

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591072
 研究課題名（和文） ストレス回路を制御する脳内ノルアドレナリン神経—発生工学的神経破壊法による検討
 研究課題名（英文） The central noradrenergic system regulating the stress circuitry. Neural ablation by means of genetic engineering.
 研究代表者 井樋 慶一（ITOI KEIICHI）
 東北大学・大学院情報科学研究科・教授
 研究者番号：60232427

研究成果の概要：本研究では、いかなる種類のストレスに応答して脳内NA神経系がはたらくか、複数存在するNA神経核のうちいずれが関与するのか、NA系と他の調節系はいかなる関連性を有するか、などの問題を探求した。この目的達成のため、NAニューロンにヒトIL2受容体蛋白を発現させたトランスジェニック（Tg）マウスを用いた実験を行った。我々はTgマウスのNA作動性神経核にヒトIL2受容体に特異的なイムノトキシンを注入し、NAニューロンのみを局所的に破壊するモデルの開発に成功し、このモデルマウスを用い、神経内分泌学的ならびに行動学的手法を用いた検討をおこなった。LC内イムノトキシン投与後1週間で、大脳皮質や海馬などの脳領域でNA含量が半減し、2週後に90%以上の減少が認められた。LCからNA作動性ニューロン投射を受けるこれらの領域内チロシン水酸化酵素陽性神経終末が著明に減少した。LC破壊後1週の実験では高架式十字迷路、open field、marble burying試験などにおいて、対照と比較し不安の減少する傾向が認められた。LCと不安の関連性が強く示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：ストレス、視床下部、マウス、遺伝子、脳

1. 研究開始当初の背景

視床下部に投射するノルアドレナリン（NA）神経は主として、中脳領域の青斑核（locus coeruleus; LC）、延髄の孤束核（nucleus tractus solitarius; NTS）および腹外側核（ventral lateral medulla; VML）に由来す

る。しかしながら機能面では、これら内因性NA神経の役割はほとんど明らかにされていない。たとえば、①いかなる状況下で脳内NA神経系が活動するのか、②その結果、副腎皮質ホルモン分泌はどのような影響を受けるのか、③CRHなど視床下部ホルモン調節には

特定の NA 神経核が関与するのか、複数の NA 神経核の協調的な関与が必要なのか、あるいは神経核には役割分担があるのか、など基本的な課題が未解決である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、副腎皮質ホルモン調節および情動応答における脳内 NA 神経核の働きを解明することである。最近我々は、LC、NTS、VML の役割を個別に検討するために新たなモデルマウスの作成に成功した。ヒトの細胞膜タンパク (hIL2R) で NA 神経核をラベルしたトランスジェニックマウス (Tg) 脳内に hIL2R 抗体-毒素複合体 (イムノトキシン) を局所注入し、特定の NA 神経核のみを選択的に破壊するのである。

3. 研究の方法

ドパミン・水酸化酵素 (DBH) は NA 合成酵素であり、NA ニューロンのマーカーとして用いることができる。DBH-hIL2R マウスは、DBH 遺伝子プロモーターでヒトインターロイキン 2 受容体 (hIL2R) がドライブされた Tg マウスで、DBH ニューロン特異的に hIL2R が発現している。hIL2R はヒト特異性が高くマウス脳内では不活性であり、しかもニューロンの細胞膜表面に発現するため外部から注入した抗体 (毒素) が容易に到達できる。そこで、抗 hIL2R 抗体と緑膿菌体外毒素の複合体 (イムノトキシン) を LC に局所投与することにより、NTS、VML などには全く影響を与えず LC のみで NA ニューロンを破壊することが可能である。同様に NTS、VML のみを選択的に破壊することもできる。

4. 研究成果

NA ニューロンにヒト IL2 受容体蛋白を発現させたトランスジェニック (Tg) マウスを用いた実験を行った。我々は Tg マウスの NA 作動性神経核にヒト IL2 受容体に特異的なイムノ

トキシンを注入し、NA ニューロンのみを局所的に破壊するモデルの開発に成功し、このモデルマウスを用い、神経内分泌学的ならびに行動学的手法を用いた検討をおこなった。LC 内イムノトキシン投与後 1 週間で、大脳皮質や海馬などの脳領域で NA 含量が半減し、2 週後に 90%以上の減少が認められた。LC から NA 作動性ニューロン投射を受けるこれらの領域内チロシン水酸化酵素陽性神経終末が著明に減少した。LC 破壊後 1 週の実験では高架式十字迷路、open field、marble burying 試験などにおいて、対照と比較し不安の減少する傾向が認められた。LC と不安の関連性が強く示唆された。

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 4 件)

1. Itoi K (2008) Ablation of the central noradrenergic neurons for unraveling their roles in stress and anxiety. In: Molecular and biophysical mechanisms of arousal, alertness, and attention. Eds. Pfaff D, Kieffer B. *Ann NY Acad Sci* 1129, 47-54.

2. Yamamori E, Iwasaki Y, Taguchi T, Nishiyama M, Yoshida M, Asai M, Oiso Y, Itoi K, Kambayashi M, Hashimoto K (2007) Molecular mechanisms for corticotropin-releasing hormone gene repression by glucocorticoid in BE(2)C neuronal cell line. *Mol Cell Endocrinol* 264, 142-148.

3. Sugimoto K, Mori K, Uchida K, Kobayashi S, Itoi K (2007) Quantitative analysis of thyroid-stimulating hormone

messenger RNA and heterogeneous nuclear RNA in hypothyroid rats. *Brain Res Bull* 74, 142-146.

4. Kasahara Y, Takayanagi Y, Kawada Y, Itoi K, Nishimori K (2007) Impaired thermoregulatory ability of oxytocin-deficient Mice during cold-exposure. *Biosci Biotechnol Biochem* 71, 3122-3126.

[学会発表] (計9件)

1. 井樋慶一、吉田克己 (2008) ACTH単独欠損症における視床下部 - 下垂体 - 甲状腺系の異常に関する臨床内分泌学的検討. 第51回日本甲状腺学会、2008. 11. 21-23、栃木県総合分化センター、宇都宮

2. Itoi K, Nakamura H, Yokokawa T, Sato Y, Kobayashi K, Tanaka C, Tomita H, Uchida K, Iwasaki Y, Ishii Y (2008) A comprehensive gene expression analysis of the locus coeruleus noradrenergic neurons during early development by the FACS-array technology. Annual Meeting of the Society for Neuroscience 2008, November 17, 2008 Washington Convention Center, Washington DC, USA

3. Itoi K, Nakamura H, Yokokawa T, Sato Y, Kobayashi K, Tanaka C, Tomita H, Iwasaki Y, Uchida K, Ishii Y (2008) FACS-array gene expression analysis of the locus coeruleus noradrenergic neurons. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress, September 12, 2008 Toyama international Congress Center, Toyama, Japan

4. 石田卓也、鈴木恵綾、大滝郁恵、奥脇徹也、小林和人、井樋慶一 (2008) 青斑核NAニューロンの選択的破壊がマウスの行動に及ぼす影響—DBH-IL2R受容体トランスジェニックマウスを用いた新しいニューロンターゲットティング法. 第35回日本内分泌学会、2008. 8. 28-30、政策研究大学院大学、東京

5. 横川健、中村浩章、石井祥之、岡崎彰、佐藤靖史、小林和人、田中千晶、富田博秋、内田克哉、井樋慶一 (2008) 脳内ノルアドレナリン作動性ニューロン特異的転写因子の機能解析. 第35回日本内分泌学会、2008. 8. 28-30、政策研究大学院大学、東京

6. 内田克哉、小林哲也、町田武生、井樋慶一 (2008) 甲状腺機能低下による大脳皮質および海馬における神経学的異常. 第35回日本内分泌学会、2008. 8. 28-30、政策研究大学院大学、東京

7. Gopal Das, Katsuya Uchida, Keiichi Itoi (2008) The role of glucocorticoid on neuronal FosB/・FosB-like immunoreactivity in the rat brain following adrenalectomy. 第回日本神経科学学会、2008. 7. 10、東京国際フォーラム、東京

8. 横川 健、中村 浩章、岩崎 泰正、佐藤 靖史、小林 和人、井樋 慶一 (2008) 青斑核領域 (LC) におけるノルアドレナリン神経 (NA) の選択的回収及び遺伝子発現と機能解析への応用. 第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム 2008. 5. 19、仙台国際センター、仙台

9. 内田 克哉、小林 大輔、ゴーパール ダ

ス、井樋 慶一 (2008) 出血性ストレス情報を視床下部室傍核へ伝達する脳内神経伝導路としての延髄プロラクチン放出ペプチド含有ノルアドレナリンニューロンの役割. 第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム 2008. 5. 19、仙台国際センター、仙台

〔図書〕 (計2件)

1. 井樋慶一 (2008) 脳とホルモンの行動学—行動神経内分泌学への招待. (分担執筆) 中山書店 (印刷中).
2. 井樋慶一 (2008) ストレス科学辞典. (分担執筆) パブリックヘルスリサーチセンター (印刷中).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井樋 慶一 (ITOI KEIICHI)
研究者番号：60232427
東北大学・大学院情報科学研究科・教授

(2) 研究分担者

森 弘毅 (MORI KOUKI)
研究者番号：80301050
東北大学・大学院医学研究科・講師

(3) 連携研究者

()

研究者番号：