

鳥居食情報調節プロジェクトの研究成果

目次

1. オペラント型行動観察	2
2. 選択摂食行動観察	4
3. 適応的食行動における迷走神経系の役割	6
4. 生理活性物質の微量アッセイ法	8
5. ランタニド元素を用いた蛍光イムノアッセイ法の確立	10
6. キャピラリー電気泳動による競合的 PCR 法	11
7. アクチビン A に対する抗体	13
8. 免疫組織化学によるアクチビンの分布	14
9. 無麻酔動物を用いた MRI 技術	16
10. MRI 装置を用いた脳機能、肝機能の測定および画像化	17
11. 無麻酔下での単一ニューロンの応答の記録	19

1. オペラント型行動観察

オペラント型行動観察装置を用いて、欠乏栄養素の要求性を数量化する方法を開発

研究成果の概要

ラットに対するオペラント条件付けは、バー押し 30 回に対して正常食ペレット 1 個 (50mg) を与える定率強化とし、1 日 1 回 1 時間の試行で、5 分間毎のバー押し回数を記録し、バー押し反応を観察した(図)。

リジン欠乏ラットは 5 分間に 400~500 回という強いバー押し反応を示し、欠乏栄養素(リジン)に対する要求性を数量化することが可能になった。このバー押し反応は、リジンの自由摂取や視床下部外側野への連続投与により著しく抑制されること、さらに神経栄養因子であるアクチビンそして拮抗的に阻害するインヒビンあるいはアクチビンの結合蛋白で活性を抑制するフォリスタチンの視床下部外側野への連続微量投与によっても抑制されることが明らかになり、欠乏栄養素の認識には摂食中枢である視床下部外側野が関与すること、生体が蛋白栄養状態を把握するうえで、個々のアミノ酸の濃度変化と同様に神経栄養因子が重要なシグナルとして働いていると推測された。

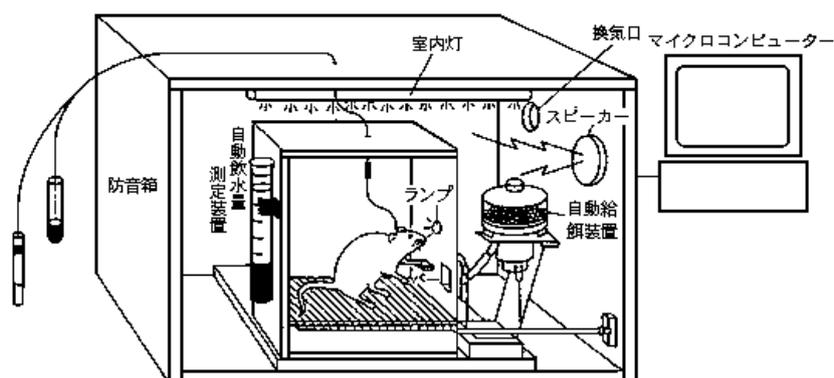


図 オペラント型行動観察システム

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 特定栄養素に対する認識部位の検索
- 2) 生理的・要求性の数量化

特許出願

なし

報告書他

- 1) R.L.Hawkins, M.Inoue, M.Mori and K.Torii: Lysine Deficient Diet and Lysine Replacement Affect Food Directed Operant Behavior, Physiology & Behavior, 56:1061-1068; 1994.

- 2) R.L.Hawkins, M.Inoue, M.Mori and K.Torii: Effect of Inhibin, Follistatin or Activin Infusion into the Lateral Hypothalamus on Operant Behavior of Rats Fed Lysine Deficient Diet, Brain Research, in print
- 3) R.L.Hawkins, M.Inoue, M.Mori and K.Torii: Operant Behavior in Rats under Lysine Deficiency, International Congress of Nutrition, Abstract, p.352; 1993.
- 4) R.L.Hawkins, M.Inoue, M.Mori and K.Torii: The Lateral Hypothalamic Area as a Recognition Site for Lysine Deficiency: Effect of Inhibin or Activin Infusion, Association for Chemoreception Sciences, A Chems-XVII, Abstract, #253; 1995.
- 5) R.L.Hawkins, M.Inoue, M.Mori and K.Torii: Operant Behavior for Lysine Deficiency: Effect of Inhibin or Activin Infusion into the Lateral Hypothalamic Area, 4th IBRO World Congress of Neuroscience, Abstract, p.394; 1995.

〔研究者名〕 リチャード・ホーキンス

2. 選択摂取行動観察

栄養欠乏や代謝性疾患モデル動物において、アミノ酸などの特定栄養素に対する選択摂取行動を観察した。

研究成果の概要

栄養欠乏モデルとしてリジン欠乏食摂取ラットを、自然発症肝障害モデルとして Long-Evans Cinnamon(LEC)ラットを、糖尿病モデルとしてストレプトゾトシン投与ラットをそれぞれ用い、各種アミノ酸水溶液に対する選択摂取行動を調べた。

リジン欠乏ラットはリジンを摂取し、アミノ酸恒常性の維持に必要な栄養素を把握し、自ら選択摂取できることが確認された。LECラットはプロリンを多く選択摂取した(図)。

また、ウイルス性肝炎モデルとして知られているガラクトサミン誘発劇症肝炎ラットにおいて、プロリン投与による肝炎抑制効果が確認された。

糖尿病ラットは、食塩、グルタミン酸ナトリウム、アルギニン、分岐鎖アミノ酸を選択摂取した。尿排泄量の増加によるナトリウム要求量の増加や糖新生の亢進に伴う尿素回路の賦活化などに対応し、生体恒常性の乱れを最小限にするよう選択摂取行動が行なわれると考えられた。

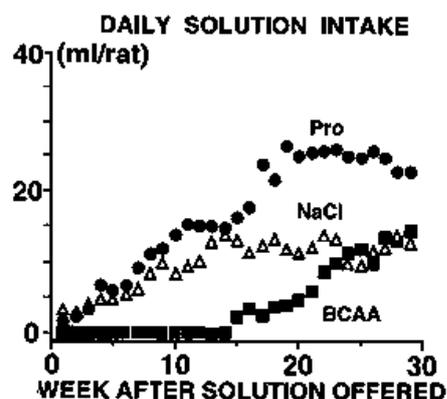


図 Long Evans Cinnamon(LEC)ラットの アミノ酸に対する選択摂取行動
LECラットに、銅欠乏食を与え、飲料水として蒸留水とともに、食塩および15種類のアミノ酸水溶液を自由に選択摂取させた。図には主に選択摂取されたプロリン(Pro:●)、分岐鎖アミノ酸混合(BCAA:■)、食塩(NaCl:△)の各水溶液摂取量を示した。

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 病態別栄養改善法の確立
- 2) 代謝性疾患における予防・治療薬シーズ探索

特許出願

- 1) 抗肝炎剤

特 願：平7-3181459(平7.12.6)

出 願 人：新技術事業団、鳥居 邦夫、森 将人

請求の概要：劇症肝炎をはじめとする肝臓障害の予防、改善に有効なプロリンを成分とする抗肝炎剤。

報告書他

- 1) R.L.Hawkins, M.Mori, M.Inoue and K.Torii: Proline, Ascorbic Acid, or Thioredoxin Affect Jaundice and Mortality in Long-Evans Cinnamon Rats, Pharmacology Biochemistry and Behavior 52:509-515; 1995.

- 2) M.Mori, R.L.Hawkins, M.Inoue and K.Torii: Protective Effect of Proline Administration on Incidence of Jaundice and Mortality in the Long-Evans Cinnamon Rat, Federation of American Societies for Experimental Biology Annual Meeting, FASEB Journal, Vol.9, No.3, Part I, p.A454; 1995.
- 3) 森 将人、R.L.Hswkins,田島 清、鳥居 邦夫「自然発症肝障害ラットにおける各種アミノ酸に対する選択摂取行動と肝障害に及ぼす影響」第 49 回日本栄養食糧学会予稿集,p.139;1995.
- 4) M.Mori, R.L.Hawkins and K.Torii: Preference for Glucose and Amino Acids in Adult Rats before and after Streptozotocin Treatment, 15th International Diabetes Federation Congress, Abstract, #0517; 1994.
- 5) K.Tajima, M.Mori, H.Fujimura and K.Torii: Preference for Glucose and L-Amino Acids in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, Association for Chemoreception Sciences, A Chems-XVII, Abstract, #40; 1995.

〔研究者名〕 森 将人、リチャード・ホーキンス、田島 清

3. 適応的食行動における迷走神経系の役割

必須アミノ酸欠乏食下の食行動調節における迷走神経の役割を実験行動科学的手法を用いて研究。

研究成果の概要

必須アミノ酸欠乏食に対してラットは摂食抑制をおこし、無蛋白食に選択させると無蛋白食の方をより多く摂取する。この選択率は、飼料中の制限アミノ酸含量と相関する。そこで、リジン欠乏食と無蛋白食とを選択させる条件下で、リジンを胃内、腹腔内あるいは側脳室内に連続注入し選択率の変化を観察した結果、欠乏アミノ酸の主要な生体中検知部位は消化管からの吸収以降にあることが推測された。

さらに、同様の選択条件下でリジン腹腔内連続投与し、飼料選択率に対する迷走神経各分枝の選択的切断による影響を調べたところ、必須アミノ酸欠乏に関連する適応的な食行動の変化にとって、学習性の嫌悪および嗜好の両方に迷走神経が肝臓枝を中心に関与していることが明らかになった(図)。また、迷走神経各分枝間の協働が重要であることも示唆された。これらの迷走神経が関与する経路は必ずしも唯一のものではなく、長期にわたる欠乏では迷走神経系以外でも代償される可能性が考えられた。

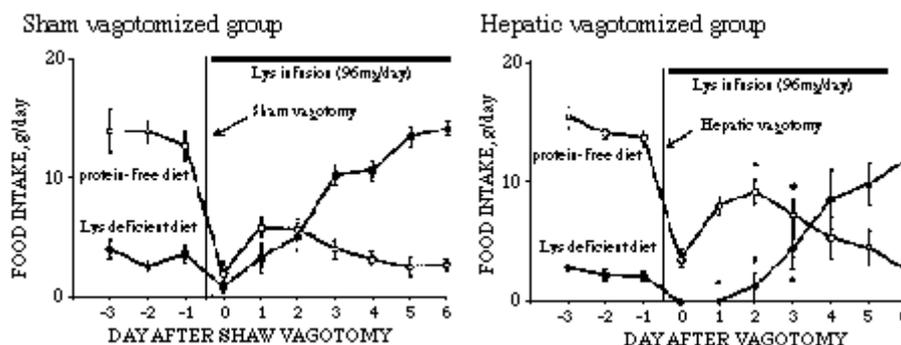


図 迷走神経肝臓枝切断の無蛋白食およびリジン欠乏食選択に及ぼす影響
左は偽手術群、右は肝臓枝切断群における各飼料の摂取量を示した。

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 特定栄養素に対する認知部位の探索

特許出願

なし

報告書他

- 1) M.Inoue, M.Funaba, R.L.Hawkins, M.Mori and K.Torii: Effect of Continuous Infusion of Lysine via Different Routes and Hepatic Vagotomy on Dietary Choice in Rats, *Physiology & Behavior*, 58:379-385; 1995.

- 2) M.Inoue, K.Torii, R.L.Hawkins, M.Funaba and M.Mori: Selection among Protein-free, Lysine Deficient or Sufficient Diets and Effect of Hepatic Vagotomy in Rats, Federation of American Societies for Experimental Biology Annual Meeting, FASEB Journal, Vol.8, No.5, Part II, p.A730; 1994.
- 3) M.Inoue, M.Funaba, R.L.Hawkins, M.Mori and K.Torii: Effect of Selective Vagotomy on Dietary Choice between L-Lysine Deficient and Protein-Free Diets in Rats, Association for Chemoreception Sciences, A Chems-XVII, Abstract, #41; 1995.
- 4) M.Inoue, M.Funaba, R.L.Hawkins, M.Mori and K.Torii: Effect of Selective Vagotomy on Dietary Choice between L-Lysine Deficient and Protein-Free Diets in Rats, 4th IBRO World Congress of Neuroscience, Abstract, p.432, 1995.

〔研究者〕 井上 雅司

4. 生理活性物質の微量アッセイ法

ヒドラ、マウスフレンド細胞を用いたバイオアッセイ法により、神経栄養因子の微量定量法を確立。

研究成果の概要

ヒドラ(*Hydra japonica*)は、体長約2mmの腔腸動物である(図1)。ヒドラは、S-メチルグルタチオンで刺激されると触手を縮める反応(Tentacle ball formation)を濃度上昇に伴って5回示すが、この反応は成長因子で処理することにより5回のいずれかが抑制される。このヒドラの成長因子に対する反応は非常に鋭敏であり、かつ、成長因子によって特徴的な変化を示すことから、サンプル中に含まれる成長因子の検出には非常にユニークな方法である。しかし、数種類の成長因子において、同じ反応を示す場合があり、また、未知の因子による反応である可能性を除外することができない。我々は、アクチビンとインヒビンに対する抗体を用い、ヒドラのインヒビンとアクチビンに対する反応を弁別することに成功した(図2)。この方法により、ラット血清中に含まれるアクチビンとインヒビンの特異的検出および量的な検討を行い、その変化を表1に示した。

マウスフレンド細胞をアクチビンで処理すると、アクチビンの用量依存的にフレンド細胞をヘモグロビンを産生する細胞へと分化する。この、アクチビンの赤芽球分化誘導因子(Erythroid Differentiation Factor;EDF)としての活性を利用して、ラット血清中のアクチビン活性を測定した。その結果、ヒドラバイオアッセイとフレンド細胞バイオアッセイとから、整合性の高い結果を得た。(図3、表1)

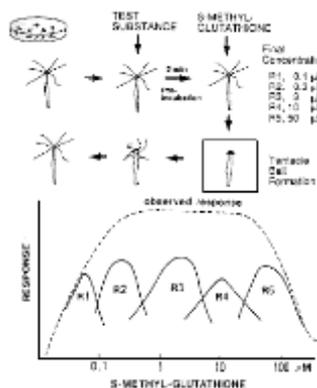


図1 S-メチルグルタチオン濃度とヒドラの触手を縮める反応(Tentacle ball formation) 蛋白やリジン欠乏ラットの血清ではR5が抑制されアクチビン/インヒビンの存在が示された。

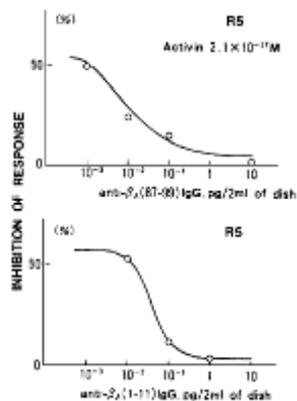


図2 ヒドラの触手を縮める反応におけるアクチビンに対するアクチビン抗体の作用

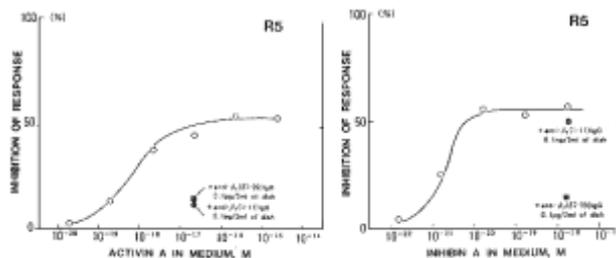


図3 ヒドラの触手を縮める反応(R5)におけるアクチビンまたはインヒビンによる抑制とβAサブユニット部分ペプチド抗体共存の効果(左図) アクチビン、インヒビンによる触手を縮める反応の抑制が抗体により作用が異なる(右図)。

ラットに摂取させた飼料	アクチビン	インヒビン
正常食	-	+
リジン欠乏食	-	-
無蛋白食	+	-

表1 ヒドラバイオアッセイによるラット血清中のアクチビンとインヒビンの検出 正常食摂取ラットの血清中にはインヒビンが、無蛋白食摂取ラットの血清中にはアクチビンが検出された。

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 生理活性物質の微量定量法の開発

特許出願

なし

報告書他

- 1) T.Murata, M.Mori, E.Tabuchi, K.Hanai, T.Ono, K.Torii: L-Lysine deficiency may induce plasticity in the neurons of the lateral hypothalamic area, 76th Annual Meeting Federation of American Societies for Experimental Biology, abstract pA1100, 1992
- 2) K.Torii, K.Hanai, K.Oosawa, M.Funaba, A.Okiyama, M.Mori, T.Murata and M.Takahashi: Activin A: Serum levels and immunohistochemical brain localization in rats given diets deficient in L-lysine or protein, *Physiology & Behavior* 54:459-466, 1993
- 3) T.Murata, H.Fujimura, M.Takahashi and K.Torii: Alteration of activin in serum of rats fed a diet with protein or lysine deficiency, The Endocrine Society 76th Annual Meeting, Abstract, p661, 1994.

〔研究者名〕 村田 拓也、大沢 一貴

5. ランタニド元素を用いた蛍光イムノアッセイ法の確立

ランタニド元素(^{63}Eu :ユーロピウム)を用いた蛍光イムノアッセイ法による神経栄養因子の微量定量法を確立。

研究成果の概要

インヒビン、アクチビン、フォリスタチンは、それぞれ下垂体からの卵胞刺激ホルモン(FSH)分泌を調節する因子として単離され、続いてアクチビンは、赤芽球の分化誘導作用、神経細胞への神経栄養因子としての作用、発生段階での中胚葉誘導作用を有すること、そして、フォリスタチンがアクチビン結合蛋白であることが報告された。インヒビンは α と β サブユニット、アクチビンは β サブユニットのそれぞれ2量体で、下垂体からのFSH分泌に対してインヒビンは抑制的に、アクチビンは促進的に正反対の作用を示す。フォリスタチンは、FSH分泌に対して抑制的に作用するが、これは、フォリスタチンがアクチビンに結合することによると考えられている。このように、3者の働きが非常に興味深いにもかかわらず、共通のサブユニットを持つことや互いに結合することが、これら3者の測定を難しくしている。

インヒビンとアクチビンのアッセイは、プレートに固相化した抗 βA サブユニット抗体と、それぞれビオチン標識した抗 α サブユニット抗体と抗 βA サブユニット抗体とを用いたサンドイッチ法により行った。ユーロピウムは、アビジン・ビオチン法により結合させた。また、フォリスタチンの測定は、抗フォリスタチン抗体をプレートに固相化し、ユーロピウム標識したフォリスタチンをトレーサーとして競合法を行った。その結果、インヒビン、アクチビン、フォリスタチンのアッセイでは、それぞれ10pg-10ng/well、1-20ng/well、1.25-20ng/wellの範囲で良好な標準曲線が得られた。それぞれのアッセイ系に、他の因子を添加しても、示したアッセイの範囲では標準曲線に影響は見られなかった。(図)

成果展開可能なシーズ、用途等

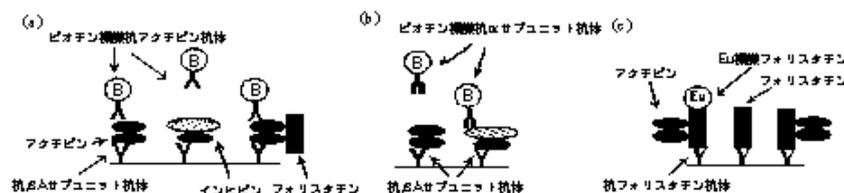
- 1) 神経細胞への分化のメカニズムの解明
- 2) サブタイプ、結合蛋白の存在する因子のアッセイシステムの開発

特許出願

なし

報告書他

なし



〔研究者名〕 村田 拓也

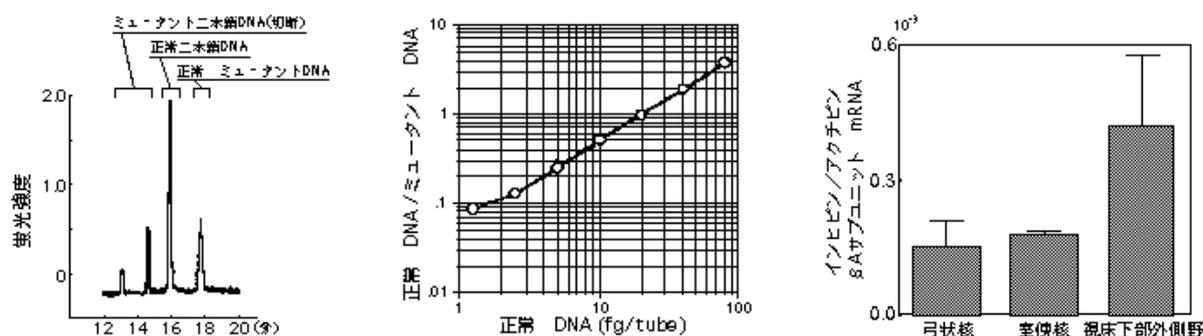
6. キャピラリー電気泳動による競合的 PCR 法

キャピラリー電気泳動装置を用いた競合的 PCR 法により、脳内アクチビンサブユニット mRNA の発現量を測定した。

研究成果の概要

蛋白質は、2 本鎖デオキシリボ核酸(DNA)から転写されつくられたメッセンジャーリボ核酸(mRNA)を鋳型として合成される。この mRNA の変化を捉えることは、組織、細胞における蛋白合成の制御を考える上で重要である。しかし、成長因子の様に微量にしか発現していない mRNA の量的変化を検出するには、非常に感度が高く定量性のある検出方法が必要である。

競合的 PCR 法は、逆転写酵素により mRNA から相補的 DNA(ターゲット DNA)を得、その DNA と一部配列が異なるミュータント DNA とを共に競合的に増幅させる方法である。ターゲット DNA にはない切断部位を挿入したミュータント DNA を作製し、制限酵素による切断後泳動を行う。そうすると、ターゲット DNA とミュータント DNA とを分離することができる(図 1)。ミュータント DNA を一定量加え、増幅したターゲット DNA とミュータント DNA 由来の PCR 産物量の比から、もとのターゲット DNA 量(mRNA)を算出する。スタンダード曲線は、図 2 のようになる。これは、PCR の高感度性に、定量性を合わせ持つ方法であり、従来では検出できなかった微量な mRNA の発現量の変化を捉えることができる。また、キャピラリー電気泳動法を用いることにより、アイソトープを用いずに従来のアガロースゲルによる泳動法よりも検出感度を格段に高め、また、自動的に測定が行われ、泳動と同時に PCR 産物量が数値化されるので、測定を効率的に行うことが可能になった。この方法により、ラット視床下部各神経核に発現しているアクチビン β A サブユニット量を測定した(図 3)。



左 図 1 キャピラリー電気泳動による PCR 産物の検出

アクチビンの β A サブユニットの正常 DNA20fg とミュータント DNA10fg を反応させ、制限酵素によりミュータント DNA のみを切断した後、キャピラリー電気泳動法で検出した。

中央 図 2 アクチビン β A サブユニットの検量線

縦軸は、正常 DNA とミュータント DNA の比、横軸は、正常 DNA 濃度を示す。ミュータント DNA10fg と反応させた。検出には、キャピラリー電気泳動法を用いた。

右 図 3 弓状核、室傍核、視床下部外側野における β A サブユニット mRNA の発見

縦軸は、 β アクチンの発現量に対する比を表している。

成果展開可能なシーズ、用途等

1) 総合的 PCR 法のルーチン化

特許出願

なし

報告書他

なし

〔研究者名〕 村田 拓也、滝沢 敏雄

7. アクチビン A に対する抗体

ニワトリにヒトアクチビン A を免疫することにより、アクチビン A 活性を抑制する中和抗体を作成した。

研究成果の概要

アクチビン A は哺乳類間でそのアミノ酸配列にほとんど差がないため、通常抗体作製に用いられるマウスやウサギを免疫動物とした場合、抗体を得るのは困難である。そこで、ニワトリを免疫動物とし、リコンビナントアクチビン A で免疫したところ、アクチビン A 活性を中和する抗体を得ることに成功した。抗体は、卵黄(yolk)中に含まれる IgG をイオンクロマトグラフィーとアフィニティクロマトグラフィーにより、精製した(抗アクチビン IgY 抗体)。この IgY 抗体は、アクチビン AB の EDF 活性をわずかに抑制したが、アクチビン B の活性には影響しなかった。また、インヒビン A の下垂体細胞からの FSH 分泌抑制効果に対しても中和作用を示さなかった。このことから、IgY 抗体はアクチビン A 活性を特異的に中和する活性を有し、内因性のアクチビンの働きを調べるのに有用な抗体であることがわかった。

この抗体を用いて、血球の分化およびマウスの受精卵の発育に内因性のアクチビン A が関与していることを示した。

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) ホモロジーの高い因子の抗体作成
- 2) 内因性アクチビン作用の解明

特許出願

なし

報告書他

- 1) T.Murata, S.Saito, M.Shiozaki, R.Z.Lu, Y.Eto, M.Funaba, M.Takahashi and K.Torii: Anti-activin A antibody (IgY) specifically neutralizes various activin A activities, Proc.Soc.Exp.Bio.Med.211:100-107, 1996

〔研究者名〕 村田 拓也、舟場 正幸

8. 免疫組織化学によるアクチビンの分布

共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて、インヒビン/アクチビンサブユニットの脳内の局在を示した。

研究成果の概要

インヒビン α サブユニットに対する抗体(抗 $\alpha(1-19)$ 抗体)とインヒビン/アクチビン βA サブユニットに対する抗体(抗 $\beta A(87-99)$ 抗体)を用いて8週齢雄ラットの脳内インヒビン/アクチビンの局在について免疫組織化学を行なった。

蛍光染色法共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡を用いた蛍光染色法より、ラット視床下部室傍核、視索上核、弓状核、延髄孤束核の局在を調べたところ、視床下部室傍核、視索上核、弓状核、延髄孤束核の細胞の細胞体に、アクチビン βA サブユニット陽性を示す蛍光シグナルが検出された(図1)。

一方、インヒビン α サブユニットの局在を示す陽性反応は広範囲にわたり観察され、特に、第3脳室周辺、弓状核、および海馬に強い反応が観察された。2重染色法により、インヒビン α サブユニットは、アストロサイトに特異的に発現するグリア線維酸性蛋白(Glial Fibrillary Acidic Protein,GFAP)と共存することがわかった(図2)。

共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いることにより、インヒビン/アクチビンサブユニットの脳内の局在をより明瞭に捉えることができ、また、陽性細胞の同定を容易に行うことができる。

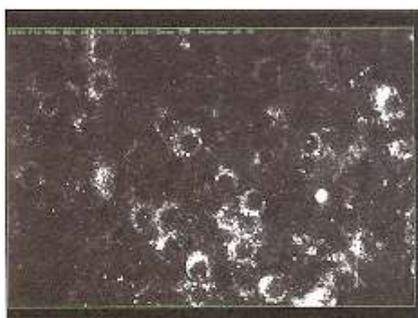


図1 延髄孤束核のアクチビン βA サブユニットの局在



図2 抗インヒビン α サブユニット抗体と抗GFAP抗体を用いた2重染色
 α サブユニットとGFAPが共存する細胞は、黄色に示される。

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 神経栄養因子の役割の解明

特許出願

なし

報告書他

- 1) K.Torii, K.Hanai, K.Oosawa, M.Funaba, A.Okiyama, M.Mori, T.Murata and M.Takahashi:
Activin A:Serum levels and immunohistochemical brain localization in rats given diets
deficient in L-lysine or protein, *Physiology & Behavior* 54:459-466, 1993

〔研究者名〕 藤村 久子、小川 健司、大沢 一貴

9. 無麻酔動物を用いた MRI 技術

MRI 装置を用い無麻酔下で摂取栄養素の脳での認知を画像化した。

研究成果の概要

電気生理学実験で用いる脳定位法を導入し、MRI 装置内での無麻酔動物の固定法を確立した。また、機能 MRI を小動物に適用した場合、内耳内の空気の影響が、脳底部の MRI 信号を強く乱し、扁桃体、視床下部外側部の画像を安定的に得ることができない。このことを内耳内に PVP(含窒素複素環ビニルポリマー)を注入することにより解決した。これらの方法を用い、必須アミノ酸欠乏状態のラットが、その欠乏している栄養素の体内濃度を監視することにより欠乏栄養素を認知する機構が脳内に出現してくる過程を捉えた。また、様々な溶液摂取時に脳の応答状況を経時的かつ広範囲にわたって捉えられるようになった(図)。

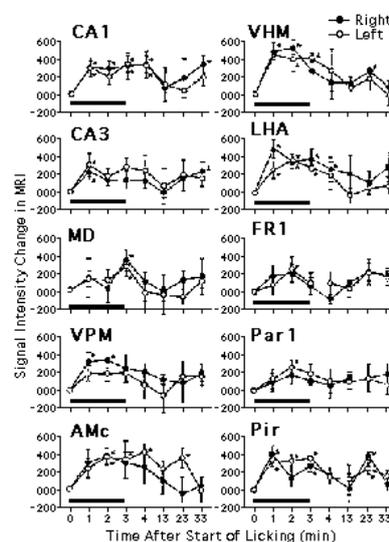


図 各部位におけるグルコース摂取行動時の信号強度の変化

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 脳が正常に機能している状態での脳機能の解析
(例えば、食行動時の脳機能の可視化)

特許出願

特 願：平 5-308416(平 5.12.8)

出 願 人：新技術事業団

請求の概要：非ヒト動物の脳活動部位を MRI により画像化するに際して、動物の両側中耳内に予め含窒素複素環ビニルポリマーの溶液を注入しておくことを特徴とする脳機能可視化法。

報告書他

- 1) K.Torii, T.Yokawa, E.Tabuchi, R.L.Hawkins, M.Mori, T.Kondoh and T.Ono: Recognition of Deficient Nutrient Intake in the Brain of Rat with L-Lysine Deficiency Monitored by Functional MRI, Electrophysiologically and Behaviorally, Amino Acids, Vol.9, No.1, p48(1995)
- 2) T.Yokawa, E.Tabuchi, T.Inubushi and K.Torii: Mechanism in the Hypothalamus to Monitor a Deficient Nutrient: In-vivo MRI Evidence, Proceedings of the Society Magnetic Resonance, 2: No.3, p1396(1994)

〔研究者〕 余川 隆、田淵 英一

10. MRI 装置を用いた脳機能、肝機能の測定および画像化

MRI 装置を用いて病態モデル動物の体内栄養状態の変化が引き起こす脳機能と肝機能の変化を捉えた。

研究成果の概要

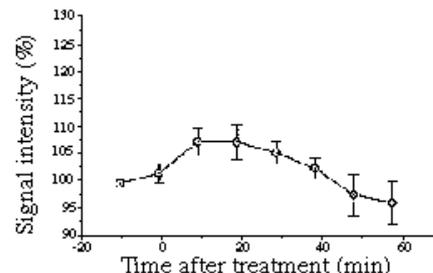
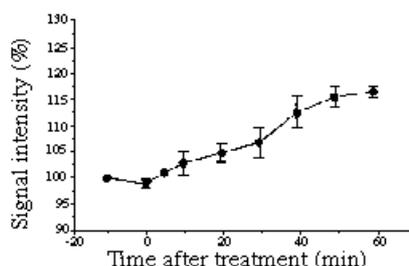
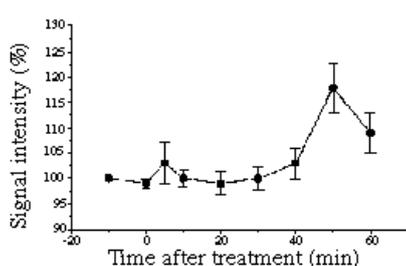
従来の機能 MRI に血流変化を強調する方法を導入し、ラットのような小さな実験動物の脳機能的変化を捉えることができるようになった。更に特殊に改良を加えた方法で画像化が非常に困難な肝臓機能を捉えることができるようになった。

糖尿病モデルラットにインスリン投与を行い、糖の末梢利用性を急激に上昇させると、インスリン分泌と摂食の制御に関与することが知られている視床下部の部位が、投与後から経時的に(海馬-室傍核-視床下部背内側核-腹内側核の順に)興奮していく様子が明らかになった(図 1、2)。

ガラクトサミン誘発性肝炎モデルラットにプロリンを前処置することにより、肝炎発症率が低下する機構の検討を行ったところ、ガラクトサミンによる肝の初期の代謝の亢進が、プロリンにより抑制されること、即ち、プロリンが肝の代謝経路を変化させているらしいことがわかった(図 3、4)。



図 1 流れ強調画像法で撮影したインスリン投与前後のラットの脳の前額断
0 は投与直後を示す。60 分後の白い矢印は視床下部を示す。20 分後、40~100 分後にそれぞれ海馬、視床下部の信号が強くなっている。



- 左 図 2 ストレプトゾトシン処置ラットにおけるインスリン投与後の視床下部 MRI 信号に対する効果
横軸はインスリン投与の時間を 0 とした時間経過(分)。縦軸は信号強度。インスリン投与前の信号強度を 100%とした。投与後 50 分に有意な信号の上昇が認められた。
- 中央 図 3 無処置ラットにおけるガラクトサミン投与の肝 MRI 信号に対する効果
横軸はガラクトサミン投与の時間を 0 とした経過時間(分)、縦軸は信号強度。ガラクトサミン投与直前の信号強度を 100%とした。投与後 40 分から有意な信号の上昇が観察された。
- 右 図 4 プロリン前投与ラットにおけるガラクトサミン投与の肝 MRI 信号に対する効果
横軸はガラクトサミン投与の時間を 0 とした経過時間(分)、縦軸は信号強度。ガラクトサミン投与直前の信号強度を 100%とした。投与後の有意な信号の上昇は認められない。

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 脳の生理学的機能地図の作成
- 2) 糖尿病など代謝機能異常による疾病の診断
- 3) 肝機能検査

特許出願

特 願：平 7-224185(平 7.8.31)

出 願 人：新技術事業団

請求の概要：非脳内の海馬、視床下部室傍核、視床下部背内側核および/または視床下部腹内側核におけるインスリン投与後の血流変化を流れ強調画像法によって画像化することを特徴とする糖尿病診断方法。

報告書他

- 1) T.Yokawa, M.Van Cauteren, E.Tabuchi, M.Takezawa, T.Ono and K.Torii: Brain Activation Mapping in the Laboratory Rat: Application to Nutritional Behavior, Proceedings of the Society Magnetic Resonance, 3: No.2, 782(1995)
- 2) M.Takezawa, T.Yokawa, M.Van Cauteren, T.Ono and K.Torii: Protective Effects of Proline Pretreatment in Rats with Galactosamine-induced Hepatitis, Using MRI Flow-weighted Images, Proceeding of the Society Magnetic Resonance, 3: No.3, 1456(1995)

〔研究者名〕 余川 隆、田淵 英一、武沢 美佐子

11. 無麻酔下での単一ニューロンの応答の記録

微小ガラス電極を脳内に留置した無麻酔動物の単一ニューロンの応答を記録し、特定栄養素に対する嗜好性の変化に関与するニューロンの可塑性発現を確認した。

研究成果の概要

ラットの脳に慢性記録電極を埋め込み、餌および各種溶液の自由摂取行動下における脳内ニューロン活動の変化を数日間にわたって連続記録する技術を確立した(図1)。リジンの側脳室内投与に対する視床下部外側野(摂食中枢)ニューロン応答性をしらべたところ、リジン欠乏状態では正常状態に比べてリジン感受性が増加することを示した(図2)。

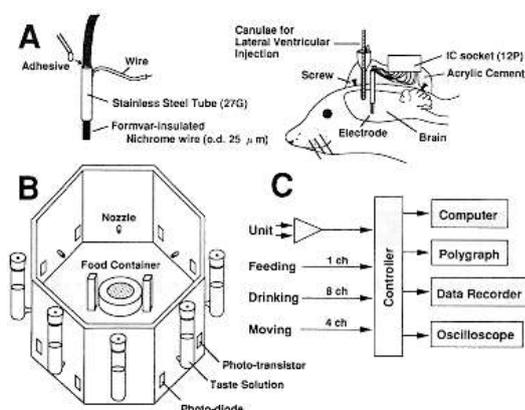


図1 視床下部外側野ニューロン活動の長時間記録実験の模式図
A:慢性記録電極
B:実験用正八角形ケージ
C:データ収集システム

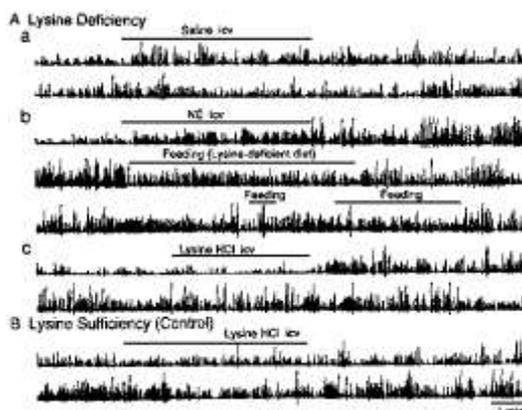


図2 リジンあるいはノルエピネフリンの側脳室内投与による視床下部外側野ニューロン応答の変化
A:リジン欠乏ラット
B:飼料を正常食に切り替えてから1日後

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 学習や記憶の成立およびそれに基づく感覚認知、摂食飲水行動などの各過程における個々のニューロン応答性の変化の解明

特許出願

なし

報告書他

- 1) 近藤 高史、田淵 英一、小野 武年、鳥居 邦夫「リジン欠乏ラットのリジン選択摂取行動学習における味神経の役割」日本味と匂学会誌、Vol.1,No.3,p300-303(1994)
- 2) T.Kondoh, T.Voynikov, E.Tabuchi, T.Yokawa, T.Ono and K.Torii: Responses of Lateral Hypothalamic Neurons in Lysine-deficient Rats, Olfaction and Taste XI, p534-535(1994)

- 3) T.Kondoh, T.Voynikov, E.Tabuchi, T.Yokawa, T.Ono and K.Torii: Lateral Hypothalamic Neuron Response to Application of Amino Acids in Different Nutritive Conditions, Olfaction and Taste XI, p536(1994)

〔研究者名〕 近藤 高史、H.マリック