



# Effect of serotonergic agents on regional concentrations of somatostatin- and neuropeptide Y-like immunoreactivities in rat brain

柿木, 達也

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1993-08-11

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1751

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001751>

※ 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。



氏名・（本籍）	柿 木 達 也 (広島県)
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	博ろ第1366号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与の日付	平成5年8月11日
学位論文題目	Effect of serotonergic agents on regional concentrations of somatostatin and neuropeptide Y-like immunoreactivities in rat brain (セロトニン作動薬のラット脳内ソマトスタチン様及びニューロペプチドY様免疫活性濃度に及ぼす影響)
審査委員	主査 教授 中 井 久 夫 教授 千 原 和 夫    教授 前 田      盛

## 論文内容の要旨

### 緒 言

ペプチドは今やアミンやアミノ酸とともに神経伝達物質として広く認められている。精神疾患においても、種々のペプチドの脳内あるいは脳脊髄液中濃度の異常が報告されている。特に、感情障害の患者の脳脊髄液中のソマトスタチン様免疫活性（SS-LI）の変化についての報告が多い。われわれは一部の抗うつ剤のラットへの慢性投与によって脳内SS-LIが減少することを認めている。

ニューロペプチドY（NPY）は、最初豚の脳から分離されたが、多くの中樞作用をもっていることが示されている。ヒトの脳でもニューロペプチドY様免疫活性（NPY-LI）は視床下部、線条体、海馬、大脳皮質などに高濃度にみとめられている。SS-LIとNPY-LIはヒトやラットの大脳皮質ニューロンでは同一ニューロンに認められ、SSとNPYは同一ニューロンに共存していると考えられている。また、大うつ病患者の脳脊髄液中のNPY-LIは低下しているという報告もみられる。感情障害の病態生理として、古典的神経伝達物質ではノルアドレナリン系に異常があるとする考え方とともに、セロトニン系の異常も提唱されている。

本研究では、セロトニン系作動薬がこれらのペプチドのラット脳内濃度に及ぼす影響を検討した。

### 対象と方法

ウイスター系雄性ラット（体重250-300 g）にセロトニンの前駆物質である5-hydroxytryptamine（5-HTP）、セロトニン合成阻害剤であるp-chlorophenylalanine（PCPA）、セロトニン神経に対する選択的神経毒である5,7-dihydroxytryptamine（5,7-DHT）を投与した。

5-HTPは、5 mg/kgを4時間の急性投与と1日2回10日間の慢性投与、25 mg/kgを1日2回10日間の慢性投与を行った。投与経路は腹腔内投与とした。最後の投与の4時間後に断頭し脳を取り出した。PCPAは150 mg/kgを1日1回7日間、または250 mg/kgを1日1回3日間、腹腔内投与し、最後の投与の翌日に断頭し脳を取り出した。5,7-DHTは、脳室内投与する60分

前にノルアドレナリン神経を保護する目的でデシプラミンを25 mg/kg 腹腔内投与しておき、その後、一匹あたり50  $\mu$ g を stereotactically に脳室内に投与し、1週間後に断頭し、脳を取り出した。取り出した脳はグロウインスキーとイバーセンの方法に準じて7部位（視床下部、線条体、海馬、大脳皮質、中脳と視床、小脳、延髄と橋）に分割し、それぞれの重量を測定した。脳組織は2規定酢酸2 ml 中でホモジナイズし、ペプチドの分解酵素を不活性化するために5分間煮沸し、遠心後上清を凍結乾燥してアッセイ用バッファーで再溶解した。それぞれのペプチドの免疫活性はラジオイムノアッセイで測定した。アッセイ感度はSSが1.0 pg/tube, NPYが0.4 pg/tube であった。アッセイ内のばらつきを変動係数CV (Coefficient of Variation) で表示すると、SSのアッセイ内CV=8.1%、NPYのアッセイ内CV=5.2%であった。アッセイ間のばらつきを排除するため、対照群と実験群は同一のアッセイで測定した。

### 結果と考察

- 1) 5-HTP 5 mg/kg、急性腹腔内投与：SS-LI, NPY-LIともすべての部位で変化はなかった。
- 2) 5-HTP 5 mg/kg、1日2回10日間腹腔内投与：SS-LIは視床下部、大脳皮質、中脳と視床で20-40%の低下を示した。NPY-LIは変化はなかった。
- 3) 5-HTP 25 mg/kg、1日2回10日間腹腔内投与：SS-LIは視床下部、線条体で低下、小脳で上昇を示した。視床下部での低下は用量依存性であった。NPY-LIは視床下部で低下を示した。
- 4) PCPA 150 mg/kg、1日1回7日間腹腔内投与：SS-LIはすべての部位で著明に上昇した。NPY-LIは、延髄と橋を除いたすべての部位で上昇を示した。
- 5) PCPA 250 mg/kg、1日1回3日間腹腔内投与：SS-LIは小脳でわずかに低下したのを除いて他のすべての部位で変化がなかった。NPY-LIはすべての部位で変化がなかった。
- 6) 5,7-DHT 50  $\mu$ g、脳室内1回投与1週間：SS-LIは視床下部、延髄と橋を除いて有意に上昇した。また、視床下部、延髄と橋においても上昇傾向がみられた。

NPY-LIは視床下部、大脳皮質において有意に上昇していた。

脳内SSへの他の神経伝達物質の影響についての研究は少なくない。SS-LI分泌はドーパミン、ノルエピネフリン、アセチルコリン、ヒスタミン、GABA、その他のペプチドによって修飾されている。

中枢セロトニン系とSS-LI分泌の関係も報告されている。ラット視床下部からのSS-LIの放出に及ぼすセロトニンの効果についてのいままでの報告はin vivo、in vitroとも一定したものはない。セロトニンはラット視床下部からのSS-LIの放出をin vitroで抑制するという報告がある一方、ラット視床下部や大脳皮質シナプトゾームからのSS-LIの放出はセロトニンによって増強されるという結果を報告している研究者もいる。うつ病患者の脳脊髄液中のSS-LIとセロトニンの代謝物である5HIAAとの間には負の相関があるという報告もある。

SS免疫活性のある細胞は室傍核(PVN)に豊富であり、前室傍領域はセロトニン含有神経線維分布も豊富である。また、ラットではセロトニン神経終末がPVNのSS免疫活性陽性細胞上にみとめられる。

NPYはヒトや実験動物での研究では感情障害との関連が示唆されている。すなわち、大うつ病患者の脳脊髄液中のNPY-LI値は低値を示し、NPY-LI値とうつ病の不安症状の程度との間に

負の相関が報告されている。うつ病の実験動物モデルである嗅球除去ラットの大脳皮質でのNPY-LI濃度は低値であるとの報告もある。また抗うつ剤のイミプラミンやデシプラミンを慢性投与するとラット前頭葉皮質や視床下部でNPY-LIが上昇するという報告や、逆に前頭葉皮質や視床下部を含むラット脳内で低下するという報告がある。免疫組織化学的な実験では、イミプラミンを14日間投与するとラット大脳皮質でNPY-LIが低下し、3時間の急性投与後に於ても低下するという。電気ショックはうつ病の治療に用いられるが、ラットに電気ショックを繰り返し与えると大脳皮質や視床下部でNPY-LIが上昇する。レセルピンはひとではうつ状態を引き起こすことが知られているが、青斑核や線条体でNPY-LI値を上昇させる。レセルピンは脳内セロトニンを枯渇させるので、この結果は我々のものと一致している。緒言でも述べたように、ラット大脳皮質ではSSとNPYは多くの部位で同一ニューロンに共存している。我々は種々の神経疾患を持った患者の脳脊髄液中のSS-LI値とNPY-LI値との間に有意な正の相関のあることを見い出している。セロトニン作動薬によってSS-LIとNPY-LIが同一方向の変化を示したことは、SSとNPYの両方を含んだ神経細胞が、セロトニン系の神経伝達変化に反応したのかもしれない。しかしながら、低用量の5-HTPがSS-LIには有意な影響を与えNPY-LIには影響を与えていないところを見ると、SS神経はNPY神経と較べてセロトニン伝達変化の影響を受けやすいのかもしれない。5,7-DHT投与でもSS-LIは広範囲に著明に増加しているが、NPY-LIの増加は視床下部と大脳皮質でみられたにすぎない。

このように、本研究で我々はセロトニン系ニューロンの活動性の増強がふたつのペプチド様免疫活性を、ラット脳内で低下させることを見い出した。我々の結果は、セロトニン系ニューロンが中枢神経系でこれらのペプチドの調節に抑制的に働いていることを示唆している。

## 論文審査の結果の要旨

著者はペプチドであるソマトスタチンとニューロペプチドYを測定した。ソマトスタチンは感情障害の患者の脳脊髄液中で変化しているという報告があり、著者は一部の抗鬱剤がラット脳内ソマトスタチン濃度を低下させることを報告している。ニューロペプチドYについても大鬱病患者の脳脊髄液中で低下しているという報告がある。ソマトスタチンとニューロペプチドYは同一ニューロンに共存しているという報告もある。感情障害の病態生理としては、古典的神経伝達物質での考え方としてノリアドレナリン系の異常があるとする考え方とともに、セロトニン系の異常も提唱されており、感情障害患者の脳脊髄液中のソマトスタチン、ニューロペプチドYの変化を考えるうえでセロトニン系がどのように関係しているのかは興味をもたれる所である。

1. 中枢セロトニン系とソマトスタチン分泌の関係については、視床下部においては、*in vivo*, *in vitro*とも報告は一定していない。例えば *in vitro* の実験で、セロトニンは視床下部からのソマトスタチンの放出を抑制するという報告がある一方、ラット視床下部や大脳皮質シナプトゾームからのソマトスタチンの放出はセロトニンによって増強されるという報告などである。今回著者が行った実験は *in vivo* でのセロトニンのラット脳内ソマトスタチン濃度に対する影響である。*in vivo* でのソマトスタチンに及ぼすセロトニンの影響についてはラットの下垂体門脈血中のソマトスタチンの動態をみたものがあり、著者は脳内各部位のソマトスタチンの濃度を測定した。結果はセロトニン系の増強によって脳内濃度は減少し、セロトニン系の減弱によって増加した。脳内濃度は合成と分泌のバランスの結果をみていると考えられるので、脳内濃度が減少したということは、合成が

低下したか分泌が促進されたかであろう。

2. 中枢セロトニン系とニューロペプチドY値との関係については、レセルピンがラット青斑核や線条体でニューロペプチドY値を上昇させるという報告がある。レセルピンは脳内セロトニンを枯渇させるので、セロトニン系の低下はニューロペプチドYを上昇させたと言える。著者の結果はセロトニン系の増強はニューロペプチドYを低下させ、セロトニン系の減弱はニューロペプチドYを増加させたので、レセルピンの結果と一致する。また、ソマトスタチンとニューロペプチドYの変化の方向は同一であり、二つのペプチドの両方を含んだ神経細胞がセロトニン系の影響を受けたと考えられた。

以上よりセロトニン系神経は中枢ではソマトスタチンとニューロペプチドYの調節に抑制的に働いていることを示唆している。

以上、本研究は、神経ペプチドであるソマトスタチン、ニューロペプチドYについて、その制御メカニズムを研究したものであるが、従来ほとんど行われなかったセロトニン作動系によるソマトスタチン、ニューロペプチドYのラット脳内含量の変化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、本申請者は博士（医学）の学位を得る資格があるものと認める。