

環境ストレス時(絶食、温熱負荷)の生物時計による 体温調節修飾メカニズムの解析

永島 計¹, 時澤 健², 内田 有希³, 中村真由美⁴, 依田 珠江⁵

(¹人間科学学術院, ²スポーツ科学学術院, ³人間科学研究科(現, 高知大学医学部), ⁴人間科学総合研究センター, ⁵獨協大学)

【研究課題】 恒温動物の体温調節反応は、体温を一定に保つように行われている。ただし、体温は時間毎に変化する概日リズムがあり、人では朝に体温が低く、夕方に高くなるように調節されている。通常、この体温の概日リズムの振幅は小さいが、絶食による代謝の低下時や暑熱/寒冷負荷時には大きくなることを我々は報告している。すなわち、生物時計の影響により体温調節反応が時間によって大きく変わってくることを示唆している。本研究の目的は、この違いを詳細に解析し、その生理学的意義を明らかにすることである。さらに摂食状態が体温調節中枢、生物時計にいかに関与しているのかを神経科学的に解明することを目的にした。さらに、今後の研究の展開のため温熱的順化、運動トレーニング、加齢、肥満等の影響も検討した。

2010年度

【方法】

実験1：野生型およびレプチンを欠損するob/obマウスを、27°Cの環境温で12h-12hの明暗サイクル（午前7時（ZT0）、ZT0とは明期の始まりの時間を示し、以後24時間で示す）点灯、午後7時（ZT12）消灯）で飼育した。体温および活動量の概日リズムが確認された後、20°Cの寒冷暴露を明期（ZT1～4）または暗期（ZT13～16）に行った。

実験2：野生型マウスにおいて、腹腔内にグレリン（8 nmol）をZT1またはZT13に投与し、10°Cの寒冷暴露を明期（ZT2～4）または暗期（ZT14～16）の2時間に行った。対照として、生理食塩水を投与する試行を行った。両実験において、寒冷暴露時の深部体温と活動量をテレメトリー、酸素摂取量を間接的カロリーメトリーにてそれぞれ測定した。また寒冷暴露直後に還流、脳を採取し、神経活動のマーカであるc-Fos蛋白の免疫組織化学染色を行った。

【結果】

実験1：野生型マウスにおいては明期と暗期ともに、寒冷暴露によって深部体温は変化しなかった。その間、酸素摂取量は有意に増加していた。ob/obマウスにおいて、寒冷暴露により深部体温は有意に低下した。明期と暗期の間で有意な差は認められなかった（明期、 $3.8 \pm 0.8^\circ\text{C}$ ；暗期 $2.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ）。寒冷暴露によって酸素摂取量は増加したものの、野生型と比較して有意に低かった。c-Fos蛋白の免疫陽性細胞数は、視床下部のいずれの神経核においても野生型とob/obマウスの間で有意な差は認められなかった。実験2：グレリンを投与した野生型マウスにおいて、明期

の寒冷暴露によって深部体温は生理食塩水投与と比較して有意に低下した。また酸素摂取量は増加したものの、生理食塩水投与と比較して有意に低かった。一方、暗期においては、グレリン投与後の寒冷暴露によって深部体温は低下せず酸素摂取量は有意に増加しており、生理食塩水投与との間に有意な差は認められなかった。c-Fos蛋白の免疫陽性細胞数は、視交叉上核において明期にグレリン投与によって有意に増加した。また弓状核においては、明期と暗期ともにグレリン投与によってc-Fos蛋白の免疫陽性細胞数は増加したものの、暗期の方で増加は大きかった。室傍核において、グレリン投与のみではc-Fos発現は見られなかったが、グレリン投与後、寒冷暴露を行った暗期においては、c-Fos蛋白の免疫陽性細胞数は有意に増加していた。

【結論】 レプチンの欠損は体温調節反応を弱めるが、絶食時に見られる時間特異的な体温調節反応の減弱には関与しないことが示唆された。一方グレリンの増加は、時間特異的に明期にのみ体温調節反応を弱める可能性が示唆され、絶食時に見られる時間特異的な体温調節に関与する可能性が考えられた。

2011年度

【方法】

実験3：運動トレーニングと体温調節、その日内変動

運動トレーニングに着目し、その体温調節への効果を時間軸で検討した。2つの温熱環境（25°C、32°C）にマウス（ICR）を飼育し、さらにケージ内に回転ホイールを与え8週間自発運動をさせたグループとそうでないグループに分けた。この上でマウスを36°Cの暑熱下に2時間おき、その際の体温変動、代謝をテレメトリーおよびカロリーメトリーにて測定した。

実験4：高齢マウスの絶食時体温調節

2011年度におこなった実験をふまえ高齢マウスの絶食時の体温調節を測定した。年齢1年以上の高齢マウスと高脂肪食事を与えて肥満にさせたマウスを2日間絶食させた後、20°Cの中等度寒冷暴露を2時間行い、この際の体温（テレメトリー）、代謝（カロリーメトリー）、また屠殺後、脳を還流固定し、視床下部領域におけるNPYニューロンのcFos発現（摂食に関係する神経の神経活動を間接的に評価する）を測定した。コントロールとして若年正常普通食マウスを用いた。

【結果】

実験3：暑熱暴露のみではマウスの36°Cでの体温上昇は変わらず、暑熱耐性が生じたとは判断されなかった。しかし、回転ホイールを与えた群では25°C飼育、32°C飼育に関わらず暑熱耐性が生じることが明らかになった。またこの違いは非活動期で明らかであった。

実験4：肥満マウスおよび高齢マウスとも、正常若年マウスで見られた絶食の明期特異的な体温低下は認められなかった(図1)。また、絶食によっても代謝の低下は認められなかった。正常若年マウスを絶食させた際に認められた明期の視交叉上核のNPYニューロンのcFos発現の増加は老齢マウス、肥満マウスで変わらなかった。しかし、代謝調節に重要とされる弓状核のNPYニューロンのcFos発現の増加は正常マウスの絶食時には生じたが、高齢、肥満マウスの絶食時には認められなかった。

【結論】運動トレーニングによる体温調節能への影響を調べる実験方法を確立した。一般に体温調節から見た暑熱順化は、継続的な高環境温への暴露が原因と考えられている。しかしながら、本実験においては環境温度ではなく持続的な運動あるいは運動による体温の上昇が暑熱耐性の獲得に重要であることが明らかになった。

高齢マウスは基礎代謝が低下しており、絶食は寒冷時の体温調節能を低下させると予想した。しかし、絶食によっても体温は維持された。また正常マウスを高脂肪食により過食にさせ、次に絶食、寒冷暴露を行っても同様に体温は維持された。すなわち、体温調節の変調(非活動期の寒冷

負荷時の低体温)に加齢の影響はなく、体脂肪量が大きな要因であると考えられる。この機序として i) 白色脂肪が分泌されるレプチンが欠乏し、弓状核が活動すること、ii) 絶食によりグレリンが分泌され視交叉上核での明期の活動が増加すること、が重要であると予想された。

2012年度

【方法】

2010-2012年度の実験は動物の自律性体温調節を評価した研究である。しかし、動物には行動性体温調節と呼ばれる暑熱逃避、寒冷逃避行動が存在し、体温調節において一番である。現在、マウスの非活動期である昼間のみの実験であるが、今後リズムの観点から夜間の実験も行う予定で実験をおこなった。

研究では行動性体温調節の評価システムの開発を行なった。さらに運動トレーニングに着目し、その行動性体温調節への効果を時間軸で検討した。2つの温熱環境(25°C, 32°C)にマウス(ICR)を飼育し、さらにケージ内に回転ホイールを与え8週間自発運動をさせたグループとそうでないグループに分けた。マウスを底面が41°Cの環境におき、さらに一定の行動(実験では実験ボックスの一定の場所に移動)をおこなうと寒冷報酬が得られるオペラント条件づけをおこなうことの出来る装置を開発し、実験をおこなった。

【結果】

マウスのオペラント行動システムを開発した。運動トレーニングはオペラント行動による体温調節を活性化することが明らかになる予備実験データを得ている。

【結論】

現在、実験は進行中である。開発した行動性体温調節の評価システムを用いて、今後は同調節の時間特異性、脳内メカニズムを探索していく予定である。

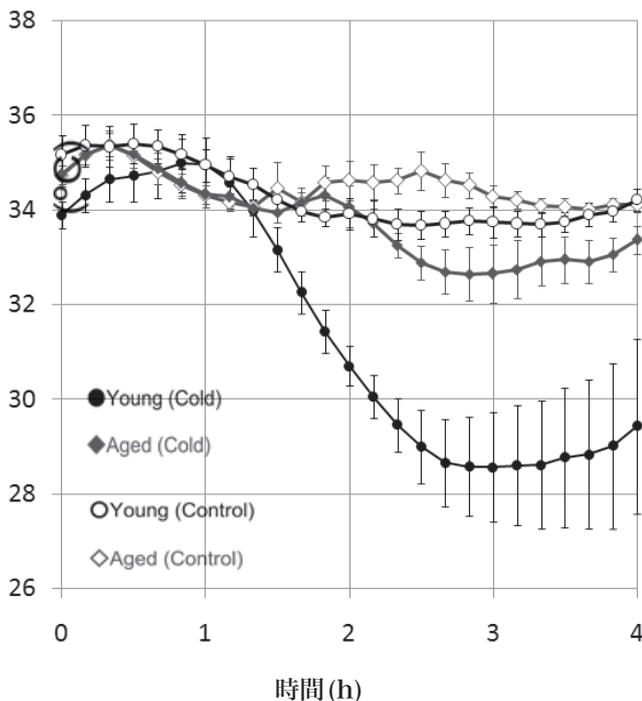


図1 絶食20°C寒冷暴露時の深部体温 (時間1は午前8時を表す)