

氏名(本籍)	い 井	とい 樋	けい 慶	いち 一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	医	第	1889	号
学位授与年月日	昭和62年2月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
最終学歴	昭和55年3月 東北大学医学部医学科卒業			

学位論文題目      Suppression by glucocorticoid of the immunoreactivity of corticotropin-releasing factor and vasopressin in the paraventricular nucleus of rat hypothalamus.  
(ラット視床下部傍室核における corticotropin-releasing factor および vasopressin 免疫染色性の糖質コルチコイドによる抑制効果)

(主 査)

論文審査委員 教授 吉 永      馨      教授 小 暮 久 也

教授 笹 野 伸 昭

# 論文内容要旨

## 目 的

視床下部傍室核 (PVH) において corticotropin-releasing factor (CRF) および vasopressin (VP) を共に産生する細胞が存在し、内側隆起外層には CRF 陽性線維と VP 陽性線維が共に存在すること、また外因性の VP が CRF による副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 分泌作用を増強することが知られている。これらの事実から、PVH において産生される VP が CRF とともに ACTH 分泌調節に与っていることが示唆されるが、本論文は糖質コルチコイドが PVH における CRF および VP の産生に果たす役割を免疫組織化学的に検討し、糖質コルチコイドによる負のフィードバックという観点から VP の ACTH 分泌に果たす役割を明確にしようとするものである。

## 方 法

7匹の雄 Sprague-Dawley ラット (250-350 g) を用いた。第1群; Sham-operation 群 (n = 2), 第2群; 両側副腎摘出 (Adrex) 群 (n = 2), 第3群; Adrex 後 dexamethasone sulfate (Dexa) 補充群 (n = 3) とし、第3群には術後 Dexa を 0.1 mg/日腹腔内投与した。両側副腎摘出はペントバルビタール麻酔下に背面から施行した。術後は水の代わりに生理的食塩水 (生食) および 5% ブドウ糖の 1:1 混合液を与えた。Dexa は Adrex 後連日投与した。術後 1 週間後に側脳室内にコルヒチン 50  $\mu$ g/12.5  $\mu$ l 生食を投与し、48 時間後に左心室から上行大動脈にカニューレを挿入し 50ml 生食および 20ml 4% ホルムアルデヒドで脳を灌流固定した。固定した脳はパラフィン包埋し、ミクロトームで厚さ 5  $\mu$ m の前額面連続切片を作製し、抗 CRF 抗体および抗 arginine-vasopressin (AVP) 抗体を用い、peroxidase-antiperoxidase 法により免疫染色をほどこした。CRF 抗体は合成 rat-CRF (1-41) をウシ thyroglobulin と抱合し家兎に免疫して作製した。ラジオイムノアッセイにより AVP および oxytocin との交叉性は 0.04% 以下であった。免疫組織化学において抗体は 1:400 で用いた。免疫組織化学的吸収試験においては rat-CRF により抗体は完全に吸収されたが、AVP および oxytocin により吸収されなかった。AVP 抗体は合成 AVP をウシアルブミンと抱合し家兎に免疫して作製した。ラジオイムノアッセイにより、rat-CRF, oxytocin, neurotensin, および somatostatin との交叉性はそれぞれ 0.03%, 0.04%, 0.02%, および 0.07% 以下であった。免疫組織化学において抗体は 1:1000 で用いた。免疫組織化学的吸収試験においては、AVP により抗体は完全に吸収されたが、rat-CRF, oxytocin, neurotensin により吸収されなかった。

## 結 果

Sham-operation 群では CRF 陽性細胞は PVH の小細胞領域 (parvocellular division) に認められたが, Adrex 群に比べ免疫染色性は弱かった。VP 陽性細胞は大細胞領域 (magnocellular division) に著明に認められたが小細胞領域にも認められた。連続切片では CRF 陽性細胞のうち VP 陽性のものはわずかであった。Adrex 群では medial parvocellular division (mp) において CRF および VP の免疫染色性および陽性細胞数の増加が認められた。連続切片では mp において CRF 陽性細胞の大半が VP 陽性であった。大細胞領域の VP 免疫染色性には変化が認められなかった。Adrex 後 Dexa 補充群では Adrex 群に比べ mp において CRF, VP ともに免疫染色性が抑制された。連続切片では CRF と VP の同一細胞内共存は殆ど認められなかった。大細胞領域においては VP 免疫染色性は抑制されなかった。

## 考 按

本研究において, Adrex または Adrex 後 Dexa 補充により mp において VP 免疫染色性は CRF 免疫染色性と平行して変化した。さらに Adrex 群で著明に認められた CRF と VP の同一細胞内共存は, sham-operation 群, Adrex 後 Dexa 補充群とも認められなかった。大細胞領域における VP 免疫染色性は Adrex によって増加せず, Adrex 後 Dexa 補充によっても抑制されなかった。Adrex により内側隆起外層および PVH における VP 免疫染色性が増強され, 糖質コルチコイドにより内側隆起外層の VP 免疫染色性の増加が抑制されることは既に報告されている。また Adrex により視床下部から内側隆起外層に至る CRF 免疫染色性が増強されることが報告されている。本研究において我々は Adrex により PVH における CRF および VP 免疫染色性が共に増強されることを確認したが, 更に Adrex 後 mp における CRF および VP 免疫染色性が糖質コルチコイドにより抑制されることを証明した。このことにより既に報告されている内側隆起外層における CRF および VP 免疫染色性の変化は mp におけるこれらペプチドの合成の変化を反映したものであることが示唆される。本研究の結果から mp における VP は大細胞領域の VP とは異なる生理的意義を有し, CRF とともに視床下部-下垂体-副腎系で役割を演じていることが示唆される。

## 審査結果の要旨

視床下部傍室核においてヴァゾプレシン（VP）が産生されることは周知の事実であるが、最近、同核において、CRF（corticotropine releasing factor）も産生されることが証明された。VPとCRFとを同一細胞が同時に産生することもあるとされている。

これらの最近の知見を踏まえて、井樋慶一は、糖質コルチコイドが如何に傍室核の神経内分泌にフィードバックを掛けるかを研究した。

実験動物にはラットを用いた。一群のラットでは副腎摘出を行った。術後1週間に側脳室内にコルヒチンを注入した。さらに48時間後、上行大動脈を通してホルムアルデヒドを灌流し、脳を固定した。固定標本をパラフィン包埋し、ミクトロームで連続切片を作り、抗CRF抗体、および抗VP抗体を用い、peroxidase-antiperoxidase法により免疫染色を行った。

傍室核小細胞領域にはCRF陽性細胞が認められた。このCRF染色は、副腎摘除によって増強した。VP陽性細胞は大細胞領域に著明に認められたが、小細胞領域にも認められた。CRFとVPと両方とも陽性の細胞が少数認められたが、副腎摘出によってこの種の細胞が増加した。

以上の結果から次のことが結論できる。小細胞領域におけるVPは大細胞領域のVPと異なり、糖質コルチコイドによりフィードバック抑制を受けている。また小細胞領域にはCRF陽性細胞が存在し、これは勿論グルココルチコイドによるフィードバック抑制を受けている。小細胞領域の細胞はしばしばCRFとVPの両者を含み両者はともに視床下部 — 下垂体 — 副腎皮質系に属すると考えられる。VPがACTHを分泌させることは前から知られていたが、VPは第2のCRFとして働いているものと想定される。

井樋慶一のこの研究は、最近研究の焦点となっている視床下部の神経内分泌につき、その一面を明瞭に促えたものと評価することができる。VPの局在とその生理的意義を明らかにした功績は高く評価されよう。よって本研究は充分学位に値するものとする。