

成熟マウスにおける唾液サンプルを用いたストレス評価
(Evaluation of stress response using saliva sample in adult male mouse)

学位論文の内容の要旨

獣医生命科学研究科 応用生命科学専攻 博士後期課程 平成 25 年入学

野 原 正 勝

(指導教員: 教授 天 尾 弘 実)

唾液は、血漿又は血清に代わる、生理活性物質を検出するための侵襲性の低いサンプルとして注目されている。本研究では、酵素抗体法 (EIA) によりマウス唾液中 corticosterone (CORT) が検出されること、そして外因性の cortisol (2.0 mg/kg) を腹腔内 (ip) に投与することにより、血液から唾液へとグルココルチコイドが移行することを確認した。次いで、異なる種類の麻酔薬がマウスの唾液分泌に与える影響、麻酔下又は無麻酔下における、拘束ストレス負荷 (60 分) による血漿及び唾液中 CORT 濃度への影響を比較し、さらに、cyclophosphamide (CPA; 50 mg/kg ip) が唾液分泌に与える影響を評価した。最後に、マウスにおけるストレスに対する唾液中 CORT 及び唾液 amylase 活性の反応を評価するために、唾液採取を目的とした麻酔からの適切な回復期間 (1, 3, 5 及び 7 日間) をストレス負荷前後で検討した。結果として、唾液中 CORT は EIA により検出可能であり、cortisol を投与されたマウスの血漿及び唾液中から cortisol が検出された。唾液中 CORT 濃度及び唾液量において、三種混合麻酔群及び pentobarbital 麻酔群の間に有意な差は認められなかったが、三種混合麻酔には拮抗薬が存在するなど動物実験の倫理面を考慮すると、三種混合麻酔薬が推奨される。麻酔下又は無麻酔下において、拘束ストレス負荷群の血漿及び唾液中 CORT 濃度は対照群と比較して有意に上昇した。マウスの唾液分泌に CPA は影響を与えなかった。唾液採取を目的とした麻酔からの回復期間の検討において、拘束ストレス負荷により、すべての回復期間 (1, 3, 5 及び 7 日間) で有意な唾液中 CORT 濃度の上昇が認められ、統計学的に、7 日間で、その他の回復期間と比較してより高い有意水準であった ($p < 0.001$ vs $p < 0.05$)。さらに、拘束ストレス負荷により、前半 20 分で採取された唾液の amylase 活性は、3 及び 7 日間の回復期間において有意な上昇が認められた。結論として、唾液中 CORT 及び amylase 活性は、マウスにおける身体的ストレスに対する有用な低侵襲性のバイオマーカーであることが示唆された。本研究の成果は、Reduction 及び Refinement の理念に貢献すると考えられる。