

学 位 論 文 要 旨

氏 名	長 嶺 樹
題 目	ヤギの視床下部外側野 (LHA) および腹内側核 (VMH) の採食量調節性ニューロンの特性 (The characteristics of the neurons controlling feed intake in the lateral hypothalamic area (LHA) and the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) in goats.)
<p>反芻動物の中樞性採食量調節に関する研究は単胃動物と比べて遅れており、反芻動物の中樞性採食量調節機構は殆ど解明されていない。</p> <p>本論文では、ヤギの脳内における食欲中枢の位置を解明するために、新しく開発した単一ニューロン活動(SUA)記録電極を用いて、ヤギの視床下部外側野(LHA)及び視床下部腹内側核(VMH)において採食中にニューロン活動の記録を行い、LHA及びVMHに食欲調節性ニューロンが存在するか否かを調べた。本研究の実験は、採食量が正常の場合、増加されている場合、及び抑制されている場合で行われた。</p> <p>1番目の実験では、7頭の日本ザーネン種雄山羊を供試した。動物はシールド室内の代謝ケージで飼育された。動物には1日2回、午前10~12時にアルファルファヘイキューブ2kgを、午後4時に肉牛用配合飼料及び乾草を給与した。飲水は24時間自由給水した。SUA記録は、午前の採食開始10分前から2時間の採食時間の終了直後まで連続して行った。採食速度は、採食開始後40分まで急激に減少し、40分以降は緩やかに減少した。本実験では、採食速度が大きい時間帯において発火頻度が採食開始前より増加し、動物が飽食に達すると(採食速度が著しく減少すると)発火が消失、又は発火頻度が著しく減少するunitsが記録された。本実験の結果は、ヤギのLHAには乾草の採食量調節に関与したニューロンが存在することを示唆した。</p> <p>2番目の実験では、5頭の日本ザーネン種雄ヤギを供試した。動物の飼育及びSUA記録は、1番目の実験と同様に行った。本実験では非注入(NI)と第一胃内温水注入処理(RWI)を行った。採食速度は、NIでは1番目の実験の採食速度と全く同じパターンを示した。一方、RWIでは採食開始後50分まで緩やかに減少し、50分以降は低い値で推移した。RWIの採食速度は2時間の採食時間前半の1時間の間、NIより有意に高かった。本実験では、採食速度が大きい時には発火頻度が低く、採食速度が著しく低下すると発火頻度が増加するunitsが記録された。本実験の結果は、ヤギのVMHには乾草の採食量抑制に関係したニューロンが存在することを示唆した。</p> <p>3番目の実験では、5頭の日本ザーネン種雄ヤギを供試した。動物の飼育及びSUA記録は、前の実験と同様に行った。本実験ではNIと第一胃内バルーン挿入処理(RBI)を行った。RBIの採食速度はNIと比較して、ほぼ全ての時間で小さい値であった。本実験では、採食速度が大きい時には発火頻度が低く、採食速度が著しく低下すると発火頻度が増加するunitsが記録された。発火頻度は、記録時間中RBIがNIより常に高い値を示した。本実験の結果は、ヤギのVMHには乾草の採食量規制に関係したニューロンが存在することを示唆した。</p> <p>本論文の結果は、ヤギのLHAには摂食中枢、またVMHには満腹中枢が存在することを示唆している。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Itsuki Nagamine
題 目	The characteristics of the neurons controlling feed intake in the lateral hypothalamic area (LHA) and the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) in goats. (ヤギの視床下部外側野 (LHA) および腹内側核 (VMH) の採食量調節性ニューロンの特性)

Compared with monogastric animals, the research on central regulation of feed intake in ruminants is making slow progress, and the central mechanisms of feed intake regulation in ruminants are not clear.

To determine the locations of feeding centres in the brain of goats, the present thesis utilized a single unit activity (SUA) recording electrode to investigate whether or not neurons that change their activities in response to feed intake changes exist in the lateral hypothalamic area (LHA) and the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) of goats. This research consisted of three completely separate experiments; the first under normal feeding conditions, the second experiment involved artificially increasing feed intake, while the third was conducted on animals whose feed intake had been artificially suppressed.

In the first experiment, seven male Japanese Saanen goats were used. The animals were maintained in individual metabolic cages which were placed in a shielded room and the animals were fed twice a day for 2h each time. The animals were fed at 10:00 with alfalfa hay cubes, and at 16:00 with concentrate feed and hay. The animals were allowed free access to drinking water. The SUA recordings were carried out continuously over a 130 min period beginning 10 min prior to the commencement of morning feeding. Eating rates declined rapidly for the first 40 min of the feeding period, and then declined gradually to very low levels. This study recorded units in which firing stopped completely or the firing rates decreased when the animals became satiated (eating rates declined to very low levels). The result of this experiment suggests that neurons located in the LHA of goats are involved in the regulation of hay intake.

In the second experiment, five male Japanese Saanen goats were used. The animals were maintained and SUA recordings were conducted in the same way as the first experiment. The present experiment consisted of two treatments, non-infusion (NI) and intraruminal water infusion (RWI). Eating rates in NI treatment followed the same pattern as experiment 1. In the RWI treatment, eating rates decreased slowly until 50 min had elapsed and then remained at low levels. Eating rates in the RWI treatment were significantly higher compared to the NI treatment in the first hour of the two hour feeding period. This study recorded units which increased their firing rates when the animals became satiated in both treatments. The results suggest that cells located in the VMH of goats are active in the suppression of hay intake.

In the third experiment, five male Japanese Saanen goats were used. The maintenance of animals and the SUA recordings were carried out in the same way as previous experiments. The present experiment consisted of two treatments, NI and intraruminal balloon insertion (RBI). Eating rates in the RBI treatment were lower than in the NI treatment for almost the entire time after feeding commencement. This study recorded units which increased their firing rates when the animals became satiated in both treatments. The firing rate in the RBI treatment was larger than that in the NI treatment throughout the SUA recording period. The results suggest that cells located in the VMH of goats are active in the suppression of hay intake.

The results in this thesis suggest that the feeding center exists in the LHA and satiety center exists in the VMH in the goat brain.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	長 嶺 樹
審査委員	主査 琉球大学 教授 砂 川 勝 徳
	副査 琉球大学 教授 新 城 明 久
	副査 鹿児島大学 教授 林 國 興
	副査 鹿児島大学 教授 中 西 良 孝
	副査 宮崎大学 教授 川 村 修
審査協力者	
題 目	ヤギの視床下部外側野 (LHA) および腹内側核 (VMH) の採食量調節性ニューロンの特性 (The characteristics of the neurons controlling feed intake in the lateral hypothalamic area (LHA) and the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) in goats.)
<p>反芻動物の中樞性採食量調節に関する研究は単胃動物と比べて遅れており、反芻動物の脳内における採食量調節機構は殆ど解明されていない。</p> <p>本論文では、ヤギの脳内における食欲中枢の位置を解明するために、新しく開発した単一ニューロン活動 (SUA) 記録電極を用いて、ヤギの視床下部外側野 (LHA) および視床下部腹内側核 (VMH) において採食中にニューロン活動の記録を行い、LHA および VMH に採食量調節性ニューロンが存在するか否かを調べた。本研究の実験は、採食量が正常の場合、増加している場合および減少している場合で行われた。</p> <p>1 番目の実験 (採食量が正常の場合) では、7 頭の日本ザーネン種雄山羊を供試した。動物はシールド室内の代謝ケージで飼育された。動物には 1 日 2 回、午前 10~12 時にアルファルファヘイキューブ 2 kg を、午後 4 時に肉牛用配合飼料および乾草を給与した。飲水は 24 時間不断給与した。SUA 記録は、午前の採食開始 10 分前から 2 時間の採食時間の終了直後まで連続して行った。採食速度は、採食開始後 40 分まで急激に低下し、40 分以降は緩やかに低下した。採食速度が速</p>	

い時間帯においては発火頻度が採食開始前より増加し、動物が飽食に達すると（採食速度が著しく遅くなると）発火が消失または発火頻度が著しく減少するユニットが観察された。本実験の結果は、ヤギのLHAには乾草の採食促進に関与したニューロンが存在することを示している。

2番目の実験（採食量が増加している場合）では、5頭の日本ザーネン種雄ヤギを供試した。動物の飼育およびSUA記録は、1番目の実験と同様に行った。本実験では非注入（NI）と第一胃内温水注入処理（RWI）を行った。採食速度は、NIでは1番目の実験の採食速度と全く同じパターンを示した。一方、RWIでは採食開始後50分まで緩やかに低下し、50分以降は低い値で推移した。RWIの採食速度は2時間の採食時間の前半1時間の間、NIより有意に速かった。採食速度が速い時には発火頻度が低く、採食速度が著しく遅くなると発火頻度が増加するユニットが観察された。本実験の結果は、ヤギのVMHには乾草の採食抑制に関係したニューロンが存在することを示している。

3番目の実験（採食量が減少している場合）では、5頭の日本ザーネン種雄ヤギを供試した。動物の飼育とSUA記録は、前の実験と同様に行った。本実験ではNIと第一胃内バルーン挿入処理（RBI）を行った。RBIの採食速度はNIと比較して、ほぼ全ての時間で小さい値であった。採食速度が速い時には発火頻度が低く、採食速度が著しく遅くなると発火頻度が増加するユニットが観察された。発火頻度は、記録時間中NIよりRBIで常に高い値を示した。本実験の結果は、ヤギのVMHには乾草の採食抑制に関係したニューロンが存在することを示している。

本論文の結果から、ヤギのLHAには採食を促進するニューロン、またVMHには採食を抑制するニューロンが存在し、それぞれ摂食中枢および満腹中枢として機能しており、末梢からの情報を統合して乾草の採食量を調節しているものと考えられた。

以上のように、本論文では、自由採食しているヤギのLHAおよびVMHにおいて採食量調節性ニューロンの活動を記録することに初めて成功し、反芻動物のLHAは摂食中枢、VMHは満腹中枢として機能していることを初めて明らかにした。

本論文の成果は、反芻動物の栄養生理学、特に採食量調節機構を明らかにする研究の進展に大きく貢献するものと評価される。従って、博士（農学）の学位論文として十分な価値があるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	長 嶺 樹
審査委員	主査 琉球大学 教授 砂 川 勝 徳
	副査 琉球大学 教授 新 城 明 久
	副査 鹿児島大学 教授 林 國 興
	副査 鹿児島大学 教授 中 西 良 孝
	副査 宮崎大学 教授 川 村 修
審査協力者	
実施年月日	平成 18 年 8 月 3 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査は、平成18年8月3日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士(農学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	長 嶺 樹
<p>[質問 1] あなたの研究でアルファルファヘイキューブを使ったのはなぜか。</p> <p>[回答 1] アルファルファヘイキューブは、粗飼料の中ではかさが小さいため、実験を行う上で扱い易い。</p> <p>[質問 2] これまでの採食量調節に関する研究でもアルファルファヘイキューブが使われているのか。</p> <p>[回答 2] これまでの採食量調節に関する研究でもアルファルファヘイキューブやアルファルファチャフが用いられている。</p> <p>[質問 3] アルファルファヘイキューブは粗飼料的な部分と濃厚飼料的な部分がある。つまり、難消化性の部分と易消化性の部分で構成されている。難消化性の部分は胃の膨満度を高める、易消化性の部分は浸透圧を上昇させる作用がある。この点では、栄養学的な面からも採食量調節に関する研究に適切な飼料を選択したと思う。それでは、粗飼料的な部分だけを給与した場合と濃厚飼料的な部分だけを給与した場合では、本実験の結果と何か違いは現れるか。</p> <p>[回答 3] 粗飼料的な部分だけを給与した場合、濃厚飼料的な部分だけを給与した場合のいずれの場合も採食量の調節がLHAとVMHで行われることは同じであると考えられる。しかし、第一胃充満度や第一胃液浸透圧などの末梢性の要因は、粗飼料的な部分だけを給与した場合と濃厚飼料的な部分だけを給与した場合で異なると考えられる。</p> <p>[質問 4] そうすると、機械的に伝達される調節も化学的に伝達される調節も同じであると考えていいのか。つまり、論文の中で「統合」という言葉を使っているので、違った別々の情報を一緒にすると考えていいのか。</p> <p>[回答 4] 脳内の中枢は、末梢から送られてくる様々な情報を統合し、総合的に判断することによって、例えば採食を開始する、あるいは採食を停止するなどの指令を出していると考えられる。</p> <p>[質問 5] 脳内の情報を記録する技術と反芻胃の中の状態が変化する条件を与えられたという点では、非常に貴重な研究だったと思う。しかしながら、実験の結果を基に実際の家畜の飼育にどう結び付けていこうかという議論が発表の中でも論文の中でもなかった。おそらく応用可能だと思うが、そのことについて、話してくれるといいのだが。</p> <p>[回答 5] 現在、畜産の現場では生産性を向上させることが大きな課題である。生産性を向上させるためには、採食量を増やす必要がある。本研究の結果を基に採食量調節機構が明らかにされると、採食量を増加させる新たな技術の開発が可能になると考えられる。それにより、生産性を向上させることができると考えられる。</p> <p>[質問 6] 精密な実験でご苦労されたと思う。確認したいことがある。実験 1 では 7 頭のヤギを用いて 5 個のユニットが観察され、実験 2 では 5 頭のヤギで 4 個のユニットが観察されたということであるが、全ての個体でその数ずつ観察されたのか、それとも供試した動物の何頭かで観察されたのか、その内訳について説明してください。</p> <p>[回答 6] 実験 1 では、採食に反応した 5 ユニットは 7 頭中 2 頭で記録され、採食に反応しなかったユニットはこの 2 頭を含めた 5 頭で記録された。実験 2 では、採食に反応した 4 ユニットは 5 頭中 2 頭で記録され、採食に反応しなかったユニットは全ての動物で記</p>	

録された。

[質問7] 採食に反応したユニットと反応しなかったユニットがあったということであるが、反応しなかったユニットは電極が中枢に当たらなかったからだと考えていいか。

[回答7] 電極が中枢に当たらなかったことも理由の一つである。他にも理由がある。LHAやVMHは採食の調節だけでなく、自律神経の調節や情動の調節にも関わっているので、採食に反応しなかったユニットはそちらのほうに関係していると考えられる。

[質問8] そうすると、例えばVMHの中でどの部分が採食に反応し、どの部分が他のことに反応するというような細かな部分は分かっていないということか。

[回答8] はい。ご指摘の通りである。

[質問9] VMHとLHAで同時に観察することは可能か。

[回答9] VMHとLHAで同時に観察するためにはそれぞれに記録電極を挿入する必要があるが、両者は非常に近い位置にあり、記録電極を同時に挿入するにはさらなる技術の開発が必要である。

[質問10] VMHでは温水注入やバルーン挿入など条件を変えて実験を行っているが、LHAでは行わなかったのか。

[回答10] LHAについても、温水注入やバルーン挿入した条件で実験を行ったが、ニューロンの活動を記録することができなかった。

[質問11] ラットなどの単胃動物では、室傍核が採食量調節に関係していることが明らかになっているが、反芻動物であるヤギについても室傍核は採食量調節に関係しているのか。

[回答11] 反芻動物において、室傍核と採食量調節との関連性は証明されていない。今後の課題としたい。