The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Studies of Synchronization of a Biological Clock Using Cultured Rat Suprachiasmatic Nucleus
Author(s)	野口, 貴子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46463
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【15】

氏　　名	野口貴子（のぐち たかこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　19800　号
学位授与年月日	平成17年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Studies of Synchronization of a Biological Clock Using Cultured Rat Suprachiasmatic Nucleus （培養視交叉上核を用いた生物時計中枢の同調機構に関する研究）
論文審査委員	（主査） 教　授　小倉　明彦 （副査） 教　授　永井　克也　　助教授　井上　明男　　助教授　吉野　恵子 獨協医科大学助教授　渡辺　和人

論文内容の要旨

哺乳動物の視交叉上核（SCN, suprachiasmatic nucleus）は、自律的な体内時計ペースメーカーとして機能し、睡眠・覚醒やホルモン分泌などの概日リズムを支配する。SCNのリズムは外界の光や運動・摂食などの定期的な刺激に同調することができる。SCNにはアルギニンバゾプレッシン（AVP, arginine-vasopressin）を約24時間周期で生産、分泌する細胞が存在する。私は、新生仔ラット脳より切り出したSCN切片を培養し、培養液中に放出されるAVPの濃度をradioimmunoassay（RIA）によって測定する培養系を確立した。この系ではAVPの分泌量は昼間で最大、夜間に最小値をとり約24時間周期で変動する。SCNの細胞は生産するペプチド、刺激への反応性、周期などの点において異なる特性をもっている。また、個々の細胞が独立した振動体として働くことができるが、これらは協調して統一されたリズムを作り出している。そこで、SCNの部位による違いを調べるため、私はSCNを部位ごとに分割した切片を作成し以下のことを明らかにした。

●SCN内部における周期の同調

SCNをrostral、central、caudalの切片に分けると、central切片は行動リズムに近い周期を示したのに対し、rostralとcaudalは、より短い周期を示した。central切片をdorsalとventralに分けると、dorsalが短い周期を示し、ventralの周期は変化しなかった。これらの結果は短い周期を持った細胞がSCNのrostral、caudalおよびdorsalに局在していることを示唆している。SCNは解剖学的にcoreとshellの2つの領域に分けられる。coreはSCNの中央腹外側に存在しvasoactive intestinal polypeptide（VIP）産生細胞が多く存在する。shellはcoreを包むように存在し、AVP産生細胞が多く分布する。このような解剖学的な構造と周期の関係を明らかにするため、培養後のSCN切片をAVPの前駆体であるAVP-associated neurophysin（NP-AVP）とVIPに対して免疫組織二重染色を行った。この結果、central切片で腹外側にVIP、背内側にAVPの発現が確認でき、培養後もSCNの構造は保たれておいることが分かった。また、周期の短いrostralとcaudalの切片ではVIP陽性領域の割合が小さいことが分かった。これらの結果はVIP細胞が周期の調節に影響していることを示唆している。そこで、VIP antagonistを連続投与すると、AVP分泌の周期が短くなった。SCNのshellにある短周期の細胞は、SCNの中央腹側のVIP細胞によって周期を調節されて一つの統一されたリズムを形成しているかもしれない。

●NMDA および VIP による光型位相変化と tetrodotoxin（TTX）による非光型位相変化

光刺激と非光刺激（運動や摂食など）は、それぞれ概日リズムの位相に特有の変化を引き起こす。既に NMDA と VIP は SCN のリズムを光型に位相変化させることが知られている。今回確立した培養系でも、NMDA と VIP は AVP の分泌リズムの位相を光型に変化させた。光情報は VIP を介して AVP 細胞へ伝達されるのかもしれない。また、この VIP による位相変化は、上記の SCN の core-shell 間の周期を統合する機構に関与している可能性がある。これまで、tetrodotoxin（TTX）で電気活動を阻害しても、SCN の位相を変化させないことが報告されてきた。しかし、私の実験系では明らかな非光型位相変化を起こすことが分かった。すでに運動などの非光刺激は SCN の電気活動を低下させることが知られており、TTX はこの非光刺激の情報伝達過程を模擬したものと考えられる。位相変化がおこる過程に自発放電の増減が深く関っていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

哺乳類概日時計の中枢である視床下部視交叉上核（SCN）は、恒暗または恒明条件においても自律的に活動リズムを発生するいっぽう、他の外来刺激によってその位相を変化させることができる。野口君の研究は、この位相同調の仕組みを細胞レベルで解明しようとしたものである。

野口君は、SCN を実験者のコントロール下におくため、ラット SCN の切片培養を行い、培地中に分泌される神経伝達物質、バソプレシンを免疫定量することで概日リズムを測定する実験系を立ち上げた。これに光刺激を模擬する意味で NMDA を与えたところ、ラット個体の行動でみられるのと同様な特性を持つ位相変化（夜［＝SCN の低活動期］前半で位相前進、後半で位相後退）を起こすことが確かめられた。そして、この系にテトロドトキシンを与えて神経活動を停止させると、個体での摂食刺激や暗刺激に相当する位相同調（昼［＝高活動期］前半で位相後退、後半で位相前進）を起こすことを見出した。テトロドトキシンの効果は、この分野の研究者間で意見の一致をみなかった問題に最終決着をつけるものとして評価される。これらの知見と解剖学的知見を合わせて、位相同調刺激が SCN 腹外側部に入力し、腹外側部から SCN 背内側部へ伝達されて出力する、とするモデルを立てた。そして、これを証明する実験として、SCN を前後および背腹に分離した培養を行った。これによってそれぞれが独自のリズムを刻むようになったが、腹外側部細胞を含むと、背内側部リズムが腹外側部リズムに引かれて遅延することを定量的に示した。これらの成果は、概日時計の位相同調の機構理解を前進させるものであり、博士（理学）の学位論文の水準を満たすと結論した。