

博士学位論文審査要旨

2022年7月13日

論文題目： The role of the nucleus of the solitary tract in rats with activity-based anorexia (活動性拒食症のラットにおける孤束核の役割について)

学位申請者： 石原 枝里子

審査委員：

主査： 脳科学研究科 教授 元山 純

副査： 脳科学研究科 教授 坂場 武史

副査： 脳科学研究科 教授 正水 芳人

要 旨：

拒食症は、陸上選手やバレエダンサーやアスリート等日常的に激しい運動を実施している状況で患者が多く認められること、アスリート等以外でも若年層を中心として発症例が多く見られること、かつ命に関わる疾患であること等、その発症機序の解明が求められるが未だ明らかでない。拒食症発症機序の解明には、動物の日々の運動量と摂食量の調節に関わる脳機能の理解が必要であるが、それも不明である。本学位研究の目的はラットを用いて活動性拒食症モデルを作成し、それらを用いて拒食症発症機序を理解することである。

申請者は、摂食時間の制限と自発的走行運動環境の設置によって活動性拒食症モデルラットを作成した。申請者はこのモデルラットで運動量増加に伴う摂食量減少の機構について、申請者自身による先行研究をもとに、運動による内在性オピオイドの増加が摂食量減少の原因であると仮定した。更に内在性オピオイドの脳内標的への作用が摂食量の減少につながると考え、摂食制御の神経経路である孤束核にオピオイド受容体阻害剤であるナロキソンを微量注入する実験を実施した。ところがこの操作ではモデルラットで拒食症症状の改善は観察されなかった。さらに局所的な孤束核の破壊実験を行い、孤束核破壊が運動の継続を困難にすることを見出した。すなわち、孤束核は運動量増加に伴う内在性オピオイドのシグナルの伝達には関わらないが、運動制御に重要な機能を果たすことで活動性拒食症の発症に関わることが示唆された。

博士学位論文公聴会では、英語による適切な研究発表を行った。質疑応答では論文についての問題点がいくつか指摘されたが、それに対して満足のできる回答・討論を行うことができた。

よって、本論文は、博士(理学)(同志社大学)の学位を授与するにふさわしいものであると認める。

総合試験結果の要旨

2022年7月13日

論文題目： The role of the nucleus of the solitary tract in rats with activity-based anorexia (活動性拒食症のラットにおける孤束核の役割について)

学位申請者： 石原 枝里子

審査委員：

主査： 脳科学研究科 教授 元山 純

副査： 脳科学研究科 教授 坂場 武史

副査： 脳科学研究科 教授 正水 芳人

要 旨：

博士学位申請者の石原氏に対して、2022年7月13日午後3時より総合試験を行なった。

石原氏の学位研究は、ラットを用いた活動性拒食症発症機序における摂食及び運動制御機構の脳内局在についての動物行動学的・薬理的解析である。そこで総合試験では主に動物行動学、薬理学、神経解剖学、神経科学の基礎及び専門的な知識についての試問を行った。なお語学試験については、総合試験の前に行った学位論文公聴会では研究発表を英語で行い、十分な語学能力（英語）が確認できた。

石原氏は、審査委員の質問について適切に答え、不明な点に関しては十分に論理的な考察を行った。また関連分野の基礎知識は十分に備わっていると判断した。専門的な知識については、まだまだ不十分な点も認められるが、概して満足のできるレベルにあると判断した。

以上を踏まえて、審査委員一同の協議の結果、総合試験の結果は合格であると認める。

博士學位論文要旨

論文題目： The role of the nucleus of the solitary tract in rats with activity-based anorexia (活動性拒食症のラットにおける孤束核の役割について)

氏名： 石原 枝里子

要旨：

活動性拒食症 (Activity-based anorexia : ABA) は、食事時間の制限と過剰なランニングによって引き起こされる摂食障害である。ABA はヒトの摂食障害のモデルでもあるため、不安や母子分離との関連を検討した先行研究が多いが、その主な原因は摂食抑制とランニングである。また、ABA の摂食障害にアプローチした先行研究は、多くが報酬に着目した研究であり、報酬価の高い食事で ABA 手続きを行うか、または摂食という行為自体に対する報酬価を高めて ABA 手続きをした実験が行われていた。しかし、標準的な食事を用いて、報酬価を高めずに、ABA ラットの摂食量の抑制について検討した先行研究は、これまでほとんどなかった。本論文は、ABA ラットが示す摂食障害について、摂食量の抑制に着目して検討し、さらに、その脳内メカニズムについて検証した研究である。

実験 1 の目的は、申請者自身の先行研究から導かれた仮説、すなわち、ABA ラットの摂食量が運動量に見合った量まで増加しない原因は、ランニングによって過剰に放出されるオピオイドが原因であるという仮説を検証し、さらに、そのオピオイドの影響が末梢性であるのか中枢性であるのか、そしてもし中枢性であれば、どの脳部位がオピオイドの主な作用部位であるのかを検証することであった。まず、ある先行研究では、ラットが走ることで体内にオピオイドが放出されることが明らかになり、また、ある先行研究では、過剰なオピオイドはラットの摂食量を減少させることが示された。そこで実験 1 では、内臓からの満腹情報を媒介する脳の孤束核 (NST) 中のオピオイドが、ラットの ABA 形成に関与しているかどうかを検証した。ABA 群のラットには、摂食時間の制限を設け、ランニングホイールを与えて走らせる ABA 手続きでしばらく飼育した後、摂食時間の開始直前に孤束核の内側部 (mNST) にオピオイド拮抗薬 (オピオイド受容体のアンタゴニスト) であるナロキソンまたは生理食塩水を、マイクロインジェクションにより投与した。統制群のラットには、摂食時間の制限のみを設けて同期間飼育し、その後、mNST にナロキソンまたは生理食塩水を、マイクロインジェクションにより投与した。その結果、ABA 群の摂食量は、mNST へのナロキソン投与によって増加しないことが示された。この結果から、ABA ラットのオピオイド増加による摂食抑制に、mNST は関与していないことがわかった。つまり、オピオイドによる ABA ラットの摂食抑制には、結合腕傍核や視床下部など、脳の他の部位が関わっている可能性が示唆された。

続く実験 2 では、ABA ラットの摂食行動に、そもそも NST が関与しているのかどうかを調べた。内臓からの満腹信号を脳が受け取る 2 つの経路のうち、NST 自身が、または NST を通る経路のどこかが満腹情報の増幅による摂食の抑制に関わっているとすれば、NST の破壊によって摂食の抑制が解除され、ABA ラットの摂食量は増加すると仮定した。一方、NST の破壊によっても摂食量の変化がなければ、NST や NST を通るルートは、満腹信号を通る経路であったとしても、ABA ラットの摂食抑制には関係ないといえる。各ラットの mNST を電気的に部分破壊した後、実験 1 と同じ方法で ABA 群と統制群を比較した。その結果、ABA 群のラットの体重は統制群と差がなく、mNST を破壊されたラットは ABA の状態を示さないことがわかった。また、ABA 群のラットの摂食量も、実験 1 と同様、統制群と差がなかった。しかし、ランニング量は

実験 1 と異なり、増加が実験期間の途中から鈍化した。この結果は、ABA 群のラットにおいて、mNST は摂食量の調節には関係せず、ランニング量の調節に関係していることを示している。

実験 1 の ABA 群と実験 2 の ABA 群それぞれのランニング量を比較すると、実験 2 の ABA 群のランニング量は、実験の初日に対して 7 日目と 8 日目では約 2 倍に増加していることから、NST の部分破壊はランニングを全く消失させるわけではなかったが、実験 1 の ABA 群よりは有意に少なかった。このことから、NST の部分破壊は、運動が一定量以上になることを抑制することで、過剰なランニングによる ABA を回避した可能性がある。また、NST が呼吸や運動時の頻脈、あるいは血圧調節に関与することを示した先行研究もあることから、NST が働くことで運動の増加が可能となることは十分考えられる。つまり NST は、摂食よりもむしろ運動の調節機能に関わることで、ABA の脳内メカニズムの一端を担っているのかもしれない。

今後の研究では、NST を破壊したラットについて、運動時の心拍数、血圧、呼吸などを、より詳細に検討する必要がある。さらに、NST の破壊によってオピオイド以外のどのような物質の働きが妨げられたのかについても検討することで、ABA における NST の役割がより明確になるだろう。また、摂食抑制物質が ABA ラットのランニング量を抑えたという先行研究や、その摂食抑制物質が NST にも作用することを示した先行研究がある。これらのことから、摂食調整物質の増減が摂食を抑制するだけでなく、同時に NST などに作用することで、ABA ラットのランニングを制御している可能性がある。このように、ABA の脳内メカニズムを解明するためには、摂食と運動の両面から検討し、それらを統合した病態モデルを作る必要があるだろう。