

Title	ブタ前眼部におけるGalaninとSubstance Pの共存神経線維に関する研究
Author(s)	山本, 良
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36676">https://hdl.handle.net/11094/36676</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	やま 山	もと 本	りょう 良
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 4 5 6	号
学位授与の日付	平成元年 2 月 9 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	ブタ前眼部における Galanin と Substance P の共存神経線維に関する研究		
論文審査委員	(主査)		
	教 授	真鍋	禮三
	(副査)		
	教 授	遠山	正弥
	教 授	藤田	尚男

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

Galanin は Tatemoto らがブタ小腸より抽出した 29 個のアミノ酸よりなるポリペプチドで、免疫組織化学的に種々の動物で中枢神経系、一次知覚ニューロン、消化管、膀胱、呼吸器などに陽性線維が報告されている。ところが Galanin 陽性神経線維の眼内分布に関する報告は少なく、また神経切断実験から眼内の Galanin は三叉神経節由来であると考えられているものの、三叉神経節由来の他のペプチドとの同一神経線維内共存を検討した報告はない。本研究ではブタ眼を用いて Galanin と三叉神経節由来の代表的ペプチドである Substance P (SP) とが眼内神経線維内に共存するかどうかを検討した。さらに三叉神経節由来の他のペプチドである Calcitonin gene-related peptide (CGRP) と SP との本動物における眼内共存神経線維についても検討し、Galanin を含めた眼内知覚神経系の構築を解明することを目的とした。

#### 〔方 法〕

ブタ前眼部を Zamboni 液にて固定後厚さ  $18\mu\text{m}$  の凍結切片を作成し、SP、Galanin、CGRP 各ペプチドの証明には免疫蛍光法を用いた。二種のペプチドの同一神経線維内共存の証明は異種動物にて作成した第一抗体混合液と fluorescein isothiocyanate (FITC) または tetramethyl rhodamin isothiocyanate (TRITC) で標識した第二抗体混合液を用いた二重免疫蛍光法により行った。対照として、交叉反応試験・吸収試験などを行った。観察・写真撮影は第二抗体に合わせて蛍光顕微鏡のフィルターを切り換えて行った。さらに Galanin の眼内での生理作用を検討するために白色家兎の硝子体腔内に Galanin  $1 \times 10^{-9}\text{M}$  を注入し、眼圧・瞳孔径・前房水中の蛋白濃度を測定し、虹彩血管の拡張度を

観察した。他眼の硝子体腔内には同量の生食水を注入し対照とした。

〔結 果〕

角膜ではSP, Galaninとも角膜の前 $\frac{2}{3}$ 層に多くの陽性神経線維が観察され、上皮内では基底層を水平に走行する線維と上皮細胞間を縦に走行する線維が見られた。陽性線維の密度は常にSPがGalaninより高く、すべてのGalanin陽性線維は同時にSP陽性であった。毛様体ではGalanin陽性線維は前部に多く、その大部分が同時にSP陽性であったが、毛様突起の根部と毛様体筋内に少数ではあるがGalaninのみ陽性の線維も観察された。毛様体扁平部において、SP陽性線維は豊富に観察されたが、Galanin陽性線維は少なかった。虹彩内ではどちらの陽性線維も少なかったが、Galanin陽性線維はすべて同時にSP陽性であった。SPとCGRPの二重染色でも同様に角膜の前 $\frac{2}{3}$ 層および毛様体に多くの陽性線維が観察され、CGRP陽性の密度は常にSP陽性線維より高かった。虹彩内ではどちらの陽性線維も少なく、CGRPとSPの陽性線維の分布密度差は角膜・毛様体に比べると小さかった。前眼部のいずれの組織でもSP陽性神経線維はすべて同時にCGRP陽性であった。Galaninを硝子体腔内注入後に測定した眼圧・瞳孔径・虹彩血管の拡張度・前房水中の蛋白濃度には対照眼との間に差を認めなかった。

〔考案ならびに総括〕

SP, CGRPはともに三叉神経節由来の眼内末梢神経線維内に存在する代表的ペプチドで、種々の動物で前眼部に広汎に陽性神経線維が存在していることが報告されており、有痛刺激に対する眼反応(縮瞳・血管拡張・血液房水柵破綻・眼圧上昇)に関与することから神経伝達物質として機能していることが示唆されている。Galaninもまた眼内末梢神経線維内に存在し、三叉神経節由来の眼知覚神経系に属する可能性が報告されている。今回Galaninを白色家兎の眼内に投与して眼圧・瞳孔径・虹彩血管の拡張度・血液房水柵の破綻について検討したが直接作用は見られなかった。Galaninは摘出したウサギ虹彩括約筋に対して直接作用はないがアセチルコリンによる収縮を抑制するという報告もあり、神経調節物質としての機能を有していることが考えられる。

本実験と同じ抗ブタGalanin抗体をラットに用い、CGRPとGalaninは眼内で同一神経線維内に共存していないとする報告があるが、ブタGalaninとラットGalaninの構造が異なるためラットでは免疫組織化学反応が一定しておらず信頼性に乏しい。より安定な結果を得るためブタ眼を用いた今回の観察ではGalanin陽性神経線維は角膜・毛様体・虹彩など広く前眼部組織に分布し、そのほとんどが同時にSP陽性であった。またブタ前眼部組織におけるSPおよびCGRP陽性神経線維の分布様式は従来他の動物での報告とほぼ一致しておりSP陽性神経線維はすべて同時にCGRP陽性であった。本動物でのGalanin, SP, CGRP陽性神経線維の前眼部における分布密度はCGRP>SP>Galaninで、GalaninとSPおよびSPとCGRPの共存形式を考え併せるとこれら三種のペプチドが共存する神経線維の存在することは確実である。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は前眼部末梢神経線維内において Galanin が三叉神経節由来の他のペプチドである Substance P (SP) および Calcitonin gene-related peptide (CGRP) と共存していることをブタ眼を用いて二重免疫蛍光抗体法により証明したものである。

本研究以前には眼内に分布する Galanin が三叉神経節由来の他のペプチドと同一神経線維内に共存していることは知られておらず、Galanin と CGRP が共存することも否定されていた。しかし、本研究により大部分の Galanin 陽性神経線維は同時に SP および CGRP を含有していることが明らかとなった。また、in vivo における Galanin の眼内での作用についてはこれまで検討されていなかったが、本研究では Galanin は有痛刺激に対する眼反応（縮瞳・血管拡張・眼圧上昇・血液房水柵破綻）に直接の関与は無く、神経調節物質として機能していることを示唆する知見を得ている。

このように本研究は眼内の Galanin 陽性構造およびその機能について新たな知見を加えたもので、学位論文に価すると考えられる。