

氏名（本籍） 杉本 皓司
学位の種類 博士（神経科学）
学位記番号 博甲第 7398 号
学位授与年月 平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科 人間総合科学研究科
学位論文題目 An experimental morphological study of the effect of acoustic perception on hypothalamic stress response
(視床下部ストレス応答に及ぼす聴覚刺激受容の効果に関する実験形態学的研究)

主査	筑波大学教授	理学博士	志賀 隆
副査	筑波大学教授（連携大学院）	博士（理学）	高島 一郎
副査	筑波大学准教授	博士（心理学）	山田 一夫
副査	筑波大学教授	医学博士	本田 克也

論文の内容の要旨

（目的）

ストレスに対する神経内分泌系の応答において、視床下部-脳下垂体-副腎皮質（HPA）軸を介する副腎皮質ホルモン（げっ歯類ではコルチコステロン）が主たる役割を果たす。近年、ヒト被験者や実験動物を用いて、嗅覚や味覚などの感覚刺激がストレスに対する HPA 軸の応答を軽減する効果を持つことが報告された。一方、聴覚刺激については、音楽が医療現場における手術時の患者の不安を和らげたり、実験動物で免疫反応を亢進させる等の報告があるが、HPA 軸の応答に対する効果は不明である。そこで本研究ではラットを用い、聴覚刺激が急性ストレスに対する HPA 軸の応答に及ぼす影響について、組織学および生化学的手法によって解析した。特に組織学的解析では、視床下部の室傍核を亜核に分けて詳細な解析を行った。

（対象と方法）

Sprague-Dawley 成熟雄ラットを用い、防音箱内(50 dB)で筒詰め拘束ストレスを 30 分間負荷した。その際に聴覚刺激(70 dB)としてホワイトノイズ(20 Hz-20 kHz の周波数成分を含む均一な内部音圧の音)、ブルーノイズ(高周波数成分ほど内部音圧が高い音)、ピンクノイズ(低周波数成分ほど内部音圧が高い音)のいずれかを提示した(それぞれ W 群、B 群、P 群)。さらに、聴覚刺激を与えずに拘束ストレスのみ負荷した群(S 群)、および通常飼育した無処置群(I 群)の 5 群を作成した。拘束ストレス負荷後に灌流固定し、視床下部室傍核を含む脳の冠状断の連続凍結切片を作成し、活性化ニューロンの解析のために各種初期発現遺伝子(c-Fos、JunB およびリン酸化 c-Jun)、ストレ

ス応答を解析するために副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH)、アルギニンバソプレシンヘテロ核 RNA (AVP hnRNA) の遺伝子発現を免疫組織化学法または *in situ* ハイブリダイゼーション法によって組織化学的に解析した。また、ストレス負荷終了後に断頭して体躯血を採取し、血漿中のコルチコステロン濃度を ELISA 法によって測定した。

(結果)

拘束ストレスを負荷した S 群では I 群と比較して室傍核の内側小細胞性亜核背側部 (mpdd) での c-Fos、JunB、リン酸化 c-Jun、AVP hnRNA を発現する細胞が増加した。また、血漿コルチコステロン濃度も上昇した。一方、S 群と比較して W 群と P 群の mpdd では c-Fos および JunB 陽性細胞数が減少したが、B 群では差は見られなかった。リン酸化 c-Jun の発現については W 群と S 群との間に差は見られなかった。さらに W 群の mpdd では c-Fos または JunB 陽性で CRH も同時に発現する細胞が減少し、AVP hnRNA を発現する細胞も減少した。しかしながら、血漿コルチコステロン濃度については W 群、P 群、B 群、S 群の間で差は認められなかった。

(考察)

mpdd には CRH を発現するニューロンが局在する。本研究で W 群と P 群の mpdd において c-Fos と JunB を発現する細胞数が減少したが、血漿コルチコステロン濃度に変化が見られなかった。このことから、ホワイトノイズとピンクノイズによって引き起こされる上記の 2 つの応答には異なる神経系が関与することが示唆された。ホワイトノイズはストレスによる mpdd での AVP hnRNA 発現細胞数の増加を押さえる効果を示したことから、ホワイトノイズの効果は CRH 放出という HPA 軸の活動には影響せず、AVP 産生を抑制するものと考えられる。また、ホワイトノイズとピンクノイズ刺激で c-Fos 陽性細胞数が減少したがブルーノイズでは影響が見られなかったことから、聴覚刺激の効果は 20 Hz-20 kHz の周波数域に含まれる低周波数成分に起因すると考えられる。

審査の結果の要旨

(批評)

聴覚刺激が HPA 軸を介するストレス応答に及ぼす影響については解明が遅れていたが、本研究はラットを用いて聴覚刺激のうちホワイトノイズとピンクノイズが急性ストレスにおける視床下部室傍核の mpdd における初期発現遺伝子の発現を抑制する一方で、血漿コルチコステロン濃度には影響を及ぼさないことを明らかにし、これらの 2 つのストレス応答が異なる機構を介することを示した。従って、聴覚刺激がストレス応答に及ぼす影響に関して新しい作用機序を提唱した点で意義のある論文と評価された。

平成 26 年 1 2 月 2 5 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (神経科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。