

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 24 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790227

研究課題名（和文）暑熱馴化の形成は中枢機能変化に依存する

研究課題名（英文）Heat acclimation and hypothalamic neurogenesis

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）：これまでに我々は長期暑熱馴化が形成されたラットの視床下部で神経前駆細胞の分裂と分化が促進されていることを見出した。本研究では、長期暑熱馴化したラット視床下部で新生した神経前駆細胞の局在や熱刺激への応答性を解析した。さらに、暑熱暴露による神経新生を阻害した場合に暑熱馴化が形成されるか否か解析し、新生した神経細胞の暑熱馴化形成への関与について検討した。Wistar 系雄性ラット（5 週齢）を明暗周期 12:12 時間、自由摂食・摂水下、環境温 24°C で 2 週間飼育した後、32°C の暑熱環境に暴露した。暴露開始直後から Bromodeoxyuridine (BrdU; 50 mg/kg/day) を腹腔内へ 5 日間連続投与した。また、ラット脳室内には細胞の分裂阻害薬である Cytosine- β -arabinoside (Ara-C) を持続的に投与した。40 日間の暑熱暴露による長期暑熱馴化形成後に耐暑熱性の確認を行った。暑熱暴露により新生した神経細胞は前視床下部/視索前野や視床下部背内側核、視床下部腹内側核に多く発現していた。また、暑熱馴化形成後に再度温熱刺激を加えたところ、新生した細胞の一部に c-Fos 二重陽性像を認めた。さらに、Ara-C を脳室に持続投与したラットでは、Vehicle 群に比較して耐暑熱性が有意に減弱した。暑熱暴露により新生した神経細胞が長期暑熱馴化形成時の体温調節機能の向上に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：It was previously reported that constant exposure to moderate heat facilitates progenitor cell proliferation and neuronal differentiation in the hypothalamus of rats. The present study has investigated localization and responsiveness to heat of hypothalamic newborn neurons. Male Wistar rats, 5 weeks old, were subjected to an ambient temperature (T_a) of 32° C for 40 days, while control rats were constantly kept at a T_a of 24° C. Bromodeoxyuridine (BrdU) was intraperitoneally injected daily for 5 consecutive days (50 mg/kg/day) after commencing heat exposure. After the end of heat exposure period, all rats were kept at a T_a of 24° C for 48 h, and subjected to heat tolerance test, i.e. they were exposed a T_a of 36° C for 3 h. After the test, brain was removed for immunohistochemical analysis. According to our estimate in HE53, 23.2% of BrdU+/NeuN+ cells were located in the POA/AH, while 32.9% were detected in the VMH, DMH or PVH. Moreover, mitosis inhibitor, Cytosine- β -arabinoside, attenuated the intensity of heat tolerance in heat-acclimated rats. Changes of thermoregulatory function in long-term heat-acclimated rats may possibly be in part attributable to generations of new neurons in the hypothalamus.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			

年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：暑熱馴化、体温調節

1. 研究開始当初の背景

ヒトやラットでは、持続的な暑熱環境への暴露により自律的な熱放散機能の亢進を特徴とする暑熱馴化が形成されるが、中枢における制御機構は明らかになっていない。これまでに我々は長期暑熱馴化が形成されたラットの視床下部で神経前駆細胞の分裂と分化が促進されていることを見出した。

2. 研究の目的

本研究では、長期暑熱馴化したラット視床下部で新生した神経前駆細胞の局在や熱刺激への応答性、投射を解析した。さらに、暑熱暴露による神経新生を阻害した場合に暑熱馴化が形成されるか否かを解析し、新生した神経細胞の暑熱馴化形成への関与について検討した。

3. 研究の方法

- 1) 視床下部で新生した神経細胞の視床下部における局所性および分化の解析
 - (1) Wistar 系雄性ラット（5 週齢）を明暗周期 12:12 時間、環境温 24℃、自由摂食・摂水下で飼育した。
 - (2) ラット腹腔内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℃の暑熱環境に暴露する。対照ラットは 24℃の同一環境下で飼育する。この間、ラット核心温・心拍数・血圧をテレメトリー法で測定した。
 - (4) 暑熱暴露開始後、ラット腹腔内に BrdU（50 mg/kg/day）を 5 日間連続投与し、さらに 1 日～7 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）で全身麻酔し、経心的に脱血後、4% パラホルムアルデヒドで灌流固定した。

- (6) 摘出した脳組織からマイクロトームで切片を作成し、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、抗 c-fos 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。

2) 視床下部で新生した神経細胞の投射の解析

Wistar 系雄性ラット（5 週齢）を明暗周期 12:12 時間、自由摂食・摂水下、環境温 24℃で 2 週間飼育した後、32℃の暑熱環境に暴露した。暴露開始直後から Bromodeoxyuridine (BrdU; 50 mg/kg/day) を腹腔内へ 5 日間連続投与した。曝露開始から 40 日目に逆行性ニューロントレーサー（Cholera toxin b-subunit: CTb）を POA/AH や DMH などに局所投与し、2 日後にペントバルビタール麻酔下でラット脳を摘出し、免疫組織学的な解析を行った。

3) 暑熱馴化形成におよぼす細胞分裂阻害剤の影響

長期暑熱暴露による細胞新生を阻害した場合に暑熱馴化が形成されるか否かを検討した。すなわち、ラット脳室内に細胞分裂阻害薬 Cytosine-β-arabino-furanoside (Ara-C) を持続的に投与し、暑熱暴露による前視床下部における神経前駆細胞の分裂を抑制したときの暑熱馴化形成を確認した。Ara-C (2% in saline) 脳室内投与は浸透圧

ポンプ (Alzet, model 2006) を用いて行った。暑熱暴露後、再度ラットを高温環境に暴露したときの核心温上昇率の変化から耐暑熱性を解析した。

4. 研究成果

1. 暑熱暴露により新生した神経細胞の視床下部における局所性および分化の解析

暑熱暴露により新生した神経細胞は前視床下部/視索前野や視床下部背内側核、視床下部腹内側核に多く発現していた(図1)。

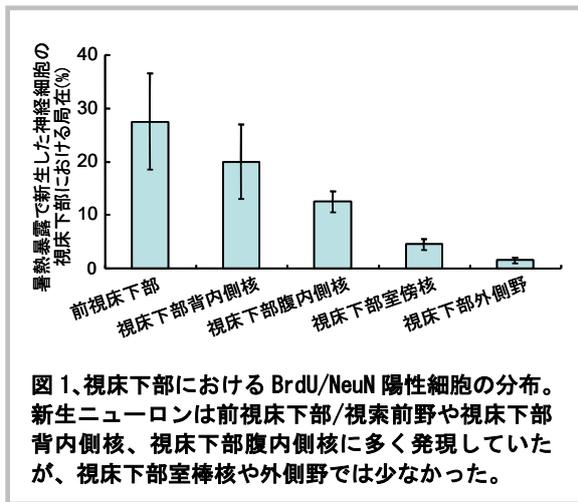


図1、視床下部における BrdU/NeuN 陽性細胞の分布。新生ニューロンは前視床下部/視索前野や視床下部背内側核、視床下部腹内側核に多く発現していたが、視床下部室傍核や外側野では少なかった。

これら視床下部で新生した細胞のうち、約16%が GABA 作動性神経細胞マーカーで染色され、さらに約11%が Glutamate 作動性神経細胞マーカーにより染色された。また、CTb を DMH に局所投与したラットでは、POA/AH の BrdU 陽性細胞の一部に二重陽性像を認めた。一方、CTb を POA/AH に投与したラットでは他の視床下部内に二重陽性細胞は検出されなかった。暑熱暴露により新生した POA/AH から DMH へ投射する神経細胞が長期暑熱馴化形成時の皮膚血管運動の向上に関与する可能性を考えた。また、暑熱馴化形成後に再度温熱刺激を加えたところ、新生した細胞の一部に c-Fos 二重陽性像を認めた。この結果は、暑熱暴露により新生した細胞が熱刺激に対する応答性を有する可能性を示唆する。さらに、細胞分裂阻害剤の Ara-C を脳室に持続投

与したラットでは、Vehicle (生理食塩水) 投与群と比較して耐暑熱性が有意に減弱した(図2)。

以上の結果より、暑熱暴露により新生した神経細胞が長期暑熱馴化形成時の体温調節機能の向上に関与する可能性が示唆された。

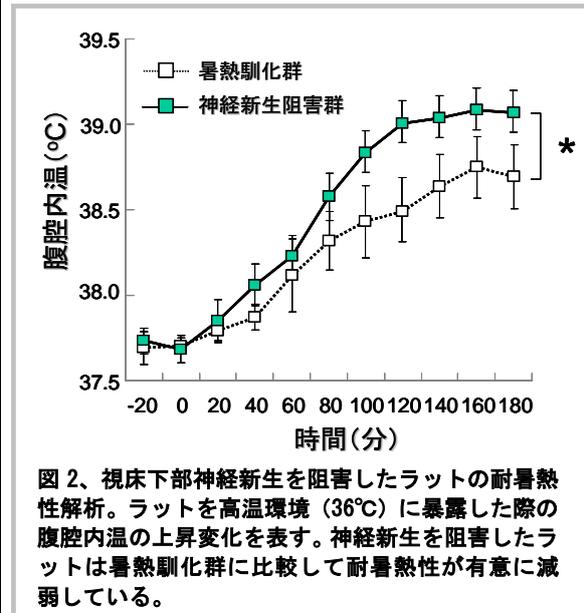


図2、視床下部神経新生を阻害したラットの耐暑熱性解析。ラットを高温環境(36°C)に暴露した際の腹腔内温の上昇変化を表す。神経新生を阻害したラットは暑熱馴化群に比較して耐暑熱性が有意に減弱している。

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)

[学会発表] (計13件)

1. Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura, Toshiko Hara, Michio Hashimoto, Osamu Shido, Age-dependent decline of hypothalamic neurogenesis and of heat tolerance in long-term heat-acclimated rats, 第89回日本生理学会大会、2012年3月31日、松本、長野県松本文化会館
2. 松崎健太郎、片倉賢紀、原俊子、李光華、橋本道男、紫藤治、暑熱馴化したラットの視床下部における神経前駆細胞分裂と神経分化の促進、環境生理プレコンGRESS、2012年3月28日、松本、松本あがたの森文化会館
3. Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura, Toshiko Hara, Michio Hashimoto, Osamu

- Shido Age-dependent decline of hypothalamic neurogenesis and of heat tolerance in long-term heat-acclimated rats. PPTR2012 (March 24, 2012) Sao Paulo, Brazil
4. 松崎健太郎、紫藤治、暑熱馴化の形成に
関与する脳内機序、第16回早稲田大学人
間科学総合研究センター公開シンポジウ
ム「生存のための体温調節」2012年3月
17日、新宿、早稲田大学
 5. 松崎健太郎、長島晴治、福井晴子、田邊
洋子、吉岡みち子、原俊子、紫藤治、ゼ
オライト塗材を用いた病室環境改善が短
期住居者の生理機能に及ぼす影響、第50
回日本生気象学会総会、2011年11月5
日、京都、京都女子大学
 6. 松崎健太郎、紫藤治、ラットの長期暑熱
馴化形成に視床下部神経新生が関与する
可能性、第63回日本生理学会中国四国地
方会、2011年10月22日、広島、広島大
学
 7. 松崎健太郎、片倉賢紀、原俊子、橋本道
男、紫藤治、暑熱馴化と神経新生、平成
23年度温熱生理研究会、2011年9月1日、
岡崎、岡崎統合バイオサイエンスセンタ
ー
 8. Kentaro Matsuzaki Heat, acclimation
and hypothalamic neurogenesis.
Experimental Biology 2011 (April 10,
2011) Washington, D.C.
 9. Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura,
Takayuki Inoue, Toshiko Hara, Michio
Hashimoto and Osamu Shido、
Age-dependent decline of hypothalamic
neurogenesis and of heat tolerance in
long-term heat-acclimated rats, 第88
回日本生理学会大会、2011年3月29日、
横浜、パシフィコ横浜（誌上開催）
 10. 松崎健太郎、片倉賢紀、井上隆之、Haque
Abdul、原俊子、橋本道男、紫藤治、長
期暑熱馴化形成時に視床下部で新生した
神経細胞の機能性解析、第62回日本生理
学会中国四国地方会、2010年11月21日、
島根、島根大学
 11. 松崎健太郎、片倉賢紀、原俊子、紫藤治、
暑熱暴露によるラット視床下部神経新生
と暑熱馴化形成の加齢変化、第49回日本
生気象学会総会、2010年11月6日、新
宿、文化女子大学
 12. 松崎健太郎、杉本直俊、片倉賢紀、原俊
子、橋本道男、紫藤治、暑熱馴化による
ラット唾液分泌促進の分子メカニズム、
平成22年度温熱生理研究会、2010年9
月9日、岡崎、岡崎統合バイオサイエ
ンスセンター
 13. Kentaro Matsuzaki, Masanori Katakura,
Toshiko Hara, Michio Hashimoto and

Osamu Shido Neuronal phenotype and
localization of heat
exposure-generated newborn neurons in
the hypothalamus of rats 第87回日本
生理学会大会、2010年5月21日、盛岡、
盛岡市民文化ホール

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

研究者番号：

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：