

マウスの成長における過重力の作用

小山一羊、竹井 元、奥野 誠 東京大学総合文化研究科

Effects of hyper gravity on growth of mice

Ichijo Koyama, Gen Takei, and Makoto Okuno

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo
Komaba, Meguro-ku, Tokyo, Japan 153-8902

E-Mail: cokuno@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Abstract: Effects of hyper-gravity (3G) on the growth of mice were examined. The exposure of 3G for 16 days from the weaning (23 days old) to 39 days old suppressed the growth rate of body and several organs extremely. Long exposure, either from the birth to 39 days old or from the mating to 39 days old via birth caused adaptation to the hyper-gravity, thus, suppression to the growth rate was decreased. The exposure to hyper-gravity reduced the concentration of leptin and insulin although the body weight and the amount of fat decreased. Both the leptin defect mouse (ob/ob) and leptin receptor defect mouse also lost the weight by hyper-gravity. It was assumed that the regulation of growth including the development of testis involved very complicated system.

Key words: hyper-gravity, leptin, insulin, mouse, suppression

今や人類が宇宙空間や他の惑星で定住することが射程内になりつつある。長期間、地球外で定住するためには、ヒトのみならず様々な生物種の維持、生態系の確立などが必要となってくるであろう。その場合、生殖活動が正常に行われ、繁殖し子孫を残すことができるか、ということは重要な課題となる。この問題を解明するために、地上で比較的容易に実現できる過重力環境を大型遠心機によって作り出し、そこで哺乳類であるマウスを長期間の飼育すると、生殖にどのような影響が現れるかを調べてきた(1)。その結果、過重力環境(3G)は体の成長(体重を指標として)、また様々な器官の成長も抑制すること、しかし精巣に関してはあまり抑制が起こらず、体重比ではむしろ増加することが分かった。この場合、精子出現時期も1Gコントロールとほとんど差がなかった。一方、成長の抑制とともに食餌量も減少することから、地上コントロール(1G)マウスで食餌制限をしたところ、3G飼育と非常に良く似た成長を示した。しかしこの両者では3Gマウスでは飢餓状態でないが、食餌制限マウスでは飢餓状態になっていることであった。そこで食欲に関するホルモンとしてレプチンの血中濃度を測定したところ、3Gマウスでは予想に反して減少していた。またストレスホルモンであるコルチコステロン量は加重直後には増加

するが、過重力飼育期間が長くなると徐々に低下し、2週間ほどで平常値に回復することが分かった(2)。

これらの研究結果に基づき、今回は以下の二点について、より詳細な研究を行った。まず、第一に、曝露期間、また、成長段階の違いによる過重力の影響について、特に、過重力環境下で正常に世代を越すことができるかを検討することにした。第二として、過重力環境下での食欲の低下について検討するために、食欲に関連するホルモン(レプチン、インスリン、グレリン)について検討した。

[実験方法]

動物は主にICR系統のマウスを用いた。まず、成長段階マウスにおいて長期間の過重力曝露の影響を見るために、3G過重力環境下で、妊娠、出産、保育をさせ、3週齢で離乳したマウスをさらに過重力環境下で16日間飼育した。これを継世代群とした。また、出生直後から過重力環境下に曝し、3週齢で離乳させ、さらに過重力環境下で16日間飼育したものを長期曝露群とした。そして先行研究の標準的な飼育方法である3週齢から過重力曝露したものを短期曝露群、1G環境下で遠心飼育機の近傍で飼育したものをコントロール群とした。また、1G環境下で、短期曝露群の摂餌量と同量になるように餌を制限して与えたマウスを食餌制限群として、23日齢から16

日間飼育した。いずれの群においても、離乳時である23日齢から16日間、4日おきに体重と摂餌量を測定した。最後に採血し、解剖して精巣、脾臓、腎臓、肝臓を摘出しそれらの重量を測定した。

さらに成長段階による過重力の影響を調べるために、49日齢の成熟マウスを16日間過重力環境に曝露し、1Gで飼育したコントロール群と比較した。また、レプチンを生成できないob/obマウス、その受容体を生成できないdb/dbマウスも49日齢から16日間過重力環境下に曝露し、コントロール群と比較した。いずれにおいても、測定16日後に採血し、解剖して臓器重量を測定した。

採血した血液は、血清の状態にして凍結保存し、レプチン、インスリン、グレリンの、ELISA法による測定に用いた。

[結果・考察]

成長期のマウスにおいては、先行研究と同様に過重力曝露することで、体重増加・摂餌量増加が抑制された。そこで短期曝露群と継世代群とを比較すると、短期曝露群の方がその抑制が強かった。この抑制の強さの違いは、過重力環境下で、一世代超えたことが原因なのか、曝露期間の長さの違いが原因なのか、疑問が生じてくる。そこで、長期曝露群と継世代群を含めて比較した。Fig.1はその結果を示す。

1Gコントロールに比較し、長期曝露群および継世代群の成長速度はほぼ同じで、短期曝露群のそれを上回っていた。したがって短期曝露群と継世代群の間に見られた抑制の違いは、一世代超えたことが原因ではなく、曝露期間が長かったための過重力環境への馴化によると考えられる。以上のことから、体重、摂餌量に関していえば、過重力環境下で一世代

経過することよりは過重力環境下に長期間曝露されることが重要であると推測された。ところで長期曝露群では23日齢の体重が下回っていたが、これは過重力環境下で授乳時期を過ごしたため何らかの影響で遅れが出たものと考えられる。これについては検討する必要がある。

また、成熟マウスにおいても、過重力(3G)曝露により、まず急激な体重減少、摂餌量減少が見られ、数日の内にそれは回復し、1Gコントロール群とほぼ等しい成長速度を示した。そして測定期間内では常にコントロール群を下回っていた。以上のように今回の研究によって、過重力曝露による影響は、曝露期間の長さによる馴化の影響が大きく、一世代経過することに対しては、大きな問題ではないことがわかった。

ところで、短期曝露群と食餌制限群を比較したところ、ほぼ同じ体重変化を示した。過重力環境下での体重増加の抑制は、摂餌量の減少、食欲減少によって引き起こされると推測することができる。そこで、食欲に関連するホルモンのレプチン、インスリン、グレリンについて検討した。レプチンの結果をFig.2に示す。短期間(3GSP)および長期間(3GLP)の3G曝露群において、レプチン濃度は共に減少した。また図には示さないが、成長期マウス、成熟マウス共に、16日間の過重力曝露によって、血清中レプチン濃度は減少した。この事実は過重力環境下での摂餌量減少がレプチンのためであるとすると矛盾する。そこで、レプチンを生成できないob/obマウスと、レプチンの受容体を持たないdb/dbマウスを過重力環境下で飼育する実験を行った。すると、このレプチン作用を持たない2種類のマウスは共に、過重力の影響によって、体重が減少し、摂餌量も減少した。

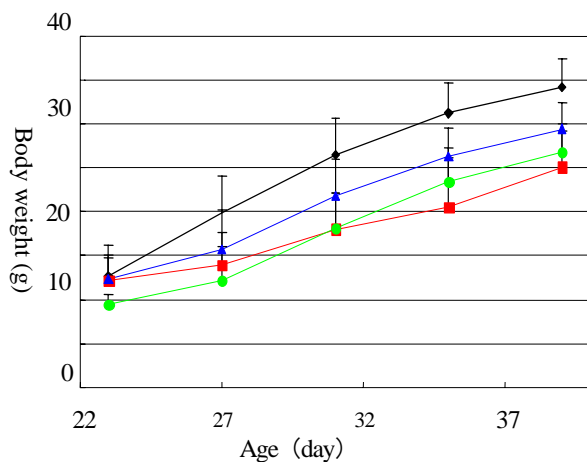


Fig.1 Effect of hyper-gravity on body weight. : 1G control, : 3G short period, : 3G second generation, : 3G long period

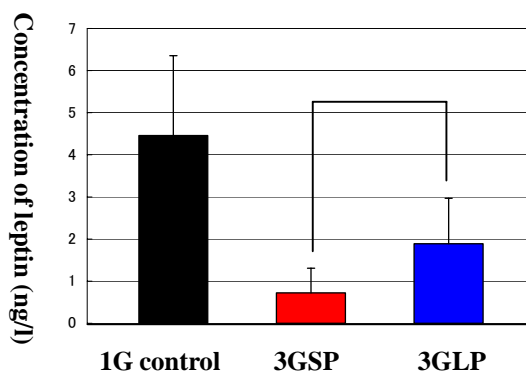


Fig.2 Effect of hyper-gravity on concentration of blood leptin. Measurement was carried out on age of 39 day after 16days exposure to 3G (3GSP) and 39days exposure to 3G (3GLP). P<0.005 among 1G and 3GSP or 3GLP. P<0.05 among 3GSP and 3GLP

Fig. 3 は db/db マウスが過重力環境下で体重の減少を引き起こした様子を示している。ob/ob マウスも同様な結果であった。いずれも 1G では体重を増加させたが、過重力下では一旦減少したままほぼ定常状態を維持した。これらのことから、過重力環境下における食欲の減少は、レプチンによるものではなく、むしろ何らかの原因で体重と体脂肪が減少したことによってレプチンの分泌が減少したと予想される。このことはより複雑な作用が過重力によりもたらされていることを示唆している。

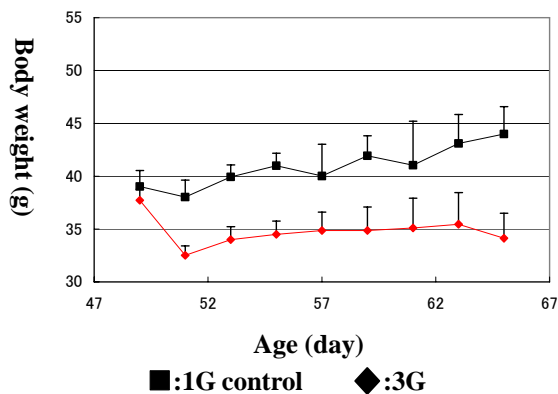


Fig.3 Effect of hyper-gravity on growth of db/db mouse. 3G exposure was carried out for 16 days from 49 days old to 65 days old. $P < 0.005$ except day 49.

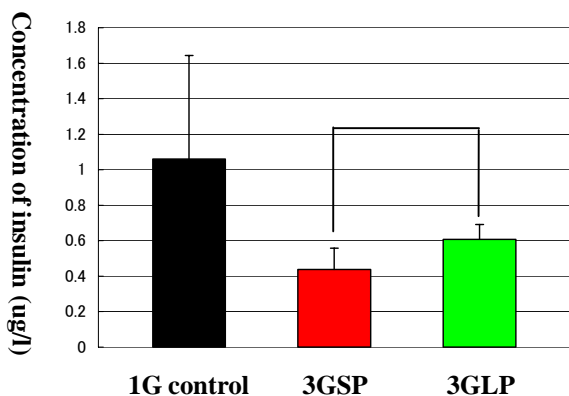


Fig.4 Effect of hyper-gravity on concentration of blood insulin. Measurement was carried out on age of 39 day after 16 days exposure to 3G (3GSP) and 39 days exposure to 3G (3GLP). $P < 0.005$ among 1G and 3GSP or 3GLP. $P < 0.05$ among 3GSP and 3GLP

今回はさらにインスリンとグレリンについても調べた。16日間の過重力曝露によって、血清中インスリン濃度は減少した (Fig. 4)。インスリンは食欲抑制作用をもつとされているので、血清中インスリン濃度の減少は過重力環境下における摂餌量の減少、食欲の減少する結果と矛盾する。それゆえに過重力環境下における食欲抑制と血清中インスリン濃度減少の関係についてもさらに検討する必要がある。

また食欲を亢進させるとされるグレリンについても検討した。図には示さないが 16日間の過重力曝露によって、血清中グレリン濃度は変化がなかった。さらに、食餌制限群にも変化が見られなかった。しかしグレリンに関しては、まだ例数が少ないためさらに調べる必要がある。

今回調べた臓器の中では、コントロール群と過重力曝露群とを比較すると、体重に占める精巣重量の割合が増加し、肝臓重量の割合が減少した。一方、コントロール群と食餌制限群を比較すると、精巣重量の割合は変わらず、肝臓重量の割合のみ減少した。これらの結果から、精巣、脾臓、腎臓は、摂餌量減少による成長抑制の影響を、体重と同程度の影響をうけるが、肝臓はその影響をさらに強く受けること、また、過重力環境下では、成長抑制の影響を精巣のみが受けにくいことが分かった。この肝臓への効果は詳細に調べて生きたいと考えている。

生殖には、多くのホルモンが関連する。過重力曝露による生殖ホルモンへの影響について、まだ研究が少ないので、生殖関連のホルモン全般についてさらに研究を重ね、網羅的に解析していく必要があるだろう。

また、今回の研究を踏まえた食欲に関する過重力に対する応答をまとめると次のようになる。過重力曝露により、未知の制御系によって食欲が減少し、摂餌量が減少する。それにより、体重減少・脂肪量減少が引き起こされる。同時に脂肪量減少によって、血清中レプチン濃度とインスリン濃度が減少する。しかし生殖器はそのサイズと機能が維持される。これらの結果は、重力が非常に複雑な仕組みを経由して生体に影響を及ぼしていることを示唆している。

参考文献

- (1) 奥野誠. (1999) 哺乳類の雄性生殖器及び精子形成に及ぼす重力の作用に関する研究. 宇宙環境利用に関する地上研究報告書: 321-333
- (2) Keiichi Y., Makoto M (2004) Effects of hyper gravity on ingestion and growth rate in mouse. *Space Utiliz Res* 20:45-48