

## 加齢がストレス反応に及ぼす影響

—尾部懸垂雌ラットにおけるストレス関連ホルモンの変動—

河野節子・大森幸子\*・妹尾久雄\*

### Influence of Aging on Stress Reaction

— Changes in Stress Related Hormone Secretion during Tail Suspension in Female Rats —

Setsuko KAWANO, Sachiko OHMORI and Hisao SEO

#### Abstract

The endocrine response to stress is different between young and old rats. We determined urinary excretions of stress hormones as useful indices to evaluate the response to stress in tail-suspended rats, because it is possible to obtain the samples without inducing further stress in the animals. Urinary excretions of corticosterone and catecholamines were measured in order to evaluate the age-related difference in response to stress evoked by tail-suspension. It was demonstrated that (1) basal excretions of corticosterone and catecholamines in old rats (18-month-old-rats) were higher than those in young rats (8-week-old-rats). (2) In old rats urinary excretion of adrenaline was increased by the tail suspension as that in young rats. However, there were no differences in the urinary excretions of corticosterone and noradrenaline between suspended and non-suspended rats. (3) In the 12-month-old rats (middle aged rats), basal excretion of corticosterone and catecholamines and responsiveness of these hormones to stress were found to be between those of young rats and old rats.

#### 緒 論

1961年の有人宇宙飛行以来数多くの宇宙実験が行われ、近年我が国でも毛利、土井氏や女性宇宙飛行士向井氏が宇宙飛行に参加した。こうした多くの実績から宇宙飛行士が無重力環境に滞在することにより種々の健康障害が惹起される事が明らかにされた。その健康障害の一つに廃用性骨萎縮があり、これは運動などにより予防不可能とされているため、廃用性骨萎縮の発症機序および予防法の開発の重要性が認識されている。一方、我国では急速な高齢化社会の到来と共に、長期臥床による廃用性骨萎縮のため増加している寝たきり老人の予防対策も重要な課題となっている。こうした免荷によって引き起こされる廃用性筋・骨萎縮のモデルとして種々の方法が考案されてきたが、中でもラットの尾部懸垂モデルの有用性が示され<sup>1)</sup>、我々もこのモデルを用いて研究を行ってきた。その過程で、尾部懸垂がグルココルチコイドやカテコールアミンの分泌を促し、持続的な慢性ストレスの負荷モデルとしても有用であることが示された<sup>2, 3)</sup>。

一方加齢により、内分泌系調節機構が変動することもよく知られ、生体の重要な防御機構と

考えられるストレス負荷に対するグルココルチコイドやカテコールアミンの分泌反応も加齢により変化することが種々の急性及び慢性ストレス負荷を行なった実験で報告されている<sup>4~6)</sup>。しかしながら、ストレス負荷に対する反応性は加齢により減弱、亢進などと必ずしも一定した結論は得られていない。我々はこれまでに加齢による慢性ストレス負荷に対する反応性について、老齢雄ラットで7日間の尾部懸垂ストレス負荷を実施し、コルチコステロン、アドレナリン、ノルアドレナリン分泌反応が若年ラットと異なり、加齢が副腎皮質や髄質の反応性のみならず、交感神経活動の変化をもたらすことを明らかにした<sup>7, 8)</sup>。本研究では、雌ラットを対象にストレス関連ホルモンに同様の変化が認められるか否かを、尿中へのストレスホルモン排泄量を指標として検討した。

### 実験方法

7週齢 (n = 12 実験終了時8週齢)、12カ月齢 (n = 16) 及び18カ月齢 (n = 12) ウィスター系雌ラットを、1匹ずつ代謝ケージに入れ予備飼育後、対照群と懸垂群の2群にそれぞれ分け飼育した。懸垂群は尾骨にエーテル麻酔下でピアスし、針金を2本通し、後肢が床に着かないように天井に固定して、尾部懸垂を行い飼育した。対照群は尾骨にピアス後針金のみをつけ飼育した (図1)。両群とも飼料と水は自由に摂取させた。尿は、予備飼育中及び懸垂期間中24時間尿を予め200 $\mu$ lの6N塩酸を添加した採尿瓶に採取し、冷凍保存後、各種ホルモン等の測定に用いた。実験終了後屠殺解剖し、副腎、胸腺を摘出し臓器重量を測定した。

尿中コルチコステロンは塩化エチレンで抽出後、帝国臓器製抗体を用いてラジオイムノアッセイ法で測定した。アドレナリン、ノルアドレナリンは、カテコールアミン自動分析装置 (東ソー全自動カテコールアミン分析計 HLC-725CA型) による蛍光法で測定した。また統計処理には Student's t-test を用いた。

### 実験結果

表1に8週齢、12カ月齢及び18カ月齢雌尾部懸垂ラットにおける体重変化・臓器重量・摂餌量及び飲水量を示す。懸垂開始前の体重は8週齢の対照群 203.3 $\pm$ 3.7g、懸垂群 196.0 $\pm$ 3.4g、12カ月齢の対照群 309.8 $\pm$ 6.6g、懸垂群 313.8 $\pm$ 7.1g 及び18カ月齢の対照群 337.0 $\pm$ 12.4g、懸垂群 341.3 $\pm$ 12.1gであった。尾骨にピアス後針金のみをつけた8週齢ラット対照群では7日間飼育後の体重は234.2 $\pm$ 5.7gであり、懸垂群は194.2 $\pm$ 6.6gであった。従って対照群の実験終了時の体重

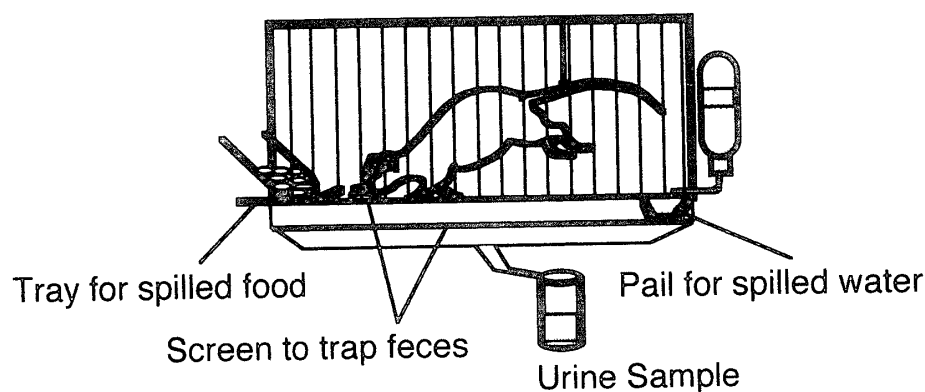


図1 ラット尾部懸垂モデル

表1 8週齢、12カ月齢及び18カ月齢尾部懸垂雌ラットにおける体重変化・臓器重量・摂餌量及び飲水量

	8週齢		12カ月齢		18カ月齢		
	対照群	懸垂群	対照群	懸垂群	対照群	懸垂群	
体重 (g)	懸垂開始時	203.3±3.7	196.0±3.4	309.8±6.6	313.8±7.1	337.0±12.4	341.3±12.1
	懸垂終了時	234.2±5.7	194.2±6.6***	309.6±6.8	298.6±9.9	332.7±14.2	314.2±9.4
	増加量	30.8±8.4	-1.8±4.3**	-0.1±2.7	-15.1±5.7*	-4.3±3.0	-27.2±5.2**
副腎 (mg)		70±3	82±1**	69±5	79±4	76±4	78±4
	(mg/100g 体重)	30±2	42±2***	23±2	27±2	23±2	25±1
胸腺 (mg)		524±32	290±32***	139±13	88±10**	88±11	72±8
	(mg/100g 体重)	224±13	149±15**	45±4	30±4*	27±4	23±2
摂餌量 (g/日)		16.3±0.7	14.5±1.1	16.7±0.7	17.7±0.7	12.8±0.8	11.7±1.0
飲水量 (g/日)		23.0±1.5	20.8±1.9	28.7±2.1	37.5±4.1	32.7±4.0	33.4±4.1

Mean±SE 8週齢ラット, 18カ月齢ラットはn=6 12カ月齢ラットはn=8 Student's t-test

1日当たり摂餌量, 飲水量は実験開始期間中に摂食又は飲水した総量を実験回数で除したものである。有意差は対照群と比較した。\*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001

増加率は15.2%であったが、懸垂群では-0.9%と体重の増加は認められなかった。12カ月齢及び18カ月齢尾部懸垂ラットの対照群の体重は、懸垂開始時と終了時の体重はほぼ同じで、実験期間中の変動はほとんど認められなかった。また尾部懸垂終了時の体重は開始時に比べ、12カ月齢懸垂群で-4.8%及び18カ月齢懸垂群で-8.0%と体重減少を示した。

ストレスホルモンの分泌臓器である副腎は、8週齢ラット対照群で70±3mgで、懸垂群では82±1mgと有意に肥大した。しかしながら、加齢に伴いこの肥大は認められなくなった(12カ月齢対照群69±5mg, 懸垂群79±4mg, 18カ月齢対照群76±4mg, 懸垂群78±4mg)。一方、胸腺は8週齢対照群では524±32mg, 懸垂群290±32mgと懸垂群で著しい萎縮を示した。また12カ月齢ラットでも対照群では139±13mg, 懸垂群88±10mgで懸垂により有意の萎縮を示した。しかし18カ月齢ラットでは88±11mg, 懸垂群72±8mgで懸垂による萎縮は認められなかった。摂餌量, 飲水量共月齢, 懸垂による差は認めなかった。

表2は8週齢及び12カ月齢, 18カ月齢ラットの1日当たりの尿中コルチコステロン排泄量の変化を示す。懸垂開始前のコルチコステロン排泄量を8週齢ラットと12カ月齢ラットで比較すると、12カ月齢では8週齢の約1.5倍であった。また8週齢ラットと18カ月齢ラットで比較すると、18カ月齢では8週齢の約2.0倍の排泄量であった。懸垂開始後の対照群と懸垂群を比較すると懸垂群で何れの週齢についても排泄量の増加が認められたが、特に8週齢ラットでその差が著しかった。12カ月齢及び18カ月齢ラットでは実験開始と共に対照群も排泄量が増加し、特に18カ月齢ラットでは懸垂による有意の差は実験期間中認められなかった。

表3には8週齢及び12カ月齢, 18カ月齢ラットの尿中アドレナリン排泄量の変化を示す。懸垂開始前の排泄量を8週齢ラットと12カ月齢ラットで比較すると、12カ月齢ラットでは8週齢ラットの約1.5倍であった。また8週齢ラットと18カ月齢ラットで比較すると、18カ月齢では8週齢の約1.6倍の排泄量であり、加齢と共に排泄量は増加した。一方懸垂開始後の対照群と懸垂群を比較すると、懸垂群で何れの週齢についても排泄量の増加が認められ、8週齢及び12カ月齢の懸垂群では対照群の排泄量に比べ、懸垂開始1日目の排泄量は非懸垂時の約3倍に

表2 8週齢, 12カ月齢及び18カ月齢尾部懸垂雌ラットにおける尿中コルチコステロン排泄量

		懸垂開始後の日数				
日		-1	1	3	5	7
8週齢	対照群	734.09±72.56	1024.23±126.34	880.22±43.80	880.30±63.00	844.08±132.07
	懸垂群	899.83±77.38	1942.38±212.18	1304.30±93.28	1179.17±148.56	1182.25±182.08
p			0.01	0.01		
12カ月齢	対照群	1187.32±141.59	1777.85±165.23	2134.92±191.87	2052.26±210.82	1312.40±162.99
	懸垂群	1290.64±128.20	3069.31±221.95	2502.56±258.19	2358.82±144.04	1611.02±113.06
p			0.01			
18カ月齢	対照群	1599.25±154.50	2651.44±286.96	1968.24±189.81	1740.64±146.94	1813.94±156.37
	懸垂群	1521.57±258.09	3987.76±744.73	2243.34±282.83	1753.22±303.35	1670.04±225.28
p						

Mean±SE 8週齢ラット, 18カ月齢ラットはn=6 12カ月齢ラットはn=8  
Student's t-test 単位はng/日 有意差検定は対照群の同一日と比較して行った.

表3 8週齢, 12カ月齢及び18カ月齢尾部懸垂雌ラットにおける尿中アドレナリン排泄量

		懸垂開始後の日数				
日		-1	1	3	5	7
8週齢	対照群	186.74±37.83	188.52±24.40	165.20±17.70	131.70±24.20	112.90±26.30
	懸垂群	183.14±16.58	521.30±85.60	342.70±68.60	272.80±75.00	206.70±29.30
p			0.01	0.01	0.05	
12カ月齢	対照群	253.80±53.90	314.80±43.70	327.60±45.20	350.20±68.60	234.9±27.40
	懸垂群	308.30±45.40	943.90±82.40	819.76±128.90	546.50±112.80	304.70±71.00
p			0.01	0.05		
18カ月齢	対照群	326.80±36.80	504.00±33.60	536.20±57.07	634.50±24.00	485.80±21.50
	懸垂群	273.80±50.90	2044.60±509.60	1068.70±287.70	896.10±187.60	590.90±121.80
p			0.05			

Mean±SE 8週齢ラット, 18カ月齢ラットはn=6 12カ月齢ラットはn=8  
Student's t-test 単位はng/日 有意差検定は対照群の同一日と比較して行った.

増加した。18カ月齢ラットでは懸垂開始とともに対照群, 懸垂群とも尿中アドレナリン排泄量が増加したが, 懸垂群では懸垂開始1日目で, 非懸垂時の約8倍増加し, 対照群と比較して有意差が認められた。

表4に8週齢及び12カ月齢, 18カ月齢ラットの尿中ノルアドレナリン排泄量の変化を示す。懸垂前のノルアドレナリンの基礎排泄量は加齢とともに増加するが, 8週齢と12カ月齢では有意差は認められなかった。8週齢ラットでは懸垂開始3日目に有意な排泄量の増加を示したが, 12カ月齢及び18カ月齢では基礎値に比べ対照群も実験開始と共に排泄量が有意に増加し, 懸垂群との差は認められなかった。

表4 8週齢, 12カ月齢及び18カ月齢尾部懸垂雌ラットにおける尿中ノルアドレナリン排泄量

		懸垂開始後の日数				
日		-1	1	3	5	7
8週齢	対照群	935.8±128.3	851.0±106.5	1162.0±189.4	999.2±104.3	674.2±122.3
	懸垂群	1131.4±94.9	1157.0±100.0	1516.0±288.0	1078.0±211.0	709.0±238.0
p		0.05				
12カ月齢	対照群	1097.4±222.3	2379.1±211.9	3157.5±663.9	2704.6±374.9	1609.7±177.9
	懸垂群	1573.0±160.2	2601.0±231.3	2902.8±717.2	2462.8±403.3	2044.6±347.9
p						
18カ月齢	対照群	1674.3±151.1	2734.6±349.7	4524.2±615.9	4977.0±354.0	2516.2±238.5
	懸垂群	1655.4±309.0	3317.1±743.3	4800.5±1160.2	3308.8±1631.1	2962.8±713.1
p						

Mean±SE 8週齢ラット, 18カ月齢ラットはn=6 12カ月齢ラットはn=8  
Student's t-test 単位はng/日 有意差検定は対照群の同一日と比較して行った.

## 考 察

成長期にある若年ラット(8週齢)と成長の停止が認められる中(12カ月齢)・老齢ラット(18カ月齢)では, 懸垂負荷による両者の体重増加率の相違は当然と考えられる. 何れの群も懸垂期間中の摂餌量, 飲水量共に群間に有意差を認めないが, 若年雌ラットでは対照群で体重増加量が $30.8\pm 8.4$ gであったのに対し, 懸垂群は有意の体重減少( $-1.8\pm 4.3$ g)を認めた. 8週齢の場合は対照群と懸垂群で摂餌量に有意の差は認めないが, 懸垂群が少ない傾向にある. しかし中・老齢ラットでは摂餌量の差は認めないので, 何れの週齢も懸垂群で体重減少が著しかった事を摂餌量のみでは説明できない. 我々は, 既に雄ラットを用いて懸垂期間中尿中へのコルチコステロン排泄量が増加することを報告した<sup>3)</sup>. ストレス刺激により視床下部からコルチコトロピン放出ホルモン(CRH Corticotropin-releasing hormone)の分泌を促進し, 更に下垂体から副腎皮質刺激ホルモン(ACTH Adrenocorticotrophic hormone)を分泌し, ACTHによってグルココルチコイドの分泌を促進する, いわゆる視床下部-下垂体-副腎皮質系が賦活されることが知られているが, 本実験の懸垂負荷というストレス負荷がこのような内分泌系の変動を引き起こしたと考えられる. グルココルチコイドによるタンパク異化作用が体重減少に影響した可能性が示唆された. またストレスホルモン産生臓器である副腎はストレス負荷により肥大し, 胸腺は萎縮することが知られている. 副腎重量は若年ラット対照群に比し, 懸垂群で有意に増加したが, 雌ラットでは加齢によりほとんど変化せず, 中, 老齢ラットでは懸垂による有意の差も認められなかった. 一方胸腺は加齢にともない正常でも萎縮するが, 懸垂負荷により対照群に比較して若, 中年ラットでは有意の萎縮を示したが, 老齢ラットではその差は認められなかった. 老齢ラットでは胸腺組織が脂肪化して懸垂群との差が認められなかった可能性が考えられる. 以上のことから尾部懸垂によるストレス負荷が推察され, 若年ラットと老齢ラットではストレスに対するホルモンの反応性の相違が示唆された. この反応性の相違を検討するために, コルチコステロン及びカテコールアミンの尿中への排泄量を測定した. 血中のコルチコステロンは屠殺時や採血時の影響を受け, また日内変動による影響も受けるため, 慢性のストレス負荷を検討する場合には尿中排泄量が優れた指標と考えられる.

加齢と共に尿中へのコルチコステロン, カテコールアミン排泄量の基礎値が増加することが

示された(表2, 3, 4). 一方ストレス負荷に対する反応性はコルチコステロン, アドレナリン, ノルアドレナリンで相違が認められた. 尿中コルチコステロン排泄量は若年ラットでは懸垂負荷1-3日に対照群より有意に増加し, 中年ラットでは1日目に対照群に比べ懸垂負荷により排泄量の増加が認められたが, 対照群も実験開始と共に排泄量が有意に増加し, 老齢ラットでは対照群も懸垂群も共に懸垂開始と共に排泄量が増加し懸垂による差は認められなかった. 従って, 慢性的な尾部懸垂負荷に対して, 若年ラットではよく応答して尿中へのコルチコステロン排泄量が増加するのに対し, 中, 老齢ラットでは, 若年ラットでストレスにならなかった尾部にピアスをするというような負荷に対してかなり反応し, 特に老齢ラットではピアスによる負荷で最大限に応答したものの, 尾部懸垂ストレス負荷を加えてもコルチコステロンの分泌は増加しないことが示された. しかし何れの群も懸垂7日目には懸垂開始前の基礎値にほぼ回復しており, ストレス負荷に対してグルココルチコイド分泌を促進するものの, 視床下部-下垂体-副腎皮質系がストレス負荷に対し徐々に順応してゆくことが示唆された.

ラットでは副腎髄質から静脈血中に出てくるカテコールアミンの大部分はアドレナリンである. ノルアドレナリンは主に交感神経の末端から放出され, 循環血中に放出される事が知られている<sup>9)</sup>. コルチコステロンと同様, 懸垂開始前の尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの排泄量は, 中・老齢ラットでは若年ラットに比べ増加した. アドレナリンの基礎排泄量は中・老齢ラットは若年ラットの約1.5倍であり, またノルアドレナリンの基礎排泄量は老齢ラットでは若年ラットの約1.7倍で, ノルアドレナリンの基礎排泄量も加齢とともに増加したが, 若年ラットと中・老齢ラットの間には有意差は認められなかった. ヒトでは血漿アドレナリン濃度は, 加齢により概ね変化しないかあるいは上昇するという報告<sup>10)</sup>や低下するという報告<sup>11)</sup>もあり一定した見解は得られていない. ノルアドレナリンの血中レベルは加齢と共に上昇するという報告が多いが<sup>12-14)</sup>, カテコールアミンの分泌量が上昇するのではなく, クリアランスの低下によるとする報告もある<sup>15)</sup>.

副腎髄質中のカテコールアミン合成の律速酵素であるチロシンハイドロキシラーゼは加齢により増加することが報告され, この増加が老齢ラットにおけるカテコールアミンの基礎排泄量の増加の原因と考えられる. また, ノルアドレナリンからアドレナリンへの転換酵素, フェニルエタノールアミン-N-メチルトランスフェラーゼ(PNMT)はグルココルチコイドにより誘導されることが知られている. 我々は, 加齢に伴い雄ラットの尿中コルチコステロン排泄量が増加する事を報告したが<sup>7)</sup>, 雌ラットでも同様であり, この増加がPNMT酵素を誘導することによりアドレナリンの基礎分泌を増加させた可能性も考えられる. また, 尾部懸垂ストレスに対する老齢ラットのアドレナリン, ノルアドレナリンの分泌反応の差異は副腎髄質のみならず, 交感神経の活動の加齢による変化も示唆している.

尾部懸垂によるカテコールアミンの尿中への排泄量は, 若年ラットでは懸垂開始後増加し, 特にアドレナリンは懸垂1-5日間までは有意な増加を示した. これは先に述べたノルアドレナリンからアドレナリンへの転換酵素であるPNMTがグルココルチコイドにより誘導され, 若年ラットで懸垂負荷により尿中コルチコステロン排泄量が増加することと一致する. また老齢ラットの懸垂負荷に対するアドレナリン分泌反応は若年ラットと同様懸垂期間中持続して認められた. 老齢ラットの尿中ノルアドレナリン排泄量は, 対照群においても観察期間中増加し, 懸垂群との差が認められなかった. 種々のストレス負荷に対して, アドレナリンとノルアドレナリンでは反応性の異なることが知られ, 若年ラットでは尾部懸垂ストレスに対してアドレナリンの反応の方が, ノルアドレナリンの反応より顕著であり<sup>3)</sup>, 老齢ラットでも同様の傾向が認め

られた。

雄ラットと雌ラットの加齢によるストレスホルモンの変動は同様の傾向を示すが、その差異については今後報告する予定である。

## 要 約

若年ラットと、老齢ラットではストレスホルモンに対する反応性の相違が示唆された。ストレスホルモンを検討する場合、採血によるストレスを除外することが困難であるため、尿中へのホルモン排泄量を検討することは良い指標である。尾部懸垂によるストレス負荷に対する反応性の加齢による変化を検討するために、尿中へのコルチコステロン及びカテコールアミン排泄量を測定した。その結果、1) コルチコステロン及びカテコールアミンの基礎排泄量は、老齢ラット（18カ月齢）では若年ラット（8週齢）に比し、高値を示した。2) 尾部懸垂ストレスに対するアドレナリンの分泌反応は、若年ラットと同様、老齢ラットでも反応するが、コルチコステロン及びノルアドレナリンの反応は消失した。3) 12カ月齢ラットではコルチコステロン、カテコールアミンの尿中への基礎排泄量及び反応性は、共に若年ラットと老齢ラットの間であった。

## 謝 辞

この研究は一部文部省科学研究費補助金基盤研究（C）（2）（研究課題番号 08680044）の補助によった。

## 文 献

- 1) Morey, E. R.: Spaceflight and Bone Turnover, Correlation with a New Rat Model of Weightlessness. *BioScience*, **29**, 168 ~ 172 (1979)
- 2) Miyamoto, N., Nomura, Y., Sueda, K., Kambe, F., Inoue, I., Murata, Y., Seo, H. and Matsui, N.: Involvement of Corticosterone and Testosterone in Muscle Atrophy of Rat Hindlimb Induced by Tail Suspension. *Environ. Med.*, **33**, 59 ~ 62 (1989)
- 3) Kanda, K., Ohmori, S., Yamamoto, C., Miyamoto, N., Kawano, S., Murata, Y., Matsui, N. and Seo, H.: Urinary Excretion of Stress Hormones of Rats in Tail-suspension. *Environ. Med.*, **37**, 39 ~ 42 (1993)
- 4) Sapolsky, R. M.: Do Glucocorticoid Concentrations Rise With Age in the Rat? *Neurobiol. Aging*, **13**, 171 ~ 174 (1991)
- 5) McCarty, R.: Age-related alterations in sympathetic-adrenal medullary responses to stress. *Gerontol.*, **32**: 172 ~ 183 (1986)
- 6) Brett, L. P., Levine, R. and Levine, S.: Bidirectional Responsiveness of the Pituitary-Adrenal System in Old and Young Male and Female Rats. *Neurobiol. Aging*, **7**, 153 ~ 159 (1986)
- 7) Kawano, S., Ohmori, S., Kanda, K., Ito, T., Murata, Y. and Seo, H.: Adrenocortical Response to Tail-Suspension in Young and Old Rats. *Environ. Med.*, **38**, 7 ~ 12 (1994)
- 8) Kawano, S., Ohmori, S., Kambe, F., Kanda, K., Murata, Y. and Seo, H.: Catecholamine response to stress, Age related Modifications in tail-suspended rats. *Environ. Med.*, **39**, 107 ~ 111 (1995)
- 9) Ganong, W. F.: 15th edition, *Review of Medical Physiology*, Appleton and Lange in press East Norwalk, CT/San mateo, CA. p336 (1991)
- 10) Fleg, J. L., Tzankoff, S. P. and Lakatta, E. G.: Age-related augmentation of plasma

- catecholamines during dynamic exercise in healthy males. *J. Appl. Physiol.*, **59**, 1033 ~ 1039 (1985)
- 11) Mader, S. L., Downing, C. L. and Lunteren, E. V.: Effect of age and hypoxia on  $\beta$ -adrenergic receptors in rat heart. *J. Appl. Physiol.*, **71**, 2094 ~ 2098 (1991)
  - 12) Ziegler, M. G., Lake, C. R. and Kopin, I. J.: Plasma noradrenaline increases with age. *Nature*, **261**: 333 ~ 334 (1976)
  - 13) Wallin, B. G., Sundlöf, G., Eriksson, B. M., Dominiak, P., Grobecker, H. and Lindblad, L. E.: Plasma noradrenaline correlates to sympathetic muscle nerve activity in normotensive man. *Acta Physiol. Scand.*, **111**, 69 ~ 73 (1981)
  - 14) Hachinski, V. C., Wilson, J. X., Smith, K. E. and Cechetto, D. F.: Effect of Age on Autonomic and Cardiac Responses in a Rat Stroke Model. *Arch Neurol.*, **49**, 690 ~ 696 (1992)
  - 15) Hoeldtke, R. D. and Clilmi, K. M.: Effects of Aging on Catecholamine Metabolism. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, **60**, 479 ~ 484 (1985)