

自律神経機能異常を伴い慢性的な疲労を訴える患者に対する  
客観的な疲労診断法の確立と慢性疲労診断指針の作成

## ラットにおけるストレス反応のテレメトリー計測

分担研究者 局 博一（東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻）

### 研究要旨

急性のストレス負荷によって自律神経機能をはじめとする全身の生理学的変化がもたらされることが知られているが、そのような生体反応は時々刻々と変化するため、正確なストレス反応を把握するためには、リアルタイムに観察することが必要である。本研究では、正常ラット（n=9）に2時間の水浸刺激（底面から2cmの深度、水温22℃）を与えた際の心拍数、心拍変動、体温（頸部皮下温）および活動量に及ぼす影響をテレメトリー法によって観察した。水浸刺激は、連続3日間にわたって明暗周期の明期開始時点の5時間後から2時間行った。その結果、水浸刺激負荷時の心拍数は水浸刺激負荷前日およびシャム負荷（水浸なしの条件）の同じ時間帯における心拍数に比べて明瞭に高い値を示した。また体温は、水浸刺激負荷時に上昇傾向を示し、2日目および3日目では明瞭であった。一方、活動量には明瞭な差異が観察されなかった。心拍変動解析では、自律神経機能のバランス状態を示すLFパワー/HFパワーの比率は、水浸刺激負荷時に上昇傾向を示した。本研究で行われた水浸刺激に対する生体反応は急性のストレス反応として捉えることができた。ラットのストレス反応を心電図、体温、活動量を同時記録するテレメトリー法によって追跡することが可能であり、慢性疲労モデル動物への応用の可能性が示唆された。

### A. 研究目的

慢性疲労研究では、生体のストレス反応を様々な指標を用いて明らかにすることが求められている。それらのうち心拍変動解析は自律神経機能を比較的簡便に測定する上で有用性が高い方法として注目されている。実験動物においても生体内部情報をテレメトリーシステムによって計測し、データを自動的に取得できる方法が以前から開発されており、医薬品や食品の安全性試験や効果判定などに広く用いられている。本研究では、心電図、体温、活動量を同時記録することが可能なテレメトリー送信機を用いて、ラットにおける短時間のストレス負荷に対する反応性を調べることを目的とした。

### B. 研究方法

#### 1) 供試動物、心電図記録法

成熟雄ラット（Slc: Wistar; 8週齢; 9匹）（SPF）をペントバルビタール（ネンブタール）の30-40mg/kgの腹腔内投与による全身麻酔下を施した上で、心電図・体温・活動量計測用テレメトリー送信機本体（weight=3.9g, volume=1.9cc; TA10ETA-F20, Data Science, St. Paul, MN）をラットの頸背部皮下に外科的に埋入した。本体に接続された記録電極（リード線の先端）は+側を左後肢大腿部の皮下に、マイナス側を右肩甲部の皮下に設置し、標準肢Ⅱ誘導の心電図が記録できるようにした。

ラットは1匹ずつ個別のポリカーボネートケージに收容し、照明および温度の制御が可能なインキュベーションチャンバー内（容積m<sup>3</sup>）で、6匹（6ケ-

ジ)を同時に飼育した。チャンバー内の照明条件は、L(明期)=8:00-12:00、D(暗期)=20:00-8:00の12時間周期とし、温度条件は24℃とした。飼育期間中は自由飲水、自由摂餌とした。

## 2) ストレス負荷条件および観察プロトコル

供試ラットをテレメーター送信機の埋入手術後1週間以上の回復期間を経たのちに、水浸ストレスの負荷実験に供した。

水浸刺激は、供試ラットのホームケージと同じ条件のポリカーボネート製容器に水深が底面から2 cmになるように摂氏22度の水を張り、容器内にラット(1匹)を静かに収容した。水浸刺激は明期の開始から5時間後の13:00から開始し、15:00までの2時間とした。この水浸刺激を3日間にわたって同じ時刻に行った。また、4日目には、上記の容器内に水を入れずに他の条件は等しくした条件下でラットを収容した(シャム)。

## 3) データ取得、解析方法

テレメーター送信機からの心電図信号は受信ボードに無線で伝送され、受信ボードからA-Dコンバーターを介して、PCに内蔵のソフトウェア(ECG processor analyzing system、SRV2W、Softron SBP2000)を用い解析した。心電図のサンプリングレートは1msecとした。

## C. 研究結果

### 1) 心拍数、体温、活動量

心拍数、体温、活動量の経時的変化の1例を図1に示す。いずれも明瞭な日周リズムを示した。すなわち、心拍数、体温、活動量は暗期に高く、明期に低い変化を示した(図1)。心拍数および体温は水浸刺激の期間中は、刺激前の対照およびプラセボに比べて明らかに高い値を示した(図2)。

### 2) 自律神経機能(心拍変動解析)

交感神経と副交感神経の両方の活動を反映するLFパワーは、第1回目(Water 1)~3回目(Water 3)の水浸刺激で明瞭な変化が認められなかった。副交感神経の活動を反映するHFパワーは、水浸刺激時に低下する傾向が示された。自律神経バランスの指標であるLFパワー/HFパワー(LF/HF比)は、第1回目(Water 1)~第3回目(Water 3)の水浸刺激において増大す

る傾向が示された。(図3)。

## D. 考察

本研究において、ラットへの短時間の水浸刺激によって引き起こされる生理的反応をテレメトリー法によって観察することが可能であることが示された。水浸刺激によって同時に生じた心拍数の増加は交感神経の活動の上昇あるいは副交感神経の活動低下が考えられる。自律神経バランスを反映する指標であるLF/HF比が水浸刺激中に増大する傾向があることから、水浸刺激は自律神経バランスを相対的に交感神経側に強める効果があるものと考えられる。ヒトの慢性疲労患者では、心拍変動解析によって交感神経の緊張性が健常者に比べて上昇することが知られている。

水浸刺激中には体温の上昇が認められた。この反応は交感神経活動の増大による、いわゆるストレス性体温上昇と推測される。すなわち、交感神経活動が活発になることで筋肉、褐色脂肪組織、肝臓や心臓などの臓器の代謝が亢進し、体温上昇を招いたものと思われる。

## E. 結論

本研究で行われた水浸刺激に対する生体反応は急性のストレス反応として捉えることができた。ラットのストレス反応を心電図、体温、活動量を同時記録するテレメトリー法によって追跡することが可能であり、慢性疲労モデル動物への応用の可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究業績

【論文発表】

## H. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許所得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

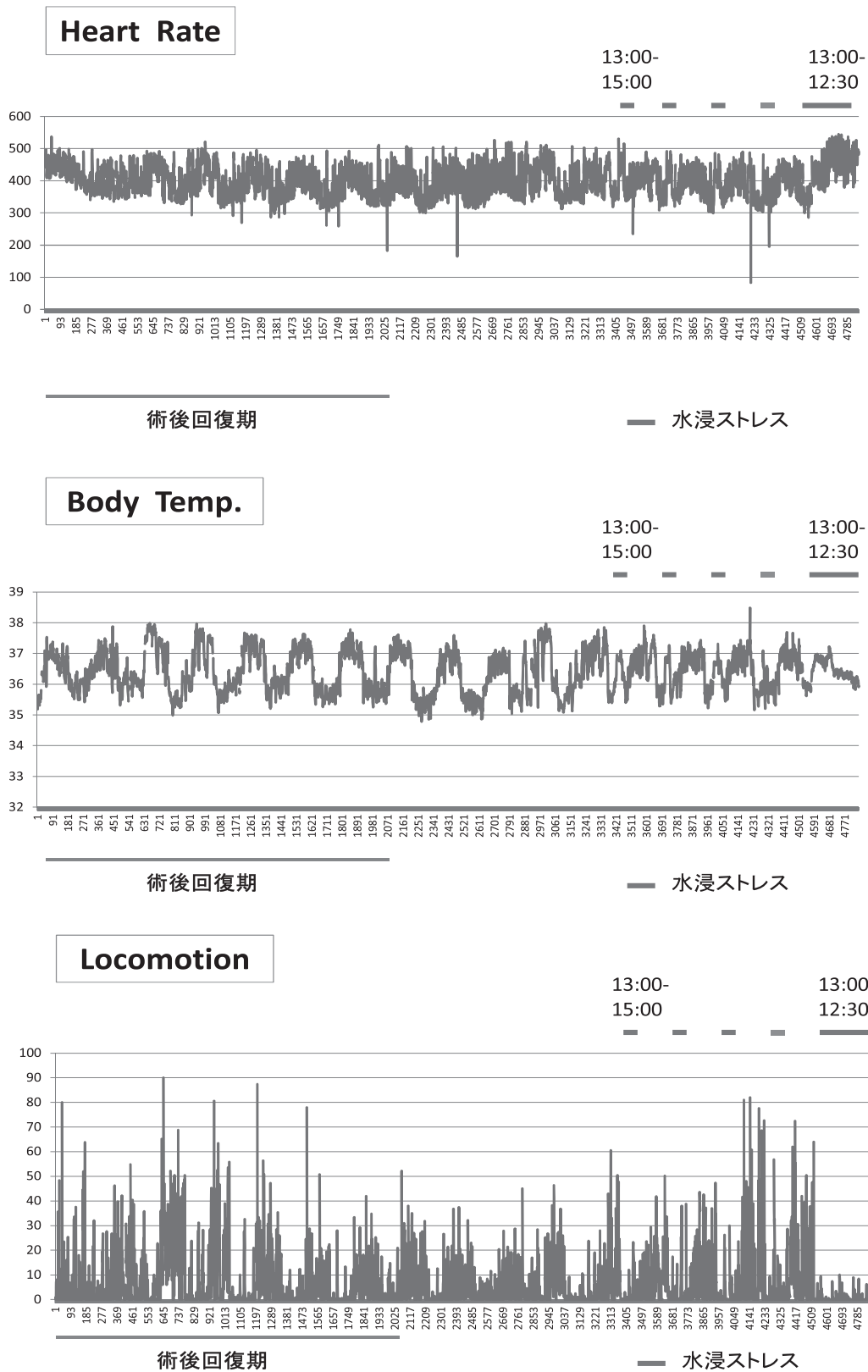
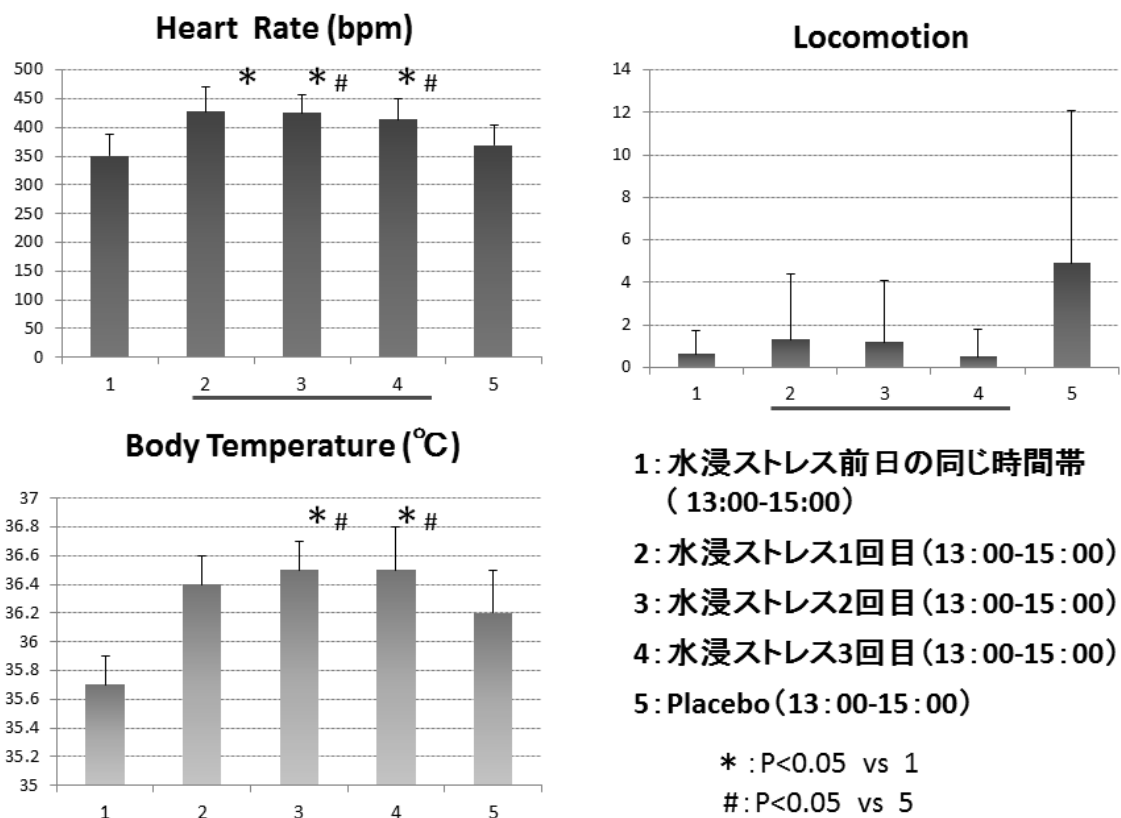
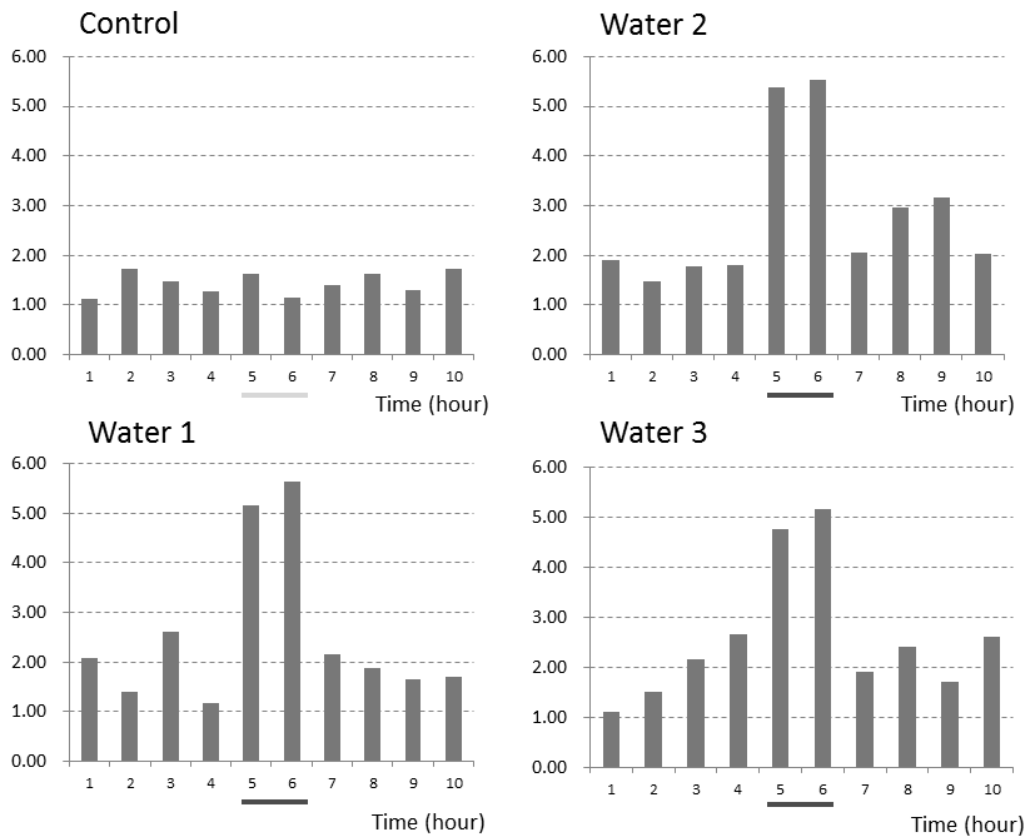


図1. テレメーター送信機の埋め込み手術後の回復期および水浸刺激の期間における心拍数（上）、体温（中）および活動量（下）の記録例（1匹のラット）



Body temperature was measured at subcutaneous region in the dorsal thorax.

図2. 水浸刺激による心拍数 (heart rate)、体温 (body temperature) および活動量 (locomotion) の変化



### LF/HF Ratio

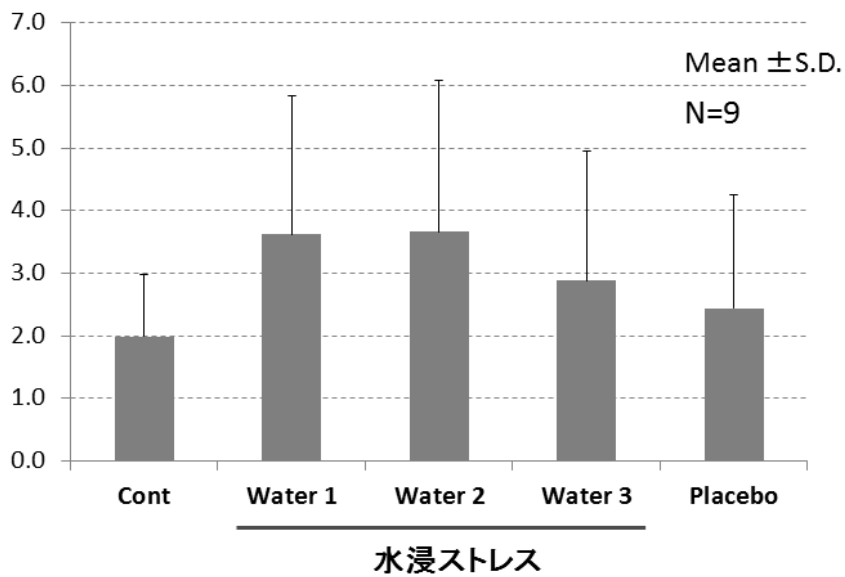


図3. 水浸刺激によるLF/HF比の変化

1個体の水浸刺激前後の変化（上図）および全個体の水浸刺激時の平均（下図）。