

氏名	永田 瑞生
学位の種類	博士 (栄養科学)
学位記番号	博栄甲第 0013 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 9 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (課程博士)
研究科専攻	栄養科学研究科 栄養科学専攻
学位論文題目	Diabetes modulates ethanol-induced increase in serotonin release from rat hippocampus : an in vivo microdialysis study (糖尿病はエタノールによるラットの脳海馬セロトニン放出増加を減弱させる)
主論文公表雑誌	Nutritional Neuroscience
論文審査委員	(主査) 藤田 守 (副査) 津田 博子 (副査) 青峰 正裕 (副査) 山崎 純 (福岡歯科大学 歯学部) (副査) 森 誠之 (福岡大学 医学部)

論文内容の要旨

本研究ではアルコールが糖尿病 (DM) ラットの脳海馬セロトニン (5-HT) 放出にどのような影響を及ぼすのかを調べるために、非糖尿病 (non-DM) ラットと比較検討を行った。脳海馬 5-HT 放出は *in vivo* microdialysis 法を用いて測定した。DM モデルラットはストレプトゾトシン投与により作成した。エタノール (EtOH) は腹腔内投与 (0.5、1.0 および 2.0g/kg) および脳内灌流 (25、50、100 および 200mM) を行い、その結果、両投与方法ともに両群ラットで EtOH 濃度依存性に 5-HT 放出を増加したが、DM ラットにおいては non-DM ラットに比して増加の程度は低かった。血中 EtOH 濃度には両群ラットで有意な差異はなかった。以降の実験は脳内灌流にて行った。まず 3 種のアルコール (各 100mM) 間での 5-HT 放出量の比較を行った。その結果、non-DM ラットにおいてはイソプロパノール、EtOH、メタノールの順に 5-HT 放出量は有意に増加した。しかし DM ラットでは 3 種のアルコール間で 5-HT 放出量に差異はなかった。また、種々の 5-HT 受容体阻害薬 (5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄) および作動薬 (5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄) を EtOH と同時投与した場合の両群ラットの 5-HT 放出量を比較した。すべての作動薬において両群ラットともに EtOH 単独投与と比較して 5-HT 放出は有意に増加した。しかし、5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄ 受容

体阻害薬存在で non-DM ラットでは EtOH 単独投与と比較して 5-HT 放出は有意に減少した。一方、DM ラットでは 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT_{2A/2C} 受容体阻害薬で EtOH 単独投与と比較して 5-HT 放出に差異はなかったが、5-HT₃、5-HT₄ 受容体阻害薬で EtOH 単独投与および non-DM ラットと比較して 5-HT 放出が有意に増加した。次に、EtOH の主要代謝産物であるアセトアルデヒド (100mM) を灌流した場合、両群ラットともに EtOH と比較して 5-HT 放出は有意に増加した。このことは、EtOH による 5-HT 放出増加はアセトアルデヒドが関与していることを示唆している。一方で、DM ラットのアルコール脱水素酵素活性は non-DM ラットと比較して低下している可能性も示された。以上の結果から、糖尿病では 5-HT 受容体を含む中枢の神経伝達システムの異常を引き起こしている可能性ならびにアルコール脱水素酵素活性も低下している可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、アルコールが糖尿病 (DM) ラットの脳海馬セロトニン (5-HT) 放出にどのような影響を及ぼすのかを調べるために、非糖尿病 (non-DM) ラットと比較検討を行ったものである。脳海馬 5-HT 放出は *in vivo* microdialysis 法を用いて測定した。DM モデルラットはストレプトゾトシン投与により作成した。エタノール (EtOH) は腹腔内投与 (0.5、1.0 および 2.0g/kg) および脳内灌流 (25、50、100 および 200mM) を行い、その結果、両投与方法ともに両群ラットで EtOH 濃度依存性に 5-HT 放出を増加したが、DM ラットにおいては non-DM ラットに比して増加の程度は低かった。血中 EtOH 濃度には両群ラットで有意な差異はなかった。以降の実験は脳内灌流にて行った。まず 3 種のアルコール (各 100mM) 間での 5-HT 放出量の比較を行った。その結果、non-DM ラットにおいてはイソプロパノール、EtOH、メタノールの順に 5-HT 放出量は有意に増加した。しかし DM ラットでは 3 種のアルコール間で 5-HT 放出量に差異はなかった。また、種々の 5-HT 受容体阻害薬 (5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄) および作動薬 (5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄) を EtOH と同時投与した場合の両群ラットの 5-HT 放出量を比較した。すべての作動薬において両群ラットともに EtOH 単独投与と比較して 5-HT 放出は有意に増加した。しかし、5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄ 受容体阻害薬存在で non-DM ラットでは EtOH 単独投与と比較して 5-HT 放出は有意に減少した。一方、DM ラットでは 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT₂、5-HT_{2A/2C} 受容体阻害薬で EtOH 単独投与と比較して 5-HT 放出に差異はなかったが、5-HT₃、5-HT₄ 受容体阻害薬で EtOH 単独投与および non-DM ラットと比較して 5-HT 放出が有意に増加した。次に、EtOH の主要代謝産物であるアセトアルデヒド (100mM) を灌流した場合、両群ラットともに EtOH と比較して 5-HT 放出は有意に増加した。このことは、EtOH による 5-HT 放出増加はアセトアルデヒドが関与していることを示唆している。一方で、DM ラットのアルコール脱水素酵素活性は non-DM ラットと比較して低下している可能性も示された。

結論として、糖尿病では5-HT受容体を含む中枢の神経伝達システムの異常を引き起こしているという可能性およびアルコール脱水素酵素活性が低下している可能性も示唆されるという新しい知見が得られた。

最終試験結果の要旨

博士論文の内容に対して専門的見地から、以下のような質問を行った。

- 1) どうして海馬を標的に選んだのか。他の部位ではどうか。
- 2) 海馬を刺したのをどうやって確認したのか。
- 3) 遺伝的糖尿病ラットを何故使わなかったのか。
- 4) 血液中の5-HTが混入する可能性はあるのか。
- 5) アセトアルデヒドの代謝は海馬で起こるのか。
- 6) エタノール投与前に何故血中エタノール濃度がすでにある程度高いのか。
- 7) エタノールを経口投与したら結果はどうなるのか。
- 8) 糖尿病で5-HT放出減弱の根拠はあるのか。海馬からの放出とは限らない。
- 9) 海馬は左右どちらを使ったのか。
- 10) なぜ1-プロパノールを使わなかったのか。
- 11) 麻酔薬の追加のタイミングで脳神経活動は影響を受けるか。
- 12) 高血糖状態と糖尿病状態は異なる。高血糖状態の可能性を排除するにはどういう実験をしたらいいのか。

さらに、専門分野から質問を行った結果、的確な回答が得られたので、審査員合議の上、最終試験に合格したものと判断した。