

立教大学学術推進特別重点資金 (立教 S F R)

大学院学生研究

2018年度研究成果報告書

研究科名	立教大学大学院 コミュニティ福祉学 研究科 コミュニティ福祉学 専攻		
研究代表者 (2019年3月現在のものを記入)	在籍課程・学年・学生番号		氏名
	<input type="checkbox"/> 博士前期課程 年		中川 晃 印
	<input checked="" type="checkbox"/> 博士後期課程 2年・17WD003L		
指導教員	所属・職名		氏名
	コミュニティ福祉学部・教授		石渡 貴之 印
自然・人文・社会の別	自然 ・ 人文 ・ <input checked="" type="checkbox"/> 社会	個人・共同の別	<input checked="" type="checkbox"/> 個人 ・ 共同 名
研究課題	無麻酔無拘束ラットの暑熱順化に伴う体温調節及び認知領域の脳内神経伝達物質の役割		
研究組織 (研究代表者・共同研究者) ※2019年3月現在のものを記入	在籍研究科・専攻・課程・学年		氏名
	コミュニティ福祉学研究科・コミュニティ福祉学専攻・博士課程後期課程2年		中川 晃
研究期間	2018 年度		
研究経費 (1円単位)	(支出金額) 108,422円 / (採択金額) 200,000円		

研究の概要 (200~300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

雄 Wistar 系ラットにおいて、暑熱曝露を行った際の脳内の体温調節を司る視索前野における脳内神経伝達物質（ノルアドレナリン，ドーパミン，セロトニン）の含有量の変化を，マイクロダイアリシス法を用いて即時的に測定を行った．また，無線式小型体温計を腹腔内に埋め込み暑熱曝露時の体温，心拍数，活動量の変化も同時に測定した．結果として，暑熱曝露により深部体温の変化が確認され，脳内神経伝達物質が変化する可能性が示唆された．

キーワード (研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

{ 体温 } { 脳内神経伝達物質 } { 心拍数 }

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)**【背景】**

私は暑熱順化が生じたラットの脳内神経伝達物質の変化と、暑熱順化が生じたラットの行動様式の変化を報告してきた (Nakagawa et al., 2016)。これまでの研究ではラットの脳内神経伝達物質を測定する際にラットの脳を取り出してから測定を行うホモジネート法を用いてきた。しかしながらこの実験手法では脳内神経伝達物質の即時的な変化を調べることができないという問題点がある。

この問題点を解決するための方法としてマイクロダイアリシスを用いた脳内神経伝達物質の測定方法がある。マイクロダイアリシス法を用いることによって無麻酔無拘束下のラットの脳内神経伝達物質の変化を即時的に観察することが可能となり、ラットの暑熱順化の有無による暑熱曝露時の脳内神経伝達物質の変化を調べることが可能となる。マイクロダイアリシスによる脳内神経伝達物質の測定はこれまでに広く行われている (Ishiwata et al., 2001, 2002, 2004, 2005, 2016, 2017)。多くの実験では体温調節を司っている視索前野・前視床下部 (PO/AH) に焦点が集められているが、暑熱順化が生じたラットの PO/AH における脳内神経伝達物質の測定を行った実験はまだなく、さらに認知を司る前頭前野 (FC) における暑熱曝露による脳内神経伝達物質の研究はあまり行われていない。

【目的】

本研究では暑熱順化が生じたラットの暑熱曝露中の PO/AH と FC における脳内神経伝達物質の変化を、暑熱順化していないラットと比較を行うことを目的に行う。

【方法】

実験は雄の Wistar 系ラットを用いて実験を行った。ラットは実験室に搬入後、3 種混合麻酔 (メドトミジン、ミダゾラム、ブトルファノール) (2.5mg/kg) によって麻酔をかけた後腹部を開き、無線式小型体温計 (TA11TA-F40, Data science) を埋め込んだ。埋め込んだ無線式小型体温計によって、体温、心拍数、活動量の測定を継続的に行った。1 週間の回復期間を設けた後、マイクロダイアリシスプローブ挿入用のガイドカニューラを脳内に埋め込む手術を行った。ガイドカニューラの手術はまずラットに 3 種混合麻酔 (メドトミジン、ミダゾラム、ブトルファノール) (2.5mg/kg) をかけた後、ガイドカニューラの挿入箇所となる頭部の体毛をバリカンにて刈り、消毒液でラットの頭部を消毒した。ラットを脳固定装置に装着した後、頭頂部の皮膚を約 1mm 切開し、頭頂骨を露出させた。露出した頭頂骨が見えるように皮膚をクリップで左右に広げ、ガイドカニューラの挿入位置に印をつけた。その後直径 1mm ほどの穴を頭頂骨にあけた。穴の両側にガイドカニューラを固定するためのアンカー用の穴をあけ、2 本のビスを骨に固定した。ガイドカニューラ挿入部位の硬膜を注射針で血管を切らないように注意しながら切った。ガイドカニューラをゆっくりと挿入し、ガイドカニューラをビスに固定した。切開した皮膚を接合し、ラットをケージに戻した。1 週間の回復期間の後、通常環境 (気温 23℃, 湿度 50%) で 3 週間飼育を行った後、マイクロダイアリシスプローブを挿入し、ラットを通常環境から暑熱環境 (気温 32℃, 湿度 50%) に 3 時間曝露した際の脳内神経伝達物質の即時的変化を測定した。

測定する脳内神経伝達物質はノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニンの 3 種類で、測定は PO/AH で行った。脳内神経伝達物質は on-line 高速液体クロマトグラフィーを用いて暑熱曝露中の変化の測定を即座に行った。マイクロ

研究成果の概要 つづき

ダイアリスプローブの挿入および脳内神経伝達物質の測定は全てのラットで同じ時間帯に行い、サーカディアンリズムの影響が現れない様にした。

実験終了後、色素を灌流し、脳内のプローブの先端の部分を標識するための染色を行った。灌流後、脳を摘出し、ホルマリンで固定し、厚さ 100 μm の切片をマイクロスライサーにて作成し、プローブの挿入位置を確認した。プローブの挿入位置が目的の部位に挿入されていたラットのみデータを比較し、暑熱曝露前と暑熱曝露中、暑熱曝露終了後で脳内神経伝達物質がどのような変化を示すのかを調べた。

【結果】

暑熱曝露を行っている最中には深部体温が上昇し、心拍数は低下した。また、脳内神経伝達物質については PO/AH において暑熱曝露によってセロトニンの含有量が変化する可能性が示唆された。暑熱順化したラットの実験については暑熱順化後のラットの手術に失敗してしまったため実験データを得ることができなかった。また、仕事の都合で大阪への転勤となってしまう、秋学期は休学せざるを得ず、本実験期間において FC の脳内神経伝達物質の測定に至ることはできなかった。

【考察】

これまでに私は異なる期間の暑熱曝露によって暑熱順化したラットの生理指標と脳内神経伝達物質の変化については報告している (Nakagawa et al., 2016)。本研究において暑熱曝露による深部体温の上昇と心拍数の低下は認められており、先行研究の結果と一致している。これは暑熱環境下において代謝を低下させることで体内における熱産生を抑制するためであると考えられる。

次に脳内神経伝達物質の変化について、本研究では PO/AH における脳内神経伝達物質の変化の可能性が示唆されたものの、暑熱順化の有無による影響を調べるまでに至らなかった。複数の先行研究において PO/AH が体温調節を行い、その調整には脳内神経伝達物質関与していることが示されている (Ishiwata et al., 2001, 2002, 2004, 2005, 2016, 2017)。本実験では PO/AH の脳内神経伝達物質の変化を調べたが、どの物質がどのように変化するかという確証を得ることはできなかった。しかしながら先行研究において熱産生に PO/AH のセロトニンが関与していることが示されている (Ishiwata et al., 2004, 2014)。私の先行研究においても暑熱曝露の期間によって PO におけるセロトニンの含有量の変化が確認されている (Nakagawa et al., 2016)。これらのことから暑熱曝露時の脳内神経伝達物質の変化は暑熱順化の有無により主にセロトニンで起こることが考えられる。

また、今回測定することができなかった FC においては、私の先行研究よりセロトニンの含有量の低下が暑熱曝露により起こり、暑熱順化することで通常状態と同レベルまで回復することが示されている (Nakagawa et al., 2016)。また、先行研究においてドーパミンとセロトニンが衝動性に関与していることが示されている (Puumala et al., 1998)。以上より暑熱環境に曝された際にはセロトニンが減少することで衝動性が増加し、暑熱順化によって通常環境と同等の活動を行うことができることが考えられる。

研究発表 (研究によって得られた研究成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。なお、成果発表を確認できる資料を合わせて提出してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

① 該当なし

② 該当なし

③ 該当なし

④ 運動生理学研究会 (小の月会) にて発表予定 (2019 年 4 月 採択済)
FENS Regional Meeting 2019 にて発表予定 (2019 年 7 月 申込済)
第 74 回 日本体力医学会大会にて発表予定 (2019 年 9 月 発表予定)