

P8-03

霊長類ニホンザルの脊髄における gastrin-releasing peptide 系の存在

伊藤 隆志¹, 高浪 景子^{1,2,3}, 越智 拓海¹, 小林 靖尚¹, 佐藤 慧太¹, 高橋 俊次¹, 上田 康雅⁴, 坂本 竜哉¹, 坂本 浩隆¹

¹岡山大・理学部附属臨海実験所/共同利用拠点, ²京都府医大・解剖学・生体構造科学, ³日本学術振興会特別研究員RPD, ⁴関西医大・生理学第二

Gastrin-releasing peptide (GRP) は哺乳類の中枢神経系に広く発現し、摂食行動、不安様行動、概日リズムなど、多様な恒常性維持に関わることがこれまでに報告されている。最近、特に脊髄レベルでは、GRP が雄の性機能、および痒みを特異的に制御する「鍵因子」とする報告が相次いでなされ、GRP は脊髄においても重要な機能分子であるという認識が広まりつつある。しかしながら、これまでヒトを含む霊長類の脊髄における GRP 関連の報告は乏しい。そこで本研究では、霊長類の脊髄における GRP 発現とその生理機能を明らかにする目的で、ニホンザルを用いて解析を行った。

本研究ではまず、ニホンザルの近縁種であるアカゲザルのゲノム情報に基づいたバイオインフォマティクス解析により GRP とその受容体 (GRPR) のホモログ遺伝子の同定を試みた。その結果、同定されたニホンザル GRP の一次構造は、ヒト、およびアカゲザルと完全一致であった。これらのことから、GRP は霊長類、特に旧世界ザル（いわゆる類人猿）で共通であることが示唆された。また、GRPR に関しても類人猿間で高い相同性を示し、霊長類における GRP/GRPR 系の普遍性を示唆した。次いで、ニホンザル脊髄を用いた GRP に対する免疫組織化学的解析を行った。その結果、解析したすべての脊髄レベル（頸髄、胸髄、腰髄、仙髄）で共通して、脊髄後角に強い GRP 免疫陽性反応を示す線維が観察された。さらに、それに対応して、比較的小型の後根神経節ニューロンの一部に GRP 陽性反応を認めた。以上の結果、霊長類の脊髄においても GRP/GRPR 系が存在することが強く示唆された。

今後、霊長類の脊髄における GRP/GRPR 系の機能を明らかにしていく必要があるが、本研究の発展により、男性性機能障害、および難治性掻痒症などの臨床研究へ発展する、「橋渡し」となることが期待できる。

本研究は、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ニホンザル」の一環として実施された。

P8-04

幼少期ストレスによる嗜好性食餌に対する摂食・欲求行動への影響について

笹川 誉世¹, 堀井一林 謹子¹, 奥田 哲教², 西 真弓¹

¹奈良医大・第一解剖学, ²奈良医大・整形外科学

幼少期における虐待や育児放棄等の劣悪な養育環境への暴露は、視床下部-下垂体-副腎皮質系の破綻等が原因となり、脳の構造・機能に継続的かつ重大な影響を引き起こし、生涯を通して鬱病等の様々な精神疾患の罹患率を高めることが報告されている。さらに、幼少期ストレスは摂食障害の発症要因の一つにも挙げられる。しかし、幼少期ストレスと摂食障害の発症の関係は明らかとなっていない。そこで本研究は、幼少期ストレスモデルである母子分離を用いて、幼少期ストレスと成長後の嗜好性摂食行動との関係を明らかにし、さらに幼少期ストレスが報酬系に影響を及ぼす分子基盤の解明を目的とする。まず、条件付場所嗜好性試験 (Conditioned place preference test: CPP test) を用い、母子分離による嗜好性の高い食餌に対する嗜好性に依存した摂食行動に及ぼす影響について検討を行った。母子分離は生後 1-14 日の間、3 時間/日、母親マウスから仔マウスを分離した。成体期においてチョコレート報酬刺激として CPP test を行い、嗜好性に依存した摂食行動への母子分離の影響について評価した。その結果、母子分離群の雌では、嗜好性の高い飼料に対する欲求行動の低下や摂食に対するモチベーションの低下が示唆された。また、嗜好性に依存した摂食行動や欲求行動は、主な報酬系神経回路である中脳辺縁系（側坐核、腹側被蓋野）のドーパミン経路の活性化により引き起こされていることが報告されている。そこで、中脳辺縁系のドーパミン経路に焦点を置き、Real time-PCR 及びウェスタンブロットを用いて、ドーパミン受容体 (D1R, D2R) の発現について検討を行った。その結果、側坐核における D1R の発現が母子分離群の雌で低下傾向を示した。このことより、幼少期ストレスは中脳辺縁系のドーパミン経路に異常をきたし、嗜好性の高い食餌に対する欲求行動の低下や摂食に対するモチベーションの低下が引き起こすことが示唆された。

P8-05

PTSD モデルラットの脳内における CRH の発現変化

橋本 隆¹, 松田 賢一², 吉井 崇喜³, 河田 光博⁴, 飯野 哲¹

¹福井大・医・形態機能・人体解剖, ²京都府立医院・解剖・生体構造, ³京都府医大・院医・精神, ⁴佛教大・保健医療技術・理学療法

心的外傷後ストレス障害 Posttraumatic stress disorder (PTSD) は、日常では経験し得ないような心的外傷体験（トラウマ）に後発する精神疾患で、フラッシュバック等の不安症状が長期に持続する。PTSD においては副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) のネガティブフィードバックが亢進する等、内分泌環境との関連が報告されており、ストレス応答や情動に関連する脳領域において細胞間情報伝達機構が変化し、ストレス負荷後に脳機能障害が引き起こされている可能性が示唆されている。本研究では動物モデルとして Single prolonged stress (SPS) 負荷を行った成熟オスラットを用い、コルチコトロピン放出ホルモン (CRH) に着目し、視床下部のストレス中枢である室傍核 (PVH) や、不安様行動に関連する分界条床核 (BNST) および扁桃体中心核 (CeA) での発現変化を検索した。SPS 負荷後 7 日目にパンチアウト法により関心領域を採取し二色法による DNA マイクロアレイ法を行ったところ、CeA における CRH の遺伝子発現量は 2 倍以上の増大をみとめたが、BNST では変化を示さなかった。PVH と BNST における CRH-mRNA とペプチドの発現レベルをリアルタイム PCR 法および免疫組織化学により検討した結果、明らかな変化は認められなかった。一方 CeA における CRH の発現レベルは SPS 負荷によって有意に増大した。また、CRH 免疫陽性の細胞数は対象領域の全てにおいて SPS-コントロール群間で有意差を示さなかった。本研究より、情動中枢である扁桃体において観察された不安惹起作用のある CRH の発現レベルの上昇が、PTSD における不安症状に深く関与する可能性が考えられた。

P8-06

PLAGL1 によるオレキシン転写制御

田中 進^{1,2}, 本多 芳子², 高久 静香², 児玉 亨², 山田 久夫¹

¹関西医大・第一解剖, ²東京都医学研・睡眠PJ

オレキシンは視床下部外側野に局限して発現する多彩な生理活性（情動、エネルギー恒常性、報酬行動、睡眠／覚醒の制御等）を有する神経ペプチドである。遺伝子改変マウスを用いた解析によりオレキシン上流 OE1 配列が視床下部外側野での発現を制御していることが示された。われわれは OE1 配列に結合する転写因子 Plagl1 を同定した。Plagl1 は腫瘍抑制因子の相同遺伝子である一方、一過性新生児糖尿病の責任遺伝子としても知られる。オレキシンの代謝制御機構に Plagl1 が関与することが考えられた。RT-PCR ならびに In situ hybridization により、オレキシン発現がマウス胎生 11.5 日より開始し ventral hypothalamic sulcus (VHS, 発生が進んだ後の視床下部外側野) に局在していることを確認した。一方 Plagl1 の発現は胎生 9 日の脳室周囲に認め、胎生 11 日での VHS への移動と以後その位置にとどまることを確認した。Protein-DNA binding assay により Plagl1 と OE1 配列ならびにコンセンサス配列との結合を確認し、p53 コンセンサス配列 (Negative control) には結合しないことを確認した。in vitro reporter assay により Plagl1 はオレキシン転写制御領域の活性を変化させた。側脳室への in utero electroporation により胎生 15 日の大脳皮質に Plagl1 を過剰発現させたがオレキシン発現は観察されなかった。成獣マウス視床下部での発現を蛍光抗体法による 2 重組織化学により検討し、Plagl1 のオレキシンニューロンへの共存頻度がサーカディアンリズムおよび絶食 2 日によって変化することを見出した。いずれの条件においても Plagl1 はオレキシンニューロンの核内にとどまり細胞質への移行は観察されなかった。