

脳を活性化する内在性満腹物質

大 村 裕

日本臓器製薬会社生物活性科学研究所

脳の底部にある視床下部はヒトでキャラメル1個の大きさで、前後の厚さは約6mmにすぎない。この小空間に生命維持に欠かせない中枢と呼ばれる部位がぎっしりと組み込まれている。最前部に位置する視索前野には、性行動発現をつかさどる性欲調節中枢、睡眠中枢、飲水中枢、体温調節中枢、日リズムの中枢および免疫調節中枢がある。このやや後方に食欲を調節する満腹および摂食中枢がある。そのまた後方の後視床下部には体温産熱中枢がある。

ここにあげた9個の中枢機能は多くの点で共通した特性を持っている。第一は独自の機能を発揮できる固有の神経回路をそれぞれ持っていることである。脳内ハードウェアである。第二は、各神経回路のそれぞれに働いて、回路の活動を特異的なものにする微量生理活性因子である。脳内のソフトウェアとしての液性情報である。液性情報の代表的なものは血液や脳脊髄液中に存在する代謝産物、有機酸、ペプチド、タンパク質、ホルモンなどである。したがって第一と第二を結び付けるためには、これら特有の活性因子に特異的に反応するニューロンが回路の内にあることになる。性行動でいえば、性ホルモンに応答するニューロンが回路の一番先頭を占めている。飲水行動であれば、血液の浸透圧やアンジオテンシンⅡに応答するニューロンがそこを占めている。摂食行動では、空腹物質に促進性に応答して活動する摂食中枢のニューロン群と抑制性に応答する満腹中枢のニューロン群である。満腹物質にはそれぞれの中枢ニューロンが逆に応答する。第三の特徴は、これら固有の行動回路が脳の最高次の機能をつかさどる連合野と密に連絡して、性欲、渇き、食欲という認知を発生させ行動発現を誘起させることである。

1. 脳を活性化する内在性満腹物質

a. 内在性物質の濃度

血中にある満腹物質 2-buten-4-olide (2B40) は、空腹時平均 $3.9\mu\text{M}$ であり、絶食によって増加し36時間目で $12.9\mu\text{M}$ となる (図1)¹⁾。

脳脊髄液 (CSF) 中の満腹物質である酸性線維芽細胞増殖因子 (aFGF)²⁾ は、摂食によってCSF中のブドウ糖が 2mM から 4mM に上昇することに応答して、第Ⅲ脳室の壁細胞である上衣細胞から分泌される³⁾ (図2 A, B)。 300mg/kg ブドウ糖の静注でも摂食と同様のことが起こる。上衣細胞は脳内のグルコセンサーであり、膵臓のB細胞が血糖値の上昇 (4mM から 8mM へ) に応答してインスリンを

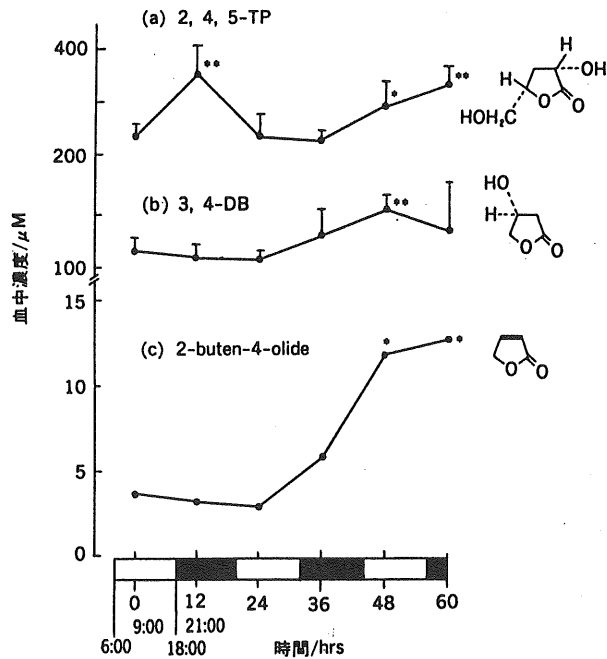


図1 摂食調節物質の絶食後の血中濃度 (Oomura, 1987)
9:00から絶食, 下の図で白:明期, 黒:暗期を示す¹⁾。

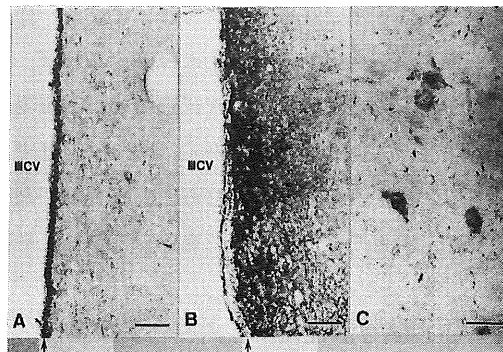


図2 抗 aFGF 抗体による脳染色
摂食前 (A) と摂食 2 時間後 (B, C) A, 第 3 脳室 (III CV) 壁の上皮細胞 (矢印)。B, 摂食後上皮細胞内の aFGF は空になり脳実質 (右側) 内に強く観察。C, 摂食後摂食中枢ニューロンが aFGF を取り込んでいる³⁾。

分泌するのと同じ内分泌反応である。図3に示すように CSF 中の aFGF は空腹時平均 0.7pM で, 食事開始あるいは 300mg/kg ブドウ糖投与後15分で 0.7nM , 1時間後 7nM と上昇するが2時間後に 0.7nM

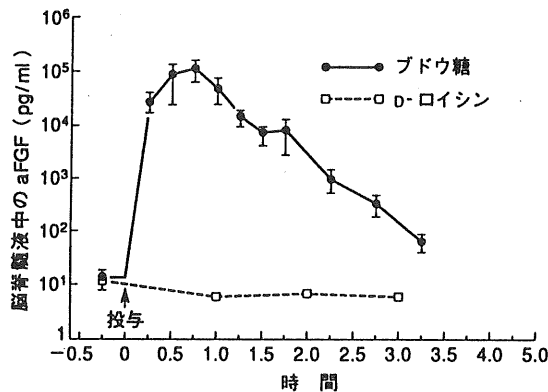


図3 ラット第3脳室へのブドウ糖投与によるaFGFの脳脊髄液中への放出
D-ロイシンには反応しないがL-ロイシンには反応してaFGFが増加

と低下してくる^{2,3)}。上皮細胞はブドウ糖だけでなくL-ロイシン、アルギニンなどの脳室内投与にも反応してaFGFを分泌するが、D-ロイシンには反応しない。L-ロイシン1mM及び3mM投与で、2時間後にaFGF 6pM及び0.2nMと量反应的に増加する。ちなみに糖尿病モデルラットOLFETの血糖値が $136 \pm 9.8 \text{ mg/dl}$ と対照LETOラットの $97.5 \pm 8.2 \text{ mg/dl}$ より高くなっているとき、300mg/kgのブドウ糖静注2時間後で、前者のaFGF分泌は $6.4 \pm 0.4 \text{ pM}$ に対し後者のそれは $0.36 \pm 0.02 \text{ nM}$ と有意に高い。従って糖尿病ではaFGF分泌は抑制されていると考えられる。

b. 学習・記憶促進効果

マウスやラットを用いて学習記憶テストを行うには、受動回避学習や水迷路学習を用いる。前者のテストでは、暗箱の前に置いたマウスが暗箱に入る時間は平均5秒で、四肢とも入るとドアを閉じ床に敷いた金網を通じて電撃を加える。動物は驚いて飛び出す。24時間後にもう一度同じ動物を暗箱前において、それに入る時間 (retention) を測定する。彼らが昨日の経験を憶えておれば暗箱に入るのを躊躇することになり、入るまでの時間が有意に延長する。水迷路学習テストでは、10分おきに5回プール (直径0.7m) を泳がせる。プールには水中に足場を置き、マウスあるいはラットがそれを見つけると、その上に這い上がって休むことができる。2回目からは、その場所を憶えておれば動物は早く足場を見出すはずである。5回目には足場を除去しているので、その足場のあった所を憶えておれば、その付近を有意に長く泳ぐはずである。これを1日おきに4回つまり4ブロック実施した。

2B40: 図4に示すように、受動回避学習で、24時間後にもう一回テストすると、2B40 2mg/kg 静注投与で暗箱に入る時間 retention は平均50秒と有意に延長している。1mg/kgでも2mg/kgと大体一致した。2B40を10mg/kgにすると retention は増加したが、対照と有意差はなく、100mg/kgでは逆に有意に低下した。これはラットが歩行運動も低下し、鎮静化したためである。

水迷路学習では、2mg/kgで第1ブロックではリンガー液群の平均24秒に対し17秒で有意に早く足場を発見できた (図5)。歩行運動を3分間アニメックスで測定したが2B40群、リンガー液投与群ともに有意差はなかった (図5右上)。2ブロック以降は両者に有意差はなくなったが、これは学習の繰り

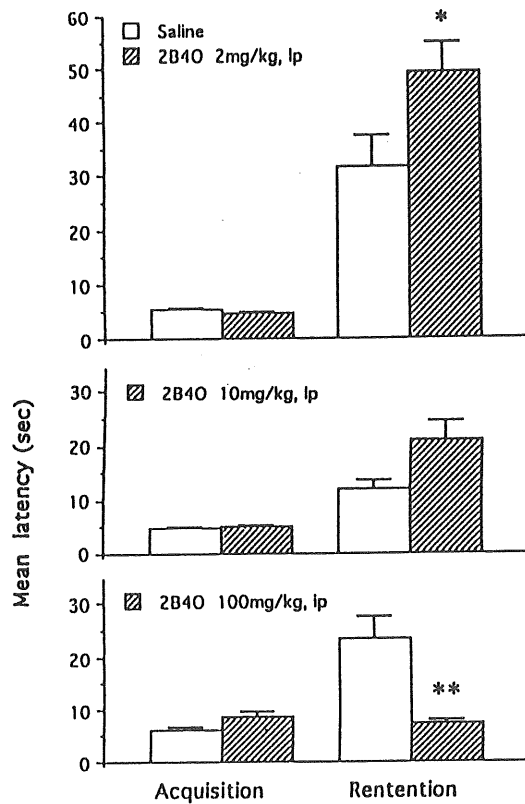


図4 ラット受動回避学習テスト。2B40 の効果

ラットを暗箱の前におくと暗箱内にはいる (acquisition)。24時間後に再び暗箱の前にそのラットをおくと、もし昨日のことを記憶しておればはいるまでの時間が延長 (retention)。リンガー液投与では効果がない。

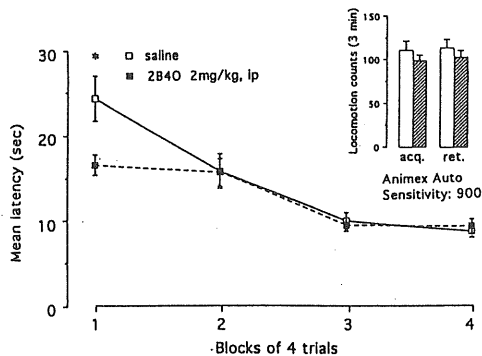


図5 ラット水迷路学習テスト。2B40の効果

水中にかくした足場を見出すまでの時間 (潜時)。1ブロック、10分おきに4回泳がせる。2B40で潜時が短縮。2ブロック、1ブロックから1日おいてテスト。3ブロック2ブロックから1日おいてテスト。2ブロック以下のテストでは繰り返しの学習効果がでてきて、2B40とリンガー液の差はなくなる。

返しのためである。第1ブロックで5回目に足場を取り除くと、2B40群では足場のあったプールの1/4区間を平均37%とリンガー群の25%より有意に長く留まっていた。

aFGF: CSF中のaFGF増加は、ブドウ糖300mg/kg投与2時間後と摂食2時間後とで同一である。ブドウ糖投与2時間後に受動回避学習を行うとretentionは平均57秒で、1時間後テストしたときの平均27秒、3時間後にテストしたときの22秒に比して有意に長い。抗aFGF抗体(1 μ g/3 μ l)をブドウ糖投与の30分前に両側脳室に投与した場合は、平均57秒を25秒に有意に低下させた³⁾。水迷路学習でもブドウ糖投与2時間目の群は初回の第1ブロックの平均19秒に対しリンガー液群では平均32秒で有意に短かった³⁾。足場を取り除くとブドウ糖群は37%より長く留まっており、リンガー群の25%より有意であった。したがって、これらの学習記憶促進効果は上衣細胞から放出されたaFGFの海馬への効果と考えられる。実際に抗aFGF抗体をブドウ糖投与の30分前に脳室内投与すると、平均57秒とリンガー液と同様になった。

さてラットを用い浸透圧ミニポンプでaFGF(総量20 μ g/ml, 0.5 μ g/時, 全量70pmol)をCSF内に直接5日間注入する実験では1日ごとに有意に学習記憶が促進された³⁾。この時の1日注入量は14pmolであるから生理学的範囲内にある。

これらのテストで、2B40およびaFGFはともに学習記憶を促進させることができる。2B40は静注で投与したが、脳脊髄液中には1/100が入り、脳脊髄液総量を300 μ lとすると、2B40の脳内量は0.11 μ Mとなる。aFGFは14pmolで充分である。また学習記憶の電気生理学的基礎である海馬でのシナプス電位の長期増強について調べると、aFGFの30~100pmolで量一反応的に長期増強を促進させている⁴⁾。

2. 早期老化マウス(senescence accelerated mice, SAMP8)へのaFGFの応用

SAMP8は、生後早期から身体的老化症状が現れてくると同時に、2カ月後からすでに受動回避学習や水迷路学習テストで学習記憶能力が低下しており、死に至るまで低下し続ける。このような低下に、aFGFはドラマティックな抑制作用をもっている。

a. 学習記憶

2B40あるいはaFGF 0.5nmol/kgを生後1カ月後から1週間に1回皮下投与していくと、前者より後者がより有効に上記2テストで調べて学習記憶能力は生後10カ月目でも正常である⁵⁾。

このaFGFによる効果は、内側中隔のコリン作動性ニューロン内のアセチルコリントランスフェラーゼ(ChAT)の濃度上昇に帰している。これらニューロンは、海馬CA1からCA3および歯状回へ単シナプス性に投射しているが、この回路が学習記憶に重要な回路である。

b. 内側中隔コリン作動性ニューロン

ChATの抗体で、SAMP8の9カ月末の脳を免疫組織化学的に染色すると、著明な変化は図6左に示すように内側中隔に現れている。すなわち内側中隔コリン作動性ニューロン群が脱落しているようにみえるが、図の腹外側のBROCAの対角帯diagonal band of BROCAのコリン作動性ニューロン群は変化していない。また無名領substantia innominata(いわゆるMEYNERT核)のコリン作動性ニューロン群も変

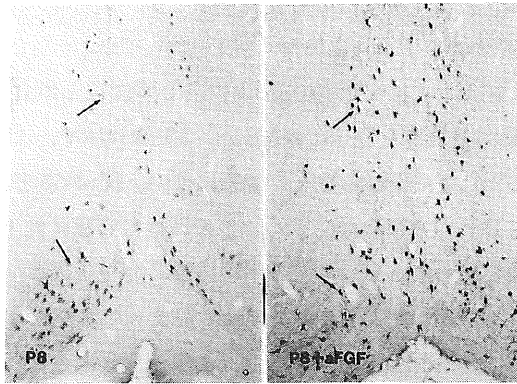


図6 抗ChAT抗体で免疫組織化学的に染色

左：SAMP8。リンガー液1週1回皮下注射。10カ月後、上向矢印、内側中隔コリン作動性ニューロン。下向矢印、ブローカ対角帯のコリン作動性ニューロン。右：SAMP8にaFGF 150 μ g/kg 1週1回皮下注射。コリン作動性ニューロンがはっきりしている。ブローカ対角帯では、左右あまり差はない⁵⁾。

化がない。aFGF投与群では図6右に示すように、ニューロンがよく抗ChAT抗体で染色されている。実際に内側中隔を対照正常群（老化抵抗性，senescence resistant, R1），P8のリンガー液群およびaFGF群で調べてみると、それぞれ 50 ± 7 個/ mm^2 ， 40 ± 7 個/ mm^2 および 53 ± 5 個/ mm^2 であり，SAMP8リンガー液群はコリン作動性ニューロンは対照に比し約20%減少している。図に比しこの減少は少ないようにみえるが，ChAT含有量の少ないニューロンが写真では薄く消えかかって写っているためである。内側中隔のコリン作動性ニューロンの各々の含有するChAT量を光学密度計で測定した結果では，aFGF群（ $n=1179$ ）では平均1478.5グレーレベルを示すのに対し，リンガー液群（ $n=892$ ）では958.0グレーレベル，そして対照の老化抵抗性マウスR1群（ $n=1095$ ）では2206.1グレーレベルである。すなわち平均ChAT量は正常対照群に比し，リンガー液群では57%の減少に対し，aFGF群では33%減少である。

c. MAO-B 活性，ムスカリン及びNMDA受容体

全脳のMAO-B活性は脳の加齢と共に増加する。しかしSAMP8の雄でリンガー液群とaFGF群を9カ月末で調べると，前者は，平均22dpm/g（タンパク質， $n=6$ ）に比し，後者では15dpm/g（ $n=6$ ）と有意に低値である。

全脳のチロシンヒドロキシラーゼ活性はどの群でも差はなかった。また海馬内ムスカリン受容体密度を ^3H QNB結合で検討すると，aFGF群は平均113fmol/mg（湿重量， $n=10$ ）に比し，リンガー液群では53fmol/mg（ $n=10$ ）で，前者が有意に高い。大脳皮質のムスカリン受容体密度もaFGF群で有意に高い。NMDA受容体密度を ^3H MK-801結合で検討すると，大脳皮質で，雄のaFGF群では43fmol/mg（湿重量， $n=10$ ）に比し，リンガー液群では27fmol/mg（ $n=10$ ）と有意に高い。海馬では両群に差はなかった。

海馬内ニューロンのaFGF受容体の変化を，FRAG-1抗体で染色してみると，SAMP8リンガー液投与群では密度低下が著しいが，aFGF群ではR1と同様に正常化している。

d. aFGF の皮下投与と脳脊髄液中の aFGF

ラットに aFGF 7 $\mu\text{g/kg}$ 1 回皮下注射後、時間経過とともに CSF 中の aFGF を測定したが変化はなかった。しかし aFGF の N 端のフラグメント aFGF (1-15) の抗体による免疫学的検定では、CSF 中の N 端フラグメント濃度は、投与前の平均値 $150 \pm 73 \text{ fmol/ml}$ ($n = 8$) から、投与 13 時間後で $933 \pm 327 \text{ fmol/ml}$ と有意に増加している。aFGF (1-15) は脳室内投与で用量反応的に摂食を抑制する。しかし最少有効濃度は aFGF (1-140) の 80 倍を要する。また海馬切片標本で、SCHAFER 側枝を刺激してのシナプス電位の長期増強も aFGF (1-15) は用量反応的に促進するが、aFGF (1-140) に比し 100 倍必要である⁵⁾。しかしいずれにしても aFGF (1-15) は、これらに有効であることを示している。

e. 学習記憶必須回路の正常化

内側中隔と海馬との相互の線維結合が学習記憶に必須の神経回路である (図 7)。SAMP8 では内側中

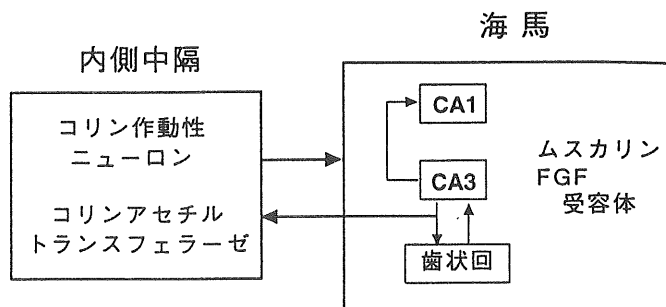


図 7 学習記憶に対する必須神経回路⁵⁾

隔のコリン作動性ニューロンの ChAT 低下と海馬ニューロンのムスカリン受容体及び aFGF 受容体の密度低下が著明に起っている。aFGF 群ではこれらがすべて正常に回復している⁵⁾。これが学習記憶の回復による正常化の一番大きな点である。

f. aFGF N 端フラグメントの有効性

aFGF は N 端 1-29 が摂食抑制に有効であるが、SAMP8 の老化脳防止にも 27 nmol/kg 1 週 1 回で有効である。これにより内側中隔 ChAT 活性および海馬ニューロンの aFGF 受容体密度も正常化している。

む す び

食事によって、脳は新しい学習記憶を定着させるという学習効率を上げる作業を行っている。しかも、この作業は脳内から放出される微量生理活性物質に由来している。すなわち生体のもつ素晴らしい機能といえる。われわれの実験はネズミであるが、ヒトにも適用できるかどうか。アメリカの実験心理学者 P. E. GOLD は、60 歳以上の人を集めて心理学習テスト 4 課題をクリアさせることを行った。ブドウ糖投与群と、リンガー液投与群では、前者が有意にこれら課題をクリアできている⁶⁾。

病態生理学的には、SAMP8 脳の老化による学習記憶障害を、1 週間 1 回の aFGF 皮下投与によって阻止することができる。この理由の第一は、内側中隔のコリン作動性ニューロンのアセチルコリン産生

を正常化して、中隔-海馬の学習記憶回路を正常化したことによるのである。

aFGF は生理学的ならびに病態生理学的に満腹物質としての作用、神経栄養因子としての作用、シナプス可塑性促進作用が判明しているが、新しく脳老化の防止作用が加わったことになる。

文 献

- 1) Oomura Y. News Physiol Sci. 2, 199-203, 1987
- 2) Hanai K., Oomura Y., Kai Y., Nishikawa K., Morita H. & Plata-Salaman CR. (1989) Am. J. Physiol. 256, R217-R223
- 3) Oomura Y., Sasaki K., Suzuki K., Muto T., Li A., Ogita Z., Hanai K., Tooyama I., Kimura H. & Yanaihara N. (1992) Am. J. Clin. Nutr. 55, 278S-282S
- 4) Sasaki K., Oomura Y., Figurov A. & Yagi H. (1994) Brain Res. Bull. 33, 505-511
- 5) Oomura, Y., Sasaki K., Li A., Yoshii H., Fukata Y., Yago H., Kimura H., Tooyama I., Hanai K., Nomura Y. & Yanaihara N. (1996) Ann. NY Acad. Sci., 786, 337-347
- 6) GONDER-FREDERICK L, HALL J. L., VOGT HJ, Cox D. J., Green J. & Gold P. E. Physiol Behav 41 : 503-504, 1987