

平成 30 年 4 月 17 日現在

機関番号：14602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26870417

研究課題名(和文) エストロゲンの尾隠し行動への影響 女性の寒冷時行動性体温調節メカニズムの解明

研究課題名(英文) Effect of estrogen on tail-hiding behavior in the cold-Mechanism of behavioral thermoregulation in the cold in women-

研究代表者

内田 有希 (Uchida, Yuki)

奈良女子大学・生活環境科学系・助教

研究者番号：50634002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：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、エストロゲンが寒冷時行動性体温調節を促進すること、そのメカニズムに島皮質が関与することを明らかにした。また、エストロゲンは末梢冷受容分子のTRPM8, TRPA1を介した体温調節反応を修飾することが明らかとなった。TRPM8を介した体温上昇に室傍核が関与した。

研究成果の概要(英文)：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 estrogen facilitated thermoregulatory behavior in the cold, and the insula might be involved in the response. Additionally, estrogen modulated thermoregulatory responses via peripheral cold receptors, TRPM8 and TRPA1. The paraventricular nucleus might be involved in the increased body temperature mediated TRPM8.

研究分野：環境生理学

キーワード：エストロゲン 尾隠し行動 TRPM8 TRPA1 行動性体温調節 島皮質

## 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。自律性体温調節と比較し、行動性体温調節の神経基盤は殆ど解明されていない。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。

研究代表者は、女性の寒冷時体温調節における女性ホルモン エストロゲン( $E_2$ )の役割について検証してきた。 $E_2$ の寒冷時行動性体温調節への影響を検証したところ、 $E_2$ は寒冷時の尾隠し行動を増加させること、尾隠し行動ができない場合は体温低下することが明らかとなった。つまり、 $E_2$ は雌ラットの寒冷時行動性体温調節を促進することが示唆されたが、そのメカニズムは明らかでない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は $E_2$ が寒冷時行動性体温調節に影響した原因を、脳と末梢の温度受容性の観点から解明する。(1)尾隠し行動を修飾する $E_2$ の脳内作用部位を解析する。脳内活性部位を、神経解剖学的手法を用いて調べる。(2)尾隠し行動を修飾する $E_2$ の末梢の冷受容分子 TRPM8, TRPA1 への影響を解析する。

## 3. 研究の方法

### (1). 尾隠し行動を修飾する $E_2$ の脳内作用部位の解析

9週令のWistar雌ラットを卵巣摘出後 vehicle 留置群、 $E_2$  留置群に分けた。ラットに $E_2$  (22.3mg) 含有 ( $E_2(+)$ 群) または非含有シリコンチューブ ( $E_2(-)$ 群) を留置した。ラットを寒冷暴露 (16 2時間, 午前10~12時) または対照として室温暴露 (27 2時間) した。再現性を確認する為、暴露中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) 尾隠し行動と尾部皮膚温を赤外線サーモグラフィ (Thermo Gear, 日本アビオニクス) で非侵襲的に計測した。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。寒冷、室温暴露直後に還流固定し脳を採取した。

採取した脳の前頭断凍結切片を作製後、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、第二体性感覚野、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)尾隠し行動を修飾する $E_2$ の末梢の冷受容

## 分子 TRPM8, TRPA1 への影響

### (2)-1. TRPM8 への影響

$E_2(+)$ 群、 $E_2(-)$ 群を設けた。ラット背部にキムワイプを密着させ、TRPM8 作動薬の L-menthol (エタノールを溶媒とした 10% L-menthol, 2.4ml) を塗布し、室温または寒冷暴露し、体温、尾隠し行動、尾部皮膚温を計測した。これらは(1)を踏襲して実施した。寒冷、室温暴露直後に還流固定し脳を採取した。

採取した脳の前頭断凍結切片を作製後、cFos 抗体を用い免疫組織化学染色を行った。体温調節に関わる正中視索前野、室傍核、内側視索前野、後視床下部、背内側核において陽性細胞数を計測し、(1)と同様に計測した。

### (2)-2. TRPA1 への影響

$E_2(+)$ 群、 $E_2(-)$ 群を設けた。ラット背部にキムワイプを密着させ、TRPA1 作動薬のシナモアルデヒド (エタノールを溶媒とした 30% シナモアルデヒド, 2.4ml) を塗布し、室温または寒冷暴露し、体温、尾隠し行動、尾部皮膚温を計測した。これらは(1)を踏襲して実施した。

## 4. 研究成果

### (1). 尾隠し行動を修飾する $E_2$ の脳内作用部位の解析

27、16 時、体温と尾部皮膚温は $E_2(-)$ 、 $E_2(+)$ 群間で有意差は認められなかった。16 時、尾隠し行動時間は $E_2(-)$ 群より $E_2(+)$ 群で有意に増加した。尾隠し行動開始時間は、 $E_2(-)$ 群より $E_2(+)$ 群で有意に早まった。すなわち、再現性が確認された。

最も特徴がみられた脳部位は島皮質であった。島皮質は27 時より16 時に cFos 陽性細胞数が増加した。16 時に、 $E_2(-)$ 群は $E_2(+)$ 群より有意に cFos 陽性細胞数が増加した。

これらの結果から、 $E_2$ が寒冷時行動性体温調節を促進するしくみに、島皮質が関与することが明らかとなった (雑誌論文 5)。研究代表者は、当初 $E_2$ が島皮質の神経活動を活性化し、寒冷時行動性体温調節を促進すると推測していたが、結果から、 $E_2$ が島皮質の神経活動を抑制している可能性が高いと示唆された。よって、当初予定していた神経活動活性部位への $E_2$ 局所投与は実施しなかった。

### (2)-1. 尾隠し行動を修飾する $E_2$ の末梢の冷受容分子 TRPM8 への影響

体温は、環境温 27 で menthol 塗布時の $E_2(+)$ 群が $E_2(-)$ 群より、有意に低かった。 $E_2(-)$ 、 $E_2(+)$ 両群で menthol 塗布が vehicle 塗布よりも有意に高かった。尾部皮膚温は環境温 27 で $E_2(-)$ 、 $E_2(+)$ 両群で menthol 塗布が vehicle 塗布よりも有意に高かった。尾部皮膚温には $E_2$ の効果は認められなかった。尾隠し行動時間は、環境温 27 で $E_2(+)$ 群の menthol 塗布が vehicle 塗布よりも有意に短かった。尾隠し行動に $E_2$ の効果は認められなかった。

脳視床下部の室傍核では  $E_2(-)$ 、 $E_2(+)$  両群で、cFos 陽性細胞数が menthol 塗布時の方が vehicle 塗布時よりも有意に多かった。今回調べた視床下部部位で cFos 陽性細胞数に  $E_2$  の影響は認められなかった。

これらの結果から、TRPM8 を介した末梢の冷受容に  $E_2$  の影響があることが明らかとなった。そのメカニズムには尾部からの熱放散でなく、 $E_2$  の熱産生への影響が関与することが推測された。TRPM8 を介した体温上昇には、室傍核が関与することが示唆されたものの、 $E_2$  の影響は認められなかった為、 $E_2$  の TRPM8 を介した末梢の冷受容に室傍核は関与しないことが明らかとなった(学会発表 2 他)。

## (2)-2. 尾隠し行動を修飾する $E_2$ の末梢の冷受容分子 TRPA1 への影響

16 時、シナモアルデヒド塗布時の  $E_2(-)$  群が  $E_2(+)$  群より有意に低く、また  $E_2(-)$  群ではシナモアルデヒド塗布が vehicle 塗布より有意に低くなった。尾部皮膚温変化量は 16 時、 $E_2(+)$  群においてシナモアルデヒド塗布が vehicle 塗布より有意に高くなった。尾隠し行動時間は、16 時、vehicle 塗布時の  $E_2(-)$  群が  $E_2(+)$  群より有意に長く、 $E_2(-)$  群、 $E_2(+)$  両群においてシナモアルデヒド塗布が vehicle 塗布より有意に短くなった。

これらの結果から、TRPA1 を介した末梢の冷受容に  $E_2$  の影響があることが明らかとなった(学会発表 1 他)。

### 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 13 件)

1. Nagashima K, Tokizawa K, Marui S, Uchida Y. Effects of fasting/fasting-related hormones on circadian body temperature rhythm and thermoregulation. *Clinical Autonomic Research*, *in press*. (査読あり)
2. 佐藤克成, 才脇直樹, 吉田哲也, 内田有希, 佐藤宏介, 岩井大輔. 中等教育段階を中心とした家庭科学習における情報機器を導入した新たな教材の開発と提案. 教育システム研究(奈良女子大学教育システム開発センター紀要), *in press*. (査読なし)
3. Uchida Y, Onishi K, Tokizawa K, Nagashima K. Regional differences of cFos immunoreactive cells in the preoptic areas in hypothalamus associated with heat and cold responses in mice. *Neuroscience Letter* Vol. 665, 130-134, 2018. (査読あり)
4. Uchida Y, Marui S, Tokizawa K, Nagashima K. Effect of Systemic Estradiol Administration on Circadian Body Temperature and Activity Rhythms in Female Rats. *Anatomy & Physiology*, Vol.

- 7 Issue 5 280, 1-6, 2017. (査読あり)
5. Uchida Y, Nagashima K, Yuri K. Systemic estradiol administration to ovariectomized rats facilitates thermoregulatory behavior in a cold environment. *Brain Research* Vol.1670:125-134, 2017. (査読あり)
6. 内田有希, 永島計, 森本恵子. 新たな衣服内温度計による女性の就寝中の衣類内温度計測の試み:ケースレポート. *人間科学研究* 第 30 巻 1 号:15-18, 2017. (査読あり)
7. 内田有希. 女性ホルモンと女性の体温調節 基礎体温, ホットフラッシュ, 冷え症, 寒冷時調節, 日内リズムとの関連. *家政学研究* 第 125 号 63 巻 1 号:38-41, 2016. (査読あり)
8. Tokizawa K, Matsuda-Nakamura M, Tanaka Y, Uchida Y, Cheng-Hsien L, Nagashima K. Influence of osmotic stress on thermal perception and thermoregulation in heat is different between sedentary and trained men. *Physiology & Behavior* Vol.161: 66-73, 2016. (査読あり)
9. Uchida Y, Nagashima K, Marui S. Estrogenic modulation of female thermoregulatory behavior in a cold environment. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* Vol.5, No.1: 77-80, 2016. (査読あり)
10. Marui S, Uchida Y, Nagashima K. Daily Changes of Body Temperature and Heart Rate are Modulated after Estradiol Depletion in Female Rats. *Anatomy & Physiology* Vol.6, No.1: 2-7, 2016. (査読あり)
11. 内田有希. 女性の冷え症~ヒトと動物の基礎研究からの視点~. *繊維製品消費科学* Vol.56, No 9:725-731, 2015. (査読あり)
12. Tokizawa K, Yoda T, Uchida Y, Kanosue K, Nagashima K. Estimation of the core temperature control during ambient temperature changes and the influence of circadian rhythm and metabolic conditions in mice. *Journal of Thermal Biology* Vol.51: 47-54, 2015. (査読あり)
13. Uchida Y, Tokizawa K, Nagashima K. Characteristics of activated neurons in the suprachiasmatic nucleus when mice become hypothermic during fasting and cold exposure. *Neuroscience Letters* Vol.159, No 5: 177-182, 2014. (査読あり)

[学会発表](計 12 件)

1. Uchida Y, Atsumi K. Effect of estradiol administration on thermoregulatory responses induced by application of cinnamaldehyde in ovariectomized rats.

- 第 95 回日本生理学会大会, サポートホール高松, 香川, 2018 年 3 月 28 日.
2. 小柳菜央, 渥美小優季, **内田有希**. 雌ラットにおけるシナモアルデヒド塗布時の体温調節反応に対するエストラジオール投与の作用. 第 45 回自律神経生理研究会, 日本光電, 東京, 2017 年 12 月 2 日.
  3. 渥美小優季, **内田有希**. 雌ラットにおいてエストロゲンが L-メントール刺激時の体温調節反応へ与える影響. 温熱生理研究会 2017 生理学研究所, 愛知, 2017 年 8 月 23 日.
  4. Atsumi K, **Uchida Y**. Effect of estradiol administration on thermoregulatory responses induced by application of menthol in ovariectomized rats. 第 56 回生気象学会大会, 早稲田大学大隈講堂小講堂, 東京, 2017 年 10 月 27 日.
  5. **Uchida Y**, Marui S, Tokizawa K, Nagashima K. Effect of systemic estradiol administration on circadian body temperature and activity rhythms in female rats. 第 94 回日本生理学会大会, アクトシティ浜松, 静岡, 2017 年 3 月 29 日.
  6. **内田有希** 女性のワーク・ライフバランス 私の場合 . 心ころとからだの健康シンポジウム, 奈良女子大学キャンパス, 奈良, 2017 年 2 月 22 日. (招待講演)
  7. **Uchida Y**, Osako Y, Nagashima K, Yuri K. Estradiol administration modulates thermoregulatory responses induced by application of menthol to the skin of whole trunk in ovariectomized rats. 第 93 回日本生理学会大会, 札幌コンベンションセンター, 北海道, 2016 年 3 月 24 日.
  8. **内田有希** 女性が快適に生活するための "温熱生理学". 人科生命科学系公開シンポジウム 生命の理解からはじまる人間科学. 早稲田大学所沢キャンパス, 埼玉, 2016 年 2 月 7 日. (招待講演)
  9. **内田有希** 女性の寒冷時体温調節メカニズムの解明 - 冷え症の科学 -. 平成 26 年度文部科学省科学技術人材育成費補助事業「女性研究者研究活動支援事業(連携型)」四国 5 大学連携女性研究者活躍促進シンポジウム 2015 多様な人材が輝くグローバル社会へのアプローチ 女性研究者支援を足がかりに. 徳島大学蔵元キャンパス, 徳島, 2015 年 12 月 8 日. (招待講演)
  10. **Uchida Y**, Osako Y, Nagashima K, Yuri K. Effect of systemic ghrelin administration on tail-hiding behavior and cFos expression of brain areas in rats in the cold. 第 38 回日本神経科学大会, 神戸コンベンションセンター, 兵庫, 2015 年 7 月 28 日.
  11. **内田有希**. 女性の冷え症～ヒトと動物の基礎研究からの視点～. 第 49 回快適性

を考えるシンポジウム - 女性の健康と快適性 (生体機能の性差と性ホルモンの影響), キャンパスプラザ京都, 京都, 2015 年 4 月 24 日. (招待講演)

12. **Uchida Y**, Osako Y, Nagashima K, Yuri K. Effect of systemic estradiol administration on tail-hiding behavior and cFos expression of brain areas in female rats in the cold. 第 120 回日本解剖学会総会・第 92 回日本生理学会大会合同大会, 神戸コンベンションセンター, 兵庫, 2015 年 3 月 21 日.

[ 図書 ] (計 0 件)

[ 産業財産権 ]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[ その他 ]

ホームページ

Yuki Uchida PhD website:

<https://sites.google.com/site/yukiuchidaphd/>

奈良女子大学研究者総覧:

<http://koto10.nara-wu.ac.jp/Profiles/16/0001567/profile.html>

Researchmap:

<https://researchmap.jp/uchidayuki/>

J-GLOBAL:

[https://jglobal.jst.go.jp/detail?JGLOBAL\\_ID=201201088776852374&q=%E5%86%85%E7%94%B0%E6%9C%89%E5%B8%8C&t=0](https://jglobal.jst.go.jp/detail?JGLOBAL_ID=201201088776852374&q=%E5%86%85%E7%94%B0%E6%9C%89%E5%B8%8C&t=0)

ResearchGate:

[https://www.researchgate.net/profile/Yuki\\_Uchida](https://www.researchgate.net/profile/Yuki_Uchida)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

内田 有希 (UCHIDA YUKI)

奈良女子大学・生活環境科学系・助教

研究者番号 : 50634002