学位論文題名

Effects of Iron Deficiency on Iron Distribution and γ -Aminobutyric Acid(GABA)Metabolism in Young Rat Brain Tissues

(鉄欠乏ラットにおける脳内鉄分布および中枢
神経伝達物質 GABA の変動に関する研究)

学位論文内容の要旨

はじめに

鉄欠乏は、現在、中国を含む発展途上国において極めて重要な栄養学的問題の一つである。鉄欠乏貧血は不可逆的な中枢神経障害をもたらすことが示唆されている。脳内における部位別鉄分布にはかなりの差が認められ、中枢神経伝達物質GABAとGABA合成酵素GADの分布はよく一致することが知られており、GABA代謝と鉄の関係が注目されている。しかし、これらの関係を明らかにした研究はほとんどない。本研究では、鉄欠乏が脳内微量元素とGABA代謝に及ぼす影響をもたらすかを明らかにするために、鉄欠乏ラットの部位別脳内微量元素濃度、脳内GABA合成酵素(GAD)、GABA分解酵素(GABA-T)およびGABA含有量等の変動について検討した。

実験方法

Wistar系4週齢雄性ラットを、鉄欠乏群とコントロール群に分け、鉄欠乏群には100g当り鉄0.32mg含有の合成飼料を、コントロール群には100g当り鉄4.2mg含有の合成飼料を与え、それぞれ3週間と6週間飼育した。毎週鉄欠乏3週間群と6週間群および対照群のラット尾静脈から血液を採取し、Hb、Ht、赤血球数を測定した。HbはSLS-ヘモグロビン法、Htは毛細管高速遠心法、赤血球数は改良型Neubauer計算板を用いてそれぞれ測定した。血清中の不飽和鉄結合能(UIBC)はNitroso-PSAP法によって測定した。総鉄結合能(TIBC)はUIBC+血清鉄より求めた。飼育後、麻酔下でラットから心臓採血した後、0.9%生理食塩水で環流した後脳を剔出した。脳組織はGrowinskiらの方法で小脳、延髄+橋、視床下部、中脳、線条体、海馬、大脳皮質および嗅球に8分割した。Fe、Zn、Mn、Cuの測定には原子吸光法とICP-MS法を用いた。脳組織中のGADとGABA-T活性はLoweらとSalvadorらの蛍光分光法を用いて測定した。脳組織中のGABA、グルタミン酸とグルタミ

ンは HPLC-ECDにより測定した。

結 果

1. 体重

鉄欠乏3週間と6週間群のラットの体重はいずれも対照群に比較して、有意な低下が認められた。

2. 血液学所見

鉄欠乏群のHb、HtおよびRBCはいずれも飼育後約1週間目から対照群に比較して有意な低値を示した ($P < 0.001$)。また、鉄欠乏3週間群と6週間群の投与終了時の血清鉄濃度は有意な減少を示した。TIBCおよびUIBC濃度は対照群に比較して有意な増加を示した。

3. 脳内部位別Fe、Zn、Mn、Cu濃度

鉄欠乏3週間群の脳内8部位の鉄濃度は対照群に比較して有意ではないが、低下傾向が認められた。鉄欠乏6週間群の脳内部位別鉄濃度は対照群と比較して、視床下部、中脳、線条体、海馬および嗅球において有意な低下を示した。しかし、脳内8部位のZn、MnおよびCu濃度にはいずれも有意な変化は認められなかった。

4. 脳内4部位GADとGABA-T酵素活性

鉄欠乏3週間群の視床下部、中脳、線条体、海馬のGADおよびGABA-T酵素活性はそれぞれ対照群に比較して有意ではないが、低下の傾向を示した。一方、鉄欠乏6週間群の脳内4部位のGADとGABA-T酵素活性は対照群に比較して、有意な低下を示した。

5. 脳組織中GABA、グルタミン酸およびグルタミン濃度

鉄欠乏3週間群のラット線条体のグルタミンと6週間群のラット線条体のグルタミン酸濃度に有意な変化が認められたほかは、顕著な変動は認められなかった。

考 察

鉄は中枢神経伝達物質の代謝に密接に関連している。鉄欠乏が子供の学習能力に不可逆的な障害をあたえたり、その他の異常行動と結びついているなどが明らかにされている。脳内では、鉄含有量の高い部位とGABA濃度の高い部位とよく一致していることからGABAの代謝と鉄との間の関係が想定されている。本研究の成績から、鉄欠乏により、視床下部、中脳、線条体、海馬において鉄濃度が低下するが、Zn、MnおよびCu濃度には変化が認められないこと、また、GABA合成酵素(GAD)とGABA分解酵素(GABA-T)がともに低下することが明らかとなった。鉄はGABAの代謝経路においてGABA合成酵素であるグルタミン酸脱炭酸酵素 (Glutamic acid decarboxylase; GAD)とGABA分解酵素であるGABA-グルタミン酸アミノトランスフェラーゼ (γ -aminobutyric acid transaminase; GABA-T)の補酵素としての作用はないが、本研究の結果から、鉄がGABA代謝と密接に関連していることが示唆された。脳組織中で、鉄欠乏ラットのGABA濃度に変化が認められなかったのはGABAの合成および分解酵素が同時に低下したために、むしろGABA濃度が正常に保たれたものと考えられる。しかし、GABAは神経細胞とグリア細胞に存在しており、神

経伝達に直接かかわるシナプス中GABAの変動についての検討が今後必要であると考えられる。

結 論

鉄欠乏により、ラット脳内部位別鉄濃度の低下とそれに伴うGABA代謝の変動、特に、GABA合成酵素(GAD)およびGABA分解酵素(GABA-T)の活性が同時に低下することが明らかとなった。これらの事実は、鉄欠乏による中枢神経障害の機構の解明に役立つだけでなく、ヒトの鉄欠乏症に対する効果的な予防方法を確立するための重要な知見として、社会的、特に、発展途上国の予防医学に貢献すると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齋 藤 和 雄

副 査 教 授 岸 玲 子

副 査 教 授 浅 香 正 博

学 位 論 文 題 名

Effects of Iron Deficiency on Iron Distribution and γ -Aminobutyric Acid(GABA)Metabolism in Young Rat Brain Tissues

(鉄欠乏ラットにおける脳内鉄分布および中枢
神経伝達物質 GABA の変動に関する研究)

鉄欠乏は、現在、中国を含む発展途上国において栄養学的に最も重要な問題の一つである。脳内における鉄含量は部位により大きな差が認められ、また、鉄の分布と中枢神経伝達物質GABAの分布はよく一致することが知られており、GABA代謝と鉄の関係が注目されている。しかし、これらの関係を検討した研究はほとんどない。本研究では、鉄欠乏が脳内微量元素とGABA代謝にいかなる影響をもたらすかを明らかにすることを目的とした。実験には、Wistar系4週齢雄性ラットを、鉄欠乏群と対照群に分け、鉄欠乏群には100g当り鉄0.32mgの合成飼料を、また、対照群には100g当り鉄4.20mgの合成飼料を与え、それぞれ3週間と6週間飼育した。毎週血液を採取し、Hb、Ht、RBCを測定した。また、血清中の不飽和鉄結合能(UIBC)と総鉄結合能(TIBC)も測定した。ラットは心臓から採血後、脳を剔出し小脳、延髄+橋、視床下部、中脳と視床、線条体、海馬、大脳皮質および嗅球に8分割した。Fe、Zn、Mn、Cuの測定を原子吸光法とICP-MS法を用いて行った。脳組織中のGABA合成酵素(GAD)と分解酵素(GABA-T)活性は蛍光法を用いて、脳組織中のGABA、グルタミン酸とグルタミン濃度はHPLC-ECDにより測定した。その結果、ラットは鉄欠乏による鉄欠乏性貧血を示し、鉄欠乏3週間群の脳内8部位の鉄濃度は対照群に比較して低下傾向を示し、鉄欠乏6週間群の鉄濃度は対照群と比較して、視床下部、中脳と視床、線条体、海馬および嗅球において有意な低下を示した。しかし、脳内8部位のZn、MnおよびCu濃度にはいずれも有意な変化は認められなかった。脳内4部位のGADとGABA-T酵素活性は、鉄欠乏6週間群で対照群に比較して有意な低下を示した。脳組織中のGABA、グルタミン酸およびグルタミン濃度は鉄欠乏3週間群と6週間群の結果では、一部で変化が認められたが、鉄欠乏に伴う顕著な変動は認められなかった。脳内の鉄は、鉄含有量の高い部位とGABA濃度の高い部位がよく一致していることからGABA代謝と鉄との間の密接な関係が想定されてい

る。本研究の成績から、鉄欠乏により、視床下部、中脳と視床、線条体、海馬において鉄濃度が低下し、それに伴ってGADとGABA-Tが低下することが明らかとなった。一方、脳組織中で、鉄欠乏ラットのGABA濃度に変化が認められなかったのはGABAの合成と分解酵素の活性が同時に低下したためと考えられる。しかし、GABAは神経細胞とグリア細胞に存在しており、神経伝達に直接かかわるシナプス中GABAの変動についての検討が今後必要であると考えられる。

審査にあたって副査の岸教授から4週齢のラット脳の発育はヒトの何歳に相当するか、投与した鉄欠乏飼料中の鉄は必要量のいくりに相当するか、カテコールアミンやセロトニンなど他の神経伝達物質との関係、鉄欠乏による行動学的変化について、さらに副査の浅香教授から脳を8分割したことの確認、成熟または加齢ラットではどうか、GABA代謝の変化は鉄欠乏によるのか、貧血によるものか、鉄を補給するとどうなるかについて質問があり、申請者からは概ね良好な回答が得られた。

本研究はこれまで明らかでなかった鉄欠乏による中枢神経障害の機構の解明に役立つものであり、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（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。