

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：16401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24800047

研究課題名(和文) 絶食が尾隠し行動に与える影響 - 行動性体温調節のメカニズムと性差の解明 -

研究課題名(英文) Effect of fasting on tail-hiding behavior in rats -Mechanism of behavioral thermoregulation and sex difference-

研究代表者

内田 有希 (UCHIDA, YUKI)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：50634002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：体温調節は震え等の「自律性体温調節」と、衣服の着脱などの「行動性体温調節」に分類される。自律性体温調節と比べ、行動性体温調節のメカニズムは不明な点が多い。本研究では自然な行動性体温調節の新たな指標として、寒冷時にラットで観察される「尾隠し行動(尾を体幹下に隠す行動)」を用いた。絶食、摂食ペプチドのグレリン、女性ホルモンのエストロゲンは寒冷時の尾隠し行動を修飾することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of behavioral thermoregulation is unknown yet. Rats place their tails underneath their body trunks in the cold (tail-hiding behavior). Tail-hiding behavior was used as an indicator of natural thermoregulatory behavior in this study. This study demonstrated that fasting, ghrelin, and female hormone (i.e. estrogen) modulate tail-hiding behavior in the cold.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：神経科学一般

キーワード：行動性体温調節 女性ホルモン 摂食ペプチド 寒冷環境 グレリン 尾部皮膚温 脳 エストロゲン

1. 研究開始当初の背景

体温調節は生命維持の根幹を成すシステムであり、寒冷環境における震え等の「自律性体温調節」と、衣服の着脱などの「行動性体温調節」に分類される。近年、自律性体温調節の神経回路は遠心路及び求心路が明らかにされつつある一方で、行動性体温調節の神経回路は明らかではない。従来の研究では行動性体温調節をオペラントシステムや温度勾配をつけたシステムで定量化しているが、自然な行動性体温調節を反映しているとは言い難かった。また、多くのシステム開発費用や熟練者による動物の条件付けトレーニング期間が必要なことも問題であった。

本研究では、研究代表者が発見した寒冷環境におけるラットの自然な行動性体温調節「尾隠し行動(ラットが尾を体幹下に隠す行動、Uchida et al. 2012, J Comp Physiol A)」を行動指標とする。この行動は従来のシステムとは一線を画し、自然な行動性体温調節を容易に定量化できる利点があり、本研究で用いることとした。

2. 研究の目的

尾隠し行動は絶食により影響される(Uchida et al. 2012, J Comp Physiol A)。本研究の目的は、その原因として(1)絶食時に増加する摂食ペプチドのグレリンの尾隠し行動への影響、また(2)強い摂食抑制作用のある女性ホルモンのエストロゲン(E_2)の尾隠し行動への影響を生理学的・神経解剖学的手法により明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1)グレリンの尾隠し行動への影響

9週令のWistar系統の雄ラットを21の環境温において14時間10時間の明暗サイクル(午前5時点灯、午後7時消灯)で飼育した。42時間(午前4時開始)絶食したラット(絶食群)、自由摂食ラット(自由摂食群)に生理食塩水(500 μ L)を、自由摂食飼育後にグレリン(30 μ g/500 μ L生理食塩水)を実験日の午前9時に腹腔投与したラット(グレリン群)に環境温15、2時間(午前10~12時)の寒冷暴露を行った。対照として27、2時間の室温暴露を行った。この間の体温をデータロガー(サーモクロンSL[®], KNラボラトリーズ)で、尾部皮膚温と尾隠し行動を赤外線サーモグラフィ(Thermo Gear, 日本アピオニクス)でそれぞれ測定した。サーモグラフィの測定値はT型熱伝対の値で補正した。露出された尾部2点の平均値を尾部皮膚温とした。

実験前日(午後5~8時)に図1のような銅製の尾ホルダー(尾隠しできない試行)または対照として、同じ重さ・面積の銅版を3等分したもの(尾隠しできる試行)を尾に装着した。と同様にグレリン投与したラットに環境温15、2時間(午前10~12時)の寒冷暴露を行い、体温を測定した。

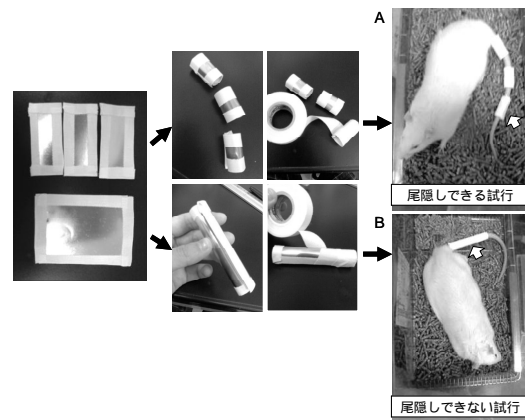


図1. 尾ホルダーの装着(図書より改変)

(2) E_2 の尾隠し行動への影響

9週令のWistar系統の雌ラットを21の環境温において14時間10時間の明暗サイクル(午前5時点灯、午後7時消灯)で飼育した。麻酔下で卵巣摘除後シリコンチューブのみ($E_2(-)$)または E_2 含有(22.3mg)シリコンチューブ($E_2(+)$)を背側皮下に留置した($E_2(-)$ 群, $E_2(+)$ 群)。7日後、ラットに環境温11または16、2時間(午前10~12時)の寒冷暴露を行った。対照として27、2時間の室温暴露を行った。この間の体温、尾部皮膚温、尾隠し行動を(1)-と同様に測定した。

寒冷、室温暴露直後に還流固定し脳を採取した。

採取した脳の前頭凍結切片を作製後、神経活動マーカーであるcFos抗体を用い免疫組織化学染色を行った。先行研究で行動性体温調節への関与が報告されている島皮質、第二性感覚野、内側視索前野、傍分界条床核、扁桃核、小脳傍脚核において陽性細胞数を計測し、1匹あたり3切片の平均値をそのラットの値とした。

(2)-と同様に、卵巣摘除した雌ラットに E_2 含有シリコンチューブを留置した。実験前日(午後5~8時)に図1のように尾隠しできない試行、尾隠しできる試行を設けた。(2)-と同様に環境温16、2時間の寒冷暴露を行い、体温を測定した。

4. 研究成果

(1)グレリンの尾隠し行動への影響

寒冷暴露時、自由摂食群と比較して、絶食群では体温と尾部皮膚温が有意に低下した(* $P < 0.05$, 図2)。グレリン群では体温、尾部皮膚温に有意な差は認められなかったが、環境温と尾部皮膚温から算出される体表からの熱放散値(Heat Loss Index)は有意に上昇した($P < 0.05$)。

寒冷暴露時、自由摂食群と比較して、絶食群、グレリン群ともに尾隠し行動時間が有意に増加した(*# $P < 0.05$, 図3A)。グレリン群では尾隠し行動の開始時間が有意に早まった(# $P < 0.05$, 図3B)。

寒冷暴露時、グレリン投与ラットの体温

は、尾隠しできる試行と尾隠しできない試行間に有意な差は認められなかった。

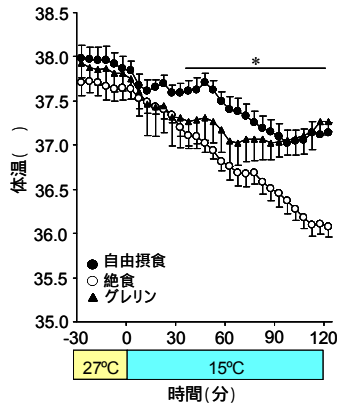


図 2. 寒冷暴露時の体温 (学会発表 より改変)

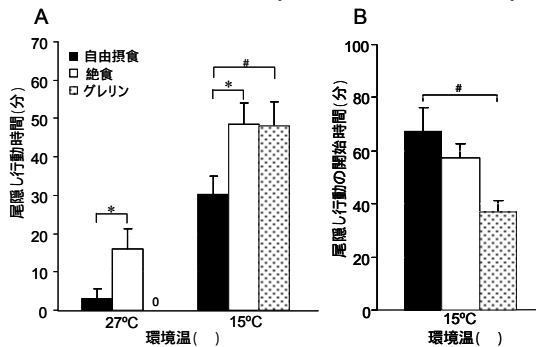


図 3. 尾隠し行動時間(A)と行動開始時間(B) (学会発表 より改変)

以上の結果から、本実験条件において絶食、グレリン投与はともに寒冷時の尾隠し行動を増加させるが、体表からの熱放散は絶食群では低下し、グレリン群では上昇するという対照的な影響を及ぼすことが明らかになった。现阶段では、グレリン群において尾隠し行動は寒冷時体温調節行動とは言いがたかった。

(2)E₂の尾隠し行動への影響

環境温 10°C、16°C 時、体温、尾部皮膚温は、E₂(+)群と E₂(-)群間に有意な差は認められなかった。

環境温 16°C 時、E₂(+)群は E₂(-)群より尾隠し行動時間が有意に増加し(*P<0.05, 図 4A)、その開始時間が有意に早かった(*P<0.05, 図 4B)。環境温 10°C 時、尾隠し行動時間に有意な差は認められなかった。

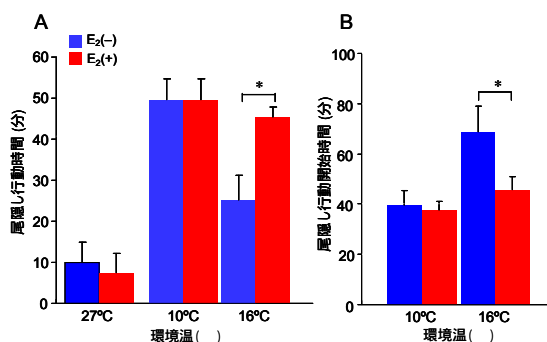


図 4. 尾隠し行動時間(A)と行動開始時間(B) (学会発表 より改変)

環境温 16°C 時、cFos 陽性細胞数は島皮質、第二体性感覚野、内側視索前野、傍分界条床核、小脳傍脚核、扁桃体において E₂(+)群と E₂(-)群間に有意な差は認められなかった(各群 n=5)。

E₂ 投与ラットにおいて、寒冷暴露前 30 分間の体温の平均値を基準とした体温変化量は、尾隠しできる試行より尾隠しできない試行で有意に大きくなった(*P<0.05, 図 5)。

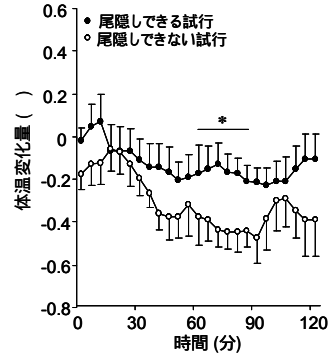


図 5. 環境温 16 時の E₂ 投与ラットの体温変化量 (学会発表 より改変)

以上の結果から、エストロゲンは比較的軽度の寒冷環境で寒冷時体温調節行動を引き起こすと考えられた。軽度の寒冷環境でエストロゲンは尾部皮膚温に影響しなかったことから、血管収縮による熱放散抑制という自律性体温調節には影響しないと考えられる。その代わりに、尾隠し行動という行動性体温調節を促進し、寒冷時の体温維持に貢献していると推測される。

(1),(2)より、比較的軽度の寒冷環境において、雄ラットでは絶食及びグレリンが尾隠し行動を促進すること、雌ラットでは女性ホルモンのエストロゲンが尾隠し行動を促進することが明らかとなった。

现阶段では、そのメカニズムに島皮質、第二体性感覚野、内側視索前野、傍分界条床核、小脳傍脚核、扁桃体が関与するとは言い難かった。今後更に(1),(2)で取得した脳サンプルの陽性細胞数の計測を進め、検討する予定である。

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)

[雑誌論文](計 4 件)

Nakamura M, Yoda T, Crawshaw L. I., Kasuga M, Uchida Y, Tokizawa K, Nagashima K, Kanosue K. Relative importance of different surface regions for the thermal comfort in humans. *European Journal of Applied Physiology*. Vol. 113: 63-76, 2013. (査読あり)

Nagashima K, Tokizawa K, Uchida Y, Matsuda-Nakamura M, Lin CH. Exercise and Thermoregulation. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*. Vol. 1: 73-82, 2012. (査読あり)

Tokizawa K, Onoue Y, Uchida Y, Nagash

ima K. Ghrelin induces time-dependent modulation of thermoregulation in the cold. *Chronobiology International*. Vol. 29, No. 2: 736-746, 2012. (査読あり)

Uchida Y, Tokizawa K, Nakamura M, Lin CH, Nagashima K. Tail position affects the body temperature of rats during cold exposure in a low-energy state. *Journal of Comparative Physiology - A*. Vol. 198, No. 2: 89-95, 2012. (査読あり)

[学会発表](計6件)

Uchida Y, Osako Y, Nagashima K, Yuri K. Effect of systemic ghrelin administration on tail-hiding behavior in a cold exposure in male rats. 第91回日本生理学会大会, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島, 2014年3月18日.

内田有希. 女性ホルモンと女性の体温調節. 第19回「性と生殖」公開シンポジウム 人間科学における生命研究の最前線, 早稲田大学国際会議場, 東京, 2013年12月21日. (招待講演)

内田有希, 大迫洋治, 山口奈緒子, 永島計, 由利和也. 雌ラットにおけるエストロゲンの寒冷時体温調節行動への影響. 第52回日本生気象学会大会, 米子市文化ホール, 鳥取, 2013年11月2日.

内田有希, 大迫洋治, 山口奈緒子, 永島計, 由利和也. エストロゲンが雌ラットの尾隠し行動に与える影響. 第8回環境生理学プレコングレス, 東京女子医科大・早稲田大学連携生命先端医科学研究施設, 東京, 2013年3月26日.

内田有希, 女性ホルモンと体温調節に関する研究のご紹介. シンポジウム「様々な気象環境下における暮らしの中の女性の健康」, バイオクリマ研究会第16回研究成果発表会(NPO 法人バイオクリマ研究会) いであ株式会社 GE カレッジホール, 東京, 2013年3月2日. (招待講演)

Uchida Y, Tokizawa K, Nakamura M, Nagashima K. Tail position affects the body temperature of rats during cold exposure in a low-energy state. 第51回日本生気象学会大会, キッセイ文化ホール, 長野, 2012年11月10日. (日本生気象学会大会奨励賞受賞講演)

[図書](計2件)

Uchida Y. *The Role of Estrogen in Modifying Thermoregulation and Related Behavioral Responses*. 早稲田大学出版部, 2013, 136 p., ISBN 9784657135117.

(単著、欧文)

永島計, 時澤健, **内田有希**. 徹底分析シリーズ 周術期の低体温[基礎編]呼吸・循環への低体温の影響 "体温の低下に対し

て変化は一様ではない 医療の介入や薬物による反応の増強に注意". *LiSA (Life Support and Anesthesia)*. Vol. 19, No. 1: 14-17, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 2012. (共著、和文)

[その他]

本研究に関する研究内容が評価され、第51回日本生気象学会大会研究奨励賞を受賞した。

アウトリーチ活動として研究に関するコラムを執筆した。

内田有希, Vol.2 寒さと女性の体温調節.

「女性のための生気象学 わたしてんき」コラム, BioWeather service 健康&天気予報(いであ株式会社), <http://www.bioweather.net/column/woman/woman002.html>, 2014年2月28日掲載.

ホームページ等

Yuki Uchida Website:

<http://homepage3.nifty.com/neuroendocrinology/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田 有希 (UCHIDA YUKI)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号: 50634002