

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（保健学）	氏名	越智 亮介
学位授与の条件	学位規則第 4 条第① 2 項該当		
論文題目 Medial prefrontal area reductions, altered expressions of cholecystokinin, parvalbumin, and activating transcription factor 4 in the corticolimbic system, and altered emotional behavior in a progressive rat model of type 2 diabetes (進行性 2 型糖尿病モデルラットにおける内側前頭前皮質面積減少，皮質辺縁系のコレシストキニン，パルブアルブミン，転写因子 ATF4 の発現変化と情動行動変化)			
論文審査担当者			
主査	教授	濱田 泰伸	印
審査委員	教授	弓削 類	
審査委員	教授	桐本 光	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>糖尿病では，うつや不安障害など精神障害を引き起こしやすいことが知られている。精神障害の合併は，糖尿病の重症化につながり生存率が低下することが報告されている。我々は，進行性 2 型糖尿病モデルである Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) ラットが糖尿病初期にあたる 20 週齢時点で，不安様行動亢進，皮質辺縁系の特定脳領域縮小，コレシストキニン (cholecystokinin; CCK) 陽性細胞数増加を呈することを報告した。皮質辺縁系における変化のうち，内側前頭前皮質での脳領域縮小と，CCK 陽性細胞数増加は，不安様行動亢進に関与することが先行研究でも報告されている。加えて，不安様行動亢進には皮質辺縁系のパルブアルブミン (parvalbumin; PV) 陽性細胞数減少も関与することが報告されている。しかし，異なる糖尿病期の OLETF ラットで，不安様行動亢進，および関連する神経生物学的変化が認められるかは明らかにされていない。また，いくつかの糖尿病モデル動物では，脳領域縮小を示唆するアポトーシス関連因子である転写因子 activating transcription factor 4 (ATF4) や caspase-3 の発現が増加することが報告されている。しかし，異なる週齢の OLETF ラットで，これらアポトーシス関連因子の発現が変化しているかは明らかにされていない。そこで本研究は，8 週齢と 30 週齢の異なる糖尿病期の OLETF ラットで，不安様行動亢進とそれに関連する神経生物学的変化，アポトーシス関連因子の発現変化が認められるか明らかにすることを目的とした。</p> <p>実験動物には OLETF ラットと，対照として非糖尿病 Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを用いた。8 週齢または 30 週齢時点の耐糖能を調べるため，経口ブドウ糖負荷試験を行った。それぞれの週齢の糖負荷試験後，不安様行動を調べるためにオープンフィールド試験を行った。それぞれの週齢のオープンフィールド試験後，脳を摘出して脳切片を作成し，皮質辺縁系の脳領域面積の計測，CCK, PV, caspase-3 および ATF4 の免疫組織化学染色を行い解析した。</p>			

8 週齢の OLETF ラットは、軽度高血糖と正常血漿インスリン値を呈し、30 週齢の OLETF ラットは、重度高血糖と、低インスリン血症もしくは高インスリン血症が混在していた。オープンフィールド試験では、OLETF ラットは LETO ラットより、8 週齢時点で中心部移動距離が少なく、30 週齢時点では中心部離脱潜時が長かった。内側前頭前皮質面積は、どちらの週齢においても OLETF ラットが LETO ラットより小さかった。CCK 陽性細胞密度は、OLETF ラットが LETO ラットより、どちらの週齢でも前帯状皮質、下辺縁皮質、海馬 CA3 で大きく、8 週齢時点のみ扁桃体外側核、基底外側核で大きかった。PV 陽性細胞密度は、OLETF ラットが LETO ラットより、どちらの週齢でも前辺縁皮質、下辺縁皮質で小さく、8 週齢時点のみ海馬 CA2 で小さかった。Caspase-3 免疫組織化学染色では、系統と週齢にかかわらず、いずれの部位でも明確な陽性反応が検出されなかった。ATF4 免疫組織化学染色では、OLETF ラットで、前帯状皮質の CCK 陽性細胞中の ATF4 共発現の割合が高く、扁桃体外側核の PV 陽性細胞中の ATF4 共発現の割合が高かった。

経口ブドウ糖負荷試験での指標から、OLETF ラットは 8 週齢時点で糖尿病発症前、30 週齢時点では糖尿病進行期に相当することが示された。オープンフィールド内での行動学的変化から、OLETF ラットは不安様行動亢進を呈することが明らかとなった。OLETF ラットの内側前頭前皮質縮小、皮質辺縁系領域での CCK 陽性細胞数増加および PV 陽性細胞数減少は、これまでの報告と合わせて不安様行動亢進に関わることが示唆された。また、OLETF ラットのアポトーシス関連因子を調べたところ、CCK および PV 陽性細胞での ATF4 共発現が増加していたが、caspase-3 の陽性反応は認めなかったことから、神経系へのアポトーシス誘導の可能性は低いことが示された。本研究で観察された不安様行動亢進と、関連する皮質辺縁系の神経生物学的変化は、少なくとも OLETF ラットでは、糖尿病発症前からすでに認められることが示された。

以上の結果から、本論文は、進行性 2 型糖尿病モデルである OLETF ラットが、糖尿病発症前から、不安様行動亢進と、それに関連する皮質辺縁系での神経生物学的変化を呈することを明らかにし、糖尿病早期に生じる不安様行動変化の神経機構を解明していく上で重要な示唆を与えたことから、糖尿病合併症の病態理解に大きく貢献する研究として高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（保健学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。