

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13055

研究課題名(和文) エストラジオール消退に伴う暑熱耐性低下メカニズムの探索

研究課題名(英文) Mechanisms involved in heat tolerance due to depletion of estradiol secretion

研究代表者

永島 計 (Nagashima, Kei)

早稲田大学・人間科学学術院・教授

研究者番号：40275194

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：研究は、閉経後女性の耐暑能を明らかにするためのマウスモデルを作成し、血中エストラジオール濃度の低下が、熱中症発生にかかわる複数の因子(自律性反応、行動性反応、温度感覚、暑熱にかかわる認知機能および行動)に、時間依存性に影響するか否かを検証した。マウスの暑熱逃避行動を評価するシステムを完成させ、同時に暑熱下での代謝量を評価した。エストラジオールは暑熱負荷時の代謝量低下に寄与しており、その低下は耐暑能の低下に関連していると考えられた。また、明期にその影響は顕著であった。暑熱逃避行動には影響がないと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The present research aimed, (1) to develop a mouse model for evaluating the thermal tolerance of postmenopausal women, to test if decrease of estradiol secretion augments a risk of heat stroke (autonomic reaction, behavioral reaction, temperature sensation, cognitive function and behavior related to the heat), and it affects time dependence or not. We completed a system to evaluate the heat escape behaviors of mice and at the same time evaluated metabolic rate under heat. Estradiol contributed to the decrease in metabolic rate at the time of heat loading, and it seemed that this decrease is related to the decrease of the heat resistance. Also, its effect was noticeable in the light period. It was thought that the heat escape behavior was not affected.

研究分野：Environmental Physiology

キーワード：行動性体温調節 尾隠し行動 卵巣摘出 温度感覚 TRP 視床下部 熱放散 FOS

1. 研究開始当初の背景

国立環境研究所より、女性は65歳を境に特徴的な熱中症発生の増加が見られるというデータが報告されている(熱中症患者情報速報、平成27年)。女性ホルモンの一つであるエストラジオールは、女性のライフステージ(成熟期、更年期、老年期)の生理学的差異を特徴づける重要要因であると考えられる。

熱中症発生の内的要因は、自律性調節(発汗など)、行動性調節(衣服調節、エアコンの使用など)など非常に多彩である。申請者は、寒冷時の体温調節能にエストラジオールが関与することをラットでの研究で報告している(Uchida et al., J Physiol Sci 2010; Brain Res 2010; J Comp Physiol 2011)。エストラジオールの低下は、若年ラットでも熱産生反応(自律性体温調節)を減弱させる。しかし、エストラジオールの暑熱時の体温調節能に対する影響はわかっていない。さらに、エストラジオール産生が低下する閉経期から10数年後に熱中症発生の増加している疫学的事実は、エストラジオールの関与を示唆するものの、単に自律性体温調節の低下のみならず、包括的な耐暑能の低下が生じていることを示唆する。

2. 研究の目的

研究はエストラジオールが時間依存性(短期的、長期的)に体温調節の変化を生じさせるという仮説を検証する。また、その効果の可塑性を検証する。具体的には暑熱下体温調節にかかわる3つの生理反応:皮膚血管拡張反応、行動性調節、中枢性の温度感受性に着目して実験を行う。また、これらの実験からエストラジオールの消退がシステムとしての体温調節に与える影響を検証し、高齢女性の熱中症発生の機序と、その予防方法としてのエストラジオール投与の可能性を探索する。

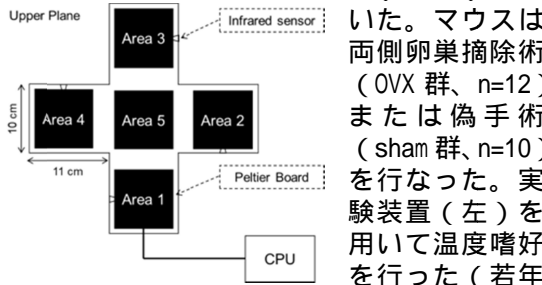
3. 研究の方法

実験1. 両側卵巣摘出ウイスターメスラットを用いた(n=28)。皮下に17-エストラジオール含有したシリコンチューブ E2(+)群または非含有のシリコンチューブ E2(-)群にわけて実験を行なった。また、腹腔内、尾部皮膚表面温度測定のためのテレメトリデバイスをおき連続測定を行なった。

実験2. 卵巣切除の偽手術を行なったラットを用いた。手術後、ラットの膣スメアを採取し、発情サイクルを同定した。体温測定は実験1と同様に行なった。実験1および2において、各ラットを気候室内のアクリルボックス(35×20×20cm)で間接カロリーメトリにより代謝(酸素消費量)測定を行なった。室内温度は25.0に保った。その後、0930または2130(点灯または消灯の2.5時間後)に、ラットを28、31および34の環境にそれぞれ1時間(計3時間)曝露した。実験2では、熱曝露日にラットを発情期(P群)ま

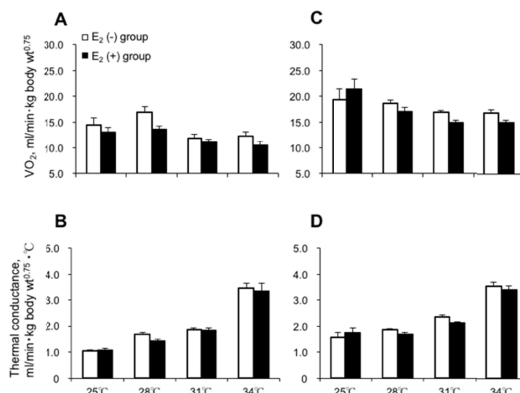
たは発情間期(D群)になるように2群に分けた。

実験3. 実験3. 雌ICRマウス(n=22)を用いた。



いた。マウスは両側卵巣摘除術(OVX群, n=12)または偽手術(sham群, n=10)を行なった。実験装置(左)を用いて温度嗜好を行った(若年群, n=6、若年OVX群, n=6)。各マウスを実験装置に入れ、装置内で90分間自由に行動させた。装置内の底面は温度コントロール可能なペルチエ板の1つを32に設定し、他の板を18(冷試験)または43(熱試験)に設定した。温度の設定は5分ごとに変更した。10秒ごとにマウスの位置を記録した。4~7カ月前に両側卵巣摘除手術を受けた他のマウス群(加齢sham群, n=4、加齢OVX群, n=6)についても同じ試験を行った。さらに、足底皮膚のTRPV1およびTRPM8の発現を免疫蛍光法により評価した。

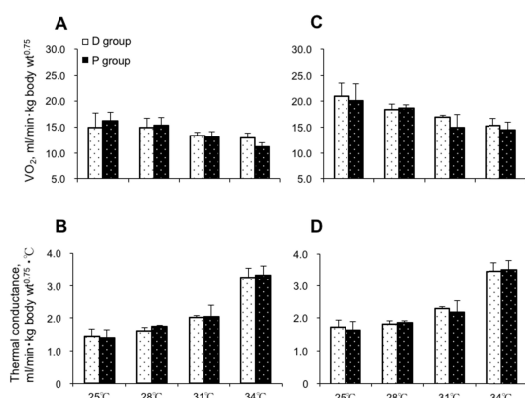
4. 研究の結果



実験1. 結果の一部を上に表示。明期では、25環境でのE2(-)群とE2(+)群との間に体温の差は認めなかった。暗期では、体温はE2(+)群よりE2(-)群で高かった。一方、明期では34環境において体温の上昇がE2(-)群でE2(+)群に比較して強く生じた。上段の図は各温度環境での代謝(VO_2)、尾部の熱放散指数(下段、 $VO_2 / (\text{腹腔内温} - \text{環境温})$)を示している。左側は明期、右側は暗期のデータを示している。E2(+)群の34曝露中の代謝は25環境でのレベルから減少したが、E2(-)群の代謝は25環境でのレベルのままであった。尾部皮膚における熱コンダクタンスは(図下段)、明期と暗期の両期において、34環境環境で上昇したが、その差は認められなかった。

実験2. 結果の一部を次ページ左に示す。明期では、25環境でのD群とP群との間に体温の差は認めなかった。暗期では、体温はP群よりD群で高かった。一方、明期では34環境において体温の上昇がD群でP群に比較

して強く生じた。上段の図は各温度環境での代謝(VO_2)、尾部の熱放散指数(下段、 $VO_2 / (\text{腹腔内温} - \text{環境温})$)を示している。左側は明期、



右側は暗期のデータを示している。P 群の 34 曝露中の代謝は 25 環境でのレベルから減少したが、D 群の代謝は 25 環境でのレベルのままであった。尾部皮膚における熱コンダクタンス(図下段)は、明期と暗期の両期において、34 環境環境で上昇したが、その差は認められなかった。

血漿エストロジオールレベルが低下した雌ラットでは、暑熱曝露により体温は雌ラットで上昇した。暗期においては、このような応答は見られなかった。この明期における暑熱下における体温上昇は、代謝の低下が生じないことによって引き起こされる可能性が示唆された。

実験 3 .冷試験での 32 のボードの選択回数は、加齢 sham 群が若年 sham 群より多かった(各々 108 ± 5 、 163 ± 13 回)。加齢 sham 群の 32 のボードの選択回数は、加齢 OVX 群よりも大きかった(加齢 OVX 群、 116 ± 10 回)。温試験でのグループ間に有意差はなかった。足底皮膚における TRPV1 および TRPM8 の発現は、若年群では旧群よりも強かった。加齢によりメスマウスは暖かい温度を好む可能性があった。一方、エストロジオールの長期的な欠乏によりマウスが快適に感じられる温度が低下する可能性が示唆された。足底皮膚の TRPV1 および TRPM8 は、若年群では加齢群よりも強く発現する傾向があった。TRPM8 チャンネルの発現が弱ければ加齢群の低温感受性の減弱につながると予想したが、実際の冷試験での行動の結果は逆であった。温熱嗜好は、両側卵巣摘出術によって変化することが示唆されたが、その機序の解析は今後の課題となった。

5 . 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計 5 件)

Kei Nagashima, Ken Tokizawa, Shuri Marui, Yuki Uchida, Effects of fasting/fasting-related hormones on circadian body temperature rhythm and thermoregulation. Homeostasis, in press.

Yuki Uchida, Keisuke Onishi, Ken Tokizawa, Kei Nagashima. Regional differences of cFos immunoreactive cells in the preoptic areas in hypothalamus associated with heat and cold responses in mice. Neuroscience Letters, Vol. 665, 130-134, 2018.

Yuki Uchida, Shuri Marui, Ken Tokizawa, Kei Nagashima. 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.

Yuki Uchida, Kei Nagashima, Kazunari Yuri. Systemic estradiol administration to ovariectomized rats facilitates thermoregulatory behavior in a cold environment. Brain Research Vol.1670 (September):125-134, 2017.

Shuri Marui, Yuki Uchida, Kei Nagashima Daily Changes of Body Temperature and Heart Rate are Modulated after Estradiol Depletion in Female Rats, Anatomy & Physiology, OMICS International, Vol.6(1): 2-7, 2016

〔学会発表〕(計 4 件)
Yuki Uchida, Shuri Marui, Ken Tokizawa, Kei Nagashima 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、2P-085、静岡県浜松市(アクトシティ浜松)、日本、(3月29日、2017年)

丸井朱里, 加藤一聖, 永島計「ハドリングが寒冷環境下におけるメスマウスの体温調節に与える影響」, 『第 12 回環境生理学プレコングレス(第 94 回日本生理学会大会サテライト企画)』, 浜松, 2017年3月

丸井朱里, 遠藤圭子, 永島計「群飼育によるハドリングがメスマウスの深部体温日内リズムに及ぼす影響」, 『第 44 回自律神経生理研究会』, 東京, 2016年12月

丸井朱里, 永島計「雌ラットにおけるエストロジオール欠乏が暗期暑熱時の耐熱能に及ぼす影響」, 『第 55 回日本生気象学会大会』, S25, 札幌, 2016年11月, 若手発表コンテスト優秀賞受賞

〔図書〕(計 1 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)
取得状況(計 0 件)

〔その他〕

http://btfl.jp/wplab_jp/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永島 計 (Nagashima, Kei)

早稲田大学 人間科学学術院 教授

研究者番号：40275195

(2) 研究分担者

森本恵子 (Morimoto, Keiko)

奈良女子大学 生活環境科学系 教授

研究者番号：30220081

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

(3) 研究協力者

丸井朱里 (Marui, Shuri)

早稲田大学 人間科学学研究科 博士後期

課程