

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 9 日現在

機関番号：82613

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009年度～2012年度

課題番号：21590265

研究課題名（和文）終板器官周囲のプロスタグランジンE<sub>2</sub>発熱機構を制御する神経伝達物質研究課題名（英文）Neurotransmitters that regulate prostaglandin E<sub>2</sub>-induced fever in the region surrounding the organum vasculosum of the lamina terminalis

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・基礎栄養研究部・上級研究員

研究者番号：30152101

研究成果の概要（和文）：プロスタグランジン(PG)<sub>E<sub>2</sub></sub>が視床下部の終板器官の周囲部に作用し、そこから下行する脳内経路を介して発熱は制御されている。一方、低酸素環境下では熱放散の促進と熱産生の抑制が同時に誘起され、深部体温は低下する。これらの反応には終板器官周囲部にノルアドレナリンを伝達物質として低酸素情報が到達し、 $\alpha_1$ アドレナリン受容体を刺激することにより誘起される一酸化窒素放出が重要であることが明らかになった。さらに、この部位から外側視索前野グルタミン酸作動性投射が低酸素環境での低体温反応を介していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Prostaglandin E<sub>2</sub>-induced fever is established by simultaneous activation of heat production and reduction of heat loss. On the other hand, hypoxic stimulation induces hypothermia that is caused by an increase in heat loss and a decrease in heat production. Both responses are regulated by mechanisms in the region surrounding the organum vasculosum of the lamina terminalis in the hypothalamus. It was elucidated that the hypoxia-induced responses were mediated by noradrenaline released in this region in anesthetized rats. They were then mediated by synthesis and release of nitric oxide via stimulation of  $\alpha_1$ -adrenoceptors in the same region. Then, it was proposed that a glutamatergic projection from this region to the lateral preoptic area is critically involved in the responses.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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、ノルアドレナリン、一酸化窒素、低酸素環境、エネルギー代謝、熱放散

## 1. 研究開始当初の背景

感染時の生体反応である発熱は免疫系か

らのシグナルが（いくつかの経路を介するが最終的には）体温調節中枢である視索前野の吻側部に位置する終板器官周囲部に PGE<sub>2</sub> として作用することを主要な段階として誘起

されることは多くの研究が認めている。

組織学的な研究によると終板器官周囲部への求心神経繊維は視索前野、前視床下部、腹内側核、中脳中心灰白質、青斑核などに起始細胞があることが知られている(Camacho & Phillips, 1981)。これらは体温調節に何らかの役割を果たしていることが想定されるが、これらの部位からの神経伝達物質と PGE<sub>2</sub> 感受性部位における作用様式は不明である。

私はこの PGE<sub>2</sub> 感受性部位に GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬 bicuculline/gabazine を注入すると熱産生、皮膚血管収縮、頻脈、高体温反応が同時に誘起されることを見だし、平熱の維持にこの部位で常時放出されている GABA が重要な役割を果たしている可能性を指摘し、さらに GABA<sub>A</sub> 受容体作動薬 muscimol をこの部位に前投与しておくことで PGE<sub>2</sub> 発熱が阻止されることから PGE<sub>2</sub> 発熱に GABA<sub>A</sub> 受容体が関与することを報告した(Osaka, 2008)。そこで、この部位での GABA と PGE<sub>2</sub> の作用の関係を明らかにすることが求められた。

さらに、ノルアドレナリンは脳内で発熱を媒介しているという報告と、逆に体温低下が誘起されるという相反した報告がなされていた。神経終末部位や受容体によって異なる反応がおきると考えられているが、終板器官周囲部での作用は明らかになっていなかった。そこで、この部位での作用とその生理学的意義を解明する必要がある。

## 2. 研究の目的

### 終板器官周囲部のプロスタグランジン E<sub>2</sub> 発熱機構を制御する神経伝達物質

(1) 終板器官周囲部でのノルアドレナリンの体温調節に及ぼす影響および関与する受容体を明らかにし、PGE<sub>2</sub> 発熱との相互作用を明らかにする。

(2) ノルアドレナリンによる低体温反応が一酸化窒素合成促進とその分泌を介している可能性を検証し、一酸化窒素による低体温反応と PGE<sub>2</sub> 発熱との相互作用を明らかにする。

(3) ノルアドレナリンおよび一酸化窒素は低酸素環境下で誘起される低体温反応を媒介している可能性を検証する。

(4) 外側視索前野でのグルタミン酸の体温調節に及ぼす作用を検証し、終板器官周囲部に注入した GABA や PGE<sub>2</sub> による熱産生促進作用との相互作用を明らかにする。

(5) 終板器官周囲部から外側視索前野へのグルタミン酸作動性投射が低酸素環境によっ

て誘起される低体温反応を起こす神経経路であり、伝達物質であるという仮説を検証する。

## 3. 研究の方法

Wistar 系雄ラットを 2-3% イソフルレン麻酔下に下腿静脈にカニューレを挿入し、ウレタン・クロラロースの静脈麻酔に切り替えた。気管カニューレ挿入後に脳定位固定装置に取り付け、人工呼吸器に接続し、筋弛緩薬である d ツボクラリンを静脈内投与して非動化した。

熱産生の指標である酸素消費率、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経時的に測定した。また、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の一つとした。保温ヒーターに一定の大きさの電流を流すことにより結腸温度をおおよそ 37 度に保った。

低酸素刺激として 10% 酸素 90% 窒素の混合ガスを人工呼吸器の給気に 5 分間接続した後正常大気に給気を戻した。脳内への薬物投与には先端径が 30 μm 程度の三連ガラスピペットを用いて圧吐法により 10-100 nl の微量注入を行った。実験終了時には薬物注入部位に色素であるアルシアン青溶液を注入し、頸動脈からホルマリンを灌流することにより脳を固定し、脳の凍結切片を作製することにより薬物注入部位を組織学的に検証した。

## 4. 研究成果

### (1) 視索前野吻内側部の α<sub>1</sub> アドレナリン受容体活性化による熱放散反応と PGE<sub>2</sub> 発熱の阻止

ノルアドレナリンを終板器官周囲部に片側性に注入したところ尾部および足底の皮膚温度が上昇し、同時に酸素消費率・心拍頻度・結腸温度が低下した。溶媒である生理食塩水を注入しても反応はなかった。ノルアドレナリンに対するこれらの反応は 1-100 pmol の範囲で用量依存性に大きくなった。同様の低体温反応は α<sub>1</sub> アドレナリン受容体作動薬であるメトキサミン注入によっても引き起こされたが、α<sub>2</sub> 作動薬であるクロニジンやベータ作動薬であるイソプロテレノールの注入は効果がなかった。ノルアドレナリンは視索前野正中核を含む終板器官周囲部に注入したときに効果があつたが、内側視索前野の尾側部や外側視索前野に注入しても効果がなかった。ノルアドレナリン感受性部位に 130 fmol PGE<sub>2</sub> を注入したところ熱産生・頻

脈・高体温反応が誘起された。しかし、同じ部位にあらかじめノルアドレナリンを投与しておくことと PGE<sub>2</sub> 反応は大きく減弱した。

### (2) 視索前野吻内側部の一酸化窒素はノルアドレナリンによって誘起される低体温反応を媒介し PGE<sub>2</sub> 発熱に拮抗する

一酸化窒素放出薬である塩化ニトロプルシド(8.4 nmol)を終板器官周囲部に注入したところ皮膚温度上昇と酸素消費率・心拍頻度・結腸温度が低下した。PGE<sub>2</sub> 発熱もあらかじめ塩化ニトロプルシドを注入しておくことと大きく減弱した。ノルアドレナリン注入によって誘起される低体温反応は一酸化窒素合成阻害薬である L-NMMA を同じ部位に前投与しておくことにより阻止された。不活性な異性体である D-NMMA の前投与は効果がなかった。したがって、ノルアドレナリンによる低体温や抗発熱作用はこの部位での一酸化窒素の合成と放出によって媒介されることが示唆された。

### (3) 低酸素刺激によって誘起される低体温反応は視索前野内側部でのノルアドレナリンと一酸化窒素によって伝えられる

人工呼吸器に 10%酸素 90%窒素の混合ガスを 5 分間給気することによって低酸素刺激をした後に酸素を約 21%含む通常大気に戻したところ、30 秒から 7 分後に始まる尾部皮膚温度上昇と結腸温度低下反応がおきた。これらの反応は繰り返し刺激をしても再現性があり、両側の頸動脈小体を除神経することにより消失した。頸部迷走神経を両側切断しても影響はなかった。視索前野の吻内側部に α<sub>1</sub> アドレナリン受容体拮抗薬であるプラゾシンや L-NMMA を前投与しておくことと低酸素刺激によって誘起される低体温反応は大きく減弱した。D-NMMA 注入は効果がなかった。したがって、低酸素による低体温反応の少なくとも一部は頸動脈洞化学受容器から神経性の情報が視索前野吻内側部にノルアドレナリンを伝達物質として伝えられ、一酸化窒素合成酵素の活性化を介していることが示唆された。

### (4) 外側視索前野へのグルタミン酸注入による体温調節反応と PGE<sub>2</sub> および GABA による熱産生反応との相互作用

外側視索前野に片側性に 5 nmol グルタミン酸を注入したところ皮膚温度が急激に上昇し、同時に酸素消費率・心拍頻度・結腸温度が低下した。効果があつた部位は外側視索前野の吻側から中央部であり、尾側部や内側視索前野に注入しても効果がなかった。グル

タミン酸の効果が最も大きかった部位に 30 nmol GABA を注入すると熱産生と頻脈反応がおきた。終板器官周囲部の PGE<sub>2</sub> 感受性部位にグルタミン酸を注入しても体温調節反応は誘起されなかった。

### (5) 低酸素刺激によって誘起される低体温反応は終板器官周囲部から外側視索前野へのグルタミン酸作動性投射を介している

低酸素刺激ならびに終板器官周囲部へのノルアドレナリンや塩化ニトロプルシド注入による熱放散と体温低下反応は、外側視索前野にグルタミン酸受容体拮抗薬であるキヌレン酸をあらかじめ両側の吻側部および中央部の計 4 カ所に 10 nmol ずつ前投与しておくことにより大きく減弱した。この結果により標記仮説が正しい可能性が高いことがわかった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Osaka T. Hypoxia-induced hypothermia mediated by the glutamatergic transmission in the lateral preoptic area. *Neuroscience*, 226:73-80, 2012. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.09.033.
- ② Osaka T. Thermoregulatory responses elicited by microinjection of L-glutamate and its interaction with thermogenic effects of GABA and prostaglandin E<sub>2</sub> in the preoptic area. *Neuroscience*, 226:156-164, 2012. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.08.048.
- ③ Osaka, T. Hypoxia-induced hypothermia mediated by noradrenaline and nitric oxide in the rostromedial preoptic area. *Neuroscience*, 179:170-178, 2011. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.01.056.
- ④ Osaka, T. Nitric oxide mediates noradrenaline-induced hypothermic responses and opposes prostaglandin E<sub>2</sub>-induced fever in the rostromedial preoptic area. *Neuroscience*, 165:976-983, 2010. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.10.069.
- ⑤ Osaka, T. Heat loss responses and

blockade of prostaglandin E<sub>2</sub>-induced thermogenesis elicited by  $\alpha_1$ -adrenergic activation in the rostromedial preoptic area. Neuroscience, 162:1420-1428, 2009.  
DOI:  
10.1016/j.neuroscience.2009.05.030.

〔学会発表〕（計4件）

- ① 大坂寿雅 低酸素刺激によって誘起される低体温反応における視床下部視索前野の機構 第40回自律神経生理研究会, 2012.12.1, 新宿区
- ② 大坂寿雅 視索前野へのグルタミン酸とGABA注入に対する体温調節系の反応 第39回自律神経生理研究会, 2011.12.3, 新宿区
- ③ 大坂寿雅 終板器官周囲部でのノルアドレナリンの体温低下作用 体温調節、温度受容研究会, 2009.9.10, 自然科学研究機構岡崎カンファレンスセンター（岡崎市）
- ④ Osaka T. Possible interaction between prostaglandin E<sub>2</sub> and GABA in the mechanisms of fever in the region immediately adjacent to the OVLT. The 3rd International Symposium on Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation, 2009.7.25, Matsue, Japan.

## 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・基礎栄養研究部・上級研究員  
研究者番号：30152101