



## Serotonergic regulation of the spinal cord content of thyrotropin releasing hormone in the cerebellar ataxia mutant mouse

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 遠藤, 茂樹 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1455">http://hdl.handle.net/10271/1455</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 178号	学位授与年月日	平成 6年 3月 8日
氏 名	遠 藤 茂 樹		
論文題目	Serotonergic regulation of the spinal cord content of thyrotropin releasing hormone in the cerebellar ataxia mutant mouse (Rolling mouse Nagoya の脊髄内 TRH に対するセロトニン系調節異常)		

## 医学博士 遠藤茂樹 論文題目

Serotonergic regulation of the spinal cord content of thyrotropin releasing hormone in the cerebellar ataxia mutant mouse

(Rolling mouse Nagoya の脊髄内 TRH に対するセロトニン系調節異常)

### 論文の内容の要旨

サイトロピン放出ホルモン (thyrotropin releasing hormone : TRH) は甲状腺刺激ホルモン分泌作用を有する視床下部ホルモンであるが、中枢神経系においては特に縫線核から脊髄に下行するニューロン中にセロトニン (5 HT) やサブスタンス P と共存しており、神経伝達物質あるいはその修飾因子と考えられている。Rolling mouse Nagoya (RMN) はヒトの脊髄小脳変性症のモデル動物とされるが、TRH の投与が症状を改善することが知られており、脳および脊髄内 TRH 含量が対照マウスに比して多く、かつセロトニンや種々のアミン投与による脊髄内 TRH の変動が異なることが報告されている。そこで RMN の脊髄内 TRH に対するセロトニン系の調節異常をより明らかにするため、セロトニンの拮抗剤やセロトニン受容体に特異性を有するとされる種々の拮抗剤を用い、脊髄内 TRH に及ぼすこれら薬剤の影響を検討した。

【対象・方法】 1. TRH 含量の測定。6～8 週齢の体重約 20 g の RMN および対照 C 3 H マウスを使用した。方法は体重 kg あたり、セロトニンの前駆体である 5 HTP (5-hydroxytryptophan) 500 mg、アナログである 2-methyl-5 HT 100mg、セロトニンの拮抗剤として PCPA (parachlorophenylalanine) 150mg、5.7DHT (5.7dihydroxytryptamine) 300mg を、セロトニン受容体の拮抗剤として methysergide 10mg、mianserin 50mg、ketanserin 50mg、spiperone 50mg、ICS205-930 1 mg をマウスの腹腔内に投与、1 時間後に脊髄を摘出した。エタノールで TRH を抽出しラジオイムノアッセイ法にて TRH 含量の測定を行った。2. TRH 不活化能の検討。脊髄ホモジェネートに合成 TRH を添加し経時的に抽出して TRH を測定し回収率を計算した。3. セロトニン受容体の測定。脊髄を摘出しホモジェネート後超遠心法にて粗膜分画を得た。<sup>3</sup>H-5 HT および <sup>3</sup>H-ketanserin を用いラジオレセプターアッセイ法を行った。

【結果】 1. TRH 含量の検討。(1)セロトニンおよびアゴニストの影響：5 HTP および 2-methyl-5 HT の投与にて対照群 (C 3 H) では TRH 含量の有意の増加を認めたのに対し、RMN では不変であった。(2)セロトニン拮抗剤の影響：PCPA の投与により対照群では TRH 含量の有意の減少を示したが、RMN においては脊髄の全部位において有意の増加を示した。5.7DHT の投与では対照群、RMN 両群において TRH 含量の有意の減少を認めた。(3)セロトニン受容体の拮抗剤の影響：対照群においては methysergide, mianserin, ketanserin および spiperone の投与により TRH 含量は有意の減少を示したが、ICS205-930 の投与では不変であった。一方これらの拮抗剤の投与は RMN においては頸髄での TRH 含量の有意の増加を示した。(4) 脊髄における TRH 不活化能の検討：脊髄のホモジェネートによる TRH の不活化能 (T<sub>1</sub>/2) は C 3 H、RMN 両群間で有意差を認めなかった。2. 脊髄のセロトニン受容体の検討。Scatchard 解析により kd および Bmax を計算したが C 3 H、RMN 両群間で差を認めなかった。

【考察】セロトニンは脊髄内 TRH を調節している可能性があり、対照群における脊髄内 TRH はセロトニンおよびアゴニストにより増加を示し、セロトニンの拮抗物質およびセロトニン受容体拮抗剤によ

り対照群で減少を示した。これに対し RMN ではセロトニンおよびアゴニストにより脊髄内 TRH の変動がみられず、拮抗剤により逆に増加する傾向を認めた。現在までにセロトニンの受容体は  $5\text{HT}_1$ 、 $5\text{HT}_2$  および  $5\text{HT}_3$  が知られており、脳や脊髄における分布が示されている。今回の検討では、各受容体に対する反応性が RMN においては正常対照群とは異なっていた。以上より、RMN では脊髄内 TRH レベルがセロトニン系ニューロンにより異常な調節を受けており、特にセロトニン受容体  $5\text{HT}_2$  あるいは  $5\text{HT}_1$  に関連していると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

サイトロピン放出ホルモン (thyrotropin releasing hormone, TRH) は甲状腺刺激ホルモン分泌作用を有する視床下部ホルモンとして知られている。しかし、脳の他の部位、脊髄前根、三叉神経など脳神経にも広く分布し、神経伝達物質あるいはその修飾因子としての役割も推定されている。特に縫線核から脊髄に下行するニューロン中にセロトニン ( $5\text{HT}$ ) やサブスタンス P と共存していることが注目される。

ヒト脊髄小脳変性症のモデル動物とされている。Rolling mouse Nagoya では、TRH の投与により症状が改善することが知られており、また、脳内および脊髄中の TRH 含量が多いことや、 $5\text{HT}$  等種々のアミンの投与による脊髄内 TRH の変動が対照マウスと異なることが報告されている。そこで申請者は、Rolling mouse Nagoya における  $5\text{HT}$  系による脊髄 TRH の調節異常により明らかにするため、 $5\text{HT}$  の前駆体である L- $5\text{HTP}$ 、 $5\text{HT}$  枯渇剤、各種  $5\text{HT}$  受容体拮抗薬等の脊髄 TRH に及ぼす影響を検討した。体重約 20 g の Rolling mouse Nagoya および対照 C3H マウスにこれら薬剤を投与 (i. p.) し、1 時間後に脊髄の TRH を測定した。

実験の結果、対照群では脊髄 TRH は、L- $5\text{HTP}$  および  $5\text{HT}$  アゴニスト (2-methyl- $5\text{HT}$ ) の投与により増加の傾向を示し、 $5\text{HT}$  枯渇剤 (PCPA)、 $5\text{HT}$  ニューロンの神経毒である 5,7-DHT および  $5\text{HT}$  受容体拮抗薬 ( $5\text{HT}_3$  拮抗薬である ICS205-930 を除く) により減少した。一方、Rolling mouse Nagoya では、L- $5\text{HTP}$ 、2-methyl- $5\text{HT}$  により脊髄 TRH の変動がみられず、PCPA 投与によりむしろ増加し、 $5\text{HT}$  受容体拮抗薬によっても頸髄の TRH 含量は有意に増加した。脊髄ホモジネート中での TRH の消失の速度や脊髄粗膜分画への  $^3\text{H}$ - $5\text{HT}$ 、 $^3\text{H}$ -Ketanserin 結合の  $K_d$ 、 $B_{\text{max}}$  には対照マウスと Rolling mouse Nagoya 間に有意な差はなかった。申請者は以上の結果に基づいて、Rolling mouse Nagoya では脊髄内 TRH レベルは  $5\text{HT}$  系ニューロンにより異常な調節を受けていると考えた。

審査委員会では、本論文の内容の関連して次の試問を行った。

1. Rolling mouse Nagoya の由来、C3H を対照に選んだ理由
2. PCPA (p-クロロフェニルアラニン) 投与後の脊髄トリプトファン水酸化酵素活性と  $5\text{HT}$  含量の低下およびそれに引き続く回復の時間経過
3. L- $5\text{HTP}$  投与後の脊髄  $5\text{HT}$  増加の程度と時間経過
4. 2-methyl- $5\text{HT}$  投与の血圧に対する影響、これを介して reflex が起こる可能性
5.  $5\text{HT}$  受容体サブタイプの種類および個々のサブタイプの構造と機能、縫線核から脊髄への  $5\text{HT}$  ニューロンで自己受容体として機能している  $5\text{HT}$  受容体サブタイプ、個々の  $5\text{HT}$  受容体拮抗薬のサブタイプ特異性等
6. Rolling mouse Nagoya で L- $5\text{HTP}$  や 2-methyl- $5\text{HT}$  の投与とは無関係に胸髄の TRH 含

量が対照ラットより著しく高いことに対する申請者の見解

7. 脊髄における TRH の存在部位、合成部位、輸送および分泌機構、作用機構、分解機構

これらの質問に対する申請者の応答は概ね適切と認められ、本論文が博士（医学）の学位授与に値する内容を備えていると全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 市 山 新

副査 教授 森 田 之 大 副査 教授 吉 見 輝 也

副査 助教授 植 松 俊 彦 副査 講師 下 山 一 郎