

# 環境・情動ストレス関連物質の動態と視床下部生体警告情報処理機構の解析

著者	清水 宣明
著者別表示	Shimizu Nobuaki
雑誌名	平成5(1993)年度 科学研究費補助金 一般研究(C) 研究成果報告書
巻	1992-1993
ページ	7p.
発行年	1994-03-01
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/47126">http://hdl.handle.net/2297/47126</a>



---

# 環境・情動ストレス関連物質の動態と 視床下部生体警告情報処理機構の解析

---

(研究課題番号：04670095)

平成5年度科学研究費補助金一般研究(C)

研究成果報告書

平成6年3月

研究代表者 清水宣明  
(金沢大学工学部助教授)

## はしがき

本報告書は平成4年～平成5年度、文部省科学研究費補助金一般研究(C)「環境・情動ストレス関連物質の動態と視床下部生体警告情報処理機構の解析」(課題番号04670095)の助成のもとに行った研究成果をまとめたものである。本研究を遂行するに当たり、堀哲郎教授(九州大学医学部)、大村裕名誉教授(九州大学)、林良茂教授(金沢大学工学部)、中根秀之大学院生(九州大学医学部)の各位から多大の援助、ご指導を賜った。ここに深く感謝の意を表します。

## 研究組織

研究代表者：清水 宣明 (金沢大学・工学部・助教授)

研究分担者：片渕 俊彦 (九州大学・医学部・講師)

## 研究経費

平成4年度            1,500千円

平成5年度            600千円

計                    2,100千円

## 研究発表

### I 学会誌等

#### 原著論文

- 1) Aoyagi, K., Oomura, Y. & Shimizu, N. Concurrent measurement of serotonin metabolism and single neuron activity changes in the lateral hypothalamus of freely behaving rat. Behav. Brain Res., 49, 205-212, 1992.

- 2) Shimizu, N., Take, S., Hori, T. & Oomura, Y. In vivo measurement of hypothalamic serotonin release by intracerebral microdialysis: Significant enhancement by immobilization stress in rats. *Brain Res. Bull.*, 28(5), 727-734, 1992.
- 3) Shimizu, N., Duan, S., Hori, T. & Oomura, Y. Electrophysiological study of neurotrophin-induced responses in guinea pig hypothalamic neurons. *Brain Res. Bull.*, 29(6), 767-772, 1992.
- 4) Shimizu, N., Hori, T. & Nakane, H. An interleukin-1 $\beta$ -induced noradrenaline release in the spleen is mediated by brain corticotropin-releasing factor: An in vivo microdialysis study in conscious rats. *Brain Behav. Immun.*, in press.
- 5) Shimizu, N., Nakane, H., Hori, T. & Hayashi, Y. CRF receptor antagonist attenuates stress-induced noradrenaline release in the medial prefrontal cortex of rats. Submitted.
- 6) Shimizu, N., Kaizuka, Y., Hori, T. & Nakane, H. Immobilization increases noradrenaline release and reduces natural killer cytotoxicity in the conscious rat spleen. Submitted.
- 7) Nakane, H., Shimizu, N. & Hori, T. Stress-induced noradrenaline release in the rat prefrontal cortex measured by microdialysis. Submitted.

総説, 報告書等

- 1) 清水 宣明, 大村 裕 カルシトニンの作用 : (4) 中枢神経系に対する作用. *The Born*, 6(1), 69-74, 1992.
- 2) 清水 宣明 多機能バイオセンサーの開発とその医用計測システム化. *福田記念医療技術振興財団情報*, 2, 19-27, 1992.
- 3) 清水 宣明, 中根 秀之, 堀 哲郎, 大村 裕 ラット拘束ストレスによる摂食抑制と視床下部セロトニン動態. 第12回日本肥満学会記録誌, 108-110, 1992.
- 4) 鈴木 健治, 清水 宣明, 段 樹民, 堀 哲郎 コレシストキニンによる摂食抑制作用および延髄孤束核ニューロン興奮作用. 第12回日本肥満学会記録誌, 114-115, 1992.

- 5) 堀 哲郎, 片渕 俊彦, 清水 宣明, 武 幸子, 海塚 安郎 免疫サイトカインと脳による免疫系制御. 平成3年度科学研究費補助金(総合研究A)「環境適応システムの総合的解析」研究成果報告書, pp46-47, 1992.
- 6) 堀 哲郎, 片渕 俊彦, 武 幸子, 海塚 安郎, 清水 宣明 脳インターフェロン $\alpha$ およびCRFによる細胞性免疫能の修飾. 平成3年度科学研究費補助金(総合研究A)「環境適応システムの総合的解析」研究成果報告書, pp107-109, 1992.
- 7) 堀 哲郎, 粟生 修司, 清水 宣明, 片渕 俊彦, 海塚 安郎 免疫系を調節する自律神経系の中樞制御機構の研究. 科学技術振興調整費「生体情報伝達機構の解析・制御技術の開発に関する研究」平成3年度調査研究報告書, pp1-25, 1992.
- 8) 清水 宣明, 大村 裕 新しい空腹および満腹物質. *Clinical Neuroscience*, 11(4), 36-38, 1993.
- 9) 清水 宣明, 大村 裕 内因性摂食行動調節因子と大脳視床下部統御機構. 三島海雲記念財団研究報告書(第30号), 60-64, 1993.

## II 口頭発表

- 1) Take, S., Katafuchi, T., Ando, T., Uchimura, D., Kanemitsu, Y., Ichijo, T., Shimizu, N., Hori, T. & Kosaka, T. Hypothalamic interferon  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) reduces splenic NK cytotoxicity. *Soc. for Neurosci. Abstr.*, 18, 681, 1992. (Society for Neuroscience, 22nd annual meeting, Anaheim).
- 2) 中根 秀之, 清水 宣明, 堀 哲郎 ストレス反応に伴うラット前頭前野ノルアドレナリン遊離の亢進とGABA-BZP系, CRF系との相互連関. 第43回西日本生理学会, 福岡, 1992.
- 3) 清水 宣明, 中根 秀之, 堀 哲郎 Serotoninn 2受容体を介したdiazepam誘発摂食行動の抑制性調節. 第43回西日本生理学会, 福岡, 1992.
- 4) Nakane, H., Shimizu, N. & Hori, T. Stress-induced increase noradrenaline release in the rat medial prefrontal cortex measured by intracerebral microdialysis. *Jpn. J. Physiol.*, 42(Suppl), 432, 1992.
- 5) Shimizu, N., Nakane, H. & Hori, T. Diazepam-induced eating and its modulation by serotonergic mechanisms. *Jpn. J. Physiol.*, 42(Suppl), 468, 1992.

- 6) Shimizu, N. Neurochemical studies of stress-induced anorexia mediated by serotonergic mechanism in the hypothalamus. *Neurosci. Res.*, Suppl.17, 1992.
- 7) Nakane, H., Shimizu, N. & Hori, T. Effects of stress on noradrenaline release in the rat medial prefrontal cortex: An in vivo microdialysis study. *Neurosci. Res.*, Suppl. 17, 1992.
- 8) Hori, T., Kaizuka, Y., Katafuchi, T., Take, S., Mori, T. & Shimizu, N. Thermoregulation and immunity -- A view from the brain-immune interaction mechanisms. *Jpn. J. Physiol.*, 43(Suppl. 2), 1993.
- 9) Shimizu, N., Nakane, H. & Hori, T. Suppression of diazepam-induced feeding behavior through the serotonin-2 receptors in rats. *Jpn. J. Physiol.*, 43(Suppl. 2), 1993.
- 10) Nakane, H., Shimizu, N. & Hori, T. Involvement of benzodiazepines and corticotropin-releasing factor in stress-induced increase of noradrenaline release in the rat medial prefrontal cortex: An in vivo microdialysis study. *Jpn. J. Physiol.*, 43(Suppl. 2), 1993.

### Ⅲ 出版物

- (1) Oomura, Y., Shimizu, N. & Kai, Y. Food intake under various noxious conditions. Processing and inhibition of nociceptive information. Ed: R. Inoki, Y. Shigenaga and M. Tohyama, PP. 127-134, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, 1992.
- (2) Oomura, Y., Shimizu, N. & Kai, Y. Serotonergic involvement in feeding suppression after immobilization stress. *Stress: Neuroendocrine and molecular approaches*. Ed: R. Kvetnansky, R. McCarty and J. Axelrod, pp. 43-58, Gordon & Breach Sci. Publ., New York, 1992.

## 研究成果

### I 目的

生体は急激な環境の変化あるいはストレスなどの外因性の刺激にすばやく応じて防御反応をひきおこし、内分泌・代謝系を調節することによりその恒常性を維持している。ストレス反応はストレスターの性質とストレスターをどう受け止めるかという個体側の因子の2つにより決定され、脳の活動を介して対処反応が出現する。これら非常時における生体防御反応には刺激の受容および統合部位としての中樞神経系、特に視床下部が重要な役割を果していると考えられる。視床下部は摂食、体温、飲水をはじめとする本

能行動や内分泌・自律神経系の高次中枢として機能している。この部位には血中代謝産物や各種ペプチドホルモンなどの内因性情報をモニターする化学受容ニューロンが存在し、また末梢からの種々の感覚情報も入力している。すなわち視床下部は内界情報と外界情報の統合部位であり、それを行動および内分泌・自律神経系に反映させている。

われわれはこれまで、摂食行動調節機構に対する情動ストレスの関与について神経生理学、神経化学および行動薬理学的研究から解析を行い、視床下部セロトニン系の重要性を明らかにしてきた。本研究の目的はこれまでの研究成果をもとに、環境・情動ストレス関連神経活性物質の動態とその神経機構を解析することにより、生体システムとしての視床下部生体警告情報の受容とその統御機構を明らかにすることにある。

## II 結果の要約と考察

### (1) 拘束ストレスによる摂食抑制とセロトニン系の賦活

情動ストレスによって起こる種々の行動変化について脳内モノアミン系、オピオイド系の関与が示唆されている。われわれは拘束ストレス後に起こる摂食抑制が視床下部のセロトニン系の賦活によって生ずることを以下の知見により証明した。①摂食調節機構に特に重要な役割を有する視床下部外側野のニューロンの多くに、背側縫線核の電気刺激により単シナプス性のIPSPが観察され、セロトニン感受性と強い相関関係があること、②拘束ストレスによって摂食行動が抑制されるが、これはセロトニン受容体拮抗薬の前投与で拮抗できること、③ *in vivo* voltammetry 法、脳マイクロダイアリシス法により拘束ストレスにより視床下部外側野においてセロトニンの遊離が有意に増大することを確認し、また拘束ストレスによるセロトニン遊離の増大は抗不安物質であるジアゼパムの前投与により有意に拮抗されることを明かにした。一方、痛みなどの侵害刺激によって摂食行動は抑制されるが、この場合末梢痛み刺激が中枢性オピオイド系を賦活させることによって視床下部外側野のニューロン活動を抑制し、その結果摂食行動を抑制することも明かにした。このように視床下部による生体警告情報の受容機構を摂食行動の調節機構の観点から解析した。

### (2) 視床下部ニューロン活動とセロトニン代謝産物の同時測定

カーボンファイバーを材質とするモノアミンセンサー（直径300 $\mu$ m）とニューロン活動記録用テフロン被覆白金イリジウム電極（直径25 $\mu$ m）を一体化した微小プローブを作製し、無麻酔自由行動下ラットの視床下部ニューロン活動とセロトニン代謝産物である5-HIAA濃度変化の同時記録を試みた。視床下部の5-HIAA濃度は摂食行動を頻繁に行う暗期約60分前より徐々に増加し始め、暗期30分で最高値を示した後漸減する。またニューロンの放電頻度も5-HIAA濃度に伴って増加し、暗期約3時間活動亢進が続いた後漸減する。このようにモノアミンセンサーと白金イリジウム電極を一体化した複合型プローブを作製することにより、脳内同一部位での神経活動とセロトニン代謝産物の動態を同時に解析し、視床下部において摂食行動が亢進する暗期に一致してニューロン活動の亢進とセロトニンの代謝亢進が同時に起こることを明かにした。

### (3) 拘束ストレス時の前頭前野ノルアドレナリンの動態

情動行動の発現に重要な部位であり、また視床下部と密接な繊維連絡を有する前頭前野において拘束ストレス時のノルアドレナリンの動態を解析した。半透膜からなる中空糸(直径 220  $\mu\text{m}$ )をラット前頭前野に留置し、中空糸の内部をリンガー液あるいは人工脳脊髄液で灌流した。この手法により前頭前野ノルアドレナリンをその濃度勾配に従って灌流液中に回収し、これを高速液体クロマトグラフ、電気化学検出器を用いて高感度に分析することが可能になる。脳内微小透析プローブ内に回収したノルアドレナリンのクロマトグラムピークが、①高 $\text{K}^+$ 濃度のリンガー液の灌流および背側ノルアドレナリン束などの電気刺激により増大すること、②TTXに感受性を有し、 $\text{Ca}^{2+}$ 依存性であること、③薬理的にシナプスでのモノアミンの遊離を促進、あるいは再吸収を抑制することが明らかにされているamphetamine、desipramineなどを灌流液中から微量投与することにより有意に増加することなどから、血液由来のものではなく、主として前頭前野における神経終末から放出されたモノアミンを分析していることを確認した。このマイクロダイアリシス法により、拘束ストレス時のノルアドレナリンの動態を解析した結果、以下のことが判明した。(a)拘束ストレスによって前頭前野ノルアドレナリンの遊離は有意に増大する。この拘束ストレスによるノルアドレナリンの遊離は背側ノルアドレナリン束を破壊しておくほとんど消失することから、背側縫線核ニューロン活動の亢進に起因する可能性がある。(b)拘束ストレスによる前頭前野ノルアドレナリンの遊離は抗不安薬であるジアゼパムの前投与で有意に抑制される。またbenzodiazepine受容体のinverse agonistであり、不安惹起作用を有することが報告されているFG-7142の投与によっても前頭前野のノルアドレナリン遊離は促進するが、これはジアゼパムの拮抗薬であるflumazenilの前投与で有意に拮抗される。(c)拘束ストレスによって引き起こされるノルアドレナリンの遊離は、CRF受容体の拮抗薬である $\alpha$ -helical CRF (50  $\mu\text{g}/\text{rat}$ )の前投与で有意に拮抗される。また前頭前野のノルアドレナリン遊離はCRFの側脳室内投与(2  $\mu\text{g}/\text{rat}$ )によっても促進する。

以上の結果は、拘束ストレスをはじめとする生体警告情報は前頭前野のノルアドレナリン系を賦活し、これらは脳内benzodiazepine系およびCRF系の活動によって修飾されている可能性を示唆する。

### (4) 拘束ストレスと脾臓交感神経終末からのノルアドレナリン遊離

オピオイド依存性の鎮痛をひき起こすようなストレスをラットに与えると、脾臓のナチュラルキラー(NK)細胞の活性が抑制される。このストレスによる細胞性免疫の抑制現象を解析する目的で、マイクロダイアリシス法を用いて無麻酔ラットの脾臓ノルアドレナリンの動態を解析した。拘束ストレス開始後、脾臓のノルアドレナリンは潜時20分以内に基礎遊離量の約8倍にまで増大し、その後20分間持続した。しかし、その後拘束ストレスを継続しているにもかかわらずノルアドレナリンの遊離量が減少していくいわゆる順応反応が観察されたが、拘束開放後も数時間にわたって拘束前値の約2倍と有意に高かった。この拘束ストレスによるノルアドレナリンの遊離は、あらかじめ脾臓交感神経を切除することにより著明に抑制されることから、脾臓交感神経から遊離されたノ



ルアドレナリンを反映していると考えられる。さらに、拘束ストレスによって脾臓のNK細胞の活性も有意に抑制されるが、これも脾臓交感神経の切除によって有意に阻害される。以上の結果から、拘束ストレス時におこる脾臓NK細胞活性の抑制は、脾臓交感神経終末からのノルアドレナリンの遊離が増大することに起因すると考えられる。

#### (5) 免疫サイトカイン による脾臓ノルアドレナリン遊離

Interleukin-1 $\beta$ を腹腔内に投与すると、潜時20分以内で脾臓ノルアドレナリン濃度が増加しはじめ、投与後60分で最高値を示す。これは $\alpha$ -helical CRF (30  $\mu$ g/rat)をInterleukin-1 $\beta$ 投与30分前に側脳室内に投与すると有意に拮抗される。さらにCRFを側脳室内投与することによっても脾臓ノルアドレナリンの有意な増加が観察されることなどから、腹腔内 Interleukin-1 $\beta$ 投与は脳内 CRF 受容体を賦活することにより脾臓交感神経の活動を促進し、脾臓NK細胞活性を抑制している可能性がある。

### III 結言

ストレス状態によって引き起こされる恒常性維持のための生体防御機構の中枢統合および出力制御機構の解析を行った。ノルアドレナリン、セロトニンおよびインターロイキン1をはじめとする免疫サイトカインが視床下部および前頭前野を中心とした神経機構により、自律神経や内分泌系を介して生体のホメオスタシス機能に関与していることを明かにした。