学位論文題名

ラット血中コルチコステロン及び摂食行動の
食餌性リズム発現機序に関する神経内分泌学的研究：
室傍核ニニューロペプチドYの役割

学位論文内容の要旨

[緒言]

動物の内因性リズムを作る時計（生物時計）の持つ周期が24時間に近い時、このリズムを概日リズムと言う。ラットで典型的な概日リズムを示すものに、明期の後半から暗期の前半にかけて上昇する血中コルチコステロン（以下血中CORT）リズム、暗期に活動が盛んになる輪回し行動、摂食行動などがあり、その中枢は視床下部の視交叉上核に存在する。一方、視交叉上核に存在しない概日リズムも存在し、代表的なものに周期的制限給餌で出現する概日リズム（食餌性リズム）がある。すなわちラットの給餌を一日の一定時刻に制限すると（周期的制限給餌）、給餌の1～2時間前より自発行動量や血中CORTレベルが増加する（給餌前ピーク）。血中CORTは副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）放出ホルモン（以下CRH）およびACTHの階層支配を受けている。CRHニューロンの細胞体が存在する視床下部室傍核には脳幹に由来するカテコールアミン（以下CA）ニューロンが分布しており、このニューロンにはニューロペプチドY（以下NPY）が共存している。また視床下部弓状核からもNPYニューロンも室傍核へ投射しており、このニューロンにはCAが共存しない。本研究の目的は、絶食下および周期的制限給餌下における脳内NPYを測定し、その経時変化を解析することにより室傍核NPYニューロンの役割を検討することである。

[実験デザインと結果]

実験には室温 22 ± 1 ℃、湿度 60 ± 5 ％、および6時から18時までの明の明暗サイクル下で繁殖飼育したWistar系ラットを使用した。

実験1) 食餌条件と室傍核NPY

自由摂食下、短期（2日間）絶食あるいは長期（10日間）絶食後の再摂食時のラット血中CORTと脳内NPY濃度およびPush-Pull法により室傍核細胞外液中NPYを測定した。自由摂食下では、血漿CORTは明期から暗期にかけてピークを有する明暗周期に同調したリズムを示した。脳神経核に含まれるNPY濃度は有意な24時間変動を示さなかった。短期絶食により室傍核NPY濃度は増加し、再摂食でさらに増加した。弓状核NPY濃度に有意な変化は見られなかったが、再摂食後NPY濃度は一時減少した。脳幹の孤束核NPY濃度に有意な変化は見られなかった。室傍核細胞外液中NPYは絶食により増加し、再摂食後減少した。長期絶食により血中CORTは増加し、再摂食2時間で減少した。室傍核NPY濃度も増加し再摂食でさらに増加した。室傍核細胞外液中NPYも増加し再摂食後減少したが、自由摂食下よりは依然高い値を示した。

実験2) 周期的制限給餌と室傍核NPY

① 周期的制限期下におけるNPYの脳内変動

10時から12時までの2時間のみ食餌を与える周期的制限給餌を3週間行くと、室傍核および弓状核NPY濃度は摂食後増加した。孤束核NPY濃度は給餌前に増加し給餌後減少した。室傍核細胞外液中NPYは給餌前に増加し給餌開始後減少した。

② 周期的制限給餌下における摂食の影響

室傍核NPY濃度について、周期的制限給餌を行った後、給餌時刻に摂食させた群では、10時の値に対して12時の値が増加したが、摂食させなかった群では、有意な差は認められなかった。給餌時刻に摂食させた群、摂食させなかった群共に室傍核細胞外液中NPYは、給餌前に自由摂食群より増加した。給餌時刻に摂食させなかった群では給餌時刻後も室傍核細胞外液中NPYは急激には減少しなかった。

③ 周期的制限給餌-自由摂食・絶食パラダイムにおける室傍核NPY

周期的制限給餌を3週間行った後、7日間自由摂食に戻し、その後3日間絶食とした。自由摂食7日目（再自由摂食ラット）および絶食3日目（絶食ラット）の室傍核細胞外液中NPYを測定した。再自由摂食ラット群では室傍核細胞外液中NPYは有意な時間変動を示さなかった。絶食ラット群では、全ての時刻において、再自由摂食ラット群に対し、室傍核細胞外液中NPYが有意に増加していた。また給餌直前に相当する時刻に室傍核細胞外液中NPYが有意に増加していた。

実験3) 中枢CAニューロンとNPY

周期的制限給餌を2週間行った後、CA枯渇剤である6-OHDAあるいは生食を室傍核に投

与し、さらに制限給餌を7日間続けた後、Push-Pull法により室傍核細胞外液中 NPY を測定した。また 6-OHDA を中脳上行線維束に投与し、同様の実験を行った。室傍核投与において、生食投与群では室傍核細胞外液中 NPY は給餌前に増加し給餌後減少した。一方、6-OHDA 投与群では給餌前のピークが消失し有意な変動を示さなかった。また給餌時間における摂食量は 6-OHDA 1 投与群と生食投与群の間に有意差はなかった。中脳上行線維束投与においても、同様の結果が得られた。

[考 察]

1 給餌条件と室傍核 NPY

自由摂食下では室傍核 NPY 濃度に有意な24時間変動は認められず室傍核 NPY が自由摂食下では血中 CORT 分泌や摂食行動に関与していないことが示唆された。10日間の絶食により室傍核 NPY 濃度および細胞外液中 NPY が増加しており、NPY 合成の指標となる弓状核の pre-pro NPY mRNA レベルが絶食により増加することが知られているので、絶食下では NPY 合成と分泌が共に亢進し、室傍核 NPY 濃度が増加したと考えられる。絶食後の再摂食で細胞外液中 NPY の現象に伴い NPY 濃度が上昇したことは、NPY 分泌が低下し神経終末に NPY が蓄積したことを示唆している。

2 周期的制限給餌と室傍核 NPY

周期的制限給餌下での室傍核 NPY 濃度と室傍核細胞外液中 NPY の時間変動より、給餌前の NPY 分泌の増加と摂食後の NPY 分泌の神経終末での抑制が示唆された。孤束核 NPY 濃度の給餌前増加は NPY 合成の亢進あるいは軸索流による NPY の移動の停止を意味するが、給餌前に室傍核の NPY 分泌が増加しているので、軸索流の停止は考えられず、合成の亢進を強く示唆する。また給餌直後の NPY 分泌の急激な減少は摂食による直接的効果と考えられ、給餌数時間後の内因摂食振動機構によるものと考えられた。室傍核細胞外液中 NPY は周期的制限給餌-自由摂食・絶食パラダイムにおける絶食時に、以前の給餌直前にはほぼ一致して増加していたことより、給餌前の室傍核 NPY 分泌の亢進も内因性食餌性振動の表現であると考えられた。

3 中枢 CA ニューロンと室傍核 NPY

CA 枯渇剤である 6-OHDA を室傍核あるいは NA 上行線維腹側束に投与すると室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークが消失したことより、周期的制限給餌における室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークの発現には NA 上行線維腹側束中の NA・NPY 共存ニューロンが重要であることが示唆された。周期的制限給餌下における室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークの役

割に関しては、6-OHDA 投与により給餌前の NPY 分泌を抑制しても摂食量に有意な変化が見られなかったことから、室傍核 NPY の食餌前ピークはラット摂食行動よりもむしろ給餌前 CRH 分泌との関連性が考えられる。

[結 語]

1. 視床下部 NPY は自由摂食下の血中 CORT および摂食行動のリズムには関与していないことが示唆された。
2. 室傍核投射 NPY ニューロンのうち、絶食により機能亢進を示すのは弓状核由来の NPY ニューロンであることが示唆された。
3. 周期的制限給餌下では孤束核 NPY ニューロンが重要と考えられ、室傍核細胞外液中 NPY の増加は内因性の食餌性振動の表現と考えられた。それに対し、給餌後の室傍核細胞外液中 NPY の減少は摂食の直接的効果と考えられた。
4. 周期的制限給餌下における室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークの発現には、NA 上行線維腹側束中の NA・NPY 共存ニューロンが重要であることが示唆された。また給餌前細胞外液中 NPY ピークは摂食行動よりもむしろ CRH 分泌に関与していると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	小 口 春 久
副 査	教 授	亀 田 和 夫
副 査	教 授	松 本 章
副 査	教 授	本 間 研 一

[緒 言]

ラットの給餌を一定時刻に制限する（周期的制限給餌<restricted feeding : 以下 RF>）と、給餌の1～2時間前より血中コルチコステロン（以下 CORT）が増加する（給餌前ピーク）。副腎皮質刺激ホルモン（以下 ACTH）放出ホルモン（以下 CRH）ニューロンの細胞体が存在する視床下部室傍核には脳幹由来のカテコールアミン（以下 CA）ニューロンが分布しており、ここにはニューロペプチド Y（以下 NPY）が共存している。また視床下部弓状核からも NPY

ニューロンも室傍核へ投射しており、このニューロンには CA が共存しない。本研究の目的は、絶食下および周期的制限給餌下における脳内 NPY を測定し、室傍核 NPY の役割を検討することである。

[実験デザインと結果]

実験 1) 食餌条件と室傍核 NPY

実験には Wistar 系雄ラットを使用した。自由摂食下、短期 (2 日間) 絶食あるいは長期 (10 日間) 絶食後の再摂食時のラット血中 CORT と脳内 NPY 濃度および室傍核細胞外液中 NPY を測定した。自由摂食下では、血中 CORT は明期から暗期にかけて上昇するリズムを示した。脳神経核 NPY 濃度は有意な 24 時間変動を示さなかった。短期絶食および長期絶食により室傍核 NPY 濃度は増加し、再摂食でさらに増加した。弓状核 NPY 濃度に有意な変化は見られなかったが、再摂食後 NPY 濃度は一時減少した。脳幹の孤束核 NPY 濃度に有意な変化は見られなかった。室傍核細胞外液中 NPY は絶食により増加し、再摂食後減少した。長期絶食により血中 CORT は増加し、再摂食後減少した。

実験 2) RF と室傍核 NPY

① RF における NPY の脳内変動

10時から12時までの2時間のみ食餌を与える RF を 3 週間行くと、室傍核 NPY 濃度は摂食後増加した。孤束核 NPY 濃度は給餌前に増加し給餌後減少した。室傍核細胞外液中 NPY は給餌前に増加し給餌開始後減少した。

② RF における摂食の影響

RF 後、給餌時刻に摂食させなかった群では 10 時と 12 時の室傍核 NPY 濃度の間に有意差は認められなかった。室傍核細胞外液中 NPY は給餌前に自由摂食群より増加したが、給餌時刻後では急激な減少は認められなかった。

③ RF-自由摂食・絶食パラダイムにおける室傍核 NPY

RF 後、7 日間自由摂食に戻し、その後 3 日間絶食とした。絶食 3 日目では全ての時刻において再自由摂食ラット群に対し細胞外液中 NPY が有意に増加し、また給餌直前に相当する時刻に室傍核細胞外液中 NPY が有意に増加していた。

実験 3) 中枢 CA ニューロンと NPY

RF 後、CA 枯渇剤である 6-hydroxydopamine (以下 6-OHDA) を中脳上行線維束に投与すると室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークが消失した。また 6-OHDA 投与群と生食投

与群間に摂食量の有意差はなかった。

[考 察]

1 給餌条件と室傍核 NPY

NPY合成の指標となる弓状核 pre-pro NPY mRNA レベルが絶食により増加するので、絶食下では NPY 合成と分泌が共に亢進し室傍核 NPY 濃度が増加したと考えられた。また再摂食により NPY 分泌が低下し神経終末に NPY が蓄積し、さらに室傍核 NPY 濃度が増加したと考えられた。

2 RF と室傍核 NPY

RF 下での給餌前の NPY 分泌の増加と摂食後の NPY 分泌の神経終末での抑制が示唆された。孤束核 NPY 濃度の給餌前増加は NPY 合成の亢進を示唆した。給餌直後の NPY 分泌の急激な減少は摂食による直接的効果と考えられ、給餌前の亢進および給餌数時間後の減少は内因性振動機構によると考えられた。

3 中枢 CA ニューロンと室傍核 NPY

RF における室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークの発現にはノルアドレナリン(以下 NA) 上行線維腹側束中の NA・NPY 共存ニューロンが重要であることが示唆された。また RF 下における室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークは摂食行動よりもむしろ給餌前 CRH 分泌との関連性が考えられた。

[結 語]

1. 視床下部 NPY は自由摂食下の血中 CORT および摂食行動のリズムには関与していないことが示唆された。
2. 室傍核投射 NPY ニューロンのうち、絶食下では弓状核由来 NPY ニューロンが、RF 下では孤束核由来 NPY ニューロンが重要と考えられた。
3. RF 下における室傍核細胞外液中 NPY の増加は内因性の食餌性振動の表現と考えられた。一方、給餌後の減少は摂食の直接的効果と考えられた。
4. RF 下における室傍核細胞外液中 NPY の給餌前ピークの発現には、NA 上行線維腹側束中の NA・NPY 共存ニューロンが重要であると考えられた。