

立教大学コミュニティ福祉研究所学術研究推進資金
大学院生研究 2021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
指導教員	所属・職名	氏名	
	コミュニティ福祉学研究科・教授	石渡 貴之	
研究課題名	体調不良が暑熱環境下での生理指標、情動行動、脳内神経伝達物質へ及ぼす影響		
研究代表者	在籍研究科・専攻・学年	氏名	
	コミュニティ福祉学研究科・博士前期課程・1年	永野 天空	
研究期間	2021年度		
研究経費	100千円		

研究の概要 (200～300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

本研究はラットを用いた動物実験により、「暑熱暴露が脳内神経伝達物質や情動行動に及ぼす影響」を主たるテーマとし、環境ストレスについて神経科学的な観点から研究を行った。「暑熱暴露」の期間が脳内神経伝達物質にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすべく、暑熱暴露無し群・3時間暑熱暴露群・14日暑熱暴露群・28日暑熱暴露群を設定し、群間比較を行った。また、行動実験としてオープンフィールドテストを行い、暑熱環境が不安を誘発するかについての検証も行った。

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。)

[脳内神経伝達物質] [暑熱環境] [不安様行動]

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

本研究の目的は、乱れた明暗周期によって引き起こされた生理的不調が暑熱暴露時の生理指標、情動行動、脳内神経伝達物質に及ぼす影響を明らかにすることであった。当初は体調不良モデル(明暗周期; 6h:6h)を用いての実験を計画していたが、実験手法の取得とデータ分析の検証に時間が掛かってしまい、そこまでは至らず、健常群(明暗周期; 12h:12h)の「暑熱環境下での脳内神経伝達物質および情動行動の影響」までしか研究することが叶わなかった。

しかし、これらの実験においても有意義な結果を得ることができたので、以下に記す。

研究方法

実験には6週齢のWistar系雄ラットを24匹使用した。24匹のラットをそれぞれ「暑熱暴露なし群(C群)・3時間暑熱暴露群(3h群)・14日間暑熱暴露群(14d群)・28日間暑熱暴露群(28d群)」に分け飼育した。C群は環境温23°C、暑熱暴露群は環境温32°Cで飼育し、水・餌の摂取は自由とした。

飼育フェーズ終了後、行動テストとして「オープンフィールドテスト(OFT)」(実験1)を実施し、行動テスト終了後、脳内神経伝達物質の測定(実験2)を行った。

実験1: オープンフィールドテスト(OFT)

OFTはラットを新奇な環境である白い箱の中に放ち、その際の行動から不安様行動を調べるテストである。箱は縦横75cm×高さ50cmで、底を黒いペンで4×4マスに分けている。測定項目は、中央2×2マスでの活動(時間と回数)、総区画移動数、立ち上がり、毛づくろいなどを観察し、10分間の測定を行った。

実験2: 脳内神経伝達物質の測定

それぞれの群のラットを行動テスト終了後に安楽死させ、素早く脳を摘出した。全てのラットの脳摘出は明期の間に行った。脳取り出しから脳内神経伝達物質(ノルアドレナリン: NA、ドーパミン: DA、セロトニン: 5-HT)の分析までの手順は次に記した。

摘出した脳をリンゲル液内(リンゲル液1Lあたり NaCl: 8.6g, KCl: 0.30g, CaCl₂: 0.33g)でマイクロスライサー(PR07, 堂阪イーアム)にて厚さ300μmの切片を作成し、脳地図(Paxinos & Watson, 1986)と照らし合わせながら、特定の脳部位をマイクロパンチ(BP-10F, Kai medical)で直径1mmの大きさで取り出した。取り出した試料はマイクロチューブ内でホモジナイザーにて磨り潰し、0.2M 過塩素酸(PCA)160μlにて除タンパクを行い、除タンパクを完全にするために冷蔵庫で30分以上冷却した。冷却した試料は遠心分離(CF15RX II, Hitachi Koki)(18,800G×15分, 0°C)にかけ、上澄みを採取して0.45μmのフィルター(Millipore, Bedford, MA)で濾過する。最後に1M酢酸ナトリウム40μlでpH調整を行った。

上記の試料は高速液体クロマトグラフィー(HPLC: High Performance Liquid Chromatography, ECD-700 system, エイコム)にて分析を行った。試料内のNA、DA、5-HTを分離する役割を果たすカラムはEICOMPAK SC-50DS(3.0mm id×150mm, エイコム)を用いた。分析時に用いる緩衝液(バッファー)は、メタノールの濃度を17%とした。

脳の分析部位は、NAを合成する青斑核、DAを合成する黒質と腹側被蓋野、5-HTを合成する背側縫線核と正中縫線核の細胞体5部位と、認知機能に関与する鼻周囲皮質(PRh)、生体リズムを司る視交叉上核(SCN)、ストレス反応を司る室傍核(PVN)、情動を司る扁桃核(Amy)といった投射先4部位で、計9部位であった。

本実験は既に立教大学ライフサイエンスに係る研究・実験の倫理及び安全委員会の承認を受けている「暑熱環境下での体調管理に関する神経生理学のアプローチ」(承認番号: LS20027A)の一部として行った。

結果: OFT

区画移動数、中央侵入回数、中央行動回数、中央滞在時間、立ち上がり時間、毛づくろい時間を計測し、群間で比較したところ、どの結果においても有意差は認められなかった。有意差が認められなかった要因として、暑熱環境から逃れようとした際の「逃避行動」が「データのばらつき」へとつながり、その原因と考えられた。結論として、暑熱環境および、暑熱順化は不安様行動には影響を及ぼさないという結果となった。

研究成果の概要 つづき

結果：脳内神経伝達物質

脳内神経伝達物質において、有意差が確認されたのは、PRh、Amy、PVN の 3 部位であった。それぞれの部位の結果の詳細を以下に記す。

PRh :

NA が 3h 群において有意に増加した。また、14d 群での有意な低下、28d 群での回復傾向が確認された。DA も同様に 3h 群での増加、14d 群での低下が認められた。DA では有意差はなかったものの NA と同様に 28 日 d 群で回復傾向がみられた。5-HT では 14d 群に有意な低下がみられた。これも NA、DA と同様の変化を見せた。

Amy :

NA は 3h 群と 28d 群を比較すると、3h 群で増加が観察され、28d 群で有意に低下した。3h 群から 14d 群、28d 群にかけて徐々に低下していく傾向が観察された。DA は 3h 群で増加し、14d 群で大きく低下した。有意差はないものの、28d 群では上昇がみられた。5-HT は有意差は認められなかったが、NA と同じ傾向が観察された。

PVN :

NA は 3h 群で有意な増加、14d 群での低下が見られた。また、14d 群と比較して 28d 群では増加がみられた。DA、5-HT も NA と同様の結果であった。加えて、NA より強い相関関係が観察された。

考察

学習や記憶には脳内神経伝達物質が強く関わっていることは、先行研究によって明らかとなっている。PRh は記憶や学習を司る部位であり、そこで脳内神経伝達物質に有意差が見られたということは、暑熱環境は学習や記憶に影響する可能性が示唆された。学習や記憶は海馬も強く関わっているが、こちらは我々の研究室の先行研究 (Nakagawa et al., 2016) によって既に明らかとなっているため、今回の結果と照らし合わせ、暑熱環境と学習・記憶に影響を与えていることを強く提言することができる。

情動の面では、Amy 脳内神経伝達物質に有意差が見られたことから、暑熱環境が不安などに影響していると考えられる。Amy の 5-HT は不安や恐怖を大きく左右することは明らかとなっており、今回 14d 群において大きな乱れが確認されたが、これは暑熱による不安を表している可能性がある。しかし、OFT では有意差が見られなかったことから、断言することはできない。他の行動テストを行い検証する必要がある。

PVN での脳内神経伝達物質の大きな変化はストレスによる影響を表していると考えられ、3h 群では強いストレスを感じていることがわかる。また、C 群と比較すると 14d 群は低下しているが、この脳内神経伝達物質の低下も、一種のストレスが関与していると考えられるため、今後のさらなる検証が必要となる。

全体的に脳内神経伝達物質は 14d 群から 28d 群にかけ、回復傾向が確認された。つまり、28d 群の方がより C 群に近いものとなっている。暑熱順化は 7 日~14 日間かけて行うべきと言われているが、中枢での暑熱順化にはさらなる時間が必要であることが示唆された。

参考文献

Nakagawa et al., Changes of brain monoamine levels and physiological indexes during heat acclimation in rats. *Journal of Thermal Biology*, 58, 15-22, 2016.

Nakagawa et al., Effect of heat acclimation on anxiety-like behavior of rats in an open field. *Journal of Thermal Biology*, 87, 102458, 2020.

研究発表 (研究によって得られた研究経過・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。)

- 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 特になし

② 特になし

③ 特になし

④ 特になし

研究発表等は特になかったが、本実験をまとめた上、国際論文投稿を予定している。また、日本体力医学会や国際学会での発表も検討中である。