



Title	calcitonin gene-related peptide (CGRP) のラット膀胱内分布、及びその起始細胞について
Author(s)	横川, 潔
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35489
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	横川潔
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7543 号
学位授与の日付	昭和62年2月13日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	calcitonin gene-related peptide (CGRP) のラット膀胱内分布、及びその起始細胞について
論文審査委員	(主査) 教授 園田 孝夫 (副査) 教授 塩谷弥兵衛 教授 遠山 正弥

論文内容の要旨

[目的]

CGRPは37個のアミノ酸よりなる、新たに発見されたペプタイドで、カルシトニンと同一遺伝子上に存在する。そして神経組織内では、特異的なsplicingによりCGRPのみが発現する。近年、このペプタイドが中枢、末梢神経組織に幅広く分布し、神経活性物質としての機能を呈するものと考えられつつあるが、排尿機構の中心的役割を担う膀胱におけるCGRPの分布、及びその起始については不明である。本研究は、CGRPのラット膀胱内分布、及びその起始細胞を検索し、更にsubstance P (SP)との共存について、免疫組織化学的手法を用いて検討した。

[方法]

約70gの雄性ラット27匹に対し、以下の操作を行なった。

1) CGRP及びSPの膀胱内分布に関する検討

10匹のラットを麻酔下（ペントバルビタル10mg/kg i.p.）で経心的に生理食塩水、次いでZamboni液で灌流固定を行ない、膀胱とL₆, S₁レベル脊髄後根神経節を取り出して4°Cにて同液で24h固定後、30%蔗糖含有リン酸緩衝液にて洗浄、脱水した。つづいて5μmの凍結切片を作製し、CGRP及SPの証明の為にCoons等の間接蛍光抗体法に供した。次にCGRP及びSPの膀胱内分布をより詳細に、且つ三次元的に把握する為、膀胱の伸展標本にてこれらを証明した。即ち、麻酔下で4匹のラットを生理食塩水にて灌流後、膀胱を取り出してCosta等の方法により伸展標本を作成し、これをZamboni液で72h固定し、間接蛍光抗体法にてCGRP, SPを証明した。尚、用いた実験動物の約半数に対し、ペプタイドの起始細胞の可視化を容易にするため、コルヒチン3.5mg投与の前処置を加えた。

2) 膀胱内CGRPの起始細胞の検索

7匹のラットに対し、逆行性トレーサーであるビオチンWGA (B-WGA) 3-5 μ lを膀胱壁各部に注入し、48h後に Th₁₁-S₁レベル脊髄後根神経節を取り出し、この凍結切片を逆行性トレーサー法と免疫組織化学の同時証明法に供した。

3) CGRPのSPの共存性に関する検討

6匹のラットに対し、1)と同様に凍結切片を作製し、膀胱内及び脊髄後根神経節におけるCGRPとSPの共存につき、免疫学的多重染色法を用いて検索した。

尚、本実験で用いた抗血清（家兎で作製したCGRPポリクロナール抗血清、及びラットで作成したSPモノクローナル抗血清）の特異性は、RIA法及び組織化学的に確認している。

[成績]

1) CGRPは太い線維束を形成して膀胱に侵入するか、血管に伴行して膀胱に至る。これらの線維は膀胱内で次第により細かい線維束に分岐し、筋層では多数の線維が筋肉の走行と一致しつつ走るのが観察された。また粘膜固有層では上皮直下に豊富なCGRPの神経叢が形成され、ここより上皮内に分枝の侵入が認められた。又、コルヒチン処理ラットにおいてもCGRP陽性細胞は見い出されなかつた。

2) B-WGAを膀胱壁に注入することで、L₆、S₁レベル脊髄後根神経節に多数のB-WGA標識細胞が、又L₆に極く少数の標識細胞が出現する。

これらの細胞は径15-40 μ mの小～中型細胞であった。これら同一切片にてCGRP陽性細胞を観察すると、全体の約40%にCGRPの含有が認められ、径45 μ mまでの大型細胞も混じっていた。同時証明法により、B-WGA標識細胞の多くがCGRP陽性であることが明らかとなった。

3) CGRP線維とSP線維は、膀胱壁内ではほぼ類似の分布、走行を呈しながらも、CGRP線維がより豊富にみとめられた。そしてL₆レベル脊髄後根神経節における両ペプタイドの細胞内共存性を検索したところ、全細胞の約20%がSP陽性細胞であり、それらの大多数がCGRPを同時に含有していた。

[総括]

本研究から、膀胱のCGRP線維は膀胱に豊富に分布し、その起源がL₆-S₁レベル脊髄後根神経節の小～中型細胞であることが証明された。又、類似の膀胱内分布を呈するSPも、CGRPとほぼ同じ細胞より供給されることが明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

CGRPのラット膀胱内分布を免疫組織化学的方法により観察した結果、CGRPは、substance Pと同一神経内共存関係にあることが明らかとなった。ラット膀胱壁においては、CGRP陽性細胞は観察されないが、CGRP陽性線維は豊富に分布し、特に三角部粘膜直下に密なplexusを形成する線維群、

平滑筋線維に沿って走行する線維群、および血管壁の長軸に並走する線維群の3様式に分類された。

さらに、逆行性tracerを併用して、膀胱内CGRPの起始細胞を検索した結果、L₆、S₁レベル後根神経節の小～中型の細胞よりCGRPが一部 substance Pを含みつつ膀胱壁へ供給されていることが明らかとなった。

以上の知見は、膀胱の神経薬理学的検討を行なう上で、新たな指標を提示するもので、学位に値する。