

氏名・(本籍)	は せ たか のぶ 長 谷 貴 將 (滋賀県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第13号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日	昭和61年3月24日
学位論文題目	Distribution of neuronal cell bodies and axons containing glicentin-like immunoreactivity in the rat brain. (ラット脳内におけるグリセンチン様免疫活性物質含有神経細胞体及 び軸索の分布)

審査委員	主査 教授	越 智 淳 三
	副査 教授	小 玉 正 智
	副査 教授	前 田 敏 博

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目的〕

近年、免疫組織化学的研究の進展により、多くの活性ペプチドが中枢神経系および末梢臓器に存在することが示されている。グルカゴンに関しては、よく知られた膵型グルカゴンの他に、膵外あるいは腸管型のグルカゴンが生体に存在することが示されているが、中枢神経系におけるそれらの局在や分布については不明な点が多い。本研究の目的は、腸管型グルカゴンの一種であるグリセンチンに特異的な抗血清および抗膵型グルカゴン特異抗血清等を用い、ラット脳を免疫組織化学的に検索し、中枢神経系に存在するグルカゴンの種類、分布様式、細胞レベルにおけるその局在を明らかにすることにある。

### 〔方法〕

雄性ウイスター系ラット(200~250g)40匹を使用し、20匹のラットは無処置のまま、また残りはコルヒチン(150 $\mu$ g/20 $\mu$ l生食水)を側脳室に注入し24時間後に、実験に供した。動物を灌流固定し、クリオスタットで厚さ20 $\mu$ mの切片を作成した。使用した抗血清はグリセンチンC末端(49-69)特異抗血清R-4804、抗膵型グルカゴン特異抗血清OAL-123、および膵型グルカゴンと腸管型グルカゴンの両方を認識する抗血清GA-10の3種類であった。切片を第1次抗体(R-4804; 20,000倍希釈、OAL-123およびGA-10; 4,000倍希釈)とインキュベートし、続いて抗家兎IgG山羊血清と、さらにペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ複合体と、インキュベートした。最後に切片をKarnovsky法の改良

法により可視化した。

#### 〔結果〕

抗血清OAL-123を用いた場合では、ラット脳内のいずれの部位においても陽性反応は認められなかった。しかし、抗血清R-4804およびGA-10では、特異的な陽性反応が脳内のいくつかの領域で認められた。両者による染色結果は本質的に同じものと考えられたので、より染色強度が大であったR-4804による結果について述べる。

細胞体 グリセチン陽性の神経細胞体は、下部延髄、主として弧束核と迷走神経の背側核にはさまれた領域に分布していたが、この他にも少数個が腹外側に散在性に分布し、外側網様体の背側部にも一部認められた。陽性細胞体の吻尾方向の広がりについて調べてみると、20  $\mu\text{m}$ 毎の連続切片数枚に分布領域が限局していること、しかも極めて数少ないことが特徴的であった。

陽性線維と終末 無処置あるいはコルヒチン処置ラットのいずれの脳においても種々の領域において分布が認められた。コルヒチン処置によりグリセチン陽性反応が増強したが、陽性線維や終末の分布様式には影響がなかった。最も密な分布領域は、視床下部の室傍核、腹内側核、弓状核であって、無処置ラットにおいても、連珠状のふくらみを有する陽性線維が明瞭に観察された。中等度の分布が認められた領域は、内側および外側中隔核、対角帯核(Broca)視索上核、視床周囲核、腹側被蓋野、中脳から延髄に至る中心灰白質、および延髄縫線核などであった。

#### 〔考察〕

免疫組織化学的検索の結果は、ラット脳内には脾型グルカゴンではなく、腸管型グルカゴンの一種であるグリセチン様免疫陽性反応が神経成分に局在することを示す。興味あることは、このグリセチン様免疫陽性物質を含有する下部延髄の神経細胞の分布する領域がカテコラミン含有神経系のうち、A1およびA2群と呼ばれるニューロンの分布領域と酷似することである。しかし、グリセチン陽性細胞の数はカテコラミン含有細胞に比べて少ない。したがって、カテコラミン・ニューロンのうち一部のものがグリセチンを含有することが示唆される。これらカテコラミンと共存するグリセチン含有神経が、その分布領域である視床下部において、どのような機能的役割を持っているかは現在のところ不明である。しかし、ラットを絶食させることにより、視床下部のグリセチン含有量が増加すること(Inokuchi et al.)が知られているので、グリセチン含有神経が「摂食-飽満」の中枢制御機構に重要な役割を担っていることが示唆される。したがって、グリセチン含有神経回路網を明らかにすることは、食欲の中枢制御機構を理解するために重要と考えられる。

以上のようなグリセチンの機能的役割の解析を通じて、一般的に生理活性ペプチドは神経伝達物質として、あるいは神経修飾物質として働くのかなど、神経ペプチドの担う役割の詳細が一層明確になっていくものと期待される。

#### 〔結論〕

(1) ラット脳内には、腸管型グルカゴン(グリセチン)様の物質が存在し、しかもその物質はすべて神経成分に限局することが免疫組織化学的研究により判明した。

(2) グリセンチン免疫陽性の神経細胞体、線維および軸索の分布様式はカテコラミン神経系のうち「延髄-視床下部」投射系を構成するA 1およびA 2群の分布様式と酷似しており、両物質の神経系における機能的関連が強く示唆された。

(3) グリセンチン含有神経が「摂食-飽満」の中枢制御機構に関与しているという従来の仮説に対し、形態学的な根拠が与えられた。

### 学位論文審査の結果の要旨

近年、免疫技法の進歩により、グルカゴン様物質が脳内にも存在するという報告が相次いでなされてきたが、脳内グルカゴン様物質が膵型グルカゴンなのか、腸管型グルカゴンなのかをはじめ、その局在についてもよく知られていなかった。

本研究は、腸管型グルカゴンの一種であるグリセンチン様免疫活性物質が、ラット脳内の神経成分に限局し、さらにその細胞体、神経線維がどのように分布するかを明らかにしたものである。

著者らは、脳内グルカゴン様物質の型、およびその分布様式を明らかにするために、グリセンチンに特異的な抗血清、膵型グルカゴンに特異的な抗血清、および両者に反応する抗血清の3種類の抗血清を用いた高感度の免疫組織化学的技法により、ラット脳を検索した。

その結果、ラット脳内には膵型グルカゴンではなく、腸管型グルカゴンの一種であるグリセンチンが存在することが明確に示された。さらにグリセンチン含有神経細胞体および線維の分布様式は、カテコラミン神経系のうち「延髄-視床下部」投射系をもつA 1、A 2群に酷似することが明らかになった。したがって、この神経系がカテコラミンと機能的にも密接な関連をもつことが考えられる。このことは古典的なアミン神経系とペプチド神経系との解剖学的、生理学的接点を示唆するものであり、ペプチドが内分泌系および神経系制御機構の両者を介して「摂食-飽満」機構といった生体の恒常性維持のために重要な役割りを果たしていることを示す。

以上の研究は、グリセンチンが脳-腸管型ペプチドの一種であることを支持するものであり、この神経分布の詳細な検索は、評価に値するものである。

よって、本研究は、脳ペプチド研究に大いに貢献するものであり、医学博士の学位授与に値するものであると認める。