

学位論文題名

ラットの一般行動および脳内モノアミン代謝に及ぼす
摂食機能修飾の影響

学位論文内容の要旨

【目的】

健康で生き生きとした生活をおくるためには健全な食生活が重要である。食べるという行為は、単に栄養を摂取するだけではなく、我々に食べる喜びや楽しみも与えてくれる。近年、高齢化による認知症や脳血管障害の増加に伴い、摂食・嚥下障害が著しく増大している。摂食・嚥下障害は、低栄養や脱水、誤嚥性肺炎、窒息、食べる喜びの喪失などにより、高齢者のQOLを著しく低下させるため、医療上看過できない問題となっている。摂食・嚥下障害が重度で、生存に必要な栄養を自力で経口摂取できない場合には、経管栄養や経静脈栄養が必要となる。非経口的な方法によって必要な栄養が十分に摂取されているにもかかわらず、術後もしくは生活の場において精神的な反応性の低下をきたしている症例が存在する。経口摂取の再開によって、このような症状が急速に改善することが少なからず観察され、食物を経口摂取することが情動や意欲に関連する脳部位に何らかの影響を与えていることは予測されるが、その機序を解明するための実験的な研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、食物の経口摂取が情動に関連した脳機能に及ぼす影響を解明する目的で、ラットを用いて摂食・咀嚼・嚥下に関わる機能を修飾した際の一般行動および不安関連行動について検討した。さらに脳内モノアミンおよび代謝物の含有量についても検討を試みた。

【方法】

Wistar 系雄性ラットを使用し、8 週齢時にラットの片側の舌下神経を切断して舌の運動を障害し、食物の摂取、口腔内での食塊形成および咽頭部への送り込みが困難なモデルと、3 週齢時の離乳直後から飼料の形態を粉末飼料に変更し、食形態の変化によって通常の咀嚼を阻害したモデルを作製した。定期的に体重測定と摂餌量の測定を行い、10～14 週齢時に Y-maze 試験、open-field 試験、高架式十字迷路試験、文脈的恐怖条件付け試験および social interaction 試験の行動学的検討を行った。また、粉末飼料を摂取させたラットでは行動学的検討の終了後に断頭して脳を摘出し、高速液体クロマトグラフィーで脳組織中のモノアミンおよびその代謝物の測定を行った。

【結果】

舌下神経を切断したラットでは、舌下神経切断処置後の体重変化と摂餌量の推移、ならびに行動学的検討においても sham 群との間に有意差を認めなかった。

粉末飼料を摂取させたラットでは、体重変化と摂餌量の推移は control 群との間に有意差を認めなかった。行動学的検討では、Open-field 試験において control 群と比べ順応期後半の 20～30 分で、粉末飼料摂取群の水平運動量が有意に増加した ($p<0.05$)。また、30 分間の総運動量は、粉末飼料摂取群が control 群に比べて有意に多かった ($p<0.05$)。また CFC 試験において、re-exposure の 5～10 分で粉末飼料摂取群の freezing 率の低下を認めた ($p<0.05$)。Y-maze

試験, EPM 試験, SI 試験ではいずれにおいても control 群との間に有意差を認めなかった。粉末飼料摂取群における脳内モノアミンおよび代謝物の含有量は, DOPAC と HVA が側坐核で control 群に比べて有意に少なく ($p < 0.05$), DA は同じく側坐核で少ない傾向がみられた ($p = 0.08$)。また, 5-HIAA が扁桃核で control 群に比べて粉末飼料摂取群で有意に少なかった ($p < 0.05$)。NA と 5-HT は測定したすべての部位で両群間に有意差は認められなかった。

【考察】

舌下神経切断ラットでは, 切断処置後の 1 週間は sham 群に比べて体重ならびに摂餌量の減少がみられたが, 最終的には有意な変化はみられなかった。これは, 切断処置直後は舌の運動が障害されたが, 次第に慣れが生じ, その運動障害を補うように摂食, 嚥下が可能となったため, 最終的には sham 群と変化がなかったものと考えられた。

粉末飼料摂取ラットでは, Open-field 試験で粉末飼料摂取群において順応期後半で運動量の増加を認め, CFC 試験の 5~10 分において粉末飼料摂取群が control 群に比べて freezing 率の有意な減少を示した。このことより, 粉末飼料摂取ラットは多動をきたしているものと解釈でき, 発達過程であり咀嚼しないことが DA 神経系に何らかの異常をきたした可能性が考えられた。そのため, DA を含むモノアミンおよび代謝物の組織内含有量の測定を行ったところ, 側坐核で DA の代謝産物である DOPAC と HVA の有意な減少が認められ, DA も減少傾向がみられたことから, 粉末飼料の継続摂取が側坐核において DA 神経系の機能を変化させ, 多動という行動変化を引き起こした可能性が考えられる。しかし, 多動という状態は一般的に覚せい剤などシナプス間隙の DA を増加させた場合に出現するが, 本実験ではそれとは逆に DA 量は減少していた。臨床の場面で言うならば, この状態は注意欠陥多動性障害という小児の精神疾患の病態に類似していると考えられる。現時点では多動と中脳辺縁 DA 神経系の機能低下が粉末飼料摂取ラットと注意欠陥多動性障害の類似点として挙げられるため, 今後, 粉末飼料摂取ラットで注意力の低下が存在するかどうか, 側坐核の DA 終末に変化がないか等を確認していく必要がある。

また, 側坐核 DA 神経系は主に快感を覚えたときに活動し DA を放出させるものであり, 今回の実験で粉末飼料を摂取したラットでは固形飼料を摂取したラットに比べて側坐核での DA 量が減少したことより, ラットにおいても固形飼料の食感を奪うと快感を覚えないことが推測される。食べる楽しみを奪われた患者においては, 経口摂取によって得られるはずの口腔感覚からの情報入力が極端に少ないため, 側坐核 DA 神経系の機能が低下し, 意識レベルの低下や抑うつ状態をきたすと考えられる。そのような状況下で食物の経口摂取を開始すると, 口腔感覚からの刺激が再び脳に伝わり, 側坐核 DA 神経系の機能が回復し, 精神機能も回復するのではないかと推測される。この仮説を実験的に検証していくためには, 摂食時に実際に側坐核で DA 遊離量の増加が認められるかを調べる必要があり, 今後の検討課題としたい。

扁桃核において 5-HT の代謝物である 5-HIAA が control 群に比べて粉末飼料摂取群で有意に少なかった。過去の研究より, 扁桃核の 5-HT 神経系がストレスや不安に何らかの役割を果たしていると考えられているが, 詳細は不明である。粉末飼料の継続摂取がストレスになりうるかも現時点では不明であり, 今回行った粉末飼料摂取ラットの行動学的検討においてもストレスや不安の応答に変化は認められていない。従って, この結果については現時点では意味付けが困難である。

【結論】

食物の経口摂取が情動に関連した脳機能にどのような影響を及ぼしているかを明らかにするため, ラットの摂食機能を修飾し, 行動学的検討と脳内モノアミンおよび代謝物の組織内含有量の検討を行った結果, 離乳後より粉末飼料を摂取していたラットにおいて, 運動量の増加および側坐核での DA とその代謝物の減少を認めた。このような摂食機能の修飾は, 報酬回路を構成する脳内 DA 作動性神経系に影響を与えている可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 戸 塚 靖 則

副 査 教 授 鈴 木 邦 明

副 査 教 授 船 橋 誠

副 査 教 授 吉 岡 充 弘 (医学研究科)

学 位 論 文 題 名

ラットの一般行動および脳内モノアミン代謝に及ぼす 摂食機能修飾の影響

審査は、審査員全員出席の下に、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口頭試問により行われた。審査論文の概要は、以下の通りである。

本研究は、食物の経口摂取が情動に関連した脳機能に及ぼす影響を明らかにするため、ラットを用いて摂食・咀嚼・嚥下に関わる機能を修飾した際の一般行動と不安関連行動、ならびに脳内モノアミン代謝について検討したものである。

実験には Wistar 系雄性ラットを使用し、8 週齢時にラットの片側の舌下神経を切断して舌の運動を障害し、食物の摂取・口腔内での食塊形成・咽頭部への送り込みが困難なモデルと、3 週齢時の離乳直後から飼料の形態を粉末飼料に変更し、食形態の変化によって通常の咀嚼を阻害したモデルとを作製した。定期的に体重測定と摂餌量の測定を行い、10～14 週齢時に Y-maze 試験、open-field 試験、高架式十字迷路試験、文脈的恐怖条件付け試験および social interaction 試験の行動学的検討を行った。また、粉末飼料を摂取させたラットでは行動学的検討終了後に脳を摘出し、高速液体クロマトグラフィーで脳組織中のモノアミンおよびその代謝物の測定を行った。

実験の結果は以下の通りである。体重変化と摂餌量の推移にはどちらの群のラットにおいても、control 群との間に有意差を認めなかった。また、舌下神経を切断群において、行動学的検討で sham 群との間に有意差を認めなかった。一方、粉末飼料摂取群の行動学的検討では、Open-field 試験において、順応期後半で、粉末飼料摂取群の水平運動量は control 群に比べて有意に多く、総運動量も有意に多かった。また CFC 試験において、re-exposure で粉末飼料摂取群に freezing 率の低下を認めた。Y-maze 試験、EPM 試験、SI 試験では control 群との間に有意差を認めなかった。これらの結果から、粉末飼料摂取ラットは多動をきたしており、発達過程で咀嚼をしないことが DA 神経系に何らかの異常をきたしたものと推測した。

そこで、DAを含むモノアミンおよび代謝物の組織内含有量を測定し、粉末飼料摂取群では、control群に比べて、側坐核でDA代謝産物のDOPACとHVAが有意に少なく、DAも少ない傾向があることを明らかにした。これらの結果から、粉末飼料の継続摂取が側坐核においてDA神経系の機能を変化させ、多動という行動変化を引き起こしたのではないかと推論した。ただし、多動という状態は一般にシナプス間隙のDAを増加させた場合に出現するもので、本実験ではそれとは逆にDA量は減少していた。この状態は小児の精神疾患である注意欠陥多動性障害に類似しており、今後両者の関連を明らかにする必要がある。また、側坐核DA神経系は主に快感を覚えたときに活動してDAを放出させるものであることから、粉末飼料摂取ラットにおいて側坐核でDA量が減少していたことは、ラットにおいても固形飼料の食感が快感を生じさせることを示唆している。

本研究の結果から、食べる楽しみを奪われた患者においては、経口摂取によって得られるはずの口腔感覚からの情報入力が極端に少ないため、側坐核DA神経系の機能が低下し、意識レベルの低下や抑うつ状態をきたす。そのような状況下で経口摂取を開始すると、口腔感覚からの刺激が再び脳に伝わり、側坐核DA神経系の機能が回復し、精神機能も回復するのではないかと推論している。

論文の審査にあたって、論文申請者による研究の要旨の説明後、本研究ならびに関連する研究について質問が行われた。

主な質問事項は、

- 1) freezing率の低下は多動によるものか、あるいは恐怖の記憶の消失によるものか、どう判断するか、
- 2) 口腔感覚が変わることによって辺縁系のみに変化が見られたのは何故か、
- 3) 多動の原因にはどのようなものがあるか、
- 4) Open-field試験の結果の解釈について、等であった。

いずれの質問についても、論文申請者から明快な回答が得られ、また将来の研究の方向性についても具体的に示された。本研究は、粉末飼料摂取ラットで、運動量の増加および側坐核でのDAとその代謝物の減少が認められることを明らかにし、食物の摂取様式が情動に関連した脳機能に影響を与えること、幼児期の咀嚼は脳の発達にとって重要であることを明らかにしたことが高く評価された。本研究の業績は、口腔外科の分野はもとより、関連領域にも寄与するところ大であり、博士(歯学)の学位授与に値するものと認められた。