

楊 果 杰 (中国) 昭和20年12月20日生

授与年月日 平成3年3月31日

主 論 文 弱熱耐性動物としてのナキウサギ (Pika: whistle rabbit) の生理学的特性
Physiological Characteristics of Pika (Ochotona rufescens rufescens) as a Weak Heat Tolerant Animal

論文内容の要旨

緒 言

1985年以降、当熱帯医学研究所疫学部門(環境生理)では、アフガニスタン由来のナキウサギ: Afghan Pika (*Ochotona rufescens rufescens*) を実験動物中央研究所より導入、長崎大学熱帯医学研究所附属熱帯性病原体感染動物実験施設内で繁殖・飼育をはかっている。このナキウサギの形態学的特徴や体温調節機能即ち、小さな丸型耳介、尾部観察不能といった体型的特徴や各種発熱物質に対する中等度発熱性、高代謝率、弱熱放散能に由来する高体温については家ウサギとの比較に於て生態学的に寒冷・高地環境に適応していると考えられる。最近このナキウサギには自律性熱放散反応即ち、温熱性パンティング(浅速呼吸)や唾液分泌が困難と報告され、またハイパーサーミア研究分野では、温熱負荷によりある種の体細胞内に熱耐性に関連した熱ショック蛋白(Heat shock proteins (HSPs), 70 KD Family)の誘導についての報告もあり、本研究に於てはナキウサギ(Afghan pika)の個体から細胞レベルの弱熱耐性を循環及び温熱生理学の立場から解析することを目的としている。

動物と方法

アフガニスタン由来の131羽のナキウサギが本研究に使用され、飼育方法は室温22°C、(8°—20°—8°)の明暗サイクル環境下で、水・食餌は自由摂取とした。

- ① 上記飼育条件下に於いて、雄(n=45)、雌(n=56)の飼育室内生存日数を観察。
- ② 心血管系機能としてナキウサギ(n=5)、ウイスターラット(n=35)の右・左心室重量比(RVW/LVW)、ヘマトクリット値を比較。
- ③ ナキウサギ(n=15)、家ウサギ(n=4)の耳介表面積/体表面積を比較。
- ④ 発熱特性としては28°C、60%rh環境下でナキウサギ(n=3)に、rhIL-1 α (2.0 μ g/kg)を静注して、直腸温と呼吸数の変化を連続測定。
- ⑤ 全身加温実験として人工気象室内条件を28°C、33°C、37°Cと段階的に上昇させ(60%rh)、ナキウサギ(n=2)、家ウサギ(n=2)の直腸温、呼吸数の変化を測定。
- ⑥ 熱ショック蛋白(HSPs)の誘導にはナキウサギ(n=5)、ウイスターラット(n=5)を用いて、

43—45°Cの温水槽にて全身温熱負荷し、直腸温を41.8—43°Cに15分間保った。20時間後、10% SDS—PAGE によって肝臓の cytosol fraction に HSPs の誘導の有無を検索した。

- ⑦ 本研究のデータは中国青海省の野生のナキウサギ (*Ochotona curzoniae*: n=31, *Ochotona canus*: n=2) の研究データ (未発表) と比較検討した。

結果

- (1) 研究所における飼育条件下でのナキウサギの平均生存日数は、雄59.1±5.6週 (n=45)、雌54.3±3.9週 (n=56) で、両者間に有意差を認めなかった。
- (2) 耳介表面積/体表面積はナキウサギで7.2±0.7% (n=15)、家ウサギは17.0±0.5% (n=4) で著明な有意差を示した。
- (3) ナキウサギ (n=5) とウイスターラット (n=35) の体重量には有意差はなかったが、右心室重量/左心室重量はナキウサギで0.248±0.012 (n=5)、ウイスターラットでは0.305±0.017 (n=35) で著しい有意差を認めた。(P<0.0001)
腹部大静脈血のヘマトクリット値は、ナキウサギ36% (n=4)、ラット46% (n=6)、家ウサギ39% (n=3) と測定され、ナキウサギは低値を示した。
- (4) ナキウサギでは rhIL-1α (2 μg/kg) 静注によって1.5°Cの直腸温上昇を認めたが呼吸数の変化はこれに平行せず高体温域での呼吸運動調節に不備を認めた。
- (5) 28°C→33°C→37°C、60%rhの全身加温負荷により、ナキウサギでは温熱性パンティング(浅速呼吸)の誘発が困難(Max値:180c/min)、直腸温の上昇は著明で42°Cを越え、加温中止に至った。一方、家ウサギでは環境温上昇に伴って呼吸数が増加し(28°C:300c/min, 33°C:400c/min, 37°C:500c/min)、温熱パンティングの誘発が容易で直腸温の上昇は緩徐で40°C以下に保たれた。
- (6) 10% SDS—PAGE による熱ショック蛋白(HSPs)の解析結果ではラット肝臓の cytosol fraction で HSP70 の誘発は容易に認められた。しかるにナキウサギでは HSP70 誘導は極めて困難である事が判明した。

考察

- (1) ナキウサギの平均生存日数が54—60週である事は、ナキウサギを弱熱耐性の実験動物モデルとして開発する事の妥当性を支持している。
- (2) ナキウサギは中等度発熱性、高代謝率、弱熱放散能などの生理特性によって39.6°Cと高い直腸温を

示すが、この値は野生の中国ナキウサギの値(39.6—39.8°C)とも一致し、ナキウサギは家ウサギやラットより高体温動物と考えられる。

- (3) ナキウサギの低ヘマトクリット値、低RVW/LVWは中国ナキウサギと同様に高地適応動物の特性であるが、さらにナキウサギは弱熱耐性を兼備した動物モデルと考えられる。
- (4) 温熱負荷によっても体内臓器の各種細胞内にHSP70の誘導が困難である点は、HSPsの誘導の有無と温熱耐性との関連において、細胞から個体レベルでの温熱感受性、温熱耐性、温度順化のメカニズム解明の糸口となる点で興味深い。

論文審査の結果の要旨

楊果杰は昭和44年7月、中国北京第二医学院医学系を卒業、昭和58年4月中国首都医学院講師生理学を経て、昭和61年12月長崎大学熱帯医学研究所研究生となり、昭和62年4月長崎大学大学院医学研究科に入学し、生理系の環境生理学を専攻主科目とし、放射線生物物理学を副科目、母子衛生学を選択科目として所定の単位を修得した。この間、熱帯医学研究所疫学部門(環境生理)において、小坂光男教授の指導を受け温熱生理学に関する10編以上の英文論文を発表し、学位論文には“Physiological Characteristics of Pika (*Ochotona rufescens rufescens*) as a Weak Heat Tolerant Animal” *Tropical Medicine* 32(4) 129-140, 1990と参考論文9編を付して長崎大学大学院医学研究委員会に提出した。同委員会はこれを平成3年3月20日の定例委員会に付議し、論文内容、研究歴を審査した結果、受理して差し支えないと認めたので上記の通り審査委員を選定した。委員は主査を中心として慎重に審査し、平成3年4月17日午後1時より研究発表会、同日3時からの定例委員会でその結果を報告した。

主論文は現在、世界に存在する全ウサギ目の動物で最も古いとされているナキウサギ(pika, whistle rabbit)—1969年フランスのPuget博士がアフガニスタンで捕捉し、室内飼育に成功したものを1974年以降、日本の実験動物中央研究所(川崎市)が導入・繁殖したアフガンpika—を1985年以降当熱帯医学研究所の感染動物実験施設内で9代に亘って飼育・繁殖したナキウサギを被験体とし、“弱熱耐性動物としてのナキウサギの生理学的特性”の研究課題で実験を遂行した。このナキウサギの形態学的特徴や体温調節機能即ち、小さな丸型耳介、尾部観察不能といった体型的特徴や各種発熱物質に対する中等度発熱性、高代謝率、弱熱放散能に由来する高体温については家ウサギとの比較に於いて生態学的に寒冷・高地環境に適応していると考えられる。最近このナキウサギには自律性熱放散反応即ち、温熱性パンティング(浅速呼吸)や唾液分泌が

困難と報告され、またがんのハイパーサーミア研究分野では、温熱負荷によりある種の体細胞内に熱耐性に関連した熱ショック蛋白 (Heat shock proteins (HSPs), 70 KD Family) の誘導についての報告もあり、本研究に於いてはナキウサギ (Afghan pika) の個体から細胞レベルの弱熱耐性を循環及び温熱生理学の立場から解析することを目的とし、下記の研究成果を再確認した。

1. Pika の高体温 (Tre: 39.6—39.8°C) は、高代謝率・弱熱放散能に依存し、特に高温環境下においても thermal panting (温熱性浅速呼吸) や thermal salivation (温熱性唾液分泌) が乏しく、容易に核心温の上昇を来した。2. Pika の低 Hct 値, 低 RVW/L VW は、高地適応動物の特性である。3. Pika の実験室内平均生存日数は、56週 (約1年1か月) であり、実験動物モデルとして妥当と考えられる。4. Pika において、熱ショック蛋白 (HSPs) の誘導が困難である点は、HSPs と温熱耐性との関連において大変興味深く、早期解明すべき緊急課題である。

本研究の成果で特筆すべきことは、ナキウサギの弱熱耐性の確証およびこの原因究明に熱ショック蛋白の熱耐性に注目して研究を進展させんとする開拓的研究である点、温熱生理学分野の研究推進に貢献するところ大であって学位に値するものと認め合格と判定した。

審査担当者 主査 教授 小坂光男
副査 教授 奥村寛
副査 教授 相川忠臣