

ストレス刺激呈示時のマウスの核心温と体表面温度の変化^注

広島国際大学心理学部心理学科 菱村豊

要旨：マウスに恐怖条件づけをおこない、その際の被験体の核心温と体表面温度の変化を同時に測定した。Shock 群では条件づけ日に光と電撃の対呈示をおこない、テスト日に光だけを呈示した。Control 群では条件づけ日、テスト日ともに光だけを呈示した。その結果、テスト日に関しては、Control 群よりも Shock 群で核心温、体表面温度ともに上昇した。しかし条件づけ日に関しては、核心温に群間の違いがなく、体表面温度では Control 群の方が体温が高いという結果が得られた。これらの結果から、動物のストレス指標として核心温だけではなく、非侵襲的な体表面温度も利用できる可能性が示された。またストレスの種類や強度によってマウスの生理学的な反応が異なる可能性も示唆された。

1. 問題

飼育環境から別のケージへの移動といった心理的ストレスを与えた場合 (Borsini, Lecci, Volterra & Meli, 1989) や、電撃呈示のような物理的ストレスを与えた場合 (van der Heyden, Zethof & Olivier, 1997)、マウスの核心温 (身体内部の温度) が上昇することが報告されている。このような体温上昇は、ストレス誘発性高体温 (stress-induced hyperthermia : 以下 SIH) と呼ばれる。SIH は様々な動物種や実験環境で研究がおこなわれ (概説として, Bouwknecht, Olivier & Paylor, 2007; Oka, Oka & Hori, 2001)、一貫した結果が得られていることから、動物のストレス状態を計測する生理学的指標として有効な手段と考えられる。

しかし、SIH の幅広い応用には一つ問題点がある。それは、SIH の計測には被験体動物にとって侵襲的な方法が用いられる点である。動物の核心温測定では、一般に被験体の直腸へ温度計を挿入するか、外科的手術によってテレメータシステムを腹腔内に埋め込むという方法が取られている。このような侵襲的な体温測定法自体が、動物にとってはストレスとなることも指摘されている (van der Heyden et al., 1997)。

そのため、本研究者は放射温度計を用いることで、非侵襲的に体温測定ができる体表面温度の変化が、マウスのストレス指標として利用できないかという問題について検討してきた (菱村, 2007; 菱村・伊藤, 2009)。その結果、電撃を受けた他個体の匂い呈示や優位な他個体との同居というストレス刺激によって、マウスの体表面温度が上昇することが明らかになった。すなわち、被験体への心理的ストレスの呈示によって、核心温同様、マウスの全身の体表面温度の平均値は上昇することが示された。

ただし、これらの研究では核心温の測定が行われていなかったため、体表面温度と核心温との時間的対応関係についてはわかっていない。そこで本研究では、恐怖条件づけで用いられる光と電撃の対呈示という単純な物理的ストレスを与えた場合のマウスの体温変化を、放射温度計による

体表面温度の測定と、テレメータシステムによる核心温の測定を同時に利用することで、両者の時間的対応関係について検討した。

2. 方法

2.1 被験体

日本チャールズリバー社から購入し、広島国際大学の動物飼育室で飼育した約 8-11 ヶ月齢の C57BL/6NCrj マウスのオス 10 匹とメス 9 匹を使用した。全ての個体は餌と水が自由に摂取できる状態で 3 か月以上個別に飼育され、他の実験には使用されていなかった。全ての実験は、広島国際大学動物実験に関する規定に沿って実施された（承認番号 AE09-012）。

2.2 手続き

実験はすべて明期(L:D = 12:12)である 11 時から 16 時までの間におこなった。実験開始 2 週間前に被験体の腹腔内にマウス核心温測定用トランスミッター(Mini-Mitter, G2 E-Mitter)を挿入した。麻酔には 10 倍に希釈したソムノペンチル（ペントバルビタール換算で 50 mg/kg）を用いた。術中には中途覚醒がおこなならないように、適宜ジエチルエーテル吸入による補助麻酔をおこなった。

手術後 2 週目に実験装置への馴致訓練を 2 日間おこなった。被験体をアクリル筒（直径 8 cm×高さ 34 cm）に 30 分間入れた。筒の床はアルミ製のグリッド状になっていた。このアクリル筒は実験の度に水洗いをした。

2 日間の馴致訓練翌日に、条件づけ日（実験 3 日目）を 30 分間実施し、この間の被験体の体温測定と行動観察をおこなった。被験体をアクリル筒に入れて 10 分後に、Shock 群（オス 5 匹，メス 5 匹）には電球光（20 s）とショッカー（室町機械，SGS-003）による電撃（1 mA，1 s）の対呈示を 30 秒間隔で 3 回おこなった。Control 群（オス 5 匹，メス 4 匹）には光のみを 30 秒間隔で 3 回呈示した。体表面温度の測定には放射温度計（HORIBA，IT-550L）を，核心温の測定にはテレメータシステム（Mini-Mitter，VitalView）を用いた。核心温，体表面温度ともに 1 秒間隔で計測した。また行動観察では，アクリル筒の斜め上方に設置した Web カメラで録画をおこない，後に行動を記録した。これらの機器の制御には，時間を同期させたパーソナルコンピュータ 3 台を用いた（Figure 1 参照）。

条件づけセッション翌日にテスト日（実験 4 日目）をおこなった。Shock 群，Control 群とも，アクリル筒に入れてから 10 分後に光のみを 30 秒間隔で 3 回呈示した。条件づけ日と同様に 30 分間，核心温と体表面温度を測定し，行動を録画した。

2.3 データ処理

核心温，体表面温度ともに，1 秒間隔で計測し，1 分間隔で平均化した。条件づけ日，テスト日ともに実験開始最初の 1 分間を基準値として，その後の変化の割合（差）を算出した。一方，行動データに関しては，装置の構造上，被験体の行動の種類は限られていた。立ち上がり（rearing），

飛び上がり (jumping) については生起頻度を、逆立ち (handstand) については、生起時間 (秒) を 30 分間連続記録した。結果は 5 分間隔の 6 ブロックにまとめた。統計処理には SPSS 19 (IBM) を用いて、群 (Shock 群, Control 群) を被験体間要因, 時間 (分またはブロック) を被験者内要因とする 2 要因の分散分析をおこなった。交互作用が有意だった場合で, Mauchly の球面性検定が有意だった場合は, Huynh-Feldt の方法を用いて自由度を調整した。

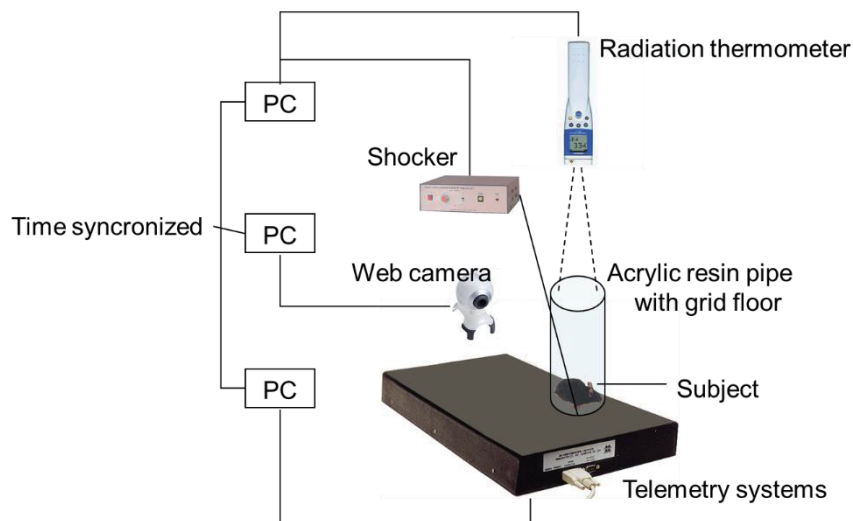


Figure 1. Schematic diagram of experimental equipment.

3. 結果

3.1 条件づけ日

条件づけ (conditioning) 日の核心温 (core temperature) の変化について, Figure 2A に示した。Shock 群と Control 群との間に核心温に違いは見られなかった。統計処理の結果, 群の効果 ($F(1, 17) = 0.11$), 交互作用 ($F(29, 493) = 1.16$) とともに有意ではなかった。体表面温度 (skin temperature) の変化については, Figure 2B に示した。Control 群の方が Shock 群よりも一貫して温度が高い。統計処理の結果, 群の効果 ($F(1, 17) = 5.96, p = .03, \text{partial } \eta^2 = .26$) と交互作用 ($F(29, 493) = 3.69, p < .001, \text{partial } \eta^2 = .18$) が有意であった。さらに, 単純主効果の検定をおこなった結果, 測定開始から 10 分以降, Control 群の方が Shock 群より温度上昇の程度が大きかった (5 %水準)。これらの結果から, 電撃を受けていない Control 群の方が体温が高いということが, 体表面温度のみで示された。核心温, 体表面温度ともに, ストレスの大きい個体ほど上昇するというこれまでの先行研究の報告とは異なる結果となった。

行動データについては, 立ち上がり (rearing) と飛び上がり (jumping) の平均生起頻度を, それぞれ Figure 3A, 3B に示した。また, 逆立ち (handstand) の平均生起時間 (秒) を Figure 3C に示し

た。電撃が呈示されたブロック 3 で Shock 群の飛び上がりが起きたが、それ以外については群間で明確な違いなかった。統計処理でもそれは確かめられた。立ち上がりについては、群の効果 ($F(1, 17) = 0.05$), 交互作用 ($F(5, 85) = 0.31$) ともなく、逆立ちについても群の効果 ($F(1, 17) = 1.32$), 交互作用 ($F(1.54, 26.26) = 0.56$) とも見られなかった。一方、飛び上がりについては、群と時間の交互作用 ($F(5, 85) = 201.32, p < .001, \text{partial } \eta^2 = .92$) が有意であった。飛び上がりが多かったのは、体温が相対的に低かった Shock 群の方であり、活動量の増加による体温上昇の影響は小さかったと考えられる。

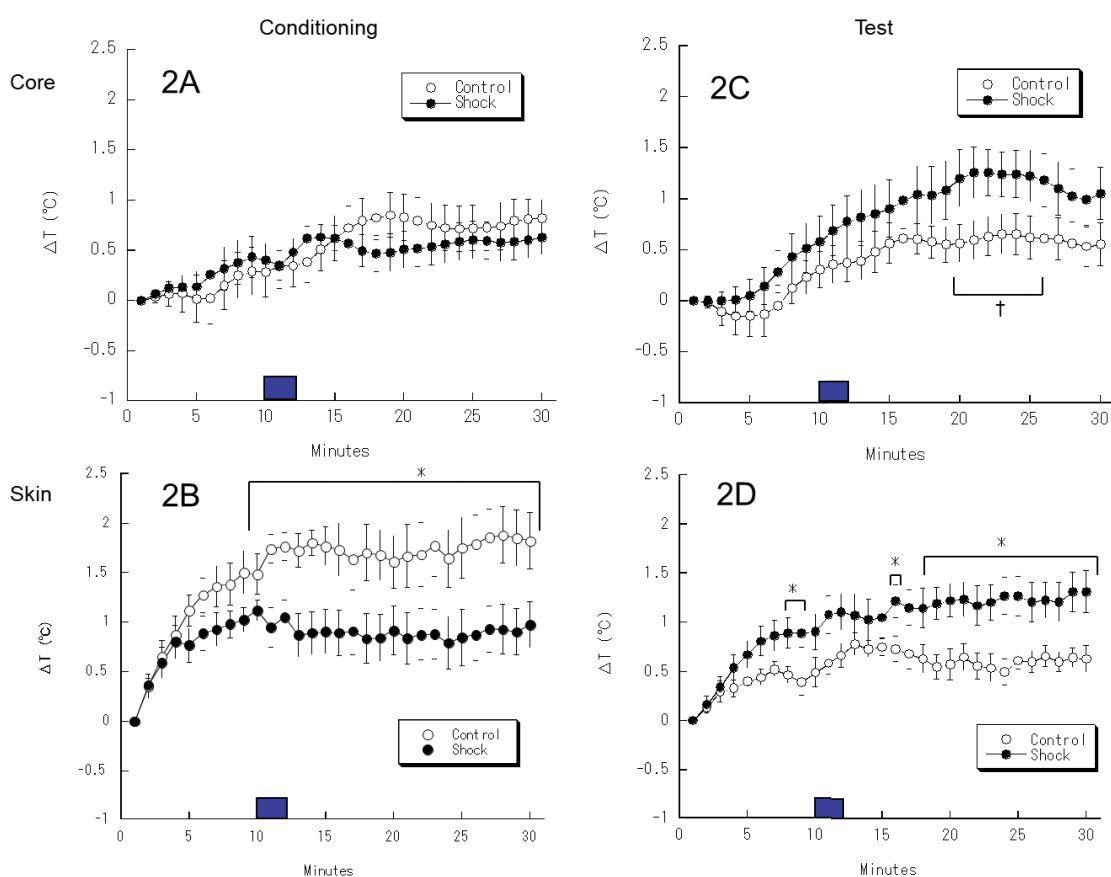


Figure 2. The deviation in core and skin temperature (\pm SEM) during conditioning and test. Rectangles are time intervals presenting lights/lights and shocks. * = $p < .05$; † = $p < .1$.

3.2 テスト日

テスト(test)日の核心温について、Figure 2C に示した。条件づけ日とは逆に Shock 群の方が温度が高く見えるが、統計処理で群の効果は有意ではなく ($F(1, 17) = 1.98$), 交互作用が有意

($F(29, 493) = 1.72, p = .012, \text{partial } \eta^2 = .09$)であった。さらに、単純主効果の検定をおこなった結果、実験開始から20分～25分の間のみ Shock 群の温度が Control 群の温度よりも高い傾向にあった(10%水準)。体表面温度については、Figure 2D に示した。核心温の場合と同様に、Shock 群の方が Control 群よりも温度が高かった。統計処理の結果、群の効果($F(1, 17) = 6.21, p = .02, \text{partial } \eta^2 = .27$)と交互作用($F(29, 493) = 2.53, p < .001, \text{partial } \eta^2 = .13$)が有意であった。さらに、単純主効果の検定をおこなった結果、実験開始から8-9分、16分、19-30分で、Shock 群の方が Control 群より温度が有意に高かった(5 %水準)。

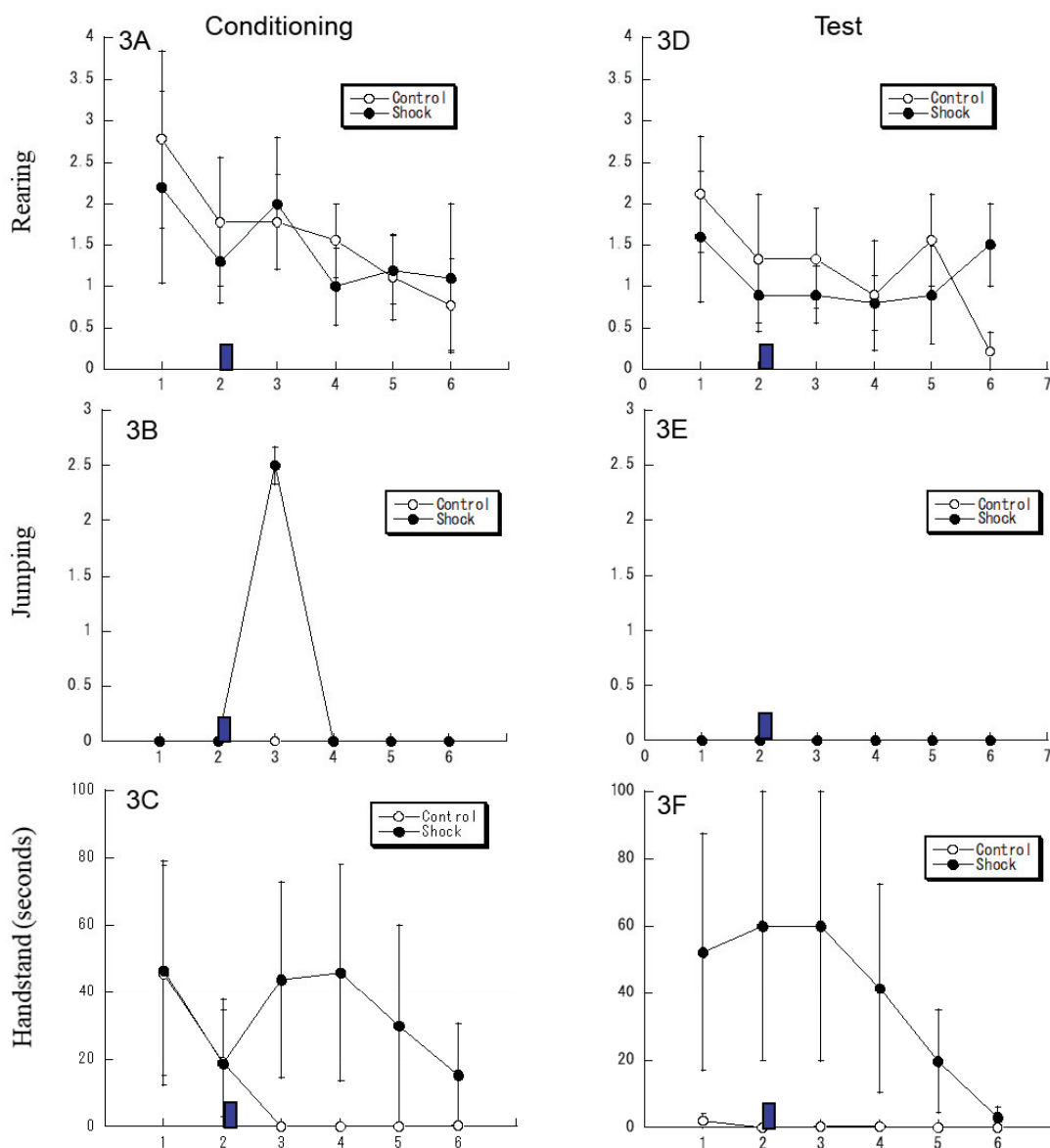


Figure 3. Behavioral changes (\pm SEM) during conditioning and test. Rectangles are time intervals presenting lights/lights and shocks.

行動データである立ち上がり、飛び上がりの生起頻度と、逆立ちの生起時間の変化を、それぞれ Figure 3D, 3E, 3F に示した。飛び上がりは両群ともに観察されず、立ち上がりと逆立ちについては群間に違いは見られなかった（立ち上がり：群の効果 $F(1, 17) = 0.08$, 交互作用 $F(3.58, 60.90) = 1.12$, 逆立ち：群の効果 $F(1, 17) = 2.11$, 交互作用 $F(1.53, 25.97) = 1.35$ ）。テスト日についても、行動量の違いが体温上昇の違いに影響した可能性は低いと考えられる。

4. 考察

本研究の目的は、動物のストレス指標として用いられてきた SIH（ストレス誘発性高体温）について、従来からの核心温の測定と同時に、新たに体表面温度の測定もおこない、非侵襲的な体表面温度利用の有効性を明確にするとともに、核心温と体表面温度の時間的対応関係について検討することであった。その結果、実際の電撃は呈示されないテスト日については、実験環境で前日に電撃を経験した Shock 群の方が、電撃を経験していない Control 群に比べて、体温上昇の程度が核心温、体表面温度ともに高い傾向にあった。この結果は先行研究の結果とも整合性があり、かつ体表面温度の変化は核心温の変化と同様に、SIH の指標となりえることを示している。ただし、核心温と体表面温度の変化の時間的な前後関係は明確ではない。両群の体温の違いが明確になったのは、むしろ体表面温度の方が早く、ストレス負荷によって核心温の上昇が起こり、その反映として放熱器としての皮膚の温度（体表面温度）の上昇が起きているとは考えにくい。ストレス負荷による核心温と体表面温度の変化は、それぞれ別のメカニズムで制御されている可能性も考えられる。

一方、Shock 群に電撃が呈示された条件づけ日については、先行研究の結果と食い違うものとなった。すなわち、電撃を直接経験した Shock 群の方が、電撃を経験していない Control 群に比べて、体表面温度は低くなり、核心温では違いが見られなかった。電撃を受けた Shock 群よりも、電撃を受けない Control 群の方がストレス負荷が小さいと考えられるが、Control 群の方が体表面温度が高くなった理由は明確ではない。一つの可能性としては、ストレスの種類や程度によって、マウスの反応様式が違う可能性がある。今回用いた電撃の強度は、動物への負荷を減らすため 1 mA のものを使用した。2 mA の電撃でないとマウスの SIH が起こらなかったという報告もある (van der Heyden et al., 1997)。そのため急激な体温上昇を引き起こさない弱い物理的ストレッサーは、体温を一時的に下げるといった可能性なども考えられる。これらの仮説を検証するためには、さらなる研究が必要である。

注：本研究の一部は、2009 年日本動物心理学会第 69 回大会で発表した。実験で使用したテレメータシステムは、名古屋大学石井澄教授・辻敬一郎元教授（いずれも当時）から提供を受けた。

引用文献

- Borsini, F., Lecci, A., Volterra, G., Meli, A. (1989). A model to measure anticipatory anxiety in mice?
Psychopharmacology, 98, 207-211.
- Bouwknicht, J. A., Olivier, B., & Paylor, R. E. (2007). The stress-induced hyperthermia paradigm as a physiological animal model for anxiety: A review of pharmacological and genetic studies in the mouse.
Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 31, 41-59.
- van der Heyden, J. A. M., Zethof, T. J. J., & Olivier, B. (1997). Stress-induced hyperthermia in singly housed mice.
Physiology & Behavior, 62, 463-470.
- 菱村 豊 (2007). マウスの社会的匂いに対する皮膚温変化 *Aroma Research*, 31, 278-281.
- 菱村 豊・伊藤 華那 (2009). マウスの社会的接触場面における体表面温度の変化 *心理学研究*, 80, 152-158.
- Oka, T., Oka, K., & Hori, T. (2001). Mechanisms and mediators of psychological stress-induced rise in core temperature. *Psychosomatic Medicine*, 63, 476-486.