

氏名	船 橋 誠
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博 乙 第 2806 号
学位授与の日付	平成 6 年 9 月 30 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 4 条第 2 項該当)
学位論文題目	Glucose-responsive neurons Exist Within the Area Postrema of the Rat : In Vitro Study on the Isolated Slice preparation (ラット最後野中のグルコース応答性ニューロンに関する神経生 理学的研究：スライス標本を用いて)
論文審査委員	教授 足立 明 教授 古田 裕昭 教授 杉本 朋貞

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【研究目的】

最後野は延髄背側部の脳室周囲器官で血液脳関門が欠落しており、悪心や嘔吐を引き起こす chemoreceptor trigger zone としてよく知られている。最近では、ラットを用いた最後野の破壊実験により、1) 好ましい味の食物に対する摂食量が増加する、2) 条件付け味覚拒否行動が消失、または減弱する、3) コレシストキニン (CCK-8) の腹腔内投与による摂食量の低下が抑えられるなどの報告があり、最後野と摂食行動との関連が示唆されている。また、多連微小電極法や第 4 脳室底の表面灌流法などを用いた、In Vivo における最後野のグルコース応答性ニューロンに関する電気生理学的な研究によって、最後野ニューロンが摂食調節に重要な役割を果たすことが明らかにされてきている。しかし最後野のニューロンは、末梢からの情報の中継核である孤束核をはじめとする脳の他の部分との線維連絡が密であるため、最後野のグルコース応答性ニューロン自身が内受容性ニューロンであるかどうか問題となっていた。そこで、本研究ではラット新鮮脳のスライス標本を用いて、他の部位からの入力を全て遮断した条件下で実験を行い、最後野中のニューロンについて、グルコース、CCK およびドーパミン (DA) に対する応答性を電気生理学的手法を用いて調べた。

【方法】

SD系の雄ラット(200~300g)を用い、断頭後すばやく脳を摘出し1~2℃の人口脳脊髄液(aCSF):NaCl;124, KCl;5, MgSO₄;1.3, KH₂PO₄;1.24, NaHCO₃;26, CaCl₂;2.1, Glucose;10(mM)中に1分間浸漬後、マイクロスライサー(DTK-3000)を用いて、最後野を含む厚さ300μmの前額断スライス標本を作製した。室温のaCSF中で1時間インキュベートした後、最後野と孤束核との境界部より最後野側のところで切離し、最後野のみをアイソレートして、チャンバー中に固定した。灌流用のaCSF:NaCl;124, KCl;5, MgSO₄;1.3, KH₂PO₄;1.24, NaHCO₃;26, CaCl₂;0.75, Glucose;6.5(mM)を95%O₂-5%CO₂でバブリングし、pH7.4, 35℃に保ち、流速1~1.5cc/分にて灌流した。グルコース応答性を調べるために、グルコースの濃度を10mMおよび3mMにしたaCSFを高濃度グルコース溶液、低濃度グルコース溶液として用いた。CCK, DAは純水にて溶解し注入ポンプを用いてチャンバーに注入し、CCKは最終濃度が2.1×10⁶M, DAは20μMになるように設定した。最後野ニューロンの応答は自発放電が認められるものについて微小電極法を用いて細胞外記録を行った。

【結果】

グルコースに対する応答を調べた67ニューロン中、高濃度グルコース溶液によって放電頻度が増加したものが15ニューロン、低濃度グルコース溶液によって放電頻度が増加したものが1ニューロン、変化を示さなかったものが51ニューロンであった。また、最後野ニューロンのCCKに対する応答は、放電頻度が増加したものと及び放電頻度が減少したものがあり、これらの中には高濃度グルコース溶液とCCKのどちらに対しても放電頻度が増加したニューロンが1つだけ認められた。DAに対する応答を調べたものでは、DAによって放電頻度が増加したものと及び、放電頻度が減少したものが認められたが、これらのDA応答性ニューロンはいずれもグルコース及びCCKには応答しなかった。

【考察】

アイソレートした最後野内にグルコース応答性ニューロン及びCCK応答性ニューロンの存在を確認できたことにより、最後野内のニューロン自身が内受容器としての機能を持つことが明らかとなった。これらの最後野ニューロンは、血流を介して血糖値の変化やCCKの血中濃度をモニターすることにより、摂食行動の調節に関与しているのではないかと考えられる。また、高濃度グルコース溶液により放電頻度が増加したニューロンの方が圧倒的に多かったこと、及びこれらのニューロンの中にCCKに対しても放電頻度の増加を示すものが認められることから、これらの最後野ニューロンは、空腹感の発現よりも、満腹感を起こし摂食を抑制することに、より深く関与しているのではないかと考えられる。

最後野中にDAに反応するニューロンの存在が確認されたことは、悪心の発現にDA作動性ニューロンが関与しているという報告を裏付けるものである。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット最後野中に存在するグルコース応答性ニューロンの応答様式と特性を、ラット新鮮脳のスライス標本を用いて、in vitroの条件下で詳細に分析したものである。従来、ラット最後野のグルコース応答性ニューロンは、行動科学的研究（破壊実験）からその存在が示唆されてきた。さらに、in situ条件下で微量電極法によってその神経応答が確かめられてきた。しかし、最後野は多くの神経核と密接な神経連絡を有するため、他の部位に存在するグルコース応答性ニューロンからの回り込み入力情報を観察しているのではないかとの疑問点が残されていた。本研究では完全に単離された最後野から、グルコースに対する応答を記録することにより、その疑問を解消し、かつ灌流実験の利点を生かして、CCKやドーパミンに対する応答を調べることにより、この特殊なニューロンの摂食調節における役割をも明らかにしたものである。よって本研究者は博士（歯学）の学位を得る資格があると認める。