

氏名	あまるつぶしん ぼあ AMARTUVSHIN BOR
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	富生命博甲第78号
学位授与年月日	平成28年3月23日
専攻名	認知・情動脳科学専攻
学位授与の要件	富山大学学位規則第3条第3項該当
学位論文題目	Effects of high-fat diet and perinatal dioxin exposure on development of body size and expression of platelet-derived growth factor (PDGF) receptor β in the rat brain (高脂肪食および胎生期ダイオキシン暴露がラットの身体成長および血小板由来成長因子 (PDGF) β 受容体の脳内発現に及ぼす影響)
論文審査委員	
(主査)	教授 笹原 正清
(副査)	教授 稲寺 秀邦
(副査)	教授 鈴木 道雄
(副査)	教授 將積 日出夫
指導教員	教授 西条 寿夫

【学位論文内容の要旨】

〔目的〕

High fat (HF) diets and platelet-derived growth factor (PDGF) receptor β (PDGFR- β) in the brain, as well as dioxin exposure, affect feeding behavior, which is an important determinant of body growth and obesity. In the present study, the effects of prenatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and HF food after weaning on body growth and expression of PDGFR- β in the brain were investigated in rat pups.

〔方法並びに成績〕

TCDD (1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was orally administered to dams on the 15th gestational day. The rat pups from each litter in the control and dioxin exposure groups were assigned to 1 of 3 nutritional groups: standard diet, HF diet as juvenile, or HF diet in adulthood. Body size parameters (length, body weight, body mass index) were measured daily, and expression of PDGFR- β was assessed by western blotting using samples from brain areas including the hippocampus, amygdala, nucleus accumbens (NAc), striatum, parietal cortex and superior colliculus (SC).

〔総括〕

Results indicated that consumption of the HF diet decreased PDGFR- β levels in the amygdala and hippocampus in both sexes compared to the control group, while TCDD decreased PDGFR- β levels in the amygdala and striatum only in females receiving a HF diet. Furthermore, PDGFR- β levels in the hippocampus and striatum were negatively correlated with increases in body length, while those in the amygdala and NAc were related to body weight gain or body mass index. Together with findings from previous studies, the results suggest that the changes in body growth and brain functions due to dioxin and HF diets may be partially mediated by changes in PDGFR- β levels. Furthermore, the present findings also suggest that these dioxin and HF diet-induced changes in brain functions (depression, cognitive deficits, etc.) may be partially mediated by changes in PDGFR- β levels in the brain.

【論文審査の結果の要旨】

〔目的〕

ヒトの健康に大きな影響を及ぼす環境因子として食物および環境汚染物質が知られ、疾病の24%がこれら環境因子に起因することが示唆されている。近年の研究により、周産期（母体）から幼少期における高脂肪食を含む食物の過剰摂取は、将来メタボリック症候群を誘発するだけでなく、脳内の神経回路に変化をもたらし、過食などの摂食行動の異常や認知障害等を起すことが示唆されている。また、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) を含む環境汚染物質も、胎内および周産期暴露により摂食行動に関わる脳内神経回路を変化させ、肥満を誘発する可能性が危惧されている。一方、血小板由来成長因子 (PDGF) β 受容体 (PDGFR- β) は、脳内では神経細胞に発現し、摂食行動の調節に関与するとともに PDGF 発現がダイオキシン類暴露により変化することが報告されている。本研究では、TCDD 暴露および高脂肪食が成長期の身体的成長に及ぼす過程に PDGFR- β が関与している可能性を検討するため、ラットを用いて胎生期に TCDD に暴露させるとともに離乳後に高脂肪食を摂取させ、PDGFR- β 発現とラットの身体的成長との関係を解析した。

〔方法〕

1. 動物

5匹の妊娠15日目の雌ラットに、コーン油に溶かした TCDD を摂取させた(1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BW)。一方、コントロールの雌ラットには、コーン油のみを摂取させた。これら雌ラットから出生した合計54匹の仔ラット (TDCC 暴露, 26匹; コントロール, 28匹) が生後(PD)21日齢になった時点で、さらに基準食群、幼獣期(PD 23-36)に高脂肪食を摂取させた群 (幼獣期高脂肪食群)、および成獣期(PD 49-58)に高脂肪食を摂取させた群 (成獣期高脂肪食群) の3群に分け、当該食で飼育した。

2. 身体計測および PDGFR- β 発現量の測定

これら仔ラットの体長および体重は毎日測定した。また、これら体長および体重より BMI を算出した。身体的測定は生後58日目まで行い、その後すべての仔ラットは、麻酔下にて脳を摘出し、実体顕微鏡下で内側前頭前野、側坐核、線条体、扁桃核、海馬体、頭頂葉、および上丘組織を採取した。これら組織標本は -80°C で保存し、後にウエスタンブロット法にて抗 PDGFR- β を用いて脳内各部の PDGFR- β 発現量を定量した。

3. 統計解析

身体的計測データおよび PDGFR- β 発現量は、2-way ANOVA により、比較解析した。また、身体的計測データおよび PDGFR- β 発現量間の関係については、Spearman の相関係数を用いて解析した。

〔結果〕

身体的計測では、TCDD の効果は認められなかったが、幼獣期高脂肪食群の雄ラットでは成獣時の体重および BMI が有意に増大した。ウエスタンブロット解析では、雄ラットの幼獣期または成獣期高脂肪食群において、海馬体、および扁桃核における PDGFR- β 発現量が低下し、側坐核

および頭頂葉における PDGFR- β 発現量が増加した。雌ラットでは幼獣期または成獣期高脂肪食群において、海馬体、扁桃体および上丘における PDGFR- β 発現量が低下した。また、雌ラットの高脂肪食群においてのみ、TCDD 暴露により線条体および扁桃体における PDGFR- β 発現量が低下した。

相関解析では、雄ラットにおいて、側坐核における発現量と体重増加量間、頭頂葉における発現量と BMI 間、および扁桃体における発現量と体長増加量間に正相関が、ならびに扁桃体における発現量と BMI 間に、海馬体における発現量と体長増加量間に、および線条体における発現量と体長増加量間に負相関が認められた。雌ラットでは、扁桃体における発現量と体重増加量間に、海馬体における発現量と BMI 間に正相関が、海馬体における発現量と体重増加量間に、海馬体における発現量と体長増加量間、および線条体における発現量と体長増加量間に負相関が認められた。

〔総括〕

本研究により初めて、発育期（幼獣期）に限定した高脂肪食摂取でも成長後に体重および BMI を増大させることが実験的に明らかになった。本結果は、体重調節における胎生期や周産期のみならず発育期の摂食の重要性を示すものである。また、本研究により、高脂肪食摂取により脳内における PDGFR- β 発現量が低下あるいは増加することが明らかになった。高脂肪食摂取は脳内において、1) PDGFR- β 合成を抑制する小胞体ストレスを誘導、あるいは 2) PDGFR- β 合成抑制に関与する「哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mTOR)」を不活化することなどが知られており、これら細胞内シグナル伝達系を介してそれぞれ PDGFR- β 発現量が低下および増加することが示唆された。とくに海馬体における発現量の低下は、PDGFR- β が神経可塑性に関与していることを考え合わせると、肥満患者における認知障害に関与することが示唆された。

第二に、脳内各領域における PDGFR- β 発現量と身体的成長（体重、BMI、および体長）が正相関あるいは負相関していることが明らかになった。とくに扁桃体においては、PI3K/Akt 活性が摂食抑制に作用することが示唆されており、PI3K/Akt 活性を賦活する PDGFR- β の発現量低下が摂食行動に影響を及ぼし、BMI を増大させたことが推測された。一方、海馬体および線条体では、PDGFR- β 発現量と体長が負相関していた。とくに海馬体は成長ホルモン分泌に重要な役割を果たしていることが知られ、さらに PDGFR- β 作用は成長ホルモン分泌を抑制するドパミン作用と同様の作用を呈することから、PDGFR- β は成長ホルモン分泌を抑制する可能性が示唆された。

これらのことから、TCDD 暴露および高脂肪食の身体成長に及ぼす影響の一端は、中枢神経系における PDGFR- β の発現を介する可能性が示唆された。以上に基づき、本研究は、TCDD 暴露や高脂肪食により脳内各所で PDGFR- β の発現が変化することを初めて明らかにした点に新規性があり、また PDGFR- β の発現が発達期における身体的成長と相関することを明らかにした点は、医学における学術的重要性も高いと考えられる。

以上より本審査会は本論文を博士（医学）の学位に十分値すると判断した。