

平成 21 年 4 月 7 日現在

研究種目：基盤研究(C)  
 研究期間：2006-2008  
 課題番号：18590228  
 研究課題名（和文） 視索前野 GABA 感受性かつ GABA 作動性ニューロンによる熱産生調節機構  
 研究課題名（英文） Thermoregulation by GABA-sensitive GABAergic neurons in the preoptic area  
 研究代表者  
 大坂 寿雅  
 独立行政法人国立健康・栄養研究所・健康増進プログラム・上級研究員  
 研究者番号：30152101

研究成果の概要：リポ多糖類の静脈内投与や終板器官周囲部へのプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)注入による発熱は視索前野に GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬を前投与しておくことで阻止された。GABA 拮抗薬によって視索前野の発熱抑制作用が増強されたためと考えられる。しかし、GABA 拮抗薬の投与は片側で有効であり、PGE<sub>2</sub> 投与部位とは同側でも対側でも効果に変わりがなかった。この結果から終板器官周囲部の PGE<sub>2</sub> 感受性ニューロンが視索前野に投射して発熱反応を引き起こすという仮説は否定され、視索前野から終板器官周囲部の PGE<sub>2</sub> 感受性機構に影響する可能性が想定された。次に、PGE<sub>2</sub> 感受性の発熱誘起部位における GABA 受容体の役割を調べた。この部位に GABA 拮抗薬を注入すると PGE<sub>2</sub> と同様の反応が誘起された。GABA<sub>A</sub> 受容体作動薬ムシモールを前投与しておくことで PGE<sub>2</sub> 投与によって誘起される反応が全て阻止された。この部位の GABA 感受性の熱産生抑制機構が抑制されることが PGE<sub>2</sub> 発熱の機構の少なくとも一部である可能性が考えられた。

## 交付額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2006年度 | 1,200,000 | 0       | 1,200,000 |
| 2007年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2008年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 3,400,000 | 660,000 | 4,060,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：環境生理学

キーワード：体温調節、視床下部、プロスタグランジン、ガンマアミノ酪酸

## 1. 研究開始当初の背景

寒冷環境下と感染時の熱産生

寒冷環境下では体温を維持するために熱産生の促進がおきる。一方、病原体の感染によって誘起される発熱時にも熱産生の促進がおきる。寒冷時および発熱時の熱産生反応は脳によって制御されており、視床下部視索

前野が体温調節中枢であることは広く認知されている。しかし、寒冷環境下と感染時とで熱産生がどの程度同一の機構で制御されているか、その統合機構の実体や入出力機構に関しては不明の点が多い

視索前野 GABA 感受性機構を介した熱産生  
 視索前野に GABA<sub>A</sub> 受容体作動薬である

muscimol を投与すると顕著な高体温反応が誘起されることは以前から知られていた (Osborne et al., 1994)。私は寒冷刺激によって誘起される非ふるえ熱産生が視索前野背側部の GABA 感受性機構を介していることを明らかにした (Osaka, 2004ab)。それでは、この GABA 感受性機構は発熱時の熱産生誘起にも関わっているのであろうか。関わっているとすれば体温調節機構の中で共通の求心情報を担っているのであろうか、遠心機構として共通なのであろうか。あるいは求心路や遠心路以外の機構として関与している可能性もある。さらに、交感神経・副腎髄質系の興奮によって非ふるえ熱産生は誘起されるのであるが、抑制性伝達物質である GABA がどのような機構で最終的な興奮反応に至るのかも未解明である。

#### LPS 発熱と視索前野 GABA 感受性機構

グラム陰性菌の細胞壁に由来するリポ多糖質 (lipopolysaccharide, LPS) は細菌感染時の発熱モデルとして標準的に用いられる物質である。しかし、微量 LPS による発熱は、腹部迷走神経 (Sehic and Blatteis, 1996; Romanovsky et al., 1997) と脳幹の腹側ノルアドレナリン束を介した神経性情報によって視索前野に産生されたプロスタグランジン (PG)E<sub>2</sub> により誘起される説 (Blatteis, 2004) が有力であるので、視索前野の GABA 感受性機構が LPS 発熱の脳機構にどのような機構で関与しているのかについては不明である。すなわち、迷走神経からの感染に関する情報と皮膚からの冷情報が脳内で共通の経路を使っている可能性が第一に考えられる。また、共通の熱産生遠心路に視索前野の GABA 感受性機構が位置づけられる可能性が第二に考えられる。あるいは、求心路や遠心路以外の機構に視索前野の GABA 感受性部位が位置づけられる可能性もあり得る。

#### PGE<sub>2</sub> 発熱と視索前野 GABA 感受性機構

PGE<sub>2</sub> が視索前野において最終的なメディエータとして発熱を誘起することは多くの研究が一致して認めている。その由来に関しては上述の神経性による他に、発熱物質の量が多いとき (LPS の場合で 10 µg/kg 以上のとき) には脳の血管内皮細胞が発熱性サイトカインに直接反応して産生する PGE<sub>2</sub> が重要である (Matsumura et al., 1998)。どちらの場合も PGE<sub>2</sub> の作用部位は発熱に関しては視索前野の腹内側部が最も重要であることが分かっている (Stitt, 1991; Scammell et al., 1996, 98)。そこで、この部位への PGE<sub>2</sub> 投与によって誘起される発熱に視索前野の GABA 感受性機構が関与している可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

### GABA 感受性かつ GABA 作動性のニューロンによる熱産生制御

交感神経・副腎髄質系を興奮性に支配している部位が視索前野より常時抑制されており、視索前野に作用する GABA によってその抑制がはずれることが寒冷時熱産生に至るとというのが私の仮説である (Osaka, 2004b)。すなわち、抑制性連絡が直列につながっている回路の上位側が抑制されることにより下位側が脱抑制されて熱産生が誘起されるという仮説である。

視索前野から抑制性の遠心性出力により熱産生は制御されるという考えはすでに提唱されている (Kanosue et al., 1998)。その遠心性抑制の起始ニューロンが GABA 感受性であり、かつ GABA 作動性であるということが本研究の中心的な作業仮説であり、さらに、そこへの GABA 入力に担う冷情報と PGE<sub>2</sub> による発熱情報の入力機構を明らかにすることが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

イソフルレン麻酔下でラットに大腿静脈カニューレを装着した後に、ウレタン・クロロロースの静脈麻酔に切り替えた。呼気ガスをガス分析器に導き、熱産生の指標である酸素消費率を経時的に測定した。深部体温の指標として結腸温度、皮膚温度の代表として尾皮膚温を記録した。四肢より心電図を導出し心拍数を測定し、麻酔深度の指標ならびに交感神経系の活動指標とした。必要に応じて大腿および頸部から筋電図を記録した。ラットは脳定位固定装置に取り付け、三連ガラスピペットを用いて圧微量注入法により PGE<sub>2</sub>, GABA および GABA 受容体作動薬であるムシモール、拮抗薬である bicuculline または gabazine 溶液を 20–100nl 局所投与する下記の実験を行った。

実験終了時には注入部位にはアルシアンブルーを 40–50 nl 注入し、投与部位を染色した。頸動脈より 10%ホルマリンを灌流して脳を固定後に取り出し、厚さ 40 µm の凍結切片を作成した。標本はスライドガラスに載せ、背景は無染色で水にぬれた状態で顕微鏡カメラを用いて撮影し、Paxinos and Watson (2007) の標準脳地図上に注入部位をプロットした。

### LPS 発熱と視索前野 GABA 感受性機構

1 µg/kg の LPS を静脈内投与したときの結腸温度、皮膚温度、心拍数、酸素消費率に与える影響を調べた。一般に発熱は PGE<sub>2</sub> 産生

を介していると思われるので、この点を検証するために PGE<sub>2</sub> 合成阻害剤であるインドメタシンを 50mg/kg 皮下に前投与して LPS 反応を調べた。また、腹部迷走神経の関与を明らかにするために、迷走神経を横隔膜下で両側切断したラットに対する影響を調べた。GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬である 5mM bicuculline を視索前野にこの部位に 0.5 nmol ずつ 40, 80, 120 分の 3 回前投与したときの影響を調べた。

#### PGE<sub>2</sub> 感受性の発熱誘起部位における GABA 感受性機構

終板器官周囲部で 57 fmol–2.8 pmol の範囲で PGE<sub>2</sub> を微量注入して用量反応関係を明らかにした。次に PGE<sub>2</sub> 感受性部位それ自体における GABA 感受性を明らかにするために、ムシモール、bicuculline および gabazine を局所投与して反応を調べた。さらに、PGE<sub>2</sub> 投与による発熱に対してこれら受容体作動薬や拮抗薬前投与の影響を調べた。

#### PGE<sub>2</sub> 発熱と視索前野 GABA 感受性機構

視索前野腹内側部に PGE<sub>2</sub> を微量注入して、熱産生率・心拍数・皮膚温度・結腸温度に対する影響を調べる。50 fmol–20 pmol の用量範囲で反応特性と PGE<sub>2</sub> 感受性部位の詳細を検討する。PGE<sub>2</sub> によって誘起される熱産生に関して視索前野 GABA 感受性部位に bicuculline または溶媒である生理食塩水を微量前投与して効果を調べた。

### 4. 研究成果

#### LPS 発熱と視索前野 GABA 感受性機構

LPS 静脈内投与により結腸温度は 2–3 時間をピークとして単相性に 0.9–2.2°C 上昇した。これに伴う熱産生は三相性の反応が誘起され、各ピークが 60, 100, 130 分であった。心拍数も熱産生と類似の時間経過で上昇した。インドメタシンを前投与しておく、これらの LPS によって誘起される熱産生、頻脈、高体温反応は全て消失した。一方、迷走神経を横隔膜下で切断しておいてもこれらの反応には影響しなかった。また、両側の視索前野に GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬である bicuculline を 0.5 nmol ずつ 40, 80, 120 分の 3 回投与することによっても LPS によって誘起される全ての反応が阻止された。なお、bicuculline 投与自体によって徐脈、皮膚温度上昇、結腸温度低下反応が誘起された。

以上の結果から、LPS による発熱反応にはプロスタグランジン合成が不可欠であるが、腹部迷走神経の関与は不要であることが分かった。また、視索前野を GABA 拮抗薬注入によって LPS 発熱が抑制された結果は、平

常時は熱産生を視索前野から発熱を抑制する仕組みが内在しているのだが、常時は GABA によりこの仕組みが機能しないようになっているためであると考えられた。

#### PGE<sub>2</sub> 感受性の発熱誘起部位における GABA 感受性機構

終板器官周囲部に PGE<sub>2</sub> を 57 fmol–2.8 pmol の範囲で微量注入したところ用量依存性に熱産生、頻脈、高体温反応が誘起された。閾値は 57–110 fmol であった。皮膚の温度低下反応には用量依存性は認められなかったが、これは基礎皮膚温度が最低レベル近くにあったためであると思われる。PGE<sub>2</sub> 感受性の発熱誘起部位に 5–20 pmol bicuculline や 5 pmol gabazine を注入すると PGE<sub>2</sub> と同様の反応が誘起された。この部位にムシモールを投与した場合には投与部位によって二種類の反応は誘起された。ひとつの場合には視索前野に投与したときのように熱産生、頻脈、体温上昇反応が誘起されたが、これらの反応の大きさは視索前野投与の場合より小さかった。もう一つの場合はムシモールそれ自体では何の反応も誘起しなかったが、前投与しておく、PGE<sub>2</sub> 投与によって誘起される反応が全てブロックされた。終板器官周囲には熱産生の促進と抑制に関わる二つの GABA 感受性機構があることが分かった。この部位の GABA 感受性の熱産生抑制機構が抑制されることが PGE<sub>2</sub> 発熱の機構の少なくとも一部である可能性が考えられた。

#### PGE<sub>2</sub> 発熱と視索前野 GABA 感受性機構

終板器官周囲部へ PGE<sub>2</sub> を注入して誘起される熱産生、頻脈、高体温、皮膚温度低下反応は片側の視索前野に bicuculline または gabazine を前投与しておく、全てブロックされた。これら GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬の投与部位は PGE<sub>2</sub> 投与部位とは同側でも対側でも有効であった。この結果は終板器官周囲部の PGE<sub>2</sub> 感受性ニューロンが視索前野に投射して発熱反応を引き起こすという仮説では説明できず、二つの可能性が考えられた。ひとつは視索前野から終板器官周囲部の PGE<sub>2</sub> 感受性機構に影響する可能性であり、もうひとつは共通の遠心部位で相互作用をおこしている可能性である。このどちらの可能性が正しいか本研究では結論できなかった。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Osaka, T. Prostaglandin E<sub>2</sub> fever mediated by inhibition of the

GABAergic transmission in the region immediately adjacent to the organum vasculosum of the lamina terminalis. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, **456**:837-846, 2008. (査読有)

- ② Osaka, T. Blockade of prostaglandin E<sub>2</sub>-induced thermogenesis by unilateral microinjection of GABA<sub>A</sub> receptor antagonist into the preoptic area. *Brain Research*, **1230**:107-114, 2008. (査読有)
- ③ Osaka, T. Lipopolysaccharide-induced thermogenesis mediated by GABA in the preoptic area of anesthetized rats. *Journal of Thermal Biology*, **31**: 229-234, 2006. (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 大坂寿雅: 終板器官周囲部での GABA 作動性伝達の抑制と PGE<sub>2</sub> 発熱 第 3 回 体温調節、温度受容研究会: 2007.9.27: 自然科学研究機構岡崎カンファレンスセンター
- ② 大坂寿雅: 視床下部視索前野 GABA 感受性機構の熱産生における役割 第 2 回 体温調節、温度受容研究会: 2007.1.11: 自然科学研究機構岡崎カンファレンスセンター
- ③ 大坂寿雅: プロスタグランジン E<sub>2</sub> 発熱における視索前野 GABA 受容機構の関与: 第 29 回日本神経科学大会: 2006.7.19: 京都

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大坂 寿雅 (OSAKA TOSHIMASA)  
独立行政法人国立健康・栄養研究所・健康増進プログラム・上級研究員  
研究者番号: 30152101

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし