

氏名・(本籍)	井 上 修 平 (滋賀県)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	博士 (論) 第221号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成9年12月25日
学 位 論 文 題 目	Change in distribution and density of CGRP, PGP9.5, serotonin and chromogranin A immunoreactivity in the perinatal rat respiratory tract (ラット気道におけるCGRP、PGP9.5、セロトニン及びクロモグラニンA免疫陽性構造の発生学的研究)
審査委員	主査 教授 岡 部 英 俊 副査 教授 前 田 敏 博 副査 教授 森 渥 視

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

気道には生理活性ペプチドやアミンが内分泌細胞や神経線維に広く分布することが知られている。しかしそれら生理活性物質の気道における発生学的意義に関しては殆ど調べられていない。本研究では出生前後のラット気道を用い、CGRP、セロトニン、神経系マーカーとしてPGP9.5、内分泌系マーカーとしてクロモグラニンAの各々の分布、経時的変化を詳細に検討し、気道の発生・発育における役割を調べることを目的とした。

【方 法】

ウィスター系ラットの胎生15、17、19、20、21日目と生後0、1、3、7、11、14、20、21、30、60日目の肺を用いた。灌流固定後に気管及び末梢肺を摘出し、ゼラチン包埋しクリオスタットで16 μ mの厚さの切片を作成した。一次抗体はCGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンAの各抗体を1:5000の濃度で4℃72時間浮遊法で反応させ、内因性Peroxidaseを消去後に、二次抗体としてビオチン化抗ウサギIgGを1:1000の濃度で室温下2時間反応させた。その後1:1000の濃度のABC液に1時間30分室温下で反応させ、DAB反応を室温下で30分行った。

【結 果】

CGRP免疫組織化学染色

胎生15日では原始気管支上皮の基底部及び内腔側に陽性所見が得られ、胎生17日では遠位気管支上皮に陽性となり近位気管支では陰性であった。胎生19日では更に末梢の細気管支上皮で陽性となり、中等度の大きさの気管支や近位気管支も少数ながら陽性であった。胎生20日には末梢気管支で減少したが、気管支中枢部に神経内分泌細胞体(NEBs)が最初に出現した。胎生21日ではCGRP陽性細胞は末梢で消失しNEBsが増加し、生後も認められた。CGRP陽性神経線維は生後3日に最初に上皮下に出現し、成長と共に除々に増加した。

PGP9.5免疫組織化学染色

胎生15日では原始気管支上皮は広範に染色された。胎生17日では気管支末梢に広く分布し、胎生19日まで増加したが、胎生21日には激減した。出生時には近位気管支にNEBsが出現し、その後継続した。神経線維は胎生21日に葉気管支壁に沿って出現し、生後に増加した。

セロトニン免疫組織化学染色

胎生15日ではCGRPと同様、原始気管支上皮に顆粒状に陽性であった。胎生17日では末梢気管支上皮に拡がっていったが、胎生19日には激減し、その後は認められなかった。

クロモグラニンA免疫組織化学染色

胎生15日には原始気管支上皮の内腔側が陽性だった。胎生17日には遠位気管支に出現し、胎生19

日まで増加したが、胎生21日以降は陰性となった。

【考 察】

これまでの報告ではラット気道では胎生17日にCGRP陽性内分泌細胞が出現することが知られていたが、本研究によって既にラット胎生15日で原始気管支上皮にCGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンA免疫陽性内分泌細胞が存在することが判明した。またCGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンA免疫陽性細胞が胎生後期に一過性に増加することより、これらの細胞が気管支の発生において細胞分化又は細胞増殖に重要な役割を果たしていることが示唆される。セロトニンとクロモグラニンAは胎生15～19日に気道上皮にびまん性に分布する内分泌細胞に存在した。それに対してCGRPとPGP9.5は胎生15～19日は内分泌細胞に、胎生21日以後生後にかけてNEBsと神経線維に存在した。以上の結果は、セロトニンとCGRPの気道の発生における作用の違いを示すと考えられる。特にCGRPはNEBsに含まれることより化学受容体としての作用が強く示唆される。

CGRP、PGP9.5陽性神経線維が出生前後の気管支樹又は血管壁に沿うように出現し、生後徐々に増加した。またPGP9.5神経線維の方がCGRP神経線維より高頻度に存在したことからPGP9.5神経線維はCGRP以外のペプチドを含有することが示唆された。CGRP、PGP9.5は内分泌細胞、NEBs、神経線維に広く分布し、クロモグラニンA、セロトニンが内分泌細胞のみに存在したことから、ラット気道系ではNEBsが内分泌より神経系の特徴を有することが示唆される。

【結 論】

1. ラット胎生15日で原始気管支上皮に既にCGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンA免疫陽性内分泌細胞が存在する。
2. CGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンA免疫陽性内分泌細胞の密度が胎生後期に一過性に増加したことは、これらの細胞が気管支の発生において細胞分化又は細胞増殖に重要な役割を果たしていることと示唆される。
3. CGRPが出生前後及び生後にNEBsに分布することより化学受容体としての役割が示唆される。
4. PGP9.5神経線維の方がCGRP神経線維より高頻度に存在したことからPGP9.5神経線維はCGRP以外のペプチドを含有することが示唆される。
5. ラット気道系ではNEBsが内分泌より神経系の特徴を有することが示唆される。

論文審査の結果の要旨

本研究は出生前後のラット気道を用い、CGRP、セロトニン、神経系マーカーとしてPGP9.5、内分泌系マーカーとしてクロモグラニンAの免疫組織化学染色を行い、それぞれの分布、経時的変化を詳細に検討し、気道の発生・発育における役割を調べたものであり、得られた結果は以下のとおりである。

1. ラット胎生15日で原始気管支上皮に既にCGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンA免疫陽性内分泌細胞が存在する。
2. CGRP、PGP9.5、セロトニン、クロモグラニンA免疫陽性内分泌細胞の密度が胎生後期に一過性に増加したことは、これらの細胞が気管支の発生において細胞分化又は細胞増殖に重要な役割を果たしていることと示唆される。
3. CGRPが出生前後及び生後にNEBsに分布することより化学受容体としての役割が示唆される。
4. PGP9.5神経線維の方がCGRP神経線維より高頻度に存在したことからPGP9.5神経線維はCGRP以外のペプチドを含有することが示唆される。
5. ラット気道系ではNEBsが内分泌より神経系受容体の特徴を有することが示唆される。

これらの成果は、ラット気道発生時における神経内分泌細胞及び神経線維の形態学変化を経時的に詳細に検討したものであり、その出現意義を明らかにする上で大きく寄与し得る優れたものである。

よって、博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。