

氏 名	山 崎 英 恵
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1055 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 食 品 工 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on mechanism of emergence of central fatigue in animals during exercise (中枢性疲労発生機構に関する研究) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 伏 木 亨 教 授 佐々木隆造 教 授 井 上 國 世

論 文 内 容 の 要 旨

疲労は過度の労作や運動,あるいは精神的なストレスなどによって生じる現象で,身体の活動能力が抑制される。疲れを感じたときに動かない状態になるのは,脳が身体活動を抑制する信号を発しているためと考えられる。疲労感とは,休息を促して身体の機能の回復をはかる信号であり,このような信号として脳には何らかの物質が蓄積される可能性があるが,その実体は明らかではなかった。本研究では,実験動物を用いて,疲労に至る運動を負荷した時に脳内に疲労に関わる物質が放出されることを明らかにし,その物質の実体を解明するとともに,これを脳内に投与することによって自発行動を抑制する作用を有することを明らかにしたものである。本研究で得られた主な成果は以下のとおりである。

1. 動物の運動用のプールを用い,ラットを疲労困憊まで強制遊泳させた後直ちに麻酔下で脳脊髄液を採取した。これを麻酔していないマウス脳大槽内に投与したところ,マウスの自発行動量が有意に低下した。疲労していないラットの脳脊髄液を投与したマウスの自発行動量は低下しなかった。このことは,疲労したラットの脳脊髄液中には,自発行動を抑制する活性を持つ物質が存在することを示唆している。この物質は,熱に不安定であり,100度の熱水中で5分間加熱することによってマウスの自発行動を抑制する活性を失った。また,限外濾過法によって分子量が10,000以上の高分子であることを明らかにした。

2. ヒドラの触手球形成応答阻害を利用した物質の検出は,超微量の生理活性物質をスクリーニングする手段として有用であることがすでに報告されている。この方法を用いたスクリーニングによって,疲労させたラットの脳脊髄液中にはTGF- β あるいはその類似物質の濃度が増加していることを明らかにした。さらに,ミンク肺上皮細胞の $[^3\text{H}]$ チミジン取り込み阻害を利用したバイオアッセイにより,疲労したラットの脳脊髄液では活性型TGF- β 濃度が増加していることを示した。そこで,疲労したラットから採取した脳脊髄液からTGF- β を抗TGF- β 抗体によって中和除去したものをマウスに投与したところ,マウスの自発行動量の低下は観察されなかった。これらのことから,TGF- β が自発行動の抑制と密接に関わる物質であることが強く示唆された。

3. 精製されたTGF- β をマウスに投与することによって,マウスの自発行動量は有意に低下することを明らかにした。また,TGF- β によるマウスの自発行動量の低下は用量依存的であることを示した。TGF- β のなかでも,TGF- β 2とTGF- β 3の2種類のアイソフォームに強い活性があり,TGF- β 1にはマウスの自発行動を抑制する活性が低いことを明らかにした。TGF- β は通常は生理活性を持たない潜在型として存在するが,潜在型TGF- β にはマウスの自発行動を抑制する活性がなかった。潜在型TGF- β を酸処理によって活性型に変換すると自発行動抑制活性が出現した。

4. 運動の量を変えることによって種々の程度の疲労感を与えたラットについて,疲労度の大きさと脳脊髄液中に蓄積された活性型TGF- β 量との相関を検討したところ,運動負荷の大きいラットの脳脊髄液は,軽い運動を負荷したラットのそれに比べて,マウスの自発行動を抑制する作用が有意に高かった。このことから,疲労度の大きさに対応して,脳内TGF- β 量が増大し,これが疲労感を発生する原因となっていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

中枢性の疲労感は、休息を促して身体の機能の回復をはかる信号であり、このような信号として脳には何らかの物質が蓄積される可能性があるが、その実体は明らかではなかった。本論文は、実験動物を用いて、疲労に至る運動を負荷した時に、脳内に疲労に関わる物質が放出されることを明らかにし、その物質の実体を解明するとともに、これを脳内に投与することによって自発行動を抑制する作用を有することを明らかにしたものである。本論文において評価できる点は次のとおりである。

1. 動物の運動用のプールを用い、ラットを疲労困憊まで強制遊泳させた後直ちに採取した脳脊髄液をマウス脳大槽内に投与したところ、マウスの自発的行動量が有意に低下することを見いだした。疲労していないラットの脳脊髄液を投与したマウスの自発行動量は低下しなかった。このことから、疲労したラットの脳脊髄液中には、自発行動を抑制する活性を打つ物質が存在することを示唆した。この物質は、熱に不安定であり、100度の熱水中で5分間加熱することによってマウスの自発行動を抑制する活性を失うこと、限外濾過法によって分子量が10,000以上の高分子であることを明らかにした。

2. ヒドラの触手球形成応答阻害を利用したスクリーニングによって、疲労させたラットの脳脊髄液中にはTGF- β あるいはその類似物質の濃度が増加していることを明らかにした。さらに、ミンク肺上皮細胞の $[^3\text{H}]$ チミジン取り込み阻害を利用したバイオアッセイにより、疲労したラットの脳脊髄液では活性型TGF- β 濃度が増加していることを示した。さらに、疲労したラットから採取した脳脊髄液から、抗TGF- β 抗体によってTGF- β を中和除去したものをマウスに投与したところ、マウスの自発行動量の低下が観察されなくなることを示した。

3. 精製されたTGF- β をマウスに投与することによって、マウスの自発行動量は用量依存的に低下することを明らかにした。TGF- β のなかでも、TGF- β 2とTGF- β 3の2種類のアイソフォームに強い活性があり、TGF- β 1にはマウスの自発行動を抑制する活性が低いことを明らかにした。潜在型TGF- β にはマウスの自発行動を抑制する活性がないが、酸処理によって活性型に変換すると自発行動抑制活性が出現した。

4. ラットに対する運動負荷量の大きさに比例して脳内活性型TGF- β 濃度は増加し、脳内活性型TGF- β とマウスの自発行動を抑制する活性の強さは相関することを明らかにした。

以上のように本論文は、実験動物を用いて、疲労に至る運動を負荷した時に、脳内に疲労に関わる物質が放出されることを明らかにし、その物質の実体を解明したものであり、運動生理学、栄養生理学並びに脳機能科学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成11年2月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。