. and Prange, A.J., Jr.: Involvement of brain dopamine systems on neurotensin-induced protection against stress gastric lesions, *Brain Res.*, **381**, 159-163 (1986).
- 46) Moldow, R.L., Kastin, A.J., Graf, M. and Fischman, A.J.: Stress Mediated Changes in Hypothalamic Corticotropin Releasing Factor-like Immunoreactivity, *Life Sci.*, **40**, 413-418 (1987).
- 47) Herzog, A.G. and Van Hoesen, G.W.: Temporal neocortical afferent connections to the amygdala in the rhesus monkey, *Brain Res.*, **115**, 57-69 (1976).
- 48) Turner, B.H., Mishikin, M. and Knapp, M.: Organization of the amygdalopetal projections from modality-specific cortical association areas in the monkey, *J. Comp. Neurol.*, **191**, 515-543 (1980).
- 49) Hopkins, D.A. and Holstege, G.: Amygdaloid projections to the mesencephalon, pons and medulla oblongata in the cat, *Exp. Brain Res.*, **32**, 529-547 (1978).
- 50) Norman, S.C. and Peele, T.L.: Studies on amygdaloid nucleus of cat, *J. Neurophysiol.*, **20**, 125-139 (1957).
- 51) Leon, S. and Arthur, K.: Behavioral changes following rhinencephalic injury in cat, *J. Neurophysiol.*, **16**, 643-659 (1953).
- 52) Allen, J.P. and Allen, C.F.: Role of the Amygdaloid Complexes in the Stress-Induced Release of ACTH in the Rat, *Neuroendocrinology* **15**, 220-230 (1974).
- 53) 永津郁子: モノアミン, 生体の科学, **37**, 163-167 (1986).
- 54) Beaulieu, S., Paolo, T.D., Cote, J. and Barden, N.: Participation of the Central Amygdaloid Nucleus in the Response of Adrenocorticotropin Secretion to Immobilization Stress: Opposing Roles of the Noradrenergic and Dopaminergic Systems, *Neuroendocrinology* **45**, 37-46 (1987).

(受付 1987年11月17日 受理 1988年3月2日)