

機関番号：37109

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19500704

研究課題名(和文) ストレスに伴う食欲減退のメカニズムを探る

研究課題名(英文) Studies on the mechanism underlying stress-induced anorexia

研究代表者

青峰 正裕 (AOMINE MASAHIRO)

中村学園大学・栄養科学部・教授

研究者番号：60091261

研究成果の概要(和文)：ストレスによる摂食障害のメカニズムを、ラットやマウスを用いて脳内セロトニン(5-HT)、行動量・摂食量・摂水量、一酸化窒素(NO)量等の測定により調べた。ストレス負荷は、拘束、電気刺激やアルコール投与を用いた。ストレス下では5-HT<sub>3</sub>と5-HT<sub>4</sub>受容体の機能異常が観察された。活動期にストレス負荷をすると摂食量や行動量を著しく減少した。また、糖尿病による高血糖状態はストレス抵抗性を低下させたが、NOとの関係は明確ではなかった。

研究成果の概要(英文)：We studied the mechanism underlying stress-induced anorexia by measuring brain serotonin (5-HT), the locomotor activity, the intakes of food and water, and the nitric oxide (NO) in rats and mice. Immobilization, electric stimulation and alcohol administration were used as stress. The stress caused the dysfunction of 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors. These stresses during active stage in a day significantly decreased the contents of food intake and the locomotor activity. Further, higher level of blood glucose concentration, which was induced by diabetes mellitus, reduced the resistance for the stress, while the relation between the resistance for stress and NO remains obscure.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食行動、ストレス、摂食障害、神経伝達物質

## 1. 研究開始当初の背景

日常生活でストレスを感じているヒトは多く、ストレスにより食事量に変化するヒト

は、男性で約35%、女性では約56%に達する。この食事量が異常に変化する病態を摂食障害という。ストレスが引き起こす摂食障害に

関する中枢の機構は十分には明らかにされてなく、ある種のペプチドや神経伝達物質がこの反応に関与すると考えられている。その一つに、セロトニン (5-HT) などのモノアミンや視床下部からのコルチコトロピン放出ホルモンが摂食行動に影響し、ストレスへの行動的、生理的反応を媒介することはよく知られている。また、糖尿病患者や糖尿病動物の脳海馬では 5-HT 濃度が健常者より有意に低下しており、しかもうつ病の罹患率が健常者に比し 3~4 倍高いことから、摂食障害や糖尿病の発症に 5-HT が深く関わっていることが推測される。

## 2. 研究の目的

ストレスによる摂食障害のメカニズムを調べる。糖尿病では、ストレス負荷の際に増加する脳内神経伝達物質 5-HT の放出低下が知られているので糖尿病動物 (ラット、マウス) を用いて比較する。ストレス (拘束、アルコール、電気刺激) を負荷したラットおよびマウスを用いて、ストレスが摂食障害を引き起こす機序を探るものである。ストレス負荷の時刻 (活動期直前、休止期直前) による摂食・摂水量や行動量の差を観察する。ストレスによる学習・記憶への影響も調べる。そして、摂食行動に密接に関与する神経伝達物 5-HT の受容体 (脳海馬には 5-HT<sub>1</sub> から 5-HT<sub>4</sub> の受容体が密に存在) の作動薬と拮抗薬を脳内投与して、5-HT などの神経伝達物質の脳海馬で濃度を調べる。また、インスリンなどによる血糖値の低下が、脳内一酸化窒素 (NO) レベルを導き、5-HT のレベルを逆に増加したことから、血糖レベルや NO レベルも摂食・節水行動へ関与していることが考えられるのでストレス負荷と血糖値および血中 NO レベルの関係も調べた。これらを通して、どのようなファクターがストレスによる摂食障害に関与しているかを吟味する。

## 3. 研究の方法

本研究においては、実験動物として、Wistar 系ラット、自然発症糖尿病 WBN/Kob ラット、C57BL マウスと自然発症糖尿病 KKTa マウスを用いた。また、Wistar ラットはストレプトゾトシン腹腔内投与により糖尿病にし

ても用いた。次の機器を使用して、「研究の目的」で記した計画を実施した。(1) in vivo マイクロダイアリシス・モノアミン分析システム、(2) 酸化窒素分析システム、(3) 摂食・摂水量測定装置、(4) シャトルアボイダンスシステム。

## 4. 研究成果

(1) 糖尿病患者においても摂食障害は観察されるので、高血糖がストレス抵抗性に関与しているかを、遺伝性糖尿病ラット (WBN/Kob ラット) と健常ラット (Wistar ラット) で拘束ストレスを負荷して、脳海馬からの 5-HT 放出を指標として確かめた。高血糖状態がストレス抵抗性を低下させている可能性が示唆された。

(2) 5-HT 作動性神経が投射している海馬での 5-HT が食欲低下への関与を探る実験を行った。糖尿病の脳海馬では 5-HT レベルの低下が知られている。選択的セロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI) フルボキサミンを投与して、拘束ストレスを明期初期に負荷した場合と暗期初期に負荷した場合で比較した。行動量は明期に負荷した場合、両群で行動量は明期より暗期に低下したが、SSRI 投与により、とくに糖尿病マウスで暗期行動量は増加した。摂食量も同様の傾向があった。このことは SSRI がシナプス間隙の 5-HT レベルを増加した結果と考えられる。

(3) ストレス負荷の方法としてアルコール投与がある。アルコールの濃度・投与時刻がマウスの行動量や摂食・摂水量の日内リズムに与える影響に注目した。さらにこれらに糖尿病状態がどのように影響するかを知るために自然発症糖尿病マウスも使用した。健常・糖尿病両群マウスにおいて、明期にエタノール濃度 (0.5g/kg、1.0g/kg、2.0g/kg) を負荷した場合と、暗期に負荷した場合で摂食・摂水量や行動に与える影響を調べた。健常マウスでは、アルコール投与で行動量は濃度依存性に減少したが、明期投与に比べて暗期投与で摂食量や行動量は著しく減少し、体重も減少傾向を示した。また、糖尿病マウスにおいては明期投与では摂食量の減少はみられず、暗期投与により有意に減少したが健常マウスに比して、減少の程度は軽微であつ

た。しかし体重においては若干の増加が観察された。

(4) ラット脳海馬からの 5-HT 放出に関わっている 5-HT 受容体と、ストレス負荷ラットでその放出に関係ある 5-HT 受容体を調べるため、海馬に多い 5-HT 受容体 5-HT1~5-HT4 までの阻害剤を用いて調べた。実験は in vivo マイクロダイアリシス法を用いた。5-HT1A 阻害剤 way-100635 (10  $\mu$  M), 5-HT1A 阻害剤 GR55562 (100  $\mu$  M)、5-HT2 阻害剤 ritanserin (10  $\mu$  M), 5-HT2A/2C 阻害剤 ketanserin (50  $\mu$  M), 5-HT3 阻害剤 ICS205-930 (100  $\mu$  M), 5-HT4 阻害剤 RS23597-190 (50  $\mu$  M) などを使用した。結果として、5-HT1B, 5-HT2, 5-HT3, 5-HT4 受容体が 5-HT 放出調節に関与していることが分かった。また、ストレス下では 5-HT3 と 5-HT4 受容体の機能異常が観察された。

(5) GI (グリセミック・インデックス) 値の異なる細胞破壊試料と単細胞化試料を投与して、ストレス負荷のラット行動量に及ぼす効果を検討した。試料は、①生食水 (1.5g/kg)、②単細胞化さつまいもペースト (1.5g/kg 体重さつまいも相当量)、③細胞破壊さつまいもペースト (1.5g/kg 体重さつまいも相当量) を用いた。ラットを生食水群、単細胞化群と細胞破壊群に分け、試料投与前の血糖値を測定し、投与後は 30 分ごとに 180 分まで測定した。行動量は 24 時間自発運動量測定装置を用い、ストレス負荷は、電気刺激 (0.5mA 電気刺激 [1 サイクル=10 秒刺激+50 秒休止] を 30 サイクル) である。血糖値上昇は、細胞破壊群 > 単細胞化群 > 生食群の順であった。ストレス負荷無しの場合の 1 日総運動量は、細胞破壊群が最も多く、次いで単細胞化群、生食群の順であり、血糖値と比例関係にあった。確かに、血糖値が行動に強く影響していることがわかる。ストレス負荷の場合、いずれの群も大幅に運動量を上昇した。しかしその内容は、生食水群が 5.4 倍、単細胞化群が 3.3 倍、細胞破壊群が 1.5 倍であり、血糖値上昇度が高いほど、ストレスによる運動量の増加が抑えられているのが示唆された。電気刺激ストレスは交感神経賦活化やアドレナリンなどの分泌を促進して運動量を増加したと考えられる。つまり、血糖値をより高く保つ

ことも、ストレスに対しての緩和作用を発揮できることが示唆された。

(6) 短期的には血糖値と血中 NO レベルには相関があることが知られている。ラットにストレス (0.5mA 電気刺激 [1 サイクル=10 秒刺激+50 秒休止] を 30 サイクル) を負荷 (1 週間) することにより、NO、血糖値や摂食・摂水量は低下する傾向があったが、有意な差ではなかった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

- ①. Nagata T., Nishiyama A., Yamato T., Obata T., Aomine M.: Diabetes modulates ethanol-induced increase of serotonin from rat hippocampus: an in vivo microdialysis study. *Nutr. Neurosci.*, 14: (2011) in press (査読有り)
- ②. Obata T., Aomine M.: Glycine facilitates MPP<sup>+</sup>-induced hydroxyl radical production via N-methyl-D-aspartate receptor in rat striatum. *Res. Commun. Pharmacol. Toxicol.*, 16 (2011) in press (査読有り)
- ③. Obata T., Yonemoti H., Aomine M.: The protective effect of fluvastatin on hydroxyl radical generation by inhibiting low-density lipoprotein (LDL) oxidation in rat myocardium. *Microvasc. Res.*, 77:163-165 (2009) (査読有り)
- ④. Misumi Y., Yamato T., Obata T., Aomine M.: Effects of ion channel blockers on basal hippocampal monoamine levels in freely moving diabetic and non-diabetic rats. *Int. J. Neurosci.*, 118:461-480 (2007) (査読有り)

[学会発表] (計 28 件)

- ①. 永田瑞生、西山敦子、大和孝子、小畑俊男、青峰正裕: アルコールは脳内セロトニン放出増加によりストレス緩和を引き起こす、第 63 回日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部

会、那覇市、2009.10.30-31

②. 大和孝子、村上晴秋、永田瑞生、西山敦子、太田英明、青峰正裕：茶葉カテキンによる脳内セロトニン放出増加。第18回日本清涼飲料研究会，東京都，2008.10.23

③. 永田瑞生、村上晴秋、大和孝子、西山敦子、青峰正裕：高血糖がストレス抵抗性を減弱する。第85回日本生理学会，東京都，2008.3.25-27

④. 大和孝子、青峰正裕、古賀民穂、太田英明：コーヒー抽出液によるストレス緩和に関する研究。第17回日本清涼飲料研究会，東京都，2007.10.25

〔図書〕（計2件）

①. 青峰正裕編著，「イラスト解剖生理学実験」第1章 はじめに，青峰正裕、藤田守，清末達人，熊井まどか，阪本典子，大和孝子，竹嶋美夏子，長谷川昇共著（東京教学社，東京）（2009）145頁

②. 青峰正裕・藤田守編著，「解剖生理学実験」第1章 解剖生理学実験の基礎、第4章 人体の生理機能に関する実験。8. 内分泌に関する実験、第6章 模型及び機器類、青峰正裕、藤田守、上原万里子、梶原苗美、北川章、関澤文、能見光雄、平林義章、松本衣代、村上雅仁、山崎俊介、山里晃弘共著（建帛社，東京）（2009）147頁

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

青峰 正裕 (AOMINE MASAHIRO)  
中村学園大学・栄養科学部・教授  
研究者番号：60091261

### (2) 研究分担者

大和 孝子 (YAMATO TAKAKO)  
中村学園大学・栄養科学部・准教授  
研究者番号：70271434

西山 敦子 (NISHIYAMA ATSUKO)  
中村学園大学・栄養科学部・助手  
研究者番号：90461475