

題 目

ラット噛みしめ昇圧反応に関する研究

しょうじ いちろう

東海林 一郎

(口腔外科学専攻)

防衛医科大学校

平成28年度

## 目 次

第1章 緒 言	1
第2章 咬筋電気刺激による噛みしめ頻度と昇圧反応の大きさとの関係	4
第3章 噛みしめ昇圧反応におけるダントロレンによる筋弛緩の影響	7
第4章 噛みしめ昇圧反応における動脈圧受容器除神経の影響	9
第5章 受容器解析1：噛みしめ昇圧反応における臼歯部局所麻酔の影響	11
第6章 受容器解析2：噛みしめ昇圧反応におけるガドリニウムによる 咀嚼筋由来求心性神経遮断の影響	13
第7章 求心路解析：噛みしめ昇圧反応における三叉神経節ブロックの影響	18
第8章 遠心路解析1：噛みしめ昇圧反応におけるヘキサメソニウムによる 自律神経節遮断の影響	21
第9章 遠心路解析2：噛みしめ昇圧反応におけるメチルアトロピンによる ムスカリン受容体阻害の影響	25

第10章 総括	27
第11章 結論	32
謝辞	33
付記	34
引用文献	36
図表	45

## 第1章 緒言

戦闘機パイロットや曲技飛行パイロットは旋回時等において遠心加速度を頭一尾方向（+Gz）に受け、脳虚血等の身体への多大な影響が発生するため、耐G動作（anti-G straining maneuver）や耐Gスーツ（anti-G suit）等により加速度誘発性意識消失（G-induced loss of consciousness: G-LOC）や黒視症（blackout）を予防する必要がある。航空自衛隊および米空軍においても過去に多くのG-LOCによる意識消失が発生しており [1]、8Gを超えるG負荷や、不十分な耐G動作はG-LOCの危険因子として考えられている [2]。最近では平成23年に発生した那覇基地所属のF-15戦闘機墜落事故もG-LOCが原因と推定され、anti-G suitの故障の可能性等も指摘されている。これらの状況を鑑み、anti-G suitの故障等の緊急時においてもG-LOCを予防しうる新たな対策が必要と考える。Takahataら [3] はラットを用いた動物実験により、+Gz負荷時に発生する頭部動脈圧降下の一部を噛みしめ運動による昇圧反応で一部阻止できることを示した。噛みしめ運動により脳血流量の増加および昇圧反応が生じるが、この反射機能は航空機パイロットのG-LOC対策以外にも様々な分野での応用が考えられる。例えば、スポーツ選手のパフォーマンス向上や高齢者等の身体機能および認知機能の向上、脳梗塞患者のリハビリへの応用等である。この噛みしめ運動による昇圧応答を「噛みしめ昇圧反応」と名づけた [3-6] が、その生理学的応答機序は全く未解明であった。そこで本研究では、噛みしめ昇圧反応の機序解明を目的とした。

噛みしめ運動や咀嚼運動により循環動態に様々な変化が生じることは広く知られている。複数の研究グループが、噛みしめ運動や咀嚼運動により脳血流量および脳酸素レベルの上昇が生じることを報告した [7-10]。Hiranoら [11] は、



記憶課題実施中において、ガム咀嚼により前頭前野の中前脳回・右前運動野・楔前部・視床下部・海馬・下頭頂小葉で血中酸素レベルが有意に上昇することを報告した。また Kawanishi ら [12] は、中大脳動脈を結紮し虚血性脳障害を生じさせたラットにおいて液体の餌よりも固形の餌を咀嚼させた場合の方が脳の機能的回復に効果的であることを、四肢配置実験およびモーリスの水迷路試験を用いて実証した。これらの報告から、噛みしめ運動時の脳血流量や脳酸素レベルの上昇および脳機能の向上は昇圧反応によるものであることが示唆された。これまでの研究報告 [13-15] により、噛みしめ昇圧反応が確認されているが、その昇圧反応の機序については未だ解明されていない。

そこで本研究では、生理学的反射応答の可能性を考え、図 1 のように 1~6 の段階に分け、解析を進めた。1 は入力刺激量と出力応答量から最適刺激方法を求め、第 2 章に記した。2 は電気刺激が生体に対し、どのような受容性入力反応であるかを検討した。咬筋等の咀嚼筋による噛みしめ運動が受容性入力であるのかについて、ダントロレン（リアノジン受容体阻害薬、筋弛緩薬）投与による筋弛緩により検討し、第 3 章に記した。3 は、出力応答としての昇圧反応自体が動脈圧受容器反射により応答量が修飾されている可能性があるため、動脈圧受容器除神経によりその影響を確認し、第 4 章に記した。この後は反射経路の検討として 4 の受容器の解明、5 の求心路の解明、そして 6 の遠心路の解明へと研究を進めた。受容器では、臼歯部局所麻酔による歯根膜に存在する機械受容器（第 5 章）、とガドリニウムによる咀嚼筋の機械受容器（第 6 章）のブロック効果とに分けて解析した。求心路では三叉神経節ブロックにより三叉神経求心路を検討し、第 7 章に記した。遠心路はヘキサメソニウムによる自律神経節遮断（第 8 章）とメチ

ルアトロピンによるムスカリン受容体阻害（第 9 章）の 2 つに分け、それぞれの影響を検討した。効果器については遠心路の解明から自ずと推定できた。

以上、嚙みしめ昇圧反応の反射特性および反射経路を解析・解明し、第 10 章で総括、第 11 章で結論を述べた。

尚、本研究は日本学術会議による動物実験実施ガイドラインに従い、防衛医科大学校実験動物倫理委員会（承認番号 12086、15046）の承認を受けて実施した。

## 第2章 咬筋電気刺激による噛みしめ頻度と昇圧反応の大きさとの関係

### 2-1 目 的

この章では、咬筋電気刺激の刺激頻度の変化により噛みしめ運動の頻度を変えて、噛みしめ昇圧反応の大きさとの関係を調べ、昇圧反応が最大となる噛みしめ頻度について検討した。

### 2-2 方 法

本研究の全ての実験において、雄性 Sprague-Dawley ラット (12~16 週齢、 $423 \pm 34 \cdot 10^{-3}$  kg、日本エスエルシー、静岡) を用い、ウレタン麻酔下 ( $1.2 \cdot 10^{-3}$  kg $\cdot$ kg $^{-1}$ , Urethane, Sigma-Aldrich, Missouri, USA, 腹腔内投与) で実施した。本実験では5匹のラットを用い、顕微鏡下で動脈圧 (Arterial Pressure: AP) 計測用のカテーテル (内径  $0.58 \cdot 10^{-3}$  m, 長さ 0.4 m, PE50, Becton Dickinson, New Jersey, USA) を左大腿動脈に、また薬剤等投与用のカテーテル (内径  $0.28 \cdot 10^{-3}$  m, 長さ 0.4 m, PE10, Becton Dickinson) を左大腿静脈に挿入した。全てのカテーテルはヘパリン加生食 ( $2 \cdot 10^3$  U $\cdot$ l $^{-1}$ ) で満たした。心電図測定用の電極 (EKC-20VSBL、栄光科学、東京) は胸部正中皮下に、咬筋電気刺激用電極 (EKC-20VSBL、栄光科学) は両側の咬筋 (咀嚼筋の一種) 部表皮にそれぞれ固定した。その後、施術したラットを脳定位固定装置 (SR-6R、ナリシゲ、東京) に腹臥位で固定し、AP 計測用カテーテルを血圧測定用トランスデューサー (DX-360、日本光電、東京) に接続し、血圧測定用アンプ (AP-641G、日本光電) により AP を計測した。また心電図電極は心電計および心拍計 (AB601G および AT601G、日本光電) に接続し、R-R 間隔より瞬時心拍数 (Heart Rate: HR) を計測した。次に咬合圧計測のため、厚さ  $0.65 \cdot 10^{-3}$  m の圧力センサー (PSM 型センサー、共和電業、東京) を右下顎臼歯部に着

した。圧力センサーは測定用アンプ(AP601G、日本光電)に接続し、咬合力を計測した。全アナログ信号はアナログデジタル変換器(Powerlab, ADInstruments, Dunedin, New Zealand)によりデジタル信号化し、 $1000 \text{ samples} \cdot \text{s}^{-1}$ のサンプリング速度で記録した。同時にAP・HR・ECGのデジタルデータはパーソナルコンピュータ(Satellite223、東芝、東京)で描出・記録し、プリンター(WR1000、グラフテック、東京)で記録した。今回実験に使用したシステムの概念図を図2に示す。

咬筋電気刺激は、電気刺激装置(Electronic Stimulator および Isolator SS-102J、日本光電)を用い、両側咬筋を  $18\text{--}20 \cdot 10^{-3} \text{ A}$  (咬合圧および昇圧量が最大となる最小刺激電流) で30秒間、0.2、0.25、0.33、0.5、1.0、又は50 Hzの頻度にて電気刺激し、刺激頻度の選択をランダム化して噛みしめ運動を誘発した。

咬筋の電気刺激により、最大約4 Nの咬合力を得た。

電気刺激頻度別の平均動脈圧の上昇分( $\Delta$ Mean Arterial Pressure;  $\Delta$ MAP)および心拍数の上昇分( $\Delta$ Heart Rate;  $\Delta$ HR)は、一元配置の分散分析およびTukey-Kramerのpost-hocにて有意差検定を行い、 $P < 0.05$ を統計学的有意とした。また本研究において、数値の表示は平均値 $\pm$ 標準誤差とした。統計解析はエクセル統計2012®(社会情報サービス、東京)を使用した。

## 2-3 結 果

図3Aに噛みしめ運動時にみられた噛みしめ昇圧反応における昇圧応答および頻脈応答例を示す。

図3Bに示すように、噛みしめ頻度を0.2、0.25、0.33、0.5、1.0 Hz、および50 Hzと変化させた時、昇圧応答 $\Delta$ MAPは、それぞれ $6.2 \pm 2.5 \text{ mmHg}$ 、 $5.6 \pm 2.0 \text{ mmHg}$ 、 $7.3 \pm 2.5 \text{ mmHg}$ 、 $10.2 \pm 2.3 \text{ mmHg}$ 、 $17.1 \pm 2.8 \text{ mmHg}$ 、 $13.2 \pm 3.0 \text{ mmHg}$ となり、頻度の増加にした

がって $\Delta$ MAPの増大傾向を認め、最も昇圧応答が大きい頻度は1.0 Hzであった。一方、 $\Delta$ HRは、それぞれ $12.9 \pm 3.3$  bpm、 $11.5 \pm 1.6$  bpm、 $14.0 \pm 3.5$  bpm、 $12.9 \pm 1.6$  bpm、 $17.9 \pm 3.8$  bpm、 $19.8 \pm 4.6$  bpmとなり、これらの変化に有意差は認められなかった。

#### 2-4 考 察

咬筋の電気刺激により噛みしめ頻度を増加させるにしたがって昇圧応答 $\Delta$ MAPは増大し、1.0 Hzで最大の昇圧応答に至った。また50 Hzでは、1.0 Hzよりも昇圧応答が小さくなることが示された。この結果から、噛みしめ頻度が1.0 Hzの時、最大の昇圧反応が生じることが判明した。また連続的（50 Hz）に噛みしめ続けると、昇圧反応が1.0 Hz頻度の大きさから経時的に減衰していくことも示された。

#### 2-5 小 括

本実験の結果より、ラットでは噛みしめ頻度が増加するほど昇圧反応が大きくなり、最も昇圧反応が大きくなる噛みしめ頻度は1.0 Hzであった。この結果に基づき、以降の実験で用いる噛みしめ頻度は1.0 Hzを利用した。

### 第3章 噛みしめ昇圧反応におけるダントロレンによる筋弛緩の影響

#### 3-1 目 的

噛みしめ昇圧反応が脳を含む咬筋部以外の部位へ及ぶ刺激電流によるものではなく、噛みしめという筋収縮運動によって誘発されるのかを確認するために、ダントロレン（リアノジン受容体阻害薬、筋弛緩薬）にて筋収縮を阻害し、昇圧応答に及ぼす影響を検討した。

#### 3-2 方 法

実験には第2章 2-2と同様に施術したラット5匹を用い、ダントロレン ( $6 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ , 注射用ダントロレンナトリウム水和物、アステラス製薬、東京)を静脈内投与し、投与前と投与10分後において、 $18-20 \cdot 10^{-3}$  Aの電気刺激で30 秒間、1.0 Hzの噛みしめ運動を誘発したときの昇圧応答  $\Delta$ MAPおよび頻脈応答  $\Delta$ HRを比較した。

統計学的有意差検定には対応のある  $t$ 検定を用い、 $P < 0.05$ を統計学的有意とした。

#### 3-3 結 果

図4Aにダントロレン投与前および投与10分後において1.0 Hzの噛みしめ運動を誘発したときのMAP変化およびHR変化を示した。また図4Bにダントロレン投与前と投与10分後における噛みしめ昇圧反応による昇圧応答  $\Delta$ MAPおよび頻脈応答  $\Delta$ HRの平均値比較を示した。ダントロレンによる筋収縮阻害は、噛みしめ昇圧反応による昇圧応答を完全に消失させた ( $\Delta$ 18.5  $\pm$  1.3 mmHg vs.  $\Delta$ -0.2  $\pm$  1.6 mmHg,  $P < 0.01$ )。一方、頻脈応答 ( $\Delta$ 11.1  $\pm$  5.2 bpm vs.  $\Delta$ 5.1  $\pm$  2.1 bpm)は縮小傾向を示したが有意差は認めなかった。

### 3-4 考 察

ダントロレンはリアノジン受容体阻害薬であり、骨格筋小胞体からの $\text{Ca}^{2+}$ 放出を抑制することで電気刺激による筋収縮でも抑制することができる [16]。Lynchら [17] の報告では、イヌにダントロレンを $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 静注しても心筋収縮力や心拍出量に変化が見られなかった。またBowmanら [18] の報告では、ネコにダントロレン $24 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ を静注しても呼吸器系への影響はわずかであった。さらに、Ellisら [19] はイヌにダントロレン $30 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ を静注しても循環器系および呼吸器系に変化がなかったことを報告した。本実験に用いたダントロレン投与量 $6 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ では、ベースライン平均動脈圧やベースライン瞬時心拍数に有意な変化はなく、循環および呼吸への影響は最小限であった。一方、咬合力は完全消失し、同時に昇圧応答も消失した (図4A, B)。

横隔膜はfast red fiber 及びslow intermediate fiberの割合が他の骨格筋と比較して大きく、これらの筋線維はミトコンドリアを多く含む [20]。ミトコンドリア中の $\text{Ca}^{2+}$ は筋収縮活動において重要な役割を担っており [21, 22, 23]、心筋もミトコンドリアを多く含む [24]。ダントロレンを投与しても循環器系及び呼吸器系に影響が少ない理由は、心筋及び横隔膜がミトコンドリアを多く含むことが関係していると考えられる。

### 3-5 小 括

本実験の結果より、電気刺激により誘発した噛みしめ昇圧反応は、咀嚼筋の筋収縮によって発生していることが判明した。

## 第4章 噛みしめ昇圧反応における動脈圧受容器除神経の影響

### 4-1 目 的

噛みしめ昇圧反応において動脈圧受容器反射による昇圧量の抑制が起こっていないかを確認するために、動脈圧受容器除神経(Sinoaortic denervation; SAD) の影響を検討した。

### 4-2 方 法

実験には第2章 2-2と同様に施術したラットを用いた。SAD( $n=6$ ) は常法 [25, 26] に従い、頸部を正中切開し、両側の大動脈神経を切断、同時に両側の頸動脈洞を周囲組織より完全に剥離・解離し5 %フェノールを塗布することで実施した。除神経成否の確認は、大腿静脈カテーテルより  $40 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{l}^{-1}$  に調製したフェニレフリン(phenylephrine hydrochloride, Sigma-Aldrich)  $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ l}$  を静注して昇圧させ、この時の圧受容器反射性HR応答の有無にて行った。またSham手術では、頸部を正中切開し、両側大動脈神経を剥離したが切断しない状態、また両側の頸動脈洞を周囲組織より剥離したがフェノールを塗布しない状態で放置した。Sham群( $n=5$ )においてもフェニレフリン溶液( $40 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ l}$ ) を静注して昇圧させ、反射性除脈が発生することにより圧受容器反射の健在を確認した。SAD群・Sham群ともに、SADまたはSham処置30分後に、 $18\text{--}20 \cdot 10^{-3} \text{ A}$  の電気刺激により30 秒間、1.0 Hz噛みしめ運動を誘発し、噛みしめ昇圧応答 $\Delta\text{MAP}$ および頻脈応答 $\Delta\text{HR}$ を比較した。統計学的有意差検定には対応のないStudent  $t$  検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。



#### 4-3 結 果

SAD処置後では、安静時MAPの有意な上昇を認めた ( $89.9 \pm 4.1$  mmHg vs.  $98.7 \pm 4.1$  mmHg,  $P < 0.01$ ) (図5Aおよび表1)。

図5Aに、SAD群とSham群の処置前後における、噛みしめ昇圧反応における昇圧応答および頻脈応答例を示す。SAD群とSham群の間で、昇圧応答に有意差は認めなかった ( $\Delta 14.0 \pm 1.5$  mmHg vs.  $\Delta 14.6 \pm 2.0$  mmHg, 図5B)。また頻脈応答 $\Delta$ HRについても、SAD群とSham群の間に有意差は認めなかった ( $\Delta 10.7 \pm 5.0$  bpm vs.  $\Delta 11.6 \pm 2.1$  bpm)。

#### 4-4 考 察

今回、ウレタンにより全身麻酔を行った。Shimokawaら [27] によるとウレタン麻酔はペントバルビタールやクロラロースほど動脈圧受容器反射性神経活動の抑制が生じないと述べており、今回使用した麻酔薬が実験に及ぼす影響は他の麻酔薬よりも少ないと思われる。運動中は動脈圧受容器反射が抑制されること、およびこの抑制は反射作動レンジが高压側へシフトすることによることは広く知られている [28-32]。また、高血圧症・心疾患・肥満・睡眠時無呼吸症候群等の種々の疾患においても動脈圧受容器の感受性が低下することが報告されている [33-37]。本実験結果から、ラットの噛みしめ運動時においても昇圧反応に対する動脈圧受容器反射が抑制されていることが示された。

#### 4-5 小 括

ラットの噛みしめ運動時には、昇圧反応に対する動脈圧受容器反射が抑制されている。

## 第5章 受容器解析1：噛みしめ昇圧反応における臼歯部局所麻酔の影響

### 5-1 目 的

歯肉・歯根膜等の歯周組織に噛みしめ昇圧反応の受容器が存在することを確認するため、リドカインによる臼歯部局所麻酔を行い、噛みしめ昇圧反応に対する影響を検討した。

### 5-2 方 法

実験には第2章 2-2 と同様に施術したラットを用い、2 %リドカイン（キシロカイン注射液 2 %、アストラゼネカ、大阪）を生食で希釈し、0.4 % ( $n=6$ ) または 0.8 %リドカイン ( $n=5$ ) として両側の上顎臼歯部歯肉および下顎孔部粘膜にそれぞれ  $0.1 \cdot 10^{-3}$  l ずつ局所注入した。また対照群 ( $n=6$ ) には、同量の生食を同部に局所注入した。次に、局所注入の前後において  $18-20 \cdot 10^{-3}$  A の電気刺激により 30 秒間、1.0 Hz 噛みしめ運動を誘発し、噛みしめ昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。

統計学的有意差検定には二元配置の分散分析および Tukey-Kramer の post-hoc 検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

### 5-3 結果

結果を図 6 に示す。0.4 %リドカインによる局所麻酔では、局所注入前および注入 30 分後、60 分後の昇圧応答  $\Delta$ MAP はそれぞれ  $13.0 \pm 1.7$  mmHg、 $3.5 \pm 3.0$  mmHg、 $3.7 \pm 2.6$  mmHg となり、局注 30 分後で  $26.9 \pm 23.1$  %までに有意に減少した。しかし、頻脈応答  $\Delta$ HR はそれぞれ  $10.3 \pm 5.9$  bpm、 $5.7 \pm 3.5$  bpm、 $5.1 \pm 3.8$  bpm となり有意な変化は認めなかった。一方、0.8 %リドカインによる局所麻酔では、局所注入前および

注入 30 分後、60 分後の昇圧応答  $\Delta$ MAP はそれぞれ  $14.5 \pm 1.0$  mmHg、 $4.0 \pm 1.5$  mmHg、 $6.2 \pm 2.0$  mmHg となり、局注 30 分後で  $27.4 \pm 10.1\%$  までに有意に減少した。しかし、頻脈応答  $\Delta$ HR はそれぞれ  $13.6 \pm 2.1$  bpm、 $6.7 \pm 4.0$  bpm、 $9.1 \pm 4.0$  bpm となり有意な変化は認めなかった。

また生食を局注した場合では、局所注入前および注入 30 分後、60 分後の昇圧応答  $\Delta$ MAP はそれぞれ  $14.7 \pm 3.7$  mmHg、 $14.1 \pm 3.3$  mmHg、 $13.2 \pm 2.8$  mmHg となり、有意な変化は認めなかった。頻脈応答  $\Delta$ HR もそれぞれ  $18.0 \pm 5.0$  bpm、 $15.9 \pm 5.4$  bpm、 $15.2 \pm 4.0$  bpm で有意な変化は認めなかった。

#### 5-4 考 察

0.4 %リドカインによる臼歯部局所麻酔を行うと、噛みしめ昇圧応答は局麻 30 分後において約 73 %減少し、その効果は 0.8 %リドカインでも同程度であった。本実験結果より、この昇圧反応の受容器が、噛みしめた時に生じる組織圧力を感知する歯肉・歯根膜等の歯周組織に存在する機械受容器であることが示された。また同時に、昇圧反応の全部が抑制されたのではなく、一部が残存したことから、他にも受容器が存在する可能性が示唆された。

#### 5-5 小 括

噛みしめ昇圧反応の受容器の一部は、歯肉・歯根膜等の歯周組織に存在する機械受容器である。

## 第6章 受容器解析2：噛みしめ昇圧反応におけるガドリニウムによる咀嚼筋由来求心性神経遮断の影響

### 6-1 目的

咀嚼筋完全弛緩により噛みしめ昇圧反応が完全消失することから、歯肉・歯根膜等の歯周組織に存在する機械受容器以外に筋由来求心路による昇圧反応[38-41]の可能性が残された。すなわち、咀嚼筋に存在する筋機械受容器からの求心性シグナルが噛みしめ昇圧反応に関与しているかについて確認する必要がある。このため、骨格筋機械受容器阻害薬であるガドリニウムによる咀嚼筋の薬液処置[42]を行い、噛みしめ昇圧反応への影響を検討した。

### 6-2 方法

#### 6-2-1 咀嚼筋のガドリニウム処置

実験には第2章 2-2と同様に施術したラット17匹を用い、右外頸静脈より右心室内にカテーテル(内径  $0.58 \cdot 10^{-3}$  m, 長さ 0.4 m, PE50, Becton Dickinson)を挿入し、常法[42-46]に従いガドリニウム ( $20 \cdot 10^{-3}$  M,  $2.1 \cdot 10^{-3}$  l  $\cdot$  kg $^{-1}$ , pH 7.3-7.4, gadolinium chloride hexahydrate, Sigma-Aldrich,  $n=12$ ) Hepes (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethane-sulfonic acid, Sigma-Aldrich) 溶液または Hepes 溶液 ( $2.1 \cdot 10^{-3}$  l  $\cdot$  kg $^{-1}$ , pH 7.3-7.4,  $n=5$ ) 単独を右心室内に投与して10分間両側の外頸静脈を結紮し、両側咀嚼筋の薬液処置を行った。次に、咀嚼筋の薬液処置前後において  $18-20 \cdot 10^{-3}$  A の電気刺激により30秒間、1.0 Hz 噛みしめ運動を誘発し、噛みしめ昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。

Hayes ら [44] は、除脳および $\alpha$ クロラロース麻酔下のネコにおいて、下肢への低

用量( $5 \cdot 10^{-3}$  M,  $1 \cdot 10^{-3}$  l) のガドリニウム処置を行っても下肢屈曲時およびアキレス腱牽引時の昇圧反応はあまり減弱しなかったが、高用量( $10-25 \cdot 10^{-3}$  M,  $1 \cdot 10^{-3}$  l) のガドリニウム処置を行うと昇圧反応が十分に減弱したことを報告した。また、Nakamoto ら [42] は、麻酔下ラットにおいて、下腿三頭筋へのガドリニウム( $20 \cdot 10^{-3}$  M,  $2.1 \pm 0.3 \cdot 10^{-3}$  l  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>, pH 7.3-7.4) 処置により、アキレス腱牽引時の昇圧反応が 74-78 % に減弱することを示した。これらの報告から、ガドリニウムが骨格筋における機械的伸展受容情報の求心性シグナルをブロックできることが確認された。これらの報告に基づき、我々もガドリニウムにより筋機械受容器遮断実験を行った。

統計学的有意差検定には二元配置の分散分析および Tukey-Kramer の post-hoc 検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

#### 6-2-2 咬筋牽引実験

ガドリニウムによる咀嚼筋の筋機械受容器へのブロック効果を確認するための実験を行った。

実験には第 2 章 2-2 (咬筋部表皮への刺激電極の装着処置を除く) と同様に施術したラット 6 匹を用いた。第 6 章 6-2-1 の方法で両側咀嚼筋のガドリニウム( $20 \cdot 10^{-3}$  M,  $2.1 \cdot 10^{-3}$  l  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>, pH 7.3-7.4) 処置を行う前後で、遠位部を切断した片側咬筋を 1.0 kgf の荷重で 2 分間牽引し、この時の昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。

統計学的有意差検定には一元配置の分散分析および Tukey-Kramer の post-hoc 検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

## 6-3 結 果

### 6-3-1 咀嚼筋のガドリニウム処置実験の実験結果

ガドリニウム投与群では、咀嚼筋のガドリニウム処置前および処置 30 分後、60 分後、90 分後で、噛みしめ運動時の昇圧応答 $\Delta$ MAP は、それぞれ  $17.1 \pm 1.4$  mmHg、 $10.6 \pm 1.3$  mmHg、 $12.4 \pm 1.7$  mmHg、 $17.9 \pm 2.0$  mmHg となり、ガドリニウム処置 30 分後では昇圧応答が  $62.4 \pm 6.8$  %までに有意に減少した（図 7A）。しかし、頻脈応答 $\Delta$ HR はそれぞれ  $6.4 \pm 2.7$  bpm、 $4.1 \pm 1.4$  bpm、 $9.3 \pm 2.8$  bpm、 $13.7 \pm 3.8$  bpm となり有意な変化は認めなかった。また、咬合力はそれぞれ  $3.8 \pm 0.3$  N、 $3.9 \pm 0.3$  N、 $4.1 \pm 0.3$  N、 $4.0 \pm 0.2$  N を示し、この間に有意差を認めなかった。一方、対照群では、昇圧応答 $\Delta$ MAP はそれぞれ  $20.0 \pm 1.7$  mmHg、 $17.8 \pm 1.8$  mmHg、 $16.4 \pm 1.8$  mmHg、 $18.0 \pm 1.9$  mmHg となり、有意な変化は認めなかった。また頻脈応答 $\Delta$ HR もそれぞれ  $5.0 \pm 2.0$  bpm、 $5.3 \pm 2.2$  bpm、 $14.8 \pm 1.9$  bpm、 $16.6 \pm 3.9$  bpm となり有意な変化は認めなかった。

### 6-3-2 咬筋牽引実験の実験結果

咀嚼筋のガドリニウム処置前および処置 30 分後・60 分後・90 分後で片側咬筋を牽引した時にみられた昇圧応答 $\Delta$ MAP は、それぞれ  $10.6 \pm 1.3$  mmHg、 $2.2 \pm 0.9$  mmHg、 $9.2 \pm 2.5$  mmHg、 $11.0 \pm 1.5$  mmHg となり、ガドリニウム処置 30 分後では昇圧応答が  $21.2 \pm 8.3$  %までに有意に減少した（図 7B）。しかし、頻脈応答 $\Delta$ HR はそれぞれ  $4.5 \pm 1.1$  bpm、 $3.8 \pm 1.0$  bpm、 $7.9 \pm 2.4$  bpm、 $7.5 \pm 0.6$  bpm で有意な変化は認めなかった。

#### 6-4 考 察

噛みしめ運動時の昇圧応答は、咀嚼筋のガドリニウム処置 30 分後で約 38 %減少した。一方、咬合力についてはガドリニウム処置前後で有意な変化を認めなかった。さらに咬筋牽引実験ではガドリニウム処置 30 分後で片側咬筋を牽引した時の昇圧応答が約 79 %減少し、咀嚼筋に存在する筋機械受容器に対するガドリニウムのブロック効果を確認できた。これらの実験結果より、咀嚼筋に存在する筋機械受容器も噛みしめ昇圧反応の受容器であることが示された。

ガドリニウム等のランタノイドは細胞膜のリン脂質をシーリングする作用により、筋機械受容器を阻害する [47, 48]。骨格筋に存在する機械受容器として、伸展受容器である筋紡錘やゴルジ腱器官の他、運動昇圧反応に大きく関与するとされるグループⅢおよびグループⅣ求心性神経線維がある [49]。筋収縮時には、グループⅢおよびグループⅣ求心性神経線維の他、ゴルジ腱器官からの I b 群神経線維を介した求心性入力もあるものと考えられる。本実験におけるガドリニウム処置により、咀嚼筋に存在するこれら全ての機械受容器が阻害されているものと考えられ、咬筋牽引（咬筋伸展）時の方が噛みしめ（咬筋収縮）運動時より昇圧応答抑制が大きくなった理由として、咬筋伸展時において筋紡錘からの I a 群神経線維を介した求心性入力も阻害されたことが考えられる。

またガドリニウムは頸動脈洞の圧受容器に対しても阻害作用を及ぼす [43] が、Nakamoto, Matsukawa ら [42, 46] は、ガドリニウムを  $42 \cdot 10^{-6} \text{ M} \cdot \text{kg}^{-1}$  または  $55 \cdot 10^{-6} \text{ M} \cdot \text{kg}^{-1}$  全身投与しても循環動態に変化がなかったと報告しており、本実験におけるガドリニウム投与量では動脈圧受容器に対する影響は少ないものと考えられる。

#### 6-5 小 括

第 5 章で述べた歯周組織に存在する機械受容器に加え、咀嚼筋の筋機械受容器も噛みしめ昇圧反応の受容器である。



## 第7章 求心路解析：嚙みしめ昇圧反応における三叉神経節ブロックの影響

### 7-1 目的

第5章・第6章で判明した両受容器からの求心性神経は、いずれも三叉神経へ合流することが知られているため、リドカインによる三叉神経節ブロックを行い、昇圧反応に対する影響を検討した。

### 7-2 方法

実験には第2章 2-2 と同様に施術したラット 21 匹を用い、頭頂部両側に 2 箇所直径約  $1.0 \cdot 10^{-3}$  m の穴を開け、脳内埋め込み用カニューラ (外筒内径  $0.24 \cdot 10^{-3}$  m, 内筒内径  $0.1 \cdot 10^{-3}$  m, C315ISPCL/C315GSPCL, Plastic One, Virginia, USA) を両側の三叉神経節相当部まで Paxinos and Watson のラット脳地図 [50] に従って挿入した (右三叉神経節: Bregma から右側へ  $3.4 \cdot 10^{-3}$  m、尾側へ  $5.6 \cdot 10^{-3}$  m、深さ  $9.0 \cdot 10^{-3}$  m 左三叉神経節: Bregma から左側へ  $3.4 \cdot 10^{-3}$  m、尾側へ  $5.6 \cdot 10^{-3}$  m、深さ  $9.0 \cdot 10^{-3}$  m)。三叉神経節ブロック群では、2% ( $n=8$ ) または 8% リドカイン ( $n=7$ ) を各  $1.0 \cdot 10^{-6}$  l ずつカニューラより局所注入した。一方、対照群 ( $n=6$ ) においては同量の生食を同部に局所注入した。次に、局所注入前後において  $18-20 \cdot 10^{-3}$  A の電気刺激により 30 秒間、1.0 Hz 嚙みしめ運動を誘発し、嚙みしめ昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。いずれの群も、三叉神経節に薬液が局所注入されたことを確認するため、実験終了後にカニューラからヘマトキシリン溶液 (Mayers hematoxylin solution, 和光純薬、大阪) を各  $1.0 \cdot 10^{-6}$  l ずつ局所注入し、安楽死実施後に三叉神経節を摘出し、形態学的に検討した (図 9)。

統計学的有意差検定には二元配置の分散分析および Tukey-Kramer の post-hoc 検定

を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

### 7-3 結 果

結果を図8に示す。2%リドカインによる三叉神経節ブロックでは、ブロック前およびブロック10分後、30分後、60分後の昇圧応答 $\Delta$ MAPはそれぞれ $14.5 \pm 1.8$  mmHg、 $3.8 \pm 1.4$  mmHg、 $11.4 \pm 2.2$  mmHg、 $13.3 \pm 4.1$  mmHgとなり、ブロック10分後では $26.4 \pm 9.4$  %までに有意に減少し、その後回復を示した。しかし、頻脈応答 $\Delta$ HRはそれぞれ $7.2 \pm 4.1$  bpm、 $5.2 \pm 3.1$  bpm、 $8.9 \pm 3.5$  bpm、 $6.6 \pm 5.1$  bpmとなり有意な変化は認めなかった。8%リドカインによる三叉神経節ブロックでは、ブロック前およびブロック10分後、30分後、60分後の昇圧応答 $\Delta$ MAPはそれぞれ $15.8 \pm 1.9$  mmHg、 $-1.4 \pm 0.9$  mmHg、 $4.4 \pm 1.1$  mmHg、 $13.3 \pm 1.7$  mmHgとなり、ブロック10分後で完全消失し、その後回復を示した。また、頻脈応答 $\Delta$ HRはそれぞれ $7.2 \pm 1.7$  bpm、 $1.0 \pm 0.8$  bpm、 $7.0 \pm 1.8$  bpm、 $11.2 \pm 3.7$  bpmとなり、HR応答もブロック10分後ではほぼ完全に消失し、その後回復を示した。一方、生食を局所注入した場合では、注入前および注入10分後、30分後、60分後の昇圧応答 $\Delta$ MAPはそれぞれ $15.8 \pm 1.8$  mmHg、 $16.2 \pm 1.7$  mmHg、 $12.3 \pm 1.1$  mmHg、 $14.5 \pm 1.4$  mmHgとなり、有意な変化は認めなかった。 $\Delta$ HRもそれぞれ $11.7 \pm 6.5$  bpm、 $12.5 \pm 5.9$  bpm、 $12.7 \pm 5.6$  bpm、 $11.0 \pm 2.2$  bpmとなり有意な変化は認めなかった。

### 7-4 考 察

2%リドカイン各 $1.0 \cdot 10^{-6}$  1局所注入による三叉神経節ブロックを行うと、噛みしめ昇圧反応はブロック10分後で約73%減少した。また同量の8%リドカインによる三

又神経節ブロックでは、ブロック 10 分後で完全消失し、さらに HR 応答もほぼ完全に消失した。これらの結果より、噛みしめ昇圧反応における求心路は三叉神経であり、他の伝導路は考えにくいことが示された。

#### 7-5 小 括

噛みしめ昇圧反応の求心路は三叉神経であり、他の伝導路は考えにくい。

## 第8章 遠心路解析1：嚙みしめ昇圧反応におけるヘキサメソニウムによる自律神経節遮断の影響

### 8-1 目的

嚙みしめ昇圧反応の遠心路が自律神経系であるかを確認するため、自律神経節遮断薬であるヘキサメソニウムを投与し、昇圧反応に対する影響を検討した。

### 8-2 方法

#### 8-2-1 ヘキサメソニウムの静脈内投与実験

実験には第2章 2-2 と同様に施術したラット 16 匹を用い、右大腿静脈にもカテーテル(内径  $0.28 \cdot 10^{-3}$  m, 長さ 0.4 m, PE-10, Becton Dickinson)を挿入した。

ヘキサメソニウム(hexamethonium chloride, MP Biochemicals, California, USA) 溶液 ( $1.0 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ , iv;  $n=8$ 、または  $10 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ , iv;  $n=8$ ) の投与直後から、シリンジポンプ(Fusion200, CHEMIX, Texas, USA) を使用してベースライン動脈圧維持のためにフェニレフリン (4、または  $12 \cdot 10^{-9}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$   $\cdot$  min $^{-1}$ ) の持続静注を開始した。

ヘキサメソニウム投与前および投与 10 分後において  $18-20 \cdot 10^{-3}$  A の電気刺激により 30 秒間、1.0 Hz 嚙みしめ運動を誘発し、嚙みしめ昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。

統計学的有意差検定には対応のある  $t$  検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

### 8-2-2 血管収縮性確認実験

ヘキサメソニウムの静脈内投与およびフェニレフリンの持続静注が血管収縮性に影響するかの確認実験を、第2章 2-2（咬筋部表皮への刺激電極の装着処置を除く）と同様に施術したラット6匹を用い、右大腿静脈にカテーテル（内径  $0.28 \cdot 10^{-3}$  m, 長さ 0.4 m, PE-10, Becton Dickinson）を挿入した。フェニレフリン ( $12 \cdot 10^{-9}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$   $\cdot$  min $^{-1}$ ) 持続静注下でヘキサメソニウム溶液 ( $10 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ ) を静脈内投与する前および投与10分後において、フェニレフリン ( $40 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  l $^{-1}$ ,  $0.1 \cdot 10^{-3}$  l) を静脈内1回投与し、投与直後の昇圧応答の最高値における昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。

統計学的有意差検定には対応のある  $t$  検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

## 8-3 結 果

### 8-3-1 ヘキサメソニウム静脈内投与実験の結果

図10Aにヘキサメソニウム少量 ( $1.0 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ ) 投与前と投与10分後の昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR の比較を示す。ヘキサメソニウムの少量 ( $1.0 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ , iv) 投与により、噛みしめ昇圧応答は  $31.1 \pm 11.1$  % までに有意に減少した。 ( $\Delta$ 17.5  $\pm$  1.3 mmHg vs.  $\Delta$ 5.4  $\pm$  1.9 mmHg,  $P < 0.01$ )。しかし、頻脈応答  $\Delta$ HR については有意な変化は認めなかった ( $\Delta$ 23.1  $\pm$  8.4 bpm vs.  $\Delta$ 27.6  $\pm$  6.8 bpm)。一方、ヘキサメソニウム大量 ( $10 \cdot 10^{-6}$  kg  $\cdot$  kg $^{-1}$ , iv) 投与では、噛みしめ昇圧応答が完全消失した。 ( $\Delta$ 18.6  $\pm$  1.3 mmHg vs.  $\Delta$ -7.8  $\pm$  1.7 mmHg,  $P < 0.01$ )。さらに、頻脈応答  $\Delta$ HR もほぼ完全に消失した ( $\Delta$ 23.7  $\pm$  8.6 bpm vs.  $\Delta$ 2.1

$\pm 1.2$  bpm,  $P < 0.05$ ) (図10B)。

### 8-3-2 血管収縮性確認実験の実験結果

図 11A に、フェニレフリン ( $12 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 持続静注下にヘキサメソニウム ( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) を投与する前および投与 10 分後におけるフェニレフリン ( $40 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 0.1 ml) 1 回投与誘発性の MAP 変化および HR 変化を示す。

フェニレフリン ( $12 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 持続静注下にヘキサメソニウム ( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) を投与する前と投与 10 分後におけるフェニレフリン ( $40 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 0.1  $\cdot 10^{-3}$  l) 性昇圧応答に有意な変化は認められなかった ( $\Delta 47.5 \pm 2.2$  mmHg vs.  $\Delta 52.7 \pm 2.2$  mmHg)。しかしヘキサメソニウムにより、圧受容器反射性 HR 応答は有意に減弱した ( $\Delta -47.5 \pm 8.1$  bpm vs.  $\Delta -28.3 \pm 8.4$  bpm,  $P < 0.01$ ) (図 11B)。

### 8-4 考 察

少量のヘキサメソニウム ( $1.0 \cdot 10^{-3} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) により、嘔みしめ昇圧応答は投与 10 分後で約 69 %減少した。一方、大量のヘキサメソニウム ( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) では嘔みしめ昇圧応答が投与 10 分後で完全消失し、頻脈応答もほぼ完全に消失した。フェニレフリン ( $12 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 持続静注下かつヘキサメソニウム ( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 投与という条件でも血管の収縮性に有意な変化は認めなかった。

これらの実験結果より、嘔みしめ昇圧反応における遠心路はほぼ全て自律神経系であり、体液性因子はほぼ皆無であることが示された。

#### 8-5 小 括

嘔みしめ昇圧反応における遠心路はほぼ全て自律神経系であり、ホルモン等の体液性因子の関与は考えにくい。

## 第9章 遠心路解析2：嘔みしめ昇圧反応におけるメチルアトロピンによるムスカリン受容体阻害の影響

### 9-1 目 的

副交感神経が嘔みしめ昇圧反応に影響しているかを確認するため、ムスカリン受容体の阻害薬であるメチルアトロピンを投与し、昇圧反応への影響を検討した。

### 9-2 方 法

実験には第2章 2-2 と同様に施術したラット7匹を用い、メチルアトロピン (atropine methyl nitrate, ChromaDEX, California, USA) を  $10 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $100 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $1000 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$  の順に 30 分間隔で静脈内投与し、投与前および各用量投与 10 分後において  $18\text{--}20 \cdot 10^{-3} \text{ A}$  の電気刺激により 30 秒間、1.0 Hz 嘔みしめ運動を誘発し、嘔みしめ昇圧応答  $\Delta \text{MAP}$  および頻脈応答  $\Delta \text{HR}$  を比較した。

統計学的有意差検定には一元配置の分散分析および Tukey-Kramer の post-hoc 検定を用い、 $P < 0.05$  を統計学的有意とした。

### 9-3 結 果

結果を図 12 に示す。メチルアトロピン投与前および  $10 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $100 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $1000 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$  の各用量投与 10 分後における昇圧応答  $\Delta \text{MAP}$  はそれぞれ  $22.2 \pm 2.4 \text{ mmHg}$ 、 $20.2 \pm 2.1 \text{ mmHg}$ 、 $20.7 \pm 1.8 \text{ mmHg}$ 、 $23.1 \pm 2.0 \text{ mmHg}$  となり有意な変化を認めなかった。しかし、頻脈応答  $\Delta \text{HR}$  はそれぞれ  $9.4 \pm 2.2 \text{ bpm}$ 、 $10.9 \pm 1.9 \text{ bpm}$ 、 $15.5 \pm 2.2 \text{ bpm}$ 、 $21.6 \pm 3.3 \text{ bpm}$  となり、用量依存的に有意に増大した。



#### 9-4 考 察

メチルアトロピンによるムスカリン受容体阻害は嘔みしめ昇圧応答に有意な変化を示さなかったが、頻脈応答は用量依存的に有意な増大傾向を示した。

本実験結果と前章 8-3 の結果を考慮すると、嘔みしめ昇圧反応の遠心路として交感神経・副交感神経ともに活性化しており、昇圧反応の遠心路は交感神経が主体で、副交感神経は嘔みしめ運動時の頻脈応答に対して抑制的に作用していることが示された。

#### 9-5 小 括

嘔みしめ昇圧反応の遠心路は、交感神経・副交感神経ともに活性化しており、昇圧応答の遠心路は主として交感神経であり、頻脈応答の遠心路は交感神経と副交感神経の両者であることが判明した。この結果、単純な嘔みしめ昇圧反応の観察において頻脈応答に統計学的有意な頻脈反応がみられなかったのは、副交感神経性抑制作用によりマスク化されていたためであろうと考えられた。この考えは、自律神経節遮断による頻脈完全ブロックの結果とも一致する。以上から、昇圧反応は交感神経性に、頻脈反応は交感神経性促進作用と副交感神経性抑制作用の拮抗の結果によってそれぞれ発生していると考えられる。

## 第10章 総括

噛みしめ昇圧反応という現象は最近見出された。Ferella ら [13] は、健康成人を対象とした異なる堅さのガムを用いた実験で、咀嚼筋（咬筋および側頭筋）の活動性が増大するのに従って動脈圧および心拍数が有意に増加することを報告した。また Ishiyama ら [14] は、健康成人男性を対象とした実験で、咀嚼筋の運動により動脈圧・心拍数および脳血流量が有意に増加することを報告し、その応答が交感神経および副交感神経の相互作用により生じていることを、動脈圧・心拍数・脈波・総頸動脈血流量の変化・心拍出量および心電図上の R-R 間隔変動係数のパワースペクトラムから推測した。さらに Okada ら [15] は、健康成人男性を対象として上下顎歯槽部局所麻酔を行うと噛みしめ運動時の昇圧反応が減弱することから、歯周組織の感覚系が関与していることを示唆した。これらの報告から、噛みしめ昇圧反応という現象が確認された。しかし、この昇圧反応の反射メカニズムは依然不明であり、神経性反射であるかについても明らかではなかった。我々はこれまでラットを用いた動物実験 [3-6] で、咬筋への電気刺激で噛みしめ昇圧反応を再現できることを示し、同時に同様の電気刺激を他の骨格筋にかけても昇圧応答が生じないこと、咬筋電気刺激による昇圧反応は咬合力に依存していること、さらに咬筋等の咀嚼筋の筋弛緩により昇圧反応が消失することを証明した。しかしその反射経路や反応メカニズムは不明のままであった。本研究では、噛みしめ昇圧反応の反射弓、神経メカニズム、および反射応答の特徴について解析した。

表 1 に、各実験におけるラットの安静時 MAP および安静時 HR を示す。本研究では全ての実験において、安静時 MAP および安静時 HR に有意差を認めなかった。

まず反射経路を分析する前に、噛みしめ昇圧反応を誘発するのに最も効果的な噛み

しめ運動頻度を決定した。一回の筋収縮は、0.4 秒間に 20 発の矩形波電流 ( $18-20 \cdot 10^{-3}$  A) で誘発した。昇圧反応に最も効果的な噛みしめ運動頻度は図 3 に示すとおり 1.0 Hz であり、最大約 4 N の咬合力を生じた。

本研究では、シナプス後性筋弛緩薬（リアノジン受容体阻害薬）であるダントロレンの静脈内投与、または三叉神経節ブロックにより、噛みしめ昇圧反応が完全に消失する（図 4 および図 8）ことが判明した。この結果から、噛みしめ昇圧反応は咀嚼筋の筋収縮運動に起因し、三叉神経求心路を経由していることが示された。また、この昇圧反応が筋機械受容器または筋化学受容器 [41, 42, 46, 49, 51, 52] への刺激、および歯肉・歯根膜等の機械受容器 [53-55] への刺激によるものである可能性が示された。次に歯肉・歯根膜の神経活動性を、0.4 %または 0.8 %リドカインを用いた局所麻酔によりブロックすると、昇圧反応は約 73 %ブロックされ、このブロック効果は、リドカイン濃度を高めても同様であることが示された（図 6）。この結果より、歯肉・歯根膜の機械受容器がこの昇圧反応に関与していることが示された。また、ガドリニウムで咀嚼筋の筋機械受容器をブロックすると、この昇圧反応は約 38 %ブロックされた（図 7A）。ガドリニウムによる筋伸展反射の遮断は不完全であるため、約 38 %のブロック効果という定量的解析は不確定であるが、少なくとも定性的には関与していることが判明した。以上の実験結果を考慮すると、噛みしめ運動は歯肉・歯根膜等の歯周組織の機械受容器および咀嚼筋の筋機械受容器によって情報符合化され、三叉神経求心路を介して心臓血管中枢に伝達されていることが示唆された（図 13）。

次に噛みしめ昇圧反応を発生させる遠心路の実験的解析を試みた。電気刺激を用いたため、刺激ノイズにより神経活動の記録は困難であった。そこで、ヘキサメソニウムによる薬理学的自律神経節遮断方法を用いた。これにより噛みしめ昇圧応答  $\Delta$ MAP

は用量依存的に減少した。自律神経節遮断によるベースライン動脈圧の下降は $\alpha_1$ 刺激薬のフェニレフリンで補正し、ベースライン MAP 値を正常域に保った。充分量のヘキサメソニウムで、噛みしめ昇圧反応および頻脈反応いずれも完全消失した（図 10B）。このとき血管の収縮性に著明な影響はなかった（図 11B）。このことから、噛みしめ運動時の昇圧反応は自律神経により調節されていることが示唆された。

昇圧反応に比較して、HR 応答はいくらか複雑であった。噛みしめ頻度の変化は、HR に有意な影響を及ぼさなかった（図 3）。また筋弛緩や臼歯部局所麻酔は、噛みしめ頻脈反応に有意な影響を及ぼさなかった。しかし、三叉神経節ブロックや自律神経節遮断は噛みしめ頻脈反応をほぼ完全に消失させており（図 8 および図 10B）、求心路または遠心路の遮断が頻脈応答への影響をほぼ完全に消失させた。これらの実験結果を考慮すると、噛みしめ運動が求心性反射経路を活性化し、また遠心性応答については交感神経系・副交感神経系の両方により調節されている可能性が示唆された。副交感神経系の影響を確認するため、メチルアトロピン投与によりムスカリン受容体を阻害したところ、噛みしめ頻脈反応が有意に増大した（図 12）。したがって、噛みしめ運動は交感神経系・副交感神経系両方を遠心路として活性化し、それ故頻脈応答がマスク化され噛みしめ運動による有意な応答として認め難かったのだろうと考えられた。

以上の解析結果から、噛みしめ昇圧反応の受容器は歯根膜受容器および咀嚼筋由来の筋機械受容器であること、その求心路是三叉神経求心路であること、およびその遠心路は交感神経で、噛みしめ運動時の頻脈応答に対しては副交感神経も抑制的に作用していることが明らかとなった（図 13）。

動脈圧受容器反射による昇圧反応の抑制を避けるため動脈圧受容器除神経を行ったところ、噛みしめ昇圧反応に有意な変化は認めなかった。その機序については今後の

さらなる研究が待たれるが、本研究においてはベースライン MAP 値および嚙みしめ昇圧応答  $\Delta$ MAP が動脈圧受容器反射の稼動領域内であったことから、嚙みしめ昇圧反応に対する動脈圧受容器反射自体が抑制されていると考えられる。本研究で動脈圧受容器反射抑制メカニズムについて分析は行っていないが、この現象についてはいくつかの事例が報告されている。運動中は動脈圧受容器反射が抑制されること、およびこの抑制は反射稼動レンジの高圧側へのシフトによることは広く知られている [28-32]。また、高血圧症・心血管障害・肥満や睡眠時無呼吸症候群等の疾患は動脈圧受容器反射の感受性を低下させる [33-37]。嚙みしめ運動時においても動脈圧受容器反射が何らかの機序で抑制されている可能性が示唆された。

骨格筋収縮により遠心性交感神経性応答が生じ、運動昇圧反応が起こることは広く知られている [33-36]。運動昇圧反応の求心路は、骨格筋中のグループⅢおよびグループⅣ求心性神経線維と考えられている [49]。グループⅢ求心性神経線維の神経終末は細動脈外膜に、グループⅣ求心性神経線維の神経終末は血管壁・神経内膜および骨格筋筋膜に存在している [52]。Hayes ら [44] は、除脳および  $\alpha$  クロラロース麻酔下のネコを用いて、グループⅢ求心性神経終末である筋機械受容器の阻害薬のガドリニウムによる下腿筋処置により、下腿三頭筋の筋収縮時またはアキレス腱の牽引時の運動昇圧応答が有意に減弱すること、およびガドリニウムが筋代謝受容器であるグループⅣ求心性神経線維に影響しないことを示した。筋機械受容器であるグループⅢ求心性神経終末は、主として骨格筋筋腱結合部の血管周囲組織に存在している [42, 52, 56-59]。さらに Abe ら [51] は、ラットを用いて、ガドリニウムの静脈内投与により飲水時の昇圧反応が約 48 % までに、また舌下神経電気刺激時の昇圧反応が約 43 % までに減弱したと報告している。これらの報告に基づき、本研究ではガドリニウムを用い

て筋機械受容器をブロックし、噛みしめ昇圧反応を評価したところ、昇圧反応は約 62 % までに減弱した。この結果より、咀嚼筋の筋機械受容器は部分的に噛みしめ昇圧反応を引き起こしているものと考えられた。

三叉神経中脳路核は、咀嚼筋の筋機械受容器や歯根膜からの求心性信号が投射されており、主として咀嚼筋の固有感覚および歯牙の圧覚に関わる神経核で、顎運動の制御において重要な役割を担っている [60–64]。また Koeda ら [65] は、ラットの三叉神経の分枝である舌神経、または三叉神経脊髄路核への電気刺激により血圧上昇が生じたことを報告しており、この血圧上昇は三叉神経脊髄路核・脊髄の中間外側細胞柱および交感神経幹を経由しての交感神経性昇圧反応であると推定している。本研究では「噛みしめ昇圧反応」における、三叉神経節から自律神経中枢までの経路および脊髄路については検討していないが、三叉神経中脳路核および三叉神経脊髄路核の双方を経由している可能性があり、これらの点については今後明らかにしていく必要がある。

## 第11章 結 論

本研究において以下の3点が明らかになった。(1) 噛みしめ運動時における昇圧反応の受容器は歯肉・歯根膜等の歯周組織に存在する機械受容器および咀嚼筋の筋機械受容器であること、(2) 昇圧反応の求心路および遠心路がそれぞれ三叉神経求心路および交感神経であること、(3) 噛みしめ運動時の頻脈応答の遠心路には副交感神経も抑制的に作用していること、以上3点である。また噛みしめ運動時には、動脈圧受容器反射が抑制されていることが示された。

噛みしめ昇圧反応の生理学的機序の存在を確認したことで、加速度負荷による障害対策の考案、各種運動パフォーマンス向上への理論的背景、高齢者の健康増進や脳梗塞患者のリハビリへの応用等の理論的根拠を与えることとなった。

## 謝 辞

本研究を実施するにあたり、研究全般にわたりご指導を賜りました防衛医科大学校生理学講座 西田育弘教授、歯科口腔外科 横江秀隆教授、防衛医学研究センター 異常環境衛生研究部門 藤田真敬教授・1 等空佐に謹んで感謝申し上げます。さらに、ご指導いただきました生理学講座および歯科口腔外科の皆様、動物実験において大変お世話になりました福田孝一元准教授をはじめ動物実験施設職員の皆様に深く感謝申し上げます。



## 付 記

本論文の要旨は下記の論文等に発表した。

(論文発表)

1. 東海林一郎, 丸山聡, 田村吏沙, 萩沢康介, 田代晃正, 太田宏之, 煙山健仁, 晝間恵, 佐藤泰則, 西田育弘. ラットの噛みしめ昇圧反応における三叉神経求心路の寄与. 防医大誌. 2014;39:190-196.
2. Nishida Y, Maruyama S, Shouji I, Kemuriyama T, Tashiro A, Ohta H, Hagusawa K, Hiruma M, Yokoe H. Effects and Biological Limitations of +Gz acceleration on Autonomic Functions related Circulation in rats. *J Physiol Sci*. 2016;66:447-462.
3. Shoji I, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Maruyama S, Tashiro A, Yokoe H, Nishida Y. Reflex arc of the teeth clenching-induced pressor response in rats. *J Physiol Sci* (in press, accepted on 7 December 2016)  
(<http://link.springer.com/article/10.1007/s12576-016-0513-9?no-access=true> 2017 年 1 月 12 日参照).

(口頭発表)

1. 東海林一郎, 丸山聡, 西田育弘, ラットの咬合運動時における脳血圧上昇に対する上歯槽神経および下歯槽神経の影響について, 第 57 回日本宇宙航空環境医学会大会, 平成 23 年 11 月 25 日, 宇宙航空研究開発機構筑波宇宙センター, (抄録: 宇宙航空環境医学 2011,48(4),82.)
2. 東海林一郎, 田村吏沙, 萩沢康介, 田代晃正, 太田宏之, 煙山健仁, 晝間恵, 横江秀隆, 西田育弘, ラットの噛みしめ昇圧反応の求心性メカニズムにおける歯根膜・筋 mechanoreceptor および三叉神経の寄与, 第 25 回日本病態生理学会大会, 平成 27 年 8 月 1 日, 愛媛大学, (抄録: 日本病態生理学会雑誌 2015,24(2),35.)
3. Shoji I, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Maruyama S, Tashiro A, Hagsawa K, Ohta H, Yokoe H, Nishida Y, The tracts of neural reflex for the teeth clenching-induced pressor response in rats, 第 93 回日本生理学会大会, 平成 28 年 3 月 23 日, 札幌コンベンションセンター, (抄録: *J Physiol Sci* 2016,66(Supplement 1),S122.)
4. 東海林一郎, 煙山健仁, 晝間恵, 萩沢康介, 田代晃正, 太田宏之, 横江秀隆, 西田育弘, ラットの噛みしめ昇圧反応の発生メカニズムについて, 第 26 回日本病態生理学会大会, 平成 28 年 8 月 7 日, 金沢医科大学, (抄録: 日本病態生理学会雑誌 2016,25(2),57.)

## 引用文献

1. Lyons TJ, Craft NO, Copley GB, Davenport C, Grayson K, Binder H. Analysis of mission and aircraft factors in G-induced loss of consciousness in the USAF. *Aviat Space Environ Med.* 2004;75:479-482.
2. Sevilla NL, Gardner JW. G-induced loss of consciousness: case-control study of 78 G-LoCs in the F-15, F-16, and A-10. *Aviat Space Environ Med.* 2005;76:370-374.
3. Takahata T, Shouji I, Maruyama S, Sato Y, Nishida Y, Ueno T. Teeth clenching and positive acceleration - induced cerebral arterial hypotension in rats. *Aviat Space Environ Med.* 2011;82:442-447.
4. Shoji I, Maruyama S, Nishida Y. The role of alveolar nerves on the pressor response induced teeth clenching in rats (in Japanese). *Jpn J Aero Environ Med.* 2011;48:82.
5. 東海林一郎, 丸山聡, 田村吏沙, 萩沢康介, 田代晃正, 太田宏之, 煙山健仁, 晝間恵, 佐藤泰則, 西田育弘. ラットの噛みしめ昇圧反応における三叉神経求心路の寄与. *防医大誌.* 2014;39:190-196.
6. Shoji I, Kemuriyama T, Hiruma M, Maruyama S, Tashiro A, Haggisawa K, Ohta H, Yokoe H, Nishida Y. The tracts of neural reflex for the teeth clenching-induced pressor response in rats. *J Physiol Sci.* 2016;66 Supplement 1:S122.
7. Miyake S, Wada-Takahashi S, Honda H, Takahashi S, Sasaguri K, Sato S, Lee M. Stress and chewing affect blood flow and oxygen levels in the rat brain. *Arch Oral*

Biol. 2012;57:1491-1497.

8. Momose T, Nishikawa J, Watanabe T, Sasaki Y, Senda M, Kubota K, Sato Y, Funakoshi M, Minakuchi S. Effect of mastication on regional cerebral blood flow in humans examined by positron-emission tomography with  $^{15}\text{O}$ -labelled water and magnetic resonance imaging. *Arch Oral Biol.* 1997;42:57-61.
9. Shibusawa M, Takeda T, Nakajima K, Ishigami K, Sakatani K. Functional near-infrared spectroscopy study on primary motor and sensory cortex response to clenching. *Neurosci Letters.* 2009;449:98-102.
10. Takahashi T, Miyamoto T, Terao A, Yokoyama A. Cerebral activation related to the control of mastication during changes in food hardness. *Neuroscience.* 2007; 145:791-794.
11. Hirano Y, Obata T, Kashikura K, Nonaka H, Tachibana A, Ikehira H, Onozuka M. Effect of chewing in working memory processing. *Neurosci Letters.* 2008;436: 189-192.
12. Kawanishi K, Koshino H, Toyoshita Y, Tanaka M, Hirai T. Effect of mastication on functional recoveries after permanent middle cerebral artery occlusion in rats. *J Stroke Cerebrovasc.* 2010;19:398-403.
13. Ferella M, Bakke M, Michelitti A, Marotta G, Martina R. Cardiovascular responses in humans to experimental chewing of gums different consistencies. *Arch Oral Biol.* 1999;44:835-842.
14. Ishiyama I, Suzuki M. Blood pressure and cerebral blood flow volume responses to mastication of food. *J Jpn Soc Mast Sci Health Promot.* 2005;15:24-36.
15. Okada Y, Kamijo Y, Okazaki K, Masuki S, Goto M, Nose H. Pressor responses

to isometric biting are evoked by somatosensory receptors in periodontal tissue in humans. *J Appl Physiol.* 2009;107:531-539.

16. Fruen BR, Mickelson JR, Louis CF. Dantrolene inhibition of sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  release by direct and specific action at skeletal muscle ryanodine receptors. *J Biol Chem.* 1997;272:26965-26971.
17. Lynch C 3<sup>rd</sup>, Durbin CG Jr, Fisher NA, Veselis RA, Althaus JS. Effects of dantrolene and verapamil on atrioventricular conduction and cardiovascular performance in dogs. *Anesth Analg.* 1986;65:252-258.
18. Bowman WC, Houston J, Khan HH, Rodger IW. Effects of dantrolene sodium on respiratory and other muscles and on respiratory parameters in the anaesthetized cat. *European J Pharmacol.* 1979;55:293-303.
19. Ellis KO, Wessels FL, Carpenter JF. Effects of intravenous dantrolene sodium on respiratory and cardiovascular functions. *J Pharmaceutical Sci.* 1976;65:1359-1364.
20. Barnard RJ, Edgerton VR, Furukawa T, Peter JB. Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white and intermediate fibers. *Am J Physiol.* 1971;220:410-414.
21. Dransfeld H, Greeff K, Schorn A, Ting BT. Calcium uptake in mitochondria and vesicles of heart and skeletal muscle in the presence of potassium, sodium, K-strophanthin and pento-barbital. *Biochem Pharmacol.* 1969;18:1335-1345.
22. Batra S. The effects of sodium and potassium on calcium uptake by frog skeletal muscle mitochondria and vesicles. *Can J Physiol Pharmacol.* 1972;50:1157-1161.

23. Batra S. The effects of zinc and lanthanum on calcium uptake by mitochondria and fragmented sarcoplasmic reticulum of frog skeletal muscle. *J Cell Physiol.* 1973;82:245-256.
24. Hammerling BC, Gustafsson AB. Mitochondrial quality control in the myocardium: Cooperation between protein degradation and mitophagy. *J Molec Cell Cardiol.* 2014;75:122-130.
25. Chen QH, Nishida Y, Zhou MS, Murakami H, Morita H, Hosomi H, Kosaka H. Sinoaortic denervation produces sodium retention in Dahl salt-sensitive rats. *J Auton Nerv Syst.* 1998;69:56-63.
26. Nishida Y, Chen QH, Zhou MS, Horiuchi J. Sinoaortic denervation abolishes resetting for daily physical activity in rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002;282:R649-R657.
27. Shimokawa A, Kunitake T, Takasaki M, Kannan H. Differential effects of anesthetics on sympathetic nerve activity and arterial baroreceptor reflex in chronically instrumented rats. *J Auton Nerv Syst.* 1998;72:46-54.
28. O'Leary DS. Heart rate control during exercise by baroreceptors and skeletal muscle afferents. *Med Sci Sports Exercise.* 1996;28:210-217.
29. Potts JT, Mitchell JH. Rapid resetting of carotid baroreceptor reflex by afferent input from skeletal receptors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1998;275: H2000-H2008.
30. Raven PB, Fadel PJ, Ogoh S. Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. *Exp Physiol.* 2006;91:37-49.
31. Rowell LB, O'Leary DS. Reflex control of the circulation during exercise:

- chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol.* 1990;69:407-418.
32. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. Muscle mechanoreflex induces the pressor response by resetting the arterial baroreflex neural arc. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286: H1382-H1388.
  33. Choe K, Han SY, Gaub P, Shell B, Voisin DL, Knapp BA, Barker PA, Brown CH, Cunningham JT, Bourque CW. High salt intake increases blood pressure via BDNF-mediated downregulation of KCC2 and impaired baroreflex inhibition of vasopressin neurons. *Neuron.* 2015;85:549-560.
  34. Huang CC, Lin WC, Chen HL, Friedman M, Lin MC, Lin HC, Lu CH. Improvement of baroreflex sensitivity in patients with obstructive sleep apnea following surgical treatment. *Clin Neurophysiol.* 2016;127:544-550.
  35. Indumathy J, Pal GK, Pal P, Ananthanarayan PH, Parija SC, Balachander J, Dutta TK. Decreased baroreflex sensitivity is linked to sympathovagal imbalance, body fat mass and altered cardiometabolic profile in pre-obesity and obesity. *Metabolism.* 2015;64:1704-1714.
  36. Narayan J, Amatoury J, Verma M, Kairaitis K, Wheatley JR, Amis TC. Resetting the baroreflex during snoring: Role of resistive loading and intra-thoracic pressure. *Res Physiol Neurobiol.* 2013;185:489-496.
  37. Pinter A, Horvath T, Toth A, Kadar K, Kollai M. Impaired baroreflex function is related to reduced carotid artery elasticity in patients with tetralogy of Fallot. *Auton Neurosci: Basic and Clinical.* 2014;183:94-99.
  38. Mitchell JH, Reardon WC, McCloskey DI. Reflex effects on circulation and

- respiration from contracting skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1977;233:H374-H378.
39. Crayton SC, Aung-Din R, Fixler DE, Mitchell JH. Distribution of cardiac output during induced isometric exercise in dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1979;236:H218-H224.
  40. Mitchell JH. Neural control of the circulation during exercise. *Med Sci Spor Exerc.* 1990;22:141-154.
  41. Matsukawa K, Sadamoto T, Tsuchimochi H, Komine H, Murata J, Shimizu K. Reflex responses in plasma catecholamines caused by static contribution of skeletal muscle. *Jpn J physiol.* 2001;51:591-597.
  42. Nakamoto T, Matsukawa K. Muscle mechanosensitive receptors close to the myotendinous junction of the Achilles tendon elicit a pressor reflex. *J Appl Physiol.* 2007;102:2112-2120.
  43. Hajduczuk G, Chapleau M, Ferlic R, Mao H, Abboud FM. Gadolinium inhibits mechanoelectrical transduction in rabbit carotid baroreceptors. *J clin Invest.* 1994;94:2392-2396.
  44. Hayes SG, Kaufman MP. Gadolinium attenuates exercise pressor reflex in cats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H2153-H2161.
  45. Smith SA, Mitchell JH, Naseem RH, Garry MG. Mechanoreflex mediates the exaggerated exercise pressor reflex in heart failure. *Circulation.* 2005;112:2293-2300.
  46. Matsukawa K, Nakamoto T, Inomoto A. Gadolinium does not blunt the cardiovascular responses at the onset of voluntary static exercise in cats:



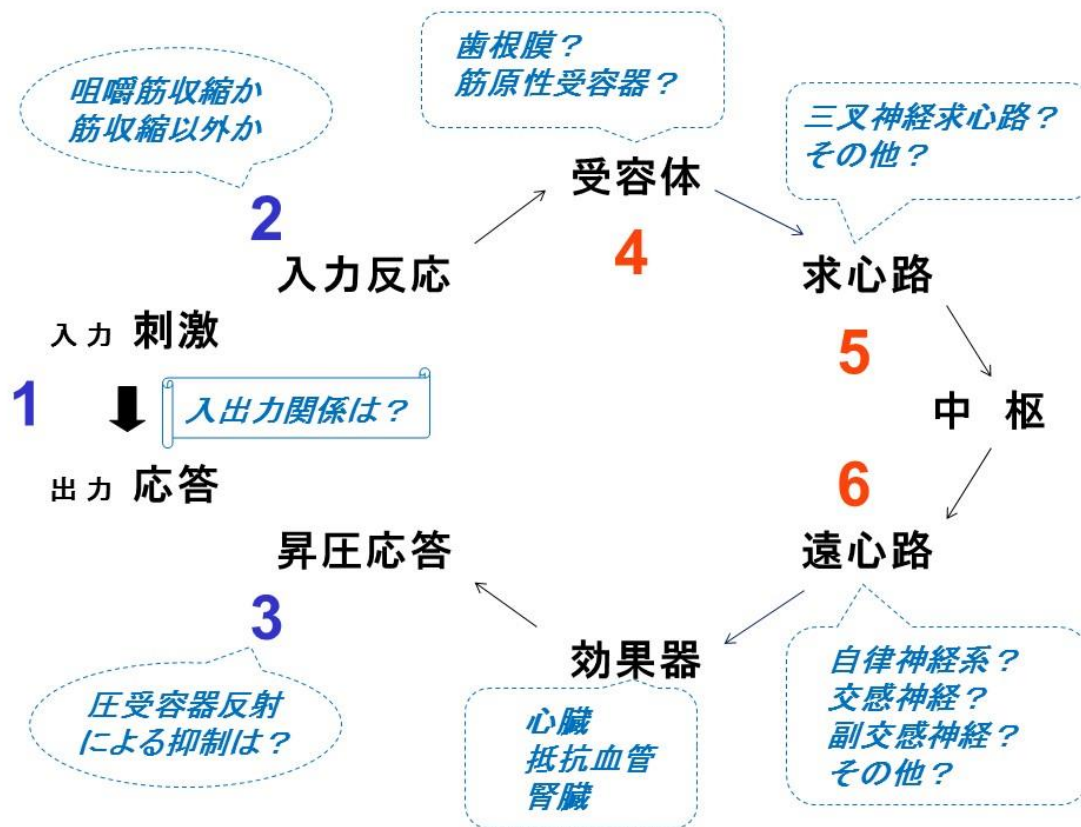
- a predominant role of central command. *Am J Physiol Heart Circ physiol.* 2007;292:H121-H129.
47. Ermakov YA, Kamaraju K, Sengupta K, Sukharev S. Gadolinium ions block mechanosensitive channels by altering the packing and lateral pressure of anionic lipids. *Biophys J.* 2010;98:1018-1027.
  48. Gianulis EC, Pakhomov AG. Gadolinium modifies the cell membrane to inhibit permeabilization by nanosecond electric pulses. *Arch Biochem Biophys.* 2015;570:1-7.
  49. McCloskey DI, Mitchell JH. Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol.* 1972;224:173-186.
  50. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates 4<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego. 1998.
  51. Abe C, Iwata C, Morita H. Water drinking-related muscle constriction induces the pressor response via mechanoreceptors in conscious rats. *J Appl Physiol.* 2013;114:28-36.
  52. Von Düring M, Andres KH. Topography and ultrastructure of group and nerve terminals of cat's gastrocnemius - soleus muscle. In: *The Primary Afferent Neuron: A Survey of Recent Morpho – Functional Aspects.* Ed. by Zenker W and Neuhuber WL. Plenum Press, New York. 1990;35-41.
  53. Hannam AG, Farnsworth T J. Information transmission in trigeminal mechanosensitive afferents from teeth in the cat. *Arch Oral Biol.* 1977;22:181-186.
  54. Nagata K, Itoh S, Tsuboi A, Takafuji Y, Tabata T, Watanabe M. Response

- properties of periodontal mechanosensitive neurons in the trigeminal ganglion of rabbit and neural activities during grinding-like jaw movement induced by cortical stimulation. *Arch Oral Biol.* 2008;53:1138-1148.
55. Tabata T, Takahashi Y, Hayashi H. Physiological properties of molar-mechanosensitive periodontal neurons in the trigeminal ganglion of the rat. *Arch Oral Biol.* 2006;51:729-735.
  56. Stacey MJ. Free nerve endings in skeletal muscle of cat. *J Anat.* 1969;105: 231-254.
  57. Andres KH, von Düring M, Schmidt RF. Sensory innervation of the Achilles tendon by group III and IV afferent fibers. *Anat Embryol.* 1985;172:145-156.
  58. Mense S, Meyer H. Different types of slowly conduction afferent units in cat skeletal muscle and tendon. *J Physiol.* 1985;363:403-417.
  59. Abrahams VC. Group III and IV receptors of skeletal muscle. *Can J Physiol Pharmacol.* 1986;64:509-514.
  60. Jerge CR. Organization and function of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J Neurophysiol.* 1963;26:379-392.
  61. Matesz C. Peripheral and central distribution of fibres of the mesencephalic trigeminal root in the rat. *Neurosci Lett.* 1981;27:13-17.
  62. Byers MR, O'Connor TA, Martin RF, Dong WK. Mesencephalic trigeminal sensory neurons of cat: axon pathways and structure of mechanoreceptive endings in periodontal ligament. *J Comp Neurol.* 1986;250:181-191.
  63. Luo PF, Wang BR, Peng ZZ, Li JS. Morphological characteristics and terminateing patterns of masseteric neurons of the mesencephalic trigeminal

nucleus in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labeling study.

J Comp Neurol. 1991;303:286-299.

64. Ohara H, Tachibana Y, Fujio T, Takeda-Ikeda R, Sato F, Oka A, Kato T, Ikenoue E, Yamashiro T, Yoshida A. Direct projection from the lateral habenula to the trigeminal mesencephalic nucleus in rats. Brain Res. 2016; 1630:183-197.
65. Koeda S, Ishii H, Kuchiiwa S, Izumi H. Role of the spinal trigeminal nucleus in the rat autonomic reflex. Arch Oral Biol. 2009;54:1136-1142.



**1-3: 反射特性**

**4-6: 反射経路**

図1 本研究における6段階の解析

噛みしめ昇圧反応の反射特性(1～3 番)および反射経路(4～6 番)に分けて検討した。

噛みしめ運動時には、歯根膜受容器および咀嚼筋機械受容器への入力刺激が、三叉神経求心路を経由して心臓血管中枢へ伝導し、自律神経性に昇圧応答が生じるものと推定した。

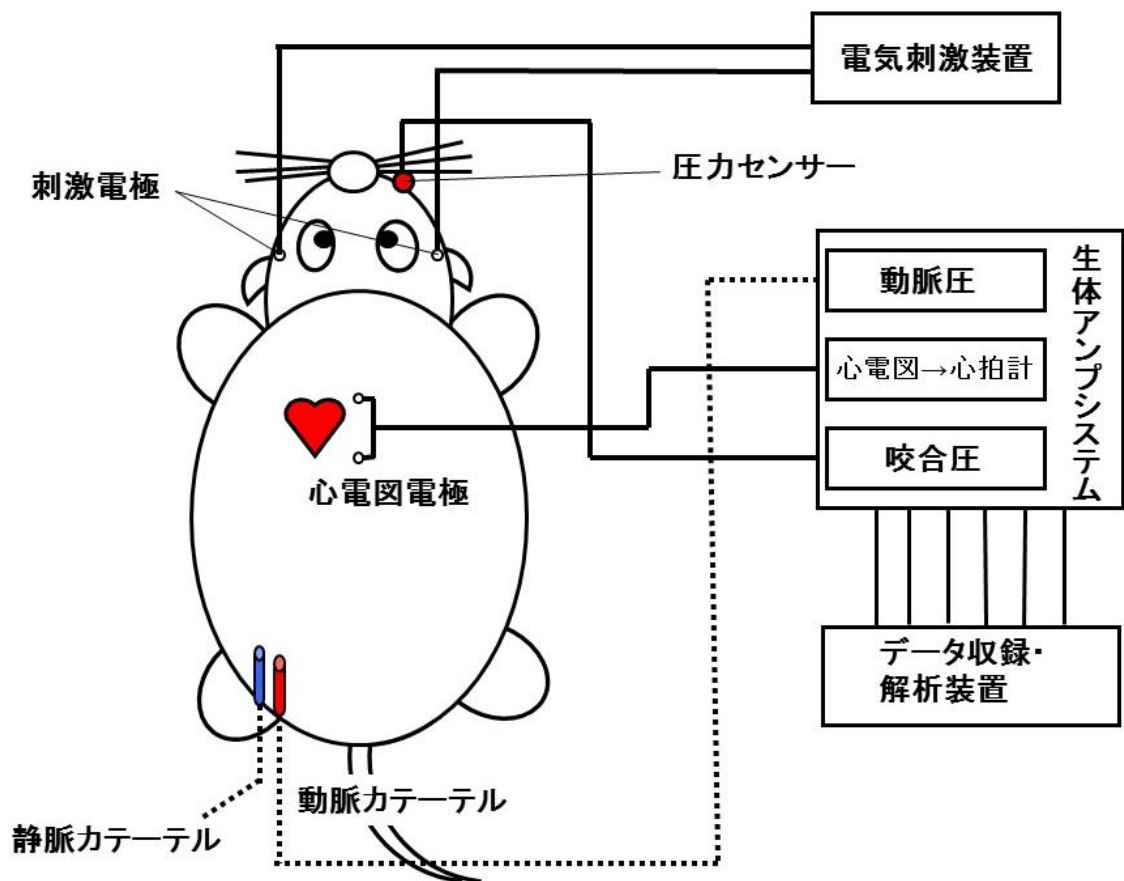


図2 噛みしめ昇圧反応の実験

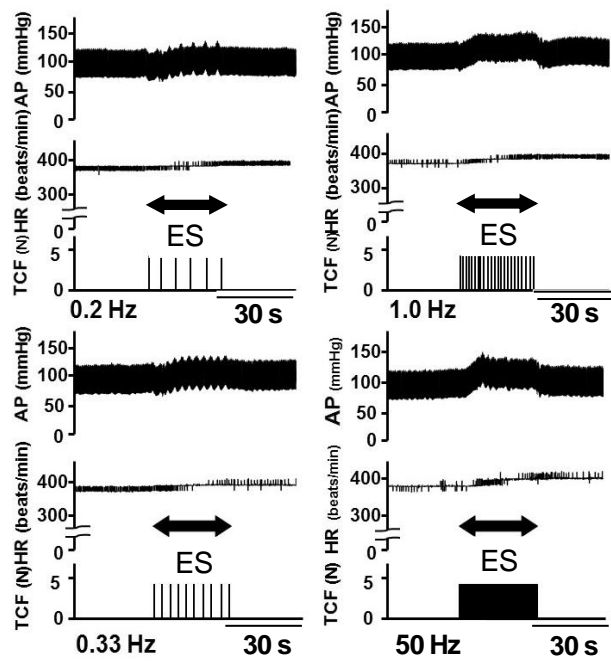
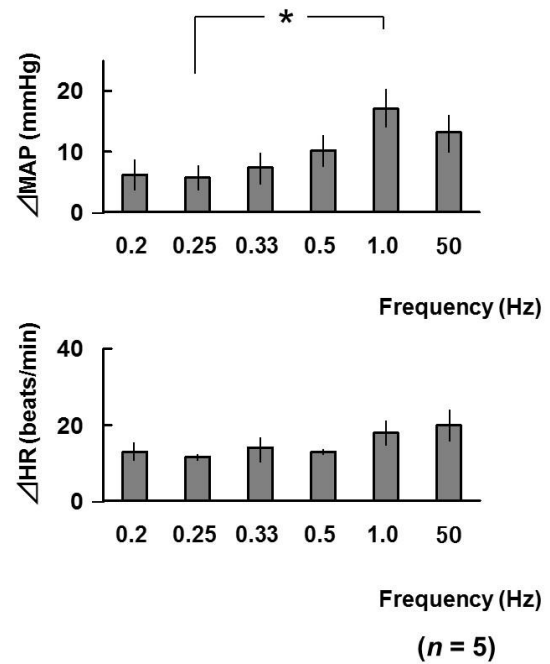
**A****B**\* :  $P < 0.05$ 

図3 咬筋電気刺激による噛みしめ運動時の生理学的変化

A : 咬筋電気刺激（噛みしめ）頻度を変化させた時の昇圧反応と頻脈反応の変化 AP:

動脈圧, HR: 瞬時心拍数, TCF: 咬合力(N, ニュートン), ES: 電気刺激

B: 咬筋電気刺激（噛みしめ）頻度別の昇圧反応および頻脈反応の比較  $\Delta$ MAP: 平均

動脈圧上昇,  $\Delta$ HR: 心拍数上昇

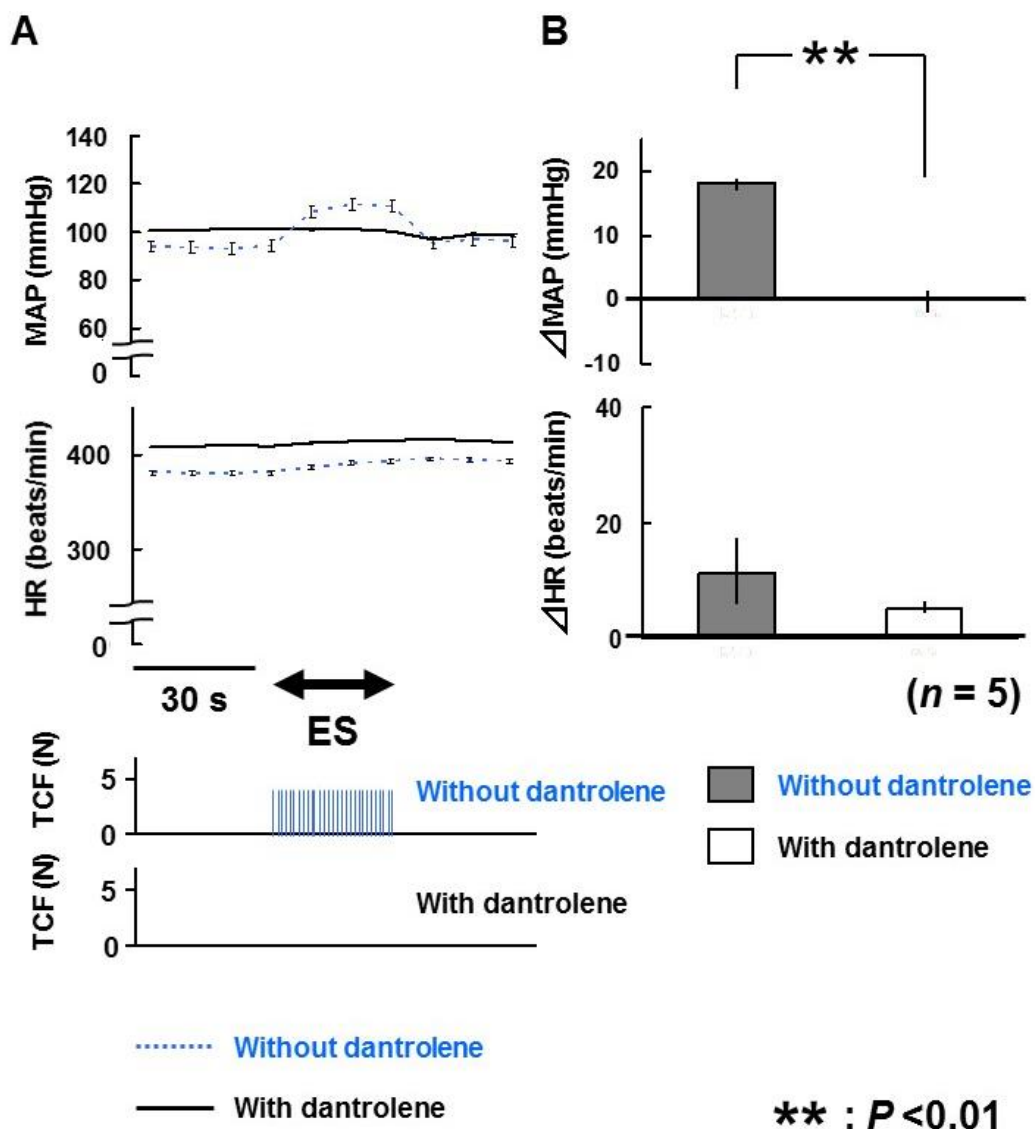
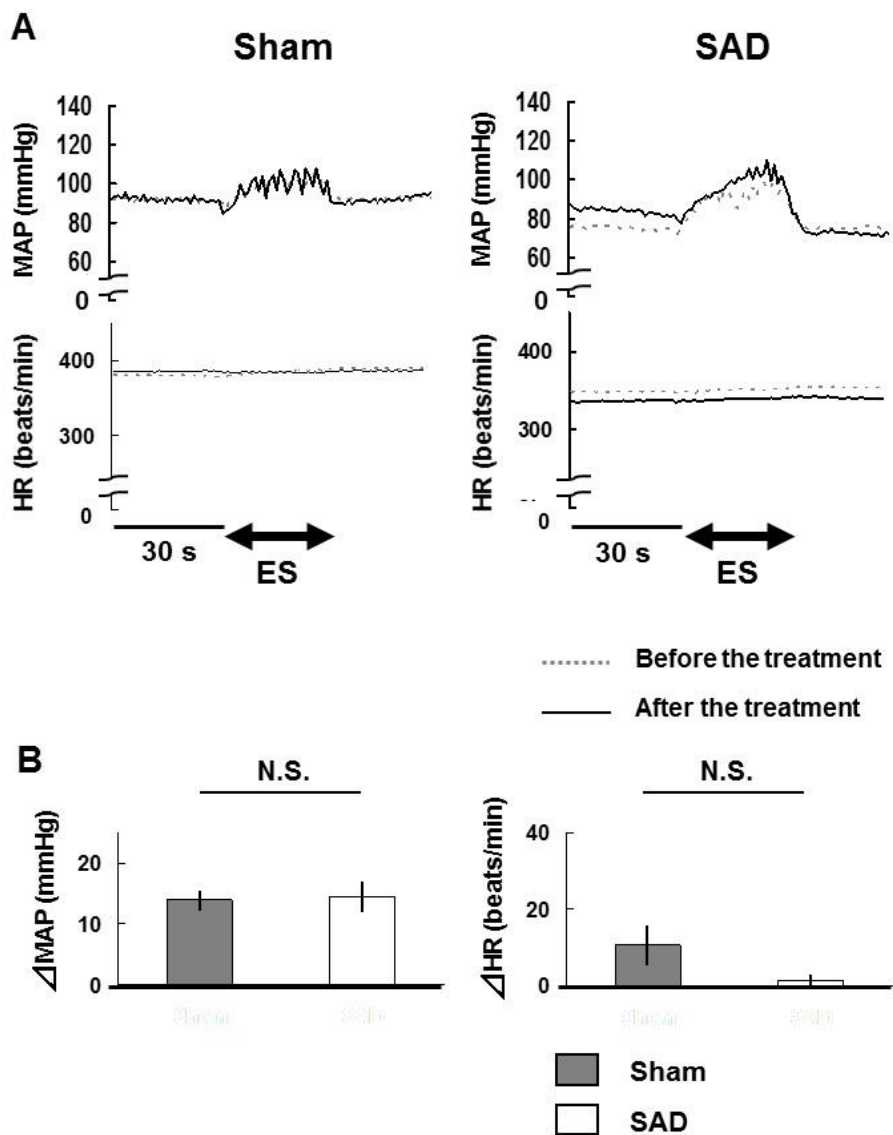


図4 噛みしめ昇圧反応および頻脈反応に対するダントロレンによる咀嚼筋弛緩の

影響

A : ダントロレン投与前および静脈内投与 ( $6 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 10 分後における 1.0 Hz 噛みしめ運動時の平均動脈圧 (MAP) の変化および心拍数 (HR) 変化の時間推移 ES : 電気刺激, TCF : 咬合力 (N, ニュートン)

B : ダントロレン投与前および静脈内投与 ( $6 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 10 分後における噛みしめ昇圧反応 ( $\Delta \text{MAP}$ ) と頻脈反応 ( $\Delta \text{HR}$ )



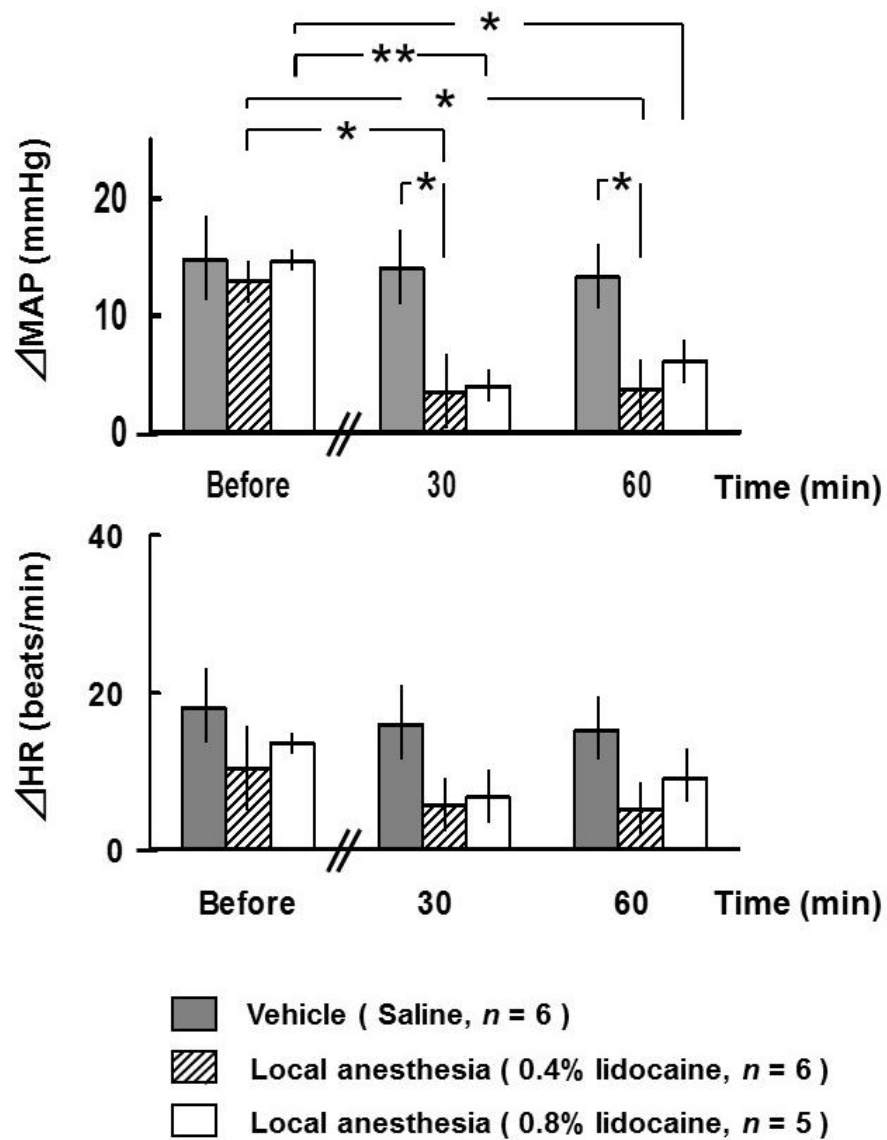
**N.S.:** not statistically significant.

図5 噛みしめ昇圧反応および頻脈反応に対する動脈圧受容器除神経の影響

A：動脈圧受容器除神経(SAD)処置前後、またはSham処置前後における1.0 Hz 噛みしめ運動時の噛みしめ昇圧反応と頻脈反応の典型例 MAP：平均動脈圧，HR：瞬時心拍数，ES：電気刺激

B：SAD処置またはSham処置後の噛みしめ昇圧反応( $\Delta$ MAP)および頻脈反応( $\Delta$ HR) SAD群とSham群との間で $\Delta$ MAPおよび $\Delta$ HRに有意差は認めなかった。





\* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$

図6 噛みしめ昇圧反応および頻脈反応に対する臼歯部局所麻酔の影響

両側の上顎臼歯部および下顎孔部にリドカインまたは生食を局所注入する前後において、1.0 Hz 噛みしめ運動時にみられた噛みしめ昇圧反応( $\Delta$ MAP)と頻脈反応( $\Delta$ HR)

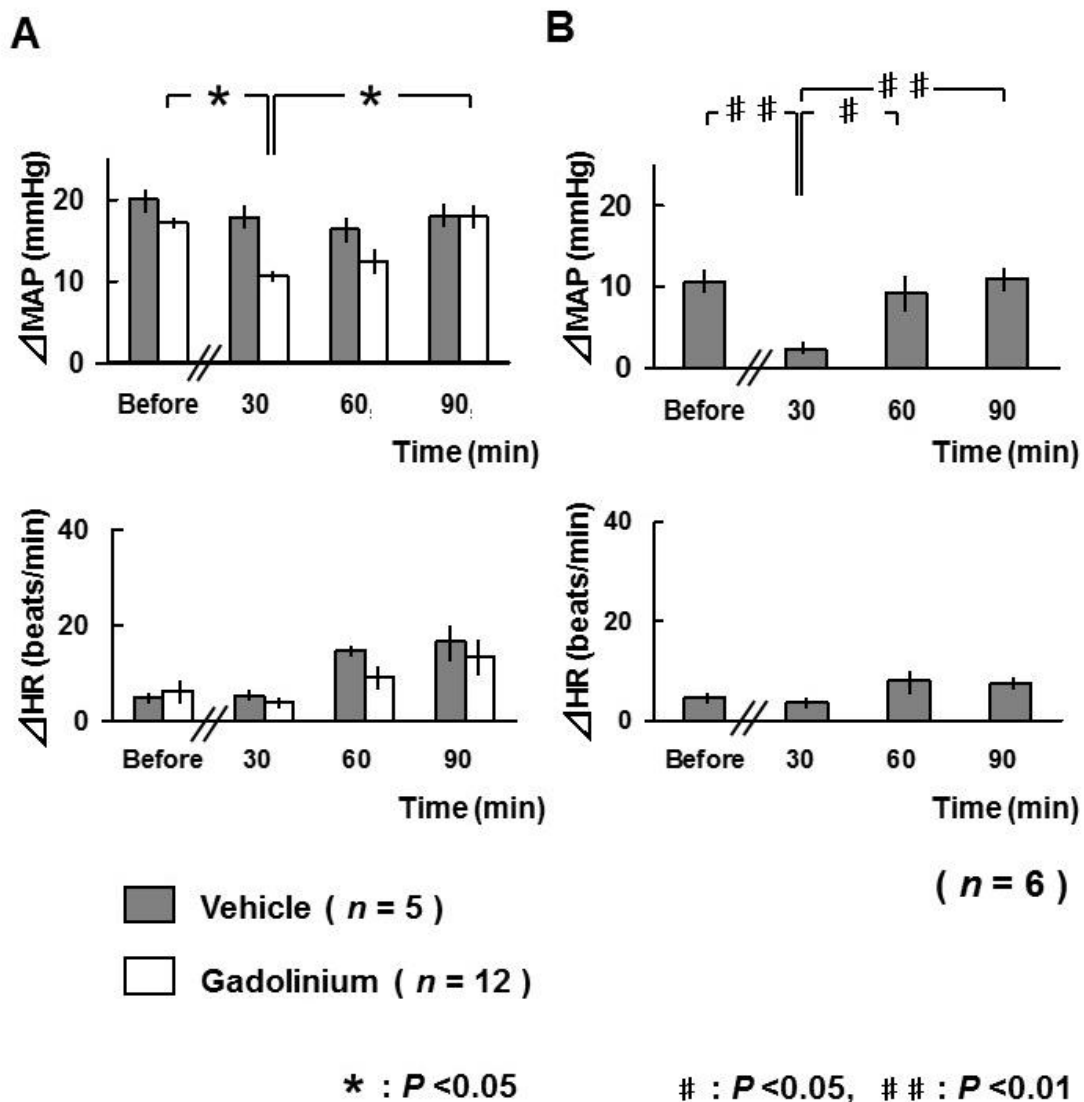
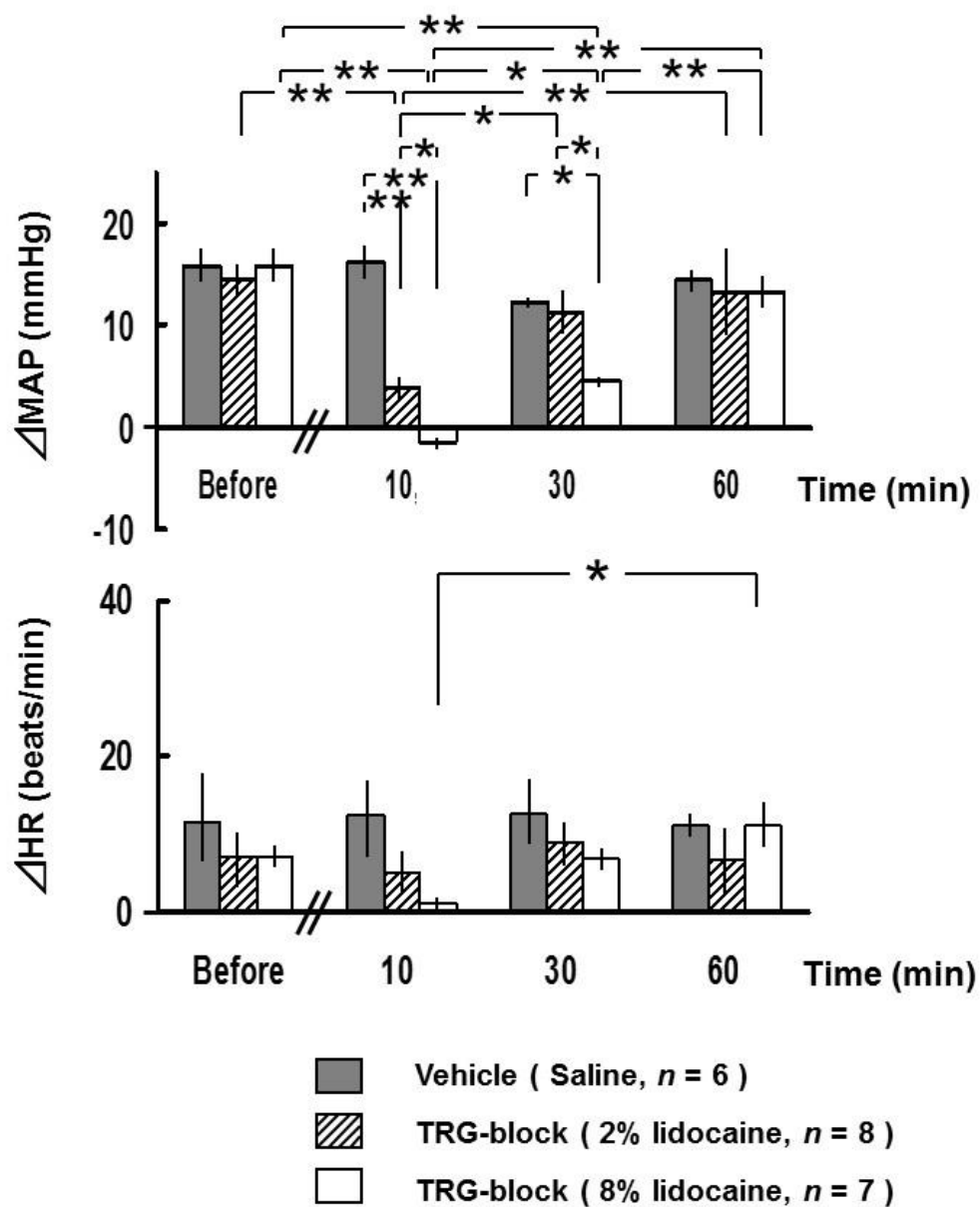


図7 噛みしめ昇圧反応および頻脈反応に対する咀嚼筋ガドリニウム処置の影響

A : 咀嚼筋のガドリニウム溶液 ( $20 \cdot 10^{-3}$  M,  $2.1 \cdot 10^{-3}$  l  $\cdot$  kg $^{-1}$ ) またはその溶解液 (Hepes 溶液,  $2.1 \cdot 10^{-3}$  l  $\cdot$  kg $^{-1}$ ) による薬液処置の前後における 1.0 Hz 噛みしめ運動時にみられた噛みしめ昇圧反応 ( $\Delta$ MAP) と頻脈反応 ( $\Delta$ HR)

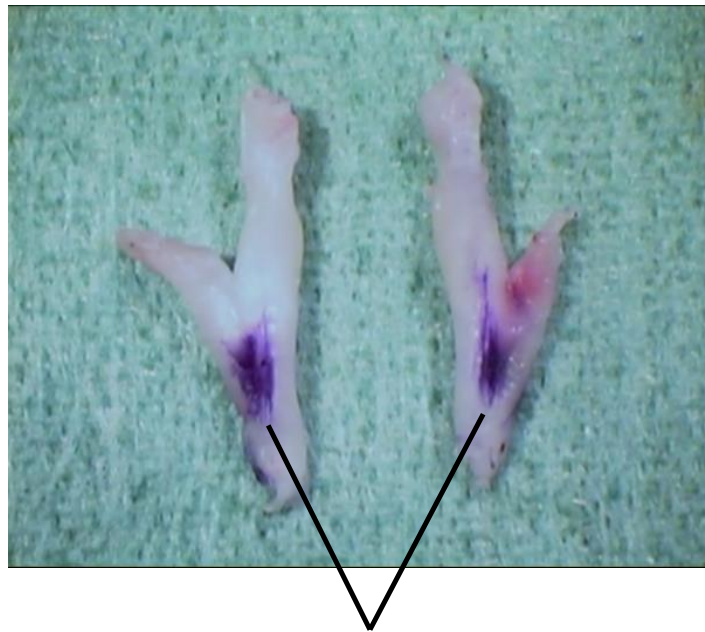
B: 咀嚼筋機械受容器に対するガドリニウムのブロック効果確認実験の結果 咀嚼筋ガドリニウム処置を行い、片側咬筋を牽引 (1.0 kgf) した時の昇圧応答  $\Delta$ MAP および頻脈応答  $\Delta$ HR を比較した。



\* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$

図8 噛みしめ昇圧反応および頻脈反応に対する三叉神経節ブロックの影響

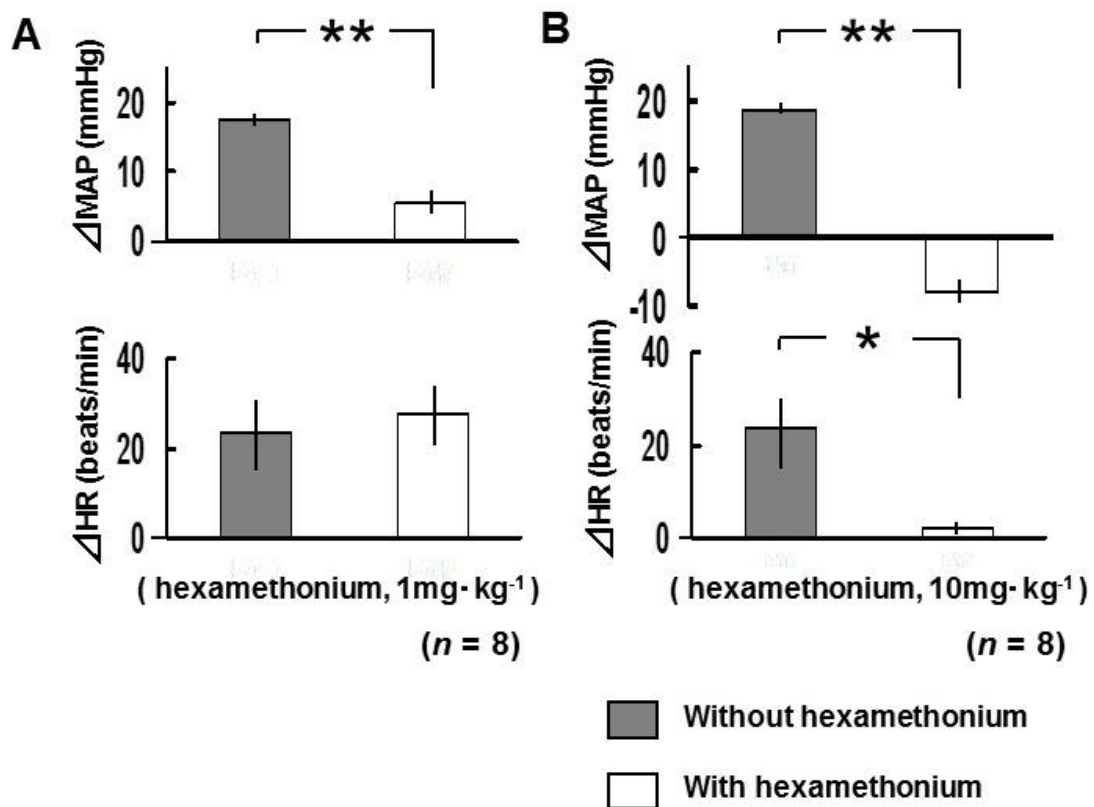
両側三叉神経節にリドカインまたは生食を局所注入(各  $1 \cdot 10^{-6}$  l)する前後における 1.0 Hz 噛みしめ運動時にみられた噛みしめ昇圧反応( $\Delta$ MAP)と頻脈反応( $\Delta$ HR)



## Hematoxylin solution

図9 三叉神経節（摘出像、背面）

三叉神経節ブロック実験終了後に局所麻酔薬と同量のヘマトキシリン溶液を注入し、その広がりを確認した。

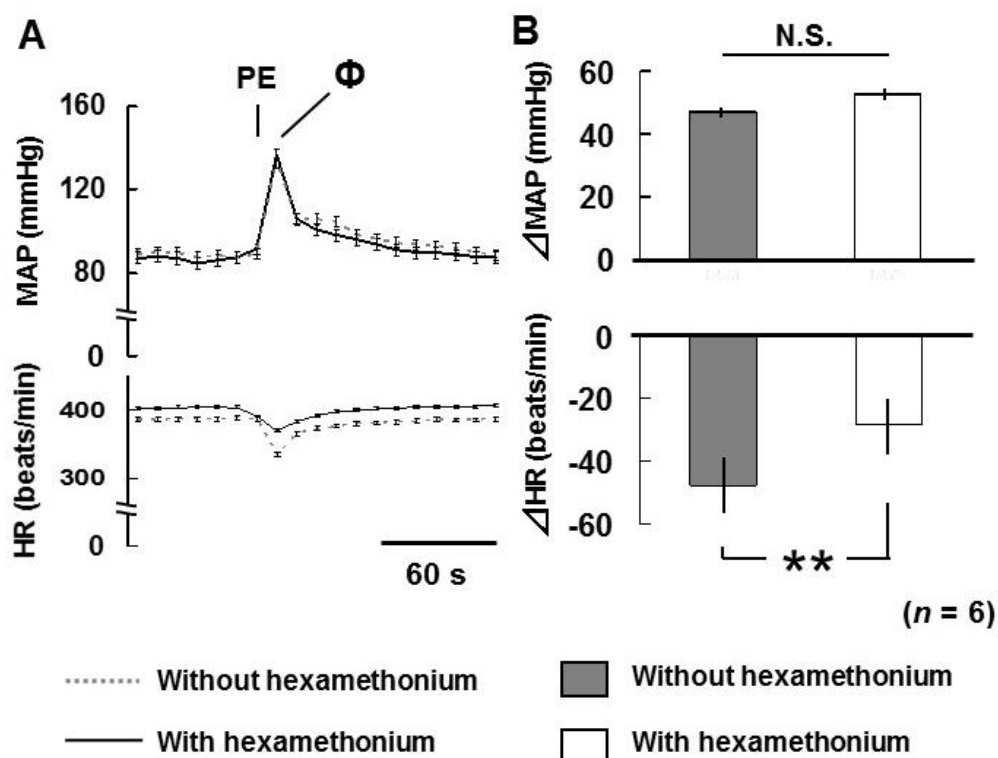


\* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$

図 10 噛みしめ昇圧反応および頻脈反応に対するヘキサメソニウム前処理の影響

A : ヘキサメソニウム投与前および少量投与( $1 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) 10 分後における 1.0 Hz 噛みしめ運動時にみられた噛みしめ昇圧反応( $\Delta\text{MAP}$ ) と頻脈反応( $\Delta\text{HR}$ ) ベースライン動脈圧維持のため、ヘキサメソニウム投与直後にフェニレフリン( $4 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )の持続静注を開始した。

B : ヘキサメソニウム投与前および大量投与( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) 10 分後における 1.0 Hz 噛みしめ運動時にみられた噛みしめ昇圧反応( $\Delta\text{MAP}$ ) と頻脈反応( $\Delta\text{HR}$ ) ベースライン動脈圧維持のため、ヘキサメソニウム投与直後にフェニレフリン( $12 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )の持続静注を開始した。



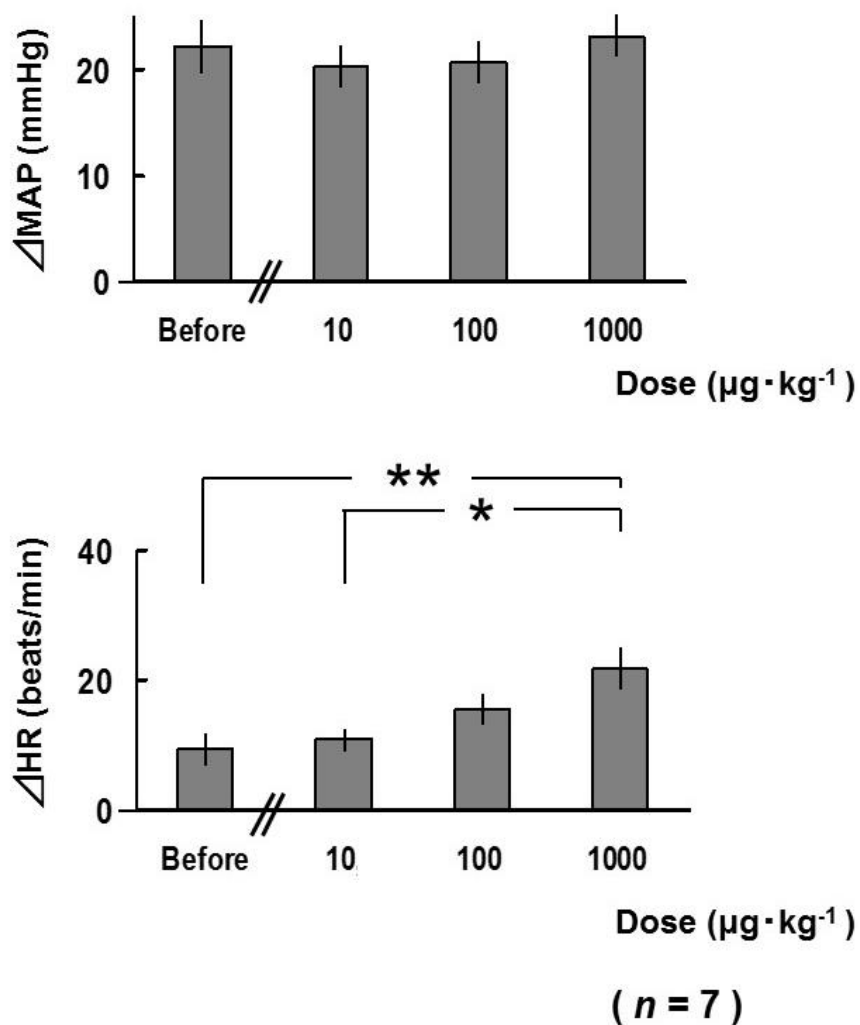
N.S.: not statistically significant.

\*\* :  $P < 0.01$

図 11 ヘキサメソニウムの静脈内投与およびフェニレフリン持続静注が血管収縮性に及ぼす影響

A : ヘキサメソニウム投与前および投与( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) 10 分後におけるフェニレフリン ( $40 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,  $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ l}$ , bolus) 投与時の平均動脈圧(MAP)の変化および心拍数(HR)変化 ベースライン動脈圧維持のためヘキサメソニウム投与直後にフェニレフリン( $12 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )の持続静注を開始した。PE : フェニレフリンの静脈内 1 回投与、 $\Phi$  : フェニレフリン投与時にみられた昇圧応答の最大値

B : ヘキサメソニウム投与前および投与( $10 \cdot 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) 10 分後における  $\Phi$  の時点における昇圧反応( $\Delta$ MAP) および頻脈反応( $\Delta$ HR) ヘキサメソニウムを投与しても昇圧応答  $\Delta$ MAP に有意な変化は認めなかったが、頻脈応答  $\Delta$ HR は有意に減少した。



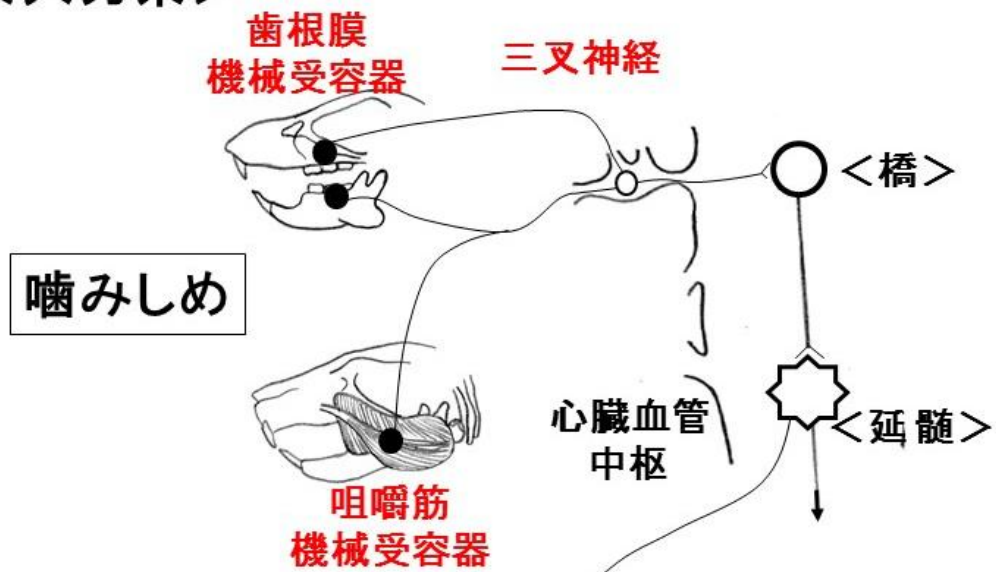
$*$  :  $P < 0.05$ ,  $**$  :  $P < 0.01$

図 12 嘔みしめ昇圧反応および頻脈反応に対するメチルアトロピン静脈内投与の影響

メチルアトロピン投与前および投与( $10\text{--}1000 \cdot 10^{-9} \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv) 10 分後における 1.0 Hz 嘔みしめ運動時にみられた嘔みしめ昇圧反応( $\Delta\text{MAP}$ ) と頻脈反応( $\Delta\text{HR}$ )

メチルアトロピンを投与しても昇圧応答 $\Delta\text{MAP}$  に有意な変化を認めなかったが、頻脈応答 $\Delta\text{HR}$  は用量依存的に有意な増加傾向を示した。

## <入力系>



## <出力系>

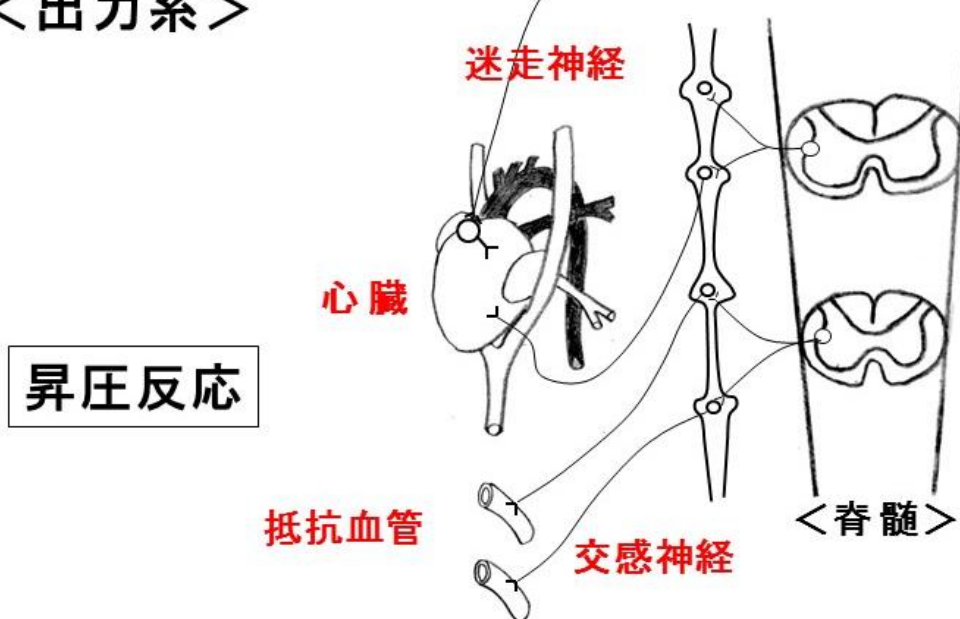


図 13 噛みしめ昇圧反応の反射経路

噛みしめ運動時には、歯根膜受容器および咀嚼筋機械受容器への入力刺激が三叉神経求心路を経由して心臓血管中枢へ伝導し、交感神経性に昇圧応答が生じること、および頻脈応答に対する遠心路には副交感神経も抑制的に作用していることが明らかとなった。



表 1 各実験におけるベースライン平均動脈圧およびベースライン  
瞬時心拍数

Protocol	<i>n</i>	MAP ( mmHg )	HR ( beats · min <sup>-1</sup> )
<b>Stimulus frequency</b>	5	90.9 ± 4.2	397.1 ± 8.4
<b>Dantrolene sodium</b>	5	101.1 ± 1.4	410.1 ± 10.5
<b>SAD</b>			
Sham	5	88.2 ± 2.3	404.5 ± 13.6
SAD	6	98.7 ± 4.1	381.8 ± 16.0
<b>Local anesthesia of the molar regions</b>			
Vehicle (Saline)	6	85.2 ± 5.3	384.5 ± 14.5
0.4%Lidocaine	6	82.0 ± 3.4	356.4 ± 15.8
0.8%Lidocaine	5	90.6 ± 1.9	369.2 ± 10.6
<b>Gadolinium chloride entrapment in the masticatory muscles</b>			
Vehicle(Hepes-buffered solution)	5	93.1 ± 1.7	358.1 ± 7.4
Gadolinium chloride	12	90.8 ± 3.3	357.7 ± 11.5
Masseter muscle stretch test	6	85.9 ± 2.6	379.1 ± 9.5
<b>TRG-block</b>			
Vehicle (Saline)	6	90.1 ± 3.8	392.3 ± 13.7
2%Lidocaine	8	93.8 ± 3.6	393.4 ± 13.8
8%Lidocaine	7	95.2 ± 1.7	373.8 ± 13.4
<b>Hexamethonium chloride</b>			
1.0 · 10 <sup>-6</sup> kg · kg <sup>-1</sup> , iv	8	93.1 ± 3.0	393.1 ± 8.5
10 · 10 <sup>-6</sup> kg · kg <sup>-1</sup> , iv	8	90.7 ± 2.9	379.1 ± 8.3
Vasomotor response test	6	86.8 ± 2.4	403.0 ± 23.4
<b>Atropine methyl nitrate</b>	7	90.4 ± 1.8	427.4 ± 4.8

測定値は平均値±標準誤差で示した。 ベースライン平均動脈圧およびベースライン瞬時心拍数は各実験中に計測した 30 秒間の平均値 *n* : 動物数, MAP: 平均動脈圧, HR: 瞬時心拍数, Stimulus frequency: 嚙みしめ頻度確認実験, SAD: 動脈圧受容器除神経, Masseter muscle stretch test: 咬筋牽引実験, TRG-block: 三叉神経節ブロック, Vasomotor response test: 血管収縮性確認実験

## 参 考 論 文

- 1 東海林一郎, 丸山聡, 田村吏沙, 萩沢康介, 田代晃正, 太田宏之, 煙山健仁, 晝間恵, 佐藤泰則, 西田育弘. ラットの噛みしめ昇圧反応における三叉神経求心路の寄与. 防医大誌. 2014;39:190-196.
- 2 Nishida Y, Maruyama S, Shouji I, Kemuriyama T, Tashiro A, Ohta H, Hagisawa K, Hiruma M, Yokoe H. Effects and biological limitations of +Gz acceleration on autonomic functions related circulation in rats. *J Physiol Sci* 2016;66:447-462.

## ラットの噛みしめ昇圧反応における三叉神経求心路の寄与

東海林一郎\*, 丸山 聡\*\*, 田村吏沙\*\*\*, 萩沢康介\*\*\*, 田代晃正\*\*\*, 太田宏之\*\*\*,  
 煙山健仁\*\*\*, 晝間 恵\*\*\*, 佐藤泰則\*, 西田育弘\*\*\*

防医大誌 (2014) 39 (3) : 190 - 196

**要旨：**【目的】噛みしめ昇圧反応は反応機序が不明である。今回、主要な求心路をラットを用いた動物実験により求めた。【方法】ウレタン麻酔下ラットの咬筋を電気刺激し昇圧反応を確認した。次に両側上下顎臼歯部局所麻酔または片側三叉神経節ブロックを行った後、同様に咬筋を電気刺激し昇圧反応を計測した。【結果】両側上下顎臼歯部局所麻酔により噛みしめ昇圧反応は局麻前の $32.6 \pm 18.2\%$ まで減少した。また片側三叉神経節ブロックでは噛みしめ昇圧反応はブロック前の $30.7 \pm 5.1\%$ まで減少した。【結語】噛みしめ昇圧反応の主要な求心路は三叉神経であろうと推測された。

**索引用語：** 噛みしめ昇圧反応 / 咬筋 / 局所麻酔 / 三叉神経節ブロック

## 緒 言

戦闘機パイロットは急旋回時における強い加速度負荷 (Gz 負荷) による意識障害 (G-induced loss of consciousness : G-LOC) や視機能障害 (Black out)<sup>1)</sup> 予防のため、耐 G スーツの着用や耐 G 動作 (Anti-G Maneuver) による加速度負荷訓練を実施し、耐 G 能力の向上を図っている<sup>2, 3)</sup>。しかし現在、戦闘機性能の進歩に対し、戦闘機パイロットの耐 G 能力向上に応用されている方法は限られており、例えば耐 G スーツ作動後にみられる + Gz 下降時低血圧 (Gz 負荷が下降し始めた直後に頭部血圧が下降する状態) の発生による脳血流障害<sup>4)</sup> の予防などのために新たな耐 G 能力の向上方法が求められつつある。最近、電気刺激による下腿筋の筋収縮により補助的に耐 G 能力の向上を図る特殊スーツが開発されている<sup>5)</sup> が、作動時に下腿に不快症状が生じるという問題が報

告されている。これまでの我々の研究により、ラットを用いた動物実験において、噛みしめ時における昇圧反応が加速度負荷時における頭部動脈圧の下降をある程度予防することを示した<sup>6)</sup>。しかし、その昇圧反応の発生機序は不明である。今回我々は発生機序を探るため、三叉神経の第 2 枝及び第 3 枝の分枝である上歯槽神経と下歯槽神経の分布する上下顎臼歯部への局所麻酔または三叉神経節ブロックを行い、噛みしめ昇圧反応への影響を検討した。

## 方 法

## 1. 動物

Sprague-Dawley ラット雄 32 匹 (12~16 週, 444 ± 49g, 日本エスエルシー, 静岡) を、上下顎臼歯部局所麻酔実験 (n = 13), 片側三叉神経節ブロック実験 (n = 19) の 2 グループに分けた。本研究は日本学術会議による動物実験実施

\*防衛医科大学校歯科口腔外科  
 Department of Oral and maxillofacial Surgery, National Defense Medical College, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan

\*\*航空自衛隊航空医学実験隊第 2 部薬科学科  
 Pharmacochemical Section, Aeromedical Laboratory, Japan Are Self-Defense force, Tachikawa, Tokyo 190-8585, Japan

\*\*\*防衛医科大学校生理学講座  
 Department of Physiology, National Defense Medical College, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan

平成 26 年 1 月 15 日受付  
 平成 26 年 4 月 24 日受理



ガイドラインに従い、防衛医科大学校動物実験審査委員会の承認（承認番号12086）を得て行われた。

## 2. 手技

ラットをウレタン麻酔 ( $1.2\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , i.p, Sigma-aldrich, Missouri, USA) した後、顕微鏡下に左大腿動脈から動脈圧測定用カテーテル (PE-50, Becton Dickinson, New Jersey, USA) を、左大腿静脈から薬剤投与用カテーテル (PE-10, Becton Dickinson, New Jersey, USA) を挿入した。心電図 (ECG) 計測のため電極 (EKC-20VSBL, 栄光科学, 東京) を大胸筋表面に装着した。片側（片側三叉神経節ブロック実験用）または両側（上下顎臼歯部局所麻酔実験用）咬筋部皮膚表面に電気刺激のための刺激電極 (EKC-20VSBL, 栄光科学, 東京) を装着した。咬合力を測定するために右下顎臼歯部に厚さ0.65mmの圧力センサー (PSM-type, 協和電子工業, 東京) を装着した。左大腿動脈カテーテルは圧トランスデューサー (DX-360, 日本光電, 東京) に接続し、動脈圧測定用アンプ (AP-641G, 日本光電, 東京) を用い、動脈圧 (AP) を計測した。また心電図電極は心電計及び心拍計 (AB601G, AT601G, 日本光電, 東京) に連結し、R-R 間隔より瞬時心拍数 (HR) を計測した。全てのアナログ信号をアナログデジタル変換器 (PowerLab, ADInstruments, Castle Hill, Australia) によりデジタル信号化し、 $1000 \text{ samples} \cdot \text{sec}^{-1}$  のサンプリング速度で記録した。AP, HR, ECG のデジタルデータはパーソナルコンピュータ (Satellite223, 東芝, 東京) で描出・記録し、プリンター (WR1000, グラフテック, 東京) で記録した。

咬筋の電気刺激は、電気刺激装置 (Electronic stimulator, IsolatorSS102J, 日本光電, 東京) を用い、1秒間に1回、50Hz、0.4秒間、22~24Vの刺激を30秒間行った。咬筋の電気刺激により、約160Nの咬合力を得た。

上下顎臼歯部の局所麻酔実験（60分間観察群： $n = 6$ ，または120分間観察群： $n = 3$ ）では、局所麻酔群に2%リドカイン（キシロカイン注射液2%，アストラゼネカ，大阪）を生理食塩水で5倍希釈し、0.4%リドカインとして両側上顎臼歯部歯肉及び両側下顎孔部に0.1mlず

つ局所注入し、また対照群（60分間観察： $n = 4$ ）ではリドカインの代わりに同量の生理食塩水を注入した。

片側三叉神経節ブロック実験では施術したラットを脳定位固定装置 (SR-6R, ナリシゲ, 東京) に固定し、片側の頭頂部骨面に直径約1mmの小孔を形成し、小動物用脳内埋込み用カニューラ (C315ISPCL/C315GSPCL, Plastics One, Virginia, USA) を三叉神経節相等部位まで挿入した。ブロック群 ( $n = 11$ ) は片側三叉神経節に相当する部位に2%リドカイン  $1 \mu\text{l}$  を局所注入した。また対照群 ( $n = 8$ ) では同量の生理食塩水を局所注入した。いずれも、実験終了後、三叉神経節への薬液の注入による薬液の広がり具合を、頭部のカニューラからヘマトキシリン溶液 (Mayers Hematoxylin Solution, 和光純薬, 大阪)  $1 \mu\text{l}$  を注入して三叉神経節を摘出し、形態学的に検討した。

## 3. プロトコール

上下顎臼歯部局所麻酔実験と片側三叉神経節ブロック実験の、2つのプロトコールを実施した。

上下顎臼歯部局所麻酔実験ではラット両側咬筋を電気刺激し、噛みしめによる AP, HR の変化および咬合力を記録した (Fig. 1)。その後、上下顎臼歯部に0.4%リドカイン（局所麻酔群）または生理食塩水（対照群）を注入、30分、60分、120分後に各々両側咬筋の電気刺激を行った。

片側三叉神経節ブロック実験では、ラット片側咬筋部を電気刺激し、噛みしめによる AP, HR の変化を記録した。その後、電気刺激した咬筋と同側の三叉神経節に2%リドカイン（ブロック群）または生理食塩水（対照群）を注入し、10分、30分、60分後、各々の咬筋電気刺激を行った。

## 4. 統計

動物の数は  $n$  で、測定数値は平均値  $\pm$  標準誤差でそれぞれ表記した。

上下顎局所麻酔実験及び片側三叉神経節ブロック実験における平均動脈圧変化 ( $\Delta \text{MAP}$ ) または心拍数変化 ( $\Delta \text{HR}$ ) の比較は、二元配置の分散分析及び Tukey-Kramer の post-hoc テストで検定した。単純2群間の比較は、独立した2群間では Student  $t$  検定を、関連のある

2群間ではPaired t検定を用いた。いずれも $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

## 結 果

上下顎臼歯部局所麻酔実験と片側三叉神経節ブロック実験の刺激実験前における安静時平均動脈圧 (MAP) と心拍数 (HR) を Table 1 に示した。

上下顎臼歯部局所麻酔実験の局所麻酔前に両側咬筋を電気刺激した時にみられる動脈圧 (AP) および心拍数 (HR) の典型例を Fig. 1 に示した。Fig. 2 に局所麻酔群と対照群 (Vehicle) の局所注入前, 30分及び60分後の $\Delta$ MAPと $\Delta$ HRを示す。局所麻酔群の噛みしめによる平均動脈圧上昇 ( $\Delta$ MAP) は $12.6 \pm 1.7$  mmHg, 心拍数上昇 ( $\Delta$ HR) は $10.3 \pm 5.9$  bpmであった。30分後では $\Delta$ MAPは $3.3 \pm 3.1$  mmHgと有意に抑制 ( $p < 0.05$ ) され,  $\Delta$ HRは $5.8 \pm 3.6$  bpmであった。60分後でも $\Delta$ MAPは $4.0 \pm 2.7$  mmHgと減少傾向を示し,  $\Delta$ HRは $5.2 \pm 3.7$  bpmであった。このとき対照群の噛みしめによる $\Delta$ MAPは $10.1 \pm 1.5$  mmHg,  $\Delta$ HRは $18.3 \pm 6.0$  bpmであったのに対し, 30分後で $\Delta$ MAPは $10.2 \pm 3.0$  mmHg,  $\Delta$ HRは $11.4 \pm 5.9$  bpm, 60分後で $\Delta$ MAPは $9.2 \pm 1.0$  mmHg,  $\Delta$ HRは $10.8 \pm 2.8$  bpmであった。対照群では $\Delta$ MAP,  $\Delta$ HRともに局所注入前, 30分後, 60分後の3群間に有意差を認めなかった。上下顎臼歯部局所麻酔により両側咬筋の電気刺激による噛みしめ時の昇圧反応 ( $\Delta$ MAP) は, 局麻30分後で局麻前の $32.6 \pm 18.2\%$ まで減少した。

局麻60分後までの観察では, 麻酔効果の軽減に伴う昇圧反応の回復が認められなかったため, 新たにラット3匹を用い, 局麻120分後の昇圧反応を確認した。局麻前では $\Delta$ MAPは $12.0 \pm 2.5$  mmHg,  $\Delta$ HRは $7.5 \pm 4.9$  bpmであったが, 局麻120分後では $\Delta$ MAPは $9.0 \pm 1.5$  mmHg,

$\Delta$ HRは $6.1 \pm 5.1$  bpmとなった。局麻前と比較して $\Delta$ MAP,  $\Delta$ HRともに有意差は認められず, 120分後では局所麻酔の影響から回復していると考えられた。

片側三叉神経節ブロック実験では, 三叉神経節へのカニューラ挿入前に, まず片側咬筋電気刺激による噛みしめ昇圧反応を確認した。

$\Delta$  MAP は $19.1 \pm 1.5$  mmHg,  $\Delta$  HR は $23.1 \pm 3.7$  bpmであった。次に, 三叉神経節へカニューラを挿入すると咬筋電気刺激前の安静時MAPは $89.4 \pm 2.4$  mmHgと挿入前の値に比べ有意に上昇 ( $p < 0.01$ , Paired t-test) した。一方HRは $406.4 \pm 6.1$  bpmとカニューラ挿入前後において有意差を認めなかった。

片側三叉神経節ブロック実験のブロック前およびブロック10分後の片側咬筋電気刺激時におけるMAPおよびHRの変化を示す典型例をFig. 3に示した。またFig. 4に噛みしめ昇圧反応と心拍数反応について, ブロック群と対照群 (Vehicle) の局所注入前, 10分後, 30分後, 60分後の変化を示した。ブロック群の局所注入前は, 片側咬筋電気刺激により $\Delta$  MAPは $16.7 \pm 1.7$  mmHg,  $\Delta$  HRは $14.7 \pm 3.0$  bpmであった。10分後, 30分後, 60分後の $\Delta$  MAPはそれぞれ $5.1 \pm 0.9$  mmHg,  $12.3 \pm 1.6$  mmHg,  $13.8 \pm 1.4$  mmHgであった。局所注入前と比較すると, 10分後のみ有意差を認めた。また $\Delta$  HRはそれぞれ $11.3 \pm 2.1$  bpm,  $15.8 \pm 2.2$  bpm,  $14.2 \pm 2.9$  bpmであった。いずれも有意差は認めなかった。一方, 対照群は, 局所注入前, 10分後, 30分後, 60分後で $\Delta$ MAPはそれぞれ $13.0 \pm 1.7$  mmHg,  $11.9 \pm 2.2$  mmHg,  $12.2 \pm 1.4$  mmHg,  $11.2 \pm 2.3$  mmHgであり,  $\Delta$ HRはそれぞれ $19.5 \pm 4.4$  bpm,  $16.1 \pm 4.7$  bpm,  $13.4 \pm 2.7$  bpm,  $16.7 \pm 2.0$  bpmであった。いずれも有意差は認めなかった。 $\Delta$ MAPについて, ブロック群と対照群を比較すると, 10分

Table 1. The resting MAP and HR before the experiments

Group		MAP (mmHg)	HR (beats/min)
上下顎臼歯部局所麻酔群	(n = 6)	$84.9 \pm 4.9$	$378.5 \pm 10.9$
対照群	(n = 4)	$80.0 \pm 8.2$	$355.3 \pm 20.7$
片側三叉神経節ブロック群	(n = 11)	$79.9 \pm 3.3$	$408.5 \pm 8.6$
対照群	(n = 8)	$80.7 \pm 1.9$	$387.9 \pm 4.7$

MAP: 平均動脈圧, HR: 心拍数。



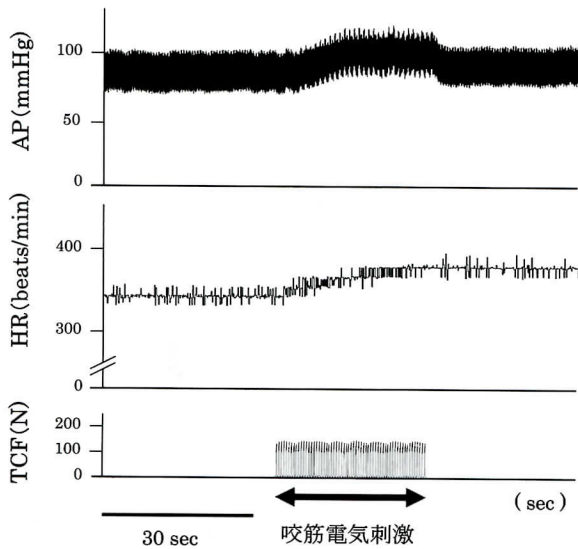


Fig. 1. ラットに30秒間の両側咬筋電気刺激をした時に見られる、噛みしめ昇圧反応の典型例  
AP: 動脈圧, HR: 心拍数, TCF: 噛みしめ圧力。

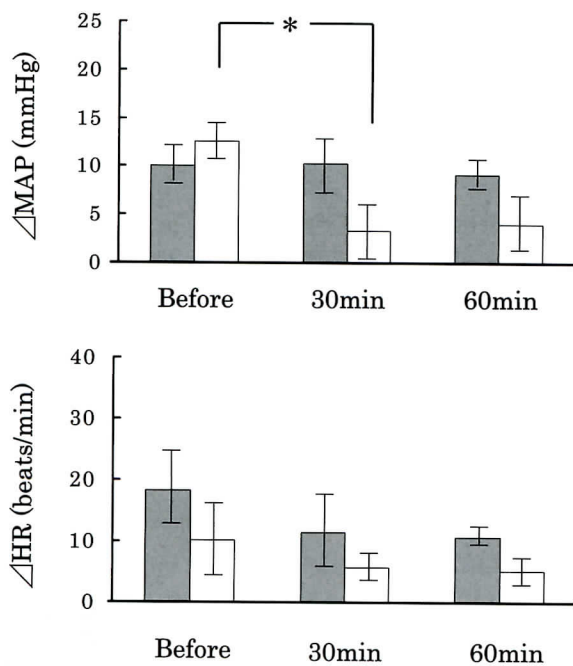


Fig. 2. 両側咬筋電気刺激による噛みしめ昇圧反応に対する上下顎局所麻酔の影響  
■: Vehicle (生食,  $n = 4$ ), □: 局所麻酔 (0.4%リドカイン,  $n = 6$ ), MAP: 平均動脈圧, HR: 心拍数。  
\*,  $p < 0.05$  (two-way ANOVA followed by the Tukey-Kramer test) 局所麻酔30分後で $\Delta$ MAPは有意に減少した。

後のみで2群間に有意差を認めた ( $5.1 \pm 0.9$  mmHg vs  $11.9 \pm 2.2$  mmHg,  $p < 0.01$ ) が, その他の2群間では有意差を認めなかった。片側三叉神経節ブロックにより片側咬筋の電気刺激

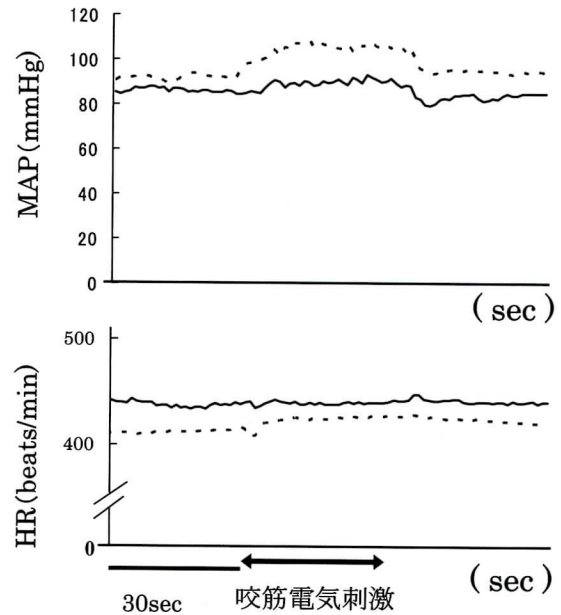


Fig. 3. 片側三叉神経節ブロック前後における咬筋電気刺激時のMAPおよびHRの変化  
ラットに30秒間の片側咬筋電気刺激した時にみられる噛みしめ昇圧反応 (-----) 及び片側三叉神経節ブロック10分後における噛みしめ昇圧反応 (——)。MAP: 平均動脈圧, HR: 心拍数。片側三叉神経節ブロックにより片側噛みしめ昇圧反応が減少した。

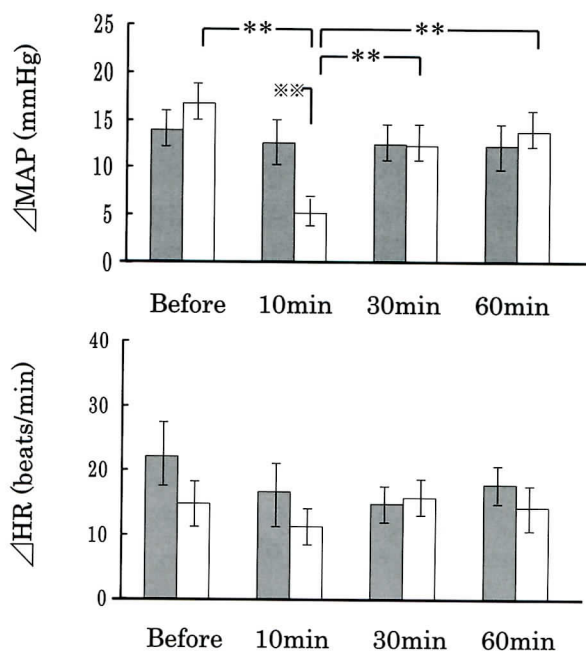


Fig. 4. 片側噛みしめ昇圧反応に対する片側三叉神経節ブロックの影響

■: Vehicle (生食,  $n = 8$ ), □: ブロック (2%リドカイン,  $n = 11$ )  
\*\*,  $p < 0.01$  (two-way ANOVA followed by Tukey Kramer test)  
\*\*,  $p < 0.01$  (Student's  $t$ -test)  
ブロック10分後で $\Delta$ MAPは有意に減少した。

による噛みしめ時の昇圧反応 ( $\Delta$  MAP) は、ブロック10分後で  $30.7 \pm 5.1\%$  まで減少した。

## 考 察

噛みしめると昇圧が起こる現象は最近見出された。Ferella ら<sup>7)</sup> によれば、10名の健康成人 (男性5名, 女性5名) を対象として異なる堅さのガムを用い、咀嚼筋 (咬筋及び側頭筋) の活動性が大きいほど動脈圧及び心拍数が有意に上昇することを報告した。また Ishiyama ら<sup>8)</sup> によれば、11名の健康成人男性を対象とした咀嚼運動時に血圧, 心拍数, 及び脳血流量の上昇を認め報告した。この応答が交感神経及び副交感神経の相互作用によるものであろうと、血圧, 心拍数, 脈波, 総頸動脈血流量, 心拍出量, 心電図のパワースペクトル及びRR間隔変動係数の測定結果から推定した。またさらに Okada ら<sup>9)</sup> によれば、8名の健康成人男性を対象として上下顎歯槽部局所麻酔を行うと噛みしめ時に生じる昇圧反応が減弱することから、歯周組織の感覚系が関与していることを示唆した。これらの事実から、噛みしめ時には昇圧が発生する現象が確認された。しかし、この昇圧反応が神経性反射であることや、もちろん反射メカニズムについて、明確に調べた報告は見られない。

我々は動物実験において咬筋の電気刺激により昇圧反応を起こすことを証明した。同時に、他の骨格筋を電気刺激しても昇圧しないこと、咬筋電気刺激による昇圧反応は噛みしめ圧に依存していること、さらに、筋弛緩により昇圧反応が解除されることを証明した<sup>6)</sup>。これにより、この昇圧反応が噛みしめ圧に依存していることが証明され、この反応を‘噛みしめ昇圧反応’と名づけた<sup>6, 10)</sup>。しかし、この反応の神経性求心路など、反射経路は不明のままであった。本研究では、1上下顎臼歯部局所麻酔により、麻酔下ラットの噛みしめ時における昇圧反応が有意に抑制 ( $32.6 \pm 18.2\%$  に減少) されること、2片側三叉神経節ブロックにより、上下顎臼歯部局所麻酔と同程度噛みしめ昇圧反応が抑制 ( $30.7 \pm 5.1\%$  に減少) されることが示された。上歯槽神経・下歯槽神経は三叉神経の分枝の一部である。また、片側ながら三叉神経節ブロッ

クにより昇圧反応が上下顎臼歯部局所麻酔実験と同程度抑制されたことから、噛みしめにより誘発される昇圧反応には三叉神経求心性神経が関与していることが強く示唆された。

骨格筋の等尺性収縮運動により遠心性交感神経応答として昇圧反応が生じることは広く知られている<sup>11-14)</sup>。その求心路は Group III 及び Group IV muscle afferent であるとされる<sup>15)</sup>。Group III muscle afferent は筋腱結合部に、また Group IV muscle afferent は血管壁に存在しており<sup>16)</sup>、Hays ら<sup>17)</sup> は除脳したネコにおいて Group III muscle afferent の mechanoreceptor blocker であるガドリニウムの投与により運動昇圧応答が減弱したことを証明している。咬筋における Group III 及び Group IV muscle afferent が三叉神経を経由しているかどうかは報告されていないが、その可能性を今後調べる必要がある。

また、Okada ら<sup>9)</sup> の結果も考慮すると、三叉神経を経由する求心性線維は骨格筋由来だけでなく、歯槽部にかかる噛みしめ圧を感知・伝達する求心性線維についても調べる必要があると考えられた。

これまで、噛みしめ昇圧反応の機序について、その機序を調べた報告は我々の知る限りではなく、その求心路についても不明であったが、今回の本研究により三叉神経が主な求心路であろうと示唆された。

## 結 語

噛みしめ昇圧反応の主要な求心路は三叉神経であることが示された。

## 謝 辞

福田孝一准教授をはじめ防衛医科大学校動物実験施設職員の方々に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Banks, R.D., Brinkley, J.W., Allnutt, R. and Harding, M: Human response to acceleration. In: Fundamentals of aerospace medicine, 4<sup>th</sup> ed. Ed. by Davis, R.J. and Johnson, R. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 2008, pp.83-109.
- 2) Cohen, M.M.: Combining techniques to enhance protection against high sustained accelerative force. *Aviat. Space Environ. Med.* 54: 338-342, 1983.



- 3) Albery, W.B. and Chelette, T.L.: Effect of G suit type on cognitive performance. *Aviat. Space Environ. Med.* **69**: 474-479, 1998.
- 4) Maruyama, S., Kemuriyama, T., Manabe, T., Takahata, T., Shoji, I. and Nishida, Y.: Severe hypotension during the decreasing phase of Gz stress in anesthetized rats wearing an Anti-G suit. *Aviat. Space Environ. Med.* **82**: 1030-1036, 2011.
- 5) Balldin, U., Annicelli, L., Gibbons, J. and Kisner, J.: An electrical muscle stimulation suit for increasing blood pressure. *Aviat. Space Environ. Med.* **79**: 914-918, 2008.
- 6) Takahata, T., Shouji, I., Maruyama, S., Sato, Y., Nishida, Y. and Ueno, T.: Teeth clenching and positive acceleration - induced cerebral arterial hypotension in rats. *Aviat. Space Environ. Med.* **82**: 442-447, 2011.
- 7) Ferella, M., Bakke, M., Michelitti, A., Marotta, G. and Martina, R.: Cardiovascular responses in humans to experimental chewing of gums different consistencies. *Arch Oral Biol.* **44**: 835-842, 1999.
- 8) Ishiyama, I. and Suzuki, M.: Blood pressure and cerebral blood flow volume responses to mastication of food. *J.Jpn.Soc.Mast.Sci.Health.Promot.* **15**: 24-36, 2005.
- 9) Okada, Y., Kamijo, Y., Okazaki, K., Masuki, S., Goto, M. and Nose, H.: Pressor responses to isometric biting are evoked by somatosensory receptors in periodontal tissue in humans. *J.Appl. Physiol.* **107**: 531-539, 2009.
- 10) 西田育弘, 丸山 聡 : 重力負荷訓練の安全対策への基礎研究—循環と自律系機能への影響—. 防衛医科大学校雑誌 **38** : 16-31, 2013.
- 11) Mitchell, J.H., Reardon, W.C. and McCloskey, D.I.: Reflex effects on circulation and respiration from contracting skeletal muscle. *Am.J.Physiol.* **233**: H374-378, 1977.
- 12) Crayton, S.C., Aung-Din, R., Fixler, D.E. and Mitchell, J.H.: Distribution of cardiac output during induced isometric exercise in dogs. *Am.J.Physiol.* **236**: H218-224, 1979.
- 13) Mitchell, J.H.: Neural control of the circulation during exercise. *Med. Sci. Sports. Exerc.* **22**: 141-154, 1990.
- 14) Matsukawa, K., Sadamoto, T., Tsuchimochi, H., Komine, H., Murata, J. and Shimizu, K.: Reflex responses in plasma catecholamines caused by static contribution of skeletal muscle. *Jpn.J.physiol.* **51**: 591-597, 2001.
- 15) McCloskey, D.I. and Mitchell, J.H.: Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J.Physiol.* **224**: 173-186, 1972.
- 16) Von Düring, M. and Andres, K.H.: Topography and ultrastructure of group III and IV nerve terminals of cat's gastrocnemius - soleus muscle. In: *The Primary Afferent Neuron: A Survey of Recent Morpho - Functional Aspects* Ed. by Zenker, W. and Neuhuber, W.L. Plenum Press, New York, 1990, pp.35-41.
- 17) Hays, S.G. and Kaufman, M.P.: Gadolinium attenuates exercise pressor reflex in cats. *Am.J.physiol.* **280**: H2153-2161, 2001.



## The role of trigeminal afferent pathway in the teeth clenching - induced pressor response in rats

Ichiro SHOJI, Satoshi MARUYAMA, Risa TAMURA, Kousuke HAGISAWA,  
Akimasa TASHIRO, Hiroyuki OHTA, Takehito KEMURIYAMA,  
Megumi TANDAI-HIRUMA, Yasunori SATO and Yasuhiro NISHIDA

*J. Natl. Def. Med. Coll.* (2014) **39** (3) : 190 – 196

**Abstract:** The mechanism of the teeth clenching - induced pressor response is unclear; therefore, the objective of this study was to elucidate the main afferent signaling pathway of the pressor response by investigating the effects of local anesthesia of the bilateral upper and lower molar regions or unilateral trigeminal ganglion block using urethane-anesthetized rats. Teeth clenching was evoked with electrical stimulation of the unilateral or bilateral masseter muscles. Bilateral local anesthesia of the molar regions reduced the pressor response to  $32.6 \pm 18.2\%$  of the non-local anesthetized state. Unilateral trigeminal ganglion block also reduced the pressor response to  $30.7 \pm 5.1\%$  of the non-blocked state. These results indicated that the main afferent signaling pathway of the teeth clenching-induced pressor response may be the trigeminal afferent nerves.

**Key words:** teeth clenching – induced pressor response    /    masseter muscle  
/    local anesthesia    /    trigeminal ganglion block

MINI-REVIEW

## Effects and biological limitations of +Gz acceleration on the autonomic functions-related circulation in rats

Yasuhiro Nishida<sup>1</sup> · Satoshi Maruyama<sup>2</sup> · Ichiro Shouji<sup>3</sup> · Takehito Kemuriyama<sup>1</sup> · Akimasa Tashiro<sup>1</sup> · Hiroyuki Ohta<sup>1</sup> · Kohsue Hagusawa<sup>1</sup> · Megumi Hiruma<sup>1</sup> · Hidetake Yokoe<sup>3</sup>

Received: 1 March 2016 / Accepted: 17 May 2016 / Published online: 4 June 2016  
© The Author(s) 2016. This article is published with open access at Springerlink.com

**Abstract** The effects of gravitational loading (G load) on humans have been studied ever since the early 20th century. After the dangers of G load in the vertical head-to-leg direction (+Gz load) became evident, many animal experiments were performed between 1920 and 1945 in an effort to identify the origins of high G-force-induced loss of consciousness (G-LOC), which led to development of the anti-G suit. The establishment of norms and training for G-LOC prevention resulted in a gradual decline in reports of animal experiments on G load, a decline that steepened with the establishment of anti-G techniques in humans, such as special breathing methods and skeletal muscle contraction, called an anti-G straining maneuver, which are voluntary physiological functions. Because the issue involves humans during flight, the effects on humans themselves are clearly of great importance, but ethical considerations largely preclude any research on the human body that probes to any depth the endogenous physiological states and functions. The decline in reports on animal experiments may therefore signify a general decline in research into the changes seen in the various involuntary, autonomic functions. The declining number of related reports on investigations of physiological autonomic

systems other than the circulatory system seems to bear this out. In this review, we therefore describe our findings on the effects of G load on the autonomic nervous system, cardiac function, cerebral blood flow, tissue oxygen level, and other physiological autonomic functions as measured in animal experiments, including denervation or pharmacological blocking, in an effort to present the limits and the mechanisms of G-load response extending physiologically. We demonstrate previously unrecognized risks due to G load, and also describe fundamental research aimed at countering these effects and development of a scientific training measure devised for actively enhancing +Gz tolerance in involuntary, autonomic system functions. The research described here is rough and incomplete, but it is offered as a beginning, in the hope that researchers may find it of reference and carry the effort toward completion. The advances described here include (1) a finding that cerebral arterial perfusion pressure decreases to nearly zero under +5.0 Gz loads, (2) indications that G load may cause myocardial microinjuries, (3) detection of differences between cerebral regions in tissue-oxygen level under +3.0 Gz load, (4) discovery that hypotension is deeper under decreasing +Gz loads than increasing +Gz loads with use of an anti-G system, due in part to suppression of baroreceptor reflex, and (5) revelations and efforts investigating new measures to reduce cerebral hypotension, namely the “teeth-clenching pressor response” and preconditioning with slight but repeated G loads.

✉ Yasuhiro Nishida  
ynishida@ndmc.ac.jp

<sup>1</sup> Department of Physiology, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan

<sup>2</sup> Pharmacochemical Section, Aeromedical Laboratory, Japan Air Self-Defense Force, 1-2-10 Sakae, Tachikawa, Tokyo 190-8585, Japan

<sup>3</sup> Department of Oral and Maxillofacial Surgery, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan

**Keywords** +Gz stress · Arterial pressure at the brain level · Renal sympathetic nerve activity · Cardiac output · Total peripheral resistance · Myocardial troponin · Brain-tissue oxygen level · Brain-tissue blood flow · Teeth-clenching pressor response · Preconditioning



## Introduction

In accelerating aircraft, pilots are exposed to the force of the acceleration (a “gravitational load”; G load) [1, 41]. In a fast turn, the G load is high. It is exerted strongly downward, from head to legs, especially during rapid turning, and is therefore called a “+Gz load”. It strongly affects the blood flow of the cephalic and aortal arteries toward the lower body, and thus tends to cause marked cephalic hypotension [5] and cerebral ischemia [51] that may result in severe damage to both the brain and the heart. It typically results in loss of consciousness (G-LOC) [4, 10, 52], and loss of visual function in the form of narrowed or darkened vision (gray-out or black-out) [4, 10, 52]. Pilot training typically includes various types of acceleration-load (G-load training) facilities, to increase their G-load resistance or G-tolerance and to prevent physiological damage [1, 7, 8, 41, 47]. In the USA, early forms of acceleration-load training were initiated around 1917 [7], and the modern version emerged in 1980 and was reportedly established as a training course in 1983 [50]. In Japan, acceleration-load training began around 1975 with the training equipment then available. That equipment was replaced with a modernized version in 1980, and that equipment has since been updated and replaced with modern systems [50]. Little detailed information is available on the systems and trends in countries other than the US and Japan. It is said that acceleration-load training in Japan during the past 37 years or so has been developed according to the experience of flight surgeons and by referencing US models. In any case, ensuring safety is the foremost priority in human training, with the highest possible degree of hazard avoidance and implementation performed only in accordance with clearly established programs.

Various acceleration-load (G-load) experiments have been performed throughout the world using animals, but the volume of scientifically researched and published data is smaller than might be expected. PubMed serves as an example. Only about two dozen reports of G-LOC animal experiments can be found in the literature and only half of those concern G-load animal experiments that included the use of anti-G equipment. No doubt, much related research has remained unpublished because it is military-related, but given the 70- or 80-year history of this field, the quantity of scientific data seems unfortunately small.

For over 10 years we have been performing G-load experiments on rats with and without anti-G equipment [31, 32], measured the general circulatory system indicators, cardiac output, sympathetic nerve activity, brain-tissue oxygen level, and other parameters, and applied them to scientific analysis [33, 34]. Well within the limits

prescribed by the applicable code of ethics for animal experiments, we have found it possible to observe the state and condition of the subjects without the need for attached safety gear, observe the effects of high G load on the circulatory system, and perform invasive investigations of endogenous functions such as partial physical destruction of physiological functions for identification of active endogenous reflex functions and elucidation of active mechanisms through pharmacological blocking. These results have led to some surprising insights into states and conditions induced by +Gz load, as described in this review.

The review also describes two modes of our basic research on methods of increasing safety under G load. One is focused on the action of teeth clenching, and the research showed for the first time that the pressor response thus instigated can moderate the level of hypotension induced by +Gz loads. In the other, we used brain-tissue oxygen level as an indicator of the effectiveness of preconditioning by repeated exposure to low G loads prior to regular G-training and -norms.

## Small-animal acceleration system

We designed and constructed a two-armed centrifuge for acceleration load and testing of small animals (Tomy Seiko, Tokyo, Japan; [16, 22, 31, 32]). Each arm is 115 cm in length. The laboratory animal is held fixed on a flat table attached to the end of one arm, to obtain gravitational (+Gz) load in the direction from head to tail. Any loading can be selected up to a maximum load capacity of +9.0 Gz (at 86 rpm). At a given load setting, the G onset or offset rates are not linear, but rather exponential, with 0.03 G/second (s) at 3.0 G, 0.04 G/s at 5.0 G, and 0.05 G/s at 7.0 G [22, 31]. The rotational speed of the flat plate is separately measured with a tachometer and recorded, and then converted to the G-value by calculation.

All instruments for measuring arterial pressure (AP) and other parameters are mounted on the centrifuge, with their signals transmitted from the centrifuge via a slip-ring, converted by an analog-to-digital converter, and then recorded to and saved on a computer [16, 22, 31].

The laboratory animals in these experiments were Sprague–Dawley rats (12–16 weeks old, body weight 360–480 g), all of which were under urethane anesthesia throughout the acceleration experiments. All animal experimental procedures were performed in accordance with the guidelines for proper conduct of animal experiments issued by the Science Council of Japan, following approval by the Committee of the Center for Laboratory Animal Science of the National Defense Medical College.

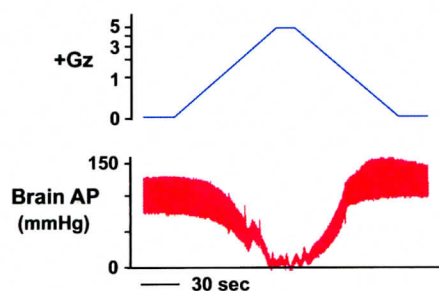


## Effects of G load without anti-G protection

### Effects on cephalic arterial pressure

A marked decline in cephalic AP under +G acceleration occurred in the anesthetized rats without anti-G protection. Under a load of +5.0 Gz, as shown in Fig. 1, cephalic AP was approximately zero, which is a decline of approximately 80 mmHg from before +Gz load to  $-4 \pm 10$  mmHg ( $n = 7$ ; SD). This means that at this near-zero cephalic AP, the blood flow to the brain is also near zero. Under a load of +1.5 Gz, the cephalic AP declined by approximately 20 to  $60 \pm 8$  mmHg ( $n = 7$ ; SD), and under a load of +3.0 Gz it declined by approximately 50 to  $24 \pm 16$  mmHg ( $n = 7$ ; SD) [17, 22, 25]. Under a load of +7.0 Gz, the high mortality rate precluded the collection of enough data to allow further statistical analysis.

The cephalic AP generally increased rapidly toward recovery as the Gz load gradually decreased from the 15-s peak +5.0 Gz load. The slope of this increase (change in AP over change in G) was steeper than that of the AP decline during the increase in +Gz load, and thus the AP was approximately 20 mmHg higher than that of the control (sham G load) when the Gz load reached zero. This may be attributable to increased sympathetic nerve activity and secretion of catecholamine and other humoral factors in response to decreasing BP and thus a substantially greater increase in peripheral vascular resistance (VR)



**Fig. 1** Representative original recordings of arterial pressure at the level of the brain (brain AP) of an intact rat exposed to +5.0 Gz acceleration without anti-G equipment. A Sprague–Dawley rat (350 g body weight) anesthetized with urethane ( $1.2 \text{ g kg}^{-1}$  body weight) was placed in a prone position on the flat table of the centrifuge (115-cm-long arm; see details in text). The front teeth of the rat were fastened to the centrifuge table using a string. An arterial catheter was connected to a pressure transducers (DX-360, Nihon Koden, Tokyo, Japan) placed at the level of the rat brain. A G value was determined using the length of the center-to-head position of the animal and revolution speed at the animal's head. The ordinate axis of loaded Gz is expressed as a logarithmic scale. When the rat was exposed to +5.0 Gz (head-to-tail longitudinal G) for 15 s at an on-set rate of 0.004 G/s, brain AP was decreased to around a zero level. The mean values of seven rats were shown in the text [22, 25, 31–34]

under increasing +Gz than decreasing +Gz, but the hormonal analysis has not yet be completed.

It is important to note that under anesthesia, there is little or no motion of the skeletal muscles other than those used for respiration. The experimental results thus suggest that if fighter pilots and anti-G trainees undergo unmitigated G load (sometimes as high as +9 to +11 Gz) without performing the routine techniques of an anti-G straining maneuver [1, 41] then at +5.0 Gz, their cephalic arterial perfusion pressure will decrease to nearly zero, with a significant effect on cerebral blood flow. Even at +3.0 Gz, the cephalic arterial perfusion pressure will decrease to one-third the normal pressure or lower, with a large effect on brain and other cephalic functions. The results also suggest that in the recovery from this deep hypotension, the heart load (oxygen consumption) is stronger during G relaxation than during G onset, in view of the sharp increase in BP during that period as compared with the decrease in BP during the onset.

Peterson et al. [43] have reported that the aortic pressure at the aortic root decreases to  $67 \pm 13$  mmHg in  $\alpha$ -chloralose anesthetized dogs when exposed to a +3.0 Gz load and then increases to 168 mmHg following the exposure. Finally, Burns et al. [2] have reported that in anesthetized minipigs the eyeball-level AP decreases to  $-17 \pm 15$  mmHg when exposed to +5.0 Gz load. Reports on measurement of AP in the head region of laboratory animals when exposed to +Gz load without the use of anti-G protective equipment are few in number, but none of the prior data conflict with the measured values and changes found in our experiments.

### Effects on sympathetic nerve activity

It is generally well known that when AP is ramped down (gradually decreased) by continuous bleeding, peripheral sympathetic nerve activity is gradually increased by baroreceptor reflex [9, 35]. The nerve activity stops increasing when the mean AP nears 50 mmHg, however, and then begins to decrease with any further decline in AP. The AP then begins a further rapid decline due to the decreased sympathetic nerve activity, accompanied by a roughly simultaneous complete loss of the peripheral sympathetic nerve activity [30]. The exact mechanism is not known in detail, but it is thought to be a “Resignation Response” mediated by endogenous opioids [30]. There have been no previous reports on measurements of sympathetic nerve activity under G load, but we suspected that because of the marked decrease in AP under +Gz load observed, it is plausible that a ‘Resignation Response’ is occurring in the peripheral sympathetic nervous system. We therefore managed to measure the peripheral sympathetic nerve activity under +Gz load by applying a method

for recording the renal sympathetic nerve activity (rSNA) [35, 36].

We found, contrary to our expectation, that under +3.0 Gz load the rSNA increased from approximately  $100\text{--}142 \pm 31\%$  as cephalic AP decreased from approximately  $90\text{--}23 \pm 11\text{ mmHg}$  (Fig. 2) [17, 22, 25]. Rather than decreasing to zero, the sympathetic nerve activity thus actually kept increasing. We did observe, however, that the sympathetic nerve activity had already passed its peak value and was beginning to decline somewhat at the time of deepest decline in AP (the time of its minimum value). This decline may have been caused by AP descent to a level below the baroreflex activation range for AP (generally about  $50\text{--}150\text{ mmHg}$ ) [9], but this explanation has not been confirmed. It is also possible that the above-mentioned ‘Resignation Response’ was just beginning. That said, we have not investigated the effects of opioids or receptor blockers, and the mechanism therefore remains uncertain.

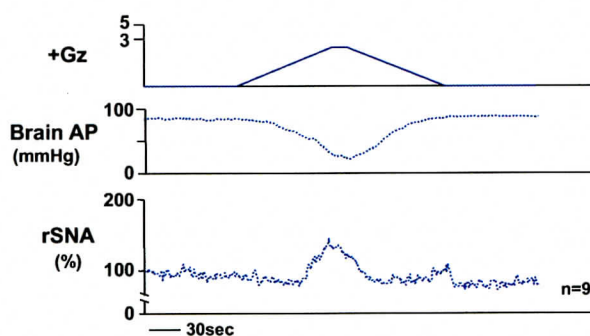
We also measured the rSNA under +5.0 Gz load, but found that the nerve activity initially increased but thereafter oscillated widely in some cases and continued to increase in others, and we were thus unable to obtain a consistent response. These results lead to our speculation that the response, including the brain ischemic response, is highly complex and differs between individuals depending

on their natures when the brain-level AP declined to near zero.

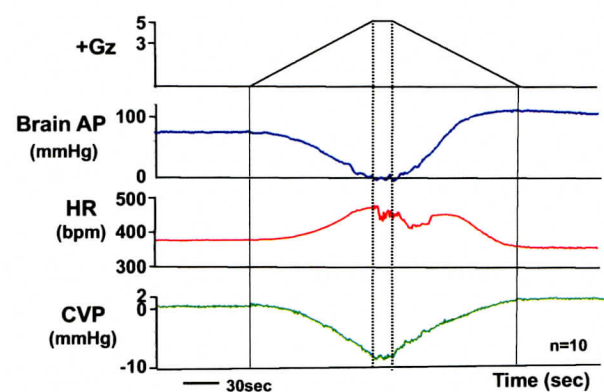
In summary, the results showed that peripheral sympathetic nerve activity increases under +Gz load and further that it is suppressed somewhat at strong +Gz loads of +3.0 Gz or more, the ‘Resignation Response’ leading to zero activity does not occur in the range tested. We have not been able to find any previous reports involving measurement of sympathetic nerve activity under +Gz load, and our research in this area is apparently the first that has been made public.

### Effects on the heart

Under +5.0 Gz load, the cephalic AP declined to near-zero, central venous pressure (CVP) declined to  $-10 \pm 1\text{ mmHg}$ , and heart rate increased to  $471 \pm 20\text{ bpm}$  ( $n = 10$ ; SD) (Fig. 3). The rate of change in the magnitude of CVP was about the same during increasing and decreasing +Gz load, and CVP was also about the same before and after the +Gz load ( $0.7 \pm 1.1$  and  $1.2 \pm 1.0$ , respectively;  $n = 13$ ; SD) [15, 16]. The pressure change was approximately symmetrical between the left and right of a vertical line through the center of the +5.0 Gz load (Fig. 3), which indicates that the rate of venous return varies in a roughly uniform, mechanical correspondence with the amount of +Gz load [15, 16].



**Fig. 2** The mean responses of renal sympathetic nerve activity (rSNA) and arterial pressure at the level of the brain (brain AP) to +3.0 Gz acceleration in nine rats without anti-G equipment. rSNA was recorded from the postganglionic renal nerve using stainless-steel electrodes (AS633, Cooner Wire, Chatsworth, CA, USA) fixed by silicone gel (SIL604S-A and -B, Kagawa-Kikai, Japan) in rats anesthetized with urethane as described in Fig. 1. The background noise was determined by enough hypertension to suppress RSNA with phenylephrine. Nerve activity was expressed in %, calculated as [RSNA activity  $\times$  100/resting RSNA level observed in the control period]. Refer details on nerve recordings in [22, 35, 36]. The loaded Gz is expressed as a logarithmic scale. Acceleration of +3.0 Gz without anti-G equipment decreased brain AP from  $90 \pm 3$  to  $23 \pm 11\text{ mmHg}$ , and increased rSNA from 100 to  $142 \pm 31\%$ . The peak time of increase in rSNA was somewhat earlier than that of deepest decline in brain AP, indicating that rSNA was beginning to decrease, but did not reach to a zero level, which indicates not a ‘Resignation Response’ phenomenon (see in text) [17, 22, 25, 30]



**Fig. 3** The mean responses of heart rate (HR), central venous pressure (CVP), and arterial pressure at the level of the brain (brain AP) to +5.0 Gz acceleration in ten rats without anti-G equipment. HR was determined using a cardiometer coupled triggered by the R wave of the electrocardiogram. A CVP catheter was inserted from the right jugular vein and the catheter tip was put in the superior vena cava. The pressure transducer was fixed at the level of the rat heart. The loaded G is expressed as a logarithmic scale. Acceleration of +5.0 Gz without anti-G equipment decreased CVP from around a zero to  $-10 \pm 1\text{ mmHg}$ , and increased HR from around  $380\text{--}471 \pm 20\text{ bpm}$ . CVP became a marked negative pressure, and arrhythmia occurred during the peak of +5.0 Gz and the G-decreasing phase [15, 16]

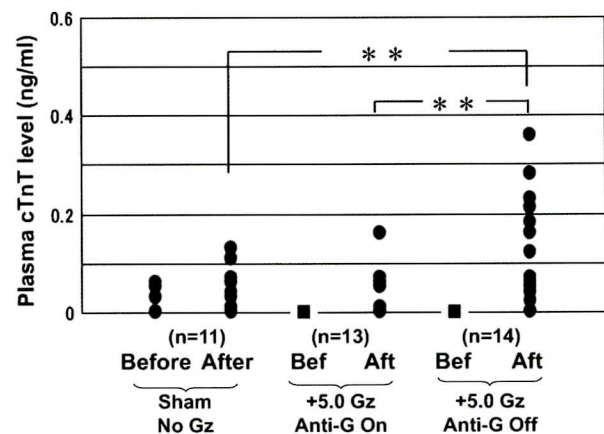


The heart rate, in contrast, showed the onset of arrhythmic bradycardia a few seconds after attainment of the +5.0 Gz load and continued for some time thereafter. The bradycardia further intensified when the period (15 s) of +5.0 Gz load ended and the *G* value began to decrease, but the heart rate then gradually became more regular, returning to normal and regaining the same level as the control (sham +Gz load) in correspondence with the continuing decline in +Gz load. The measured CVP values under the +5.0 Gz load indicate that a substantial decrease in cardiac output occurred and furthermore, that the diastolic AP (which drives coronary blood flow) also declined, causing a transient decline in myocardial blood flow. These effects, taken together with the observed increase in AP and consequent increase in myocardial oxygen demand on relaxation of the +Gz load, suggest that myocardial ischemia intensifies while under the +5.0 Gz load and again on its relaxation.

We investigated the plasma level of cardiac troponin T (cTnT), a specific tissue-indicator of the myocardium, as a marker of myocardial injuries. Figure 4 shows the difference in plasma cTnT level between before and after +5.0 Gz load. Even when compared with when the anti-G system was used, or when loading was not applied, there was a significant increase in plasma cTnT level. The result indicates that the +5.0 Gz load for 15 s without anti-G protection caused myocardial cell injuries. The findings were re-confirmed by optical and electron microscopy examinations [15, 16]. Morphological examinations showed hemorrhage, myofibril rupture, and/or mitochondrial disruption in the myocardium of all of eight rats examined [15, 16]. In summary, the results showed that +5.0 Gz load without an anti-G system has the potential to cause myocardial damage.

Burton et al. [3] applied Gz load to pigs and investigated its morphological effect on cardiac tissue. Following exposure of a +9.0 Gz load for 90 s, they observed gross and microscopic hemorrhaging in the left ventricular myocardium, papillary muscle, and right ventricular myocardium, but found no evidence of hemorrhage after exposure of +9.0 Gz for 45 s with use of a G-suit. The Gz load is substantially larger than the +5.0 Gz applied in our experiments, but the tendencies shown by their experiments with and without use of an anti-G system are in accord with our data.

To investigate the degree of this myocardial damage effect on cardiac function, we measured and compared the cardiac output concurrently with the increase in plasma cTnT level. To measure the cardiac output, we first implanted a blood flow probe on the ascending aorta of the rat under aseptic conditions and performed the measurement approximately 2 weeks later, when no observable surgical effects remained [15, 16]. Comparison of the measurement results before and after +5.0 Gz load showed no effect on cardiac output, either



**Fig. 4** Effects of +5.0 Gz acceleration on the plasma concentration of cardiac troponin T (cTnT) in rats with ( $n = 13$ ) and without ( $n = 14$ ) anti-G equipment (Ant-G). More than a week prior to the experiment, an arterial catheter was implanted aseptically and plugged out with heparinized saline and a metal plug. A blood sample was obtained before and 3 h later after the centrifuge (+5.0 Gz during 15 s) or sham centrifuge. The plasma cTnT level was determined by the electrochemiluminescence immunoassay method. Filled circle obtained values, filled square not detectable levels, Before and Bef before acceleration, After and Aft after acceleration.  $**p < 0.01$  by one-factor ANOVA with the Tukey–Kramer test. Significant difference was detected in mean plasma cTnT levels between the ‘After’-of-the-sham-centrifuge group and the ‘After’-of- +5.0 Gz-without Anti-G group ( $0.04 \pm 0.05$  vs.  $0.14 \pm 0.11$  ng/ml), and between the ‘After’-of-the- +5.0 Gz-with-Anti-G group and the ‘After’-of- +5.0 Gz-without-Anti-G group ( $0.03 \pm 0.05$  vs.  $0.14 \pm 0.11$  ng/ml). The data shows that +5.0 Gz acceleration increased plasma cTnT level when without anti-G equipment, but did not when with anti-G equipment, indicating that +5.0 Gz acceleration without anti-G equipment may leave some microinjuries in the myocardium [15, 16]

with or without use of an anti-G system. These results indicate that any myocardial damage occurred was insufficient to affect cardiac output, which is an indicator of cardiac function, and therefore slight in degree.

Our reported data were obtained after the second of twice enforcement of +5.0 Gz load for 15 s separated by an interval of 30 min. We have not yet investigated the post-damage course (e.g., recovery, restoration, and cicatrization) following the slight myocardial damage caused by the +5.0 Gz load, myocardial changes under repeated damage, or other effects along a longer-term temporal axis, which therefore remain to be studied. We have investigated +3.0 Gz load for a small number of cases ( $n = 4$ ), however, and found that it had no effect in terms of changes in plasma cTnT level or morphology.

### Effects on the brain

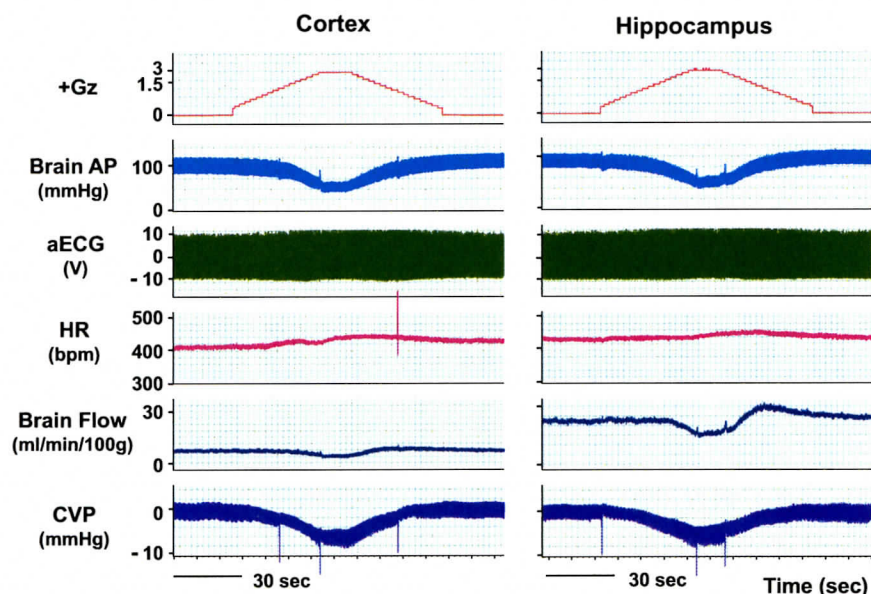
We performed what are to our knowledge the first measurements of local brain-tissue blood flow (Fig. 5) and

oxygen level (Fig. 6) of animals under +Gz load using a laser tissue-blood flowmeter (Omega Flo-C1, Omegawave, Tokyo) [21, 28] and a tissue oxygen partial pressure monitor (multichannel oxygen monitor, Eiko Kagaku, Tokyo) [19, 27], respectively. For these measurements, respectively, a glass-fiber flow probe and a polarography oxygen electrode were emplaced in accordance with a rat brain map [42] using a brain stereotaxis apparatus and attached to the cranial bone. The cerebral cortex and hippocampus emplacements were confirmed morphologically for all cases, by post-trial brain excision and slicing followed by Nissl staining (Fig. 7). Separate individuals were used for cortical and hippocampal blood-flow measurements (Fig. 5), with a single-channel instrument. Cortical and hippocampal oxygen partial pressures (Fig. 6) were measured simultaneously on the same individual, thanks to a multichannel instrument. Blood-flow and oxygen partial pressure measurements were performed on separate individuals, since the measurement point was the same for both and it was therefore not possible to insert both probes simultaneously.

Under a +3.0 Gz load, the cortical blood flow decreased from  $5.7 \pm 1.9$  to  $4.3 \pm 2.3$  ml/min/100 g and thus to  $76 \pm 9$  % ( $n = 6$ ; SE), and the cortical oxygen partial

pressure decreased from  $61 \pm 32$  to  $44 \pm 28$  mmHg and thus to  $71 \pm 2$  % ( $n = 7$ ; SE). The recovery in cortical tissue oxygen level lagged behind that of blood flow by an average of 69 s. Meanwhile, the hippocampal blood flow decreased from  $19.6 \pm 8.1$  to  $13.5 \pm 6.6$  ml/min/100 g and thus to  $69 \pm 6$  % ( $n = 6$ ; SE), and the oxygen partial pressure decreased from  $63 \pm 34$  to  $33 \pm 27$  mmHg and thus to  $52 \pm 6$  % ( $n = 7$ ; SE). The recovery in hippocampal tissue oxygen level lagged behind that of blood flow by approximately 42 s. As shown in Fig. 8, the declines in both blood flow and oxygen level were significantly larger in the hippocampus than in the cortex [19, 21, 27, 28], and the times to recovery after the +3.0 Gz load were significantly longer for tissue oxygen level than for blood flow, in both the cortex and the hippocampus [20].

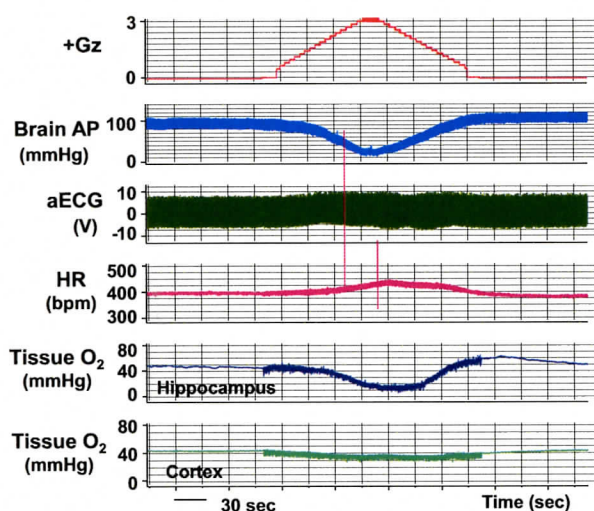
Under a +5.0 Gz load, though the number of cases in the experiment was small ( $n = 4$ ), the cortical tissue blood flow and oxygen level decreased to approximately 60.0 and 26.5 %, respectively, and the hippocampal tissue blood flow and oxygen level decreased to approximately 36.6 and 23.5 %, respectively. Again, the effect on tissue blood flow was larger in the hippocampus than in the cortex with +5.0 Gz load. Comparison between the hippocampal and



**Fig. 5** Representative original recordings of brain-tissue blood flow (brain flow) of the cortex or the hippocampus of each rat exposed to +3.0 Gz acceleration for 15 s without anti-G equipment. Brain Flow was measured by the laser flowmeter (One Channel of Omega FLO-C1, Omega-Wave, Tokyo) with a glass-fiber flow probe inserted directly to the brain tissue of the cortex or the hippocampus. The loaded G is expressed as a logarithmic scale. Brain AP arterial pressure at a level of the brain, aECG amplified electrocardiogram, HR heart rate, CVP central venous pressure. Acceleration of +3.0 Gz

for 15 s without anti-G equipment decreased cortex-tissue blood flow from  $5.7 \pm 1.9$  to  $4.3 \pm 2.3$  ml/min/100 g of tissue, that is  $76 \pm 9$  % ( $n = 6$ ; SE), and hippocampus-tissue blood flow from  $19.6 \pm 8.1$  to  $13.5 \pm 6.6$  ml/min/100 g of tissue, that is  $69 \pm 6$  % ( $n = 7$ ; SE). Although there was no significant difference in %-decrease in blood flow between the two brain tissues, the %-decreases in flow in ml/min/100 g of tissue of the hippocampus ( $6.1 \pm 2.4$ ) was significantly larger than that of the cortex ( $1.4 \pm 0.7$ ) [21, 28]





**Fig. 6** Representative original recordings of brain-tissue oxygen concentration (tissue  $O_2$ ) of the cortex and the hippocampus of a rat exposed to +3.0 Gz acceleration for 15 s without anti-G equipment. Brain-tissue oxygen concentration was measured by the oxygen monitor (multi-channel oxygen monitor, Eikou-Kagaku, Tokyo) with polarographic oxygen electrodes inserted directly to the cortex and the hippocampus. Abbreviations were same as Fig. 5. Acceleration of +3.0 Gz for 15 s without anti-G equipment decreased cortical  $O_2$  concentration from  $61 \pm 32$  to  $44 \pm 28$  mmHg, that is  $71 \pm 2$  %, and hippocampal  $O_2$  concentration from  $63 \pm 34$  to  $33 \pm 27$  mmHg, that is  $52 \pm 6$  %. The %-decrease in hippocampal  $O_2$  concentration was significantly larger than that in cortical  $O_2$  concentration. In addition to the decreases, the recovery time to the control level was significantly longer in the hippocampus than in the cortex. The effects of +3.0 Gz acceleration without anti-G equipment on  $O_2$  concentration were larger in the hippocampus than in the cortex [19, 21, 27]

cortical tissue oxygen levels was difficult because both approached the lower limits.

In our research, we have not yet progressed to analysis of the relation of a decline in cerebral blood flow and oxygen level to functional impairment. We have found,

however, the degree of their decline differs with the brain region (with the effect stronger in the hippocampus), and that tissue oxygen partial pressure does not recover immediately after blood flow recovery but rather generally lags behind by approximately 40 s. This lag may explain one of the causes for relative incapacitation [1] following the period of G-LOC.

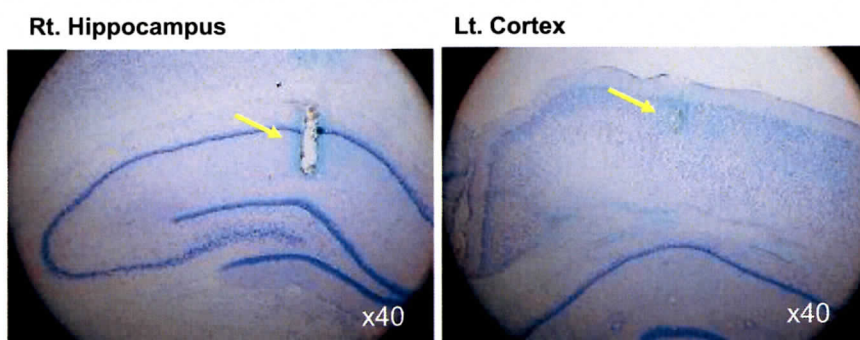
We rather unexpectedly found no prior reports on animal experiments for the degree of +Gz load effects on cerebral blood flow without the use of anti-G systems. Laughlin et al. [11] found, using an anti-G system, no significant declines or changes in intra-cerebral distribution under Gz loads of +3.0 to +7.0 when using the microspheres method. We have not been able to find any prior reports on cerebral tissue oxygen level (partial pressure) distribution.

### Summary of effects without anti-G protection

The animal experiments described here showed that the physiological effects of +Gz load are far larger than generally inferred from records of human symptoms [1, 41] and other manifestations. The innate anti-G protective functions of bipedal humans presumably differ from those of quadrupeds, but the effects without any protective safety system or anti-G techniques were nonetheless surprisingly large, and we believe that true safety operations should take these effects into consideration.

### Effects of using an anti-G system

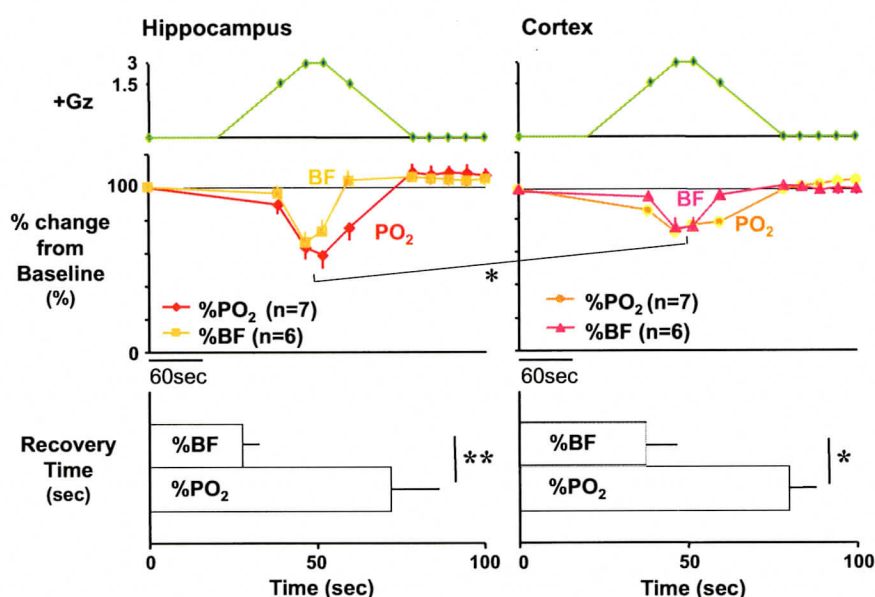
The G-valve of the anti-G system was placed on the same flat table as the laboratory animal and secured at same level as the animal's head with its axis lying along the Gz-axis (Fig. 9). The G-valve activated at approximately +2.0 G



**Fig. 7** Nissl stainings of rat brain slices. *Right* the right hippocampus of a rat, *Left* the left cortex of the same rat as right. Arrows show the traces of the flow probe position. After the flow or tissue- $O_2$  experiments, all rat brains were taken, fixed and stained to confirm the

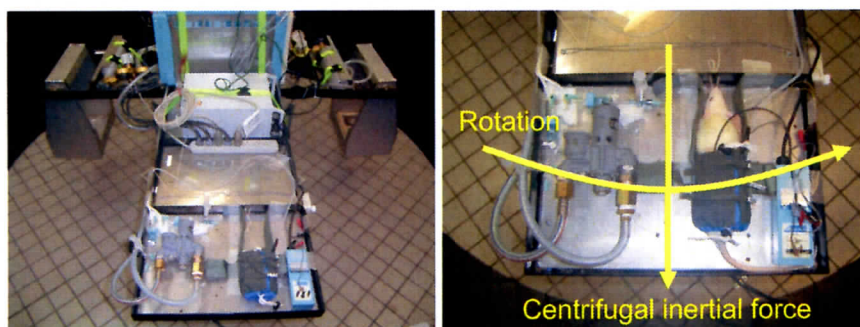
inserted position of the tissue-flow probe. The position of the tissue- $O_2$  probes was also confirmed by the same way after the experiments [19–21, 27, 28]





**Fig. 8** Comparisons of +3.0 Gz-induced %changes in blood flow and  $O_2$  concentration between the hippocampus and the cortex. The %changes were calculated as [measured value  $\times$  100/value in a baseline control period]. The recovery time is the duration (s) from the end of +3.0 Gz exposure to a returning point to the control level before the acceleration. Data are expressed as mean  $\pm$  SE. % BF the %changes in tissue-blood flow in six rats, %  $PO_2$  the %changes in

tissue-oxygen concentration in seven rats. \* $p < 0.05$ , and \*\* $p < 0.01$  by one-factor ANOVA with the Tukey–Kramer test. Acceleration of +3.0 Gz caused significantly deeper hypoperfusion and hypoxia in the hippocampus than in the cortex, and significantly longer recovery time in  $PO_2$  than that in blood flow at both the hippocampus and the cortex [19–21, 27, 28]



**Fig. 9** A pneumatic anti-G system developed for rats, consisted of a cylinder of compressed air, a G valve (Shimadzu Co. Ltd., Kyoto, Japan), and a rat anti-G suit (Fujikura, Parachute Co Ltd., Tokyo, Japan). The anti-G suit covered part of the rat abdomen and hind

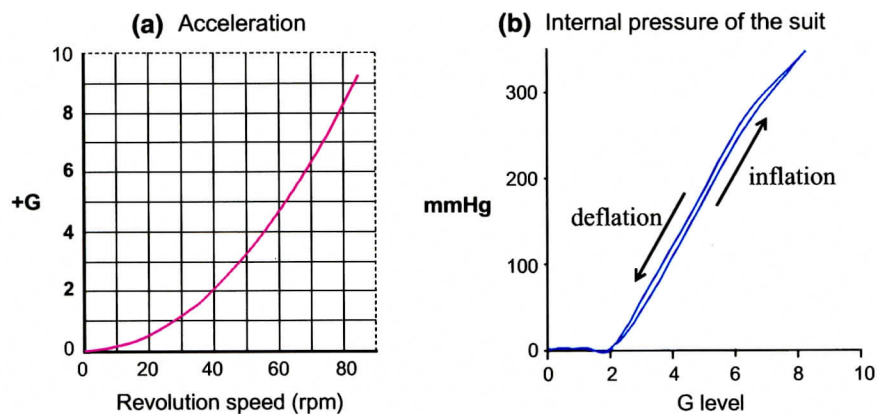
limbs, but not the tail. A G valve was placed on the table along the G axis and the level of the running weight of the G valve was positioned at a level of the rat head. The G valve runs automatically during Gz exposure and regulates the internal pressure of the anti-G suit [22]

and automatically regulated the internal pressure in the anti-G suit in correspondence with the G load [22, 31]. The anti-G suit was designed for small animals [22, 31, 32]. It enveloped the lower body and legs, and exerted pressure circumferentially on them by increasing the pressure in a balloon installed in the suit, thus inhibiting movement of blood toward the lower body and legs. Its internal pressure was 45 mmHg at +3.0 G, 150 mmHg at +5.0 G, and 255 mmHg at +7.0 G (Fig. 10).

### Effects on cephalic arterial pressure

The effect of the anti-G system on cephalic AP was quite dramatic, and even with +5.0 Gz load it returned to approximately the value found before load application. Peterson et al. [43] and Burns [2] have reported a similar effect.

In the course of our investigation, however, we were able to observe a previously unreported “double-dip” in

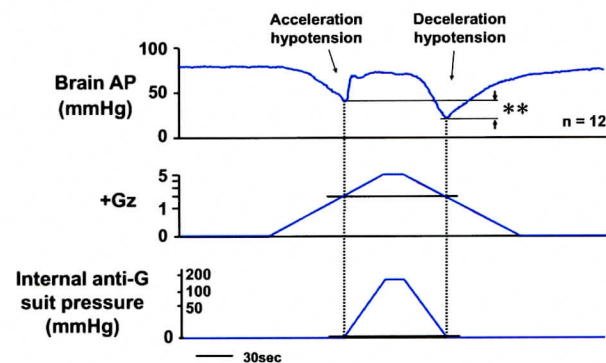


**Fig. 10** **a** A relationship between acceleration (+G) vs. revolution speed of the centrifuge (rpm). G values were determined using the length (115 cm) of the center-to-head position of the animal and revolution speed at the animal's head. The onset or offset rate of Gz load was not linear, but rather curved exponentially with  $0.03 \text{ G s}^{-1}$  at +3 Gz,  $0.04 \text{ G s}^{-1}$  at +5 Gz and  $0.05 \text{ G s}^{-1}$  at +7 Gz [22, 31]. **b** A relationship between internal pressure of an anti-G suit (suit

pressure) vs. acceleration (+G). An internal pressure of an anti-G suit was measured when the centrifuge was run up to 80 rpm. The increase of internal anti-G suit pressure started at +2.0 Gz, and was controlled depending on the Gz level: approximately 45 mmHg at +3.0 Gz, 150 mmHg at +5.0 Gz, and 255 mmHg at +7.0 Gz [22, 31]

hypotension. This observation was enabled by the slow onset and offset rates (both  $0.04 \text{ G/s}$ ) used in our small-animal acceleration loading system. The first dip occurred until the G-valve was activated, and the second occurred after G-valve deactivation (Fig. 11) [17, 18, 22, 25]. We named them acceleration hypotension and deceleration hypotension, respectively [22]. Invariably, the deceleration hypotension was found to be significantly deeper than the acceleration hypotension. We were unable to find any reports on investigation or comparison of acceleration and deceleration hypotension, and more specifically on hypotension occurrence during the period of load increase from +1.0 Gz to anti-G system activation at +2.0 Gz in G-load exposure and during the period of load decrease from anti-G suit system deactivation at +2.0 Gz as the load was returned to the control value of +1.0 Gz.

To investigate this “double-dip” phenomenon, we first compared the two periods of hypotension in terms of anti-G suit internal pressure and magnitude of the Gz-load intensity. The results are shown in Fig. 11, together with AP at a level of the brain (cephalic AP). The pressure in the anti-G suit was near 0 mmHg at both time points (Fig. 10) and thus showed no difference between the two periods. The Gz load was also approximately the same at both time points, at approximately +2.2 Gz during acceleration and +2.0 Gz during deceleration (Fig. 11) [22]. The physically applied forces were thus essentially the same, but cephalic AP was significantly deeper under decreasing G load than increasing G load. We concluded that this difference in hypotension was caused by endogenous physiological responses, rather than by exogenous forces.



**Fig. 11** Mean responses of arterial pressure at the level of the brain (brain AP) of 12 rats with anti-G equipment exposed to +5.0 Gz acceleration for 15 s. +Gz and internal suit pressure were expressed by logarithmic scales.  $**p < 0.01$  by one-factor ANOVA with the Tukey–Kramer test. An anti-G suit could dramatically block the +5.0-Gz-induced severe hypotension and kept the brain arterial pressure to the control level. Still, however, decreases in brain AP were observed twice; first during the increasing +Gz phase but before activation of an anti-G suit (the acceleration hypotension), and later during the decreasing +Gz phase after deactivation of an anti-G suit (the deceleration hypotension). The deceleration hypotension was significantly greater than the acceleration hypotension, although the loaded Gz and internal suit pressure during the deceleration hypotension phase were almost equal to those during the acceleration hypotension phase [17, 18, 22]. A slower onset or offset rate of acceleration in our centrifuge may permit to observe both of hypotensions, however the obtained data shows that the G-decreasing deceleration phase has more damage-full potentials built in than the G-increasing acceleration phase

The difference between the acceleration and deceleration hypotension was enhanced with increasing peak Gz loads, between +3.0 and +7.0 [42], but was not affected by



the duration of the peak load [22]. We therefore concluded that the severity of hypotension under decreasing +G varies in proportion with the magnitude of the G-load intensity but not its duration.

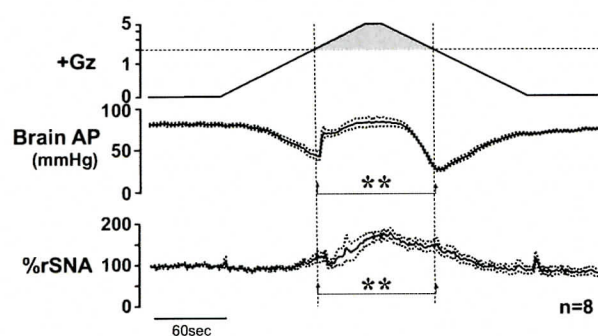
### Effects on sympathetic nerve activity

To investigate the causes for the difference between acceleration and deceleration hypotension, we next focused on rSNA at both times. We found that rSNA increased at both acceleration and deceleration hypotension, but the increase in rSNA was greater at deceleration hypotension than at acceleration hypotension (Fig. 12).

We have not analyzed the mechanism of the increase in nerve activity, but it may well include such factors as baroreceptor reflex, central nervous system ischemic response, and stress–defense response. Furthermore, a complex combination of overlapping responses appears to be suggested, since the peak hypotension under decreasing +G load occurs at a time when the rSNA has peaked and is beginning to decline somewhat.

Although we have not analyzed the rSNA mechanism, the occurrence of higher activity during deceleration hypertension than acceleration hypotension led us to conclude that rSNA was probably not the cause of the severe hypertension under decreasing +G load (deceleration hypotension) [17, 18, 22, 25].

We surveyed prior reports but could not find any that involved a recording of sympathetic nerve activity under G load, with or without an anti-G system.



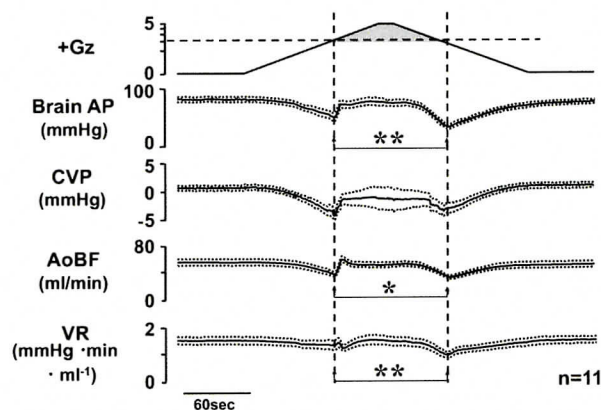
**Fig. 12** Mean responses with superimposed SE of renal sympathetic nerve activity (rSNA) with arterial pressure at the level of the brain (brain AP) of eight rats with anti-G equipment exposed to +5.0 Gz acceleration for 15 s. rSNA was expressed by % of resting activity during the control period.  $**p < 0.01$  by one-factor ANOVA with the Tukey–Kramer test. rSNA increased at both of the acceleration and deceleration hypotensions. Increase in rSNA at the deceleration hypotension was significantly greater than that at the acceleration hypotension [17, 18, 22]. The data does not support the opinion that the deceleration hypotension may be caused by smaller responses in sympathetic activity

### Effects on peripheral vascular resistance

We implanted a flow probe in the ascending aorta by aseptic surgery, allowed 2 weeks or more for recovery, and then measured the ascending aortic blood flow (AoBF), which is nearly equal to cardiac output though in accurate [AoBF = cardiac output minus coronary blood flow], and compared AoBFs during acceleration and deceleration hypotension. We found that the decline in AoBF was  $\Delta 22 \pm 2$  ml/min during deceleration hypotension, which is significantly larger than the decline of  $\Delta 18 \pm 2$  ml/min during acceleration hypotension (Fig. 13) [17, 22, 25].

We also calculated the total peripheral vascular resistance (VR) by the formula [(brain-level AP minus central AP)/AoBF], and compared the values during acceleration and deceleration hypertension. The VR decline was  $\Delta 0.11 \pm 0.10$  mmHg/min ml at acceleration hypotension and  $\Delta 0.45 \pm 0.07$  at deceleration hypotension, which clearly indicates that the deceleration hypotension was caused by a decline in peripheral VR and thus by peripheral blood vessel dilation during deceleration hypotension (Fig. 13) [17, 22, 25].

A nitric oxidase synthase inhibitor, *N*-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), and an indomethacin, prostaglandin



**Fig. 13** Mean responses with superimposed SE of aortic blood flow (AoBF) and total vascular resistance (VR) with arterial pressure at the level of the brain (brain AP) and central venous pressure (CVP) of 11 rats with anti-G equipment exposed to +5.0 Gz acceleration for 15 s. AoBF was measured by a transonic flow probe (2.5 mm diameter, Transonic Systems, Ithaca, NY) which was aseptically implanted on the ascending aorta 2 weeks before the experiments. VR was calculated as [(brain AP–CVP)/AoBF]. The gray area of +Gz shows the moments of anti-G suit functioning.  $*p < 0.05$  and  $**p < 0.01$  by one-factor ANOVA with the Tukey–Kramer test. AoBF decreased significantly greater at the deceleration hypotension than at the acceleration hypotension [17, 18, 22]. The data indicates that one of causes for greater deceleration hypotension is due to lower peripheral resistance produced by release from squeezing pressure of an anti-G suit (based on our experimental data)

synthetase inhibitor, both of which inhibit production of vasodilator factors, could not abolish the difference between acceleration and deceleration hypotension [46]. Based on the data, the dilation of the peripheral blood vessels was not caused by these local regulators, but may be related to release from the compressive effect of the anti-G suit pressure or to tissue ischemia under its compressive effect [46].

### Arterial baroreceptor reflex

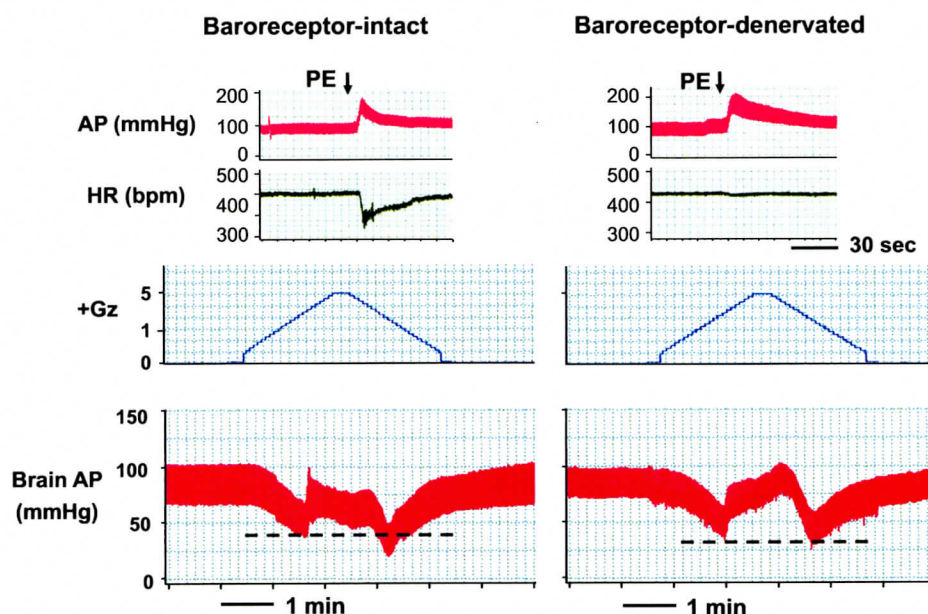
To investigate how and how much arterial baroreceptor reflex modulates the acceleration or deceleration hypotension, we performed arterial baroreceptor denervation (sinoaortic denervation, SAD) [6, 23, 24]. In baroreflex-intact rats, HR is lowered when AP is elevated by a pressor drug, but following SAD, HR did not decline despite AP elevation (Fig. 14, upper panels). The SAD rats were wearing anti-G suits and exposed to a +Gz load. The lower panels in Fig. 15 show a typical example of the baro-intact or baro-denervated rat, when exposed to a load of +5.0 Gz for 15 s. As shown, before SAD ( $n = 9$ ; SD) the cephalic AP at acceleration and deceleration hypotension declined by  $\Delta - 28.3 \pm 4.0$  and  $\Delta - 46.4 \pm 3.3$  mmHg,

respectively, and after SAD ( $n = 9$ ; SD) the declines were  $\Delta - 44.6 \pm 3.7$  and  $\Delta - 47.9 \pm 2.7$  mmHg, respectively [23, 24]. With SAD, the acceleration hypotension thus deepened to approximately the same level as the deceleration hypotension. The level of deceleration hypotension, in contrast, was not affected by SAD.

Rather surprisingly, SAD was found to exacerbate acceleration hypotension but had no effect on the level of deceleration hypotension [24]. This result indicates that the arterial baroreceptor reflex function is active under increasing +G load but suppressed under decreasing +G load. Although elucidation of the mechanism must await further study, the results demonstrate that baroreceptor reflex may be suppressed once the subjects are exposed to even instantaneous +Gz load.

### Summary of effects with anti-G system

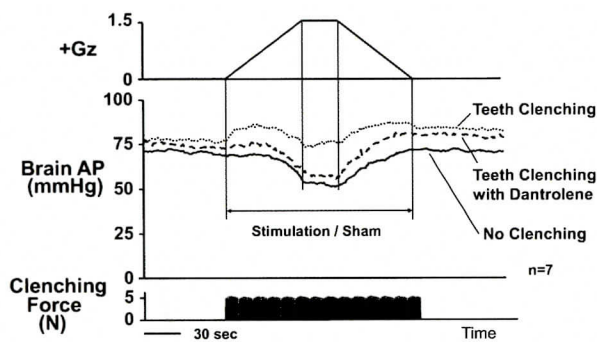
These experiments showed that even in small animals, an anti-G system can be highly effective for maintenance of cephalic AP. They also showed, however, that hypotension could occur before G-valve activation and after G-valve deactivation, and also that the hypotension after its



**Fig. 14** Effects of sinoaortic denervation on Gz-induced hypotensions. Typical responses in arterial pressure at the level of the brain (brain AP) of baroreceptor-intact and -denervated rats with anti-G equipment exposed to +5.0 Gz acceleration for 15 s. Sinoaortic denervation (SAD) was performed by cutting bilateral aortic nerves and carotid sinus nerves with application of 10 % phenol [6, 24]. AP arterial pressure at the level of the rat heart, HR heart rate. Upper panels to confirm denervation, no reflexive HR response was observed even when hypertension was induced by intravenous bolus phenylephrine (PE) in SAD rats (Left baroreceptor-intact, Right

baroreceptor-denervated). Lower panels acceleration of +5.0 Gz induced greater deceleration hypotension than acceleration hypotension in a baro-intact rat with anti-G equipment, whereas it produced significantly deeper acceleration hypotension to the similar level of the deceleration hypotension in an SAD rat with anti-G equipment. The data from nine rats resulted in a significant difference in acceleration hypotension but not in deceleration hypotension between intact and SAD rats, indicating that greater deceleration hypotension may be caused by failure of baroreflex function in the deceleration phase [24]





**Fig. 15** Effects of teeth clenching on Gz-induced hypotension. Mean responses of arterial pressure at the level (brain AP) of seven rats without anti-G equipment exposed to +1.5 Gz acceleration for 30 s. Teeth clenching was induced by electrical stimulation of bilateral masseter muscles of rats (20 tetanic contractions for 30 s, at a rate of 1 per s at 50 Hz for 0.4 s with pulse duration 1 ms). To measure clenching force, a 0.65-mm-thick pressure sensor (PSM-type, Kyowa Electric Instruments, Tokyo, Japan) was placed on the right lower molar teeth of rats. The electrical stimulation produced a teeth clenching force of about 5 N. Acceleration of +1.5 Gz for 30 s decreased brain AP by  $18.3 \pm 2.0$  mmHg in seven rats without anti-G equipment when without electrical stimulation of masseter muscles (no clenching), whereas it did not significantly decrease brain AP ( $1.9 \pm 2.0$  mmHg) in the same seven rats without anti-G equipment when stimulated of masseter muscles (teeth clenching), indicating that the teeth clenching can protect the animal from the 1.5 Gz-induced hypotension. Then, dantrolene, a postsynaptic skeletal muscle relaxant, was administered to reduce masseter muscle contraction even when electrically stimulated in the same seven rats. Dantrolene markedly reduced clenching force and abolished the teeth clenching-evoked protection from 1.5-Gz-induced hypotension (decrease by  $18.9 \pm 2.6$  mmHg for the teeth clenching with Dantrolene group) [37, 48, 49]

deactivation, deceleration hypotension, is more severe. The levels of these types of hypotension are of course expected to depend on the +Gz onset and offset rates. To clarify how dependent on the onset or offset rate, further studies will be required.

With higher +Gz onset and offset rates, the hypotension would be expected to be smaller in degree, but even in this case, the possibility nevertheless remains that the effect on cephalic AP will be larger following G-valve deactivation than before its activation. At present, we have identified two causes of hypotension exacerbation under decreasing +Gz load, deceleration hypotension. One is the lowering of peripheral VR due to the release of the G-suit pressure. We did not succeed with analyses on responsible local vasodilators for peripheral vasodilatation, but we observed that hypotension similar to deceleration hypotension occurs under decreasing G-suit internal pressure when the pressure is increased and then decreased without G loading. The other is suppression of baroreceptor reflex during deceleration hypotension. In our opinion, the suppression of baroreflex may in effect be regarded as the insufficient

function of a naturally endowed mechanism of defense against hypotension. In short, mechanisms are masked but exist that can exacerbate hypotension following G-valve deactivation.

We were unable to find any prior reports on animal experiments involving Gz load with an anti-G suit that included the above discussions. Several studies on other aspects have, however, been reported, particularly in regard to effects on the circulatory system. Laughlin et al. [13] showed that the left atrial pressure increases and that the renal blood flow and particularly the renomedullary blood flow decrease dramatically with +3.0, +5.0, and +7.0 Gz load in minipigs wearing anti-G suits. Whinnery et al. [53] reported that in minipigs under similar conditions, the right ventricular pressure increases. Laughlin et al. [12] reported that the left ventricular pressure increases in their description of the use of the microspheres method in baboons to investigate blood flow to various organs under a load of +5.0 Gz. They found that when the baboons wore an anti-G suit, the blood flow to the brain and the heart remained more or less unchanged but the blood flow to the kidney, spleen, and pancreas decreased dramatically. In a separate report [14], Laughlin et al. describe their investigation of the small effect on coronary blood flow, in which they closely examined that flow and verified that it increases somewhat at +5.0 Gz. These reports indicate that use of an anti-G system maintains cephalic AP and cerebral blood flow, that coronary circulation corresponds well despite increases in intracardiac pressure and cardiac work, and further that abdominal organs are subjected to ischemia.

Taken together, our experiments showed that there is a danger of cerebral hypoperfusion just before and just after the anti-G system is active, with the danger being strongest after its deactivation, when the hypoperfusion tends to be deepened by dilation of the peripheral blood vessels, suppression of baroreceptor reflex, and other factors.

### Trials to protect the brain autonomically

Our experiments showed that the effects of +Gz load on the brain without use of an anti-G system are greater than previously recognized, and that even the use of anti-G equipment involves potential of a particular danger of deepened hypotension during relaxation of the anti-G suit compression. These facts led us to the question of whether there exists some means of protecting the brain from these effects, whether with or without an anti-G system. In the effort of finding and developing methods of preserving safety under +Gz load, we found two means possibly to protect the brain from hypoperfusion.



### Teeth-clenching pressor response

We investigated the effects of induced teeth clenching on AP in rats by electrically stimulating their masseters. We placed small electrodes on the surface of the left and the right masseter muscles and applied a square-wave 7–8 V electric potential of 0.4-s duration once a second for 30 s. We measured the teeth-clenching force throughout that period with small pressure sensors inserted between the upper and lower molars, which showed a constant force of approximately 5 N. During the same period, AP increased by  $\Delta 12 \pm 2$  mmHg and HR concurrently increased by  $\Delta 13 \pm 4$  bpm [14]. Similar electrical stimulation of the femoral muscles induced no change in AP or HR. Following systemic administration of a postsynaptic skeletal muscle relaxant, dantrolene, the masseter electrical stimulation induced no appreciable increase in AP or HR [48]. These findings indicated that the pressor response under masseter contraction was specifically induced by the teeth-clenching action, and we accordingly named it the “teeth-clenching pressor response” [48]. The receptors and reflex mechanisms for the pressor response are now investigating and be on the way [49].

When we applied +1.5 Gz load to the rats together while inducing the teeth-clenching action by the electrical stimulation of their masseters and thus inducing the teeth-clenching action, we found that Gz-induced cephalic hypotension was negated in proportion to the AP increase induced by the teeth clenching (Fig. 15). The results showed that the teeth-clenching action led to an anti-G effect equivalent to a reduction in Gz load of approximately 1.5 Gz [48].

We are currently pursuing investigations into the optimum frequency of teeth clenching for the most effective pressor response, and the physiological mechanism (e.g., the stimulus signals, afferent nerves, and efferent output) [44]. Studies are also desirable in relation to a mouthpiece and other related developments for practical utilization of the teeth-clenching pressor response.

### Preconditioning effects

We tried to investigate the possibility of obtaining a heightened endogenous autonomic G-tolerance, prior to regular normal acceleration norms and training, through multiple repeated exposures to Gz load that has minimal or weak effect on the brain but may induce some physiological adaptable responses [29, 45].

Exposure to +1.5 Gz load resulted in a decline of  $0.2 \pm 0.2$  mmHg in CVP and  $18 \pm 2$  mmHg in cephalic AP of anesthetized rats ( $n = 15$ ; SD). These small declines due to this comparatively light Gz load induce virtually no degradation in cerebral function. We performed the

+1.5 Gz load every second day for 15 min three times per day on 5 days, and thus a total of 15 light +Gz loads. The rats in the group that had undergone this conditioning were subsequently exposed to a load of +3.0 Gz for 30 s, and we measured the resulting changes in brain AP, cerebral cortex tissue oxygen level (cortical  $PO_2$ ), and hippocampus tissue oxygen level (hippocampal  $PO_2$ ) and compared the changes in these three parameters with those of the rats in the non-conditioned group.

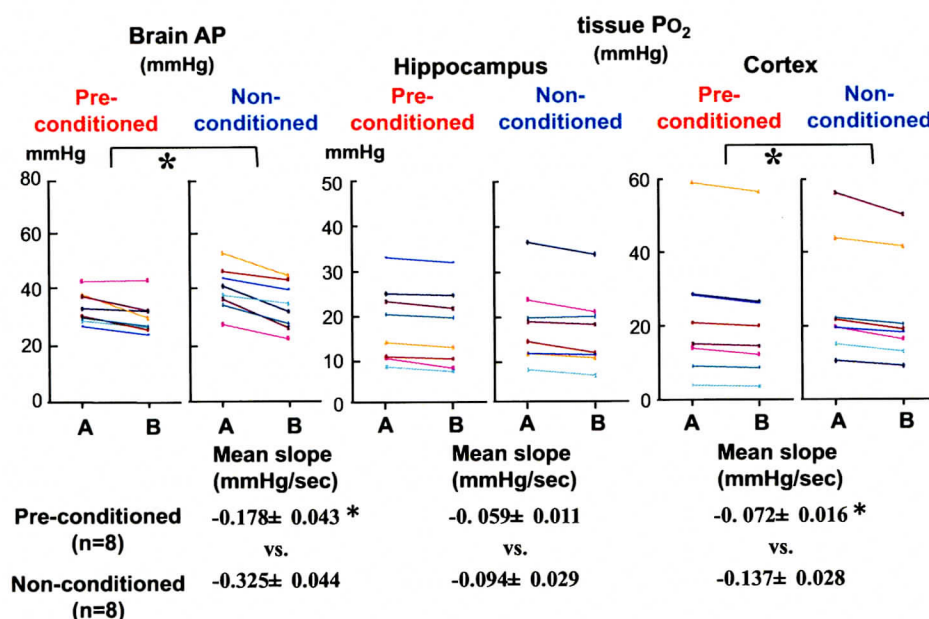
No significant difference was found between the conditioned ( $n = 8$ ) and non-conditioned ( $n = 8$ ) groups in any of the three parameters just after attainment of the +3.0 Gz load, but two of the three were found to have declined significantly further in the non-conditioned group than in the conditioned group 30 s after the attainment of +3.0 Gz, and thus during the 30 s at +3.0 Gz (Fig. 16). Significant differences between the two groups during the +Gz load were found in both cortical and hippocampal  $PO_2$  but not in cortical  $PO_2$ . Preconditioning (repeated lighter G stress) before the heavy G stress was thus found to eliminate the responses of cerebral AP and cortical oxygen decline under 15 s at a load of +3.0 Gz that were observed in the non-conditioned group [26, 29, 34, 37, 45].

In cerebrovascular endothelial cells, NO acts as a local circulatory regulator [13] to increase the tissue-cGMP concentration. We compared the cerebral-tissue cGMP concentrations in the conditioned and non-conditioned groups, as a possible indicator of intracerebral molecular transformation induced by the conditioning, but unfortunately found no significant difference between them [26, 34, 37].

In our research, although we were thus unable to show that the effects of conditioning reflect intracerebral molecular changes, we were able to show its functional effects, in the form of prevention of cephalic AP and hippocampal oxygen level decline during 30 s under a +3.0 Gz load. In this way, we showed that repeated exposure to light +Gz load that does not result in degraded brain function can induce a tolerance for +3.0 Gz load. Of course, the effects were slight, but the results indicate that it may be possible to obtain greater effects through refinement of the preconditioning method.

### Conclusions

The results of these animal experiments on +Gz load suggest the possibility that the effects of +Gz load on the brain and the heart may be far larger than previously inferred from investigations with human subjects. Naturally, inter-species differences are prevalent throughout nature and no doubt exist between bipeds and quadrupeds, but it is nevertheless important to note that the decrease in



**Fig. 16** Effects of preconditioning on Gz-induced cerebral hypoperfusion. Two weeks before the acceleration stress of +3.0 Gz for 30 s, rats ( $n = 8$ ) were exposed to repeated lighter Gz acceleration stress (+1.5 Gz for 15 min, three times per day, one of 2 days, five cycles). Three days later after the conditioning, the effects of +3.0 Gz acceleration for 30 s on arterial pressure at the level of the brain (brain AP) and brain-tissue oxygen concentration (tissue PO<sub>2</sub>) were measured in the conditioned rats (Pre-conditioned,  $n = 8$ ), and

compared to those in non-conditioned control rats (non-conditioned,  $n = 8$ ). Each of 8-rat data were presented.  $*p < 0.05$  by one-factor ANOVA with the Tukey–Kramer test. The decreasing rate (Slope decrease/s) in PO<sub>2</sub> of the hippocampus during 30 s of +3.0 Gz did not show any significant difference, whereas the slope in APLB and PO<sub>2</sub> of the cortex during the 30 s showed significant differences between conditioned and control rats [26, 29, 37]

cerebral blood perfusion pressure to near-zero and subtle myocardial damage at +5.0 Gz discovered in these animal experiments were unforeseen.

Anti-G systems provide strong protection of the brain from cephalic hypotension and protection of the heart from myocardial damage. As shown by these experiments, however, their use also may involve a relatively strong effect on cephalic arterial perfusion pressure before G-valve activation and after its deactivation. The experimental results indicate in particular that the relaxation of compression by the G-suit following its deactivation may possibly pose the larger danger.

The experimental results also revealed the possibility of minimizing damage by +Gz load through increasing the G-load tolerance of the physiological autonomic or involuntary functions. The known methods of increasing G-load tolerance have generally involved utilization of physiologically voluntary mechanisms (e.g., skeletal muscle contraction and the voluntary Valsalva maneuver). In our research, in contrast, we have focused on the possibility of methods that can increase G-load tolerance through involuntary, autonomic physiological functions. One method that we investigated is the teeth-clenching pressor response, and another is a method of preconditioning.

Practical application of the teeth-clenching method would be relatively simple. The preconditioning method, on the other hand, may provide a starting point for development of a scientifically based regimen of acceleration training.

Cumulative research over an extensive time span will be necessary to elucidate the changes induced in long-term mechanisms of blood-pressure regulation [38–40] and short-term circulatory functions by these effects of +Gz load and the trained G-load tolerance. Understanding endogenous physiological responses will in turn provide new information and materials leading to further investigations. Animal experiments within the scope provided by the ethical code enable research that simply cannot be conducted on human subjects, and may be assumed as vital for the attainment of true knowledge and understanding rather than inference and supposition.

In the present short-review, we provide the data for biological limitations/causinos, and possible measures to heighten an endogenous autonomic G-tolerance. The former is that when without any protection against Gz stress, (1) +5.0 Gz stress causes zero-pressure in cephalic artery and minus 10 mmHg in CVP, (2) +3.0 Gz stress causes sympathetic withdrawal response, baroreflex dysfunction, arrhythmia, myocardial cell injuries, heterogeneous brain



perfusion, and delayed recovery from brain hypoxia. Even with anti-G systems, hypotension occurs twice before and after the start of G-valve activation, which are acceleration hypotension and deceleration hypotension. Deceleration hypotension is more dangerous than acceleration hypotension due to functional abrasion of baroreflex and vascular incontractility. As possible measures to heighten endogenous autonomic G-tolerance, teeth clenching with mouse pieces and preconditioning training are proposed, which means that the organisms can adapt to the G-stress somewhat.

**Acknowledgments** These investigations were supported in part by Grants for Defense Medicine Propulsion Research (H18–H20:III-3, H21–H23, and H24–H26:V-1) from the Ministry of Defense, Japan, and by Grants for Specific Research from National Defense Medical College (H11–H13 and H19–H21). The authors also would like to thank Associate Professor Koichi Fukuda and his associates at the Animal Research Laboratory of National Defense Medical College for supporting the animal research.

#### Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors declare no potential conflicts of interest.

**Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

## References

1. Banks RD, Brinkley JW, Allnutt R, Harding RM (2008) Human response to acceleration. In: Davis JR, Johnson R, Stepanek J, Fogarty JA (eds) *Fundamentals of aerospace medicine*, 4th edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 83–109
2. Burns JW, Parnell MJ, Burton RR (1986) Hemodynamics of miniature swine during +Gz stress with and without anti-G support. *J Appl Physiol* 60:1628–1637
3. Burton RR, MacKenzie WF (1975) Heart pathology associated with exposure to high sustained +Gz. *Aviat Space Environ Med* 46:1251–1253
4. Burton RR (1988) G-induced loss of consciousness: definition, history, current status. *Aviat Space Environ Med* 59:2–5
5. Burton RR, Whinney JE (2002) Biodynamics sustained acceleration. In: Dehart LR, Davis RJ (eds) *Fundamentals of aerospace medicine*, 3rd edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 122–153
6. Chen QH, Nishida Y, Zhou MS, Murakami H, Morita H, Hosomi H, Kosaka H (1998) Sinoaortic denervation produces sodium retention in Dahl salt-sensitive rats. *J Auton Nerv Syst* 69:56–63
7. Doarn CR, Mohler SR (2013) Physician training in aerospace medicine—an historical review in the United States. *Aviat Space Environ Med* 84:158–162
8. Green NDC (2003) Protection against long duration acceleration. In: Ernsting J, Nicholson AN, Rainford DJ (eds) *Aviation medicine*, 3rd edn. Oxford University Press Inc., New York, pp 148–156
9. Hall JE (2011) Nervous regulation of the circulation, and rapid control of arterial pressure. In: Hall JE (ed) *Guyton and Hall textbook of medical physiology*, 12th edn. Saunders, Philadelphia, pp 201–211
10. Jones DR (1991) A review of central nervous system effects of G-induced loss of consciousness on volunteer subjects. *Aviat Space Environ Med* 62:624–627
11. Laughlin MH, Burns JW, Loxson FM (1979) Use of microspheres in measurement of regional blood flows during +Gz. *J Appl Physiol* 47:1148–1156
12. Laughlin MH, Burns JW, Parnell MJ (1982) Regional distribution of cardiac output in unanesthetized baboons during +Gz stress with and without an anti-G suit. *Aviat Space Environ Med* 53:133–141
13. Laughlin MH, Witt WM, Whittaker RN Jr (1980) Renal blood flow in miniature swine during +Gz stress and anti-G suit inflation. *J Appl Physiol* 49:471–475
14. Laughlin MH, Witt WM, Whittaker RN, Jones EF (1980) Coronary blood flow in conscious miniature swine during +Gz acceleration stress. *J Appl Physiol* 49:462–470
15. Manabe T, Maruyama S, Kato K, Sato Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Nishida Y (2008) Effects on plasma cardiac troponin T level after acceleration stresses in rat with or without an anti-G suit. *J Physiol Sci* 58(Suppl 1):S110
16. Manabe T, Maruyama S, Takahata T, Shoji I, Ichiki Y, Nakanishi K, Kemuriyama T, Ohta H, Sakurai Y, Nishida Y (2010) High +Gz force causes cardiac microinjuries in rats without anti-G protection. *J Natl Def Med Coll* 35:88–97
17. Maruyama S, Hirakawa H, Kemuriyama T, Akamatsu T, Nishida Y (2006) Suppressed peripheral vascular responses to acceleration stress after the stop of anti-G suit operation in rats. *Aviat Space Environ Med* 77:289
18. Maruyama S, Hirakawa H, Kemuriyama T, Ohashi K, Nishida Y (2005) Autonomic cardiovascular responses to acceleration stress in rats with anti-G-suit. *Aviat Space Environ Med* 76:224
19. Maruyama S, Kato K, Sato T, Kemuriyama T, Nishida Y (2008) Brain cortical and hippocampal tissue-oxygen concentrations during +Gz stress in anesthetized rats. *Aviat Space Environ Med* 79:236
20. Maruyama S, Kato K, Sato Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Manabe T, Takahata T, Nishida Y (2012) Discrepancy between blood flow and tissue-oxygen in the brain during acute cerebral hypotension in anesthetized rats. *Experimental Biology 2010 Program*, Art No 328
21. Maruyama S, Kato K, Sato Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Nishida Y (2009) Changes in brain-blood flow and -tissue-oxygen under acceleration stress in anesthetized rats. *World Congress Military Medicine 2009 Abstract*, Art No 96
22. Maruyama S, Kemuriyama T, Manabe T, Takahata T, Shoji I, Nishida Y (2011) Severe hypotension during the decreasing phase of Gz stress in anesthetized rats wearing an anti-G suit. *Aviat Space Environ Med* 82:1030–1036
23. Maruyama S, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Manabe T, Tashiro A, Nishida Y (2011) Acceleration stress suppressed baroreflex function in anesthetized rats. *J Physiol Sci* 61(Suppl 1):S244
24. Maruyama S, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Tashiro A, Nishida Y (2013) Effects of acceleration stress on baroreflexive responses of cerebral arterial pressure in rats. *J Natl Def Med Coll* 38(4):307–313
25. Maruyama S, Kemuriyama T, Sato Y, Kato K, Nishida Y (2007) Suppressed peripheral vasoconstriction causes G-decreasing hypotension in rats. *J Physiol Sci* 57(Suppl 1):S190



26. Maruyama S, Nishida Y (2013) Dynamic changes of the brain circulation in cerebral cortex and hippocampus under acceleration in anesthetized rats. *J Physiol Sci* 63(Suppl 1):S97
27. Maruyama S, Manabe T, Kato K, Sato Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Nishida Y (2008) Effects on brain tissue oxygen level during acceleration stress in anesthetized rats. *J Physiol Sci* 58(Suppl 1):S110
28. Maruyama S, Sato Y, Kemuriyama T, Hiruma-Tandai M, Ohta H, Manabe T, Takahata T, Shoji I, Nishida Y (2010) Changes in brain blood flow and tissue-oxygen level during cerebral hypoperfusion in anesthetized rats. *J Physiol Sci* 60(Suppl 1):S167
29. Maruyama S, Tokuyama S, Manabe T, Takahata T, Kato K, Sato Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Ohta H, Nishida Y (2009) Effects of repeated light acceleration exposures on brain tissue-oxygen concentration in rats. *J Physiol Sci* 59(Suppl 1):162
30. Morita H, Nishida Y, Motochigawa H, Uemura N, Hosomi H, Vatner SF (1988) Opiate receptor-mediated decrease in renal nerve activity during hypotensive hemorrhage in conscious rabbits. *Circ Res* 63:165–172
31. Nishida Y (2004) Adaptations in circulation for specific environments. Annual reports for grant for specific research of National Defense Medical College 2001–2003:1–58
32. Nishida Y (2007) +Gz acceleration. In: Textbook of defense medicine by the editing board of textbook of defense medicine. Promotion Society for National Defense Medical College, Tokorozawa in Saitama:465–468
33. Nishida Y (2009) Medical research for sports and trainings. Annual reports for grant for defense medicine from the ministry of defense (III-3) 2006–2008:201–205
34. Nishida Y (2010) Whole-body regulation by neurovascular microunits. Annual reports for grant for specific research of National Defense Medical College 2007–2009:1–38
35. Nishida Y, Bishop VS (1992) Vasopressin-induced suppression of renal sympathetic outflow depends on the number of baroreceptor inputs in rabbits. *Am J Physiol* 263:R1187–R1194
36. Nishida Y, Qing-H C, Tandai-Hiruma M, Terada S, Horiuchi J (2001) Neuronal nitric oxide strongly suppresses sympathetic outflow in high-salt Dahl rats. *J Hypertens* 19:627–634
37. Nishida Y, Maruyama S (2013) Animal studies of effects of +Gz acceleration stress on cardiovascular and autonomic function. *J Natl Def Med Coll* 38(1):16–31
38. Nishida Y, Tandai-Hiruma M, Kemuriyama T, Haggisawa K (2012) Long-term blood pressure control: is there a set-point in the brain? *J Physiol Sci* 62:147–161
39. Nishida Y, Tandai-Hiruma M, Kemuriyama T, Haggisawa K (2013) Mismatch between peripheral and central demands in salt-sensitive hypertensive Dahl rats. *Pathophysiology* 20:159–164
40. Nishida Y, Tandai-Hiruma M, Kemuriyama T, Haggisawa K (2013) Sympathetic activity in Dahl salt-sensitive hypertension—Why is a nitric oxide-induced inhibitory system up-regulated in the sympathetic center? *Nephrol Therapeutics* 3(1):131. doi:10.4172/2161-0959.1000131
41. Onozawa A (2007) Acceleration. In: Textbook of defense medicine by the editing board of textbook of defense medicine. Promotion Society for National Defense Medical College, Tokorozawa in Saitama:404–408
42. Paxinos G, Watson C (1998) The rat brain in stereotaxic coordinates, 4th edn. Academic Press, San Diego
43. Peterson DF, Bishop VS, Erickson HH (1977) Anti-G suit effect on cardiovascular dynamic changes due to +Gz stress. *J Appl Physiol* 43:765–769
44. Shoji I, Maruyama S, Nishida Y (2011) The role of alveolar nerves on the pressor response induced by teeth-clenching in rats. *Jpn J Aerosp Environ Med* 48(4):82
45. Sugimoto S, Maruyama S, Tokumaru O, Yokoi I, Nishida Y (2012) Late recovery of brain tissue-oxygen concentration from brain ischemia in anesthetized rats. *J Physiol Sci* 62(Suppl 1):S223
46. Suzuki R, Maruyama S, Tokumaru O, Kuroki C, Yokoi I, Nishida Y (2009) Effects of L-NAME and Indomethacin on hypotension under decreasing acceleration. *Jpn J Aerosp Environ Med* 46(4):106
47. Tachibana S, Fujita M (2012) History of aviation and development of aviation medicine. *Jpn J Aerosp Environ Med* 49:1–15
48. Takahata T, Shoji I, Maruyama S, Sato Y, Nishida Y, Ueno T (2011) Teeth clenching and positive acceleration-induced cerebral arterial hypotension in rats. *Aviat Space Environ Med* 82:442–447
49. Ichiro Shoji, Takehiko Kemuriyama, Megumi Tandai-Hiruma, Satoshi Maruyama, Akimasa Tashiro, Kousuke Haggisawa, Hiroyuki Ohta, Hidetaka Yokoe, Yasuhiro Nishida (2016) The tracts of neural reflex for the teeth-clenching-induced pressor response in rats. *J Physiol Sci* 66(Suppl 1):S122 3
50. The committee for commemorative publication of celebration of the 50th anniversary of Aeromedical Laboratory of Japan Air Self-Defense Force. Advances in 50th Anniversary of Aeromedical Laboratory. Aeromedical Laboratory of Japan Air Self-Defense Force, 2007, p 153
51. Werchan PM, Schadt JC, Fanton JW, Laughlin MH (1996) Total and regional cerebral blood flow during recovery from G-LOC. *Aviat Space Environ Med* 67:751–758
52. Whinnery JE (1991) Medical considerations for human exposure to acceleration-induced loss of consciousness. *Aviat Space Environ Med* 62:618–623
53. Whinnery JE, Laughlin MH (1982) Right ventricular pressure response to +Gz acceleration stress. *J Appl Physiol* 53:908–913

