

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 21 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2016

課題番号：26713009

研究課題名(和文) ストレス性自律生理反応を担う中枢神経伝達

研究課題名(英文) Central neural pathways mediating psychological stress-induced autonomic responses

研究代表者

中村 和弘 (NAKAMURA, Kazuhiro)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00548521

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,400,000円

研究成果の概要(和文)：体温、血圧、脈拍などが上昇する心理ストレス反応は視床下部背内側部から延髄へ至る神経路によって駆動されるが、本研究ではストレス信号を視床下部背内側部へ入力する上位の前脳領域を探索し、その情報伝達機構の解析を行った。ラットを用いて、神経解剖学、*in vivo*生理学、光遺伝学などの技術を駆使した実験を行った結果、ストレス信号は前頭前野から視床下部背内側部への直接の神経投射を介して伝達され、ストレス性交感神経生理反応を駆動することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Sympathetic responses to psychological stressors, such as increases in body temperature, blood pressure and heart rate, are driven by the central neural pathway from the dorsomedial hypothalamus to the medulla oblongata. In this study, I found a forebrain region that provides stress signals to the dorsomedial hypothalamus by performing experiments with neuroanatomical, *in vivo* physiological and optogenetic techniques in rats. The results from the experiments suggest a novel forebrain neural pathway driving sympathetic responses to psychological stressors.

研究分野：環境生理学

キーワード：心理ストレス 心因性発熱 ストレス疾患 交感神経 中枢神経回路 体温調節 頻脈 情動

1. 研究開始当初の背景

心理ストレスや情動が恒常性維持システムへ影響を与え、体温、血圧、脈拍などを上昇させることはヒトを含めた哺乳類で幅広く観察される。これらのストレス反応は、心理ストレスによって交感神経系が活性化されることによって生じる。例えば、野生動物が天敵に直面するなどの生命の危機に曝されたときに、即座に交感神経系を活性化し、血圧・脈拍を上昇させて骨格筋や中枢神経系への血液循環を促進する(つまり、酸素と栄養素の供給を増加させる)とともに体温を上昇させてこれらの器官を温めることで、身体パフォーマンスを向上させ、生命の危機を回避する意義があると考えられている。

しかし、長期の強いストレスは自律神経制御系を含めた中枢の恒常性維持システムに不可逆的な変化をもたらし、人間では、心因性発熱や高血圧など、種々のストレス疾患を引き起こす。なかでも、心因性発熱は慢性的なストレスによって生じることが多く、高体温状態が数ヶ月も続くことがあるため、身体の強い消耗によって社会生活が困難となることもあるが、一般的に解熱剤が著効を示さないため、治療が難しい¹⁾。また、発症原因の特定できない「不明熱」患者のおよそ半数が実は心因性発熱であったという報告もあり²⁾、このストレス疾患に悩む患者数は潜在的なものも含めて相当数にのぼるものとみられる。したがって、心因性発熱に代表されるストレス疾患の発症にかかわる中枢神経回路基盤を解明することは、このストレス社会における現代医学の重要かつ挑戦的な課題である。

研究代表者らは、視床下部の背内側部から延髄の縫線核へ至る下行性の神経路を同定し、これが心理ストレスによる体温上昇や頻脈などの交感神経反応を駆動することを見出していた³⁾。ラットを用いた実験において、この神経路が心理ストレスによって活性化されること、また、光遺伝学技術を用いてこの神経路を選択的に光刺激すると、ストレス反応に似た熱産生や頻脈などの交感神経生理反応が惹起されたことなどから、この視床下部-延髄の神経路は前脳の心理ストレス信号を延髄の交感神経出力系へ伝達し、ストレス反応を駆動する重要な仕組みであることを明らかにした³⁾。

しかし、心理や情動刺激を処理する大脳辺縁系や大脳皮質などの上位前脳領域からのストレス信号が視床下部背内側部へ伝達される神経回路メカニズムは依然不明であった。そのため、心理ストレスや情動が恒常性維持に影響を与える根本的仕組みが不明であり、ストレス疾患につながる中枢神経基盤の理解が難しい状況にあった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、神経解剖学、*in vivo* 生理学、光遺伝学などの実験技術を多面的に駆使

することで、心理ストレス信号を視床下部背内側部へ入力する上位の脳領域を探索し、その情報伝達機構を解析することである。

研究代表者は本研究の開始までに、逆行性神経トレーシングの予備実験によって、いくつかの前脳領域から視床下部背内側部へ直接の神経投射があることを見出していた。そこで本研究では、これらの前脳の候補領域の中から、

(1) 視床下部背内側部へ直接投射し、かつ、ストレスによって活性化されるニューロン群が候補領域内に分布する

(2) 薬物注入によって候補領域内のニューロンを刺激するとストレス反応様の生理反応が惹起される

(3) 候補領域から視床下部背内側部への神経伝達を選択的に光刺激するとストレス反応様の生理反応が惹起される

ことを指標に、ストレス信号を視床下部背内側部へ入力する上位の前脳領域を特定し、その情報伝達機構の解明を行った。

なお、本研究のストレス実験では、人間の社会ストレスに近い動物ストレスモデルとして知られる「社会的敗北ストレス」を用いた。研究代表者らは、社会的敗北ストレスをラットに与えると褐色脂肪熱産生が惹起され、体温が上昇することを見出していた⁴⁾。社会的敗北ストレスによって惹起されるストレス性体温上昇は、ストレスが自律生理機能に影響を及ぼす仕組みを研究する上で優れた動物実験モデルであることから、このストレスモデルを用いて得られる知見は、現代のストレス社会で問題となっている心因性発熱などのストレス疾患の発症基盤解明に有用であると考えられる。したがって、本研究で明らかにするストレス信号伝達機構は、高次精神機能が恒常性維持機構に影響を及ぼす仕組みについて重要な知見を与えるだけでなく、様々なストレス疾患の画期的治療法の将来的な開発へつながるものであると考えられた。

3. 研究の方法

(1) 視床下部背内側部へ投射するニューロン群のストレスによる活性化の組織化学的検討

視床下部背内側部へ心理ストレス信号を入力する上位の脳領域の候補を得るために、神経トレーシングと活性化神経細胞同定を組み合わせた組織化学的解析を行った。麻酔下のラットの視床下部背内側部へ逆行性神経トレーサー(cholera toxin b-subunit: CTb)を注入した。ラットは覚醒後1週間程度飼育し、社会的敗北ストレスを与えた後、灌流固定し、その脳組織の免疫組織化学的解析を行った。そして、CTbと活性化神経細胞の分子マーカーであるFosの二重陽性の神経細胞群を前脳

で探索した。

(2) 薬物微量注入による前脳ニューロン刺激による自律生理反応の解析

(1)の実験によって視床下部背内側部へストレス信号を入力する脳領域の候補として挙げられた前脳領域の神経細胞を薬物刺激し、ストレス反応と同様の交感神経生理反応が惹起されるか否かを検討した。ラットに麻酔をかけ、特定の前脳領域に GABA_A 受容体拮抗薬であるピククリン (2 mM, 60 nl) を注入することで注入局所の神経細胞を刺激し、褐色脂肪組織の交感神経活動、褐色脂肪組織の温度、体温、脈拍、血圧などを *in vivo* で同時測定した。

(3) 前脳領域から視床下部背内側部への神経伝達の選択的光刺激と自律生理反応の解析

特定の前脳領域から視床下部背内側部への直接の神経伝達がストレス反応と同様の交感神経生理反応を駆動できるかどうかを調べるために、光遺伝学技術を用いて、注目する神経伝達路を選択的に *in vivo* で光刺激し、褐色脂肪組織の熱産生活動や循環器反応などを測定した。麻酔ラットの特定の前脳領域へアデノ随伴ウイルスを注入して神経細胞に遺伝子導入し、光で活性化するカチオンチャンネル (ChIEF、青色光で膜電位を脱分極させる⁵⁾) を発現させると、一週間後、ChIEF 蛋白質が視床下部背内側部へ伸びた軸索の終末まで運ばれることが確認できた。そこで、ラットに再度麻酔をかけて光ファイバーを脳へ刺入し、視床下部背内側部内の ChIEF 含有軸索終末に対して光照射を行うことによって、当該前脳領域に由来する神経終末の活動だけを特異的に光刺激した。

4. 研究成果

(1) 視床下部背内側部へ投射するニューロン群のストレスによる活性化の組織化学的検討

視床下部背内側部へ軸索を投射する神経細胞であることを示す CTb 標識神経細胞が前頭前野を含めたいくつかの前脳領域で多数観察された。社会的敗北ストレスを受けたラットにおいては、前頭前野の CTb 標識神経細胞群において Fos の発現が観察された。したがって、これらの神経細胞が心理ストレスによって活性化され、その情報を視床下部背内側部へ入力することが示された。

(2) 薬物微量注入による前脳ニューロン刺激による自律生理反応の解析

(1)の解剖学的解析結果をもとに、麻酔下のラットにおいて、前頭前野を含めたいくつかの前脳の候補領域に GABA_A 受容体拮抗薬であるピククリンを微量注入し、局所の神経細胞を刺激した。その結果、前頭前野に注入した場合において、即座に褐色脂肪組織の交感

神経活動が上昇し、褐色脂肪組織の温度が上昇した。また、脈拍・血圧も上昇し、心理ストレス反応に似た交感神経自律生理反応が観察された。

(3) 前脳領域から視床下部背内側部への神経伝達の選択的光刺激と自律生理反応の解析

(1)、(2)の実験結果をもとに、候補となるいくつかの前脳領域から視床下部背内側部へ投射する ChIEF 含有軸索の終末を光照射すると、前頭前野に由来する視床下部背内側部の神経終末の活動を選択的に光刺激した場合にのみ、光照射に呼応した褐色脂肪交感神経活動、褐色脂肪組織温度および脈拍の有意な上昇を観察することに成功し、心理ストレス反応に似た交感神経自律生理反応を惹起することができた。

上記の実験結果は、前頭前野から視床下部背内側部への直接の神経投射を通じて心理ストレスの信号が伝達され、その結果、褐色脂肪熱産生をはじめとする交感神経自律生理反応が駆動されるという、心理ストレス反応の中枢神経回路メカニズムを示唆する。我々の先行研究では、視床下部背内側部から延髄縫線核を経て脊髄からの交感神経出力に至る神経路が心理ストレスによる褐色脂肪熱産生、体温上昇、頻脈を駆動することが明らかとなっていた³⁾。視床下部背内側部から延髄縫線核を経た交感神経遠心路は、ストレス反応だけでなく、平常の体温調節や感染性発熱の惹起などに必要な交感神経生理反応の駆動にも関わる⁶⁾。したがって、これらの知見をあわせると、前頭前野から発せられる心理ストレスの信号が、視床下部背内側部-延髄縫線核を経た恒常性維持の神経メカニズムを駆動することでストレス性自律生理反応が発現すると考えられる。この神経回路モデルをさらに証明するためには、前頭前野の神経細胞の活動を抑制し、心理ストレス性自律生理反応の発現に対する影響を調べることが必要である。

これまでのストレス研究では、主に行動やホルモン分泌などの解析が行われ、交感神経系を含めた自律神経系のストレス反応を生み出す中枢神経回路メカニズムの解明は大きく遅れていた。本研究の成果は、心理ストレスや情動の信号がどのようにして自律神経系や恒常性維持を司る視床下部へ伝達され、自律生理反応を駆動するのかという問題について世界で初めて明確な解答をもたらしたものである。また、本研究で提示された心理ストレス反応の中枢神経回路メカニズムは、心因性発熱を含めた多様なストレス疾患の発症基盤の解明ならびに画期的治療戦略の将来的な開発に向けて、非常に重要な意義を持つ知見である。

< 引用文献 >

- 1) Oka T, Oka K. Mechanisms of psychogenic fever. *Adv. Neuroimmune Biol.* 3:3-17, 2012.
- 2) Nozu T, Uehara A. The diagnoses and outcomes of patients complaining of fever without any abnormal findings on diagnostic tests. *Intern. Med.* 44:901-902, 2005.
- 3) Kataoka N, Hioki H, Kaneko T, Nakamura K. Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia. *Cell Metab.* 20:346-358, 2014.
- 4) Lkhagvasuren B, Nakamura Y, Oka T, Sudo N, Nakamura K. Social defeat stress induces hyperthermia through activation of thermoregulatory sympathetic premotor neurons in the medullary raphe region. *Eur. J. Neurosci.* 34:1442-1452, 2011.
- 5) Lin JY, Lin MZ, Steinbach P, Tsien RY. Characterization of engineered channelrhodopsin variants with improved properties and kinetics. *Biophys. J.* 96:1803-1814, 2009.
- 6) Nakamura K. Central circuitries for body temperature regulation and fever. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 301:R1207-R1228, 2011.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

Nakamura Y, Yanagawa Y, Morrison SF, Nakamura K. Medullary reticular neurons mediate neuropeptide Y-induced metabolic inhibition and mastication. *Cell Metabolism* 25:322-334 (2017). 査読有、doi: 10.1016/j.cmet.2016.12.002

Sohn J, Okamoto S, Kataoka N, Kaneko T, Nakamura K., Hioki H. Differential inputs to the perisomatic and distal-dendritic compartments of VIP-positive neurons in layer 2/3 of the mouse barrel cortex. *Frontiers in Neuroanatomy* 10:124 (2016). 査読有、doi: 10.3389/fnana.2016.00124

中村和弘. 体温を調節する中枢神経回路メカニズム. *日本神経精神薬理学雑誌* 36:93-99 (2016). 査読無

中村和弘. 体温・代謝調節システムの研究から「温度生物学」への展開. *生物物理* 56:149-153 (2016). 査読有、doi: 10.2142/biophys.56.149

Chiba Y, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Munakata Y, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Uno K, Sawada S, Imai J, Nakamura K., Katagiri H. Dapagliflozin, a sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor, acutely reduces energy expenditure in BAT via neural signals in mice. *PLoS One*

11:e0150756 (2016). 査読有、doi: 10.1371/journal.pone.0150756

Nakamura K. Neural circuit for psychological stress-induced hyperthermia. *Temperature* 2:352-361 (2015). 査読有、doi: 10.1080/23328940.2015.1070944

中村和弘. 心理ストレスと体温上昇. *Brain and Nerve* 67:1205-1214 (2015). 査読無、https://www.igaku-shoin.co.jp/journalDetail.do?journal=36270

中村和弘. 体温調節機構とその異常. *Clinical Neuroscience* 32:1387-1390 (2014). 査読無

中村和弘. 体温調節に必要な環境温度情報の神経伝達機構. *自律神経* 51:91-98 (2014). 査読有

Kataoka N, Hioki H, Kaneko T, Nakamura K. Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia. *Cell Metabolism* 20:346-358 (2014). 査読有、doi: 10.1016/j.cmet.2014.05.018

Lkhagvasuren B, Oka T, Nakamura Y, Hayashi H, Sudo N, Nakamura K. Distribution of Fos-immunoreactive cells in rat forebrain and midbrain following social defeat stress and diazepam treatment. *Neuroscience* 272:34-57 (2014). 査読有、doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.04.047

〔学会発表〕(計 37 件)

中村和弘. 環境温度・環境ストレスから生命を守る神経回路. 2016 年度「次世代脳」プロジェクト 冬のシンポジウム, 2016 年 12 月 19 日 学士会館(東京都千代田区)

Kazuhiro Nakamura, Naoya Kataoka. Higher brain stress signalling that drives the hypothalamo-medullary pathway for stress-induced hyperthermia. 6th International Conference on the Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation, 2016 年 12 月 6 日 Ljubljana (Slovenia)

中村和弘. 環境ストレスに応じた褐色脂肪熱産生の調節. 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016 年 11 月 30 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

Kazuhiro Nakamura. Central pathways for cold-induced thermogenesis. Wenner-Gren 財団国際シンポジウム “Brown Adipose Tissue and Euthermia”, 2016 年 5 月 27 日 Stockholm (Sweden)

中村和弘. 体温調節の神経機構. 第 93 回日本生理学会大会, 2016 年 3 月 23 日 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

Naoya Kataoka, Kazuhiro Nakamura. A ventral medial prefrontal cortex-

dorsomedial hypothalamus pathway driving psychological stress-induced hyperthermia. 第 93 回日本生理学会大会, 2016 年 3 月 23 日 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)

中村和弘. 多様な環境ストレスから生命を守る神経回路システム ~体温調節研究を通じて~. 自然科学研究機構 3 プロジェクト合同終了シンポジウム「次ステージ機能生命科学の展望」, 2016 年 3 月 10 日 岡崎コンファレンスセンター (愛知県岡崎市)

中村和弘. 光遺伝学を用いたストレス性体温上昇メカニズムの解明. 千里ライフサイエンスセミナー, 2016 年 2 月 26 日 千里ライフサイエンスセンタービル (大阪府豊中市)

中村和弘, 片岡直也. 心理ストレス性体温上昇の中枢神経機構. 第 68 回日本自律神経学会総会, 2015 年 10 月 30 日 ウィンクあいち (愛知県名古屋)

Naoya Kataoka, Kazuhiro Nakamura. Medial prefrontal cortical to the hypothalamo neurons involved in psychological stress induced BAT thermogenesis through activates of hypothalamo-medullary neural pathway. 2015 Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2015 年 10 月 18 日 Chicago (USA)

Kazuhiro Nakamura. Cold-defense neural pathway drives stress-induced hyperthermia. The International Society for Autonomic Neuroscience 2015, 2015 年 9 月 26 日 Stresa (Italy)

Kazuhiro Nakamura. Central regulation of body temperature. 第 53 回日本生物物理学会年会, 2015 年 9 月 13 日 金沢大学 (石川県金沢市)

Naoya Kataoka, Kazuhiro Nakamura. Medial prefrontal cortical neurons involved in sociopsychological stress-induced brown fat thermogenesis and hyperthermia. 第 38 回日本神経科学大会, 2015 年 7 月 29 日 神戸国際会議場・展示場 (兵庫県神戸市)

Kazuhiro Nakamura. Central circuit mechanism of psychogenic fever. 第 38 回日本神経科学大会, 2015 年 7 月 28 日 神戸国際会議場・展示場 (兵庫県神戸市)

中村和弘. 体温調節の中枢神経メカニズム. 日本睡眠学会第 40 回定期学術集会, 2015 年 7 月 3 日 栃木県総合文化センター (栃木県宇都宮市)

Kazuhiro Nakamura, Naoya Kataoka. Central circuit mechanism that drives stress-induced autonomic responses. 第 120 回日本解剖学会総会・全国学術総会・第 92 回日本生理学会大会合同大会, 2015 年 3 月 23 日 神戸国際会議場・展示場 (兵庫県神戸市)

中村和弘. 褐色脂肪熱産生を制御する視床下部-延髄-交感神経回路. 第 57 回日本糖尿病学会, 2014 年 5 月 22 日 リーガロイヤルホテル (大阪府大阪市)

Nakamura K. Central thermoregulatory system: a mechanism that defends life from various environmental stressors (Bowditch Award Lecture). Experimental Biology 2014, 2014 年 4 月 27 日 San Diego (USA)

中村和弘. 体温調節の仕組み. 第 18 回東北生活習慣病研究会, 2014 年 4 月 16 日 東北大学 (宮城県仙台市)

〔図書〕(計 6 件)

廣川信隆 編 (中村和弘: 心理ストレスによる自律生理反応を駆動する中枢神経回路機構, 135-149 ページ)、プレインサイエンス・レビュー 2017、クパブプロ、308 ページ、(2017)

桑名俊一、荒田晶子 編著 (中村和弘: 第 15 章 体温の調節, 357-378 ページ)、コメディカル専門基礎科目シリーズ 生理学、理工図書、400 ページ、(2016)

寺内康夫、伊藤裕、石橋俊 編 (中村和弘: 体温の中枢制御機構, 80-86 ページ)、Annual Review 2016 糖尿病・代謝・内分泌、中外医学社、230 ページ (2016)

岡野栄之、鯉淵典之、植村慶一 監訳 (樋口隆、中村和弘: 第 39 章 翻訳, 823-836 ページ)、オックスフォード・生理学 原書 4 版、丸善、896 ページ (2016)

門脇孝 編 (中村和弘: 褐色脂肪細胞の熱産生を制御する視床下部-延髄-交感神経回路, 35-44 ページ)、糖尿病学 2015、診断と治療社、168 ページ (2015)

鯉淵典之、栗原 敏 監訳 (中村和弘: 第 38 章 翻訳, 544-552 ページ)、リップンコットシリーズ イラストレイテッド生理学、丸善、640 ページ (2014)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.med.nagoya-u.ac.jp/physiol2/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 和弘 (NAKAMURA, Kazuhiro)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 00548521