

ストレスにおけるセロトニン神経の役割

山内 兄人^{1,2}

(¹早稲田大学人間科学学術院, ²神経内分泌研究室)

【(当初の) 研究課題】

セロトニンを神経伝達物質としてもつセロトニン神経が下位脳幹の縫線核群を中心に豊富に存在し、脳と脊髄のほとんどの部位に神経線維を送っている。そのような縫線核群のセロトニン神経は感覚、行動、内蔵機能を制御している。

セロトニン神経は人間を含むすべての哺乳類の行動に重要な役割を持っており、セロトニン神経系の障害は行動に異常をきたす。ヒトにおいては精神的な活動にも強く影響を持ち、うつ状態はセロトニン神経系の活動の低下が一つの原因と考えられている。ストレス状態に伴い脳内セロトニンが変動することも知られている。

ストレスは体内、脳内に多くの異常をきたすが、生殖機能にも多大な影響がある。運動過多によるストレスは排卵周期に異常を生じさせたり、妊娠時ストレスが性分化や学習能力に異常をきたしたりすることが知られている。本研究の目的はラットを用いて、ストレスが生殖や学習などにおける脳機能や性分化に影響を及ぼす神経機序を明らかにするため、セロトニン神経、生殖機能、特に排卵メカニズムの基礎的解明と、セロトニン神経を豊富に持つ縫線核やセロトニン神経投射が多い大脳皮質のストレスに対する機能を調べることである。ストレスに対する雌雄差等も明らかにする。

【研究結果】

A 強制運動ストレスに対する縫線核セロトニン神経と前頭前皮質の役割

A-1. 過剰な運動訓練や強制走行はヒトの女性を含む雌哺乳類の正常な排卵周期(性周期)を妨げる。脳内のセロトニン量はストレス状態で変化する。脳内の50%以上のセロトニン神経を含む中脳縫線核がストレスによる排卵周期異常にどのような役割を持つかラットを用いて研究を進めた。中脳の背側縫線核と正中縫線核をそれぞれ高周波破壊(それぞれDRL, MRL)し、4日の正常性周期を持つ雌ラットを15日間連日30分電動回転かごに入れて強制走行させ、性周期の変化を陰スメアーの変化により同定した。その結果、27.3%の対照群ラットと30.0%偽手術群ラットで性周期異常が発現した。一方で、100% DRLラットと87.5%

MRLラットで性周期異常が発現し、これらは対照群、偽手術群に比べて有意に高かった($P<0.05$)。対照群と偽手術群のどちらの群でも、統計分析上、性周期異常の開始日の中央値は15日以上となった。DRL群とMRL群では、性周期異常の開始日はそれぞれ5日と3日であり、これらは対照群、偽手術群に比べて有意に短期間であった($P<0.01$)。これらの結果は、背側、正中の両縫線核がそれぞれ雌ラットの排卵制御に対するストレス状態の影響を妨げる重要な役割を持っているということを示唆している。この結果は論文として雑誌に掲載された(Shimizu and Yamanouchi, 2011)

ここで得られた結果は、脳内の中脳縫線核セロトニン神経がストレスに対する防御機能を持つことをはじめて具体的に示したものである。また、ストレスと脳の間接関係を研究する、動物モデルを作ったところにも大きな意義がある。

A-2. 前頭前皮質内側部は背側縫線核と正中縫線核からセロトニンの神経投射をうけており、精神状態に重要な役割をになっていることが知られている。結果2で述べたように、強制運動は排卵周期異常を生じさせるが、縫線核を破壊すると異常が早く生じる。同様に、雌ラット前頭前皮質内側部が運動ストレスによる性周期消失にどのように関わっているか調べるため、前頭前皮質内側部高周波破壊(mPFCL)、または外側部高周波破壊(IPFCL)を行い、実験1と同様に運動負荷をかけ、陰スメアー検査を行うことで、性周期消失までの期間、性周期消失の発現率、副腎、卵巣の重量、それに血中コルチコステロン量を調べた。

その結果、IPFCL群は33%に対しmPFCL群では80%以上が性周期異常になり異常開始もはやまった。副腎重量もIPFCL群は105mgに対し、mPFCL群は137mgと明らかに重くなった。一方、コルチコステロン量はmPFCLにより低下が見られた。副腎の組織検索ではmPFCL群では髄質が大きいようであった。したがって、mPFCはコルチコステロンの分泌に関わり、強制運動ストレスから排卵周期を正常に保つような働きをしているものと考えられる。神経科科学会で発表し、現在論文作成中である(Shimizu et al., 2012)

このように、縫線核のセロトニン神経と前頭全皮質内側部は排卵周期形成機構をストレスから防御する脳内メカニズムの重要な神経系であるということが動物実験で明らかにされた。

B セロトニン神経の雌雄差の解明

ストレスに対して雌雄差があることが多くの報告の中に見受けられる。Aでセロトニン神経がストレス防御に関わっていることが示されているが、その根底にセロトニン神経そのものに雌雄差があるかどうか本実験で明らかにした。

縫線核におけるセロトニン神経の性差を調べるため、セロトニン合成阻害作用をもつパラクロロフェニルアラニン(p-chlorophenylalanine; PCPA)を雌雄ラットに投与して中脳に存在する背側縫線核(DR)、正中縫線核(MR)および延髄に存在する大縫線核(RMg)のセロトニン免疫陽性細胞数を計測し比較した。

性腺除去した雌雄ラットをそれぞれ2群にわけ、半数に100mg/kg BWのPCPAを4日連続腹腔内投与した。半数には生理食塩水を同量投与した。最終投与の24時間後灌流固定し脳を摘出した。40 μ mの冠状凍結切片を作成しセロトニン抗体を用いて免疫組織化学的染色を行い、各縫線核に0.2mm四方の方形枠を作成し免疫陽性細胞数を計測し、密度に換算して比較した。

その結果、雌においてはDR, MR, RMgのいずれの部位においても免疫陽性細胞数はPCPA投与にかかわらずほぼ同数であった。一方雄では、PCPA投与群のDRおよびMRのセロトニン免疫陽性細胞数が対照群に比ベ有意に少なかった。雄のRMgにおいてはPCPA投与群とコントロール群に差は見られなかった。これらの結果は、PCPAを投与しても雌ラットの縫線核神経細胞体のセロトニン免疫染色性の低下が見られないこと、DRとMRにおけるセロトニン神経のPCPAに対する反応性に性的二型が認められるがRMgでは認められないことを示している。

ここで示されたセロトニン神経細胞の性質に関する性差や部位差はヒトにおける精神疾患やストレス応答の性差に関連すると考えられる。加えて、今回の実験で得られた結果はセロトニンに関連する薬物の投与には性差を十分考慮する必要性を示唆するものである。この結果は論文として掲載されている (Ito and Yamanouchi, K., 2010)。

C 視床下部におけるER α 発現に対するセロトニン神経の影響

セロトニン神経が、生殖機能制御に重要な働きをもつエストロゲン受容体(ER α)の脳内発現にどのように関わっているか、雌ラットでPCPAを投与して調べた。投与方法およびスケジュールはBの3と同じである。投与したラットの脳の凍結切片作成後、ER α 抗体を用いて免疫染色を行い、視索前野前腹側脳室周囲核(AVPV)、視床下部腹内側核(VMH)、弓状核(ARCN)に0.2mm四方の方形枠を作成し、免疫陽性細胞数を測定した。その結果、PCPA投与ラットのAVPVにおけるER α 免疫陽性細胞数が非投与群より多い傾向があったが、VMH、ARCNでは違いが見られなかった。セロトニンがER α の発現に抑制的に働いている可能性が示唆されたが、明瞭なものではなく、さらに研究を進める必要がある。この結果は、ルアンで行われた神経内分泌国際学会で発表した (Ito et al. 2010)。

D 排卵機構の性差形成とエストロゲン受容体

正常な生殖機能の発達はストレスに対し強いものとなる。齧歯類において生殖機能の性分化は周期のエストロゲンによって制御されており、エストロゲン受容体(ER)の発現は重要な因子である。ERのサブタイプにはER α とER β があるが、性分化における役割は明らかではなく、その点を明らかにするために、ER α 、ER β のそれぞれの作動剤であるPPTとDPNを出生5日の雌ラットに投与し、膣の開口日と性周期、雌特有の行動であるロードーシスを調べた。その結果、PPT投与で膣開口が早められ、性周期異常、ロードーシス低下がみられたが、DPN投与では高濃度の場合の性周期に少し異常がでたのみであった。これらの結果から、末梢生殖器系の発達、脳における性周期制御機構とロードーシス発現機構の雄性化にはER α が主な役割を担っていることが明らかになり論文として掲載された (Kanaya and Yamanouchi, 2012)。

E 研究結果公表のシンポジウム開催

第17回「性と生殖」公開シンポジウム「エストロゲンと本能行動」、国際会議場井深ホール：2011年12月4日。

第19回「性と生殖」公開シンポジウム「セロトニン神経系の機能と神経新生」、国際会議場第二会議室、2012年12月22日