

(43)

氏名(生年月日)	ナガ 永	キ 木	シゲル 茂
本籍			
学位の種類	医学博士		
学位授与の番号	乙第857号		
学位授与の日付	昭和62年11月20日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)		
学位論文題目	<b>Delta Sleep Inducing Peptide (DSIP) の存在とその意義について</b>		
論文審査委員	(主査) 教授 福山 幸夫 (副査) 教授 喜多村孝一, 教授 小山 生子		

### 論文内容の要旨

#### 目的

家兎血中より単離された内因性物質(1977年)で、徐波睡眠を増加させる作用をもつ delta sleep inducing peptide (DSIP) について、ラット脳・血液、ヒト血液・髄液・尿・母乳中の DSIP の存在の有無を酵素免疫測定法により検索し、DSIP の生理的意義を検討すること。

#### 方法

##### 1) DSIP の測定

DSIP 抗体は、合成 DSIP と牛血清アルブミンをグルタルアルデヒド法により結合させ、家兎を免疫して得た。酵素標識 DSIP は horseradish peroxidase (HRP) を用い過ヨウ素酸化法により作製。2 抗体固相法を用いた酵素免疫測定法 (EIA) によって DSIP 様免疫物質 (IR-DSIP) を蛍光光度計で測定した。

2) ラット脳・血液、ヒト体液中より IR の DSIP の抽出方法；抗 DSIP 抗体の特異性；および IR-DSIP の解析

ラット脳は 0.1N 酢酸で、ラット血液、ヒト血液・髄液・尿・母乳は、アセトンおよびジエチルエーテルを用いて、それぞれ除蛋白抽出し、IR-DSIP を測定した。生理的に存在する IR-DSIP が、合成 DSIP と一致するか否かについて以下の実験を行った。各種ホルモン、ペプチドと抗 DSIP 抗体との交差反応を検討した。上記の抽出物をそれぞれ濃縮した上で、段階希釈した検体について希釈曲線を作成し、合成 DSIP の標準曲線と比較した。又、Sephadex G-25 カラムにかけ検討した。

##### 3) ラット脳内 IR-DSIP の分布

マイクロウェーブ処理後、脳を 13 部位に分割して測定に供した。

##### 4) ヒト血液中 IR-DSIP とその日内変動

健康男女各 4 名の 11:00, 14:00, 17:00 の 3 時点のヒト血液中 IR-DSIP を測定。又、健康男子 4 名から 20 分ないし 30 分毎に連続採血し、IR-DSIP の日内変動を検討した。

##### 5) ヒト髄液・尿・母乳中 IR-DSIP

ヒト髄液 IR-DSIP の測定には、一般検査終了後の残余の保存検体を用いた。尿中 IR-DSIP は、健康新生児、生後 1 カ月、2 カ月以上 1 歳の乳児について測定した。母乳中 IR-DSIP は、分娩後 1 週間以内の母親より 10:30, 16:30, 19:30 の 3 時点で母乳を採取し測定した。

##### 結果

##### 1) EIA

抗 DSIP 抗体は、DSIP の C 端を特異的に認識した。測定感度は 5pg/tube。各検体の IR-DSIP の希釈曲線は、標準曲線と平行関係を示した。Sephadex G-25 カラムにかけた溶出曲線は、いずれも合成 DSIP の位置に大きなピークを呈した。

##### 2) ラット脳内 IR-DSIP 分布

側坐核、梨状葉、嗅内領野に高濃度に存在した。

##### 3) ヒト血液・髄液・尿・母乳中 IR-DSIP

17:00 の血液中 IR-DSIP は、11:00 のそれと比較して有意の高値を呈した。日内変動は、睡眠中に低値となる傾向がみられた。髄液中 IR-DSIP は、乳児・幼児と成人の間には有意差が認められなかった。しかし新

生児は、明らかな高値を呈した。尿中 IR-DSIP は、新生児に有意の高値を呈した。19:30の母乳中 IR-DSIP は、10:30のそれと比較して有意の高値を呈した。

#### 考察

ゲルクロマトグラフィーによる検討で EIA による IR-DSIP 測定は、IR-DSIP の主として非結合型のみを検出するきわめて特異的な測定系と考えられた。DSIP 様物質は、上記の組織、体液中のすべてに存在し、ヒ

ト血液中 IR-DSIP は、午後に有意の高値を呈し、体液中への DSIP 分泌に日内変動の存在することが推測された。上記の体液中の IR-DSIP は、新生児期において乳児期、成人期と比較して高値を呈した。以上から DSIP がこれまで想定されているように、睡眠覚醒機構に關与する内因性生理物質であると考えられるほか、新生児期には、さらに何らかの積極的な役割をもつことが示唆された。

## 論文審査の要旨

Delta sleep inducing peptide (DSIP) は、1977年、家兎血中より分離された内因性ペプチドであり、徐波睡眠増加作用をもつことが知られている。本研究は、DSIP の酵素免疫測定法を用いて、ラットの脳・血液、ヒトの血液・髄液・尿・母乳中の DSIP を測定し、これら生体試料のいずれにも DSIP が存在すること、ヒト血液中 DSIP 濃度に日内変動が存在すること、また体液中 DSIP 濃度は新生児期に最も高値を示すことを初めて明らかにした、学術上価値ある研究である。

#### 主論文公表誌

Delta Sleep Inducing Peptide (DSIP) の存在とその意義について

日本小児科学会雑誌 第91巻 第8号  
2742~2752頁 (昭和62年8月1日発行)

#### 副論文公表誌

- 1) メイプルシロップ尿症 (変異型) の一例  
日小児会誌 85 (11) 1531~1539 (1981)
- 2) Delta sleep-inducing peptide-like material in rat brain as determined by enzyme immunoassay: effect of sleep deprivation (酵素免疫測定法によるラット脳内デルタ睡眠誘発ペプチド: 断眠の効果)  
Neurosci Lett 51 253~257 (1984)
- 3) TRH 誘導体 (DN-1417) および TRH-T 投与のラット脳内ソマトスタチンにおよぼす影響  
てんかん研究 3 (2) 158~163 (1985)
- 4) カルバマゼピン投与の脳内神経ペプチドにおよぼす影響  
「生物学的精神医学 最近の進歩16 向精神薬と脳内活性物質」pp 325~329, ヘスコインターナショナル, 東京 (1985)
- 5) Somatostatin (SRIF) とその analog のラット脳室内投与による脳波および行動の異常  
てんかん研究 4 (1) 75~81 (1986)

- 6) Change in immunoreactive somatostatin content in rat brain following treatment with antiepileptic drugs (抗けいれん剤投与によるラット脳内ソマトスタチン様免疫物質の変化)

Folia Psychiatr Neurol Jpn 39 (3)  
437~439 (1985)

- 7) Audiogenic seizures in mature rats after neonatal exposure to propylthiouracil (新生仔期のプロピルチオウラシル投与後成熟ラットの聴原性発作)

Jpn J Psychiatr Neurol 40 (3)  
501~503 (1986)

- 8) 小児急性白血病および悪性リンパ腫の Methotrexate 大量療法

小児診療 43 (8) 985~992 (1980)

- 9) Effects of carbamazepine and valproic acid on brain immunoreactive somatostatin and  $\gamma$ -aminobutyric acid in amygdaloid-kindled rats (扁桃核キンドリングラットの脳内ソマトスタチン様免疫物質と  $\gamma$ -アミノ酪酸におけるカルバマゼピンとバルプロ酸の効果)

Eur J Pharmacol 125 169~175 (1986)

- 10) 神経系疾患とニューロトランスマITTER-けいれん・てんかん

Clin Neurosci 5 (5) 572~574 (1987)