

氏名・(本籍) 塩入 俊 樹 (長野県)
学位の種類 医学博士
学位記番号 医博第 92 号
学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与年月日 平成 3 年 3 月 23 日
学位論文題目 Motor activity correlates negatively with free-running period,
while positively with serotonin contents in SCN in free-running
rats
(フリーラン運動ラットにおける運動量はフリーラン周期と負の相関、
視交叉上核内のセロトニン含量と正の相関を示す)

審 査 委 員 主査 教授 横 田 敏 勝
副査 教授 高 橋 三 郎
副査 教授 前 田 敏 博

論 文 内 容 要 旨

〔目 的〕

最近、内因性時計機構のフリーラン周期を変える因子が数多く報告されている。我々の研究室でも、回転かご付きのケージで飼育したラットの方が回転かごのない通常のケージで飼育した場合よりもフリーラン周期が短くなること、及び回転かご群では運動量がフリーラン周期と負の相関を示すことが見出された。一方、運動自体が脳内アミンの代謝に影響を与えるという報告もある。本研究の目的はフリーラン周期、運動量、及び脳内モノアミンの三者の関係を調べることである。

〔方 法〕

実験には Wistar 系雄性ラット 101 匹を使用した。動物は出生後直ちに寒冷麻下にて眼球を摘出し、恒温・恒湿で定時照明の人工環境下にて飼育し、生後 22 日目に離乳した。その後、1 つのケージ (40 × 25 × 20 cm) に各 6 匹から 7 匹ずつ入れ、環境に順応させた後、6 週齢にて実験を開始した。摂食、飲水には制限を加えず、測定期間中は周期に影響を及ぼす可能性のある外部刺激を与えなかった。ラットを回転かご付きのケージ (12 × 18 × 14 cm) と通常の回転かごなしケージ (40 × 25 × 20 cm) にそれぞれ無作為に一匹ずつ入れ、回転かご群ではその回転数

を、通常ケージ群ではオートメックスにて移所運動量を30分ごとにパーソナルコンピューターに記録した。測定期間は2週間とし、毎日の活動記録から回転かご群では活動開始時点、移所運動群では活動終了時点を直線でつなぎ、その直線の傾斜からそれぞれのフリーラン周期を決定した。フリーラン周期決定後、活動周期開始前後3時間 (Circadian Time (CT) 9, CT15)、活動期終了前後3時間 (CT21, CT3) にラットを断頭後、脳を直ちに凍結し、前頭前野 (FC)、線条体 (ST)、視床下部 (HY)、海馬 (HC)、視交叉上核 (SCN) を切り出した。脳組織は氷冷したPCA溶液にてホモゲナイズし、chloroformにて脱脂肪した。これを遠沈し、えられた上清を電気化学検出器-高速液体クロマトグラフィーを用いて norepinephrine (NE)、dopamine (DA)、3, 4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)、homovanillic acid (HVA)、serotonin (5-HT)、5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) を測定した。2週間の測定により得られたデータをもとに、運動量とフリーラン周期との相関、フリーラン周期と各モノアミン及びその代謝産物との相関などについて解析を行い、統計処理には回帰分析を用いた。

〔結果〕

行動リズムのフリーラン周期は、回転かご群が24.1hと移所運動群(24.4h)より短くなった。また、回転かご群での個体間ばらつきが大きく、23.4時間から24.7時間の間に分布した。フリーラン周期は回転かごの一日平均回転数と負の相関が($r = 0.71$)、また回転かごの活動期の長さとの間にも負の相関が認められた($r = 0.44$)。回転かご群において、SCN内5-HT含量は活動量の大きいラットに高値が見られ、正の相関を示した($r = 0.69 \sim 0.88$)。また、SCN内5-HT含量とフリーラン周期の間にも負の相関が認められた($r = 0.64 \sim 0.82$)。SCN以外の部位では、FCでDA含量と活動量(回転かごの一日平均回転数)との間に正の相関が認められた($r = 0.52 \sim 0.65$)。

〔考察〕

回転かご群では、移所運動群に比べフリーラン周期のばらつきが大きいこと、平均周期が短いことが報告されているが、本研究の結果はそれに一致するものであった。また、運動量が高い個体ほどフリーラン周期が短いことが確認された。今回、SCN内の5-HT含量と運動量との間に正の相関があることを初めて見出した。しかも、5-HT含量がさらにフリーラン周期と負の相関を示したことから、活動性が高まり、5-HT系ニューロンの活動性が変化したことによって、フリーラン周期が変化したという因果関係が示唆される。これまで、アプリジアを用いた実験では5-HT投与によりcAMPを介すると思われる位相変位が報告されており、また哺乳動物で5-HT受容体の拮抗薬が位相変位を起こすとの報告もある。さらに、SCNには、縫線核から豊富な神経支配を受けており、以上より5-HTが時計機構に何らかの作用を及ぼしている可能性は十分に考えられる。

〔結 論〕

出生直後に眼球摘出を行った雄性ラットの運動量を二つの異なる測定装置で計測し、そのサーカディアンリズム及び脳内モノアミン量を測定した。運動量とフリーラン周期との間には負の相関が認められ、SCN内での5-HT量は運動量及びフリーラン周期と相関した。以上の結果により、運動量が時計機構に影響を及ぼし、周期を変化させることが明らかになり、その機構には5-HTニューロンが関与している可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

本論文はほぼ24時間の周期をもつ概日リズムの研究報告である。回転かご付きケージで飼育し、自由な運動が可能としたラットのフリーラン周期が、回転かごのない通常のケージで飼育したラットのフリーラン周期よりも短いことが知られていた。このような背景を踏まえて、フリーラン周期と運動量および脳内モノアミンの相互関係が調べられた。

生後直ちに眼球を摘出した6週令のラットを回転かご付きケージと通常回転かご無しケージのそれぞれに一匹ずつ入れ、回転かご群では30分毎の回転数、通常ケージでは30分毎の移所運動量を2週間連続記録した。運動のフリーラン周期の平均値は、回転かご群で24.1時間、移所運動群で24.4時間であった。しかし、回転かご群では個体間のばらつきが大きく、23.4時間から24.7時間の間に分布していた。フリーラン周期と、回転かごの一日平均回転数の間に負の相関があった。またフリーラン周期と回転かごの活動期の長さの間にも負の相関が認められた。フリーラン周期決定後、活動期開始予想時点の3時間前と活動期終了予想時点の3時間前、活動期の開始後および終了後3時間に断頭して、前頭前野、線条体、視床下部、海馬、視交叉上核のモノアミンとその代謝産物を測定した。その結果、視交叉上核内serotonin量が、運動量の多いラットで高い値を示すことが見出された。また、視交叉上核内serotonin量とフリーラン周期の間にも負の相関が認められた。これらの結果から、運動量が増加すると、視交叉上核内に神経線維終末部をもつserotonin作動性ニューロンの活動が亢進して、フリーラン周期が短縮することが示唆された。

本研究は、運動量、概日リズム、視交叉上核内serotoninの相互関係を明らかにしたもので、学位を授与するにふさわしい内容をもつと評価される。