

Changes in brain neurotransmitters in hypothalamus related to feeding behavior in LEC rat

(LEC ラットの食物摂取行動に係わる視床下部中神経伝達物質の変動)

学位論文内容の要旨

I. はじめに

LECラットは、生後16週前後で急性肝炎を自然発症するラットとして分離されたが、その後の研究で、肝臓に銅が異常蓄積する先天性銅代謝異常ラットであることが明らかにされ、Wilson病のモデル動物として確立された。一般に銅は主として食物摂取により体内に吸収され、腸管から排出される。LECラットの銅代謝と食物摂取との関係については不明な点が多い。視床下部に存在する食物摂取中枢は、カテコールアミン、セロトニン(5-HT)などによって制御され、LECラットでは、脳内の銅代謝異常に伴いこれらの神経伝達物質の代謝が変動することなどが明らかにされているが、LECラットの食物摂取やその中枢機構に関する詳細な検討は行われていない。

本研究では、LECラットの食物摂取に脳内の銅代謝や食物摂取中枢がいかに関与しているかを明らかにするために、LECラットの視床下部中の銅濃度、食物摂取中枢を制御する神経伝達物質の代謝および食物摂取量の変動について検討した。

II. 対象および方法

実験には、4、10および20週齢のLECラットと対照群としてLEAラットを用いた。

1) 視床下部の銅濃度の測定は、ICP-MSを用いて行った。

2) 神経伝達物質の測定:

(1) 外側視床下部にマイクロダイアリス用プローブを装着し、高カリウム刺激前後におけるアセチルコリンの放出量を測定した。

(2) 視床下部のカテコールアミン、5-HTおよびそれらの代謝物質の測定は、HPLC-ECD法で行った。

3) 食物摂取、体重、血漿グルコース、アルブミン、総コレステロールの測定:

(1) 総食物摂取量、一日当たりの食物摂取量および体重は3週齢より20週齢まで測定した。

(2) 血漿中の糖はグルコースオキシダーゼ法、アルブミンはBCG法、総コレステロールは酵素法を用いて測定した。

III. 結果

LECラットの視床下部中銅濃度は、対照群に比較して、4週齢では低下し、10週齢で対照群とほぼ同程度になり、それ以降20週齢では有意な増加を示した($p < 0.01$)。LECラットの外側視床下部からのアセチルコリン放出量は対照群に比較して、4週齢で有意な増加を示したが($p < 0.05$)、10および20週齢では有意な増減は認められなかった。

LECラットの視床下部外液中コリン濃度の変動は対照群に比較して、4および20週齢では有意な増減が認められなかったが、10週齢では、高カリウム刺激後15分および30分で有意な増加を示した。

LECラットの視床下部中5-HT代謝は20週齢で亢進した。また、10週齢では、対照群と比

較して、5-HTの前駆物質である5-ヒドロキシトリプトファン(5-HTp)の有意な増加が認められた($p < 0.05$)。

LECラットの視床下部中カテコールアミンは10週齢では、対照群に比較してノルエピネフリン(NE)濃度の有意な減少が認められた($p < 0.05$)。しかし、4および20週齢では、NE、ドパミン(DA)およびDAの代謝物質であるDOPAC, HVAの有意な変動は認められなかった。

LECラットの総食物摂取量、一日当たりの食物摂取量および体重は、対照群に比較して、有意な減少を示した($p < 0.05$)。

LECラットの血漿中の糖、アルブミンおよび総コレステロール濃度は対照群に比較して、有意な低下を示した($p < 0.05$)。

IV. 考察

LECラットの視床下部中銅濃度は、4週齢では低く、加齢に伴い増加することが明らかとなった。視床下部における銅濃度の変動は食物摂取中枢の制御に係わる神経伝達物質の代謝に影響を与えていると考えられるので、視床下部のアセチルコリン、5-HTおよびカテコールアミン代謝を検討した。その結果、LECラットの視床下部中の神経伝達物質代謝は年齢依存性に増減することが明らかになった。すなわち、4週齢のLECラットでは、外側視床下部からのアセチルコリン放出量の増加、10週齢では、視床下部中NE濃度の減少、さらに、20週齢では、視床下部中5-HT代謝の亢進が認められた。

4週齢のLECラットのアセチルコリン放出量が増加する機構については、4週齢ではLECラットの脳内銅濃度が低下していること、アセチルコリン合成酵素のコリンアセチルトランスフェラーゼ(CAT)活性が銅により抑制を受けること、さらに視床下部外液中のコリン量の動態から、両群間にアセチルコリンエステラーゼ活性の変動が認められないことから、4週齢のLECラットでは、CATの活性が亢進したことによりアセチルコリンの合成が促進され、その結果、放出量が増加した可能性が示唆された。しかし、脳内の銅濃度が低下すると、ムスカリニック受容体の密度および親和性が減少することが知られており、このことがアセチルコリンの放出量に影響した可能性も考慮する必要がある。

外側視床下部でアセチルコリンは食物摂取中枢に作用して、食物摂取を抑制することが知られており、外側視床下部からのアセチルコリン放出量の増加は、LECラットの食物摂取量を抑制していると考えられる。

本研究で明らかとなったLECラットの10週齢におけるNE濃度の低下の機構については不明であるが、LECラットの大脳皮質中の銅濃度が若年齢で低下すること、カテコールアミンの代謝異常が存在することが報告されており、視床下部でのNEの減少にも銅代謝異常が関連している可能性が示唆された。いずれにしても、視床下部中NEの低下は、NEの食物摂取中枢での食物摂取促進作用を減少させ、LECラットの食物摂取量を抑制していると考えられる。

脳内では、銅が5-HTの代謝に直接関与しているという報告はないが、Martinらは、脳組織中の銅濃度低下を示す先天性銅代謝異常のブリンドルマウスで、脳内NE濃度の低下と脳内5-HTおよび5-HIAA濃度の増加を報告し、これは脳内銅濃度の低下によりカテコールアミン神経繊維の成長が抑制され、そのかわりに5-HT神経繊維が通常より多く成長した結果であることを示した。また、LECラットにおいても、大脳皮質のカテコールアミン代謝が抑制され、5-HTの代謝が亢進していることが報告されており、本研究で明らかになった5-HT代謝の亢進はブリンドルマウスと同様な機構で起こっている可能性が示唆された。

5-HTは食物摂取中枢に存在する5-HT受容体を介して、食物摂取量を抑制することが知られており、5-HT代謝の亢進はLECラットの食物摂取量を抑制していると考えられる。

V. 結語

本研究より、LECラットの視床下部において、銅濃度の年齢依存性の変動が認められること、およびそれに伴い食物摂取制御に関連する神経伝達物質の代謝が変化し、その変化は食物摂取を抑制する方向であることが明らかになった。このことは、LECラットの食物摂取が若年齢より低下している結果と良く一致する。

以上の成績から、LECラットに認められる食物摂取量の低下は単に肝炎の発症に伴うものだけでなく、食物摂取中枢の抑制効果によることが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齋 藤 和 雄

副 査 教 授 齋 藤 秀 哉

副 査 教 授 細 川 眞澄男

学 位 論 文 題 名

Changes in brain neurotransmitters in hypothalamus related to feeding behavior in LEC rat

(LEC ラットの食物摂取行動に係わる視床下部中神経伝達物質の変動)

LECラットは肝臓に銅が異常蓄積する先天性銅代謝異常ラットで、Wilson病のモデル動物となっている。LECラットの銅代謝異常と食物摂取との関係については不明な点が多い。

本研究では、LECラットの食物摂取に脳内の銅代謝や食物摂取中枢がいかに関与しているかを明らかにするために、LECラットの視床下部中の銅濃度、食物摂取中枢を制御する神経伝達物質の代謝および食物摂取量の変動について検討した。

実験は、4、10および20週齢のLECラットと対照群としてLEAラットを用いて、ICP-MS法でラット視床下部の銅濃度、マイクロダイアリシス法によるラットの外側視床下部、高カリウム刺激前後におけるアセチルコリンの放出量、および視床下部のカテコールアミン、5-HTおよびそれらの代謝物質の測定を、HPLC-ECD法で行った。さらに、食物摂取、体重、血漿グルコース、アルブミン、総コレステロールの測定を同時に行った。

その結果、LECラットの視床下部中銅濃度は、4週齢では低く、10週齢で対照群とほぼ同程度となり、以後加齢に伴い増加することが明らかとなった。視床下部における銅濃度の変動は食物摂取中枢の制御に係わる神経伝達物質の代謝に影響を与えているかを明らかにするために、視床下部のアセチルコリン、5-HTおよびカテコールアミンを検討した結果、これらの神経伝達物質は年齢依存性に増減することが明らかになった。すなわち、4週齢のLECラットでは、外側視床下部からのアセチルコリン放出量の増加、10週齢では、視床下部中NE濃度の減少、さらに、20週齢では、視床下部中5-HT代謝の亢進が認められた。

4週齢のLECラットのアセチルコリン放出量が増加する機構については、脳内銅濃度が低下していること、アセチルコリン合成酵素のコリンアセチルトランスフェラーゼ(CAT)活性が銅により抑制を受けること、さらに視床下部外液中のコリン量の動態から、両群間にアセチルコリンエステラーゼ活性の変動が認められないことから、CATの活性が亢進したことによりアセチルコリンの合成が促進され、その結果、放出量が増加した可能性が示唆された。しかし、脳内の銅濃度が低下すると、ムスカリニック受容体の密度および親和性が減少することが知られており、このことがアセチルコリンの放出量に影響した可能性も考慮する必要がある。

外側視床下部でアセチルコリンは食物摂取中枢に作用して、食物摂取を抑制することが知られており、外側視床下部からのアセチルコリン放出量の増加は、LECラットの食物摂取量を抑制している

と考えられる。

本研究で明らかにされた L E C ラットの 10 週齢における N E 濃度の低下の機構については不明であるが、L E C ラットの大脳皮質中の銅濃度が若年齢で低下することは、視床下部での N E の減少にも銅代謝異常が関連している可能性が示唆される。いずれにしても、視床下部中 N E の低下は、N E の食物摂取中枢での食物摂取促進作用を減少させ、L E C ラットの食物摂取量を抑制したものと考えられる。

脳内では、銅が 5 - H T の代謝に直接関与しているという報告はないが、M a r t i n らは、脳組織中の銅濃度低下を示す先天性銅代謝異常のブリンドルマウスで、脳内 N E 濃度の低下と脳内 5 - H T および 5 - H I A A 濃度の増加を報告し、これは脳内銅濃度の低下によりカテコールアミン神経繊維の成長が抑制され、そのかわりに 5 - H T 神経繊維が通常より多く成長した結果であることを示した。また、L E C ラットにおいても、大脳皮質のカテコールアミン代謝が抑制され、5 - H T の代謝が亢進していることが報告されており、本研究で明らかになった 5 - H T 代謝の亢進はブリンドルマウスと同様な機構で起こっている可能性が示唆された。

5 - H T は食物摂取中枢に存在する 5 - H T 受容体を介して、食物摂取量を抑制することが知られており、5 - H T 代謝の亢進は L E C ラットの食物摂取量を抑制していると考えられる。

以上から、本研究は、L E C ラットの視床下部において、銅濃度の年齢依存性の変動と、それに伴う食物摂取制御に関連する神経伝達物質の代謝変動が認められ、その変動は食物摂取を抑制することを明らかにし、L E C ラットに認められる食物摂取量の低下は単に肝炎の発症に伴うものだけではなく、食物摂取中枢の抑制効果によることが明らかにしたものであり、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院課程における研鑽や取得単位などを併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。