

Title	PACAP遺伝子欠損マウスを用いた海馬-HPA系の機能制御に関する研究
Author(s)	森田, 佳子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46527
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	もり た よし 子 森 田 佳 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学位記番号	第 20251 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	PACAP 遺伝子欠損マウスを用いた海馬-HPA 系の機能制御に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 馬場 明道 (副査) 教授 中川 晋作 教授 松田 敏夫 教授 東 純一

論 文 内 容 の 要 旨

ストレスは脳において認識され、神経的、神経内分泌的、行動的反応としてのストレス反応をひき起こす。ストレスにより活性化される脳部位は多岐にわたるが、神経内分泌的にはそれらの刺激はすべて視床下部に存在する室傍核 (PVN) に集約され、視床下部-下垂体-副腎系 (HPA-axis) を活性化し、最終的に副腎皮質からのグルココルチコイド分泌を誘導する。グルココルチコイドは末梢および中枢に作用し、ストレス反応に関与する。ストレス反応はホメオスタシス維持のための重要なシステムであるが、その過剰な発動は過負荷となり生体機能の異常をもたらす。

Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) は、下垂体の cAMP 産生促進を指標にヒツジ視床下部より単離・同定された神経ペプチドである。PACAP の一次構造は無脊椎動物から哺乳類に至るまで高度に保存されていることから、その作用が生体の機能維持に必須の役割を果たしていると考えられる。PACAP およびその受容体は中枢および末梢に広く分布し、それらは HPA-axis の関連各器官をはじめ、海馬、大脳皮質、扁桃核、縫線核など、ストレス応答性の脳部位にも強い発現が認められる。PACAP とストレスの関連については、HPA-axis 活性化を担うコルチコトロピン放出因子 (CRF)、アルギニンバソプレッシン (AVP)、コルチコトロピン (ACTH)、グルココルチコイドの全てのホルモンに対し、PACAP は産生あるいは分泌を促進すること、PACAP の脳室内投与がストレス様の行動変化を誘導することが報告された。これらの知見は PACAP のストレス反応への関与を推測させるものではあるが、内因性 PACAP の寄与を直接評価した報告はこれまでなされていない。そこで本研究では、当研究室で作製した PACAP 遺伝子欠損マウス (PACAP-KO) に様々なストレスを負荷し、その反応性を野生型マウスと比較することで、ストレス反応における PACAP の役割を評価した。

有機スズの一つであるトリメチルスズ (TMT) の高用量単回投与は、全身性の痙攣、血中コルチコステロン値上昇、体重減少のほか、マウスでは海馬歯状回領域選択的な神経細胞死、p-c-jun 発現、神経新生が誘導される。野生型マウスではこれら全ての反応が認められたのに対し、PACAP-KO マウスでは痙攣と神経新生の誘導のみが認められ、神経細胞死、p-c-jun 発現、体重減少、コルチコステロン値上昇は認められなかった。本研究により内因性の PACAP がある種のストレスによる HPA-axis の活性化に重要な役割を果たす可能性が初めて示された。

次に実験的に汎用されている種々のストレスに対する反応性を PACAP-KO マウスと野生型マウスで比較した。エーテル曝露に対する反応性を検討したところ、両マウスで同程度の麻酔作用が認められた一方、野生型マウスではコントロール群と比べて顕著なコルチコステロン上昇が認められたのに対し PACAP-KO マウスではこの反応性が全く

認められなかった。浸透圧ストレスとしての高張食塩水投与、強制水泳試験、拘束といったストレスによるコルチコステロン値上昇は野生型、PACAP-KO マウスともに認められ、その程度は PACAP-KO マウスでやや弱いものの両マウスで有意な差は認められなかった。次に慢性的なストレスの影響を調べるため、拘束ストレスを一日一時間連日負荷して体重変化を調べたところ、野生型マウスでは非負荷群と比較して有意な減少が認められたが、PACAP-KO マウスにおいては有意な変化は認められなかった。

PACAP-KO マウスに認められた特定のストレスに対する反応性減弱が、HPA-axis あるいはその上位調節部位のうちどの部位の障害を反映したものかを明らかにするため、HPA-axis 各部位の反応性、およびその調節機構について解析した。野生型マウスと PACAP-KO マウスは ACTH、CRF、AVP 投与に対し同様の用量反応性を示したことから、PACAP-KO マウスの副腎あるいは下垂体における上位ホルモンに対する反応性は障害されていないと考えられた。またこの実験において野生型マウスでは vehicle 投与 10 分後にコルチコステロン上昇がみられたが、PACAP-KO マウスではこの反応が消失していることが明らかとなった。視床下部における CRF および AVP の分泌を評価するために、エーテル曝露によるコルチコステロン上昇に対する両ホルモンのアンタゴニスト投与の影響を野生型マウスとヘテロ接合体マウスで比較した結果、PACAP がストレスによる視床下部 AVP の放出に寄与する可能性が示唆された。

海馬は HPA-axis の調節部位のひとつであり、グルココルチコイドの効果発現部位のひとつでもある。ストレス反応の不要な延長を抑えるネガティブフィードバックは、末梢のグルココルチコイドが海馬、大脳皮質、視床下部、下垂体に作用して CRF、AVP、ACTH の産生および分泌を抑制し、最終的にグルココルチコイド分泌を抑制する重要な調節系である。PACAP-KO マウスのネガティブフィードバックは正常であることが示された。また海馬におけるグルココルチコイドの二種の受容体、すなわちグルココルチコイド受容体 (GR) とミネラルコルチコイド受容体 (MR) の mRNA 発現量を調べた結果、PACAP-KO マウスは野生型マウスと比べて GR mRNA の発現が低いことが明らかとなった。

本研究における PACAP-KO マウスのストレス反応性解析により、内因性 PACAP が生体のストレス反応において重要な役割を果たす可能性が初めて証明された。PACAP-KO マウスに認められたストレス反応性の障害には、AVP 放出の減弱、GR を介したストレスシグナルの減弱が関与している可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

神経ペプチド PACAP は中枢神経系において神経伝達物質、神経伝達調節因子、神経保護因子として作用することが報告されている。

これまでの種々の知見から PACAP のストレス反応への関与が推測されている。しかしながら、内因性 PACAP のストレス制御系への関与を直接評価した報告はない。本研究では、PACAP 遺伝子欠損マウス (PACAP-KO) を用い、ストレス反応における内因性 PACAP の役割を評価した。まず、神経毒性を有するトリメチルスズ (TMT) に対する神経毒性を解析し、次にエーテル負荷をはじめとする実験的ストレスに対する反応性を神経内分泌的、および神経化学的な視点より解析し、視床下部・下垂体・副腎系およびその制御系のひとつである海馬の機能について解析した。

その結果、PACAP-KO の示すストレス系の表現型として以下の知見を明らかにした。

1. TMT 投与による体重減少、歯状回神経細胞死が減弱しており、その原因として海馬 p-c-jun 発現誘導およびコルチコステロン値上昇の消失を認めた。
2. TMT 投与、エーテル曝露、投与刺激によるコルチコステロン値上昇反応が消失していた。
3. 副腎、下垂体の機能は正常であるが、一方、視床下部からのアルギニンバソプレシン放出および海馬におけるグルココルチコイド受容体発現が抑制されていた。

以上の知見は中枢性ストレス反応制御における内因性 PACAP の関与を示し得たものであり博士 (薬学) の学位に値するものと判断する。