



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
報告番号	甲第1662号
学位記番号	第1182号
氏名	山田 瑠里子
授与年月日	平成30年9月30日
学位論文の題名	<p>Monosodium glutamate ingestion during the development period reduces aggression mediated by the vagus nerve in a rat model of attention deficit-hyperactivity disorder.</p> <p>（注意欠陥多動性障害モデルラットにおいて発育期のグルタミン酸ナトリウムの摂取は迷走神経を介して攻撃性を減少させる）</p> <p>Brain Research1690: 40-50, 2018.</p>
論文審査担当者	主査： 松川 則之 副査： 澤本 和延, 飛田 秀樹

## 論文内容の要旨

発育期の外部環境が情動形成に影響することはよく知られてきている。我々は、注意欠陥多動性障害モデル動物の自然発症高血圧ラット(SHR)を、豊かな環境(輪車や遊具を含む大きなケージの中で6~7匹で飼育し、餌と水の配置を定期的に交換)で飼育すると、不安様行動や攻撃性の情動行動が変化することをこれまでに明らかにしている。しかし、豊かな環境飼育は複数の刺激要素を含むため、どの要因がどのようなメカニズムで情動形成に変化をもたらすのかを解析することは困難である。そのため、本実験では味覚における基本味の一つであるうま味(グルタミン酸ナトリウム;MSG)を発育期の外部環境の単一刺激と考え、発育期の情動形成がどのようなメカニズムにより形成されるのかを解明することを目的とし、以下の実験をおこなった。

離乳直後の生後25日のSHRを通常ケージの中で生後60日までの5週間を一匹飼育した。MSG投与群では60mM MSG水溶液を給水ビンから経口投与し、水投与群では滅菌水を投与した。生後60日齢以降の成熟期に、オープンフィールド試験およびシリンダー試験により不安様行動を社会性試験により攻撃性を評価した。その結果、オープンフィールド試験における総移動距離や中央部侵入回数、またはシリンダー試験における立ち上がり回数において有意な差は認められなかった。しかし、社会性試験での攻撃性が著しく減少していることが明らかになった。

MSG摂取による攻撃性減少メカニズムを解明するため、以下の実験を行った。まず初めに、MSGの中の $\text{Na}^+$ による血圧上昇のため攻撃性行動が変化した可能性を調べるため、血圧測定を行った。生後40日目と64日目の血圧測定ではMSG摂取に伴う血圧変化は認めなかった。

次に、MSGによって脳内の攻撃性関連部位の細胞傷害により攻撃性が変化する可能性を調べるため、1)血中のグルタミン酸を含むアミノ酸レベルの測定、2)培養血液脳関門モデルを用いた血中グルタミン酸の培養ニューロンへの影響、3)Argyrophil III染色法を用いた攻撃性関連部位の細胞毒性傷害性の検討、を行った。その結果、通常飼育の自由摂取時のMSG摂取では有意な上昇を認めない( $\sim 80\mu\text{M}$ )ことを明らかにした。しかし、絶食後のMSG摂取により、一過性に血清グルタミン酸上昇が有意に上昇する( $\sim 700\mu\text{M}$ )ことも明らかになった。そのため絶食後の一過性グルタミン酸上昇が脳内の神経細胞に与える影響を、血液脳関門モデルを用いて検討した。血管内皮細胞およびアストロサイトからなる血液脳関門モデルフィルターを用いた場合には、絶食後の一過性グルタミン酸脳後に匹敵する $700\mu\text{M}$ のMSGを投与しても培養ニューロンは明らかな細胞死に至らないことが示された。また、超早期の神経傷害を検出するArgyrophil III染色においても、攻撃性に関与する脳領域の内側前頭前皮質、内側扁桃核、視床下部腹内側核で、MSG摂取後に好銀性を示す陽性細胞は認めなかった。すなわち、MSG摂取による攻撃性減少において、細胞傷害性は関係していないことが示された。

最後に、胃および上部消化管に存在するグルタミン酸受容体から脳への直接経路である迷走神経の影響を調べるため生後25日齢SHRの横隔膜下迷走神経を切断したのち5週間のMSGを摂取させた後の攻撃性行動を評価した。その結果、迷走神経切断によりMSGの攻撃性減少の作用が消失することが明らかとなった。

以上の結果から、注意欠陥多動性障害モデルラットにおいて発育期の傾向からの60mM MSG摂取によって攻撃性の減少が認められること、そしてその作用が上部消化管から受容体を介した腸脳相関によりもたらされることが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

**【研究目的】** 発育期の環境は、不安様行動や攻撃性の情動行動の形成に重要である。豊かな環境飼育（輪車や遊具を含む大きなケージの中で6～7匹で飼育し、餌と水の配置を定期的に交換）は複数の刺激要素を含み、どの要因がどのようなメカニズムで情動形成の変化をもたらすのかを解析することは困難である。本研究は味覚における基本味の一つであるうま味（グルタミン酸ナトリウム；MSG）を発育期の外部環境の単一刺激と考え、発育期の情動形成がどのようなメカニズムにより形成されるのかを解明することを目的とした。

**【論文内容】** 注意欠陥多動性障害モデル動物の自然発症型高血圧ラット（SHR）を用い、離乳直後の生後25日齢から生後60日までの5週間を一匹飼育した。MSG投与群では60mM MSG水溶液を経口投与し、水投与群では滅菌水を投与した。生後60日齢以降の成熟期に、オープンフィールド試験およびシリンダー試験により不安様行動を社会性試験により攻撃性を評価した。その結果、オープンフィールド試験やシリンダーテストにおいて有意な差は認められなかったが、社会性テストでの攻撃性が著しく減少していることが明らかになった。MSG摂取による攻撃性減少のメカニズムを解明するため、血圧上昇による攻撃性変化の可能性を血圧測定により調べたが、生後40日目と64日目に各群間に変化は認められなかった。次に、MSGによって脳内の攻撃性関連部位の細胞障害により攻撃性が変化する可能性を調べるため、1）血中アミノ酸レベルの測定、2）培養脳血液関門モデルを用いた血中グルタミン酸の培養ニューロンへの影響、3）Argyophil III染色法を用いた攻撃性関連部位の細胞障害性の検討を行い、絶食後のMSG摂取による一過性の血清グルタミン酸濃度が、*in vitro* および *in vivo* において細胞障害性の原因とはなり得ないことを証明、すなわちMSG摂取による攻撃性減少において細胞障害性は関係してないことを明らかにした。最後に、胃および上部消化管に存在するグルタミン酸受容体から脳への直接経路である迷走神経の影響を調べ、迷走神経切断によりMSGの攻撃性減少の作用が消失することを示した。以上の結果から、注意欠陥多動性障害モデルラットにおいて発育期の経口からの60mM MSG摂取によって攻撃性の減少が認められること、そしてその作用が上部消化管から受容体を介した腸脳相関によりもたらされることが明らかになった。

**【審査内容】** 審査委員会におけるスライド発表ののち、主査の松川教授から腸脳連関による影響の発達過程における変化や腸管におけるMSG受容メカニズムについて等14項目の質問、第1副査の澤本教授から、絶食時に他のアミノ酸が変化する理由イノシン酸も同様な効果が認められるか等10項目の質問、第二副査の飛田教授から、動物的機能における本研究の意義や腸脳連関の異常と疾患との関連について等4項目の質問がなされた。申請者からは、これら質問について概ね満足する内容の回答が得られた。

審査委員会は、本論文筆頭著者は学位論文の内容を十分理解し、博士に相応しい学力を有していると判断し、博士（医学）の学位を授与するのに相応しいと判定した。

論文審査担当者 主査 松川 則之 教授      副査 澤本 和延 教授 ・ 飛田 秀樹 教授