

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07982

研究課題名(和文) ストレス応答の異常な持続的亢進をもたらす脳内機序の解明

研究課題名(英文) Central mechanisms for continuous responses of sympathetic nervous system to stress exposure

研究代表者

山口 奈緒子 (YAMAGUCHI, Naoko)

愛知医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50380324

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： 過剰かつ持続するストレス応答は、うつ病などのストレス関連疾患の発症の契機となりうる。私たちはこれまで、交感神経反応の持続に脳内のコルチコトロピン放出因子(CRF)が重要であり、CRFによる交感神経系活性化にプロスタノイドが関与することを明らかにしてきた。

本研究では、急性および慢性のストレス負荷時の交感神経反応について検討し、急性および慢性ストレスにより異なる交感神経反応が起こること、その違いに脳内プロスタノイドが関与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレス反応は本来、生体の防御機構である。しかし、過剰なストレス反応はストレス不適応をもたらし、さらにはうつ病などのストレス関連疾患の発症の契機ともなりうる。このような過剰かつ持続するストレス反応をもたらす脳内の調節機構については、交感神経反応制御の観点では未だ不明な点も多い。

本研究の成果から、ストレス強度による交感神経反応の違いや脳内調節に関与する因子についての知見が得られた。ストレス応答の調節メカニズムに関する基礎的知見蓄積の一助となり、将来的にストレス関連疾患の予防・治療法の開発に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)： Stress exposure causes various stress responses including sympathetic activation. Continuous stress responses are one of risk factors associated with stress-related diseases such as depression. We have already reported that corticotropin-releasing factor (CRF) in the brain is important for continuous sympathetic activation, and that brain prostanoids are related to CRF-induced sympathetic activation.

In this study, we examined the mechanisms in the brain, especially in the paraventricular hypothalamic nucleus (PVN), of sympathetic activation during acute and repeated exposure to stress. Our results demonstrated that sympathetic responses during chronic stress exposure were different from those in acute stress, and that brain prostanoids were associated with such differences.

研究分野：医歯薬学

キーワード：ストレス 交感神経系 カテコールアミン 視床下部室傍核

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

生体において、ストレスは様々な反応を引き起こす。このストレス反応の制御には、交感神経系、内分泌系（HPA系）および免疫系が複雑に関わり合っている。中枢性ストレス応答の出力系として、交感神経-副腎髄質系の活動亢進は末梢でのカテコールアミン（ノルアドレナリンおよびアドレナリン）の遊離・分泌を促進する。また、視床下部-下垂体-副腎髄質系（HPA系）の活性化は、視床下部からのコルチコトロピン放出因子（CRF）の分泌による下垂体前葉から副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）分泌の刺激、さらにその結果として、副腎皮質からのグルココルチコイド分泌の増加をもたらす^{①②}。本来、ストレス反応は生体の防御機構の1つである。しかし、過剰かつ持続するストレス反応は、ストレス不応答やストレス脆弱性をもたらす^③、さらにはうつ病や循環器疾患など様々なストレス関連疾患の発症の契機ともなりうる^④。ストレス反応が起こると、通常は抑制系としてグルココルチコイドによるネガティブ・フィードバックシステムが機能し、視床下部からのコルチコトロピン放出因子（CRF）および下垂体前葉からの副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）分泌を抑制することによって速やかに定常状態に戻る^{①②⑤}。ゆえに、ストレス応答が異常に持続亢進する原因として、ストレス応答の持続的亢進をもたらす何らかの機序が存在する可能性が考えられる。

私たちはこれまで、ストレス関連ペプチドのラット脳内投与モデルを用いて、血中カテコールアミン濃度を指標として、交感神経系活性化の脳内調節機構を解析してきた。その過程で、主要なストレス関連ペプチドであるコルチコトロピン放出因子（CRF）の脳内投与により持続的な交感神経反応が起こること、また、この反応にシクロオキシゲナーゼ（COX）や一酸化窒素合成酵素（NOS）など神経炎症メディエーターに関連する合成酵素の持続的な発現誘導が関与することを報告している^{⑥⑦}。私たちは、これらの神経炎症メディエーター合成酵素が、急性ストレスを負荷したラット脳においても発現増加することを報告している^⑧。さらに、CRF刺激や脳内ノルアドレナリン神経系の興奮を起点とする交感神経反応に、GABA_B受容体が促進的に関与することを明らかにしている^⑨。これらの成果から、CRFによる交感神経系の反応が一過性のものではないこと、視床下部室傍核における神経炎症性メディエーターおよび関連物質がCRFによる交感神経系反応の持続に関与する可能性が考えられる。

ストレス応答の制御中枢である視床下部室傍核（以下、室傍核）において、グルタミン酸とGABAによる室傍核CRFニューロンの調節が示されているが^{⑩⑪}、いずれもHPA系機能に関する研究であり、ストレスによる交感神経反応の持続亢進におけるCRFの役割や関連する調節機序については不明である。

2. 研究の目的

上記の背景から、ストレス条件下では脳内（とくに室傍核）において、CRFを起点とするシグナル経路が脳内ストレス応答の過剰な持続亢進をもたらす可能性が考えられるが、その詳細については未だ不明である。本研究ではストレス応答の異常な持続的亢進に焦点を当て、複数のストレスモデルを用いて、CRF関連経路とその調節因子がストレス応答の異常持続性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。とくに、室傍核を中心に、プロスタノイド、グルタミン酸およびGABAの調節と相互作用の観点から解析を行った。

3. 研究の方法

(1) ストレス負荷実験

Wistar/ST成体雄ラットを用いた。麻酔下でマイクロダイアリシスのためのガイドカニューレを頭蓋骨に固定し、5日間の安定化後、各種ストレスを負荷した。コントロール群のラットは、通常の飼育環境下で飼育された。

ストレス負荷時には、あらかじめ大腿動脈に留置したカニューレから経時的に採血を行った。採取した血液サンプルをアルミナ抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより血中ノルアドレナリンおよびアドレナリン濃度を測定した。また、視床下部室傍核より回収した透析液から、質量分析法により各種の炎症メディエーターおよび神経伝達物質を微量定量した。

(2) 薬物投与実験

Wistar/ST成体雄ラットを用いた。麻酔下で脳定位装置にラットを固定し、各種薬物を微量投与した。

投与薬物は側脳室もしくは交感神経系・ストレス応答の制御中枢である視床下部室傍核に行った。あらかじめ大腿動脈に留置したカニューレから経時的に採血を行った。採取した血液サンプルをアルミナ抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより血中ノルアドレナリンおよびアド

レナリン濃度を測定した。

4. 研究成果

(1) 急性および慢性ストレス負荷による交感神経反応

急性および慢性拘束ストレス負荷により、血中ノルアドレナリンおよびアドレナリンレベルはともに増加した。さらに、視床下部室傍核をターゲットとしたマイクロダイアリシス実験を行い、経時的に透析液を採取したところ、透析液中のプロスタグランジン E₂ およびトロンボキサン B₂ が有意に増加することが明らかとなった。

急性ストレス負荷と慢性単一ストレスを比較したところ、透析液中プロスタノイドは慢性負荷で反応性が低下した。一方、複数種のストレスを連日負荷した場合、慢性単一ストレスとは大きく異なる反応を示した。

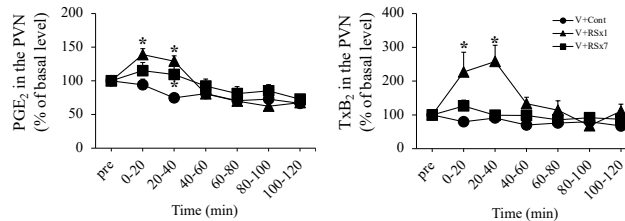


図1. 各種ストレス条件下での透析液中プロスタノイドの変化
(Yamaguchi & Okada, 投稿準備中)

(2) 急性ストレス負荷時の交感神経反応の抑制

急性拘束ストレス負荷による血中カテコールアミン増加に対してグルコースの持続投与を行ったところ、静脈内投与および脳室内投与ともに有意に抑制した。また、拘束ストレス負荷によりグルコースの取り込みが変化することが明らかとなった。

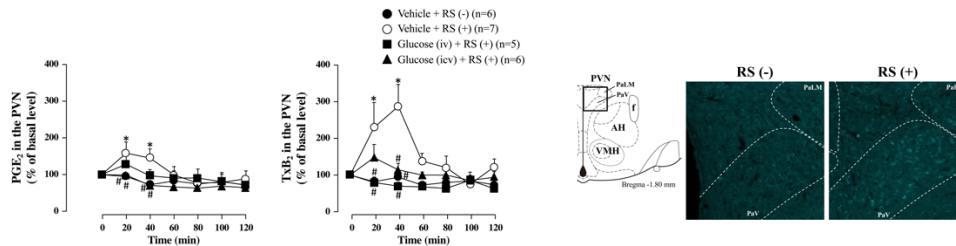


図2. 急性ストレス負荷時の交感神経反応に及ぼす脳内グルコースの影響
(Yamaguchi et al, Auton. Neurosci. 2022)

(3) 脳内ストレス応答における CRF 関連経路の調節機構

脳内ストレス応答における CRF 関連経路の調節機構を明らかにするため、グルタミン酸受容体遮断薬を脳室内および室傍核に微量投与し、CRF による交感神経活性化に NMDA 受容体が関与することを明らかにした。

(4) 結論

以上の結果から、急性および慢性ストレスにより異なる交感神経反応が起こること、その違いに室傍核のプロスタノイドが関与することを明らかにした。さらに、脳内ストレス反応経路における CRF 関連経路の調節機構に関して、グルタミン酸受容体が CRF によるカテコラミン増加に関与することを見出した。

<引用文献>

- ①Chrousos, 2009. Nat Rev Endocrinol 5.
- ②Ulrich-Lai et al., 2009. Nat Rev Neurosci 10.
- ③Spear, 2009. Dev Psychopathol 21.
- ④Arborelius et al., 1999. J Endocrinol 160.
- ⑤Pasquali, 2012. Ann NY Acad Sci 1264.
- ⑥Okada et al., 2008. Eur J Pharmacol 584.
- ⑦Yamaguchi et al., 2009. Auton Neurosci 148.
- ⑧Yamaguchi et al., 2009. Auton Neurosci 151.
- ⑨Yamaguchi et al., 2019b. Eur J Pharmacol 863.
- ⑩Yamaguchi et al., 2010. Neuroscience 170.
- ⑪Yamaguchi et al., 2019a. Eur J Pharmacol 848.
- ⑫Jiang et al., 2018. J Neurosci 38.
- ⑬Johnson et al., 2018. J Comp Neurol 526.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamaguchi N, Kakinuma Y, Yakura T, Naito M, Okada S.	4. 巻 239
2. 論文標題 Glucose infusion suppresses acute restraint stress-induced peripheral and central sympathetic responses in rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Auton. Neurosci.	6. 最初と最後の頁 102957
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autneu.2022.102957	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tachi M, Yamaguchi N, Okada S.	4. 巻 875
2. 論文標題 Thromboxane A2 in the paraventricular hypothalamic nucleus mediates glucoprivation-induced adrenomedullary outflow.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur. J. Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 173034
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2020.173034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yamaguchi N, Fujikawa M, Okada S.
2. 発表標題 Yokukansan, a traditional Japanese medicine, suppresses stress-induced sympathetic activation and central responses to stress in rats.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamaguchi N, Okada S.
2. 発表標題 Astrocytes in the PVN are involved in corticotropin-releasing factor-induced sympathetic activation in rats.
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Okada S, Yamaguchi N.
2. 発表標題 ATP-sensitive K+ channel activation in the brain is involved in elevation of plasma levels of adrenaline.
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岡田 尚志郎 (OKADA Shoshiro) (40203989)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	呉 ユー秋 (WU Yuqiu) (40717154)	愛知医科大学・医学部・助教 (33920)	削除：2022年2月21日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------