

Title	Localization of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) in the Hypothalamus-Pituitary System in Rats : Light and Electron Microscopic Immunocytochemical Studies
Author(s)	木村, 恵春
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39324
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"＞ 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

氏名	木村恵春
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第11949号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Localization of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) in the Hypothalamus-Pituitary System in Rats: Light and Electron Microscopic Immunocytochemical Studies (ラット視床下部・下垂体系に於ける PACAP の局在: 光学及び電子顕微鏡による免疫組織化学的研究)
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 矢内原千鶴子

論文内容の要旨

【目的】

PACAP は、1989年、Miyata, Arimura らによってヒツジの視床下部より抽出された27あるいは38のアミノ酸残基よりなるポリペプチドであり、以下の様な諸性質を持つ。

- 1) *in vitro* で、ラットの下垂体前葉細胞の adenylate cyclase を刺激し、cAMP を増加させる作用がある。
- 2) アミノ酸配列は VIP に高い相同性を持っている。
- 3) 中枢神経系を中心に、下垂体後葉、精巣、副腎、消化管等、幅広い分布を示す。

しかしながら、これら諸器官での *in vivo* での生理的役割は未だ詳らかでなく、また、組織内・細胞内での局在も同様である。そこで、これらの組織中の局在を、PACAP に対する特異的抗体を用い、蛍光抗体法・免疫電顕法による検索を試みたものである。

【方法ならびに成績】

実験には成熟 Wistar 系ラットを用い、ペントバルビタール麻酔下に Zamboni 液にて灌流固定し、脳と下垂体を摘出、同液にて後固定、蔗糖液にて cryoprotection した後、マイクロトームにて薄切片を作製、浮遊法にて、PACAP 138 に対する抗体 (R0831) と反応させ、二次抗体として、FITC 標識抗ウサギイムノグロブリン抗体を用い、蛍光顕微鏡で観察した。免疫電顕用には、0.1% にグルタルアルデヒドを加えた Zamboni 液で灌流固定し、摘出した組織をピブラトームで切片とした後、PACAP 抗体、ピチオン標識抗ウサギイムノグロブリン抗体処置し、その後、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを結合、ジアミノベンチジン (DAB) と反応させ、以後、切片をアルコール及び酸化プロピレンにて脱水・エポキシ樹脂包埋し、これをウルトラマイクロトームにて、超薄切片とし、電子顕微鏡で観察した。

その結果、蛍光抗体法による検索では、視索上核と室傍核大細胞部の神経細胞に、強い PACAP 免疫陽性反応が認められ、また、正中隆起部と下垂体後葉には、多数の免疫陽性神経線維が観察された。免疫電顕においては、PACAP 免疫陽性反応は、蛍光抗体法と同様に、視索上核と室傍核大細胞部のニューロンに顕著に認められた。DAB 反応生成物は、cytoplasm 内に瀰満性に分布し、時に、不規則な凝集を示し粗面小胞体の膜の外面に付着することが多かった。また、神経分泌顆粒上に反応生成物が存在することもあったが、頻度はむしろ、低かった。

次に、正中隆起内層および下垂体後葉にも、強い免疫陽性反応が認められた。下垂体後葉の神経終末では、反応生

成物は axoplasm 内に瀰漫性に観察されたが、神経分泌顆粒上に存在することもあった。一方、下垂体中間部細胞にも中等度の免疫陽性反応がみとめられた。反応生成物は粗面小胞体などの膜構造に付着することが多く、分泌顆粒上には、免疫陽性反応は認められなかった。

【総括】

- 1) 視床下部・下垂体系に於ける PACAP の免疫組織化学的検索の結果、陽性神経細胞は、視索上核と室傍核大細胞部に存在、また、陽性神経線維は、下垂体後葉と正中隆起内層に存在した。
- 2) これらの免疫反応生成物は、cytoplasm また axoplasm 内に瀰漫性に存在し、分泌顆粒上に存在する蛍光は少なかった。
- 3) PACAP は視索上核と室傍核大細胞部で生産され、正中隆起外層より下垂体門脈に放出されるほか、下垂体後葉に送られ、後葉ホルモンの放出に関与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究の対象である PACAP (Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide) は、中枢神経系を中心に、幅広い分布を示し、これまで多くの研究者により、多様な機能を持つことが示唆されてきたが、現在までのところ、実際の生体内における生理的役割、また、組織内・細胞内局在も充分には解明されていなかった。

本研究は、この PACAP に対する特異抗体 R0831 を用い、PACAP 陽性細胞の視索上核、室傍核大細胞部での、また、陽性線維の正中隆起内層、下垂体後葉での存在を示し、また、細胞内での分布が分泌顆粒上でなく、細胞質にあることを明らかにしたものである。

本研究で明らかとなった免疫組織化学的知見は、PACAP が、下垂体後葉ホルモンの放出に関与する可能性を示唆したものであり、今後この分野における解剖学・生理学的研究に対し有用な基盤を与えるものである。

以上により、本研究は学位に価するものとする。