

# 副腎皮質ホルモンの行動・内分泌学的研究:cortisol及びcortisol-21-sulfateについて

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/4590">http://hdl.handle.net/2297/4590</a>

## 副腎皮質ホルモンの行動・内分泌学的研究

cortisol 及び cortisol-21-sulfate について

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任：服部絢一教授)

金沢大学医学部内科学第三講座 (指導：宮保進助教授)

久 田 友 一 郎

(昭和49年10月6日受付)

外界の変化に対する生体の環境適応の中で下垂体副腎系の果す役割については、Selye のストレス学説以来、多くの知見が得られている。下垂体副腎系は手術侵襲、火傷、寒冷、振動、エーテル麻酔などの組織障害を伴うストレスや物理的、化学的ストレスばかりでなく、psychical stress としての恐怖、不安、騒音、あるいは単に novel stimulus にさらされただけでも鋭敏に反応することが知られている<sup>1)</sup>。

一方、逆に内分泌環境の変化が情動や行動におよぼす影響については、性ホルモンにおいて古くより知られている。即ち、去勢により急速に消失したラットの性行動は性ホルモンの投与により再び性行動を取り戻し、又去勢雌ラットの視床下部前部に少量の estradiol を埋没すると性行動が刺激されること<sup>2)</sup>、脳の性分化を決定するのは出生後数日間の脳における男性ホルモンの存否であることが知られている<sup>3)</sup>。

下垂体副腎系の行動上の効果については、副腎摘出により低下したラットの running wheel activity は dexamethasone の投与により回復すること<sup>4)</sup>、

dexamethasone の投与によりラットの夜間の running wheel activity が上昇することが報告されている<sup>5)</sup>。又副腎摘出ラットについて行った open field test の反応についての成績は必ずしも一致しないが<sup>6,7)</sup>、最近の報告では、その情動性の亢進が特徴的であると述べられている<sup>8)</sup>。しかしながら副腎皮質ステロイドが行動や情動に与える影響についての報告は少なく、従ってその作用機序についても不明の点が多い。

著者は cortisol(Fk) 及びその硫酸抱合型である cortisol-21-sulfate(F-s) の open field test にお

ける一般活動性に与える影響について検討し、若干の成績を得たので報告する。

本研究では、実験Ⅰで cortisol 及び cortisol-21-sulfate の大量投与による行動上の変化及び glucocorticoid としての代謝上の効果について明らかにし、実験Ⅱでは本ホルモン投与によりみられる行動学的変化がラットの加齢と如何なる関係にあるかを検討し、実験Ⅲでは cortisol の微量投与による行動上の変化と身体的変化について検討した。

## 実験方法並びに成績

## 〔Ⅰ〕 cortisol 及び cortisol-21-sulfate の大量投与による影響

## Ⅰ. 実験方法

実験対象として Wistar 系雄ラットを使用し生後21日に離乳を行った。被験動物はすべて群居飼育とし、オリエンタル固型飼料と水は自由に与え、午前6時から午後6時まで明、午後6時から翌日6時まで暗のサイクルにて飼育した。

各実験に先だち、open field test<sup>9)</sup>(後述)を3回試行し ambulation の値により各群の平均値に差がないように配慮し、一群10匹ずつを3群にわけ実験に供した。

1. 第1群 cortisol 3 mg
2. 第2群 cortisol-21-sulfate 3 mg
3. 第3群 対照として溶媒のみ1.0ml

を各々ピーナツ油懸濁として1.0mlをそれぞれ背部皮下に生後21日より生後73日まで隔日に投与し、以下の観察を行った。

## 1) 一般活動性の測定

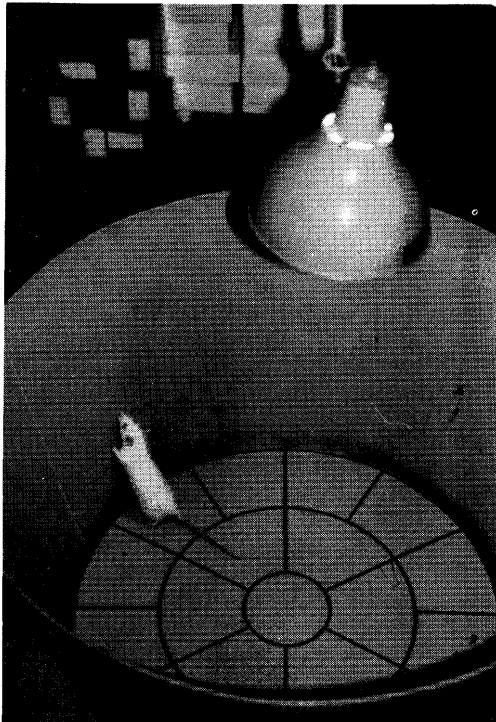
Endocrinological and Behavioral Studies on Adrenocortical Steroid Hormone : Cortisol and Cortisol-21-sulfate. Tomoichiro Hisada, Department of Internal Medicine (III) (Director : Prof. K. Hattori, Chief of Laboratory : Assc. Prof. S. Miyabo), School of Medicine, Kanazawa, University.

一般活動性の測定には Hall の open field test を用いた。これは図1に示すように金属製の円形装置で、その内面は灰白色に塗装され、床面は図2に示すように赤ペンキにより区切られている。さらに床面の中心から80cmの高さに100ワットの白熱電灯を設置し、装置の内面が均等に照明されるようにした。open field test の施行にあたってはラットをホーム・ケージより静かに取り出し、床の辺縁の一定部位におき、その時から3分間内に示す行動を観察した。一般活動性の測定のためのパラメーターとしては

- ambulation (歩行)
- rearing (立上り)
- preening (洗顔)
- grooming (毛づくろい)
- defecation (脱糞)

の5項目を取り上げた。ambulation はラットの体の半分以上が床面のブロックを横切った回数をその値として表わし、rearing, preening, grooming はその行動の出現回数で、defecation は糞の数で表わした。open field test はラットの夜間の活動性のリズムを考慮し、活動性の高まる午後8時から10時の時間内に2~3日毎に施行した。

Fig. 1. Apparatus for open field test



## 2) 肝グリコーゲン及び肝トランスアミナーゼの測定

断頭屠殺後開腹し、臓器重量を測定した後に肝を冷凍保存し、後日肝グリコーゲンは Seifter ら<sup>10)</sup>の方法に準じて、肝トランスアミナーゼは Reitman ら<sup>11)</sup>の方法に準じて測定した。

## 3) 血中コルチコステロンの測定

午後2時に断頭屠殺し、管壁をヘパリンで処置した試験管に躯幹部からの血液をうけ、血清を分離、凍結し、後日 Van der Vies<sup>12)</sup>の方法に準じて測定した。

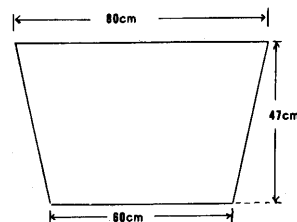
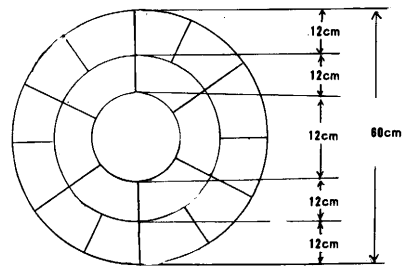
## 4) 抗炎症作用

上の実験とは別に、200gの Wistar 系雄ラット12匹を3群にわけ Sanfood ら<sup>13)</sup>の変法にて測定した。即ち

- i) 第1群 cortisol sodium succinate 15mg
- ii) 第2群 cortisol-21-sulfate 15mg
- iii) 第3群 対照として生食水 1.0ml

をそれぞれ生食水で1.0mlとなるように調整し、50mgの木綿球を各液に浸した後、各々背部皮下に埋没し、さらに各群にそれぞれ1.0mlを背部皮下に連日、総計105mgを投与、7日後に屠殺し、木綿球を一昼夜

Fig. 2. Schematic drawing of apparatus for open field test.



乾固し、各重量を測定した。

## II. 実験成績

### 1. ambulation

図3に示すように cortisol 群では第11試行(54日令)を除いたすべての試行で対照群よりも増加する傾向にあり、なかでも第5試行(37日令)、第7試行(43日令)、第8試行(45日令)、第10試行(50日令)、第13試行(58日令)、第14試行(73日令)で図中\*印で示すとおり有意の上昇が認められた(U test  $P < 0.05$ )。なお分散分析の結果、全体をとおしての両群間の ambulation の変動には有意の差が認められた( $F(1.18) = 7.78$   $P < 0.005$ )。

cortisol-21-sulfate群では第11試行(54日令)以外のすべての試行で対照群よりも高い値を示し、なかでも第11試行(54日令)、第12試行(56日令)、第14試行(73日令)を除いたすべての試行で有意の上昇を示した(U test  $P < 0.05$ )。なお分散分析の結果、両群間の ambulation の変動には有意の差が認められた( $F(1.18) = 39.34$   $P < 0.005$ )。

cortisol と cortisol-21-sulfate の両群間では第2試行(30日令)から第9試行(47日令)まで cortisol-21-sulfate 群に増加の傾向がみられるが有意の差は認められず、分散分析でも両群間に有意の変動はなかった( $F(1.18) = 1.92$   $P > 0.05$ )。

### 2. rearing

図4に示すように cortisol 群ではすべての試行

を通じて対照群よりも高い値を示し、なかでも第3試行(32日令)、第5試行(37日令)、第7試行(45日令)、第13試行(58日令)で有意の増加が認められた(U test  $P < 0.05$ )。なお分散分析の結果、両群間の rearing の変動には有意の差が認められた( $F(1.18) = 12.16$   $P < 0.05$ )。

cortisol-21-sulfate 群でもすべての試行において対照群よりも高い値を示し、なかでも第3試行(32日令)、第5試行(37日令)から第8試行(45日令)、第10試行(50日令)、第13試行(58日令)で有意の上昇が認められた(U test  $P < 0.05$ )。なお分散分析の結果、両群間の rearing の変動には有意の差が認められた( $F(1.18) = 19.86$   $P < 0.005$ )。

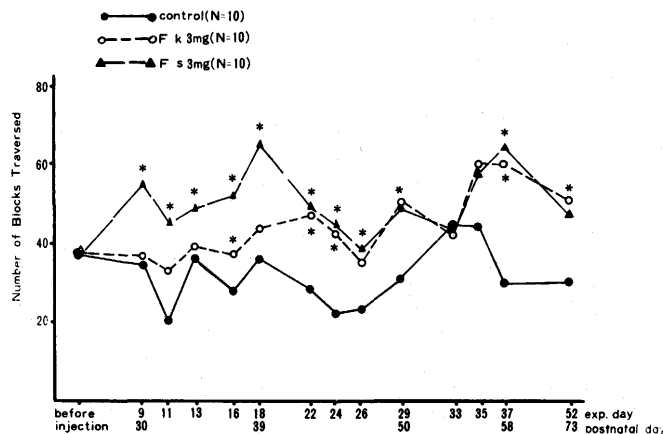
cortisol 群と cortisol-21-sulfate 群の両群間では第5試行(37日令)から第10試行(50日令)まで cortisol-21-sulfate 群に高い傾向がみられたが有意の差はなかった。

### 3. preening

図5に示すように cortisol 群では対照群に比べて、既に第1試行(21日令)で低下し資料の解析は困難であるが、第5試行(37日令)、第11試行(54日令)では有意の上昇が認められた。しかしながら全体としての変動のパターンには ambulation や rearing のような明確な差は認められなかった。

cortisol-21-sulfate 群では第2試行(32日令)から第5試行(37日令)まで対照群より高値(うち第5

Fig. 3. Effects of cortisol(Fk) and cortisol sulfate(F-S) (3mg, every other day) on mean ambulation scores in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney Utest)

試行値のみ有意)を示しているが、以後の試行では対照群と同様の変動を示し、全体としての変動パターンにも明らかな差はなかった。

cortisol 群と cortisol-21-sulfate 群の間の変動パターンにも有意の変化はなかった。

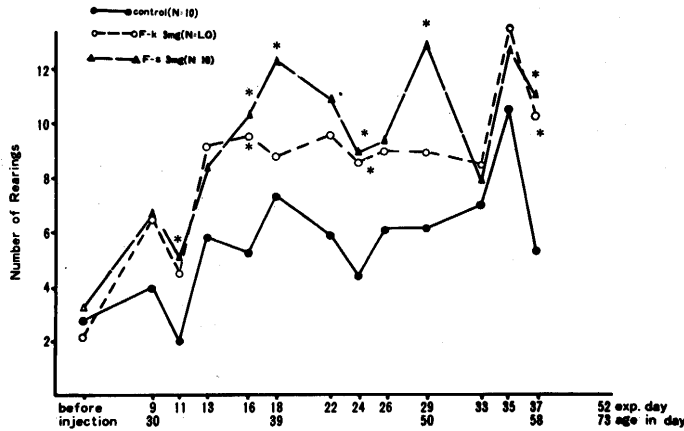
しかしながら群内でみても、三者ともに第1試

行値に比べ、第2以降の試行値は高い値を示し、試行を重ねるごとに上昇傾向が認められた。

#### 4. grooming

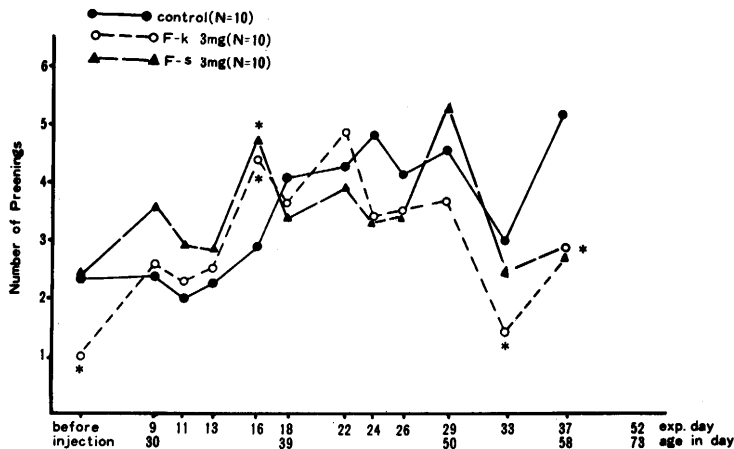
cortisol, cortisol-21-sulfate 及び対照群の3群とも grooming の出現回数は少なく一定の傾向は認められなかった。

Fig. 4. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S)(3mg, every other day) on mean rearing scores in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group (\* $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)

Fig. 5. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) (3mg, every other day) on mean preening scores in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)

5. defecation

cortisol 及び cortisol-21-sulfate の両群は共に対照群より低い傾向にあったが、推計学的に3群間に有意の変化は認められなかった。又3群共に試行を重ねるごとに減少の傾向を示した。

6. 体重増加

図6に示すように cortisol 群では投与後13日より対照群に比べて有意の低下がみられ、体重増加抑制は日を追って著明となった。

他方、cortisol-21-sulfate 群では対照群との間に有意の変化は認められなかった

7. 主要臓器重量

表1に示すように cortisol 群では対照群に比べて胸腺、脾、副腎の各重量に有意の減少(U test それ

ぞれ $P < 0.005, 0.02, 0.05$ )が認められた。

cortisol-21-sulfate群では脾、副腎に有意の差は認められなかったが、胸腺重量に有意の増加(U test  $P < 0.05$ )が認められた。

8. 肝グリコーゲン、肝トランスアミナーゼ及び血漿コルチコステロン

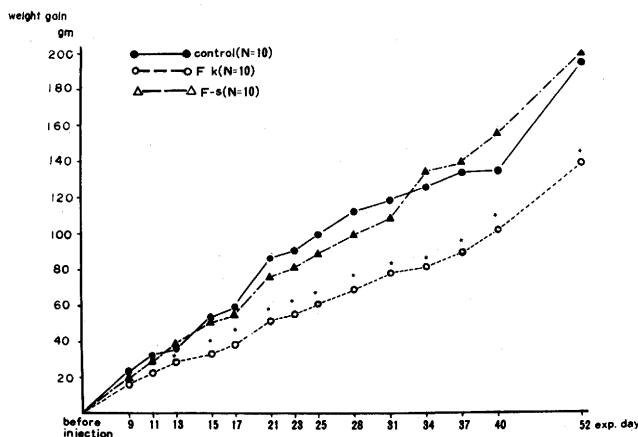
表2に示すように cortisol 群では肝グリコーゲン、肝トランスアミナーゼに有意の増加(U test それぞれ $P < 0.02, 0.02$ )がみられ、血漿コルチコステロンは有意の低下(U test  $P < 0.005$ )が認められた。

cortisol-21-sulfate群では対照群との間に有意の変化は認められなかった。

9. 抗炎症作用

表3に示すように cortisol 群では対照群に比べ

Fig. 6. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) (3mg, every other day) on body weight gain.



\* Significant inhibition of weight gain compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)

Table 1 Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate on organ weight.

Treatment	No. of rats	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal (mg)	Spleen (g)	Thymus (mg)
Fk	6	4.70 ± 0.20	0.82 ± 0.03	11 ± 4*	0.15 ± 0.05**	35 ± 12***
F-S	7	4.37 ± 0.31	0.76 ± 0.07	16 ± 4	0.19 ± 0.03	124 ± 13
Control	6	4.50 ± 0.35	0.79 ± 0.10	15 ± 4	0.19 ± 0.02	107 ± 17

Mean ± standard deviation

Significant difference vs control was calculated

by Mann-Whitney U test : \* =  $P < 0.05$ ; \*\* =  $P < 0.02$ ; \*\*\* =  $P < 0.005$ .

て木綿球重量の有意の減少がみられたが, cortisol-21-sulfate 群では対照群との間に有意の差は認められなかった。

### Ⅲ. 小 括

1. cortisol 及び cortisol-21-sulfate 投与による open field test においては ambulation や rearing などの exploratory behavior (探索行動) は亢進するが, 他のパラメーターでは有意の変化は認められなかった。

2. cortisol 投与では糖新生, 蛋白異化, リンパ組織萎縮, 下垂体抑制, 抗炎症作用などの glucocorticoid 作用が著明であったが, cortisol-21-sulfate 投与ではこれらの身体的変化は全く認められなかった。

### 〔Ⅱ〕cortisol 及び cortisol-21-sulfate の効果と日令との関係について

本実験では cortisol 及び cortisol-21-sulfate の投与により行動上及び身体上の変化に幼若ラットと成熟ラットでいかなる差があるかを観察した。

#### I. 実験方法

実験対象は生後24日の Wistar 系雄ラット42匹 (幼若ラット群) と生後45日の同系雄ラット30匹 (成熟ラット群) である。これらを実験 I と同様各々3群

にわけ, 幼若ラットでは生後25日より生後43日まで, 成熟ラットでは生後46日より61日まで隔日に

1. 第1群 cortisol 3mg
2. 第2群 cortisol-21-sulfate 3mg
3. 第3群 対照として溶媒のみ1.0ml

を投与し, その間 open field test を行い, 終了後断頭屠殺し, 臓器重量, 肝グリコゲン, 肝トランスアミナーゼ及び血漿コルチコステロンを前回同様の方法で測定した。

#### Ⅱ. 実験成績

##### 1. 幼若ラットにおける成績

##### 1) ambulation

図7に示すように cortisol 群では第2試行 (26日令) より第6試行 (35日令) まで対照群より増加する傾向がみられ, なかでも第3試行 (28日令) から第5試行 (33日令) まで有意の差が認められた (U test  $P < 0.05$ ). しかし以後の試行では対照群と類似した変動を示した。

cortisol-21-sulfate 群では対照群と比べて第5試行 (33日令) 以降すべての試行 (第6試行値を除く) で有意の上昇を示した (U test  $P < 0.05$ ).

cortisol 群と cortisol-21-sulfate 群では第6試行 (35日令) までは両群類似した変動を示したが, 第

Table 2 Effects of Cortisol(Fk) and Cortisol Sulfate(F-S) on Hepatic Glycogen, Hepatic Transaminases, and Plasma Corticosterone

Treatment	No. of rats	Hepatic glycogen (mg/g Wet tissue)	Hepatic (10 <sup>3</sup> Unit/g wet tissue)		Plasma corticosterone (μg/100ml plasm)
			GPT	GOT	
Fk	6	1964 ± 598*	1832 ± 512*	1432 ± 250*	8.4 ± 1.7**
F-S	7	850 ± 336	1202 ± 158	952 ± 129	30.3 ± 5.0
Control	6	710 ± 314	1256 ± 180	874 ± 86	33.5 ± 8.7

Mean ± Standard Deviation

Significant difference vs control was calculated

by Mann-Whitney U test: \* =  $P < 0.02$ ; \*\* =  $P < 0.005$ .

Table 3 Anti-inflammatory effects of cortisol and cortisol sulfate

Steroid administrated	total dose (mg)	No of rats	Mean dry cotton pellet (mg, ± S.D)
0	0	4	73.0 ± 13.4
Cortisol sodium succinate	105	4	47.8 ± 9.4
Cortisol sulfate	105	4	83.3 ± 14.3

7 試行 (38日令) 以降は cortisol-21-sulfate 群が有意の上昇を示した (U test  $P < 0.05$ ). cortisol, cortisol-21-sulfate 及び対照群の 3 群間の分散分析の結果, 全体をとおしての変動パターンには有意の差が認められた ( $F(2.39) = 3.26$   $P < 0.025$ ).

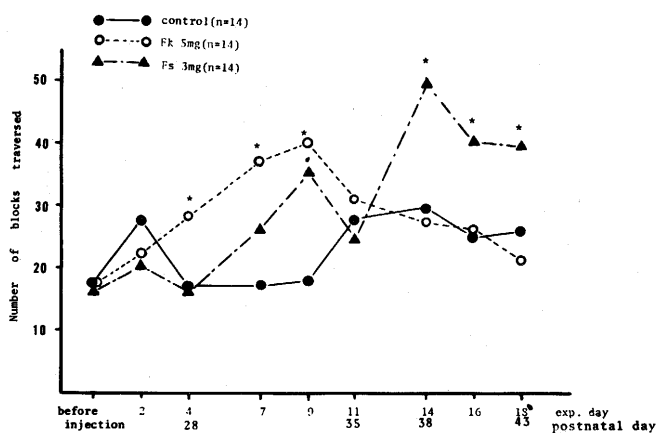
## 2) rearing

図 8 に示すように cortisol 群では第 4 試行 (31

日令) と第 5 試行 (36日令) で対照群より有意の増加が認められた (U test  $P < 0.05$ ). しかしその他の試行では対照群と同じ変化を示した.

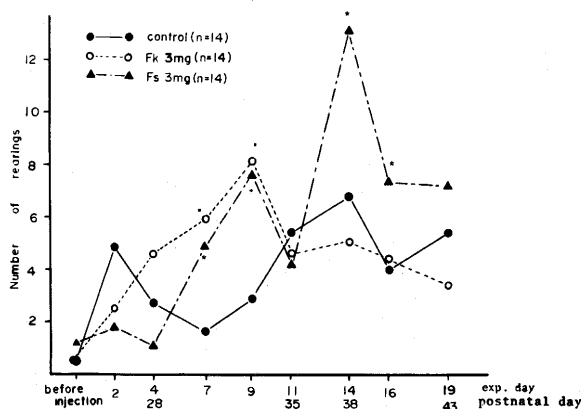
cortisol-21-sulfate 群では第 4 試行 (31日令) 以降においては, 第 6 試行 (35日令) を除いたすべての試行で対照群より増加する傾向にあり, なかでも第 4 試行 (31日令), 第 5 試行 (33日令), 第 7 試行 (38日

Fig. 7. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) (3mg, every other day) on mean ambulation scores of "young" rats in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)

Fig. 8. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) (3mg, every other day) on mean rearing scores of "young" rats in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)



令), 第8試行(40日令)で有意の上昇が認められた(U test  $P < 0.05$ ).

cortisol, cortisol-21-sulfate 及び対照群の3群間の分散分析の結果, 3群の rearing の変動パターンには有意の差が認められた( $F(2.39) = 3.78$   $P < 0.025$ ).

### 3) その他の行動上のパラメーター

preening では3群ともに類似した変動を示し全経過をとおして基礎値である第1試行値より高い値を示した.

defecation では cortisol 及び cortisol-21-sulfate の両群は共に対照群より低い傾向を示し, 試行を重ねるごとに減少傾向を示した.

grooming は出現頻度がきわめて少なく, 3群間に一定の傾向はみられなかった.

### 4) 主要臓器重量

cortisol 群では胸腺, 脾, 副腎の各重量に有意の減少(U test それぞれ $P < 0.002, 0.005, 0.05$ )がみられた.

cortisol-21-sulfate 群では胸腺, 脾, 副腎の各重量に有意の変化はなく, むしろ胸腺重量の増加傾向が認められた.

## 2. 成熟ラットにおける成績

### 1) ambulation

図9に示すように cortisol 群, cortisol-21-sulfate 群は共に対照群と類似した変動を示し, 3群間に有意の差は認められなかった. また分散分析の結果でも3群間に有意の差は認められなかった( $F(2.2$

$7) = 0.147$   $P > 0.05$ ).

### 2) rearing

図10に示すように rearing でも ambulation と同様に3群間に有意の変化は認められなかった.

### 3) その他の行動上のパラメーター

preening は3群共に類似した変動を示し有意の変化は認められなかった. また defecation でも3群間に有意の変化は認められなかった. grooming は出現頻度はきわめて少なく, かつ3群間に一定の傾向は認められなかった.

### 4) 主要臓器重量

表4に示すように cortisol 群では対照群に比べて胸腺, 脾, 副腎の各重量に有意の減少(U test それぞれ $P < 0.005, 0.02, 0.05$ )が認められたが, cortisol-21-sulfate 群ではそれらに有意の変化はなく, むしろわずかながら胸腺重量の増加傾向がみられた.

### 5) 肝グリコゲン, 肝トランスアミナーゼ及び血漿コルチコステロン

表5に示すように cortisol 群では肝グリコゲン, 肝トランスアミナーゼに有意の上昇(U test  $P < 0.02, 0.005$ )がみられ, 血漿コルチコステロンに有意の低下(U test  $P < 0.002$ )が認められた.

cortisol-21-sulfate 群では三者共に有意の変化はなかった.

## III. 小 括

1. 幼若ラットにおける成績は実験Iと同様であった. しかし ambulation におよぼす影響については

Fig. 9. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) (3mg, every other day) on mean ambulation scores of "adult" rats in the open field.

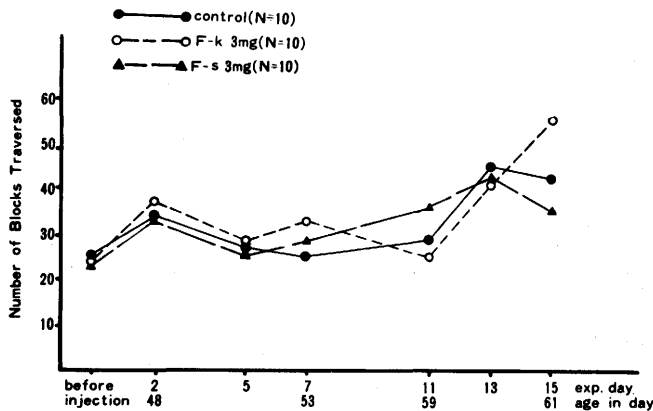


Fig. 10. Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) (3mg, every other day) on mean rearing scores of "adult" rats in the open field.

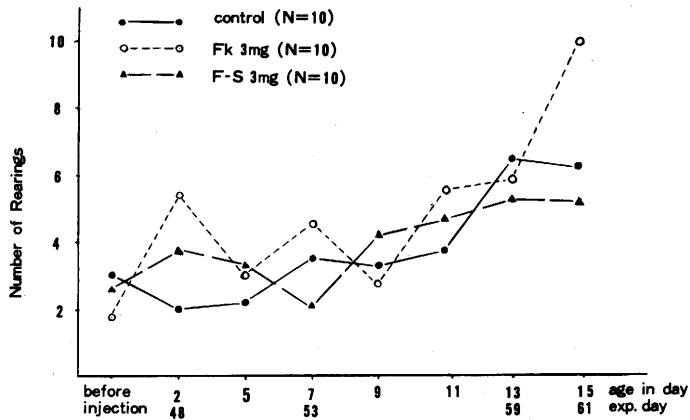


Table 4 Effects of cortisol (Fk) and on organ cortisol sulfate(F-S) weights

Treatment	No. of rats	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal (mg)	Spleen (g)	Thymus (mg)
Fk	6	4.88±0.55	1.27±0.15	14±3*	0.15±0.04**	30±8.6***
F-S	7	3.40±0.14	0.89±0.04	20±4	0.29±0.01	303±46.5
Control	7	3.49±0.14	0.90±0.09	21±4	0.35±0.03	256±42

Mean± standard deviation

Significant difference vs control was calculated

by Mann-Whitney U test: \* = P<0.05; \*\* = P<0.02; \*\*\* = P<0.005.

Table 5 Effects of cortisol (Fk) and cortisol sulfate (F-S) on hepatic glycogen, hepatic transaminases, and plasma corticosterone

Treatment	No. of rats	Hepatic glycogen (mg/gWet tiss)	Hepatic (10 <sup>3</sup> Unit/g wet tissue)		Plasma corticosterone (μg/100ml plasm)
			GPT	GOT	
Fk	6	663±330	462±102	1039±197	7.65±1.49
F-S	7	299±67	201±30	651±52	24.17±9.00
Control	6	329±61	199±29	630±33	20.93±8.26

Mean± standard deviation

Significant difference vs control was calculated

by Mann-Whitney U test: \* = P<0.02 ;\*\*= P<0.005.

cortisol-21-sulfate の方がむしろ著明かつ持続的であるような印象をうけた。

2. 成熟ラットにおいては幼若ラットにみられたような ambulation や rearing の亢進は認められなかった。しかし cortisol のいわゆる glucocorticoid 作用は成熟ラットでも幼若ラットと同じようにみられた。

### 〔Ⅲ〕微量 cortisol の効果について

実験Ⅰ、Ⅱの成績は cortisol 及び cortisol-21-sulfate の 3mg を隔日に投与するという大量投与での作用である。特に cortisol-21-sulfate の作用についてはそれ自体によるものか、あるいは大量に投与された cortisol-21-sulfate が体内で水解されて glucocorticoid 作用を示さない程度の微量の cortisol に変化して作用するのかについては明らかでない。そこで 3~30 $\mu$ g の微量の cortisol を投与して同様の実験を行った。

#### Ⅰ. 実験方法

対象として Wistar 系雄ラットを用い、一群 8 匹ずつを 3 群にわけ、生後 24 日より各群に cortisol をそれぞれ 3~30 $\mu$ g をピーナツ油懸濁として、対照にはピーナツ油のみ 1.0ml をそれぞれ背部皮下に、生後 63 日まで隔日に投与した。cortisol の投与総量はそれぞれ 39 $\mu$ g、390 $\mu$ g であった。open field test は生後 26 日より生後 63 日まで 12 回試行した。

## Ⅱ. 実験成績

### 1. ambulation

図 11 に示すように 30 $\mu$ g 投与群では第 8 試行 (43 日令) で有意の減少が認められた (U test  $P < 0.05$ )。しかしその他の試行では対照群と類似の変動を示した。

一方、3 $\mu$ g の投与では第 5 試行 (35 日令) から第 6 試行 (38 日令) で有意の増加が認められた (U test  $P < 0.05$ )。しかし他の試行は対照群と類似した変動を示した。分散分析の結果、3 $\mu$ g 群、30 $\mu$ g 群、対照群の 3 群間に有意の差は認められなかった。

### 2. rearing

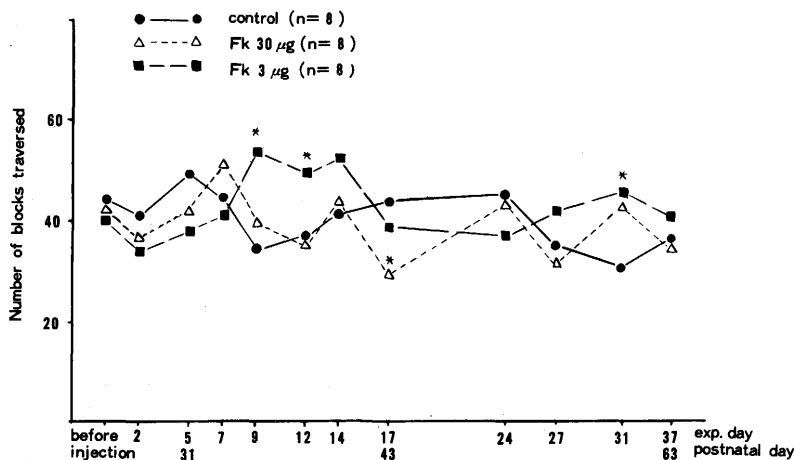
図 12 に示すように 30 $\mu$ g 投与群では第 12 試行 (57 日令) で有意の上昇 (U test  $P < 0.05$ )、又 3 $\mu$ g 投与群では第 8 試行 (38 日令) で有意の低下 (U test  $P < 0.05$ ) が認められたのみで、その他の試行では有意の差は認められなかった。

### 3. その他の行動上のパラメーター

preening では 3 群共に類似した変動を示し、全経過をとおして基礎値より高い傾向を示した。defecation では 30 $\mu$ g 群、3 $\mu$ g 群、対照群共に類似した変動を示し、3 群間に有意の差は認められなかった。grooming は出現頻度がきわめて少なく、かつ 3 群間に一定の傾向は認められなかった。

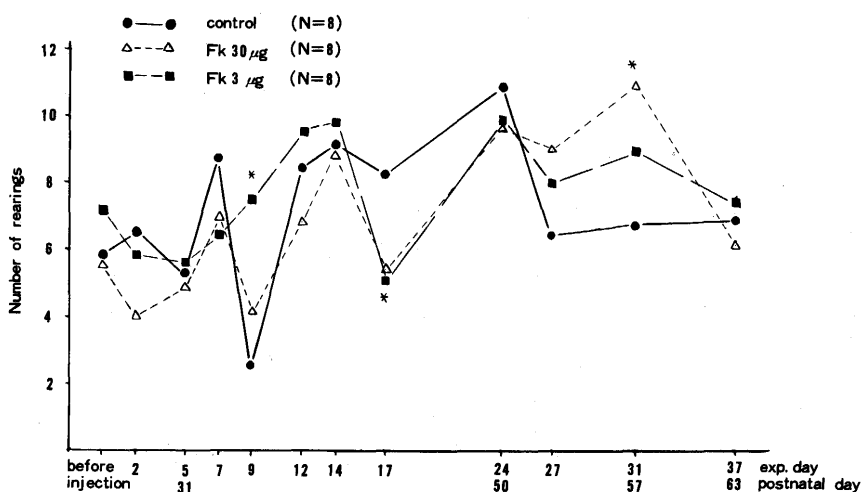
### 4. 主要臓器重量

Fig. 11. Effects of cortisol (Fk) (30 $\mu$ g and 3 $\mu$ g, every other day) on mean ambulation scores in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)

Fig. 12. Effects of cortisol (Fk) ( $30\mu\text{g}$  and  $3\mu\text{g}$ , every other day) on mean rearing scores in the open field.



\* Significant increase in the activity compared with control group ( $P < 0.05$  by Mann-Whitney U test)

cortisol  $30\mu\text{g}$ 投与群では対照群に比べて胸腺重量の有意の低下 (U test  $P < 0.05$ ) がみられたが、脾、副腎の各重量に有意の差は認められなかった。

cortisol  $3\mu\text{g}$ 投与群では各臓器重量に有意の差は認められなかった。

### Ⅲ. 小 括

1. cortisol  $30\mu\text{g}$ 投与では open field test での rearing や ambulation 及びその他の行動上のパラメーターに何らの影響もみられなかったが、一部の glucocorticoid 作用は認められた。

2. cortisol  $3\mu\text{g}$ 投与では open field test での行動学的変化及び glucocorticoid 作用は認められなかった。

3. 以上の知見は cortisol-21-sulfate が体内で水解されて微量の遊離型 cortisol となる可能性を否定するものと考えられる。

### 考 察

#### 1. cortisol 及び cortisol-21-sulfate の代謝作用

cortisol では実験Ⅲに述べたように  $30\mu\text{g}$ の投与で、すでに胸腺萎縮など一部の glucocorticoid 作用が認められた。しかし cortisol-21-sulfate では実験Ⅰ、Ⅱに述べたように  $3\text{mg}$ の大量投与でも糖新生作用、蛋白異化作用、下垂体抑制作用、リンパ系萎縮

作用、抗炎症作用などの glucocorticoid としての代謝作用は全く認められなかった。以上の知見から、cortisol-21-sulfate は代謝調節のホルモンとしては不活性であり、又ラット体内で cortisol-21-sulfate が水解されて cortisol を生じて systemic な代謝作用を発揮する可能性も少ないものと考えられる。

#### 2. cortisol 及び cortisol-21-sulfate の locomoter activity に与える影響

下垂体副腎系と一般活動性の関係について、Richter<sup>4)</sup> は副腎摘出により低下した running wheel activity は副腎皮質ステロイドの投与により回復すること、下垂体摘出動物でも初期には activity が抑制されることなどを報告し、又 Pedersen-Bjergaard ら<sup>4)</sup> は cortisol の投与により activity level は上昇すること、去勢ラットあるいは副腎摘出によって低下した activity を cortisol は上昇させるという成績を発表し、さらに最近 Kendall<sup>5)</sup> は経口的に dexamethasone を投与すると夜間の running wheel activity は著明に亢進するとし、Beatty ら<sup>15)</sup> も皮下投与でやはり activity が亢進することを認めている。

このような corticosteroid の locomoter activity に対する亢進作用の機序として、(1). glucocorticoid の全身的な代謝作用 (例えば異化作用など) による、(2). ACTH に対する negative feed ba-

ck を介して作用する。(3). 中枢神経系に対して直接作用するという三つの点が考えられている。第1の可能性について Beatty ら<sup>15)</sup> は1) 1日だけ dexamethasone を投与しても running wheel activity に有意の上昇は認められないが、4日間連続投与を行うと、2日目より出現する activity の亢進は体重減少とよく相関すること。2) 飢餓ラットでも同様の activity の亢進作用がみられることなどより、dexamethasone による activity の亢進作用は食事摂取量及び体重減少にみられるようにステロイドの異化作用によるものではないかと推論している。同じように Leshner<sup>16)</sup> も cortisone 投与後のラットの死体脂肪の減少と activity の亢進が並行していることより、この亢進作用は異化作用による可能性が強いと述べている。しかしながら、ステロイド投与でみられる体重減少を、人工的に抑制した上で、activity が亢進するか否かを見ることは実験上困難であるので、果して両者に因果関係があるのか、又は単なる共存現象であるのかについては判定にお慎重を要するところであろう。

第2の可能性については、Moyer, Bohus ら<sup>17)~19)</sup> 及び Weijnen ら<sup>20)</sup> は ACTH 及びその fragment である ACTH<sub>1-10</sub> は open field での general activity に何ら影響を与えないことを認め、又 Kendall<sup>5)</sup> も feedback に関係の深い正中隆起に、全身的には全く影響を与えないほどの少量の cortisone を注入して ACTH を抑制しても activity には全く変化がないことを認めている。このような成績からすれば副腎皮質ステロイドによる activity の亢進が ACTH を介することは否定的であると思われる。

第3の可能性について、Kendall は卵巣摘出により低下したラットの running wheel activity は視床下部に estrogen を移入することにより回復するという Colvin ら<sup>21)</sup> の成績から、視床下部は running wheel activity に対して何らかの影響を持っているのではないかと推論している。又最近、後述するように、McEwen<sup>22)</sup> は情動の坐と考えられている海馬・扁桃に corticosteroid の binding receptor が存在することを確認しているが、このことは corticosteroid が直接中枢神経系に作用して locomoter activity を亢進させるという可能性を示唆する有力な知見と考えられる。

本実験では、glucocorticoid としての代謝作用が全くみられない cortisol-21-sulfate でむしろ cortisol より著明な locomoter activity の亢進

を示した。このことは cortisol-21-sulfate 及びおそらく cortisol の両者は直接中枢神経系に作用して locomoter activity を亢進させるのではないかと思われる。しかもその際興味のあることは、その作用が離乳直後の若い動物に投与した時にのみ現われる点である。離乳期が脳の形態的、生化学的発達や行動の形成の点で極めて重大な時期であること<sup>23)~25)</sup>などを考えると、本ホルモンの locomoter activity の亢進作用は何か脳の発達の時期と関連しているのではないかと考えられる。

### 3. open field test のパラメーターからみた cortisol 及び cortisol-21-sulfate 投与ラットの情動性

open field test は単なる locomoter activity だけを示すものではなく、その他のパラメーターを総合的にみることにより、novel environment におけるラットの情動特性を示すとされ<sup>26)</sup>、実験心理学や行動薬理学の領域でよく用いられている。一般に情動性の高まった状態でみられる行動特性として、嗅球摘出ラットにおいては ambulation の亢進、単独長期隔離飼育ラットでは、ambulation の亢進と preening の減少が主に観察され<sup>27)28)</sup>、又中隔野破壊ラットや、強力な電撃ストレスを与えた直後、あるいは数回の電撃ストレスで anxiety を亢進させた時に観察される、いわゆる freezing をきたしたラットにおいては、ambulation の減少と defecation の増加が認められている<sup>29)30)</sup>。しかし、open field test を用いて下垂体副腎系の内分泌環境が情動に与える影響についての観察は少ない。Moyer<sup>7)</sup>、Joffe ら<sup>8)</sup> などは副腎摘出ラットで defecation の特徴的な増加と ambulation の減少傾向を認め、これらの現象は ACTH の投与により何らの影響を受けないことを認めた。又 Fuller ら<sup>31)</sup> は、生後6~8週のマウスに cortisone acetate 0.5mg/20gm を2日間投与すると、ambulation は4日間連続的な上昇傾向を示すこと、又副腎摘出により低下した ambulation は cortisone により回復することを認めた。

本実験での cortisol 及び cortisol-21-sulfate の大量連続投与での成績では、ambulation や rearing は亢進するのに preening や defecation は対照と全く同様の動きを示した。つまり安定した情動性を備えながら ambulation や rearing などの exploratory behavior の亢進がみられるという特異な行動様式を示しているといえる。又この exploratory behavior は抗うつ剤投与時にみられる、いわゆる stereotype の亢進ではなくて<sup>32)</sup>、活動は質

的には正常ラットと同様で、量的に大である点に興味がある。

#### 4. 下垂体副腎系のその他の行動に与える影響

以上著者は副腎皮質ステロイド及びその硫酸抱合型が特異な情動作用を有することを見出したが、近年、下垂体副腎系がその他にも各方面にわたり動物の行動に大きな影響を与えることが明らかにされつつある。その中でも学習活動との関係についてはもっとも研究が進んでいる。Murphy, Millerら<sup>33,34</sup>、De Wied<sup>35</sup>はラットの条件回避反応 conditioning avoidance reaction(CAR)の学習において ACTH がその獲得に促進的に、又その消去に抑制的に働くことを明らかにし、さらに De Wied<sup>36</sup>は ACTH の CAR 消去の抑制は、副腎皮質刺激作用の全くない ACTH<sub>1-10</sub> fragment にも同様に見出されることを報告している。このことは ACTH 分子の中で行動上の作用を有する部分と、ステロイド産生に関与する部分が分離されることを示しており、ホルモンの持つ二つの作用、即ち代謝調節作用と行動科学的作用の関係を考える上にきわめて興味深い。

一方副腎皮質ステロイドについては、De Wied<sup>36</sup>、Greidous ら<sup>37</sup>により、このステロイドは ACTH と異なりむしろ反対方向、即ち学習獲得の抑制、CAR 消去の促進に働くことが示されている。

その他、動物が novel environment にさらされた時の順応反応としてとらえられる Habituation (慣れ) に対して ACTH やその fragment 及び  $\alpha$ -MSH などは抑制的に作用すること<sup>38</sup>、又攻撃性の亢進は cortisol により増強され、ACTH 投与により抑制されることなどが明らかにされつつある<sup>39</sup>。

このようなホルモンの、行動や情動におよぼす作用の具体的機序については今日なお不明である。しかし最近、McEwen<sup>22</sup>は corticosterone がニューロンの細胞核及び脳組織の可溶性蛋白と特異的に結合すること、特に海馬、扁桃など情動の坐として重視されている大脳辺縁系にステロイドの specific receptor が存在することを認めている。一方、情動や行動の調節に直接的役割を果たすと考えられる脳内の biogenic amine との関係については、corticosteroid は脳細胞のノルアドレナロン摂取を促進し、脳内のノルアドレナリンからアドレナリンへの転換を促進させ<sup>40</sup>、さらに tryptophan hydroxylase 活性を介して脳内セロトニン level の調節を行うことなどが明らかにされている<sup>41</sup>。これらの事実は corticosteroid の脳へのとり込みと脳における生化学的変化、ひいては情動や行動上の変化の間に密接な関係のあるこ

とを示唆している。

硫酸抱合型ステロイドについては現在のところ直接的な成績はないが、脳にとり込まれた硫酸抱合型が硫酸抱合のまま直接に作用するのか、あるいは脳内にその存在が証明されている steroid sulfatase により、脳の局所で分解され遊離型となって作用するか今後追求すべき問題であろう。

corticosteroid の硫酸抱合型の生理学的意義については今日ほとんど知られていない。従来、ステロイドホルモンの抱合は“活性型”である遊離型ホルモンを非活性型として排泄するための機転であるというのが一般的な考えであった。最近ヒトにおいて、胎生期や新生児期において硫酸抱合機転が盛んであり、corticosteroid のかなりの部分が硫酸抱合型として血中を循環し、排泄されることが明らかにされ、新生児期では成人における主な抱合機転であるグルグルン酸抱合系が未熟であるための代償的な現象であると説明されているが、硫酸抱合型にはこのような消極的意義しか有しないと断定するには疑問が残る。むしろ今回の cortisol-21-sulfate の幼若動物に対する著明な行動上の作用を考えると、発育の早期に積極的に作られる硫酸抱合型 corticosteroid は、その後の動物の行動形成に大きな影響をおよぼすことも考えられる。しかも硫酸抱合型 corticosteroid は、動物の成長に有害な glucocorticoid としての catabolic な作用を有していない点で“behavioral hormone”として甚だ有利な性質を有しているともいえる。果してこのような硫酸抱合型ステロイドの積極的な意義についての推論が妥当であるか否か、今後の研究に待たねばならない。

## 結 語

ラットに cortisol 及び cortisol-21-sulfate を投与し、open field test により両ホルモンの一般活動性に与える影響を観察し、併せてそれらの glucocorticoid 作用についても検討して、両者の作用特性を比較した。

1. cortisol では糖新生作用、蛋白異化作用、リンパ系萎縮作用、下垂体抑制作用、抗炎症作用などの glucocorticoid 作用が著明であったが、cortisol-21-sulfate ではこれらの作用は全く認められなかった。

2. cortisol 及び cortisol-21-sulfate には locomotor activity の亢進作用が認められたが、その作用は離乳直後より投与した時のみに認められ、その作用発現には一定の critical period の存在が示唆され

た。又これらの作用は cortisol-21-sulfate においてより著しい傾向であった。

3. 両ホルモンで惹起される行動特性として、安定した emotionality を備えながら、exploratory behavior が亢進するという特異な behavior を示した。

4. この cortisol-21-sulfate の行動作用については、glucocorticoid 作用を現わす程度の微量の cortisol にはこの行動作用は認められなかったので、硫酸抱合型から遊離した cortisol の二次作用によるものでなく、硫酸抱合型そのものの作用であることが明らかとなった。

従来、cortisol-21-sulfate は非活性型と考えられていたが、このホルモンには glucocorticoid 作用はなく、exploratory behavior を高める特異な作用があることが明らかにされた。つまり、本抱合型には metabolic effect と behavioral effect との解離がみられ、behavioral hormone として特異な生理学的意義が存する可能性が示唆された。

稿を終るにあたり、御懇篤なる御校閲を賜わった服部絢一教授に深謝致します。また直接御指導を戴いた宮保進助教授、並びに御助言を戴いた上野聖満講師に心から感謝致します。

本論文の要旨は、第12回日本精神身体医学会総会、第45回日本内分泌学会総会において発表した。

## 文 献

- 1) Mason, J. : Psychosom. Med., 30, 576 (1968).
- 2) Lisk, R. D. : Am. J. Physiol., 203, 493 (1962).
- 3) Peiffer, C. P. : Am. J. Anat., 58, 195 (1936).
- 4) Richter, C. P. : Endocrinology., 20, 657 (1936).
- 5) Kendall, J. W. : Horm. Behav., 1, 327 (1970).
- 6) Paul, C., & Havlena, J. : J. Psychosom. Res., 6, 153 (1962).
- 7) Moyer, K. E. : J. Genet. Psychol., 92, 17 (1958).
- 8) Joffe, J. M., Mulick, J. A. & Rasson, R. A. : Horm. Behav., 3, 87 (1972).
- 9) Hall, C. S. : J. Comp. Psychol., 22, 345 (1936).
- 10) Seifter, S., Dayton, S., Novic, B. & Muntwyler, E. : Arch. Biochem., 25, 191 (1950).
- 11) Reitman, S., & Frankel, S. : Am. J. Clin. Pathol., 28, 56 (1957).
- 12) Van Der Vies, J. : Acta. Endocrinol., 38, 399 (1961).
- 13) Sanfood, S. L., Morgan, E. R. & Silber, R. H. : Steroids., 1, 163 (1963).
- 14) Pedersen-Bjerggaard, K., & Tonnensen, M. : Acta. Endocrinol., 17, 329 (1954).
- 15) Beatty, W. W., Scouten, C. W. & Beatty, P. A. : Physiol. Behav., 7, 869 (1971).
- 16) Leshner, A. I. : Physiol. Behav., 65, 551 (1971).
- 17) Moyer, K. E., & Bunnell, B. N. : J. Genet. Psychol., 96, 375 (1960).
- 18) Bohus, B., & De Wied. : Science., 153, 318 (1966).
- 19) Bohus, B. : Progress in Brain Research, Vol 32., Pituitary, Adrenal and the Brain., p. 181. Amsterdam, Elsevier., 1970.
- 20) Weijnen, J. A. W. M., & Slangen, J. L. : ibid, P. 221.
- 21) Colvin, G. B., & Sawyer, C. H. : Neuroendocrinology, 4, 309 (1969).
- 22) McEwen, S. B. : Progress in Brain Research, Vol 39., Drug Effect on Neuroendocrine Regulation., p. 87. Amsterdam, Elsevier., 1973.
- 23) Altman, J., & Das, G. D. : J. Comp. Neurol., 124, 319 (1965).
- 24) Goldman, L., Winget, C., Hollingshead, G. W. & Levine, S. : Neuroendocrinology, 12, 199 (1973).
- 25) Schapiro, S., Geller, E. & Eduson, A. : Pro. Soc. Exp. Biol. Med., 109, 937 (1962).
- 26) 北中 勇 : 精身医投稿中
- 27) Karli, P., Vergness, M. : Com. Ren. Soc. Bil., 157, 372 (1963).
- 28) 五味田裕, 小川暢也 : 精神医, 13, 167 (1973).
- 29) Levine, S., & Madden, J. : Physiol. Behav., 10, 467 (1973).
- 30) Schwartzbaum, J. S., & Gay, P. E. : J. Comp. Physiol. Psychol., 61, 59 (1966).
- 31) Fuller, J. L., Chamber, R. M. & Fuller, R. P. : Psychom. Med., 18, 234 (1956).
- 32) Gupta, B. D., Dandy, M. L. & Gabba, A. K. : Eur. J. Pharm., 13, 341 (1971).

- 33) **Murphy, J. V., & Miller, R. E.** : J. Comp. Physiol. Psychol., **48**, 47 (1955).  
34) **Miller, R. E., & Ogawa, N.** : J. Comp. Physiol. Psychol., **2**, 211 (1962).  
35) **De Wied, D.** : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **122**, 28 (1966).  
36) **De Wied, D.** : Progress in Brain Research, Vol 32., Pituitary, Adrenal and the Brain., p. 200. Amsterdam, Elsevier., 1970.  
37) **Greidaus, T. B. W.** : *ibid.*, p. 185.  
38) **Endroczi, E.** : *ibid.*, p. 254.  
39) **Levine, S.** : Sci. Amer., **224**, 26 (1971).  
40) **Mass, J. W., & Mednieks, M.** : Science., **172**, 178 (1971).  
41) **Azmitia, E. C., & McEwen, B.** : Science., **166**, 1274 (1969).

## Abstract

Glucocorticoid and behavioral effects of both cortisol and cortisol-21-sulfate were studied in the male rat and compared with each other. Behavioral effects were evaluated by Hall's open field test.

1. Many doses of cortisol (3mg) showed significant glucocorticoid effects, such as catabolism, gluconeogenesis, and suppression to lymphoid tissue, ACTH and inflammation, but the same doses of cortisol-21-sulfate showed no such effects.

2. Many doses of cortisol and cortisol-21-sulfate (3mg) markedly stimulated locomotor activity, such as ambulation and rearing. Cortisol-21-sulfate seemed to be more potent than cortisol. The fact that such behavioral effects of these hormones were induced during a specific period of postnatal day 21-24 (soon after weaning) suggested that there was a critical period for these behavioral action.

3. (Characteristic effects of both corticosteroids were to enhance exploratory behavior with stable emotionality.

4. Since a small enough dose to develop its glucocorticoid effects, did show no behavioral effect, it became apparent that enhancing effects of cortisol-21-sulfate on behavior was mainly due to cortisol-21-sulfate itself and not to cortisol converted in vivo from cortisol-21-sulfate.

To sum up, it has been a traditional concept that cortisol-21-sulfate is inactive form. In this paper, however, it is clarified that cortisol-21-sulfate has a specific activity to enhance exploratory behavior but no glucocorticoid effect. Thus it can be concluded that this hormone may act as a behavioral hormone.

---