



Title	A Sex-Specific Cytochrome P-450 (F-1) Colocalized with Various Neuropeptides in the Paraventricular and Supraoptic Nuclei of Female rats
Author(s)	林, 莉萍
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38959
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 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	林 莉 華
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 4 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	A Sex-Specific Cytochrome P-450 (F-1) Colocalized with Various Neuropeptides in the Paraventricular and Supraoptic Nuclei of Female rats (性特異性チトクローム P-450 (F-1) —雌ラットの脳内における分布及び神経活性物質との共存)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 塩谷弥兵衛 (副査) 教 授 遠山 正彌 教 授 三木 直正

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

チトクローム P-450 ファミリーは肝臓における各種の薬物あるいはステロイド化合物の代謝に関する重要な酵素群である。P-450 ファミリーの中でもチトクローム P-450 (F-1) は幼若ラットもしくは成熟雌にのみ存在し、ステロイド代謝における性差の要因として注目されている。言い換えれば、各種の性ステロイドホルモンは動物の雌雄で大きく異なっており、これらの代謝系においても雌雄差が当然のことながら考えられなければならない。今回の実験の目的は雌特異性チトクローム P-450 (F-1) より作製された抗体を用い、雌ラットの脳内に P-450 (F-1) 陽性細胞の分布、細胞内局在、及び各種神経活性物質と本酵素の同一細胞内に共存を調べることである。

〔方法〕

180-250g の Wistar 系雌ラットの脳特に視床下部を P-450 (F-1) 抗体で免疫組織化学法により染色し、光学顕微鏡、電子顕微鏡で観察すると共に 5 μ m 連続切片を用い、一方の切片を P-450 (F-1) 抗体、隣接の切片を Oxytocin, CRF, Vasopressin, CCK などの抗体と反応させ、P-450 (F-1) と共存するかどうかを検討した。

〔成績〕

1. P-450 (F-1) 抗体の特異性

雌ラットの肝臓より得られた雌特異的チトクローム P-450 (F-1) に対する抗体を用い、ウェスタンブロット法あるいは免疫吸収法で抗体の特異性を検討した。ウェスタンブロット法により P-450 (F-1) は分子量 50KD, アミノ酸構造上極めて類似した蛋白質である P-450 (M-3) (雄特異的 P-450) は分子量 49KD に特異的なバンドとして認められ、両者は容易に区別された。その結果、P-450 (F-1) 抗体は雌特異的チトクローム P-450 (F-1) と免疫反応性を有し、極めて特異性が高いことが明らかとなった。以上の結果、成熟雌ラットの脳内に P-450 (F-1) のみ存在しており、P-450 (M-3) (雄特異的 P-450) は存在しないこと、雄ラットの脳には P-450 (M-3) が存在し、P-450 (F-1) は存在しないことが明らかとなった。

2. P-450 (F-1) 陽性細胞の形態および分布

光顕による観察では、陽性細胞は視床下部の視索上核と室傍核の大細胞性亜核と小細胞性亜核、室周囲核に見られた。室傍核の内側大細胞群にある陽性細胞は紡錘形を呈し、短軸は 8-10 μ m, 長軸は 20-25 μ m である。小細胞性亜核群の背側部、後部と背内側部にある陽性細胞は円形の大型の細胞 (直径 20-25 μ m) であり、しばしば毛細血管の

周囲に見られた。これらの陽性細胞を電顕で観察すると、反応陽性産物はゴルジ装置と粗面小胞体に局在するが、細胞膜、細胞基質および核には観察されなかった。

3. P-450 (F-1) と各種神経ペプチドとの共存

5 μ m 連続切片検索によって、視索上核と室傍核の大細胞性亜核にある P-450 (F-1) 陽性細胞において P-450 (F-1) と Oxytocin と共存し、或いは P-450 (F-1) と CRF 及び Oxytocin の三者が共存した。

室傍核の内側大細胞性亜核に P-450 (F-1) と Vasopressin 両者を含む陽性細胞が分布していた。視索上核においては P-450 (F-1) と Vasopressin との共存は観察されなかった。

また、室傍核に存在する P-450 (F-1) 陽性細胞の一部に CCK が共存することを明らかとした。

以上の結果は視床下部一下垂体神経内分泌系においてチトクローム P-450 (F-1) がステロイド代謝などに関して重要な役割を果たしているものと考えられ、神経系においても本酵素が内分泌機能に関連し、ステロイド性入力あるいは血中ステロイド受容などに重要な機能を果たすものと推察される。

[総括]

1. P-450 (F-1) は成熟雌ラットの脳内にも認められ、雄脳には認められないこと、雄ラットの脳内では相当する酵素 P-450 (M-3) が存在することを明らかとし、酵素レベルで脳の雌雄差を明らかとした。
2. P-450 (F-1) 抗体を用いた免疫組織化学法により神経細胞に P-450 (F-1) が含有されることを初めて明らかにした。
3. P-450 (F-1) 陽性細胞は視床下部の視索上核、室傍核、室周囲核などの神経内分泌核に分布することを見出した。
4. P-450 (F-1) 陽性細胞の一部には Oxytocin, Vasopressin, CRF, CCK などが共存することを明らかとし、これら神経ペプチドとの関連が示唆された。

論文審査の結果の要旨

P-450 (F-1) は脳の性差を示す蛋白質として、脳の機能の雌雄差との関連は極めて重要である。本研究では視床下部におけるチトクローム P-450 (F-1) の機能を解明するため、ラットにおいて実験形態学的手法を用いて検討した結果、視床下部の室傍核、視索上核に豊富な P-450 (F-1) 陽性細胞が見られ、また Oxytocin, Vasopressin, CRF, CCK など産生ニューロンの一部が同時にこの酵素を含むことを明らかにしている。神経内分泌系にこの性特異性酵素が存在することは本研究より初めて証明されたものである。またこれらの結果は視床下部一下垂体神経内分泌系と性特異性ステロイド代謝との関係を強く示唆している。よって、学位に値するものである。