

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 松脇 貴志

哺乳類では一般にストレスに暴露された場合、副腎皮質からのグルココルチコイド分泌が亢進して体内の恒常性の維持、ひいては生命の維持に必須の役割を果たしている。一方で、高レベルのグルココルチコイドは神経細胞死の誘起や視床下部機能の抑制など、中枢神経系に対して負の作用をもつことが数多く報告されている。しかし、筆者らの研究室では従来の研究により、ストレス時のグルココルチコイドは中枢神経系に対して保護的な作用をもつ可能性を提起している。そこで本研究においては、ストレス条件下におけるグルココルチコイドの脳の生殖制御機能や神経細胞の生存に対する作用とその機序を解析し、グルココルチコイドの中枢作用の生物学的意義を明らかにすることを目的とした。

第一章においては、腫瘍壊死因子 (TNF) - α 投与の黄体形成ホルモン (LH) 分泌に対する副腎摘出およびコルチコステロン (CS、げっ歯類におけるグルココルチコイド活性物質) 投与の効果を検討した。TNF- α により無処置ラットの LH 分泌はほとんど影響を受けなかったが、副腎摘出ラットでは LH 分泌が有意に抑制された。この抑制は CS を投与することで阻害された。神経興奮の指標である Fos タンパク質の発現を検討したところ、室傍核や視索上核において TNF- α による Fos 免疫陽性細胞数の増加が副腎摘出によって増強され、CS 補充によって抑制された。グルココルチコイドはストレス条件下でこれらの神経細胞の興奮を抑制し、LH 分泌を維持していることが示唆された。

第二章では、グルココルチコイドの作用のストレス特異性と、その機序の解明を目的とした。ストレス刺激としては感染、飢餓、拘束の 3 種類を用いた。その結果、全てのストレス条件下において LH 分泌抑制の副腎摘出による増強と CS 補充による緩和が見られた。また、プロスタグランジン類 (PGs) の合成阻害剤であるインドメタシンを投与した結果、全てのストレス条件下で CS と同等の LH 分泌維持作用が見られた。さらに、脳内の広範囲において全てのストレス条件下でシクロオキシゲナーゼ 2 (COX2、PGs 合成酵素) 免疫陽性細胞数の副腎摘出による増加と、CS 補充による減少が確認された。以上、PGs が各種のストレス刺激に共通の脳内ストレス仲介物質となること、またグルココルチコイドは PGs 合成を阻害することで生殖機能を維持することが示唆された。

第三章では、PG サブタイプの中でどの種が LH 分泌抑制を引き起こすのかを明らかにするため、PGD₂、PGE₂、PGF_{2 α} の脳室内投与を行なった。その結果、PGD₂ は LH パルス振幅の増大を、PGE₂ は LH の一過的な分泌促進を誘起し、PGF_{2 α} は LH 分泌に変化をもたらさなかった。次に PGE₂ と PGF_{2 α} を同時に投与したところ、LH 分泌の有意な抑制が見られた。これらの結果より、ストレス時に LH 分泌を抑制するのは PGE₂ と PGF_{2 α} であり、これらが

同時に作用した場合にのみ抑制作用を示すことが示唆された。

第四章では、拘束ストレスが中脳黒質ドーパミン (DA) ニューロンおよび運動機能に与える影響と、それらに対するグルココルチコイドの作用を検討した。実験には無処置もしくは副腎摘出した雄マウスを用いた。拘束ストレスにより、副腎摘出群では無処置群よりも重篤な運動機能の低下が観察されたが、CS あるいはインドメタシンにより運動機能の低下は緩和された。DA ニューロンの指標としてチロシン水酸化酵素 (TH) の免疫染色を行なった結果、拘束非負荷群の無処置および副腎摘出マウスの間には TH 免疫陽性細胞数に差は見られなかった。拘束ストレスは無処置マウスに対しては TH 免疫陽性細胞数に影響を及ぼさなかったが、副腎摘出マウスでは顕著な減少をもたらした。このような変化は、CS あるいはインドメタシンの前処置により阻害された。以上、拘束ストレスは PGs を介して DA ニューロンを傷害し運動機能を低下させること、またグルココルチコイドはそれを阻害して拘束ストレスによる運動機能の低下を緩和することが示唆された。

本研究により、様々なストレス刺激は脳の広範な部位で COX2 の発現を誘導し、PGs がストレス仲介物質となっていることが明らかとなった。一方で、ストレス刺激により大量に分泌されたグルココルチコイドは、COX2 の発現を抑制することにより脳の機能や神経細胞の生存を維持していることが示された。本研究は、従来、中枢神経系に対して負の作用をもつと考えられていたグルココルチコイドの生物学的作用の本質がストレス時の脳機能の保護にあることを示したものであり、グルココルチコイドの臨床応用にも新たな示唆を与えるもので、学術的、応用的意義は少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。