

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：32686

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23700684

研究課題名（和文）体温調節機構における視床下部熱産生領域の神経伝達物質の役割解明

研究課題名（英文）Role of neurotransmitters in the hypothalamus heat production area on thermoregulatory system

研究代表者

石渡 貴之（ISHIWATA TAKAYUKI）

立教大学・コミュニティ福祉学部・准教授

研究者番号：40435235

研究成果の概要（和文）：

本研究では、熱産生系に関与する部位である視床下部背内側核（Dorsomedial Hypothalamus：DMH）と後視床下部（Posterior Hypothalamus：PH）に注目し、DMH と PH の体温調節機構における神経伝達物質の役割を解明することを目的とした。体温調節機構における DMH および PH の役割は寒冷環境下における熱産生（PH はふるえ産熱）であり、その調節に関与する神経伝達物質はそれぞれノルアドレナリンとドーパミンである可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of present study was to clarify the role of neurotransmitters in the dorsomedial hypothalamus (DMH) and posterior hypothalamus (PH) on thermoregulatory system. We showed that the DMH and the PH regulated heat production system under cold environment and the noradrenaline in the DMH and dopamine in the PH were major neurotransmitters which regulates heat production system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学，身体教育学

キーワード：体温調節機構，脳内神経伝達物質，視床下部背内側核，後視床下部，マイクログリアリシス

1. 研究開始当初の背景

我々ヒトを含む恒温動物は、個体内部の熱産生量が増えた時や外界の温度が変動した時に、深部体温を一定の範囲内に保つ“体温調節機能”を備えている。しかし、近年の異常気象は留まる事を知らず、毎年猛暑日、真

夏日の日数が過去最高を記録するなど、結果として熱中症の増加が屋外でのスポーツ中に限らず室内や就寝時にも起こり、重要な問題となっている。

熱中症の事故は、地球温暖化の影響もあるが、体温調節機能の低下も一因になっている

と考えられる。教育現場で問題になっている“低体温の子供達の増加”も体温調節機能の低下が原因と考えられる。低体温児童の行動特徴としては、“朝起きられない”、“学校に来て眠そうにしている”、“やる気が出ない”などであり、これらの状況は子供の発育発達状況に影響を及ぼすことが危惧される。この“低体温”の現象は明らかに熱産生機能の低下が原因であり、子供たちを取り巻く生活環境の変化に起因すると考えられる。特にエアコンの普及により一年中同じ室内温度環境で生活していることにより、温度感知器である皮膚への刺激が減少し、体温調節が積極的に働かなくなっていることが一因と考えられる。その結果、脳内の制御を司る神経伝達物質の放出量の減少またはバランスの乱れが起きていると考えられる。

脳内の調節機構には、神経細胞を促進または抑制する神経伝達物質の働きが極めて重要であり、これまで体温調節機構における神経伝達物質の役割に関する研究においても、様々な報告がなされている。その中でも、セロトニン (5-HT)、ドーパミン (DA)、ノルエピネフリン (NE) は体温調節機構において主要な神経伝達物質であることが示唆されている。神経伝達物質の役割が完全に解明されれば、最終的には現在世界中で問題となっている統合失調症などの病気の解明にもつながる。近年増加傾向である“躁鬱状態”は5-HT、DA、NEの神経伝達物質のバランスの乱れによって誘発されるとの報告例が存在し、運動パフォーマンスを左右する中枢性疲労においては、5-HTとDAのバランスによって決定されることが報告されてきた。この様に近年、行動レベルは脳内の複数の神経伝達物質の相互作用によって調節されていると考えられ、更に、行動レベルは脳全体の神経伝達物質のバランスではなく、特定領域の神経核での神経伝達物質のバランスによって調節されていると考えられるようになってきた。

本研究では特に体温調節機構の熱産生系に関与する部位に注目し、体温調節機構におけるその役割と神経伝達物質の特定を目的としている。今後益々地球温暖化や産業化に伴う運動不足化が進む中で、体温調節機能の維持、向上は重要な課題であり、その中枢における基本的なメカニズムを解明する必要がある。

本研究者はこれまで体温調節機構におい

て中枢と考えられてきた視策前野/前視床下部 (PO/AH) の熱産生の調節に関して、直接熱産生を増加させるのではなく、熱産生領域を抑制する働きであることを明らかにした (Ishiwata et al, 2002, 2005)。熱産生系に関与する部位としては、視床下部内の幾つかの候補部位が示されているが (Kanosue et al., 1998)、その調節物質については未だに明らかになっていない。熱産生を直接調節する領域としては古くから視床下部腹内側核 (Ventromedial Hypothalamus: VMH) が候補部位とされてきたが、近年の研究ではVMHより視床下部背内側核 (Dorsomedial Hypothalamus: DMH) または後視床下部 (Posterior Hypothalamus: PH) の方が重要な部位であることが示されている (Dimicco and Zaretsky, 2007)。本研究でもVMHの神経活動を通常環境温や寒冷環境下で抑制しても体温変動が起きないが、DMHまたはPHの神経活動を抑制すると体温低下が惹起されることを既に明らかにしている。

2. 研究の目的

本研究では、熱産生系に関与する部位であるDMHとPHに注目し、DMHとPHの体温調節機構における神経伝達物質の役割を解明することを目的とした。

初年度は先ずDMHに注目し、体温調節が発発になる暑熱暴露時 (35℃) 及び寒冷暴露時 (5℃) のDMHの神経伝達物質放出量 (5-HT, DA, NE) の経時的变化を測定し、温熱刺激による反応を検討した。次年度はPHに注目し、前年度と同様な手法を用いて、PHの神経伝達物質の役割及び体温調節機構における役割を明確にした。

3. 研究の方法

本研究では実験手法に伴う問題点を最小限に排除し、より生理的状态に近い生体反応を測定するために、“テレメトリー法”と“マイクロダイアリス法”を同時に用いた。“テレメトリー法”は予め無線式小型体温計を腹腔内に埋め込むため、実験時に動物に与える侵襲性や恐怖感を最小限に抑え、無麻酔・無拘束下の動物の深部体温、心拍数、活動量を生理的状态に近い状態で測定することが出来る方法である。“マイクロダイアリス法”は微量透析プローブを用い、同じく無麻酔・無拘束動物における薬理刺激、そして神経伝

達物質を in vivo で経時的にサンプリングする簡便にして効率的な方法である。これらの手法の組み合わせに加え、“on-line 液体クロマトグラフィー法”により、DMH と PH の神経伝達物質放出量の計測を高感度で測定することができる。効果器系の反応として心拍数と尾部皮膚温を同時に無線にて測定した。本研究は、立教大学ライフサイエンスに係る研究・実験計画(承認番号:LS11017A)に則り行った。

研究を遂行する上での具体的な方法について、動物の飼育から手術、実験系、実験プロトコルまでを以下に詳細に述べる。

実験には体重 240~260g の雄 Wistar ラットを使用した。動物は人工気候装置を用いて 12h:12h の明暗サイクル(7:00-19:00 明期)、環境温 23°C、湿度 50% で飼育する。実験中以外の時間は、水、餌の摂取を自由とした。

深部体温、心拍数、活動量を測定するために、無線式小型体温計 (TA10ETA-F20, Data sciences, USA) を腹腔内へ埋め込む手術を実験より 1 週間以前に行った。ソムノペンチル麻酔 (50 mg/kg, intraperitoneal, 共立製薬 (株), Japan) のもと、動物の腹部の皮膚を約 2cm 切開し、腹直筋を露出させ、切開する。ここから無線式小型体温計を腹腔内へ挿入し、移動しないように縫合糸を用いて腹直筋へ縫い付ける。心拍数測定用の電極線は胸部筋肉および腹部筋肉に縫合糸で縫い付ける。その後、切開した腹筋、皮膚をそれぞれ縫する。

ガイドカニューラ (AG-8, Eicom, Japan) を DMH または PH へ挿入する手術を実験の 3 日前に行った。ソムノペンチル麻酔のもと、動物の頭部を脳定位固定装置へ設置する。頭頂付近の皮膚を約 1cm 切開し、頭蓋骨を露出させ、ブレグマの位置を確認する。ガイドカニューラを挿入するためドリルを用いて頭蓋骨に穴を開け、プローブ先端の透析膜の位置が DMH (bregma から後位 3.4mm, 側位 0.3mm, 腹位 7.8mm) または PH (bregma から後位 3.8mm, 側位 0.3mm, 腹位 8.0mm; Paxions and Watson, 1982) となるように挿入した。2 本のステンレス製ネジをアンカーとして頭蓋骨に埋め込み、これをプローブと共にデンタルセメントで頭蓋骨に固定した。はじめに切開した皮膚を接着剤で塞いだ後、動物を脳定位固定装置から外し、ケージに移した。麻酔と傷口の回復、及び動物を実験環境下に慣れさせる為

に、動物に 2~3 日間の安静期間を与えた。

実験当日にハロタン麻酔 (1.5~4.0%, 0.8 L/min, 武田薬品工業 (株), Japan) の下、マイクロダイアリシスプローブ (A-I-8-01, Eicom, Japan) を挿入する。プローブ先端の透析膜はカットオフ分子量 6,000 のセルロース製で、膜長 1.0mm, 外形 0.22mm の形状のものを使用した。

4. 研究成果

平成 23 年度は、DMH の体温調節機構における役割、およびその調節に関与する神経伝達物質を明らかにすることを目的とした。

寒冷暴露 (5°C) によりラットの体温は約 1.0°C 上昇した。体温調節反応を見ると熱放散の指標である尾部皮膚温は低下し、熱産生の指標である心拍数は増加した。このことより、寒冷暴露中には積極的な熱産生活動が行われていることが分かる。この体温調節反応が活発になっている時に 5-HT, DA は変化しなかったが、NE がやや上昇していることが観察された。また、DMH にナトリウムチャンネルブロッカーであるテトロドトキシン (TTX) を灌流し、DMH の神経活動を抑制した時の体温調節反応を計測した。TTX の灌流により、23°C の環境温下では体温調節反応に変化は見られなかったが、5°C の寒冷環境下では有意な体温低下が観察された。

以上の結果より、体温調節機構における DMH の役割は寒冷環境下における熱産生であり、その調節に関与する神経伝達物質は NE である可能性が示唆された。

平成 24 年度は、PH に着目し、体温調節機構における役割及びその調節に関与する神経伝達物質を明らかにすることを目的とした。

寒冷暴露 (5°C) によりラットの体温は約 0.8°C 上昇した。体温調節反応を見ると熱放散の指標である尾部皮膚温は低下し、熱産生の指標である心拍数は増加した。このことにより、寒冷暴露中には積極的な熱産生活動が行われていることが分かる。この体温調節反応が活発になっている時に 5-HT, NE は変化しなかったが、DA が上昇していることが観察された。また、PH に TTX を灌流し、PH の神経活動を抑制した時の体温調節反応を計測した。TTX の灌流により、23°C の環境温下では体温調節反応に変化は見られなかったが、5°C の寒冷環境下では心拍数の低下を伴う有意

な体温低下が観察された。

以上の結果より、体温調節機構における PH の役割は寒冷環境下における熱産生(ふるえ産熱)であり、その調節に関与する神経伝達物質は DA である可能性が示唆された。

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)

①Takayuki ISHIWATA, Kota Suzuki, Chisa Ninomiya, Shinya Yanagita, Hiroshi Hasegawa, Comparison of monoaminergic neurotransmitters in the hypothalamic area under several environmental conditions, The Journal of Physiological Sciences, Supplement 1, 査読無, 63, 2013, S268.

[学会発表] (計 1 件)

①石渡貴之, 鈴木航太, 二宮千紗, 柳田信也, 長谷川博, 様々な環境条件下におけるラット視床下部領域のモノアミン作動性神経伝達物質の比較, 第 90 回日本生理学会大会, 2013 年 3 月 29 日, タワーホール船堀 (東京).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石渡 貴之 (ISHIWATA TAKAYUKI)

立教大学・コミュニティ福祉学部・准教授

研究者番号: 40435235

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし