



| | |
|--------------|--|
| Title | ラット下垂体におけるPOMCのmRNA個体発生学的検討： in situハイブリダイゼーション法による解析 |
| Author(s) | 王, 亜奇 |
| Citation | 大阪大学, 1988, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/36674 |
| 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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 王 亞 奇 |
| 学位の種類 | 医 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 8415 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和63年12月26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 | ラット下垂体におけるPOMCのmRNA個体発生学的検討： <u>in situ</u> ハイブリダイゼーション法による解析 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 遠山 正彌 (副査) 教授 中山 昭雄 教授 塩谷弥兵衛 |

論文内容の要旨

〔目的〕

プロオピオメラノコルチン(POMC)は下垂体では前葉の向副腎皮質細胞(ACTH分泌細胞)と中間葉(中間部)とに発現が認められるポリペプチド前駆体である。POMCは組織特異的蛋白質分解により前葉及び中間葉では最終生成物が異なる。向副腎皮質細胞はACTH(副腎皮質刺激ホルモン), γ -MSH(メラニン細胞刺激ホルモン)及び β -LPH(リポトロピン)などを産生する。中間葉細胞は α -MSH, CLIP(コルチコトロピン様中間葉ペプチド), α -MSH, β -エンドルフィンなどを産生する。これらの最終産物に対する免疫組織化学的検索は向副腎皮質細胞及び中間葉細胞に免疫陽性の局在を示している。さらに、一部の物質については個体発生学的検索が行われ(ACTH, α -MSH, γ -MSHなど), 特異的な発現が報告されている。本研究ではin situハイブリダイゼーション法により、下垂体における生後発達に伴うPOMC mRNA発現量の変化を追跡し、これまでの免疫組織化学的結果と比較検討した。

〔対象及び方法〕

実験動物には生後1, 2, 4, 8, 16, 21, 28, 35及び42日のウィスター系ラットを用いた。ラットはネンブタール(0.05mg/g i.p.)で麻酔後、4%パラホルムアルデヒドで灌流し下垂体を摘出した。後固定後、厚さ10 μ mの凍結切片を作成した。 α -³⁵S-dCTPニックトランスレーション法を用いて標識したPOMC cDNA(1091塩基対, 京都大 中西教授より供与)をプローブとした。このPOMC cDNAプローブはノーザンプロット分析によりPOMC mRNAに特異的である。in situハイブリダイゼーション法によりPOMC cDNAとmRNAのハイブリッド形成を行った後、オートラジオ

グラフィー用乳剤を塗布した。塗布後10日目に現像し、暗視野照明下の光学顕微鏡写真をネクサス6400画像処理装置で解析した。対照実験として、RNase処理及び非標識プローブを用いた前処理後の切片に *in situ* ハイブリダイゼーションを試みた。これら対照実験では下垂体における特異的シグナルは観察されなかった。

〔成 績〕

1) ラット下垂体におけるPOMC cDNAとmRNAのハイブリッドの分布

POMC cDNAとmRNAのハイブリッドはオートラジオグラフィー標本では細胞上の銀粒子として観察された。POMC mRNAは下垂体前葉及び中間葉で生後発達を通じて発現しているのが観察された。一方、後葉では特異的なハイブリッドシグナルは観察されなかった。

2) POMC mRNAの個体発生学的検討

下垂体前葉及び中間葉で単位面積あたりのPOMC mRNA量を個体発生学的に検討した。生後1～8日ラットでは、前葉及び中間葉のPOMC mRNAのハイブリダイゼーションシグナルは日齢とともに増加し、両葉間でのシグナルには殆ど差が認められなかった。生後8日以後、前葉でのPOMC mRNA発現量はほぼ一定であった。一方、中間葉では生後1～8日間と同様な増加率でPOMC mRNA量は28日齢まで増加した。生後28日以後、中間葉での発現量はほぼ一定であった。

〔総 括〕

in situ ハイブリダイゼーション法では、1) 下垂体における個々の細胞のPOMC mRNAの発現量変化を検出することが可能である。2) POMC mRNA発現細胞の下垂体前葉及び中間葉における組織内密度を解析することができる。3) 生後発達に伴う下垂体POMC mRNAの発現量の漸進的变化を高感度に検出できる。

POMC mRNAは下垂体前葉及び中間葉で生直後すでに発現していることが観察された。これらのPOMC mRNA発現細胞は生後発達に伴い前葉及び中間葉でそれぞれ独自の組織内分布を示した。POMC mRNA発現細胞は前葉においては組織全体にびまん性に分布しており、一方中間葉においては殆ど全ての細胞がPOMC mRNAの発現を示していた。これらはPOMC系細胞に対する免疫組織化学法による陽性細胞の分布と一致していた。

少なくとも成熟動物では向副腎皮質細胞及び中間葉細胞のPOMC mRNA発現はそれぞれ異なる生理活性物質とその受容体を介して誘導される。従ってそれぞれの細胞におけるPOMC mRNA発現機構は必ずしも一律ではなく、生後発達における下垂体前葉及び中間葉のPOMC mRNA発現細胞の差異のある組織内分布及び発現量の変化は上位中枢性あるいはホルモン性調節機構と特異的受容体を介したPOMC mRNA発現機序との関係を反映している可能性がある。特異的受容体を介したPOMC mRNA発現調節機構はPOMCの細胞組織特異的な翻訳後プロセッシングと共に今後解決されるべき興味ある課題であると思われる。

論文の審査結果の要旨

プロオピオメラノコルチン (POMC) は、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (ACTH), α -, β -, γ -色素細胞刺激ホルモン (α -, β -, γ -MSH), エンドルフィン, エンケファリン等の前駆体である。下垂体においては前葉では主としてACTHが、中間葉ではMSHが産生されることはよく知られている。本研究は、このPOMCの下垂体における遺伝子発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法にて個体発生学的に検討し、以下の事実を明らかとした。

- 1) 生直後には、既に前葉中間葉共にPOMC mRNA発現が認められる。
- 2) 生後発達と共に前葉中間葉共にPOMC mRNA発現は増加するが、中間葉の増加は前葉に比し極めて顕著である。

本研究は、このように中間葉前葉ではすでに生直後POMC由来ホルモンの産生能力を有することを証明するとともに前葉、中間葉でのPOMC由来ホルモンの発現機序が異なることを明らかにしたもので学位論文に値する。