The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ALSモデルマウスにおける摂食行動特性の解析
Author(s)	北岡, 好大
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/91837
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　北岡　好大　　）	
論文題名	ALSモデルマウスにおける摂食行動特性の解析

論文内容の要旨

【研究背景と目的】

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS) は上位・下位運動ニューロンが障害される進行性の疾患で、人口10万人あたり1~2.5人の発症率であり、四肢の筋力低下、呼吸困難や摂食・嚥下障害などを起こし、死に至る。現在までに有効な治療法のない ALSにおいて、摂食障害を解明し、栄養状態を改善することで、ALS患者の延命につながる可能性が示唆されている。ALSモデルマウスを用いた過去の研究では、ALS発症時期より嚥下障害が認められることが報告されており（Teresa et al.,2009）、咀嚼運動パターン形成に関わる三叉神経運動核ニューロン（MoV）や三叉神経中脳路核ニューロン（MesV）においては新生児期より発火異常が報告されているが（Venugopal et al.,2015, Seki et al., 2019）、咀嚼障害の出現時期や全身への影響は不明である。ALSモデルマウスを使った咀嚼障害の解明において、目視によるマウスの開閉口運動の解析は困難であり、多大な時間を必要とする。そこで開閉口運動の解析を効率的に行うために、人工知能（Artificial intelligence, AI）を用いてマウス開閉口運動の検出モデルを開発し、咀嚼運動に関して検証を行った。さらに咀嚼運動パターン形成に関わる神経核である MesV にどのような異常が起こるのか、ALS発症後のALSモデルマウスにおいて電気生理学的な解析を行った。

【方法】

<u>実験1: ALSモデルマウスにおける摂食行動特性に関する行動生理学的検討</u>

ALSモデルマウス (SOD1-G93A)（N=10）と野生型マウス (N=9)を用いて7週齢から18週齢の摂食行動を観察した。ケージに飼料を固定し2台のビデオカメラで側方2方向よりマウスの摂食行動を30分間撮影した。開閉口運動の動画情報から3009枚の開閉口画像を作成し、Deep Learningによる物体検出モデルに画像を学習させることによりALSモデルマウスの開閉口運動検出AIの開発を行った。開閉口運動検出AIを用いて、7週齢から18週齢までのALSモデルマウス、野生型マウスの開閉口運動の動画情報より、開閉口運動の検出を行った。連続した開閉口運動において、開口と判定された時間を開口相時間と定義し、閉口と判定された時間を閉口相時間と定義した。得られた検出結果より開口相時間、閉口相時間をそれぞれの週齢ごとに計測し、比較検討を行った。また、7週齢から18週齢までの経時的な体重、総摂食時間、摂食量、摂食開始時間を記録し、開閉口相時間との相関関係についてそれぞれ検討を行った。

<u>実験2: ALSモデルマウスにおけるMesVの電気生理学的検討</u>

12週齢のALSモデルマウス（N=3）と野生型マウス（N=6）より三叉神経中脳路核を含む厚さ300μmの脳幹スライス標本を作製し、単一のMesVから Patch clamp 法による Whole-cell 記録を行った。ALSモデルマウスのMesV（n=15）と野生型マウスのMesV（n=9）よりVoltage-clamp 条件下で膜電位特性を記録、比較検討した。さらに Current-clamp 条件下で矩形波脱分極パルスを細胞内通電して誘発された活動電位、連続発火活動の各パラメータの特性変化について比較検討を行った。

【研究結果】

<u>実験1: ALSモデルマウスにおける摂食行動特性に関する行動生理学的検討</u>

ALSモデルマウスの開口相時間は12週齢より延長傾向を示し、15週齢以降では野生型マウスと比較し、有意な延長が認められた。閉口相時間について有意差は認められなかった。ALSモデルマウスの体重は12週齢で減少に転じ、14週齢以降で野生型マウスと比較し有意な減少が認められた。総摂食時間、摂食量、摂食開始時間については有意な差は認められなかった。12週齢以降のALSモデルマウスでは、体重減少と開口相時間の延長に負の相関が認められた。野生型マウスでは相関関係

は認められなかった。

<u>実験2: ALSモデルマウスにおけるMesVの電気生理学的検討</u>

12週齢のMesVにおける膜電位特性について、静止膜電位、静電容量値、入力抵抗値それぞれにおいてALSモデルマウスと野生型マウスとの間に差は認められなかった。Current-clamp 条件下での活動電位特性について、Spike height, 活動電位後過分極持続時間、活動電位後過分極の最大振幅において差は認められなかった。野生型マウスのMesVでは9例中5例（56%）が連続発火活動を示したが、ALSモデルマウスでは、15例中3例（20%） が連続発火活動を示した。連続発火活動を示したMesVにおいて、ALSモデルマウスでは野生型マウスと比較し、スパイク周波数の上昇を認めた。

【考察】

ALSモデルマウスで認められた体重減少と、開口相時間の延長との間に相関関係があり、閉口相時間との間には相関関係がないことから、ALSモデルマウスにおける体重減少は閉口筋筋活動の変調と同時期に起こる事が推察された。MesVは閉口筋の筋紡錘からの情報を統合し、運動ニューロンからの出力を修飾する一次感覚ニューロンであるが、先行研究において新生児期ALSモデルマウスのMesVで持続性Naコンダクタンスの減少を伴う連続発火活動が不規則かつ抑制されることが指摘されている（Seki et al., 2019）。本研究において、咀嚼運動に変調を来したALS発症期におけるモデルマウスのMesVでは発火特性が変化し、スパイク周波数の上昇が認められた。新生児期からALS発症期にかけてMesVの持続性Naコンダクタンスの特性が変化したと考えられるが、連続発火活動を示すMesVの比率は減少していることから、Na以外のコンダクタンスが関係している可能性が示唆された。

【結語】

本研究では、ALSモデルマウスにおける摂食行動特性に関する行動生理学的検討及びMesVの電気生理学的検討を行った。咀嚼運動の変調と体重減少に負の相関が認められ、同時期にMesVの特性変化が認められた。本研究結果よりALSにおける摂食障害と病状進行との関係性について一部解明が行われた。今後、MesVの特性変化を詳細に解析することにより、摂食障害のさらなる解明の一助としたい。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　北岡　好大　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	田中　晋
	副 査	教授	長島　正
	副 査	准教授	野崎　一徳
	副 査	講師	村上　旬平

論文審査の結果の要旨

本研究は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の進行に伴って現れる摂食機能障害について明らかにする目的で、ALS モデルマウスを用いて開閉口運動検出 AI の開発を含めた行動生理学的検討、および咀嚼運動リズム形成に関わる三叉神経中脳路核ニューロン(MTN)の電気生理学的検討を行った。

その結果、deep learning 技術を用いた開閉口運動検出 AI を開発することが可能となり、ALS モデルマウスでは、12 週齢以降に閉口相の延長を伴う咀嚼リズムの変調と体重の減少傾向が観察された。また、成熟期の MTN は wild type と比較して、スパイク発射頻度の減少を伴いニューロンの興奮性は低下することが示唆された。

以上の結果は、ALS に伴う摂食障害において、感覚ニューロンである MTN の発火特性変化と咀嚼リズムの変調が関わっている可能性を示唆するものであり、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。