

|         |  |
|---------|--|
| 氏名(本籍)  | なんぶただひろ<br>南部忠洋(東京都)   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位記番号   | 博甲第2391号   |
| 学位授与年月日 | 平成12年3月24日   |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当   |
| 審査研究科   | 医学研究科  |
| 学位論文題目  | Distribution of orexin neurons in the adult rat brain.<br>(成体ラット脳におけるオレキシン神経の分布) |
| 主査      | 筑波大学教授 理学博士 久野節二   |
| 副査      | 筑波大学教授 博士(医学) 榎正幸  |
| 副査      | 筑波大学助教授 医学博士 玉岡晃   |
| 副査      | 筑波大学助教授 医学博士 鈴木利人  |

## 論文の内容の要旨

### (目的)

オレキシンはオーファンGタンパク共役受容体に対する反応性を指標にして近年、桜井らによって単離された神経ペプチドである。オレキシン-Aおよびオレキシン-Bは同一前駆体、プレプロオレキシンより生成され、2種類のGタンパク共役の受容体、OX1RおよびOX2Rに結合しその作用を発現する。インサイチューハイブリダイゼーションならびにオレキシン-Aに対する免疫染色によって、オレキシンが摂食中枢として知られる視床下部外側野周辺に発現していること、また、オレキシン-Aおよびオレキシン-Bの側脳室内投与によりラットの摂食行動が亢進することが明らかになった。本研究では、オレキシン生理作用や他の神経伝達物質との関わりを考察する上で有用な情報を得るためにオレキシン-Aに対する抗体を作成し、ラット脳におけるオレキシン作動性神経系の分布について免疫組織化学的解析を行った。

### (対象と方法)

オレキシン-AのC末端20アミノ酸残基を合成し、家兔に免疫し、オレキシンに対する抗血清を作製した。この血清を同ペプチドを固相化したカラムによりアフィニティ精製して、以下の研究に使用した。ウイスター系雄ラット(8週齢)を4%パラホルムアルデヒドで経心性灌流固定後、脳を取り出し同固定液にて一昼夜浸漬固定した。脳を凍結後、40 $\mu$ m厚の前頭断クリオスタット切片を作成し、アビジン-ビオチン-パーオキシダーゼ複合体法を用いて、オレキシン陽性神経の細胞体と線維の分布を光学顕微鏡観察により解析した。免疫染色の特異性はあらかじめオレキシン抗血清に過剰量のオレキシン-Aまたはオレキシン-Bを加えた、吸収実験により検討した。

### (結果)

抗血清の特異性: 抗血清による反応は過剰のオレキシン-Aまたはオレキシン-Bの添加により消失したが、他種のペプチドでは変化が認められたため、観察された免疫染色はオレキシン-Aおよびオレキシン-Bに対する特異的反応と判断された。

オレキシン陽性細胞体の分布：陽性細胞体は視床下部に限局して認められた。視床下部内においても脳弓周囲核、外側野、背内側核および後核にのみ観察された。

オレキシン陽性線維の分布：陽性線維は脳全域にわたって非常に広範囲に認められた。終脳では、皮質、扁桃体および中隔に、間脳では視床の室傍核と中心内側核、ならびに視床下部の室傍核、弓状核と隆起乳頭体核において観察された。下位脳幹では青斑核、縫線核群、傍腕核、弧束核および迷走神経背側核に認められた。また、脳弓下器官と最後野などの脳室周囲器官に認められた。

#### (考察)

オレキシン陽性神経細胞体が、摂食中枢として知られている視床下部外側野とその周辺に限局して分布することを示した今回の結果は、摂食行動を制御する神経機構においてオレキシンが重要な役割を果たしていることを強く示唆している。一方、陽性線維が脳の非常に広範囲に分布することは、オレキシンの脳内作用が、摂食行動の制御のみならず、さまざまな脳機能の発現に関連していることを示唆している。視床下部外側野は飲水行動の調節にも与り、免疫陽性線維が脳室周囲器官に認められたことは、オレキシンと飲水行動との関連を示唆している。また、陽性線維は脳幹交換神経核と間脳・終脳におけるその上位中枢、および副交感神経核にも存在しており、自律神経機能におけるオレキシンの作用が推測される。さらに、大脳新皮質と辺縁系および青斑核と縫線核においても陽性線維の存在が確認され、オレキシンがこれらの領域で、情動、動機づけならびに覚醒レベルの維持に関連した神経機構で働いている可能性がある。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、摂食行動を亢進する新規の神経ペプチドとしてごく最近発見されたオレキシンについて、ラット脳における分布を神経解剖学的に解析し、オレキシン作動性神経系の全容解明を目指したものである。先の桜井らの研究を基盤とし、さらに詳細な免疫組織化学的解析を行うことにより、極めて新しく、かつ重要な多くの基礎的事実を明らかにしている。この成果を基に、今後、脳におけるオレキシンの機能的役割の解明へ向けてさらなる進展が期待される優れた研究で、学位論文として高く評価できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。