



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	L-ヒスチジンによる摂食抑制メカニズムの解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	奥舎, 有加
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11712号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59097
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuka_Okusha_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 奥 舎 有 加

学位論文題名

L-ヒスチジンによる摂食抑制メカニズムの解明

【目的】

L-ヒスチジンの腹腔内投与により、脳内ヒスタミン系神経を介して摂食抑制が生じるとする先行研究がある。しかし、L-ヒスチジンには亜鉛キレート作用があるため、L-ヒスチジン投与の際に亜鉛不足による味覚異常が惹起される可能性が指摘されており、摂食抑制メカニズムに疑問が残っている。また、L-ヒスチジンの腹腔内への大量投与による腹部迷走神経終末部に対する直接刺激や延髄最後野を介する悪心誘発の可能性が考えられるが、これを明らかにした研究はない。そこで本研究は、L-ヒスチジン腹腔内投与による味覚異常の有無および悪心誘発の可能性とその機序について調べ、L-ヒスチジンによる摂食抑制メカニズムの詳細を解明することを目的として行った。

【方法】

本研究は国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定を遵守して行った。

SD 系雄性ラット (250～350 g) を対照群（生理食塩水, 9.0 ml/kg 体重, i. p. ）、軽度から中等度の摂食抑制を惹起する低濃度 L-ヒスチジン群 (0.75 g/9.0 ml 生理食塩水/kg 体重, i. p. ）、激しい摂食抑制を惹起する高濃度 L-ヒスチジン群 (2.0 g/9.0 ml 生理食塩水/kg 体重, i. p.) の 3 つに分けた。0.05mM キニーネ溶液と脱イオン水を用いて苦味に対する味覚検査を行った後、味覚嫌悪学習の獲得を指標に、悪心発現の有無を調べた。味覚嫌悪学習のプロトコールは飲水トレーニング、味覚嫌悪条件付け、回復日、CTA 測定の際に実験を行った。実験動物に対して 23.5 時間の絶水期間と、それに続く 30 分間の飲水時間を設定して 7 日間繰り返し、2 個の給水容器に脱イオン水を入れ飲水トレーニングを行った。トレーニング終了翌日に 0.1% サッカリン溶液による甘味を条件刺激とし、L-ヒスチジン塩酸塩 (0.75 g/9.0 ml 生理食塩水/kg 体重, n=6; 2.0 g/9.0 ml 生理食塩水/kg 体重, n=5) または生理食塩水 (9.0 ml/kg 体重, n=5) を無条件刺激とした。CTA 測定は、条件付けの 2 日後に開始し 5 日間行った。CTA 測定には、23.5 時間絶水後に脱イオン水を入れた給水容器と 0.1% サッカリン水溶液を入れた給水容器を同時に 30 分間ケージに装着して実験動物に呈示し各液の摂取量を測定する 2 ボトル飲水テスト法を行った。

CTA を行ったラットを用いて、免疫組織染色を行った。脳幹部における c-Fos タンパクの発現を免疫染色により計測して神経活動の指標とした。さらに、腹部迷走神経と L-ヒスチジン誘発の摂食抑制および悪心の連関を調べるために、迷走神経前胃枝切離ラットを作成し、摂食料測定実験、味覚嫌悪学習、免疫組織染色を行い、迷走神経前胃枝切離の影響を調べた。

【結果と考察】

味覚検査において、3 群の間でキニーネ溶液と脱イオン水の摂取量に有意な変化は認めなかった。高濃度 L-ヒスチジン群は、味覚嫌悪学習の獲得と、最後野の c-Fos 陽性細胞数の増加を認めた。迷走神経前胃枝切離により、低濃度 L-ヒスチジン群の摂食抑制効果が減弱した。

L-ヒスチジンがもつ金属キレート作用のため、L-ヒスチジン腹腔内投与により亜鉛の血中動態や尿中排泄量の変化が指摘されている。しかし、亜鉛の恒常性は主に腸管における亜鉛の吸収と内因性亜鉛の排泄により調節されており、血中亜鉛濃度の減少や亜鉛の尿排泄量増加が即時的に亜鉛不足として現れるわけではないと考えられる。また味覚異常は舌の味細胞のターンオーバーが生じて発症するため、発症までに時間を要する。今回、単発の腹腔内投与後 1 時間後から摂食抑制効果が現れている時間軸を考えると、投与後即時的な摂食抑制と亜鉛不足による味覚異常は関連性が低いと考えられる。また、最近では亜鉛欠乏と味覚異常との因果関係自体を疑問視する報告も多数見られ、むしろ、長期的な L-ヒスチジン摂取による摂食抑制作用の方が今後の検討課題として興味深いところである。

悪心の変化を定量するために用いた CTA を指標とした行動学的方法は、動物が新奇な味刺激を呈する飲食物を摂取した後、悪心などの体調異常を経験すると、その味が好ましくないものとして連合学習される結果、次に同じ味刺激を与えられても拒絶するという行動を解析したものである。また、免疫組織染色で計測した c-Fos の発現は、神経興奮マーカーであり、高濃度 L-ヒスチジン投与による最後野の c-Fos 陽性細胞数の増加は、多数の最後野ニューロンが高濃度 L-ヒスチジンに応答して、膜電位の脱分極を誘発していることを示している。本実験で、味覚嫌悪学習と c-Fos 免疫組織染色の結果から L-ヒスチジン 0.75 g/kg 群では悪心は生じていないものの、L-ヒスチジン 2.0 g/kg 群では悪心が生じていることが明らかになり、L-ヒスチジン腹腔内投与によって悪心を誘発する濃度が 0.75 g/kg 体重から 2.0 g/kg 体重の間にあることが示唆された。さらに、高濃度 L-ヒスチジン投与により誘発された悪心は最後野を介しているものだった。最後野の毛細血管は血液脳関門を欠くため、血液中の化学物質が最後野ニューロンに到達することが可能である。また、最後野は迷走神経求心性線維の直接投射を受ける。高濃度 L-ヒスチジン投与による悪心が、血液中の物質動態に関する液性情報によるものなのか、内臓感覚を伝える迷走神経情報によるものなのかは本実験からは明らかではな

い。しかし、腹部迷走神経前胃枝を切離しても最後野の c-Fos 陽性細胞数の減少は認められなかったことから、高濃度 L-ヒスチジン投与による悪心誘発は最後野の液性情報による可能性が考えられる。

また、腹部迷走神経前胃枝切離により低濃度 L-ヒスチジン投与による摂食抑制効果の減弱と孤束核の神経活動が減少した。孤束核は内臓求心性線維を含む腹部迷走神経が収束する神経核であり、L-ヒスチジンが腹部迷走神経を刺激し、その情報が延髄孤束核を経由し視床下部に伝達することで摂食抑制を引き起こす可能性が示唆された。

【結論】

L-ヒスチジン腹腔内投与により味覚異常が惹起されず、高濃度 L-ヒスチジン投与により悪心誘発を伴った摂食抑制が生じることが明らかとなった。また低濃度 L-ヒスチジン投与による摂食抑制は、腹部迷走神経前胃枝の調節を受けることが示唆された。