

氏名(国籍)	朱 耘 (中国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第3194号
学位授与年月日	平成15年3月25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	Conditional ablation of Orexin Neurons in Mice Results in Fragmentation of Sleep-wake Pattern (オレキシン神経を時期及び部位選択的に消失させることによって睡眠・覚醒パターンの分断化が引き起こされる)
主査	筑波大学教授 医学博士 三輪 正直
副査	筑波大学講師 医学博士 一條 裕之
副査	筑波大学講師 医学博士 掘 孝文
副査	筑波大学講師 医学博士 吉澤 利弘

論文の内容の要旨

(目的)

近年の研究により、オレキシンは摂食行動の調節のみならず自律神経、エネルギー代謝、神経内分泌系などの調節にも関連していると考えられている。さらに最近、オレキシンの受容体遺伝子に変異を持つイヌが、睡眠障害であるナルコレプシー様の症状をきたすこと、また、ヒトナルコレプシー患者において、オレキシン神経が脱落していることが報告されたことから、覚醒維持というオレキシンの新たな役割が注目されている。ナルコレプシーは若年青年期になってからの発症例が多いことから、本研究では特定の細胞を変性・除去させるシステム (immunotoxin-mediated cell targeting; IMCT) を用いて、時期および部位選択的にオレキシン神経を脱落させることが可能なトランスジェニックマウスを作製することで、よりヒトの病態に近いモデルマウスを構築し、オレキシンの生理学的・薬理的解析を行うことを目的とした。

(対象と方法)

1. オレキシン神経特異的に hIL-2Ra と EGFP をタンパク質として発現する遺伝子組み換えマウスを作製した。
2. 免疫毒素 (anti-Tac (Fv) -PE38) 0.6 μ g あるいは 0.9 μ g を側脳室、または第3脳室のいずれかに、一回の投与を行った。
3. 免疫毒素投与後十日から十四日後にオレキシン神経の脱落を免疫組織化学の方法により確認した。
4. 免疫毒素を投与する前と投与した後の脳波を記録した。

(結果)

本研究では、3A5, 3B2, 3C4 と名付けた3系統の hIL-2R α : EGFP 組み換えマウスにおいて GFP の蛍光を確認できた。以後の実験では最も融合タンパク質の発現率が高い (81%) 3A5 系統のマウスを用いた。毒素の側脳室内投与により最大約5割、第3脳室内投与により最大約6割のオレキシン神経を減少させることが出来た。また側脳室内投与では、視床下部の前方でオレキシン神経細胞体の減少が認められた。一方、第3脳室投与では、特

に視床下部の後方でオレキシン神経細胞体の減少が認められた。脳波の測定結果としては、第3脳室に毒素を投与したマウスにおいて、夜間のREM睡眠時間とそのエピソード期間が延長になり、夜間の覚醒時間とそのエピソード期間が短縮になったことが観察された。また夜間において、睡眠・覚醒状態の分断化現象も観察された。

(考察)

本研究においては、hIL-2R α :EGFPをオレキシン神経特異的に発現する遺伝子組み換えマウスを構築することが出来た。3A5系統マウスは免疫毒素によってオレキシン神経を特異的に除去し、オレキシンの機能解析を行う実験に非常に適していることが明らかになった。今回の結果から、免疫毒素の投与量と投与部位を変えることによりオレキシン神経消失の程度を自在にコントロールできることが明らかとなった。

オレキシンは、結節乳頭体核のヒスタミン作動性神経、青斑核や縫線核のモノアミン作動性神経および脳幹のコリン作動性神経を介して、睡眠・覚醒状態を抑制するものと考えられる。オレキシン神経の脱落により、モノアミン系神経による覚醒維持機構や、コリン作動性神経によるREM睡眠の制御機構が失われると、睡眠・覚醒の異常が現れるものと思われる。今回の研究では、視床下部の後方においてより多くのオレキシン神経を除去したことで、睡眠・覚醒のパターンに異常が観察されたことから、視床下部の後方に局在するオレキシン神経細胞は睡眠・覚醒に重要な役割を果たしていることが示唆される。

(結論)

時期および部位選択的にオレキシン神経を除去できるマウス実験系を確立することが出来た。また、部分的にオレキシン神経を脱落させることで、睡眠・覚醒の分断化などを特徴とした異常が観察された。この動物モデルを用いることにより、オレキシンの生理的役割のより詳細な解析や、睡眠異常の病態研究に役に立つことが期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、オレキシン神経特異的にhIL-2R α :EGFPを発現するマウスを作製し、マウスの成長段階に合わせ免疫毒素を投与することで、時期及び部位選択的にオレキシン神経を脱落させ、オレキシンの生理作用を解明する上で新たな実験系を確立したものである。さらに、この系を用いてオレキシン神経細胞は睡眠・覚醒の調節に重要な役割を果たしていることを明らかにした。この動物モデルは今後のオレキシンの生理的役割の解析に大変有用なモデルであると考えられ、博士論文として価値の高いものである。

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。