

視交叉上核の Vasopressin ニューロン — 日周リズムのペースメーカーとしての可能性 —

長崎 紘明*, 井上 慎一**, 徳増 亜古**

視交叉上核は睡眠覚醒サイクルをはじめとして、行動、内分泌の日周リズムの形成にとって重要な構造である。視交叉上核の日周リズムのメカニズムとして、視交叉上核自体の神経活動の日周リズムがあり、それらは Dorsomedial の regular discharge タイプのニューロンに由来するものと思われる。dorsomedial には、vasopressin ニューロンが集中しており、vasopressin-m RNA の量は、日周リズムを示す。さらに vasopressin-m RNA の poly(A) tail にも日周リズムがある。これらのことから、日周リズムのメカニズムの中で、vasopressin ニューロンの役割が期待される。視交叉上核の神経活動のメカニズムと vasopressin-m RNA 合成メカニズムに関して綜説する。

キーワード：視交叉上核の vasopressin

1. はじめに

睡眠覚醒のメカニズムとして、視交叉上核には昼夜に分ける機構があることがわかっている¹⁾。視交叉上核では昼夜を明暗で区別するだけでなく、約24時間の周期性を記憶している。いわゆる“フリーラン”の周期として記憶される。そこで視交叉上核には、時計機構としての役割や、ペースメーカーとしての役割が期待されている。

最初に視交叉上核自体の日周リズムを明らかにしたのは Inoue, S と Kawamura, H である²⁾。そのアイディアは視交叉上核の神経活動の日周リズムを記録して、それがペースメーカーであると仮定した。ペースメーカーの criteria として、①視交叉上核のニューロン活動 (multiple unit discharge) は明期に discharge rate が高く、暗期に低いこと、②恒常暗条件にすると、“フリーラン”すること、③明暗周期をシフトすると、3~4日 で新しい明暗周期に同調し entrain することである (図1)。

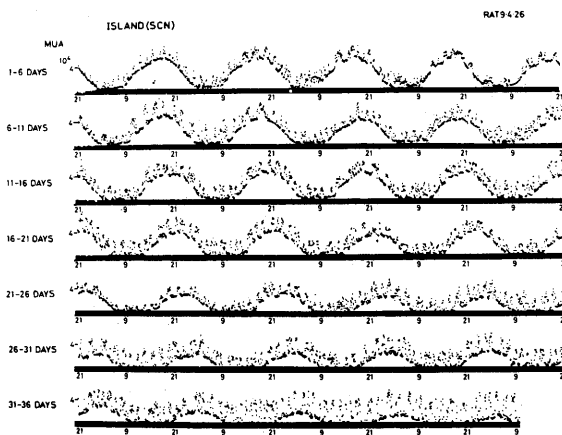


図1 視交叉上核の神経活動の日周リズム
視交叉上核の周囲をハラスナイフで切断して island にしたのち、視交叉上核 island から multiple activity を長時間にわたって記録したもの。(文献2)

視交叉上核のもう一つのリズムは、vasopressin-m RNA の合成の日周リズムである³⁾。視交叉上核の vasopressin と視交叉上核の神経活動の日周リズムの関連が極めて興味深い課題となっている。

* 山梨県中巨摩郡玉穂町山梨医科大学生理学講座第2教室

** 三菱化成生命科学研究所脳神経生理 (受付: 1989年9月18日)

1. 視交叉上核の神経活動のメカニズム

視交叉上核の slice の single unit discharge を昼夜で比較すると³⁾, discharge rate は昼夜高く、夜は低く

なるニューロンが多い(これを① regular firing type のニューロンとする), その他に② irregular firing type, ③ burst firing type があるが日周リズムがない(図2, 表1)。視交叉上核の, dorsomedial と

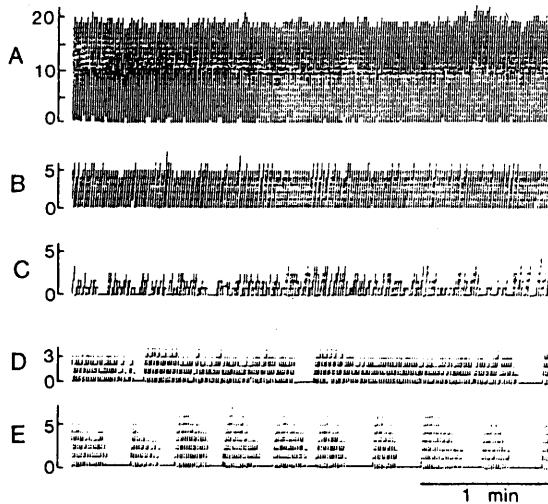


図2 視交叉上核ニューロンの single unit activity
AとBは regular firing type, C irregular firing type, DとEは bursting firing type (文献3)

ventrolateral では明暗周期の影響がちがう(表1)。dorsomedial のニューロンは明暗周期にともなう神経活動の昼夜差が大きく, かつ, 恒常暗条件や同様に眼球摘出で暗黒条件を完全にした場合にも神経活動の昼夜の差がある。これに対して, ventrolateral のニューロンは恒常暗条件や眼球摘出によって昼夜差が著しくなくなる。

これらの事実からサーカディアンリズムのペースメーカーとしては, 視交叉上核の dorsomedial にある regular firing type のニューロンの可能性が高い。これを支持する実験として, 視交叉上核の dorsomedial 部分を破壊すると Feeding や Drinking のサーカディアンリズムが消失する⁴⁾。

恒常明条件にすると, いままで昼夜で神経活動の rate が昼高く夜低かった regular type のニューロンも昼夜の差が減少する。これは光刺激の影響が視交叉上核のペースメーカー機構に影響することを示している。視神経に対する光刺激と電気刺激の影響を調べてみると, その反応は①単純な興奮をするタイプのニューロン, ②興奮性の反応に引続き, spontaneous discharge が抑制されるタイプのニューロン, ③興奮

	LD		DD		Enucleation		LL	
	Day	Night	Day	Night	Day	Night	Day	Night
Type I	85.2	65.0	81.6	69.3	80.3	64.0	37.4**	46.8**
Type II	14.8	31.0	18.4	27.7	18.2	30.3	53.9**	48.6**
Type III	0.0	3.9	0.0	3.0	1.5	5.7	8.6	4.6
n	135	103	179	166	197	122	139	175

** $P < 0.01$, significant difference from value of normal LD group (χ^2 -test).

	LD		DD		Enucleation		LL	
	Day	Night	Day	Night	Day	Night	Day	Night
Type I	84.7	71.4	71.3**	68.0	71.7**	66.7	62.8**	64.2**
Type II	12.1	23.8	25.1*	28.6	25.3*	27.6	30.6**	30.3**
Type III	3.2	4.8	3.6	3.4	3.0	5.7	6.6	5.5
n	124	105	171	147	166	105	121	165

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, significant difference from value of normal LD group (χ^2 -test).

表1 視交叉上核の背内側 (dorsomedial) と腹外側 (ventrolateral) の single unit activity に対する明暗, 恒常暗, 眼球摘出, 恒常明などの環境条件の影響

(A)dorsomedial (B)ventrolateral

LD: 明暗条件, DD: 恒常暗,

Enucleation: 両眼摘出, LL: 恒常明 (文献3)

性の反応に引続き bursting response を示すタイプのニューロンがあることがわかった⁵⁾。これらの反応は dorsomedial では潜時が長く、視神経への光の影響は ventrolateral 部分にきて、interneuron を介して、dorsomedial に伝達すると考えられる⁶⁾。アメフラシにみられるような記憶関連の interneuron が存在している可能性もある。

2. 視交叉上核における vasopressin の gene expression のメカニズム

視交叉上核の dorsomedial には vasopressin を含むニューロンが集中している。そこで、視交叉上核の vasopressin ニューロンに注目してみる。視交叉上核の vasopressin は視床下部の他の vasopressin (視索上核と室傍核) とは生理的機能がちがうらしい。視索上核と室傍核の vasopressin は抗利尿作用によって血液の浸透圧を調節しており、また昇圧作用によって血液の浸透圧や血圧には関与しない。

rat に食塩水を負荷して血液の浸透圧を上げると、負荷日数にともなって、vasopressin の合成が高まること、vasopressin の gene expression の増加、すなわち、vasopressin-m RNA の増加によって知ることができる⁶⁾ (図3) 視索上核と室傍核で vasopressin-m RNA が増加するのに対して、視交叉上核では、一定に保たれている。

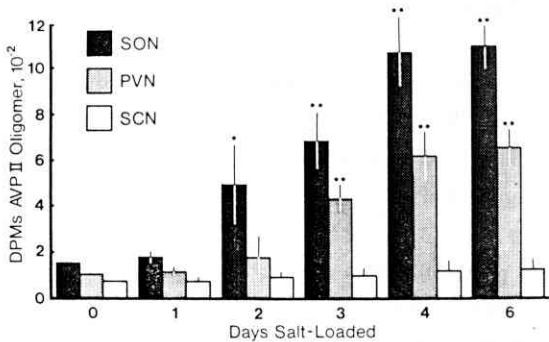


図3 視床下部 vasopressin m RNA の浸透圧調節食塩水負荷後 1, 2, 3, 4, 6 日目の Vasopressin m RNA の量を Northern-gel-analysis の autoradiography によって定量したもの。SON (視索上核) PVN (室傍核) SCN (視交叉上核) AVP (arginine vasopressin) Dot blot したサンプル triplicate の平均値。視索上核と室傍核の vasopressin m-RNA は食塩水負荷で増加するが視交叉上核ではほぼ一定である。(文献 6)

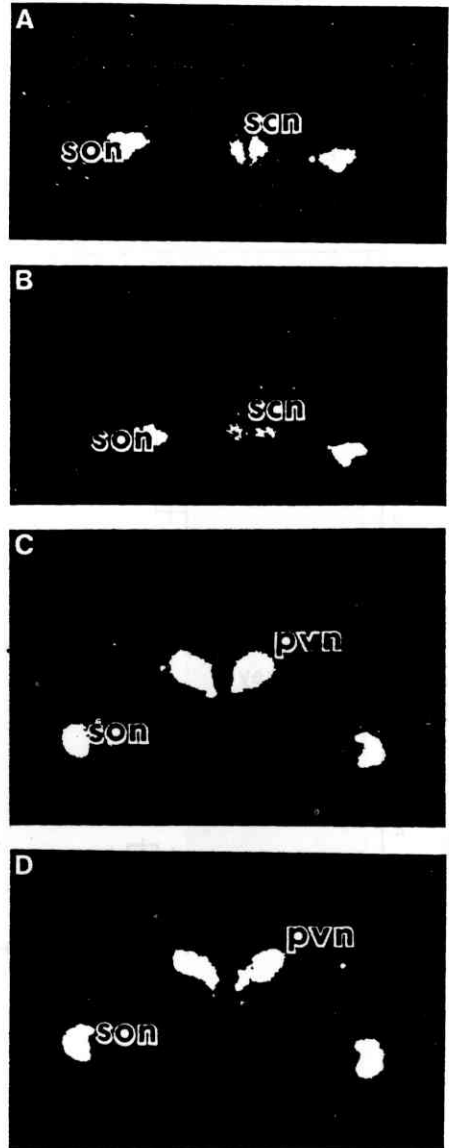


図4 視交叉上核 vasopressin-m RNA の日周リズム

³⁵S-vasopressin probe と hybridization した autoradiograun. (A) 午前10時の視交叉上核 (SCN) と SON (視索上核) (B) 午後10時には SCN の m RNA は減少しているが、SON は午前10時と同じレベルの m RNA がある。(C) 室傍核 (PVN) と SON が同一面にある標本。午前10時 (D) 同じく午後10時。PVN と SON では午前も午後も同じレベルである。(文献 7)

視交叉上核の vasopressin-mRNA は昼夜の差がある。昼間は夜間に比較して大量の vasopressin-mRNA が存在している⁷⁾。(図4)このような vasopressin-mRNA の昼夜差は、視索上核や室傍核には見られない。

視交叉上核における vasopressin-mRNA の昼夜リズムに対応しているものは、脳脊髄液の vasopres-

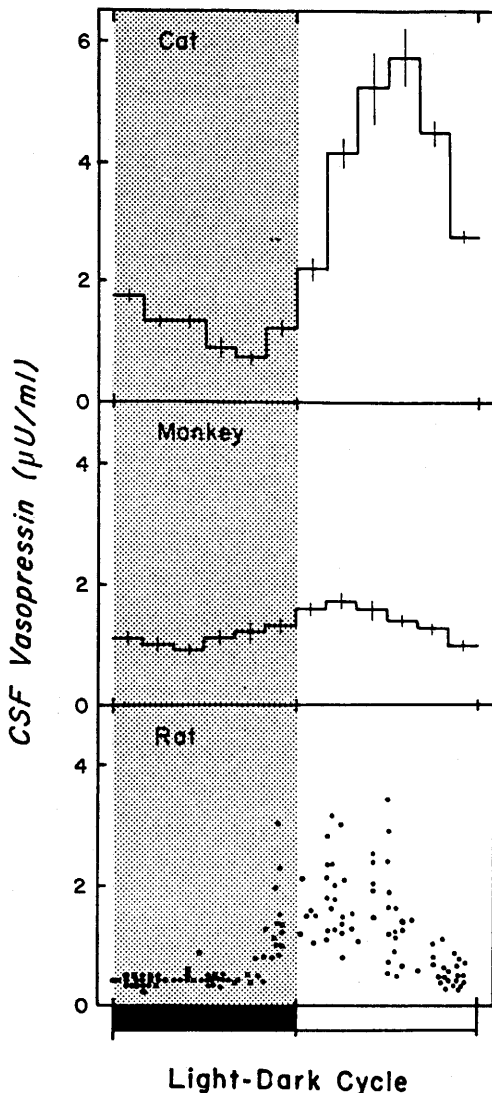


図5 脳脊髄液中の Vasopressin の日周リズム cat, monkey, rat のいずれにおいても脳脊髄液 (CSF) の vasopressin は昼間に高レベルで夜間に低レベルとなる。睡眠覚醒サイクルでは, cat は昼夜の差が僅少であり, monkey は昼行性, rat は夜行性である。(文献8)

sin である⁹⁾。(図5)しかも浸透圧の変化には全く影響をうけない⁹⁾。(図6)。視交叉上核を破壊すると脳脊髄液の vasopressin は著しく減少して、日周リズムを失うことから、脳脊髄液の vasopressin リズムは視交叉上核の vasopressin ニューロン直接的産物であることは確実である⁹⁾。

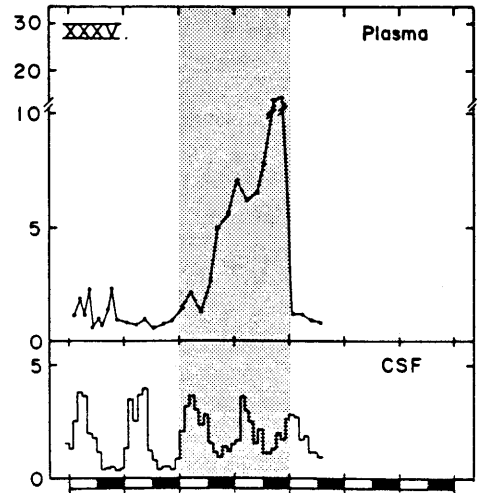


図6 脳脊髄液 (CSF) と血中の vasopressin に対する断水の効果

断水(48時間)の効果によって血中の vasopressin はおよそ7倍くらいに増加するが、CSF の vasopressin は断水の影響を受けずに、日周リズムを示している。(文献9)

vasopressin の dual role は oxytocin の dual role とともに興味もたれている。浸透圧調節や血圧調節に参与する vasopressin は視索上核や室傍核の magnocellular ニューロンで作られ、下垂体後葉で分泌される。これに対して、視交叉上核の vasopressin は, parvocellular ニューロンで作られており、室傍核の一部や青斑核、大脳、小脳などに含まれる vasopressin と同類である。

vasopressin gene は¹⁰⁾、1.85kb (1850個の nucleotides) で signal peptide, neurophysin, glycoprotein の3種のペプチドのコードが含まれている。vasopressin-mRNA は gene 中の intron が取り除かれて、0.74kb になる。このうち m-RNA 本体は、500base で残りの240base は poly (A) と思われる。

視交叉上核の vasopressin-mRNA は昼間は740

baseのものであるが、夜間は740baseのものとして530 baseのものが両方検出された¹¹⁾。(図8)夜間には本来の240 baseの poly (A) の他に、30 baseの poly (A)

をもった m R N A が存在することを示している。視交叉上核の vasopressin-m R N A が昼夜で量がちがう原因は、poly (A) のちがいに由来すると考えられる。

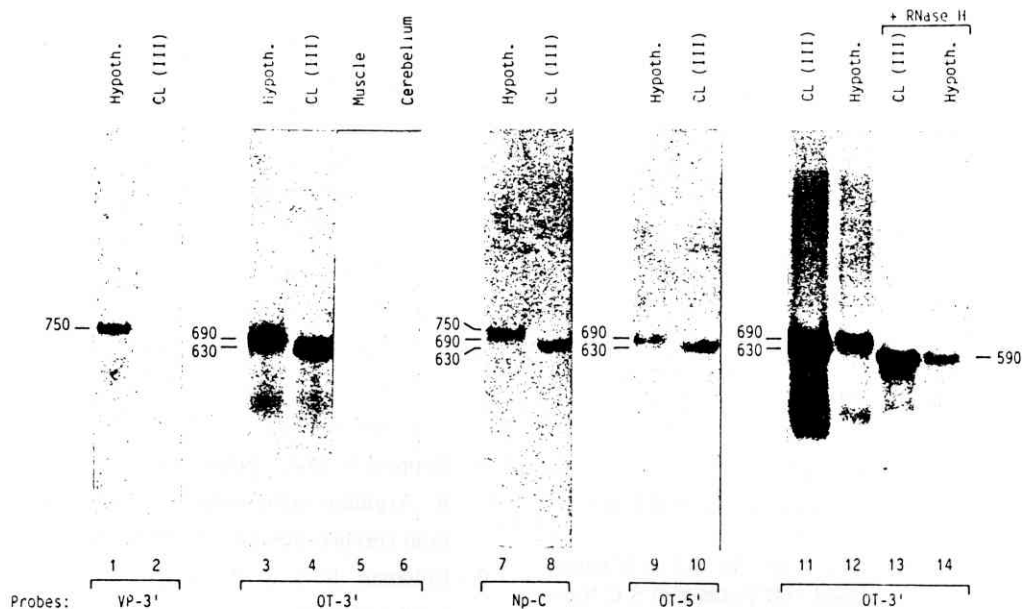


図7 視床下部, 黄体, 筋肉, 小脳から抽出した poly(A)⁺RNA のサイズ

視床下部(Hypoth)の vasopressin m R N A は750base pair である (Vasopressin の probe を使った場合)。glycoprotein 部分を probe を使った場合、Hypoth の m R N A は690 base pair, 黄体 (C L) m R N A は630 base pair, vasopressin と oxytocin の共通部分を probe として使った場合、Hypoth は690 base pair, C L は630 base pair であった。R N a s e H によって poly (A)⁺を切り離すと m R N A 部分は590 base pair であった。(文献10)

3. 展 望

視交叉上核における日周リズムは、睡眠覚醒サイクルや Feeding, Drinking, Sex behaviour, Hormone 分泌など広範囲の周期性行動の原因として期待できる。視交叉上核の日周リズムのメカニズムは dorso-medial の vasopressin neuron における昼夜の周期 (または明暗周期) の記憶のメカニズムといえよう。明暗周期性は光刺激に対応して、視交叉上核の ventrolateral のニューロンで興奮性や興奮-抑制性の反応をもたらし、interneuron を介して、dorso-medial に伝達される。それが視交叉上核における明暗順応 (または entrain) のメカニズムであろう。“フリーラン”は視交叉上核の記憶の本体であろう。

regular discharge を示すニューロンが行動の変化

にともなって discharge rate が変化することは、縫線核や青斑核で知られている。いずれも、睡眠覚醒サイクルにともなって discharge rate が変わる。しかし視交叉上核の multiple unit activity は睡眠覚醒サイクルでは変化しない²⁾とされているが、intact animal での single unit activity を記録して、fine に調べることが必要であろう。

縫線核や青斑核の regular discharge ニューロンでの記録は数時間が限界であり、数十日にわたる multiple unit の記録のようにはできない。それは single unit を記録しているニューロンが discharge を著しく低下させたのか、記録面から逃げたのか、ニューロンを損傷させた結果なのか、明らかでない。視交叉上核の regular discharge ニューロンが vasopressin ニューロンかどうかを調べる実験も期待される。

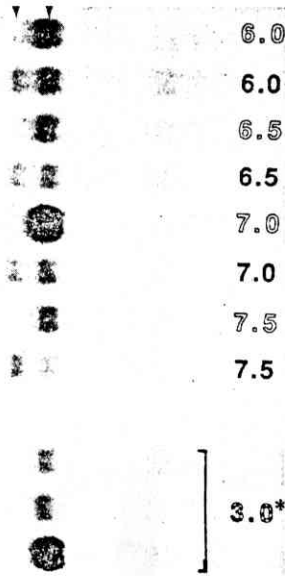


図8 視交叉上核 (SCN) vasopressin mRNA の日周リズム

Open の数字は明期の SCN から抽出された vasopressin mRNA で, closed の数字は暗期の SCN から抽出された vasopressin mRNA の Northern analysis. 明期は1種類, 暗期は2種の mRNA が見られる。*印はいつもより3時間暗期を延長した場合。(文献11)

文 献

- 1) Ibuka, N & kawamura, H. : Loss of circadian Sleep-wakefulness cycle in the rat by Supra chiasmatic nucleus lesions. *Braie Res.* 96. 76-81. 1975
- 2) Inoue, S. T. & kawamura, H : Characteristics of a circadian Pacemaker in the suprachiasmatic nucleus: *J. Com. Physiol.* 146 153-160, 1982
- 3) Sibata, S., Yuhliou, S., Ueki, S. & Oomura, Y. : Influence of enuironmental light-dark cycle and enucleation on activity of supra chiasmatic neucleus in slice preparation. *Brain Res.* 302 75-81, 1984
- 4) Van dan Pol, A. N. & Powley, T. L. : A fine-grained anatomical analysis of the sole of the sat Suprachiasmatic nucleus in circadian rhythms of feeding and drinking. *Brain Res.* 160, 307-326, 1979
- 5) Cahill, G. M & Meaker, M. : Responses of suprachiasmatic nucleus to retinohypothalamic tract volleys in a slice preparation of the mouse hypothalamus. *Brain Res.* 479 65-75, 1989
- 6) Sherman, T. G. , Mckelvy, J. F. & Watson, S. J. Vasopressin mRNA regulation in individual hypothalamic nuclei: a nothern and in situ hybridization analysis, *J. Neurosci.* 6 1685-1694, 1986
- 7) Uhl, G. R. & Reppert, S. M. : Suprachiasmatic nucleus vasopressin messenger RNA: circadian variation in normal and Brattle boro rats, *Science* 232, 390-393, 1986
- 8) Reppert S. M. , Schwartz, W. J. & Uhl, G. R. Arginine vasopressin. a novel peptide rhythm in cerebrospinal fluid. *TINS.* 10, 76-80, 1987
- 9) Coleman, R. J. & Reppert, S. M. : CSF vasopressin rhythm in effectively insulated from osmotic regulation of plasma vasopessin, *Am. J. Physiol.* E346-E352, 1986
- 10) Ivell, R. & Richten, D. : The gene for the hypothahamic peptide hormone oxytocin is highly expressed in the bovine corpus luteum: biosynthesis, structure and sequence anlysis. *The EMBO, J.* 3, 2351-2354, 1984
- 11) Robinson, B. G., Frim, D. M., Schwartz, W. J. & Majzoub, J. A. : Vasopressin mRNA in the suprochiasmotic nuclei: Daily regulation of polyadenylate tail length. *Science* 241, 342-344

Abstract

**Vasopressin Neuron in Suprachiasmatic Nucleus :
Possible Role for Circadian Pacemaker**

Hiroaki NAGASAKI*, Shinichi INOUE** and Ako TOKUMASU**

Suprachiasmatic nucleus (SCN) has been thought to be the most important substrate not only for the sleep-wake cycle but also for circadian behaviours and hormonal secretions. The circadian pacemaker rhythm was found in the multiple unit discharges in the SCN, and the regular firing type neurons were found in the dorsomedial part of SCN slice preparation. Both the multiple and single unit discharges showed higher discharge rates in the day than in the night. These regular firing type neurons were thought to contribute to make circadian pacemaker system.

Furthermore, vasopressin containing neurons were found in the dorsomedial part of SCN. Vasopressin-mRNA in the dorsomedial part of SCN has been shown the circadian rhythm which is high during the day and low during the night. These daily changes of vasopressin m-RNA coincided with the daily changes of vasopressin content in the cerebrospinal fluid. We discussed the mechanisms of the circadian neuronal activity and vasopressin gene expression on the basis of the circadian rhythm and biological clock.

* Department of Physiology

** Neurophysiology, Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences