



Distribution of 5-hydroxytryptamine (5HT) in tissue of a mutant mouse deficient in mast cell (W/WV) Demonstration of the contribution of mast cells to the 5HT content in various organs

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 井上, 文雄 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/879

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	医博第 26号	学位授与年月日	昭和61年 3月26日
氏 名	井上文雄		
論文題目	<p>Distribution of 5-hydroxytryptamine (5HT) in tissue of a mutant mouse deficient in mast cell (W/W^v) Demonstration of the contribution of mast cells to the 5HT content in various organs (肥満細胞欠損マウス W/W^vにおけるセロトニンの臓器分布。諸臓器含有セロトニンに対する肥満細胞の寄与)</p>		

医学博士 井上文雄

論文題目

Distribution of 5-hydroxytryptamine (5HT) in tissue of a mutant mouse deficient in mast cell (W/W^v).

Demonstration of the contribution of mast cells to the 5HT content in various organs

(肥満細胞欠損マウス W/W^v におけるセロトニンの臓器分布。

諸臓器含有セロトニンに対する肥満細胞の寄与)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

セロトニン(5-hydroxytryptamine; 5HT)は脳では、情報伝達物質として機能している。しかし、脳以外の末梢器官における生理作用の知見には未だ統一性がない。セロトニンの臓器分布は、それぞれの臓器に特異的なセロトニン産生または含有細胞(神経細胞、エンテログロマフィン細胞など)によって特徴づけられると考えられるが、肥満細胞、血小板といった、臓器非特異的な細胞がきわだった寄与をしている場合もあると考えられる。肥満細胞欠損マウス(W/W^v -マウス)では結合組織に存在する肥満細胞(結合組織肥満細胞)、粘膜に存在する肥満細胞(粘膜肥満細胞)が減少あるいは欠損しており、肥満細胞に由来するヒスタミンやヘパリンがきわめて少ないことが報告されている。セロトニンについても W/W^v -マウスを用いることによって、臓器特異的な細胞に由来するものと、非特異的な細胞である肥満細胞に由来するものとを区別することが、可能であろうと考えられる。このような観点から、 W/W^v -マウスの諸臓器含有セロトニンを定量し、正常対照マウス(+ / +)と比較し、各臓器のセロトニン含量に対する肥満細胞の関与を検討した。この研究の実施にあたり、まず高速液体クロマトグラフィー(HPLC)蛍光分析法によるセロトニン定量法を新しく開発した。

〔材料と方法〕

WBB6F1-(W/W^v , + / +)マウスを生産、飼育し、6-8週令の雄を用いた。セロトニンの抽出は抽出した試料を塩酸-アスコルビン酸混液中で超音波処理、またはホモゲナイザーで破碎して行った。

この抽出液中には内部標準として $N\alpha$ -メチルセロトニン($N\alpha$ -methyl-5-hydroxytryptamine, NM5HT)を入れておく。十分に破碎した抽出液に過塩素酸を加え除蛋白した後、遠心し、その上清を直接、自然蛍光検出によるHPLC分析に供した。HPLCの溶出条件は以下のとおりである。カラム: Fine SIL-C₁₈-5-T(4.6×250mm)、溶出液: 40mM酢酸ナトリウム(pH 4.0, Na⁺について40mM)とメタノールとの混液(4:1)、流速: 0.7-1.0 ml/分、蛍光分析: 励起波長302 nm、蛍光波長350 nm。

〔結果と考察〕

正常対照マウスでは、セロトニンは肺(9.66 μ g/g湿重量、以下単位は同じ)、大腸(6.63)、胃(6.10)に多く含まれ、小腸では近位端(5.11)には多いが、遠位端(2.54)に至るに従い減少するという傾向を示した。皮膚では0.49、脳では0.71であった。一方、 W/W^v -マウスのセロトニン量は胃、皮膚でそれぞれ、正常対照の23.4%、4.1%であった。他の臓器(小腸、盲腸、大腸、脳、肺、血液、唾液腺)では、 W/W^v -マウスと正常対照との間にセロトニン含量の有意差は認められなかった。 W/W^v -マウスの皮膚については結合組織肥満細胞が正常の数十分の一に減少し、胃では結合組織肥満細胞が皮膚よりも少ないことが報告されている。 W/W^v -マウスの皮膚にはセロトニンが正常対照の4.1%しか含まれていないという今回の結果はこの報告と一致する。しかし、胃においては W/W^v -マウスと正常対照との差

($4.67 \mu\text{g/g}$)は正常対照マウスの皮膚のセロトニン量($0.49 \mu\text{g/g}$)よりもはるかに多く、これは胃の結合組織肥満細胞の減少では説明がつかない。このことは結合組織肥満細胞以外のセロトニン含有細胞が、W遺伝子の影響を受けて減少している可能性を示している。

粘膜肥満細胞については、W/W^vマウスの小腸で、その数が減少していると報告されているが、マウスの胃の粘膜肥満細胞がセロトニンを含有しているかどうかは、知られていない。

今回の実験で、W/W^vマウスの胃のセロトニンが正常対照の23.4%しかないという事実から、マウスの胃の粘膜肥満細胞がセロトニンを含有し、しかもその胃全体のセロトニン量に対する関与が大きいことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

組織のセロトニンには臓器を特徴づける細胞、例えば腸のエンテロクロマフィン細胞、に含まれるものと比較的非特異的に諸臓器に分布する細胞、例えば肥満細胞、に含まれるものとがあることが知られている。本論文の目的は肥満細胞が組織セロトニンにどれくらい寄与するのかを明らかにすることである。そのため肥満細胞欠損マウス(W/W^v)が用いられた。

本研究に関し審査を行った結果、以下の諸点が評価された。

A. 方法に関するもの。

1. セロトニン定量法 励起光の波長として従来用いられてきた295 nmを302 nmに変更することによりトリプトファンその他の蛍光が著しく減少し、ブタノール抽出が不要になり、検出感度も高くなった。セロトニンの内部基準物質として、代謝されないNアルファ-メチルセロトニンをを用いることにより測定信頼性を高めた。
2. 実験動物 肥満細胞欠損マウス(W/W^v)と対照マウスを比較することにより各臓器のセロトニン濃度への肥満細胞の寄与が明らかになった。

B. 結果に関するもの。

1. 正常マウス各臓器のセロトニン濃度 今回の研究により正常マウスの胃、小腸(3部分)、盲腸、結腸・直腸、脳、肺、血液、唾液腺、皮膚のセロトニン濃度が明らかになった。これらをセロトニン濃度に応じ三つのグループに分けると、とくに高いのが肺で、消化管と血液は肺について高く、脳、唾液腺、皮膚は1オーダー低いグループにはいる。
2. 肥満細胞欠損マウスにおける組織セロトニン濃度 欠損マウスの臓器で正常動物に比しセロトニン濃度の有意な低下を示した臓器は上部消化管(とくに胃)と皮膚である。したがって、これらの臓器では肥満細胞(胃では粘膜肥満細胞、皮膚では結合組織肥満細胞)の寄与が大きいことが考えられる。

また、以下の点について質疑が行われた。

1. 血液採取法。
2. セロトニン定量操作。
3. 用いた動物の数と性差。
4. 粘膜肥満細胞と結合組織肥満細胞の区別法。
5. 主論文中的文章。
6. W/W^vマウスの主症状。

これらの点について、申請者は概ね適切な回答を与えた。

以上により、本研究は医学博士の学位を授与するに十分な内容のものであると全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 藤 田 道 也

副査 副学長 山 田 瑞 穂 副査 教授 喜 納 勇

副査 助教授 馬 場 正 三 副査 助教授 藤 井 正 子