

氏名(本籍)	今野仁子(宮城県)		
学位の種類	博士(神経科学)		
学位記番号	博甲第4746号		
学位授与年月日	平成20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	人間総合科学研究科		
学位論文題目	視床下部-下垂体神経内分泌機構における副腎皮質調節系と摂食調節系の機能相関に関する実験形態学的研究		
主査	筑波大学教授	医学博士	吉田 薫
副査	筑波大学教授	理学博士	岡村直道
副査	筑波大学准教授	医学博士	岩本義輝
副査	筑波大学講師	博士(理学)	先崎浩次

## 論文の内容の要旨

### (目的)

合成コルチコイド、デキサメタゾン (DEX) は強い免疫抑制・抗炎症作用を示し、様々な疾患の治療に汎用される。長期 DEX 投与で起こる副作用のうち食欲増進や体重増加については、摂食調節因子ニューロペプチド Y (NPY) の関与が考えられる。視床下部弓状核における NPY の合成はグルココルチコイドの影響を受け、一方、NPY は室傍核 CRH ニューロンや下垂体 ACTH 細胞に対し神経内分泌的作用を及ぼす可能性が示唆されている。本研究では、DEX が NPY ニューロンおよび視床下部-下垂体-副腎皮質軸 (HPA) に対しどのような影響を及ぼすかを明らかにするため、慢性 DEX 投与モデル動物を作成し、弓状核-正中隆起領域と下垂体前葉における NPY 遺伝子およびペプチド発現の変化について定量形態学的解析を行った。

### (対象と方法)

ラット (Wistar 系 9 週齢雄) を DEX 群 (0.2mg/100g 体重/日, 10 日間皮下投与), 溶媒群 (ゴマ油 0.1ml/100g 体重/日, 10 日間皮下投与), 無処置群の 3 群に分け、各 10 匹を使用した。各群の弓状核、正中隆起および下垂体前葉における各種ペプチドの発現を in situ ハイブリダイゼーション (ISH) と酵素抗体法による免疫組織化学を用いて観察し、発現量の差異を NIH Image J を用いた定量画像解析により評価した。正中隆起については異なる機能をもつ内層と外層を区別して解析した。また、必要に応じて蛍光 ISH, 蛍光 2 重免疫染色, および蛍光 ISH と蛍光抗体法を組み合わせた手法を用いてペプチド発現の部位や細胞の同定を行った。

### (結果)

正中隆起の CRH およびバソプレッシン担体 NP II を免疫染色し、各陽性反応が占める領域の相対面積を 3 群で比較した。CRH と NP II 陽性反応の相対面積は、外層においてのみ、無処置群に比べ溶媒群で有意に増加し、DEX 群では有意な変化を示さなかった。NPY の免疫染色では、DEX 群の外層に高密度の数珠状 NPY 陽性線維を認め、定量解析の結果、無処置群・溶媒群に比べ免疫陽性線維バリコシティ密度が有意に高いことが示された。NPY 遺伝子発現に関する ISH 観察では、無処置群・溶媒群に比べ DEX 群で有意に高いハイブリダイゼーションシグナルが弓状核において確認された。外層で同定された NPY 陽性線維の起源が弓状

核 NPY ニューロンであるかを検討するため、正中隆起における NPY と NPY ニューロンマーカー (AGRP) の共存を蛍光 2 重免疫染色法により調べた。両者の共存を示す 2 重標識線維は内層にのみ存在し、外層では認められなかった。さらに、視床下部ホルモン分泌ニューロンや外層に投射するペプチドニューロンにおける NPY 共存を想定して、蛍光 2 重免疫染色を行ったが、いずれも共存を示す結果は得られなかった。

下垂体レベルでは、DEX 群においてのみ、NPY 遺伝子発現が少数の下垂体前葉細胞に認められ、免疫陽性反応も確認された。蛍光 ISH と蛍光抗体法を組み合わせた観察では、NPY 遺伝子発現が一部の ACTH 細胞に認められ、ACTH 陰性の前葉細胞にも認められた。さらに蛍光 2 重免疫染色により、一部の ACTH 陽性細胞に NPY 染色が確認された。

(考察)

視床下部正中隆起における NPY 発現の解析結果から、DEX 群外層における数珠状 NPY 陽性線維の存在と、そのバリコシティ密度の増加が明らかになった。NPY は下垂体門脈血中に高濃度で存在し、下垂体前葉初代培養細胞に対し ACTH 分泌促進作用を持つことが報告されている。また、授乳期にだけ外層のチロシン水酸化酵素含有線維が NPY 陽性反応を示し、特定の神経内分泌状況下で NPY が発現することが報告されている。これらの報告を考慮すると、DEX による HPA の長期抑制下では、向下垂体性 NPY が外層の神経内分泌線維に蓄積すると思われる。また、この NPY 陽性線維は、AGRP や今回調べた神経ホルモンおよびペプチドのいずれも含まなかったことから、弓状核 NPY ニューロンや視床下部ホルモン分泌ニューロンはこの NPY 陽性線維の起源ではないと思われる。一方、NPY 遺伝子発現の増加は弓状核領域でのみ観察されたことから、NPY ニューロンとは別種の弓状核ニューロンが、新たに NPY を合成するようになった可能性が残されており、この点を今後さらに研究する必要がある。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、DEX の長期投与が弓状核、正中隆起外層および下垂体前葉において NPY 発現を促進させることを明らかにし、下垂体の NPY 発現細胞の一部が ACTH 細胞であることを示した。NPY が向下垂体性ホルモンおよび下垂体内局所ホルモンとしての機能を持つことを示唆するとともに、NPY の発現が長期 DEX 治療の副作用の一因となる可能性を示した価値ある論文である。

よって、著者は博士（神経科学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。