Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

# Stimulation of the rat dorsal raphe in vivo releases labeled serotonin from the parietal cortex

藤原, 寛

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
1982-07-14
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
乙0770
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2000770

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

〔70〕

氏名・(本籍)　藤原（ふじわら）　寛（ひろし）　（徳島県）

学位の種類　医学博士
学位記番号　医博ろ第674号
学位授与の要件　学位規則第5条第2項該当
学位授与の日付　昭和57年7月14日

学位論文題目　STIMULATION OF THE RAT DORSAL RAPHE IN VIVO RELEASES LABELED SEROTONIN FROM THE PARIETAL CORTEX
生体位でのラット背側縫線核刺激による大脳皮質頭頂葉からの標識セロトニン遊離

審査委員　主査　教授　田中千賀子
教授　岡田安弘　教授　西塚泰美

## 論文内容の要旨

### 緒言

脳にSerotonin（5－hydroxytryptamine：5HT）が含まれていることは，1953年Twarog等によって最初に報告された。5HTは，幻覚剤LSDと同じインドール核を持っていることや，精神安定剤Reserpineが脳内5HTを枯渇させることから，5HTは，特定のシナプスの情報を伝達する神経伝達物質であり，5HTによる神経伝達の異常が精神異常と関係するのではないかと考えられ，多くの研究が進められてきた。5HTは，延髄，橋及び中脳縫線核のニューロンに集中して存在し，中脳縫線核に局在する5HTニューロンは，主に前脳に投射していることが，蛍光組織化学及び神経化学的手法によって示されている。そこで，中脳縫線核－大脳皮質神経路の神経伝達物質が，5HTであることを証明するために，生体位動物で，Cortical cup法を用い，中脳縫線核の電気刺激に対応して大脳皮質より遊離する5HTを直接証明することを試みた。

### 実験方法

Wistar系雄性ラット（250～300g）をPentobarbital sodium 30mg/kg（i. p.）麻酔下で定位脳固定台に固定し，大脳皮質頭頂葉を露出し，円筒型プラスチックカップ（内径4.5，高さ8mm）を外科接着剤にて装着した。カップ内皮質は，95％$O_2$，5％$CO_2$を飽和し，37℃に保持したKrebs phosphate液（KPB）にて洗浄後，KPBに溶かした$^3$H－5HT（2μCi）をカップ内に入れ1時間インキュベートし，大脳皮質に$^3$H－5HTを取込ませた。カップ内をKPBにて充分洗浄後，50μlのKPBを入れ，10分間隔で液を交換した。採取した溶液中の遊離$^3$H物質の総放射能を

測定するとともに，試料中に含まれている$^{3}$H−5HT量も，n−Butanol，n−Heptane抽出法にて精製し，測定した。

背側縫線核，正中縫線核及び上行性5HT神経路の電気刺激は，König等のラット脳座標に従い，ステンレス製双極電極を挿入し，4V，2msec，5〜20Hzの短形波にて2〜5分間刺激した。刺激部位は，各実験終了時，電気凝固し，凍結切片を作製後，toluidine blueにて染色し観察した。

**結果および考察**

前もって$^{3}$H−5HTを負荷した大脳皮質からの$^{3}$H物質の自発遊離は，多相性指数関数に従って減少した。最初の30分間は，急速に遊離量の減少を示すが，120分以後は，単一指数関数に従って徐々に減少した。

最初にみられる$^{3}$H物質遊離量の急速な減少は，負荷された$^{3}$H−5HTが，5HT神経終末だけでなく，いくつかの部位に取込まれ，それらの部位からの$^{3}$H−5HT及び代謝物遊離を示しているものと思われる。一方，120分以後の単一指数関数に従う遊離は，おそらく大脳皮質の5HT神経終末からの遊離であると考えられる。遊離した$^{3}$H物質中の$^{3}$H−5HTの割合を測定すると，遊離実験開始1時間から5時間の間で，総遊離$^{3}$H物質中の約25％が$^{3}$H−5HTであったが，カップ内溶液中にモノアミンオキシダーゼ阻害剤であるPargyline（$10^{-4}$〜$10^{-3}$M）を適用すると，遊離した$^{3}$H物質中の$^{3}$H−5HT量は，Pargylineの濃度に依存して増加し，Pargyline（$10^{-3}$ M）存在下での$^{3}$H−5HT量は，遊離$^{3}$H物質の約70％であった。5HT神経終末から遊離した5HTは，脳実質を通過しカップ内溶液に移行する間に，主としてモノアミンオキシダーゼにより急速に分解されるものと思われる。

Imipramineによって5HTの神経終末への取込みを阻害すると，$^{3}$H物質の自発遊離は，Imipramine（$10^{-6}$〜$10^{-3}$M）の濃度に依存して増加し，背側縫線核刺激による$^{3}$H物質遊離も増大した。これは，5HTシナプスでの神経伝達に際して，神経終末への5HTの取込み機構が重要な生理的役割を持つことを示したものである。

Chase等は，脳切片を用い，5HTの主な代謝物である5−Hydroxyindole acetic acid（5HIAA）が神経終末に取込まれないのみならず，電気刺激によっても遊離しないことを報告している。従って，本実験において，Pargyline及びImipramine存在下での遊離$^{3}$H物質の大部分は$^{3}$H−5HTであり，大脳皮質支配5HT神経終末から遊離した5HTをよく反映しているものと思われる。

中脳縫線核領域の刺激による大脳皮質頭頂葉からの$^{3}$H−5HT遊離は，縫線核の限定された部位の刺激によってのみ誘発され，この遊離は刺激頻度（5〜20 Hz）の増加に依存して増加した。背側縫線核の吻側$\frac{2}{3}$領域の刺激は，大脳皮質頭頂葉からの$^{3}$H−5HT遊離を効果的に増加し，一方，背側縫線核の尾側$\frac{1}{3}$及び内側縦束の間の部分の刺激によっては，有意な$^{3}$H−5HT遊離を認めることができなかった。更に，正中縫線核の刺激は，$^{3}$H−5HT遊離に対し無効かあるいは軽度の増加にとどまった。これらの所見は，大脳皮質頭頂葉に投射している5HT神経終末の起始核が背側縫線核の吻側$\frac{2}{3}$の領域に局在していることを示唆するものである。

神経毒であるDihydroxytryptamineを用いた組織化学研究及びオートラジオグラフィーによって，ラット中脳縫線核内の5HTニューロンから二つの神経路，外側5HT神経束及び内側5HT神経

束が上行することが証明されている。そこで，背側縫線核－大脳皮質頭頂葉5HT神経路がどの上行路を介しているかを明らかにするため，5HT神経路刺激による$^{3}$H－5HT遊離実験を行った。中脳被蓋の背内側部で，背側NA神経束の腹内側に位置する外側5HT神経束の刺激は，有意に大脳皮質頭頂葉からの$^{3}$H－5HT遊離を増加し，一方，内側5HT神経束の刺激によっては，大脳皮質からの$^{3}$H－5HT遊離を認めることができなかった。

以上の結果は，背側縫線核－大脳皮質頭頂葉5HT神経路が背側縫線核を起始核とする外側5HT神経束を介していることを直接証明したものであり，この所見は，背側縫線核－大脳皮質5HT 神経路が外側5HT神経束を介しているという組織化学的報告及び背側縫線核破壊によって，著明に大脳皮質頭頂葉の5HT含有量が減少するという神経化学的報告によっても裏付けられるものである。

## 論文審査の結果の要旨

セロトニンが脳機能を制御する神経伝達物質ではないかと考えさせる多くの事実がある。幻覚剤であるLSDはセロトニンレセプター遮断剤であり，抗精神病薬，抗うつ薬もセロトニンシナプスに作用する。セロトニン前駆物質を投与すると“セロトニン症候群”と呼ばれている運動機能制御異常が誘発される。更に，けいれん，痛覚，睡眠，体温，摂食行動，性行動など広く脳機能を制御していることが知られている。一方，セロトニンは延髄，橋および中脳縫線核のニューロンに集中して存在し，中脳縫線核に局在するセロトニンニューロンは，主に前脳に投射していることが形態学的に示されている。この中脳縫線核一大脳皮質神経路の神経伝達物質がセロトニンであることを証明するために，最も主要な条件の一つは，生体位動物で中脳縫線核の電気刺激に対応して大脳皮質より遊離するセロトニンを直接に証明することである。しかし，*in vitro* の伝達物質遊離実験と比べると *in vivo* での脳神経伝達物質の遊離の証明はかなり困難な実験であり，国際的にも限られた研究グループでのみ手掛けられているのが現状である。本申請者はCortical cup法を用いて，即ち大脳皮質表面に人工脳室を作り，前もって$^{3}$H－セロトニンを摂取させたラット大脳皮質から中脳縫線核刺激に対応して遊離するセロトニンの証明に成功した。

その結果，中脳縫線核の刺激による大脳皮質からの$^{3}$H－ セロトニン遊離は，縫線核の限定された部位の刺激によってのみ誘発されることを発見した。背側縫線核の吻側$\frac{2}{3}$の刺激は頭頂葉から$^{3}$H－セロトニン遊離を誘発し，尾側$\frac{1}{3}$および正中縫線核の刺激では$^{3}$H－セロトニン遊離を効果的に誘発することができなかった。これらの結果は，大脳皮質頭頂葉に投射しているセロトニン神経終末の起始核が背側縫線核吻側$\frac{2}{3}$に局在していることを示している。 更に，ラット中脳縫線核内のセロトニンニューロンから二つの神経路，外側および内側セロトニン神経束が上行することが形態学的に示されているので，この外側セロトニン神経束を刺激すると大脳皮質頭頂葉からの$^{3}$H－セロトニン遊離が認められたが，内側セロトニン神経路の刺激は頭頂葉での$^{3}$H 遊離を誘発しなかったことから，背側縫線核のセロトニン神経は外側セロトニン神経路を経て大脳皮質頭頂葉を支配していることを証明した。

本研究は，脳セロトニンが神経伝達物質であるかどうかを研究したものであるが，従来ほとんど行われなかった*in vivo* における脳セロトニンの遊離をはじめて直接証明したものであって，背側縫線核－大脳皮質頭頂葉神経路の伝達物質について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は，医学博士の学位を得る資格があると認める。