

〔総 説〕

## 松果体研究史、考察と発展

### 2. 1954年から1969年まで

加 地 隆<sup>1)</sup>

#### 要 旨

KitayとAltschuleの総説に続く約15年間に松果体研究は爆発的に発展した。主な発見は次の通り：両生類の皮膚退色物質はメラトニン；メラトニンが前駆物質のセロトニンから最終的にHIOMT酵素で合成される経路；哺乳類ではHIOMTは松果体に限局；光は松果体機能活動を抑制；松果体除去やメラトニン投与は生殖器の発達や機能に影響を及ぼす事などからメラトニンが松果体ホルモン；松果体のセロトニンやメラトニン量が高振幅の特徴的日内変動を示す；哺乳動物共通の松果体支配神経は上頸神経節からの交感神経節後線維；明暗環境・季節変動は眼球-上頸神経節-松果体系を介して生殖活動に影響を及ぼす等。これらから哺乳動物松果体は「神経-内分泌転換器」、または環境適応性器官と見なされた。これらの中で、特に著者の研究も関与した性周期、加齢の問題については批判的考察を加え、1970年以後の幾つかの発展についても手短かに述べた。

キーワード：メラトニン、眼球-上頸神経節-松果体系、生物リズム、生殖、加齢

〈内容〉

- I. 明暗環境・季節が交感神経-松果体を介して生殖腺に影響を及ぼすことへの序章
- II. 松果体の神経支配
- III. メラトニンとその合成経路の発見
- IV. 明暗環境・季節は眼球、上頸交感神経節から松果体を介して生殖腺に影響を及ぼす
- V. クエイの1969年の総説
- VI. 性周期と松果体—考察と発展（1）
- VII. 加齢と松果体—考察と発展（2）

#### I. 明暗環境・季節が交感神経-松果体を介して生殖腺に影響を及ぼすことへの序章（表1）

1954年のKitayとAltschuleの総説<sup>34)</sup>に触発されたかのように、以後の5年間にメラトニンの発見を含む松果体研究の画期的な報告が相次ぎ、この手がかりを進展させる中で松果体研究は60年代に爆発的な展開を示した。まず1956年に3つの論文が報告された。クエイ<sup>43)</sup>は野生マウス（*Peromyscus leucopus*）を用いた実験を行ない、明暗環境と松果体との間には関連性がある、つまり

連続暗黒環境に比べ長日環境は松果体の活動を抑制することを示唆する結果を報告した。その後幾つかの同様の報告が異なる動物種でも報告された。Pflügfelder<sup>42)</sup>はハムスターで季節によって松果体細胞の大きさと精巣の間細胞の大きさの間に逆相関関係のあることを見出し、冬期間の精巣の退縮が松果体ホルモンによって媒介されることを示唆した。またJöchle<sup>18)</sup>は、ラットで連続照明によって誘発される連続発情状態はウシ松果体抽出液の投与によって抑制されることを報告し、後にIfft（1962）<sup>16)</sup>はこれを確認した。続いてオランダのカッパーズと米国のラーナーは松果体研究史上に輝く論文を発表し、その後の研究に多大な影響を与えた。

#### II. 松果体の神経支配（表1）

カッパーズは松果体に存在する神経についてのラットでの研究成績と歴史的考察（1960）<sup>30)</sup>および詳細な比較形態学的研究（1965）<sup>31)</sup>に関する長い論文を発表した。結論として、1) 哺乳類以下の脊椎動物松果体では光情報を脳へ伝達する神経線維が豊富に見られるのに対し、哺乳動物ではこのような松果体から脳に向かう神経線維はあったとしても極めて比率が低く、外部から松果体に

1) 弘前医療福祉大学保健学部医療技術学科 解剖学（〒036-8102 弘前市小比内3-18-1）

表 1. 明暗環境が眼球・上頸交感神経節 - 松果体を介して生殖腺の発達と機能に影響を及ぼすことが解明された経緯

年	著者	動物	内容	年	著者	動物	内容
			明暗環境→眼球→松果体				明暗環境(季節)→松果体→生殖器
1956	Quay <sup>43)</sup>	野生マウス	DD飼育と長日(明暗 14 時間)飼育を比較 松果体活動が暗環境で亢進、光刺激で抑制されるところを示唆	1956	Pflügfelder <sup>42)</sup>	ハムスター	松果体細胞と精巢間細胞の大きさの間に逆相関関係 松果体細胞：2～6月一小、9-12月一六；間細胞：3～7月一六
1960	Fiske <sup>11)</sup> Kappers <sup>30)</sup>	ラット ラット	松果体重量→LLで減少 松果体内自律神経終末一血管ではなく、専ら松果体細胞と関連、両側SCGX除去後には完全に消失	1961	Jöchle <sup>18)</sup>	ラット	冬期間における精巢退縮の松果体による媒介を示唆 LLによる腫スミアの発情期増加効果を松果体抽出物投与が抑制
1961	Quay <sup>44)</sup>	ラットとハムスター	松果体重量と脂質含量→眼球依存性にLLで減少	1961	Wurtmanら <sup>60)</sup>	ラット	卵巣重量→松果体除去またはLLで増加 高効果は非相加的
1962	Rothら <sup>51)</sup>	ラット	松果体細胞のリポソーム関連構造→LLで減少、DDで増加	1962	Ifft <sup>16)</sup>	ラット	松果体重量→LLでDDより軽い LLの卵巣重量への影響が松果体を介すると示唆
1963	Quay <sup>45)</sup>	ラット	松果体セロトニン量→振幅の大きな日内変動 夜間減少は光で抑制	1962	Wurtmanら <sup>56)</sup>	ラット	LLに松果体除去を加えても腫スミアの発情期期にそれ以上の減少なし
			メラトニンは自発腫開口輪期をおくらせ、発達中の卵巣重量を減少、腫スミアの発情期を減少	1964	Wurtmanら <sup>56)</sup>	ラット	LLによる腫スミアの発情期増加効果を松果体抽出物投与が抑制 (Jöchle と同成績)
1964	Quay <sup>46)</sup>	ラット	松果体メラトニン量→夜間増加する日内変動 夜間増加は光で抑制	1964	Wurtmanら <sup>56)</sup>	ラット	LLによる腫スミア発情期増加効果をメラトニン1回投与が抑制
			松果体セロトニン量の日内リズム→SCGXにより消失		Chuら <sup>8)</sup>	マウス	LLによる腫スミア発情期増加効果をメラトニン連続2～3週間投与が抑制
			メラトニンは腫スミアの発情期を減少 用量と特異性の検討		Czybaら <sup>9)</sup>	ハムスター	12～1月の精子形成の低下を松果体除去が阻止
			松果体除去による腫スミア発情期増加と増加効果のメラトニンによる抑制				
			松果体HIOMT活性→LL飼育よりもDD飼育で高く、眼球除去またはSCGXで差異消失				
1964	Wurtmanら <sup>58)</sup>	ラット	松果体HIOMT活性→LLで低下、DD下で増加、増加はPuromycinで阻止、真夜中に最高値となる日内変動	1964	Wurtmanら <sup>57)</sup>	ラット	LL、DDによる腫スミア発情期頻度の相違を眼球除去またはSCGXが阻止
1965	Axelrodら <sup>5)</sup>	ラット	SCGXにより消失 HIOMT日内リズム→外因性光情報は眼球・交感神経経由で松果体へ (※メラトニン合成の単純な外因性リズム説は後に否定された。)				
	Snyderら <sup>52)</sup>	ラット	松果体セロトニン量の日内リズム→DD、眼球除去後も存続、LLで消失、SCGXまたは交感神経節前線維の切断で消失	1965	HoffmanとReiter <sup>14)</sup>	ハムスター	眼球除去または短日(明暗1時間：23時間)による雄性生殖腺の退縮を松果体除去が阻止
				1966	ReiterとHester <sup>50)</sup>	ハムスター	雌性で精巢・付属生殖腺、雌性で卵巣・子宮の眼球除去による重量減少を松果体除去またはSCGXが阻止
				1969	Herbert <sup>13)</sup>	フェレット	秋(11月)からの日照時間延長による発情期開始の早期化を松果体除去またはSCGXが阻止

LL：連続照明 DD：連続暗黒 SCGX：上頸交感神経節除去

向かう自律神経性線維が主体である。2) 哺乳動物の支配神経には種差があるが、種にかかわらず存在する自律神経線維は交感神経線維である。また、松果体内の交感神経線維は上頸交感神経節を除去すると消失することから、上頸神経節由来である。なお、ヒトやサルなどの霊長類やウサギなどでは松果体は副交感神経と交感神経の両方の神経支配をうけるらしい。

### Ⅲ. メラトニンとその合成経路の発見 (表 1)

1958年から60年に、イェール大学皮膚科のラーナーら<sup>36,38)</sup>はセロトニン誘導体のN-acetyl-5-methoxytryptamineが両生類の皮膚に退色を起こす物質であるという重要な発見をし、一連の報告をした。彼はその物質に対し、メラニンという色素とセロトニンにちなんでメラトニンと命名した。しかし、メラトニンには哺乳動物のメラニン産生細胞あるいは黒色腫(メラノーマ)細胞に対する調節作用はなかった。興味深いことに、セロトニンは水溶性であるがメラトニンは脂溶性であった。なおこれらの研究には日本人研究者(Mori W, Takahashi Y)も参加した。

メラトニン構造の解明について、その合成経路—すなわち、まずセロトニンからserotonin N-acetyltransferaseとacetyl-CoAの作用でN-acetylserotoninがつくられ、ついでS-adenosylmethionineをメチル基供与体としてhydroxyindole-O-methyl transferase(HIOMT)というメチル化酵素の作用でメラトニンが合成される経路<sup>4)</sup>—が明らかにされた(総説参照<sup>45,56)</sup>)。

アクセルロードはHIOMTが全身の中で松果体に高度に局限して存在する(\*)ことから、メラトニンが松果体ホルモンであるという仮説をたて、系統的な研究を行ない、この分野の開拓を大きく進めた。アクセルロードは、交感神経-副腎髄質系の研究でも、交感神経終末へのノルアドレナリン取り込み作用およびメチル化酵素であるアドレナリン合成酵素(PNMT)やカテコールアミン代謝酵素(COMT)の発見、またPNMT活性の糖質ステロイドによる調節など数々の重要な研究を行なった。また松果体に豊富にある交感神経終末をその性質の研究などに格好な材料として多用した(総説参照<sup>3,59)</sup>)。

\*補足:現在では、HIOMTは松果体以外の部位にも存在することが知られている。しかし、夜間に著明な増加を示す血液中のメラトニンは松果体由来のものとして確立されている<sup>1)</sup>。眼球など<sup>1,20)</sup>松果体以外の部位からのメラトニン分泌は、分泌部位の近傍で作用を発揮する局所ホルモンとの見方が強い。

## Ⅳ. 明暗環境・季節は眼球、上頸交感神経節から松果体を介して生殖腺に影響を及ぼす(表 1)

### 1. 明暗環境と松果体と生殖器

Fiskeら(1960)<sup>11)</sup>は、雌雄両性ラットを6~25週間連続照明下で飼育すると、連続暗黒や明暗環境下で飼育したラットと比較して松果体の重量が約25%減少するという単純明瞭な実験結果を報告した。この効果は他の動物などでもまた眼球を介することも確認され、連続照明による松果体機能低下を化学的に示唆する成績も報告された<sup>44,60)</sup>。続いて連続照明と松果体除去が生殖器に対して同様に相加的でない増加効果を及ぼすことが、卵巣重量(ワートマンら、1961)<sup>60)</sup>あるいは膣スメアの発情期日数頻度(Ifft, 1962)<sup>16)</sup>において示された。

ワートマンは1962年からNIHのアクセルロード研究室でチューラと共に、古くから言われてきた松果体に存在する生殖腺抑制性物質がメラトニンであるという仮説を検証する重要な実験を行なった(総説参照<sup>59)</sup>)。1963年の論文<sup>56)</sup>によると、まず未成熟雌性ラットに20 $\mu$ gのメラトニンを28日間連日投与したところ、自発膣開口の遅れと卵巣重量の有意の減少、すなわち思春期のおくれが起り、膣開口に続いて膣スメアを調べると発情期(発情前期、発情期、発情後期)を示す頻度が減少した。そしてさらに、放射性同位元素でラベルしたメラトニンを投与して全身の組織での取り込みを調べると、卵巣と松果体でとくに高く、また連続照明によりこの効果が消失した。また、ラットを4週間連続照明すると膣スメアが連続発情状態(発情期を示す頻度が85% 正常明暗周期では50%)となったが、連日10 $\mu$ gのメラトニン投与は連続照明効果を阻止した。次にチューラ(1964)<sup>8)</sup>は性周期に対するメラトニンの影響を詳しく調べた。まずSprague-Dawleyラットで生後28日から連日2 $\mu$ gのメラトニンを皮下投与し、生後7週から1週間毎の4回、膣スメアが発情期を示す動物の頻度を調べ、メラトニンがその頻度を減少させることを認めた。そしてこの作用はメラトニンに特異的であることを示した。また、生後28日で松果体除去を行ない、2か月後の生後3か月から膣スメアを調べると発情期の頻度が増加すること、そしてこの増加はメラトニン投与(1または10 $\mu$ g)によって抑制されることを示した。次に生後2か月のC3H/HeNマウスを用い、1か月間の連続照明後に連日2週間膣スメアを調べると、発情期を示すスメア頻度は120検査中68%であるが、2~3週間コースの連日10 $\mu$ gメラトニン投与はこの発情期頻度を有意に低下させた(150検査中40%)。正常明暗周期下での実験はマウスでは行なわれなかった。

## 2. 明暗環境と松果体および松果体の日内リズム

連続照明による松果体の萎縮の報告<sup>11)</sup>に続いて、Rothら(1962)<sup>51)</sup>は、連続照明された動物の松果体細胞の核小体は小さく、胞体のRNA量を反映する塩基好性が減少、また連続暗黒飼育はその逆の効果をもたらし、<sup>32</sup>Pの取り込みも増加させることを報告した。メラトニンの構造決定後、セロトニンは全身の他の組織に比べて松果体に高濃度に含まれることがわかったが、クエイ(1963)はラット松果体のセロトニン量に、明期に高値、暗期に低値となる振幅の大きな日内変動を発見し<sup>45)</sup>、トリヤサルなどでも同様の日内変動を確認した<sup>49)</sup>。このリズムは脳全体や大脳皮質部位のセロトニンリズムに比べてずっと振幅が大きく、また明暗環境との関連がより密接である特徴的なものであった。クエイ(1964)<sup>46)</sup>はラット松果体のメラトニンや5-HIAAの量にも日内変動を発見し、セロトニンは日内明期ではモノアミン酸化酵素(MAO)の作用で5-HIAAに変換されるが、暗期ではHIOMTの作用によりメラトニンに変換されることを示唆した(総説参照<sup>47,49)</sup>)。一方、ワートマンら(1964)<sup>58)</sup>は1~2日の短期間連続照明でも松果体重量が減少することを認め、アクセルロードら(1965)<sup>5)</sup>は多数のラットを用いると松果体重量にも日内変動があることを見出した。さらにワートマンとアクセルロード<sup>5,59)</sup>はメラトニン合成酵素のHIOMT活性に及ぼす明暗環境の影響や日内変動を詳しく調べた。この頃から、松果体の研究と生物リズムあるいは生物時計の研究の連携・交流が盛んになった。

補足：後にNIHのKlein(1970)<sup>35)</sup>は、メラトニン合成の律速段階酵素はHIOMTではなく、その前段階のAcetylCo-Aを補酵素とするN-acetyltransferaseであることを明らかにした。私ども(1971)<sup>24,25)</sup>はマウスで、松果体細胞におけるエネルギーと五単糖(核酸の構成成分)の供給源であるグリコゲンの量が、一晩の連続照明で著明に増加すること、また日内明期の後期で増加する明瞭な日内変動を示すことを見出した。

## 3. 交感神経と松果体およびその日内リズム

1963年にカップースの主催で国際自律神経学会の後援の下に松果体シンポジウムが開かれた。そしてこれを機に松果体の交感神経支配の機能的意義に関し目覚ましい研究の進展が見られた。すなわち、1964年にFiske<sup>12)</sup>は上頸神経節を除去したラットでは松果体のセロトニン量における日内リズムが消失し、明期での増加が見られないことを報告、またワートマンら<sup>58)</sup>はラットで松果体のHIOMT活性が連続照明下で低下し、連続暗黒下で亢進すること、さらにこの差異は眼球除去あるいは上頸神経節除去後では見られないことを報告した。1965年に

アクセルロードら<sup>5)</sup>は、ラットで連続暗黒下での松果体HIOMT活性の増加は新しい蛋白の合成によること、またHIOMT活性に真夜中で最高値となる日内変動(明期：午前7時~午後7時)を見出し、さらに夜間のHIOMT活性増加は連続照明によって抑制され、連続暗黒では午後6時と真夜中で活性に差がなく連続照明群より高値を示すこと、また眼球除去あるいは上頸神経節除去によって夜間の活性増加が阻止されることを示した。これらの実験成績から彼らは、環境の光情報は眼球と交感神経線維を介して松果体に到達すると結論した。光入力がないとこれに反応して、松果体はそのホルモンのメラトニンを合成し血流中に放出するという説明である。一方、シュナイダーとアクセルロードら(1965)<sup>52)</sup>はセロトニンの日内リズムは連続暗黒下でも存続することから、内因性リズムであることを示し、さらにこの内因性リズムの性質を追究した。上頸神経節除去さらに交感神経節前線維の切断でリズムが消失することから、脳内にリズムの中枢があると考えた。リズムの中枢とその中枢性経路の研究は形態学者のムーアを中心として行なわれた<sup>59)</sup>(\*)。

これらの松果体アミン研究の進展を契機にして、また脳内のアミン含有ニューロンの研究の興隆ともあいまって、生体アミンの研究が注目をあつめ、その関連分野の研究が急激に発展した。また、松果体におけるインドールアミンを中心とする化学物質や合成・代謝・調節などの詳細が明らかになり、それらの物質の中には、精神的な作用を有するものがあることも明らかにされた(総説参照<sup>49)</sup>)。

補足：ワートマンら<sup>59)</sup>は、内分泌装置に対する光の影響のほとんどは2組の特別な器官、すなわち光受容器と「神経-内分泌転換器」(“Neuro-endocrine transducer”)、によって媒介されるとし、視床下部正中隆起や副腎髄質と共に松果体をこの神経-内分泌転換器の1つと位置づけた。アクセルロードやワートマンらのグループの一連の研究成果は大綱においてまぎれもなくすばらしいものであった。しかしながら、60年代の時点では、松果体の外因性リズムと内因性リズム、内因性リズムの中枢、極めて微量のメラトニン量の測定、メラトニン合成律速段階酵素の正体などに関し 幾つかの疑問点・不十分な点や誤りがあり、70年以後の研究で軌道修正・新しい発見や解釈がなされるようになった。例えば、上述のようにメラトニン合成律速段階酵素はNATであった。また、当初は松果体の神経終末やメラトニン合成のリズムは外因性リズムと見なされたのであるが、実はこれらのリズムは連続暗黒下では内因性リズム機構によって調節され、光刺激によりただちに抑制されると同時に内因性リズムの位相変位が引き起こされるという特徴的なもの

であることが次第に明らかにされた。この点については私どものマウス松果体細胞のグリコゲン量の日内リズムの研究も関与した<sup>23,25,27)</sup>。

\*補足：この研究も初期には試行錯誤の状態があったようであるが、最終的には、70年代に視交叉上核に日内リズムの中樞が存在するというムーアらによる大きな成果<sup>40,41)</sup>につながった。

#### 4. 明暗環境・季節と眼球 - 上頸神経節 - 松果体と生殖器

1964年にワートマンら<sup>57)</sup>は、上述のHIOMTに関する実験と関連して、ラット膺スミアにおける発情期の頻度が連続暗黒下よりも連続照明下で増加するという現象が、眼球または上頸神経節除去により阻止されることを見出した。同じ年にCzybaら<sup>9)</sup>はハムスターで、12月から1月に起こる精子形成の低下を松果体除去が阻止することを報告した。さらにホフマンとライター(1965)<sup>14)</sup>は、ハムスターを用いて短日(明暗1時間:23時間)飼育または眼球除去によって引き起こされる雄性生殖腺の退縮が松果体除去で阻止されること、ついで、ライターとヘスター(1966)<sup>50)</sup>は眼球除去によって雄性の精巣・付属生殖器、雌性の卵巣・子宮に起こる重量減少が、松果体除去あるいは上頸神経節除去によって阻止されることを報告した。Herbert(1969)は、秋からの日照時間の延長によりフェレットで誘発される発情期開始の早期化現象にも、上頸神経節と松果体が関与していることを示した。しかし、メラトニンは発情期に抑制的に作用するので、この松果体による生殖機能促進性の影響には種差を含む何らかの不明の機序が関与している可能性が考えられた。

以上のような経緯をたどって、多少不明な点は残しながらも、明暗環境刺激は眼球でうけとられ、中枢神経を経由した後上頸交感神経節からの節後線維を介して松果体細胞に情報が伝達され、松果体細胞からのホルモン(メラトニン)分泌へと変換される。そしてさらに季節性繁殖動物では、松果体から生殖活動に日照時間に対応したホルモン性の影響が及ぼされるという大綱が解明された(総説参照<sup>48,59)</sup>)。

#### V. クエイの1969年の総説<sup>48)</sup>

クエイは松果体関連の領域で数々の先端的研究を行ったばかりでなく、多くの総説を発表して60年代およびそれ以後の松果体研究において主導的役割を果たした。クエイは69年の総説で各種脊椎動物の松果体自体および松果体と脳の関係の構造的比較を行ない、その進化との関係について考察するとともに、Kitayと

Altschule(1954)<sup>34)</sup>以後の松果体の生理学関係の文献を調べ、松果体から各種内分泌腺(下垂体・性腺・副腎皮質・甲状腺・副甲状腺など)への影響を総括し、松果体は環境への適応において役割を演じる器官であるという見解を述べている。クエイはラットなどの成熟動物松果体のセロトニン量とメラトニン量に振幅の大きな日内リズムを発見した<sup>45,46)</sup>が、このことは松果体が思春期という限られた齢期でのみ機能を発揮するものではなく、成熟動物においても生理的機能を有する内分泌腺であることの証拠と考えられた。この松果体の日内リズムの意味は、季節適応—とくに自然環境下で生活する動物の季節性繁殖や体温調節など—との関連が近年急速に解明されてきた。しかしながら、実験室動物での意味はいまだに完全には解明されていない。クエイはこの総説で、他の生物リズムとの関係から自発運動量の日内リズムに及ぼす松果体除去や連続照明の影響を調べたが変化を起こすことができなかつたと述べている(\*)。この点に関してはその後の研究でさらに追究されることになる。また性周期との関係の基礎的研究結果についても言及している。さらに松果体ホルモン作用の特徴として許容効果的なものを考えなければならないようだが、その明確な特性は判っていないとし、しかし明暗環境とストレス性の要素が最も関係があるとしている。ストレスとの関係や松果体除去手術などの実験方法的問題点についても考察し、注意深く実験することの必要性を強調(\*)、また、明暗環境あるいは松果体ホルモンに対する反応においてラットなどよりも敏感なハムスターのような動物がいること等についてもふれている。これらの点もその後の研究において重要性が明らかになってくる。また、アクセルロード・ワートマンがメラトニンの末梢性の影響を重点的に考えたのに対して、クエイは松果体ホルモンの主要な標的は中枢神経系であろうと述べている。彼は膨大な実験の結果、ラットをナトリウム欠乏状態にした時に松果体除去ラットでは大脳のカリウムレベルが低下することを見出し、松果体ホルモンは大脳皮質の星状グリア細胞に影響を及ぼして大脳の内部環境を調節・維持しているという仮説を唱えた。松果体除去によって大脳皮質の機能が低下すると、視床下部や脳幹が影響を受け、さらにその2次的影響が末梢器官に及ぼされるという説で、進化に伴う哺乳動物大脳皮質の発達とも関連して注目すべき考えであるが、結論はまだ出ていない。

\*補足：私は後にクエイとの協同研究で、正常動物の副腎髓質細胞あるいはその節前神経終末のシナプス小胞数に見られる日内リズムが松果体除去対照手術によって抑制されること、ところが松果体除去動物においては正常動物と同様あるいは若干修飾された日内リズムが見られることを実際に観察した<sup>21,22)</sup>。この実験結果は、松果

体ホルモンが最初一般に予想されていたとは反対に、日内リズムの発現を抑制する方向に作用するという可能性を示していた。

## VI. 性周期と松果体—考察と発展(1)

### 1. 性周期と松果体の生化学的活性

松果体の生化学的活性の調節において最も顕著なものは明暗環境と交感神経性の影響であるが、性周期の位相によっても修飾性の影響をうける(総説参照<sup>49)</sup>)。ラットでは、早朝の松果体セロトニン量は間期で高く、暗中期の量は発情前期に最高値を示す。暗期の松果体メラトニン量は発情前期から間期の2日目に向けて次第に低下し、朝のHIOMT活性は間期で高く、発情前期・発情期で低い。5-HIAAや脂質の量も影響され、5-HIAAの量は発情前期で最も高く、脂質の量は発情前期で最も低い。

補足：私ども(1973)<sup>26)</sup>も、マウス松果体細胞のグリコゲン量はそれが高値となる日内明期の終りから暗早～中期において発情前期～発情期で間期よりも低いという成績を報告した。

### 2. 通常状態における膣スメアの性周期と松果体除去の影響

膣スメアの性周期については、私自身のマウス・ラットでの経験および他の研究者の成績によると、幾つか注意を要する点があるように思われる。私どもの70年代初期の実験では、当時の日本における標準的な実験用マウスのdd-マウスを用いたが、このマウスでは周期は4日周期のもの、5日周期のもの、そして少数だが比較的周期が乱れる傾向のものがあった。また、ラットでも4日周期のもの、5日周期のものがあるという<sup>33)</sup>。一方、1999年から約5年間にクレア社からのウイスターラットを用いて行われた私どもの実験では、一般に性周期はきわめて安定して4日周期(発情前期、発情期、発情間期-1(発情後期)、発情間期-2)を示した<sup>29)</sup>。

この総説で取り上げられた性周期に及ぼす松果体除去などの影響に関する研究論文では、片桐(1943)の論文<sup>32)</sup>以外の多くで個別の動物での連続記録結果が示されていない。片桐のラットでの研究では発情期は発情前期と発情期、非発情期は発情後期と発情間期と現在の分け方と同様だが、性周期は一般にそれ程規則的ではなく、非発情期が長い個体が多い。一方ワートマン<sup>56)</sup>やチューラ<sup>8)</sup>の研究では、発情期に発情前期、発情期、発情後期の3期を含め、対照群では発情期が1周期の約50%を占めるという記載様式である。従って、個々の動物の周期はどのような時間経過を示したのか、1周期の長さは5日またはそれ以上に長かったのではないのか、また発情前

期と発情期を「発情期」とし発情後期を間期の第1日とすると、実験群では「発情期」の延長が実際に起こったのかなど、重要な点が不明である。

チューラの論文で、松果体除去によって“発情期”(発情前期・発情期・発情後期)の間期に対する日数比が増えた<sup>8)</sup>のは、発情前期・発情期の合計日数が増えたのではなく、対照動物では多かった間期の日数(3日以上であったかもしれない)が減少したためなのかもしれない。この問題点の指摘は根拠のないことではない。Ifft(1953)<sup>15)</sup>は松果体機能抑制効果のある上頸神経節除去によって性周期に影響がなかったと報告しているし、私ども<sup>29)</sup>も安定して4日周期を示すラットにおいて性周期に対する松果体除去効果を認めなかったからである。私どもの成績は連続照明と松果体除去が性周期に対して同様の作用を持つものではないことを明瞭に示しているので、連続照明は松果体機能の抑制のみを介して連続発情を誘発するのではないのではなからうか?結果の再現性に疑問があるチューラの実験の動物側の原因の1つとして、私どもの用いたラットは野生に近いラットとは異なり、飼育化されて飼育条件が恒常的になってから長い年月がたっていること、また安定した周期性を示し実験用あるいは繁殖用に適した性質を持つものが選択され継代されていることなどが関係しているかもしれない。またチューラの実験では、膣スメア診は午後1時から4時の間に行なわれている。照明時間は12時間と記されているけれども時刻の記載がない。明期の中間時刻が正午とするとLH分泌のための臨界時刻(critical period)は午後2時から4時頃に当たり<sup>10)</sup>、チューラがスメア診を行なった時間帯に近いことになる。従って、彼らの実験ではスメア診の操作が動物に心理ストレスとなり、脳内機構への影響などを介して排卵周期に影響する可能性がある。これも再現性の低い原因の一つかもしれない。しかし、この問題は他にも複雑な要素が関与する可能性があるため、更なる検討が必要であろう。

総合的に考えて性周期に及ぼす松果体ホルモンの影響として示唆されるのは、野生の状態では様々な環境因子によって排卵が抑制されると考えられるが、その際に松果体ホルモンが排卵抑制因子として作用し、規則的な性周期を抑制しそれから逸脱させる役割をもつという可能性である。一方、薬理学的な意味からすると、この実験成績はメラトニンが排卵抑制作用をもち、避妊薬としての作用を持つことを示していると考えられる。

これらの考察から、性周期に対する松果体ホルモン作用の機能的意義として少なくとも次の2つの可能性が浮かび上がってくる。1)松果体ホルモンは定常的に維持される規則的な性周期関連機序の中で役割を演ずる。この役割の詳細は不明であるが、例えば出産回数への抑制

性影響<sup>29)</sup>などが含まれる。2) 松果体ホルモンには性周期を抑制あるいは定常状態から逸脱させたりする作用がある。そして従来、少なくとも研究の初期の段階では2)の作用が十分に意識されていなかったように思われるが、この作用は後述の中年期の生理的機能をも含めて松果体のもつ特徴的で重要な一つの機能的側面を表しているかもしれない。

## Ⅶ. 加齢と松果体—考察と発展(2)

### 1. 松果体の加齢性変化

20世紀の前半までは松果体ホルモンの思春期遅延学説の影響もあって、思春期あるいは性的に成熟した後にはこの器官は退化に傾き痕跡器官となるという考え方が広く信じられていたように思われる。この説を裏付けるように、ヒトの松果体は多くの場合思春期を過ぎると石灰沈着、神経膠斑、腔洞などの変性所見を呈するようになる。しかしながら一方、少なくとも成熟期以後ヒトでは60才頃<sup>6,53)</sup>、ラットでは生後1年頃まで<sup>17)</sup>は、松果体重量あるいは体積の減少が認められていない。また、Borrelら<sup>7)</sup>は<sup>32</sup>Pでラベルしたリン酸の松果体への取り込みが驚くほど高いことを見出したが、さらにそれが成熟ラットおよび老齢ラットで若いラットよりも高いことを報告している。従って、思春期あるいは性的に成熟した後にはこの器官は退化に傾き痕跡器官となるという考え方は、確たる実験的証拠に基づくものではなく否定的と考える研究者もいた<sup>2,34)</sup>。

メラトニンとその合成経路の発見の後ワートマンら(1964)<sup>55)</sup>は、3才から70才までのヒトの剖検例で松果体のHIOMT、MAO、histamine N-methyl transferase (HNMT) 酵素活性を調べ、老人の松果体でも代謝活性が保持されていることを報告している。松果体のメラトニン合成関連および他の多くの活動は明瞭な日内変動を示し、光刺激によって著しく抑制されることが判ったので、松果体の日内変動や光刺激に対する反応性が加齢に伴いどのような変化を示すか、中年期以後の動物でも存続するかどうか、は重要な問題である。しかしながらこの点に関しては私どもが1970年代に最初の報告をするまではまったく報告がなかった。私ども<sup>19,28)</sup>はマウス松果体細胞のグリコゲン量の日内変動および連続照明に対する反応性は、生後1年半から2年の老齢期まで存続することを明らかにした。しかしながら、その後中高年期における松果体のメラトニン分泌については、ラット・ハムスターばかりでなくとくにヒトに関して夥しい数の報告がなされ、大きな議論になった(総説参照<sup>20)</sup>)。その初期の研究において老人における夜間の血中メラトニンレベルの著しい低下が報告され、その様な報告と

メラトニンの抗酸化作用、活性酸素捕捉作用を根拠に、メラトニンの抗加齢効果を唱える学説が大きな流れとなった。しかしながら、より新しい多数の研究から総合的に判断すると、血中メラトニンレベルの日内リズムは65才以上の老人でも存続する人が多いようである。しかし、これには多分個人差もあって、夜間の増加が少ない場合もあるのであろう(総説参照<sup>20)</sup>)。

### 2. 中年期における性周期の閉止との関連

もう1つの問題点は中年期に性周期が閉止する際の膣スミアの状態である。これには遺伝子的な要因が大きく関与するらしい。Vom Saalら(1994)の系統的な調査<sup>54)</sup>によると、実験室ラットの多くの系統では中年期になり周期性が消失するとまず連続発情状態になり、その後しばらく経過した後に連続非発情状態に移行する。これに対してウイスターラットでは、膣上皮の状態は中年期になり周期性が消失すると不規則な状態から連続発情状態を介さずに連続非発情状態へと移行するという。より自然に近い状態、例えば野生状態から実験室で飼育されるようになって間もないラットでは中年期の性周期はどう変化するのか、また、他の動物種ではどうなのか、これらも含めて検討する必要がある。Meyer, WurtmanとAltschule(1961)<sup>39)</sup>は中年期の自発連続発情状態にあるラットに松果体抽出物を投与して連続非発情状態を引き起こしたが、彼らは松果体除去実験を行っていない。そのため、その時点では松果体ホルモンの中年期における生理学的な意味が不明であった。その意味はその後実に40年以上もの長い間、不明のまま残された。その生理学的意味を初めて明らかにしたのは私ども(2006)の研究<sup>29)</sup>である。私どもは中年期のウイスターラットを用いた実験で、松果体除去ラットでは対照ラットよりも性周期の閉止する年齢が遅れること、しかし、メラトニンを投与すると連続非発情状態に入ることを見出した。またメラトニンを投与しない松果体除去ラットもいずれは不規則状態から連続非発情状態に移行するので、松果体ホルモンは性周期を示す状態から無周期状態への移行段階において、周期性閉止のタイミングを早める修飾的役割を有すると考えられる。このように松果体が中年期の動物でも機能を営んでいるという明瞭な実験的証拠が得られた。従って、現在では松果体ホルモンの加齢現象に対する影響には抑制と促進の両面があると認識されるようになった。

加えて私(2007)<sup>20)</sup>は、これらおよび他の実験成績から松果体ホルモンは明暗、ストレスや食餌等の環境、あるいは外因性変化に対処する適応性の役割ばかりでなく、性成熟の時期や中年期における体内過程の変化、すなわち加齢に伴う内因性変化への対処においても調節

性・修飾性役割を演じるという仮説を考えている。

(受理日 平成 23 年 9 月 26 日)

#### 引用文献

1. Arendt J: Mammalian pineal rhythms. *Pineal Res Rev* 3: 161-213, 1985.
2. Arieti S: The pineal gland in old age. *J Neuropath Exp Neurol* 13:482-491, 1954.
3. Axelrod J: Noradrenaline: fate and control of its biosynthesis. *Science* 173: 598-606, 1971.
4. Axelrod J & Weissbach H: Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science* 131: 1312, 1960.
5. Axelrod J, Wurtman RJ & Snyder SH: Control of hydroxyindole- O-methyltransferase activity in the rat pineal gland by environmental lighting. *J Biol Chem* 240: 949-954, 1965.
6. Berblinger W: Die Glandula pinealis (Corpus pineale). *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*. 8:681, 1926.
7. Borrel U & Örström Å: On the function of the pineal body. *Acta Physiol Scand* 13: 62-71, 1947.
8. Chu EW, Wurtman RJ & Axelrod J: An inhibitory effect of melatonin on the estrous phase of the estrous cycle of the rodent. *Endocrinology* 75: 238-242, 1964.
9. Czyba JC, Girod C & Durand N: Sur l'antagonisme épiphyso-hypophysaire et les variations saisonnières de la spermatogenèse chez le hamster dore (*Mesocricetus auratus*). *Compt Rend Soc Biol* 188: 742-745, 1964.
10. Everett JW & Sawyer CH: A 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology* 47: 198-218, 1950.
11. Fiske VM, Bryant GK & Putnam J: Effect of light on the weight of the pineal in the rat. *Endocrinology* 66: 489-491, 1960.
12. Fiske VM: Serotonin rhythm in the pineal organ: Control by the sympathetic nervous system. *Science* 146: 253-254, 1964.
13. Herbert J: The pineal gland and light-induced oestrus in ferrets. *J Endocr* 43: 625-636, 1969.
14. Hoffman RA & Reiter RJ: Pineal gland: Influence on gonads of male hamsters. *Science*: 148: 1609-1611, 1965.
15. Ifft JD: The effect of superior cervical ganglionectomy on the cell population of the rat adenohypophysis and on the estrous cycle. *Anat Rec* 117: 395-404, 1953.
16. Ifft JD: Effect of pinealectomy, a pineal extract, and pineal grafts on light induced prolonged estrus in rats. *Endocrinology* 71: 181-182, 1962.
17. Izawa Y: Studies on the pineal body. 1. On the postnatal growth of the pineal body of the albino rat with observations on its histology. *J Comp Neurol* 39: 1-17, 1925.
18. Jöchle W: Über die Wirkung eines Epiphysenextraktes (Glanepin) auf Sexualentwicklung und Sexualcyclus junger weiblicher Ratten unter normaler Haltungsbedingungen und bei Dauerbeleutung. *Endokrinologie* 33: 287-295, 1956.
19. 加地 隆: マウス松果体におけるグリコゲン量の日内リズムおよび光刺激に対する反応性の逐齡的観察 北海道医学雑誌 48: 152-164, 1973.
20. Kachi T: Pineal structures and functions in mammalian body mechanisms coping with exogenous and endogenous changes. *Hirosaki Med J* 59 (Suppl): S262-S277, 2007.
21. Kachi T, Banerji TK & Quay WB: Daily rhythmic changes in synaptic vesicle contents of nerve endings on adrenomedullary adrenaline cells, and their modification by pinealectomy and sham operations. *Neuroendocrinology* 28: 201-211, 1979.
22. Kachi T, Banerji TK & Quay WB: Quantitative cytological analysis of functional changes in adrenomedullary chromaffin cells in normal, sham-operated, and pinealectomized rats in relation to time of day: I. Nucleolar size. *J Pineal Res* 1: 31-49, 1984.
23. Kachi T & Ito T: Neural control of glycogen content and its diurnal rhythm in mouse pineal cell. *Am J Physiol* 232: E584-E589, 1977.
24. Kachi T, Matsushima S & Ito T: Effects of continuous lighting on glycogen in the pineal cells of the mouse: A quantitative histochemical study. *Z Zellforsch* 118: 214-220, 1971a.
25. Kachi T, Matsushima S & Ito T: Diurnal changes in glycogen content in the pineal cells of the male mouse: A quantitative histochemical study. *Z*



- Zellforsch 118: 310-314, 1971b.
26. Kachi T, Matsushima S & Ito T: Diurnal variations in pineal glycogen content during the estrous cycle in female mice. *Arch Histol Jap* 35: 153-159, 1973.
  27. Kachi T, Matsushima S & Ito T: Effect of continuous darkness on diurnal rhythm in glycogen content in pineal cells of the mouse: A semiquantitative histochemical study. *Anat Rec* 179: 405-410, 1974.
  28. Kachi T, Matsushima S & Ito T: Postnatal observations on the diurnal rhythm and the light-responsiveness in the pineal glycogen content in mice. *Anat Rec* 183: 39-46, 1975.
  29. Kachi T, Tanaka D, Watanabe S, Suzuki R, Tonosaki Y & Fujieda H: Physiological pineal effects on female reproductive function of laboratory rats: Prenatal development of pups, litter size and estrous cycle in middle age. *Chronobiol Int* 23: 289-300, 2006.
  30. Kappers JA: The development, topographical and innervations of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Z Zellforsch* 52: 163-215, 1960.
  31. Kappers JA: Survey of the innervation of the epiphysis cerebri and the accessory pineal organ of vertebrates. In: *Prog Brain Res Vol 10 "Structure and function of the epiphysis cerebri"* Ed by Kappers JA & Schadé JP. 87-153. Amsterdam: Elsevier. 1965.
  32. 片桐悦郎：松果腺に関する研究。松果腺脱落と性周期（其 I）。大阪医学会雑誌 42: 935-938, 1943.
  33. 川上正澄、貴邑富久子：内分泌生理学。86 - 98。東京：南山堂。1978。
  34. Kitay JI & Altschule MD: The pineal gland. A review of the physiological literature. Cambridge, Mass.: Harvard Univ Press. 1954.
  35. Klein DC & Weller JL: Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science* 169: 1093-1095, 1970.
  36. Lerner AB, Case JD & Heintzelman RV: Structure of melatonin. *J Am Chem Soc* 81: 6084-6085, 1959.
  37. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH & Mori W: Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 80: 2587, 1958.
  38. Lerner AB, Case JD & Takahashi Y: Isolation of melatonin and 5-methoxyindole-3-acetic acid from bovine pineal glands. *J Biol Chem* 235: 1992-1997, 1960.
  39. Meyer CJ, Wurtman RJ, Altschule MD & Lazo-Wasem EA: The arrest of prolonged estrus in "middle-aged" rats by pineal gland extract. *Endocrinology* 68: 795-800, 1961.
  40. Moore RY & Lenn NJ: A retinohypothalamic projection in the rat. *J Comp Neurol* 146: 1-14, 1972.
  41. Moore RY: Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res* 49: 403-409, 1973.
  42. Pflügfelder O: Physiologie der Epiphyse. *Verhandl Deut Zool Ges* 50: 53-75, 1956.
  43. Quay WB: Volumetric and cytologic variation in the pineal body of *Peromyscus leucopus* (Rodentia) with respect to sex, captivity and day-length. *J Morphol* 98: 471-495, 1956.
  44. Quay WB: Reduction of mammalian pineal weight and lipid during continuous light. *Gen Comp Endocrinol* 1: 211-217, 1961.
  45. Quay WB: Circadian rhythm in rat pineal serotonin and its modifications by estrous cycle and photoperiod. *Gen Comp Endocr*, 3: 473-479, 1963.
  46. Quay WB: Circadian and estrous rhythms in pineal melatonin and 5-hydroxyindole-3-actinic acid. *Proc Soc exp Biol (NY)* 115: 710-713, 1964.
  47. Quay WB: Indole derivatives of pineal and related neural and retinal tissues. *Pharmacol Rev* 17: 321-345, 1965.
  48. Quay WB: The role of the pineal gland in environmental adaptation. In: "Physiology and pathology of adaptation mechanisms" Ed by Bajusz E. 508-550. Oxford & New York: Pergamon Press. 1969.
  49. Quay WB: Pineal Chemistry. In *Cellular and Physiological Mechanisms*. Springfield, Illinois: Charles C Thomas. 1974.
  50. Reiter RJ & Hester RJ: Interrelationships of the pineal gland, the superior cervical ganglia, and the photoperiod in the regulation of the endocrine systems of hamsters. *Endocrinology* 79: 1168-1170, 1966.
  51. Roth WD, Wurtman RJ & Altschule: Morphological changes in pineal parenchyma cells of the rat exposed to continuous light or darkness.

- Endocrinology 71: 888-892, 1962.
52. Snyder SH, Zweig M, Axelrod J & Fischer JE: Control of the circadian rhythm in serotonin content of the rat pineal gland. *Proc NAS* 53: 301-305, 1965.
  53. Uemura S: Zur normalen und pathologischen Anatomie der Glandula pinealis des Menschen und einiger Haustiere. *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*. 20: 381-488, 1917.
  54. vom Saal FS, Finch CE, Nelson JF: Natural history and mechanisms of reproductive aging in humans, laboratory rodents, and other selected vertebrates. In: *The Physiology of Reproduction*. Ed by Knobil E & Neill JD. 2<sup>nd</sup> ed. 1213-1314. New York: Raven Press. 1994.
  55. Wurtman RJ, Axelrod J & Barchas JD: Age and enzyme activity in the human pineal. *J Clin Endocrinol Metab* 24: 299-301, 1964a.
  56. Wurtman RJ, Axelrod J & Chu EW: Melatonin, a pineal substance: Effect on the rat ovary. *Science* 141: 277-278, 1963.
  57. Wurtman RJ, Axelrod J, Chu EW & Fischer JE: Mediation of some effects of illumination on the rat estrous cycle by the sympathetic nervous system. *Endocrinology* 75: 266-272, 1964b.
  58. Wurtman RJ, Axelrod J & Fischer JE: Melatonin synthesis in the pineal gland: Effect of light mediated by the sympathetic nervous system. *Science* 143: 1328-1330, 1964c.
  59. Wurtman RJ, Axelrod J & Kelly DE: *The Pineal*. New York & London: Academic Press. 1968.
  60. Wurtman RJ, Roth W, Altschule MD & Wurtman JJ: Interaction of the pineal and exposure to continuous light on organ weights of female rats. *Acta Endocrinol* 36: 617-624, 1961.
- 

## **Pineal Research History, Discussion and Development**

### **2. From 1954 to 1969**

**Takashi Kachi**

**Anatomy, Hirosaki University of Health and Welfare, 3-18-1 Sanpinai, Hirosaki 036-8102, Japan**

#### **Abstract**

For about 15 years following the review of Kitay & Altschule, bursts of activities and development of pineal research occurred. The main findings are as follows: melatonin is the substance which bleaches the skin of amphibians; the melatonin-synthesizing pathway in which serotonin is a precursor and melatonin is finally produced by the HIOMT enzyme activity; HIOMT exists exclusively in the pineal organ in mammals; light suppresses functional activities of the pineal; since pinealectomy and melatonin administration exert effects on the development and functions of reproductive organs, and for other reasons, melatonin is the pineal hormone; the pineal levels of serotonin and melatonin show high-amplitude and characteristic 24-hr rhythms; the pineal innervation common to mammals is sympathetic, and supplied with postganglionic nerve fibers derived from the superior cervical ganglia; the light-dark environment and/or seasons influence reproductive activities via the eye-superior cervical ganglion-pineal system. From these, the mammalian pineal gland was considered to be one of "neuroendocrine-transducers" or to play a role in environmental adaptation. Among these, especially concerning subjects on the estrous cycle and aging in which author's researches were also involved, critical discussions were devoted, and in addition several developments after 1970 were briefly mentioned.

Key words: Melatonin, Eye-superior cervical ganglion-pineal system, Biorhythm, Reproduction, Aging