

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 馬 彦博

哺乳類では一般にストレスに暴露された場合、視床下部－下垂体－副腎（HPA）軸が活性化され、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。申請者の研究室では、様々なストレス刺激は脳内でシクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）の発現を誘導し、COX-2により合成されるプロスタグランジン（PGs）が各種ストレスの共通の仲介物質となっていることを明らかにした。さらに、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、COX-2の発現を抑制することによりストレス反応を制御していることが示された。しかし、各種のストレス条件下におけるCOX-2関連シグナルの制御機構や、そのHPA軸活性化に対する関与については十分に理解されていない。本論文では、感染ストレスモデルとしてリポ多糖（LPS）投与群、低血糖ストレスモデルとして2-デオキシグルコース（2-DG）投与群、および拘束ストレスモデル群の3群を設け、これらの急性ストレスに対する反応における視床下部COX-2関連シグナルの役割とその作用機序について解明することを目的とした。

第1章ではHPA軸活性化におけるCOX-2関連シグナルの役割を明らかにすることを目的に、ストレス負荷後0分、30分、120分の血中コルチコステロン濃度をラジオイムノアッセイで測定するとともに、視床下部のCOX-2、コルチコトロピン放出ホルモン（CRH）、膜結合型PGE2合成酵素（mPGES-1）、インターロイキン-1 β （IL-1 β ）のmRNA発現量をリアルタイムPCRで測定した。まず、非選択的COX阻害剤インドメタシンあるいはCOX-2選択的阻害剤NS398の血中コルチコステロン濃度に対する影響を調べたところ、LPSと拘束ストレスではこれらの阻害剤によりコルチコステロン濃度が有意に低下したが、2-DGでは阻害剤の効果が認められなかった。視床下部CRHのmRNA発現量はLPSと拘束ストレスでは有意な上昇が認められたが、コルチコステロンの投与によりこの上昇が抑制された。COX-2とその下流因子であるmPGES-1のmRNAの動態はほぼ同様で、インタクト群ではLPSにおいてのみ上昇が見られ、その発現は副腎摘出（ADX）やコルチコステロン投与によっても変化しなかったが、2-DGと拘束ストレスではADX群でのみ軽度な上昇が見られた。視床下部のIL-1 β mRNA発現量は、インタクト群ではLPSによってのみ有意な上昇が見られ、またストレスの種類に関わらずADX群ではその発現量が有意に高くなっていた。これらの結果より、LPSと拘束ストレスではHPA軸の活性化がCOX-2関連シグナルに依存しているが、2-DGでは他のストレスモデルよりもCOX-2関連シグナルに対する依存度が低いことが示唆された。さらに、拘束ストレスと2-DGでは内因性のグルココルチコイドがCOX-2関連シグナルの活性化を抑制しているがLPSでは抑制しないことが示され、その理

由として LPS では IL-1 β を介して COX-2 関連シグナルの活性化が起こるためであることが考えられた。

第 2 章では 3 種のストレス条件下での脳内の神経活動のパターンに COX-2 関連シグナルがどのように関与しているかを解明することを目的に、c-Fos の発現を免疫染色により調べた。その結果、全てのストレス条件下で特に視床下部の室傍核 (PVN) と視索上核 (SON) において c-Fos 陽性細胞数が有意に増加した。COX-2 選択的阻害剤 NS398 は全てのストレス条件下で PVN の c-Fos 陽性細胞数に影響を与えなかった。一方、SON においては LPS と拘束ストレスでは COX-2 阻害剤は c-Fos 陽性細胞数を増加させるが、2-DG は影響を与えないことが示された。これらの結果より、LPS と拘束ストレスでは COX-2 関連シグナルは HPA 軸に対して抑制的な作用をもつ PVN と SON のオキシトシンニューロンの興奮性を抑制することにより、HPA 軸の活性化に関与していることが考えられた。LPS と拘束ストレスにおいては第 1 章の結果から COX-2 阻害剤により PVN に存在する CRH ニューロンの興奮性は低下することが期待されるが、PVN の c-Fos 陽性細胞数に変化は認められなかったことから、これらのストレス条件下では COX-2 阻害剤は PVN の CRH ニューロンの興奮性を低下させるがオキシトシンニューロンの興奮性を上昇させるため、c-Fos 陽性細胞の全数に変化を生じないことが考えられた。一方、2-DG では COX-2 阻害剤によっても PVN と SON の c-Fos 陽性細胞の数に変化が認められなかったことから、他のストレスモデルよりも両神経核のニューロンの興奮性は COX-2 関連シグナルに対する依存度が低いということが示唆された。

以上のように、本研究において用いた全てのストレスにより潜在的には COX-2 関連シグナルの活性化が生じるが、その制御機構や HPA 軸の活性化における役割はストレスの種類により異なることが明らかとなった。これらの知見は各種のストレスに対する生体の対応メカニズムの解明に大きく貢献するとともに、ストレスに関連する病態の発生機構の解明や治療法の開発にも資するもので、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。