

Title	Evidence for the Coexistence of Substance P, Neurotensin and Calcitonin Gene-Related Peptide in Single Neurons of the External Subdivision of the Lateral Parabrachial Nucleus of the Rat
Author(s)	篠原, 嘉伸
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37572">https://hdl.handle.net/11094/37572</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 【 6 】

氏名・(本籍)	しの 篠	はら 原	よし 嘉	のぶ 伸
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 2 3 4	号	
学位授与の日付	平成 2 年 5 月 14 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	Evidence for the Coexistence of Substance P, Neurotensin and Calcitonin Gene-Related Peptide in Single Neurons of the External Subdivision of the Lateral Parabrachial Nucleus of the Rat (ラット脚傍核外側亜核におけるサブスタンス P, ニューロテンシン, カルシトニン遺伝子関連ペプチドの同一ニューロン内共存について)			
論文審査委員	(主査) 教授	遠山 正弥		
	(副査) 教授	塩谷弥兵衛	教授	津本 忠治

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

従来より脚傍核ニューロンが扁桃体に投射することはよく知られているが、この系に含まれる神経活性物質についてはよく知られていない。最近我々はラット脚傍核外側亜核においてサブスタンス P (SP)、ニューロテンシン (NT) 及びカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 含有ニューロンの分布がよく類似し、しかもこれらのペプチドニューロンが各々扁桃体中心核に投射することを明らかとした。これらの事実は上述三種ペプチドが脚傍核外側亜核のニューロン内に共存する可能性を示す。本研究はこの可能性について間接蛍光抗体法を用いて検討した。

## 〔方法ならびに成績〕

体重約 70 g の雄性アルビノラットを実験動物として用いた。軸索輸送を阻害するコルヒチンを 10 $\mu$ l (3.5 mg を 1 cc 生理食塩水に溶解) ネブタール麻酔下で第 IV 脳室に注入した。24-48 時間後ザンボン液で灌流固定を行い 5 $\mu$ m の連続凍結切片を作成した。連続切片を三群に分け、第一群は SP と NT か CGRP (アマシャム社) の二重染色に供した。第一群の切片はまずラットで作成した抗 SP 単クローン抗体 (Sera 社) とラビットで作成した NT か CGRP いづれかのポリクローナル抗体の混液に浸漬した。洗浄後これらの切片はロバで作成した FITC 標識抗ラット IgG 抗体 (Capel 社) 及びヤギで作成した Texas Red 標識抗ラビット IgG 抗体 (アマシャム社) の混液に浸漬した。SP 様構造は FITC による白緑色に、NT 或いは CGRP 様構造は Texas Red による赤色にフィルターを換えることにより、同一切片上で観察しうる。第二群の切片はもし第一群の切片が SP, NT 抗体混液に反応させた時は CGRP

抗体に、S P、C G R P抗体混液にて反応させた時はN T抗体に反応させヤギで作成したF I T C 或いはTexas Red 標識抗ラビット I g G 抗体（アマシム社）で反応させた。第三群の切片はニッスル染色に供し、核の正確な同定に用いた。

第一抗体の特異性は吸収試験により確認した。また第二抗体の特異性は次のようにして確認した。(1)抗S P抗体で反応させた切片はヤギで作成したTexas Red 標識抗ラビット I g G で反応させる、(2)C G R P 或いはN T抗体で反応させた切片はロバで作成したF I T C 標識抗ラビット I g G 抗体で反応させる、(3)及び(4)C G R P 或いはN T抗体で反応させた切片及びS P抗体で反応した切片を上述二種の第二抗体と反応させる。(1)、(2)の切片では免疫染色は陰性であった。(3)では白緑色の蛍光のみが、(4)では赤色蛍光のみが確認された。従って用いた第二抗体は三種の第一抗体とまた第二抗体間でも交叉は存在しないものと思われる。

S P及びN T抗体の混液に反応させた切片では脚傍核外側亜核S P陽性細胞のうち90%の細胞がN T陽性を示した。またN T陽性細胞のうち60%がS P陽性を示す。この両者を含有するニューロンを同定の後に、連続切片でこれらの二重標識細胞がC G R Pを含むか否かを検討したところ多数の二重標識細胞が同時にC G R Pを含有することが明らかとなった。

S PとC G R P抗体の混液で反応した切片では、S P細胞の約90%がC G R Pを含有し、C G R P細胞の約30%がS Pを含有した。連続切片による検討では多くのS P、C G R Pの二重標識細胞が同時にN T抗体に標識された。またC G R P細胞についてはS P、N Tの両者を含まないものも相当数確認された。

#### 〔考察および総括〕

本研究によりラット脚傍核外側亜核においてS P、N T、C G R Pの三種のペプチドを同時に含有するニューロンが存在することが明らかとなった。これらのS P、N T、C G R P細胞は扁桃体中心核に投射することが明らかとされており、三種ペプチド共存ニューロンも扁桃体中心核に投射するものと思われる。一方扁桃体中心核ではN T、S P線維は主として外側包亜核に加えて外側亜核にも分布する。従って脚傍核外側亜核のN T、S Pを含有しないC G R P細胞は扁桃体中心核外側亜核に主に投射するものと思われる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、従来不明であった脚傍核より扁桃体への投射路の存在を証明し、更に、この投射路が、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（C G R P）、ニューロテンシン、及びサブスタンスPを神経活性物質として含有することをトレーサー法と免疫組織化学の併用法で明らかとした。本研究では、この系が上述3種ペプチドを同時に含有するニューロン群と、C G R Pのみよりなるニューロン群に細分しえることをも、明らかとした。本研究は、このように脚傍核-扁桃体路において、C G R Pが極めて重要な役割を有する

ことを見出したもので、今後の両核の機能解明への重要な基盤を与えたものであり、学位論文にあたいするものである。