

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34412

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11302

研究課題名（和文）新生児脳症モデルの長期予後への低体温と成育環境の影響の時系列行動実験解析

研究課題名（英文）Effects of low body temperatures on sequential prognosis of mice encephalopathy models

研究代表者

細野 剛良（Hosono, Takayoshi）

大阪電気通信大学・医療健康科学部・教授

研究者番号：60294104

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：マウス新生児脳症モデルに対する脳症負荷時の低体温と生育環境の影響について検討した。低酸素脳症負荷時に低環境温度とすることによって、マウスの脳症の程度を軽減することができる。また、脳症負荷にはステロイドの投与も有効である。また、今回、ステロイド投与を行ったが、その際に環境温度を下げることは脳症の程度に影響する。生育環境内に種々の環境エンリッチメントを設置することによって、受動回避テスト、懸垂テストによって評価される運動・知能能力の改善がみられた。動物飼育の際に環境エンリッチメントの設置が推奨されているが、それらは脳症モデルの生育や実験結果に影響を与えることを考慮する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物を用いて、運動・知能発育に影響する要素を検討する場合、低酸素負荷、ステロイド投与などの方法が有効である。また、動物飼育の際に推奨されている環境エンリッチメントの使用は、動物の運動・知能能力を変容させる可能性がある。本研究成果は、マウス脳症の研究において、環境エンリッチメントが結果を変容させることを示している。環境エンリッチメントの使用の際には、十分にその効果を、検討・考慮する必要があることが示された。

研究成果の概要（英文）：Intellectual and motor abilities of neonatal hypoxic encephalopathy mice models were evaluated by behavioral tests. Additionally we also tested of effects of environmental enrichment. Low brain temperatures of neonatal mice encephalopathy models developed motor and behavioral responses. Environmental enrichments during grown-up also accelerated motor and brain abilities. These results showed that environmental enrichments during growing up of encephalopathy models affects of the growth and abilities od encephalopathy model animals.

研究分野：生理学

キーワード：新生児脳症 マウス・モデル 環境エンリッチメント 行動実験 体温 生育環境

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

今日の周産期医療のさまざまな場面で成績は向上しているが、そのなかでも、臨床上の未解決の問題がある。とくに、ベタメタゾンなどの合成ステロイド薬は、成人・小児の免疫、アレルギー疾患などに広く用いられている。特に周産期治療においては、早産のおそれのある場合に母体に対してベタメタゾンを投与し、胎児の肺成熟を促進する治療が広く行われているが、治療に用いられるステロイド薬による副作用、つまり、児の幼若期にステロイド製剤を投与された場合に生じる長期的な副作用の問題である。たとえば、妊娠34週未満の早産が予想される場合、母体にベタメタゾンを投与することによって、胎児の肺の成熟が促進され、出生後の新生児の呼吸障害を予防でき、出生児の予後が改善されることはよく知られている。しかし、未熟な児にベタメタゾンを投与した場合、出生後も含めた長期的な脳障害を生じる恐れも危惧されている。このために、臨床現場では、母体へのステロイド薬を投与する治療は、明確な根拠なしに妊娠中のベタメタゾンの投与は、原則として1回までと推奨されている(日本産科婦人科学会、など)。しかし、実際、ステロイド薬が、胎児・新生児に対して用いられた場合、どのような副作用が生じるかは明確ではない。すなわち、胎児・新生児に対するステロイド薬の多量の使用によって生じる出生児の発育・発達にどのように、影響が生じるか生じないかの問題は解決されていない。ところで、研究代表者は、ステロイド薬によって生じる脳障害について、軽減させる方法がないかを検討し、これらの問題の解決に、最近、広く実施されている低体温療法(あるいは頭部のみを低温とする、脳低温療法)を適用する可能性について着想した。脳低温療法は、重症児の体温(あるいは、脳温度)を数日から1週間程度にわたり、2程度低く設定することによって、脳障害の程度を軽減させる方法である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、周産期治療における早産に相当する時期に、ベタメタゾンをマウスに投与する。すなわち、生後、早期にベタメタゾンを投与したマウス・モデルに対して、ステロイドを投与した後に低体温療法に相当する低体温を負荷する群と、低体温療法を課さない群出生後早期にステロイドを投与した場合に脳低温に相当する環境においた場合に、それぞれの脳障害の程度を、長期的な児の知能・運動能力の評価と脳の組織学的観察によって検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 動物

3日齢のSlc:ddyマウス75匹を使用した。3~5日齢に、ベタメタゾン溶液0.1mLを腹腔内に投与した。対照群として、生理食塩水0.1mL/匹を腹腔内に投与した。ベタメタゾンまたは生理食塩水投与後に、温浴を用いて、マウスの半数を環境温36(脳低温群)に2時間、残り半数を40に2時間おいた。以上の操作は、3~5日齢の連日1日1回実施した。温浴での保温の後、マウスはそれぞれの母獣に戻し保育させた。ベタメタゾン投与によるマウスの死亡はなかった。動物へのベタメタゾンの投与、あるいは、保温中のマウスの死亡はなかった。研究は、本学の生体倫理委員会の承認の上、実施した。

#### (2) 行動実験

2日齢に懸垂テスト、43日齢に水迷路テスト、49日齢にステップダウン受動回避テストを実施した。

懸垂テストでは、マウスの両前脚を長さ15cm・高さ20cmの水平懸垂棒にかけ、懸垂の持続時間を測定した。水迷路テストでは、直径90cmのマウスの両足がつかない墨の入ったプールを泳がせ、休憩のための島に到着するまでの時間を計測した。

ステップダウン受動回避試験では、同実験装置内の電撃を避ける絶縁プレートへの滞在時間を測定した。

#### (3) 組織学検討

すべての検討の終了後、深麻酔下にマウスの脳を摘出した。大脳・脳幹部を主とする、薄切標本を作製し、常法のHE染色の後、大脳・海馬の大きさを測定した。

### 4. 研究成果

#### (1) マウス・モデルの発育状況

マウスの成育:ベタメタゾン投与群、対照群とも、体重は有意に増加した。成長後に達した体重は、対照群のほうがベタメタゾン群よりも、有意に大きかった。

#### (3) 行動テストの成果

懸垂テスト ベタメタゾン群の懸垂時間は対照群の懸垂時間よりもより有意に短かった。

水迷路テスト ベタメタゾン群の水泳時間と対照群の水泳時間の間に有意な差はなかった。

ステップダウン型受動回避テスト ベタメタゾン群のプラットホーム滞在時間は、計測1日目、計測5日目に、生食群の方が有意に短かった。その他の測定日については、有意な差はみられなかった。

(4) 組織学的な検討

マウス脳の海馬、大脳皮質を中心として、50 サンプルの脳薄切標本 40 枚を測定し、光学顕微鏡観察したが、海馬、大脳皮質のサイズ、細胞数鏡検では、ベタメタゾン群と対照群の間で有意な差はみとめなかった。

(5) マウス新生児へのベタメタゾン投与モデルの使用により、周産期のステロイド投与による、大きな母児への影響は認めなかった。3 日齢マウスへのステロイド投与により、顕微鏡の鏡見観察レベルの脳障害は生じないことが示唆された。また、本法による動物モデルの作成では、ステロイド薬の注射の腹腔内注射という簡便な方法で動物モデルの作成ができる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Takayoshi Hosono
2. 発表標題 Differences of effects of betamethasone on motor and learning ability at newborn or after-growth assessed by behavioral tests
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 細野剛良
2. 発表標題 幼若時にベタメタゾンを投与したマウスの成長後の運動能力・知能に対する環境エンリッチメントの影響
3. 学会等名 第75回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------