

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：32419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08928

研究課題名(和文) ストレスによる性ホルモン分泌異常の神経性機序の解明

研究課題名(英文) The neural mechanism of sex hormone secretion

研究代表者

鍵谷 方子 (KAGITANI, FUSAKO)

人間総合科学大学・人間科学部・教授(移行)

研究者番号：50291133

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ストレスによる性ホルモン分泌異常の神経性機序を解明する目的で、交感神経活動亢進が性ホルモン分泌に及ぼす影響を検討してきた。本研究では、ストレス時の性ホルモン分泌低下反応に、統合中枢として重要視されている視床下部が必須であるかを検討した。麻酔下の中枢神経無傷ラットへの身体的ストレス刺激は、卵巣交感神経活動を増加させ、卵巣エストロジールの分泌速度を減少させた。これらの反応は除脳ラット(視床下部以上の高位中枢を除去)でも観察されたが、脊髓ラット(脳幹以上の高位中枢を除去)では消失した。身体的ストレスによる性ホルモン分泌低下反応の主な中枢は、視床下部ではなく脳幹に存在することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We have examined the effect of sympathetic hyperactivity on sex hormone secretion in order to elucidate the neurogenic mechanism of sex hormone secretion abnormality caused by stress. The present study aimed to clarify, whether hypothalamus is essential for this physical stress-induced inhibition of ovarian estradiol secretion, by using decerebrate animals. In central nervous system-intact rats, electrical stimulation of a tibial afferent nerve at supra-maximal intensity for C-fibers increased the efferent activity of SON by 39%, and decreased the estradiol secretion rate from the ovary by 34%. These responses were observed in decerebrate rats, but were abolished in spinal rats. In conclusion, the present study demonstrated that the main integration center for decrease response of ovarian estradiol secretion due to SON activation produced by physical stress (tibial nerve stimulation) is located in the brain stem in anesthetized rats.

研究分野：自律神経生理学

キーワード：ストレス 性ホルモン 交感神経 統合中枢

1. 研究開始当初の背景

ストレスは卵巣からのエストラジオール分泌を低下させ、女性生殖機能に抑制性の影響を及ぼすことが知られている (Goncharov et al., 1979; Toufexis et al., 2014). 卵巣機能におけるこれらのストレス反応において、視床下部が、重要な役割を担うと考えられている (Ferin, 2010; Genazzani et al., 2010).

研究代表者はこれまでに、身体的ストレス (後肢の侵害性機械的刺激) が、卵巣からのエストラジオール分泌の減少を引き起こすことを、麻酔下のラットで明らかにしてきた (Uchida et al., 2012; 2015; Uchida and Kagitani, 2015). 更に、その身体的ストレスで誘発される卵巣エストラジオール分泌抑制が、卵巣交感神経 (上卵巣神経; SON) を介して引き起こされることを示した。

この身体的ストレスで誘発される卵巣エストラジオール分泌低下反応の統合中枢として、視床下部が働くことが予想されるが、それについては証明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、ストレスによる性ホルモン分泌異常の神経性機序を解明する目的で、身体的ストレスによる交感神経活動亢進を介する卵巣エストラジオール分泌低下反応に、視床下部が必須であるかを、除脳動物を用いて明らかにすることを旨とした。

(1) まず、定量的な身体的ストレスとして脛骨神経の電気刺激を行った際の卵巣交感神経活動および卵巣エストラジオール分泌の反応を中枢神経無傷ラットで調べた。

(2) ついで、(1) で得られた身体的ストレスに対する反応を、中枢神経無傷ラットと除脳ラット、および脊髄ラットで比較することで、視床下部の統合中枢としての関与を調べた。

3. 研究の方法

(1) 実験は、3~10ヶ月齢の成熟非妊娠雌性 Wistar ラットを用いた。毎日の膣スミア検査で調べた発情周期が定期的に5日の個体を対象に発情期の日を用いた。

(2) 実験は、麻酔下、人工呼吸下で、体温、血圧などを生理的に安定に維持した状態で行った (図 1A)。

(3) 左あるいは右の上卵巣神経 (superior ovarian nerve: SON) の遠心性活動を記録した (図 1B)。SON は卵巣提索に沿う前に切断した。

(4) 卵巣静脈血を右卵巣静脈のカテーテルを介して間欠的・経時的に回収時間を測定しながら回収した (図 1B)。各血液サンプルについて血漿量 (μl) を調べ、回収時間で割ることで、卵巣静脈血漿流速 ($\mu\text{l}/\text{分}$) を求めた。サンプルを回収していない時は、卵巣静脈血を右の大腿静脈にカテーテルを介して還流させた。血液サンプルは、刺激前、刺激中、刺激後に回収した。その後、右大腿動脈のカテーテルから全身動脈血のサンプルを

得た。

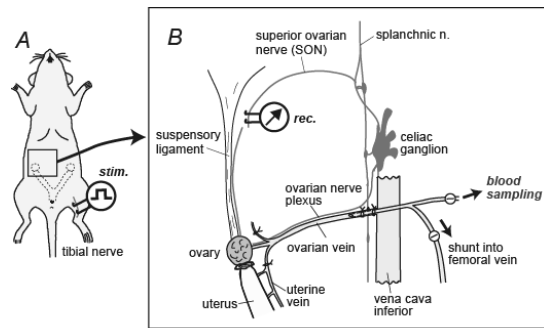


図 1 卵巣静脈血の採血と卵巣自律神経活動記録の方法を示す模式図

(5) 血漿エストラジオール (17 エストラジオール) 濃度を酵素免疫法で測定した。卵巣からのエストラジオールの分泌速度を卵巣静脈血漿と全身動脈血漿の間のエストラジオール濃度の差、卵巣静脈血漿の流速から計測した。

(6) 左の脛骨神経を周囲の組織から分離し切断した。神経の切断中枢端を C 線維の最大上強度 (0.5ms, 10V, 10Hz, 5min) で電気刺激した。

(7) 動物は、中枢神経無傷ラット、除脳ラット、脊髄ラットの 3 群に分けた。除脳は、視床下部と中脳の間での切断により行った。脊髄ラットでは、第 2 頸髄レベル (C2) で脊髄を完全に切断し、4% フィコール 70 を注入することで血圧を維持した。

4. 研究成果

(1) 中枢神経無傷ラットにおける脛骨神経刺激の効果

中枢神経無傷ラットにおいて、SON 遠心性活動と卵巣からのエストラジオール分泌速度に対する 5 分間の脛骨神経求心性刺激の効果調べた。

SON の遠心性活動は、安静時に自発的に活動しており、脛骨神経刺激の間に増加した。増加した SON 活動は、刺激終了後にゆっくりと回復を開始したが、刺激終了後 15 分でも高く維持されていた。SON 活動は脛骨神経の頻回刺激によって約 39% 増加した。

卵巣からのエストラジオール分泌速度は、脛骨神経刺激中に低下し、刺激終了後にさらに低下した。低下したエストラジオール分泌速度は、刺激終了後およそ 4 分で最低レベルに到達し、刺激終了後 15 分で刺激前値に回復する傾向を示した。エストラジオール分泌速度が脛骨神経の頻回刺激により低下する程度は約 34% であった。

(2) 除脳と脊髄切断の影響

脛骨神経刺激による SON 活動亢進とエストラジオール分泌速度低下反応における視床

下部の関与を調べた。

調べた全ての除脳ラットにおいて、SONの遠心性活動は脛骨神経刺激によって増加した。増加の程度は中枢神経無傷ラットでの反応と同程度で、有意な差は認められなかった。

卵巣からのエストラジオール分泌速度は、調べた全ての除脳ラットにおいて、脛骨神経刺激により減少した。中枢神経無傷ラットと除脳ラットの間で、エストラジオール分泌速度低下反応に有意な差は認められなかった。

C2 レベルでの脊髄を切断した脊髄ラットにおいては、脛骨神経刺激はSONの遠心性活動とエストラジオール分泌速度に有意な変化を起さなかった。

除脳ラットと脊髄ラットにおいて、脛骨神経刺激前の安静時のSON活動とエストラジオール分泌速度のレベルは、中枢神経無傷ラットのそれらとの間で有意な差はなかった。

(3) 結論と今後の展望

本研究により、身体的ストレス（脛骨神経刺激）によるSON活動亢進を介して起こるエストラジオール分泌速度低下反応の主要な統合中枢が、視床下部ではなく、脳幹に存在することが明らかとなった。

ストレスは卵巣ステロイドを含め、様々なホルモンの分泌を変化させる。視床下部はこれらのストレス誘発性のホルモン分泌低下の統合中枢として重要な役割を担うと考えられている（Kovacs, 2013; Herman et al., 2016）。本研究は、視床下部-下垂体系ホルモンの制御を強く受ける卵巣エストラジオール分泌の、身体的ストレスによる抑制の主要な統合中枢が、脳幹に存在することを示した最初の報告である。視床下部は心理的ストレス誘発性の卵巣交感神経を介した卵巣エストラジオール分泌低下反応に関与する可能性がある。

女性のライフサイクル全体において、思春期の前、妊娠中、授乳初期、閉経後は、視床下部-下垂体-卵巣ホルモン系が非活性である。今回の結果を考慮すると、身体的ストレス（例えば、強度な運動、身体的痛み）は視床下部-下垂体-卵巣ホルモン系が非活性な期間において、SONの活動亢進が脳幹経路を介して、容易に卵巣機能を抑制する可能性が考えられる。生殖時期が終わった後も、卵巣はアンドロゲンを分泌する機能を維持しており（Lu et al., 1979; Shifren and Schiff, 2000）、アンドロゲンは末梢組織でエストロゲンに変換される。エストロゲンは、生殖器官に作用することに加えて、骨密度の維持、動脈血管拡張、脳の神経保護といった広範な生物学的作用を有する（Gruber et al., 2002; Engler-Chiurazzi et al., 2016）。従って、身体的ストレスによって誘発されるSON活性化に起因する脳幹経路を介する卵巣ホルモン分泌の抑制は、高齢女性においても、健康に不利益をもたらす可能性がある。今後はアンドロゲン分泌に対する自律神経性調節機

序を解明する必要がある。

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3件)

Uchida, S, Kagitani, F. Mechanism of physical stress-induced inhibition of ovarian estradiol secretion in anesthetized rats. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 査読有, 206 巻, 2017 年, 63-66. DOI: 10.1016/j.autneu.2017.05.011.

Uchida, S, Kagitani, F. Sympathetic regulation of ovarian functions under chronic estradiol treatment in rats. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 査読有, 203 巻, 2016 年, 1-8. DOI: 10.1016/j.autneu.2016.04.003.

Uchida, S., Kagitani, F. and Hotta H. Afferent fibers involved in the bradykinin-induced cardiovascular reflexes from the ovary in rats. *Autonomic Neuroscience, Basic and Clinical*, 査読有, 193 巻, 2015 年, 57-62.

DOI: 10.1016/j.autneu.2015.07.006.

〔学会発表〕(計6件)

Kagitani, F., Uchida, S. Sympathetic regulation of ovarian functions under chronic estradiol treatment in rats. The 10th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience (ISAN), The 70th annual meeting of the Japan Society of Neurovegetative Research, 2017 年 9 月 1 日, 名古屋.

内田さえ, 鍵谷方子. 体性感覚刺激によるエストラジオール分泌低下反応の反射中枢. 第 94 回日本生理学会大会, 2017 年 3 月 28-30 日, 浜松.

内田さえ, 鍵谷方子. 麻酔ラットの身体的ストレスによる卵巣エストラジオール分泌低下反応のメカニズム. 第 12 回環境生理学プレコングレス, 2017 年 3 月 27 日, 浜松.

Uchida, S., Kagitani, F. Sympathetic nerve to the ovary regulates ovarian testosterone secretion in female rats. *International Society for Autonomic Neuroscience for 2015*, 2015 年 9 月 26-29 日, Stresa (Italy)

内田さえ, 鍵谷方子. エストロゲン長期投与が卵巣交感神経機能に及ぼす影響. 第 68 回日本自律神経学会総会, 2015 年 10 月 29-30 日, 名古屋.

鍵谷方子, 内田さえ. Changes in the sympathetic regulation of ovarian estradiol secretion following

long-term estradiol treatment in rats.
第 93 回日本生理学会大会, 2016 年 3 月
22-24 日, 札幌.

〔図書〕(計 1 件)

大橋敦子(監修)鍵谷方子, 上村英記,
金澤佑治, 森田恵子, 二本松明, 大沢秀
雄, 斉藤光代, 下井俊典, 志村まゆら,
鈴木敦子, 鈴木郁子, 内田さえ. 医歯薬
出版, 生理学実習 NAVI 第 2 版. 2017
年 1 月 10 日, 1-81.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鍵谷 方子 (KAGITANI FUSAKO)
人間総合科学大学・人間科学部・教授
研究者番号: 50291133

(2) 研究分担者

なし

(3) 研究協力者

なし