

過重力によるニシツメガエル脳下垂体- 甲状腺系の機能低下に対する甲状腺ホルモン投与の効果

都老人研・レドックス制御 新海正 広島大・院理・両生類研 柏木昭彦, 柏木啓子, 古野伸明, 花田秀樹 都臨床研 久保英夫, 鳥取大・医・生命科学 吉留賢 徳島大・総合科学・自然システム学 渡部稔 札幌医大・保健医療 藤井博匡 鹿児島大・理 坂井雅夫 JAXA・宇宙科学研究本部 山下雅道

Effects of Thyroxin on the Malfunction of the Pituitary-Thyroid Axis by Exposing Hypergravity in the Frog, *Xenopus tropicana*.

Tadashi Shinka^a, Akihiko Kashiwaga^b, Nobuaki Furuno^b, Keiko Kashiwaga^b, Hideki Hanada^b, Hideo Kubo^c, Ken Yoshitome^d, Minoru Watanabe^e, Hirotada Fujif^f, Masao Ita^g, Masamichi Yamashita^h

^aRedox Regulation Research Group, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo 173-0015, ^bInstitute for Amphibian Biology, Graduate School of Science, Hiroshima University, ^cDepartment of Neurobiology, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, ^dLife Science, Tottori University, ^eIntegrated Arts and Science, Tokushima, ^fSchool of Health Science, Sapporo Medical University, University, ^gFaculty of Science, Kagoshima University, ^hInstitute of Space and Astronautical Science, Japan Aerospace Exploration Agency
E-mail:shinkait@tmig.or.jp

Abstract To investigate the relationship between gravity and the thyroid hormone on the pituitary-thyroid axis of amphibians, we raised frogs, *Xenopus tropicana* under hypergravity (5G) environment and gave thyroxin from St58 to St 59-60. The development of the frog was delayed under hypergravity condition. The total volume, cell size and cell number were reduced in pituitary, thyroid and cerebellum of hypergravity treated frogs. On the other hand, the morphological malfunctions of the treated frogs were recovered by the administration of thyroxin. These changes indicate that the drug recovers the declined functions. These results suggest that the thyroxin therapy rescues the hypofunction and dysfunction of the pituitary-thyroid axis from hypergravity.

Key words; Hypergravity, Pituitary-thyroid axis, Thyroxin, *Xenopus tropicana*

人類が地球を離れ、新たな宇宙へ進出する計画が着々と進行中である。ヒトが新規に生活の場を開拓する場合、様々な予想外の出来事に遭遇する可能性が多分にあり、それを予知し対応する能力を身につけておく必要がある。われわれはこの問題に対処するために、「両生類の生活環に対する重力影響」を研究課題として研究班ワーキンググループを立ち上げ、カエルを用いた実験結果が宇宙進出の際のヒトへの影響を考える上で、有効に適用できるのかどうかについて探求している。その研究の一環として、過重力環境下で、ツメガエルが受精・発生・変態・成熟さらに老化へと一連の生命活動を継続する際、動物の恒常性維持に重要な役割を果たす内分泌系に、いくつかの異常が現れてくることを報告してきた。たとえば、過重力環境下(2G, 5G)での長期飼育による、ツメガエルのオタマジャクシの形態変異や発達遅延、小頭や双頭などの重複奇形、変態時での時間延長、さらに、カエルの矮小化、ならびに視床下部-脳下垂体-甲状腺、生殖腺、副腎系での形態不全など過重力の内分泌系への影響について形態学的ならびに分子生物学的見地より言及した。

そこで、今回このような内分泌異常に対する防御手段として、甲状腺ホルモンに着目し、過重力により欠乏すると考えられるこのホルモンを外部より投与して、その形態的ならびに機能的異常がレスキューできるのかについての解析を試みた。そして、その結果を基準として、ヒトが宇宙での異重力環境下で起こすかもしれない多様な機能不全に対処するための方策について検討した。

研究動物として遺伝的要因の確立しているニシツメガエル(*Xenopus tropicana*)を用い、遠心力を応用した遠心式の過重力負荷装置の中で飼育した。ツメガエルの生活環を考慮に入れ、前肢が外部に突出する時期(St58)から尾部の短縮が始まる時期(St59-60)までを実験期間とした。脳下垂体-甲状腺軸への影響を調べるために、地上での1Gを対照群として装置中で5Gの過重力をカエルに曝露した。また、処方ホルモンとして甲状腺ホルモン(Thyroxin, T3)を使用し、1G, 5Gのカエルに対してそれぞれ甲状腺ホルモン投与群を作成した。それらより、動物を1G対照群(C), 1Gおよび甲状腺ホルモン投与群(T3), 5G過重力群(5G), 5Gおよび

甲状腺投与群(5GT3)の4群について実験をおこなった。カエルが St59-60 の到達した時点でブアン液中で常温固定し、パラフィン包埋後、厚さ 8 μ m の連続切片を作成した。ヘマトキシリン-エオシン染色したサンプルを甲状腺ホルモンに関係のあると思われる脳下垂体と甲状腺、さらに、甲状腺ホルモンが成長や発達に関与している小脳について、顕微鏡写真を用い画像解析した。

ニシツメガエルに対し 5G の過重力を曝露すると、重力ストレスにより発生速度は遅れ、対照群と同じステージに達するまでに約 4 倍もの日数を要した。しかし、この遅延も甲状腺ホルモン投与により回復傾向が見られ、薬剤の外部投与による効果が期待できると思われる。一方、ホルモン単独投与では発生時間の延長も短縮も認められなかった(図1)。甲状腺ホルモンは動物の発生を促進する働きがあるが、それは発生初期からの投与結果である。今回は発生後期の短期間曝露実験であったため、顕著な甲状腺ホルモンの成長促進効果はあらわれなかったものと考えられる。

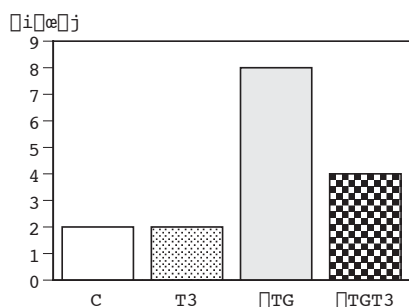


図1 過重力曝露と T3 投与によるニシツメガエルの発生速度の変化

脳下垂体からは甲状腺ホルモンの放出を制御する甲状腺ホルモン放出ホルモンが分泌されていることは広く知られている。そこで、過重力付加と T3 投与の二つを組み合わせ曝露し、この器官の形態変化について解析した。5G 曝露群では小型の形態をとり細胞数も減少し、機能不全と思われる顕微鏡像が観察された。これに T3 を投与すると大きさは対照群程度にまで復活した。また、器官の形状も 5G の時のような萎縮像は解消した。しかし、完全に対照群と同じというわけではなく、脳下垂体細胞の配列や前葉、中葉、後葉の各占有比率に違いが見られるものもあった(図2)。今回の実験では、T3 投与によりカエルの血中ホルモンレベルは上昇したと考えられる。そのため、脳下垂体で負のフィードバック機構が働き、甲状腺刺激ホルモン産生細胞は機能低下し、細胞自体の大きさも小型化したと

思われる。一方、過重力を曝露すると重力ストレスにより脳下垂体の機能低下がおり、正常な発達を遂げることができない。この状態のカエルに、代謝を活性にする T3 を投与することで、脳下垂体細胞の代謝活性が上昇し、ある程度の機能回復像が見られたのであろう。

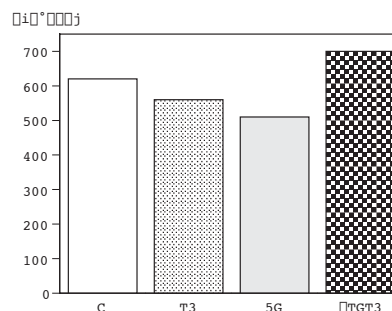


図2 過重力曝露と T3 投与によるニシツメガエルの脳下垂体正中面の縦軸長の変化

外界からの T3 投与が血中ホルモンを上昇させ、その結果、生体内の甲状腺自身の機能低下を引き起こすという報告は数多くある。今回の実験でも T3 投与群の甲状腺は小型化し、機能低下像を示した。過重力曝露群も同様な萎縮像を示したが、この場合は重力ストレスにより甲状腺が十分に発達しないための結果と考えられる。このような器官の萎縮状況は、T3 投与することにより改善した。しかし、ホルモン産生能の指標となる濾胞細胞の丈高はあまり回復せず、自ら合成した T3 の分泌は不活発であろうと思われる形態像が観察された(図3)。このことから、5G T3 群の甲状腺のホルモン産生量は、対照群と比べ僅かであり、その大部分を濾胞内に放出し、そのまま貯留しているものと考えられる。

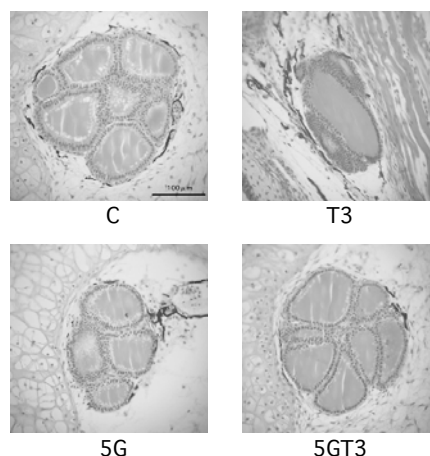


図3 過重力曝露と T3 投与によるニシツメガエルの甲状腺の形態変化

甲状腺ホルモンは代謝を活性化し、動物の機能亢進に重要な役割を果たす。両生類においての変態はその一つであり、生体での恒常性の維持に関与する主要なホルモンであるということができよう。近年、T3 が減少した動物では脳の成長が遅れたり、発達が不全となる事例が報告されている。このことは、このホルモンの異常と脳の機能低下との密接な繋がりを示したもので、脳疾患との関連が注目されている。今回、脳の主要領域である小脳に着目し、過重力と T3 との関係について解析してみると、5G 環境下では小脳のプルキンエ細胞層、顆粒層ともに未発達となり、小脳全体の小型化と同時に細胞密度の低下も認められた（図4）。これは、過重力環境下ではカエルの小脳の発達が未熟で、機能的不全を引き起こす可能性を示唆する。一方、5G 環境下でも T3 投与により形態学的に対照群レベルまでは達しないものの、かなりのレベルまで改築できることがわかった。この結果より、ホルモン投与による機能改善が示唆される。また、T3 単独投与群では対照群と大差が認められず、投与群の血中ホルモンレベルはフィードバック機構の働きにより、対照群と同等の濃度に維持されているものと思われる（図4）。

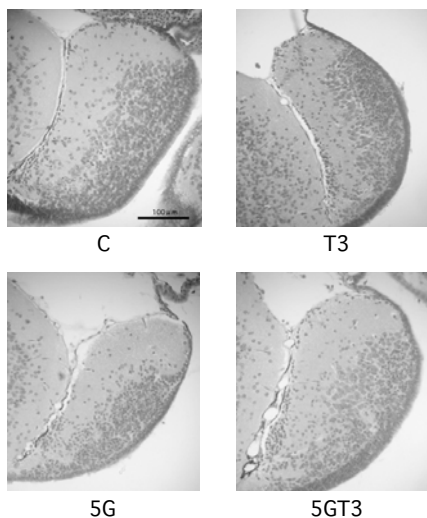


図3 過重力曝露と T3 投与によるニシツメガエルの小脳の形態変化

長期の重力ストレスがカエルの視床下部-脳下垂体-甲状腺軸に影響を与え、発達遅延、体の矮小化さらには内分泌器官そのものの萎縮など数々の不適要因となることは明らかである。これらの形態的不全は機能的不全と密接に関係しているものと考えられ、視床下部-脳下垂体-甲状腺軸への影響は著しいと思われる。そのため、動物の恒常性の維持に多大な反響をおよぼす可能性は否定できない。

このたび、過重力環境下で T3 投与することにより、重力ストレスによる反応をある程度緩和する知見が得られた。このことは、甲状腺ホルモンの対処療法が過重力の影響による内分泌器官や脳などの発達不全、あるいはそれに伴う機能不全を克服するための有効な手段となりうる可能性を示唆している。

ヒトが地上とは異質の重力環境へ移り住み、移住者からその子孫へと世代交代を繰り返す、そこに定住することも将来的には可能となってくるかもしれない。その際、逃れることのできない重力ストレスに対処するために、ホルモン療法など外部から適切な物質を投与することにより、そのような環境に適応する方法を検討することが必要であろう。

われわれは「両生類の生活環に対する重力影響」研究班ワーキンググループを立ち上げ、重力の初期胚に対する影響と視床下部-脳下垂体-甲状腺軸への影響の二つの課題の取り組んでいる。今回明らかになった過重力に対するホルモン対処療法について、トランスジェニックガエルやホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法などを駆使して、別の観点から今後も解析を続けていく予定である。

参考文献

- 1) Kawakami S., Kashiwagi K., Furuno N., Yamashita M., Kashiwagi A., Effects of hypergravity environments on amphibian development, gene expression and apoptosis. *Comp. Biochem. Physiol., Part A* **145b**, 65-72, (2006)
- 2) 柏木昭彦, 柏木啓子, 久保英夫, 新海正, 藤井博匡, 無尾両生類の変態におけるアポトーシスや体の形態・機能の変化と重力-I. *Space Utiliz. Res.*, **17**, 84-87, (2001)
- 3) 柏木昭彦, 柏木啓子, 花田秀樹, 久保英夫, 新海正, 藤井博匡, 山下雅道, 無尾両生類の変態におけるアポトーシスや体の形態・機能の変化と重力-II. *Space Utiliz. Res.*, **18**, 109-112, (2002)
- 4) Kashiwagi A., Hanada H., Kawakami S., Kubo H., Shinkai T., Fujii H., Kashiwagi K., Effects of high gravity on amphibian development. *Biol. Sci. Space*. **17**, 215-6, (2003)
- 5) 柏木昭彦, 柏木啓子, 花田秀樹, 久保英夫, 新海正, 藤井博匡, 山下雅道, 無尾両生類の変態におけるアポトーシスや体の形態・機能の変化と重力-III. *Space Utiliz. Res.*, **19**, 45-48, (2003)
- 6) 新海正, 柏木昭彦, 柏木啓子, 古野伸明, 浦野四郎, 佐藤嘉哉, 久保英夫, 板井雅夫, 渡辺稔, 吉留賢, 藤井博匡, 山下雅道, 過重力環境がアフリカ

ツメガエルの脳下垂体- 標的器官におよぼす影響
についての研究. *Space Utiliz. Res.*, **22**, 231-234,
(2006)

7) Shinkai T., Kashiwagi A., Kashiwagi K., Matsuda K.,
Urano S., Sato H., Kubo H., Furuno N., Itai M.,
Watanabe M., Yoshitome S., Fujii H., Yamashita M.,
Effects of hypergravity on pituitary-target organs in the
frog, *Xenopus laevis*. *Biol. Sci. Space*, **20**, 40-43,
(2006).

8) N. Furuno, I. Tazawa, K. Kashiwagi, S. Kawakami, T.
Shinkai, M. Yamashita, A. Kashiwagi, The Effect of
Hypergravity on Bipolar Spindle Formation of Meiosis
II in *Xenopus* Oocytes. *Biol. Sci. Space*, **20**, 92-94,
(2006)

9) 新海正, 松田道子, 柏木昭彦, 柏木啓子, 古野
伸明, 浦野四郎, 久保英夫, 板井雅夫, 藤井博匡,
山下雅道, アフリカツメガエルの視床下部- 脳下垂
体系に対する過重力の影響. *Space Utiliz. Res.*, **23**,
314-3147, (2007)

10) 古野伸明, 田澤一朗, 柏木啓子, 新海正, 吉留
賢, 渡辺稔, 山下雅道, 柏木昭彦, アフリカツメガ
エル卵成熟過程に対する過重力の環境 II. *Space
Utiliz. Res.*, **23**, 311-313, (2007)