

## 平成17年度自治医科大学医学部 研究奨励金研究成果報告

嗅覚系と視床下部—下垂体—副腎皮質系のイン  
タラクションの実態解明—ラット下垂体前葉細  
胞における c-Fos の一過性発現の解析—

自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門  
瀧上 周

プロトオンコジーン c-fos は、最初期遺伝子  
の一つであり、その産物の c-Fos は、興奮した  
神経細胞において一過性に発現が高まることか  
ら、脳の活性化領域のマッピングに用いられて  
いる。下垂体前葉では、ストレスによって発現  
が高まるなどの報告があるが、視床下部ホルモ  
ンによる前葉細胞への刺激と c-Fos 発現の詳細  
な関連は不明瞭である。本研究では、この関連  
を明らかにするために、ACTH 放出促進刺激時  
の下垂体前葉における c-Fos 発現を免疫組織化  
学的に調べた。

全ての実験は、右外頸静脈にカテーテルを留  
置した覚醒下のラット (SD, 8-10週齢, 雄)  
を用いて行った。ACTH 放出促進刺激は、CRH  
静脈投与 (2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) と拘束ストレス (1.5時間)  
を用いた。ACTH 放出促進刺激を加え始めてか  
ら90分後に、ネブタールの静脈投与により深  
麻酔し心臓より固定液を5分間灌流後、下垂体  
を取り出し4°Cで一晩浸漬固定した。凍結切片  
(前頭断) は、厚さ8  $\mu\text{m}$  のものを作成し、c-  
Fos 陽性細胞の検出は、抗 c-Fos 抗体 (1:  
40,000, CALBIOCHEM) を用いた免疫組織化  
学により行った。前葉細胞の同定には、各ホル  
モンに対する抗体を用いた。また、各群の c-Fos  
陽性細胞数の比較には、前葉の中央部分から200  
 $\mu\text{m}$  の間隔において前頭断切片を5枚作製し  
た。c-Fos の免疫染色を施した後、切片から0.5  
mm四方の4つの領域を無作為に抽出し、Scion  
Image によって c-Fos 陽性細胞数の定量を  
行った。各実験群における単位面積あたりの c-  
Fos 陽性細胞数を計測し、クラスカルウォーリ  
ス順位検定とボンフェローニ補正マンホイット

ニー検定によって解析した。

c-Fos の免疫陽性反応は前葉細胞の核におい  
て明瞭に観察され、ストレス負荷ラットで多数  
みられた。CRH 投与ラットにおいては、ストレ  
ス負荷ラットに比べて検出される c-Fos 陽性細  
胞の数は少なくなり、生理食塩水投与ラット (対  
照群) では、さらに数は減少した。対照群に比  
べ拘束ストレス群では、c-Fos 陽性細胞の数は  
約17倍に増加していた。一方、CRH 投与群では  
対照群に比べて6.3倍と、拘束ストレス群の約3  
分の1程度の増加であった。また、CRH 投与群  
では、c-Fos 陽性反応は主に ACTH 産生細胞に  
観察されたが、c-Fos 陽性反応を示さない  
ACTH 産生細胞も多数みられた。一方、拘束ス  
トレス群では、ほとんどの ACTH 産生細胞が  
c-Fos 陽性反応を示すようになったが、一部の  
PRL 産生細胞や極少数の TSH 産生細胞も c-  
Fos 陽性であった。

ACTH 放出促進刺激によって特異的に  
ACTH 産生細胞において c-Fos の発現が高ま  
ることは、視床下部ホルモンによって活性化さ  
れた ACTH 産生細胞のマーカーとしての c-  
Fos の有用性を示唆するものである。c-Fos を  
活性マーカーとして用いた前葉内のストレス応  
答反応の解析からは、複雑なストレス応答機構  
を解明していく上で有意義な基礎的知見を得ら  
れることが期待される。また、CRH 単独刺激時  
にみられる c-Fos 陽性反応を示さない ACTH  
産生細胞は、1) ストレスの強度や種類に依存  
した前葉への入力刺激の違い、2) ACTH 産生  
細胞の heterogeneity, 3) 細胞周囲環境による  
影響、などによって生じている可能性が考えら  
れた。

ヘリコバクター・ピロリにおけるフラボドキシ  
ン代謝経路の解明

感染・免疫学講座細菌学部門 下村 裕史