

## ストレスが変える視床下部の遺伝子

産業医科大学医学部第 1 生理学 上田陽一

### はじめに

ストレスによる生体の反応は、血圧・心拍数の増加、消化管運動の低下・亢進などの自律神経系を介した生体反応、視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸の賦活化による血中副腎皮質ホルモンの増加を代表とする内分泌反応および不安感などの感情の変化や拒食・過食などの行動の変容として生じる。

ストレスが引き起こす種々の生体反応は、脳内で変動する神経伝達物質および神経調節物質とそれらの受容体によって仲介される。代表的なものはノルアドレナリン、セロトニンなどの古典的神経伝達物質、および CRF をはじめとするストレスホルモンである。

視床下部は、脳底部に位置する小さな部位であるが、ストレスによる種々の生体反応を引き起こす重要な部位である。その中でも、とりわけ室傍核 (PVN) が、神経内分泌系と自律神経系の高次統合中枢として大切である。PVN は、解剖学的に見ると大細胞群と小細胞群から構成されており、大細胞群では、バゾプレッシン (AVP) およびオキシトシン (OXT) を産生し、その軸索を下垂体後葉に投射し、血中にそれらを分泌する。一方、PVN の小細胞群では、CRF および AVP が産生されており、正中隆起に投射した軸索終末からそれらが分泌され、下垂体前葉からの ACTH 分泌を引き起こす。また、PVN の小細胞群には、脊髄中間質外側核の交感神経節前ニューロンに軸索を投射している自律神経ニューロンが存在する。

### ストレスと前初期遺伝子群

中枢神経系において、前初期遺伝子群 (Immediate early genes : IEGs) の発現が神経活動の指標として汎用されている。ストレス研究においても、種々のストレス (例えば、拘束、疼痛、炎症、高張食塩水負荷など) に対する脳内 IEGs の発現動態についての比較研究が行われてきた。

IEGs を大別すると fos ファミリー遺伝子群 ( c-fos, fos-B, fra-1, fra-2 ), jun ファミリー遺伝子群 ( c-jun, jun B, jun D ), zinc finger ファミリー遺伝子群 ( NGFI-A (zif/268, egr-1, knox-24), NGFI-C, knox-20 ) およびステロイドホルモン受容体と相同性が高い遺伝子群 ( NGFI-B (nur/77) ) である。ストレスと神経内分泌系の研究では、c-fos 遺伝子発現を指標とした研究がもっとも多い。

そこで、急性浸透圧刺激後の神経内分泌系における IEGs の発現動態について、上記の IEGs ( c-fos, jun B, NGFI-A, NGFI-B ) を用いて比較検討した。実験には、ウイスター系成熟雄ラットを用いた。急性浸透圧刺激に、高張食塩水 ( 450, 600, 900 mOsm/kg ) を 2% 体重当たり腹腔内投与した。コントロールには等張食塩水 ( 290 mOsm/kg ) を投与した。それぞれの溶液を投与し、10、30、60 および 180 分後に断頭した。脳を取り出し、凍結脳切片を作成し、in situ ハイブリダイゼーション法により PVN における IEGs ( c-fos, jun B, NGFI-A, NGFI-B ) の mRNA 量を定量化した。さらに、AVP hnRNA の発現変化と比較した。また、体幹血を採取し、血中浸透圧およびナトリウム濃度を測定した。その結果、PVN におけるすべての IEGs 発現は、高張食塩水投与後 10 分で上昇し、30 分でピークに達した。血漿ナトリウムと IEGs mRNA あるいは AVP hnRNA は、回帰分析においてすべて有意な正の相関を示した ( 図 1 )。また、IEGs のうち c-fos mRNA の上昇率が AVP hnRNA の上昇率と最も近似していた。したがって、神経内分泌系において浸透圧ストレスに対する c-fos 遺伝子発現が最も AVP 遺伝子発現を反映していると思われる。

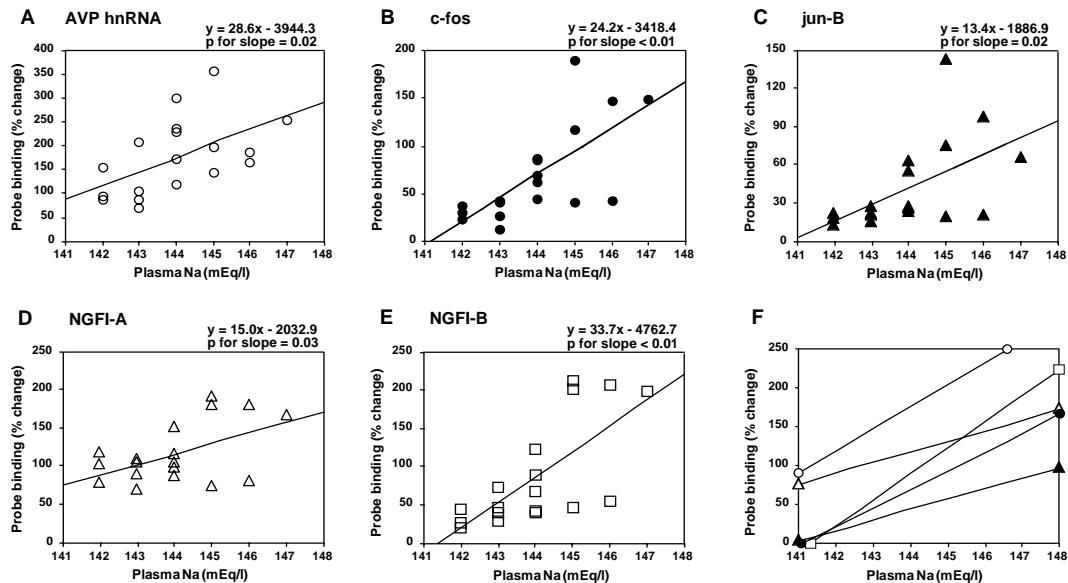


図1 血漿ナトリウムと PVN での IEGs mRNA あるいは AVP hnRNA との回帰分析

## ストレス反応と摂食関連ペプチド

ストレスが一過性の食欲低下・食欲亢進と慢性的な拒食・過食の原因もしくは誘因となることは経験的にもよく知られていることである。しかしながら、その脳内メカニズムの詳細は明らかではない。

最近、脂肪細胞が産生するレプチンを起点とする摂食抑制系と視床下部で産生されるニューロペプチド Y ( NPY ) を中心とする摂食促進系を軸とした研究が盛んに行われている。この中に、新規の摂食関連ペプチドが続々と登場してきた。例えば、オレキシン / ヒポクレチン、プロラクチン放出ペプチド、グレリンなどである。これらのペプチドは G タンパク質共役型受容体のうち、リガンドの不明なオーファン受容体の内因性リガンドとして同定された。最近、これらのペプチドが生体のストレス反応と深く関わっていることが明らかになりつつある ( 文献 1, 2 )。

### ・オレキシン

オレキシン-A、-B は細胞内カルシウム流入を指標にしてオーファン受容体 ( HFGAN72(OX1R), OX2R ) の内因性リガンドとして発見された。オレキシンの脳内分布を探索したところ、摂食中枢として知られる視床下部外側野とその周辺部にオレキシン産生ニューロンが局限していることが明らかとなり、摂食に関与することが考えられた。実際にラットやマウスの脳室内にオレキシンを投与すると摂食を誘起することから、ギリシャ語の "orexis" ( 食欲の意 ) を語源として命名された。

一方、末梢組織では、消化管や副腎髄質にオレキシンやその受容体が存在することが報告されている。これらの組織において、オレキシンは消化管運動やインスリン産生・分泌およびカテコラミン合成・分泌に関与しているようである。また、最近ではオレキシンもしくはオレキシン受容体異常がナルコレプシーの原因となることが明らかとなり、睡眠・覚醒とも関わりのある神経ペプチドとしても注目されている。

PVN の小細胞群には OX2R 遺伝子の豊富な発現が見られる。また、オレキシン産生ニューロンからの軸索の密な投射が見られる。したがって、オレキシンが PVN ニューロンを活性化し、HPA 軸の賦活に関与していることが予想された。そこで、オレキシ

ンと HPA 軸、およびオレキシンとストレス反応について検討した。実験には、ウイスター系成熟雄ラットを用いた。覚醒ラットの脳室内にオレキシン-A を投与し、PVN での c-fos 遺伝子および Fos 蛋白の発現、血中 ACTH およびコルチコステロンの変化を調べた。また、ストレス (拘束および寒冷刺激) 後のオレキシン産生ニューロンへの Fos 蛋白の発現について検討した。その結果、オレキシンを脳室内に投与すると PVN の小細胞群に c-fos 遺伝子および Fos 蛋白が発現し、血中 ACTH およびコルチコステロン濃度の増加が見られた。さらに、オレキシン-A をラット脳室内投与後、CRF と Fos 蛋白に対する抗体を用いて免疫組織化学的二重染色を行ったところ、PVN 小細胞群に存在する CRF 陽性ニューロンのうち約 96% に Fos 蛋白が見られ、コントロール (生理食塩水投与) では約 15% であった (図 2 A)。また、大脳辺縁系に位置する中心扁桃核に存在する CRF 陽性ニューロンのうち約 45% で Fos 蛋白が見られ、コントロールでは約 6% であった。さらに、拘束ストレス群では、オレキシン陽性ニューロンのうち約 24% に Fos 蛋白が見られ、コントロール群では約 3% であった。寒冷ストレス群では約 15% に Fos 蛋白が見られ、コントロール群では約 6% であった。以上より、中枢内オレキシンが PVN を介して HPA 軸を賦活化すること (文献 3)、大脳辺縁系を介した情動反応に関与すること、およびストレスにより脳内オレキシン系が活性化すること (文献 4) を明らかにした。

これまで、オレキシンによる HPA 軸の賦活化機構に視床下部弓状核のニューロペプチド Y 産生ニューロンが介在することや拘束や寒冷ストレスにより視床下部オレキシン mRNA が増加することが報告されている。また、オレキシンを覚醒ラット脳室内に投与すると顔洗い行動、毛づくろい行動および探索行動が増加し、これらの行動は CRF 拮抗薬の前投与で有意に抑制されることが報告されている。視床下部オレキシン系は脳内 CRF ニューロンの活性化を介して生体のストレス反応と深く関わっているようである。

#### ・ニューロメジン U

ニューロメジン U (NMU) はブタ脊髄から平滑筋を収縮させるペプチドとして 1985 年に同定された。十数年前に発見されていたにもかかわらずその生理作用が不明であったが、最近、オーファン受容体 (FM3, 4) の内因性リガンドとして同定されるに至り、近年注目されている。受容体は NMU1 および NMU2R と呼ばれている。NMU1R は末梢組織に、NMU2R は主に中枢神経系に存在する。脳内では NMU2R が視床下部 PVN や海馬 CA1 領域に多く分布している。NMU を脳室内に投与すると摂食抑制、活動量の増

加、体温の上昇が見られる。また、NMU のラット脳室内投与で血中 ACTH とコルチコステロンが増加する。CRH ノックアウトマウスでは、NMU 投与による活動量の増加が見られないことから、CRH もしくは HPA 軸を介した行動の制御に関与していることが示唆された。

我々は、オレキシンの場合と同様の実験により、覚醒ラット脳室内に NMU を投与すると、PVN に *c-fos* 遺伝子の発現が見られること、ACTH 分泌と同時に AVP および OXT の分泌も促進することを見出した。ただし、AVP の分泌反応に比べて OXT 分泌に対する効果の方が大きかった。さらに、NMU をラット脳室内に投与後、CRF と Fos 蛋白に対する抗体を用いて免疫組織化学的二重染色を行ったところ、PVN 小細胞群に存在する CRF 陽性ニューロンのうち約 97% に Fos 蛋白が見られ、コントロールでは約 1% であった (図 2 B)。また、中心扁桃核の CRF 陽性ニューロンでは Fos 蛋白陽性ニューロンは NMU 投与群、コントロール群いずれにもほとんど見られなかった。以上より、ラット脳室内に投与した NMU は HPA 軸と下垂体後葉系を賦活化することを明らかにした (文献 5, 6)。また、NMU のラット脳室内投与では扁桃体内の CRF ニューロンを活性化しないことは、オレキシシン-A をラット脳室内投与したときと異なる反応である。

NMU は、主に視床下部に存在し、絶食により減少し、NMU 投与により摂食が抑制される”摂食抑制ペプチド”である。”摂食促進ペプチド”であるオレキシシンと同様に”摂食抑制ペプチド”である NMU が HPA 軸を賦活することは興味深い。

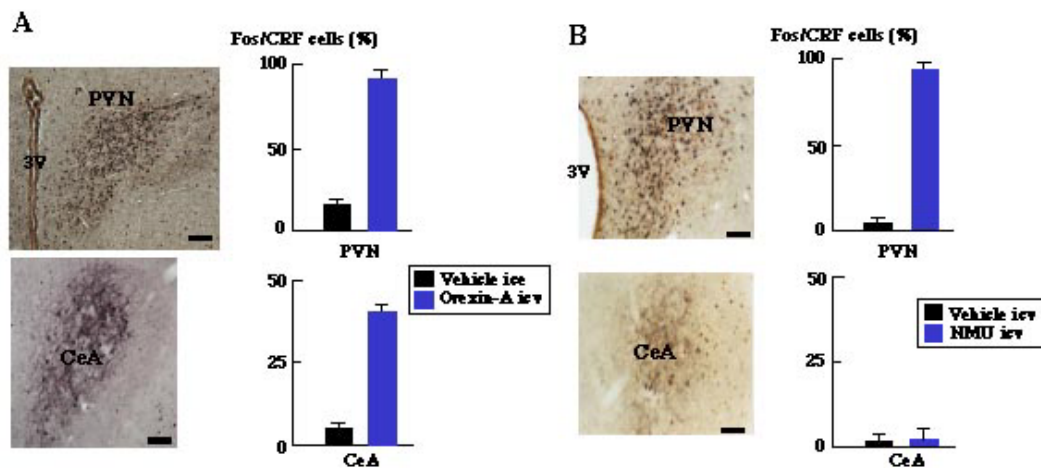


図 2 中枢内オレキシシンおよびニューロメジン U の CRF ニューロンへの作用  
覚醒ラットの脳室内のオレキシシン A もしくはニューロメジン U (NMU) 投与後、CRF

と Fos 蛋白に対する抗体を用いて免疫組織化学的二重染色を行い、室傍核 ( PVN ) および中心扁桃核 ( CeA ) で観察した。

## まとめ

ストレスに対する生体反応が生じる背景に、視床下部の遺伝子群の発現変化が起こっている。これらの変化は、生体がストレスに対して適応するための巧妙な仕組みなのかもしれない。今後、神経ペプチドを基盤としたストレス研究はおもしろい領域となることが期待される。

## 文献

1. 上田陽一、尾仲達史. ストレスと摂食関連ペプチド. 脳の科学 24:239-246, 2002
2. 藤原広明、上田陽一. ストレス時にうごく脳内ペプチド-新規 GPCR リガンドの場合 -. クリニカルニューロサイエンス 21: 990-992, 2003
3. Kuru M, Ueta Y, Serino R, Nakazato M, Yamamoto Y, Shibuya I, Yamashita H. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats. Neuroreport 11: 1977-1980, 2000
4. Sakamoto F, Yamada S, Ueta Y. Centrally administered orexin-A activates corticotropin-releasing factor-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and central amygdaloid nucleus of rats: possible involvement of central orexins on stress-activated central CRF neurons. Regulatory Peptides 118: 183-191, 2004
5. Ozaki Y, Onaka T, Nakazato M, Saito J, Kanemoto K, Matsumoto T, Ueta Y. Centrally administered neuromedin U activates neurosecretion and induction of c-fos messenger ribonucleic acid in the paraventricular and supraoptic nuclei of rat. Endocrinology 143:4320-4329, 2002
6. Yokota M, Ozaki Y, Sakamoto F, Yamada S, Saito J, Fujihara H, Ueta Y. Fos expression in CRF-containing neurons in the rat paraventricular nucleus after central administration of neuromedin U. Stress 7: 109-112, 2004