

平成 22 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008～2009
課題番号：20790192
研究課題名 (和文) ラット暑熱馴化の成立には前視床下部神経前駆細胞の分裂と分化が関与する
研究課題名 (英文) Proliferation and differentiation of neuronal progenitor cells in the hypothalamus of heat-exposed rats
研究代表者 松崎 健太郎 (Matsuzaki Kentaro)
島根大学・医学部・助教
研究者番号：90457185

研究成果の概要 (和文)：暑熱暴露により、ラット視床下部における BrdU 陽性細胞数が顕著に増加した。さらに、暑熱暴露によって誘導された BrdU 陽性細胞の一部は抗 NeuN 抗体によって染色され、その数は暑熱暴露開始後 33 日から 43 日の間に顕著に増加した。これらの結果より、ラット視床下部の神経前駆細胞は暑熱暴露により分裂が促進されることが明らかになった。また、暑熱暴露によって分裂した神経前駆細胞は暴露開始 30 日以降に機能的な成熟神経細胞に分化することが推察された。長期暑熱馴化の形成に視床下部神経新生が関与する可能性を考えた。

研究成果の概要 (英文)：Immunohistochemical analysis showed that the numbers of BrdU-positive cells in the hypothalamus of heat-exposed rats (HE) were significantly and consistently greater than those of control rats (CN). In HE, the number of BrdU-positive cells double-stained by a mature neuron marker increased abruptly after 33 days of heat exposure by about 7 times. This was not the case in CN. The results suggest that heat exposure facilitates proliferation of neuronal progenitor cells in the hypothalamus and promotes differentiation to neurons, which might be have certain relation to establishing long-term heat acclimation in rats.

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：生理学、神経科学、体温調節、

暑熱馴化、神経新生

1. 研究開始当初の背景

ヒトをはじめとする哺乳動物では、持続的

に暑熱環境へ暴露されることで、中枢および末梢に存在する温度受容器と効果器の機能的あるいは器質的变化が誘導され、耐暑熱性が亢進する。このような暑熱馴化の形成過程は、暑熱に暴露された期間により、長期暑熱馴化と短期暑熱馴化に分類され、それぞれ形成機構が異なることが知られている。ラットにおいて、短期暑熱馴化は2〜7日間程度の暑熱暴露で形成されるが、短期暑熱馴化形成時に見られる生理機能の変化は暑熱暴露を中止すると比較的早期に失われる。一方、長期暑熱馴化は暴露開始から30日前後で形成される安定した位相の機構とされ、新たな体温調節機構の構築によって形成されることが示唆されている。しかし、これら短期および長期暑熱馴化の中枢機能による制御機構は解明されていない。

2. 研究の目的

先に我々は暑熱暴露がラット視床下部において神経前駆細胞の分裂を促進し、その細胞の一部が機能的な成熟神経細胞に分化することを明らかにした。この暑熱暴露による神経新生は、体温調節中枢がある視床下部においてのみ誘導され、体温調節反応に関与する可能性が極めて高い。これら短期および長期暑熱暴露による中枢変化は暑熱馴化した動物の末梢における生理機能に関与することが推察される。すなわち、短期暑熱馴化の形成には神経伝達の一時的な賦活化や温度感受性受容体・機能性蛋白質などの活性および発現変化が関与しており、一方、長期暑熱馴化の形成には神経新生による新たな神経ネットワーク形成による恒常的な体温調節機構の構築が関与する可能性が高い。そこで、本研究では暑熱暴露されたラットの前視床下部における神経前駆

細胞の分裂と分化を解析し、暑熱馴化形成の中枢機序の解明を目指した。

3. 研究の方法

ラット前視床下部における暑熱暴露による神経前駆細胞の分裂と分化の解析を免疫組織学的に行った。以下に具体的な実験方法を示す。

- 1) Wistar 系雄性ラット (5 週齢) を明暗周期 12:12 時間、環境温 24°C、自由摂食・摂水下で飼育した。
- 2) ラットにペントバルビタール (50 mg/kg) を投与して全身麻酔し、腹腔内にテレメトリー送信機を挿入後、2 週間飼育した。
- 3) ラットを 32°C の暑熱環境に暴露する。対照ラットは 24°C の同一環境下で飼育した。この間、ラット核心温をテレメトリー法で適宜測定した。
- 4) 暑熱暴露期間中、ラット腹腔内に BrdU (50 mg/kg/day) を 5 日間連続投与し、さらに 4〜8 週間暑熱環境下で飼育した。
- 5) 暴露期間終了後、ラットをペントバルビタール (50 mg/kg 腹腔内投与) で全身麻酔し、経心的に脱血後、脳を 4% パラホルムアルデヒド/PBS で灌流固定した。
- 6) 摘出した脳組織からマイクロームで切片を作成し、新生細胞マーカーの抗 BrdU 抗体と抗成熟神経抗体、抗アストロサイト抗体、抗オリゴデンドロサイト抗体などを用いて免疫二重染色を行った。さらに、抗 GABA 作動性神経細胞抗体、抗 glutamate 作動性神経細胞抗体、抗 acetylcholine 作動性神経細胞抗体などを用いて新生神経細胞の特異性を解析した。

4. 研究成果

(1)暑熱暴露によるラット前視床下部における神経前駆細胞の分裂を Bromodeoxyuridine (BrdU) 標識法にて免疫組織学的に解析した。その結果、暑熱暴露したラットの前視床下部において、神経前駆細胞の分裂が促進され、細胞が新生することを見出した。この暑熱暴露によるラットにおける細胞新生は、側脳室下領域 や海馬歯状回などの中枢領域では対照群との差が確認されなかったことから、体温調節中枢である前視床下部に特異的な生体反応であり、体温調節反応に関与する可能性が極めて高いことが示唆された。さらに、暑熱暴露によって新生した細胞が機能的に成熟した神経細胞に分化しているかを検討するために、抗 BrdU 抗体および抗成熟ニューロン抗体 (抗 NeuN 抗体) を用いて免疫二重染色により解析した。その結果、ラット前視床下部において、暑熱暴露によって新生した細胞の一部が成熟神経細胞に分化することが明らかになった。暑熱暴露により新生した細胞はアストロサイトやオリゴデンドロサイトにはほとんど分化しなかった。

(2) 視床下部における神経細胞の発現分布は領域ごとに特異的であり、体温調節反応はこの分布に基づいて機能的に制御されている。したがって、暑熱暴露により新生した成熟神経細胞の局所性を解析することで、新生神経細胞の種類と機能が推察される。そこで、暑熱暴露によって新生した成熟神経細胞の視床下部における発現分布を解析した。その結果、これらの細胞は体温調節最高位中枢である前視床下部/視索前野をはじめ、背内側核、腹内側核、室傍核などに局所的に発現しているが、後外側視床下部にはほとんど発現していなかった。さらに、新生細胞マーカーの抗 BrdU 抗体と抗 GABA 作動性神経細胞抗体、

抗 glutamate 作動性神経細胞抗体、抗 acetylcholine 作動性神経細胞抗体などを用いて免疫二重染色法による組織学的な解析を行った。その結果、暑熱暴露によって新生した細胞のうち、約 15%の細胞が抗 GABA 作動性神経細胞抗体、抗 glutamate 作動性神経細胞抗体によって染色され、約 11%が抗 acetylcholine 作動性神経細胞抗体によって染色された。

(3)さらに我々は、暑熱暴露された老齢ラット (Wistar 系雄性:24 ヶ月齢) 視床下部神経前駆細胞の分裂と分化を解析した。暑熱暴露により若齢ラット視床下部の BrdU 陽性細胞数は顕著に増加したが、老齢ラット視床下部では変化しなかった。また、若齢ラット視床下部の BrdU 陽性細胞のうち約 35% が抗 NeuN 抗体で染色されたが、老齢ラットではほとんど検出されなかった。一方、両群の視床下部 新生細胞は暑熱暴露により新生した細胞はアストロサイトやオリゴデンドロサイトにはほとんど分化しなかった。これらの結果から、暑熱暴露は若齢ラット視床下部の神経新生を促進するが、老齢ラット視床下部にはほとんど影響しないことが示唆された。暑熱暴露による視床下部神経細胞新生の加齢による低下が、暑熱に対する高齢者の体温調節機能変化に関与する可能性が考示された。

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 1 件)

①Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura, Toshiko Hara, Guanghua Li, Michio Hashimoto, Osamu Shido, Proliferation of neuronal progenitor cells and neuronal differentiation in the hypothalamus are enhanced in heat-acclimated rats, Pflügers

Archiv - European Journal of Physiology
(2009) 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

①松崎 健太郎、片倉 賢紀、原 俊子、
李 光華、橋本 道男、紫藤 治、ラット
視床下部における暑熱暴露による神経新生
の加齢変化、第 61 回日本生理学会中国四国
地方会、平成 21 年 11 月 21 日、宇部

②松崎 健太郎、片倉 賢紀、原 俊子、
李 光華、紫藤 治、暑熱暴露によるラッ
ト視床下部神経新生の加齢による変化、第
48 回日本生気象学会、平成 21 年 11 月 9 日、
つくば

③Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura,
Toshiko Hara, Guanghua Li and Osamu Shido
AGE-DEPENDENT CHANGES OF
PROLIFERATION AND
DIFFERENTIATION OF PROGENITOR
CELLS IN THE HYPOTHALAMUS OF
HEAT-EXPOSED RATS, The 3rd International
Symposium on Physiology and Pharmacology
of Temperature Regulation 2009, July 23-26,
2009, Matsue

④Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura,
Toshiko Hara, Guanghua Li and Osamu Shido
POSSIBLE CENTRAL MECHANISM OF
LONG-TERM HEAT ACCLIMATION, The
3rd International Symposium on Physiology
and Pharmacology of Temperature Regulation
2009, July 23-26, 2009, Matsue

⑤松崎 健太郎、片倉 賢紀、丸山 めぐ
み、原 俊子、橋本 道男、紫藤 治、ラ
ット暑熱馴化の成立に視床下部神経前駆細
胞の分裂と分化が関与する可能性、第 3 回
体温調節・温度受容研究会、平成 20 年 9
月 18 日、岡崎

⑥松崎 健太郎、片倉 賢紀、丸山 めぐ
み、原 俊子、橋本 道男、紫藤 治、暑
熱暴露によるラット前視床下部神経前駆細
胞の分裂と分化、平成 20 年 3 月 26 日、東
京

6. 研究組織

(1)研究代表者

松崎 健太郎 (Matsuzaki Kentaro)

島根大学・医学部・助教

研究者番号：90457185

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：