

胎生期ストレス暴露が出生仔の運動機能に与える影響

Effects of fetal stress on motor function of neonates in rat

栗脇 淳一¹・西村 知美²

キーワード：胎生期ストレス、運動機能、協調運動

緒 言

近年、胎生期のストレス暴露が出生後の記憶・学習機能や精神機能、情動機能へ影響を与えることが報告されている。例えば、軽度な胎生期ストレス暴露が学習・記憶行動を促進すること¹⁾、胎生期および幼若期にストレスを暴露されることにより脳の神経細胞の形態変化を引き起こすこと²⁾、胎生期ストレスにより不安に対する情動反応が低下すること³⁾などが明らかとなっている。

運動機能に関しても、胎生期ストレス暴露により自発運動量に影響を及ぼすことが報告されている⁴⁾、⁵⁾。しかしながら、胎生期ストレス暴露が出生直後の運動機能に与える影響について経時的に調べた研究は少ない。

そこで、本研究では、脳の形成にとって重要な時期であり、ライフサイクルにおいて最も脆弱な時期である胎生期にストレスを暴露された仔について離乳前の新生仔期の運動機能発達に与える影響について調べた。

方 法

1. 動物

実験には10週齢のメスラット（Wister）4匹を用いた。動物は個別のケージで飼育し、室温24℃、湿度60%、明期8時～20時・暗期20時～8時の条件で飼育

し、飼育期間中の飼料および水は、自由摂取とした。また、飼育および実験は美作大学・美作大学短期大学部動物実験に関する指針に基づいて行った。

(1) 妊娠ラット

10週齢メスラット4匹にスメア検査を行い、性周期を把握し発情前期に同種同週齢のオスラットと同一ケージで1昼夜飼育した。翌日、実際に交配が行われたかどうかは、スメアプラグにより確認した。また、交配を確認した日を妊娠0日（Gestation Day 0; G.D. 0）として、仔の離乳まで個別に飼育した。

交配後、Day10～19の10日間ストレス暴露群の妊娠ラット（n=2）には、塩化ビニール管（直径50mm、長さ200mm）内に60分間/日入れ、拘束ストレスを与えた。

(2) 仔ラット

出生後、仔ラットは離乳までの3週間、母ラットと同一のケージで飼育した。また、出生した日を生後1日（Postnatal Day 1; P.D.1）とした。P.D.4～13の10日間、体重計測後、運動機能を調べるために傾斜板テストを行った。

(3) 傾斜板テスト

傾斜板テストには図1のような実験装置を用いた。仔ラットを、25度に傾斜した板上に頭部が下になるように置き、180度旋回するのに要する時間を測定することで、出生直後の四肢の協調運動能力を経時的に評

¹美作大学短期大学部栄養学科

²美作大学生活科学部食物学科学学生

価した。得られた結果は、胎生期ストレス暴露群(n=10, ♂: n=5, ♀: n=5) と対照群 (n=10, ♂: n=5, ♀: n=5) との間で比較・検討した。

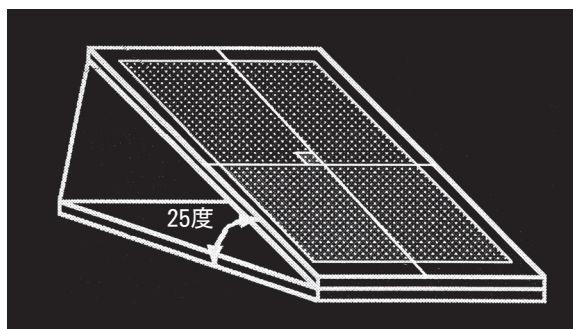


図 1 a) 傾斜板実験装置

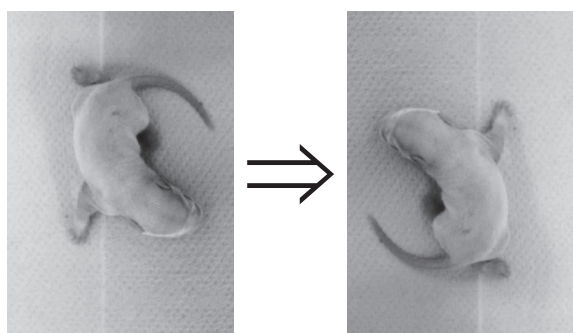


図 1 b) 仔ラットの旋回の様子

a) 傾斜板は、25度の傾斜があり、板の表面は滑り止めのため紙やすりで覆っている。b) 旋回に要する時間の測定は、60秒を最大とし、仔ラットを頭部を下にして置いてから、体軸が180度回転するまでの時間を計測した。60秒経過しても体軸が180度回転しない場合は、60秒として記録した。

結 果

1. 実験期間中の体重計測

P.D.4で、対照群に比べ胎生期ストレス暴露群で有意に体重が少なかったが、P.D.10, P.D.12, P.D.13では、胎生期ストレス暴露群が有意に体重が重かった(図2 a)。また、仔ラットの雌雄別の体重では、雄のP.D.13また、雌のP.D.10, P.D.12, P.D.13で対照群に比べ胎生期ストレス暴露群の体重が有意に重かったが、雌のP.D.4では、胎生期ストレス暴露群の体重が有意に少なかった(図2 b, c)。

1 a) 雄+雌

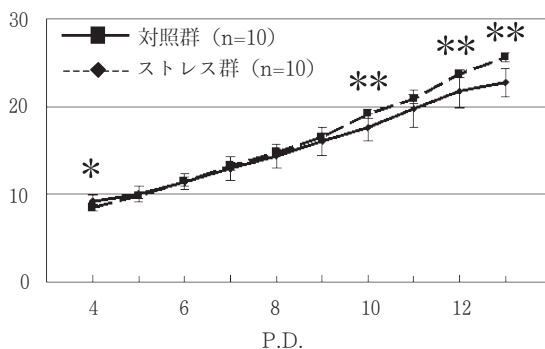


図 2 a) 傾斜板テスト期間中の体重

1 a) 雌雄合わせた平均値：傾斜板テスト期間中、P.D.4で、対照群に比べ胎生期ストレス暴露群で有意に体重が少なかったが、P.D.10, P.D.12, P.D.13では、胎生期ストレス暴露群が有意に体重が重かった。(tukey's test following ANOVA, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$)。縦軸：体重 (g)、横軸：生後日数。平均値±S.D。

1 b) 雄

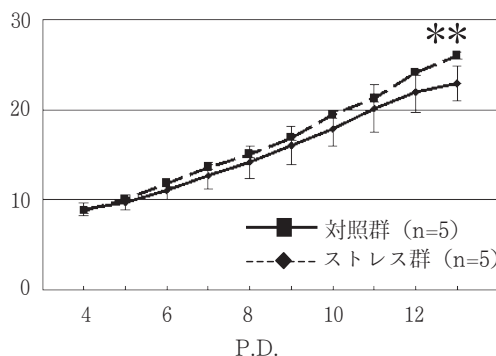


図 2 b) 雌雄別の傾斜板テスト期間中の体重の変化

1 c) 雌

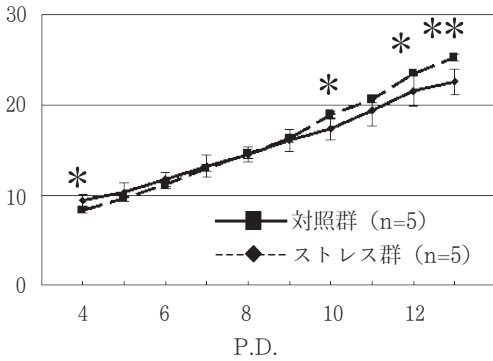


図 2 c) 雌雄別の傾斜板テスト期間中の体重の変化

1 b) 雄のみ：P.D.13で対照群に比べ胎生期ストレス暴露群の体重が有意に重かった。1 c) 雌のみ：P.D.4では、胎生期ストレス暴露群の体重が有意に少なかったが、P.D.10, P.D.12, P.D.13では対照群に比べ胎生期ストレス暴露群の体重が有意に重かった。(tukey's test following ANOVA、**： $p < 0.01$ 、*： $p < 0.05$)。縦軸：体重 (g)、横軸：生後日数。平均値±S.D。

2. 傾斜板テスト

P.D.6, P.D.7, P.D.12, P.D.13で、対照群に比べ胎生期ストレス暴露群で有意に旋回に要する時間が有意に長かった (図 3 a)。また雌雄別の比較では、雄のP.D.6, P.D.7, P.D.13、雌のP.D.6, P.D.7, P.D.12で対照群に比べ胎生期ストレス暴露群で旋回に要する時間が有意に長かった (図 3 b, c)。

2 a) 雄+雌

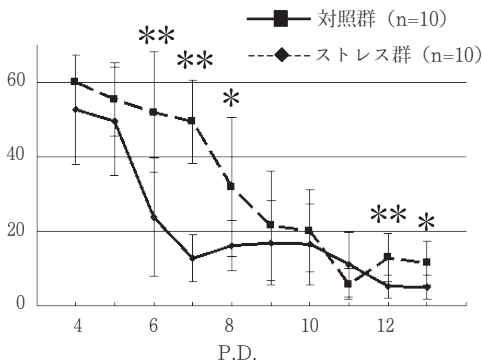


図 3 a) 傾斜板テスト旋回時間

2 b) 雄

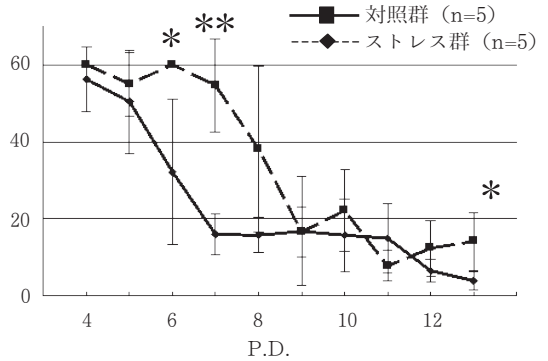


図 3 b) 傾斜板テスト旋回時間

2 c) 雌

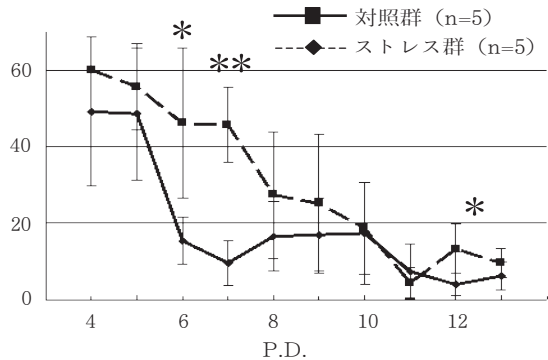


図 3 c) 傾斜板テスト旋回時間

2 a) P.D.6, P.D.7, P.D.12, P.D.13において胎生期ストレス暴露群で有意に旋回に要する時間が長かった。2 b) 雄のみ：P.D.6, P.D.7, P.D.13において胎生期ストレス暴露群の旋回に要する時間が有意に長かった。2 c) 雌のみ：P.D.6, P.D.7, P.D.12において胎生期ストレス暴露群の旋回に要する時間が長かった (tukey's test following ANOVA、**： $p < 0.01$ 、*： $p < 0.05$)。縦軸：旋回時間 (秒)、横軸：生後日数。平均値±S.D。

考 察

本研究より、胎生期ストレス暴露が出生仔の出生直後の運動機能 (四肢協調運動) に影響を及ぼすことが明らかとなった。また、傾斜板テスト期間の後半において対照群に比べ胎生期ストレス暴露群の体重が有意に大きかった。しかし、胎生期ストレス暴露による運動機能および体重に性差は認められなかった。

ストレス負荷により誘発される生体反応としては、

1) 視床下部-下垂体前葉ACTH-副腎皮質系(HPA系)の活性化、あるいは2)交感神経系・副腎髄質系の賦活化が報告されている⁶⁾。これらのことから、胎生期ストレス暴露により引き起こされた上記1)または2)の生体反応あるいは、それらの相互作用により出生仔の出生直後の運動機能に影響を及ぼしたことが推定される。

さらに、妊娠中のストレスは、ストレス暴露時間に依存して胎仔脳に形態変化を生じることが報告されている^{1), 7)}。今後は、ストレス暴露時間と出生仔の生体機能への影響の程度について検討する必要がある。

参考文献

1. Fujioka T, Fujioka A, Tan N, Chowdhury GM, Mouri H, Sakata Y, Nakamura S. Mild prenatal stress enhances learning performance in the non-adopted rat offspring. *Neuroscience*.2001;103 (2) :301~7.
2. Magariños AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Dec 9;94 (25) :14002~8.
3. Buss C, Entringer S, Wadhwa PD. Fetal programming of brain development: intrauterine stress and susceptibility to psychopathology. *Sci Signal*. 2012 Oct 9;5 (245) :pt7.
4. 辻村 徹, 富松眞之, 麻生忠史, 福田英二, 吉本静志, 岡崎祐士, 中根允文 胎生期ストレス負荷ラットにおける生後ストレス負荷の自発行動量に及ぼす影響について *Japanese journal of psychopharmacology* 1998 18 (6) : 298.
5. 中島 聡, 吉本静志, 麻生忠史, 辻村 徹, 富松眞之, 前村謙司, 岡崎祐二, 中根允文 妊娠期ストレスが仔ラットの行動に及ぼす影響 *Japanese journal of psychopharmacology* 1997 17 (6) : 283.
6. 尾仲達史 ストレス反応とその脳内機構 *日本薬理学雑誌* 2005 126 : 170~173.
7. Fujioka T, Sakata Y, Yamaguchi K, Shibasaki T, Kato H, Nakamura S. The effects of prenatal stress on the development of hypothalamic paraventricular neurons in fetal rats. *Neuroscience*. 1999;92 (3) :1079~88.