

平成21年5月12日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2006～2008
課題番号：18592246
研究課題名（和文） 幼少期の身体抑制ストレスが成長後の中枢神経系に与える影響に関する統合的理解
研究課題名（英文） The effect of repeated immobilization stress in the early postnatal period on the central nervous system in the adulthood
研究代表者 吉原 俊博（YOSHIHARA TOSHIHIRO） 北海道大学・北海道大学病院・講師 研究者番号：60261319

研究成果の概要：

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷したラットは新規環境ストレスに対して対象群に比較して大きなストレス反応を示した。このメカニズムには視床下部-下垂体-副腎皮質系におけるネガティブフィードバックのdown regulationと視床下部室傍核におけるカテコールアミンのactivationが関与していることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	600,000	0	600,000
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	810,000	4,110,000

研究分野：小児歯科学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：身体抑制、ストレス、中枢神経

1. 研究開始当初の背景

保護者や歯科スタッフの手を用いても抑制できない重度の非協力的小児に対する歯科治療において、レストレーナーなどの抑制具を使用する身体抑制法は、患児にとって不快な経験となりその後の脱感作に苦慮する、抑制具による身体的外傷、全身疾患（特に循環器系）への悪影響などの理由のため、可能な限り用いるべきではないものとされている。

幼少期のストレスは動物に対して、ストレスを受けた時期だけではなく、その後長期にわたり中枢神経系に様々な影響を与えることが報告されている。しかし幼少期のストレスとして、身体を抑制することによるストレス（以下、身体抑制ストレス）が成長後のストレス反応や行動にどのように影響するかを調べた研究はない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、実際の歯科治療を想定し、抑制具を使用する身体抑制法がラットの成長と成長後のストレスに対する視床下部-下垂体-副腎皮質系の反応を調べ、そのメカニズムを考察した。

3. 研究の方法

(1) 幼少期身体抑制ストレスの成長に対する影響について

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷する群（慢性身体抑制ストレス負荷群）と出生直後の1日のみ、30分間の身体抑制ストレスを負荷する群（急性身体抑制ストレス負荷群）について、3か月間にわたり、体重、摂食量を測定し、採血も行った。

(2) 幼少期身体抑制ストレスの成長後のストレス反応に対する影響について

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷した群（身体抑制ストレス負荷群）と対照群について、3か月後に新規環境ストレス（新しい敷きわらの入ったケージに各ラットを移す）を与え、それに対するストレス反応性を視床下部-下垂体-副腎皮質系の最終出力である血中コルチコステロン濃度変化を指標にして評価した。採血は毛細管によって尾先端から行い、血液サンプルは直ちに遠心分離し、得られた血漿を -40°C にて凍結保存しておき、血漿中のコルチコステロン量をRIAにて測定した。

(3) 幼少期身体抑制ストレスの成長後視床下部-下垂体-副腎皮質系 negative feedback 機能に対する影響について

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷する群および対照群の2群に対し、出生から3か月後に断頭し、凍結マイクロトームを用いて海馬を含む厚さ $30\mu\text{m}$ の連続切片を作製し、グルココルチコイド ribonucleotide probe を用いた in situ hybridization によりグルココルチコイドレ

セプターの発現を測定した。

(4) 幼少期身体抑制ストレスの成長後のラットの室傍核カテコールアミンニューロン活性と CRHmRNA 発現量に対する影響について

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷する群および対照群の2群に対し、出生から3か月後に新奇環境ストレスを負荷して、in vivo microdialysis により視床下部室傍核周囲の細胞外液を採取し、外液中のカテコールアミン量を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。さらに、各ラットを断頭し、直ちに脳を採取し凍結マイクロトームを用いて室傍核を含む連続切片を作製し、in situ hybridization により CRHmRNA の発現を検出した。

4. 研究成果

(1) 幼少期身体抑制ストレスの成長に対する影響について

慢性身体抑制ストレス負荷群は急性身体抑制ストレス負荷群および対照群に比較して、摂食量には有意差はないにもかかわらず、体重の増加が劣っていた。また、慢性身体抑制ストレス負荷群は急性身体抑制ストレス負荷群および対照群に比較して血漿中の成長ホルモン量及び IGF-I が有意に低下していた。これらの結果から、出生直後の慢性身体抑制ストレスは成長ホルモン量及び IGF-I の低下を引き起こし、成長を抑制することが示唆された。

しかしある一定の臨界期を超えると、各群に体重差がなくなり、成長ホルモン量及び IGF-I の濃度にも差がなくなったことより、出生直後の慢性身体抑制ストレスの成長に対する影響は長期間におよぶものでないことが示唆された。

(2) 幼少期身体抑制ストレスが成長後のストレス反応に対する影響について

身体抑制ストレス負荷群は対照群に比較して、体重差がないにもかかわらず、新規環境ストレスに対して有意に大きな血中コル

チコステロン濃度を示した。また、上昇した血中コルチコステロン濃度が基礎値に戻るのに要した時間も身体抑制ストレス負荷群は対照群に比較して長かった。これらの結果から、出生直後の身体抑制ストレスは視床下部-下垂体-副腎皮質系におけるネガティブフィードバックを弱めることが示唆された。

(3) 幼少期身体抑制ストレスの成長後 HPA axis negative feedback 機能に対する影響について

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷する群では海馬におけるグルココルチコイドレセプターの発現が対照群に比較にして有意に低下していることが示された。この結果より、出生直後に身体抑制ストレスを経験したラットでは成長後の海馬グルココルチコイドレセプターの発現が低下して、視床下部-下垂体-副腎皮質系 negative feedback 機能の down regulation が起こり、その結果、ストレスに対するコルチコステロンの反応が亢進していることが示唆された。

(4) 幼少期身体抑制ストレスの成長後のラットの室傍核カテコールアミンニューロン活性と CRHmRNA 発現量に対する影響について

出生直後より1週間、毎日30分間の身体抑制ストレスを負荷する群では室傍核カテコールアミンの放出と CRHmRNA の発現が対照群に比較にして有意に亢進していることが示された。この結果より、出生直後に身体抑制ストレスを経験したラットでは成長後の CRHmRNA の発現が亢進しており、それには室傍核カテコールアミンが促進的に関与していることが示唆された。

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4件)

① Toshihiro Yoshihara, Yasutaka Yawaka
Repeated immobilization stress in the early postnatal period increases stress response in adult rats
Physiology and Behavior, 93(1-2): 322-326, 2008, (査読有)

② 吉原俊博
生後の環境が中枢神経系に与える影響についての統合的理解
小児歯科学雑誌, 46(5):497-500, 2008, (査読有)

③ 石谷徳人, 吉原俊博, 舛元康浩, 齋藤一誠, 稲田絵美, 山崎要一
精神身体的状態が顎顔面部における圧痛閾値測定結果に及ぼす影響について
小児歯科学雑誌, 46(1):19-25, 2008, (査読有)

④ Yuko Matsumoto, Toshihiro Yoshihara, Youichi Yamasaki
Maternal deprivation in the early versus late postnatal period differentially affects growth and stress-induced corticosterone responses in adolescent rats
Brain Research, 1115(1):155-161, 2006, (査読有)

[学会発表] (計1件)

吉原俊博, 生後の環境が中枢神経系に与える影響についての統合的理解, 第46回日本小児歯科学会大会, 2008, 6月12-13日, 埼玉

[図書] (計1件)

吉原俊博, 朝倉書店, 時間生物学事典, 2008, 168-169

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉原 俊博 (YOSHIHARA TOSHIHIRO)

北海道大学大学病院・講師

研究者番号：60261319

(2) 研究分担者

石谷 徳人 (ISHITANI NORIHITO)

(2006年度のみ)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：90343368

松本 祐子 (MATSUMOTO YUKO)

(2006年度のみ)

鹿児島大学・医学部・歯学部 附属病院・

助教

研究者番号：20315443

(3) 連携研究者

なし