

令和 4 年 9 月 1 日現在

機関番号：31303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K00932

研究課題名(和文) 周期的制限給餌が睡眠・覚醒に及ぼす影響とその神経基盤

研究課題名(英文) Effect of time-restricted feeding on sleep-wake cycle and neural substrate of the phenomenon

研究代表者

辛島 彰洋 (Karashima, Akihiro)

東北工業大学・工学部・准教授

研究者番号：40374988

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ヒトの食生活を模したスケジュールで制限給餌を行い睡眠への影響を調べる動物実験を行うものであり、長期的に睡眠を安定に測定するためのシステムが必要であった。そこで本研究では2つの測定システムを製作した。1つ目は無拘束で睡眠時脳波を測定するための小型アンプ兼ロガーである。一般的に脳波測定では、頭部に埋め込まれた電極とアンプがケーブルで繋がれるが動物の活動が制限されてしまうため長期測定には向いていない。製作した小型アンプ兼ロガーではこの問題を解決できた。さらに動物への負担低減のため、呼吸リズムを記録するための測定装置および解析方法の開発も行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の最も大きな成果は、睡眠研究に必要な脳波・呼吸信号を長期間安定に測定できるげっ歯類用の測定システムを開発したことである。睡眠の制御に関わる神経機構や分子機構の解明、睡眠薬の開発は主にげっ歯類を用いた動物実験により進められていることから、本研究での成果は睡眠研究の発展に寄与するものであると考え

研究成果の概要(英文)：This study aimed to examine the effects on sleep of restricted feeding on a schedule that mimics our daily mean schedule. In this study, a system to stably measure sleep over a long period was needed, and we developed two measurement systems. The first was a small amplifier and logger for measuring sleep EEG in rats. In general, electrodes implanted in the head are connected to an amplifier by a cable, and this is not suitable for long-term measurement because it restricts their activities. The small amplifier-cum-logger we have developed solved the problem. In addition, we also developed a measurement device for respiration and a method for sleep scoring to reduce the burden on animals.

研究分野：生体医工学

キーワード：睡眠 ノンレム睡眠 レム睡眠 呼吸リズム 測定器 睡眠ステージ

1. 研究開始当初の背景

24 時間型社会と言われる現代社会では、産業が多様化し、交代制夜勤や深夜まで及ぶ残業、平日と休日では就寝・起床時刻がずれる social jet lag(社会的時差ボケ)など生体時計に従わずに生活・就労する機会が一般化している。このように体内時計の夜(休息)の時間帯と実際に睡眠をとる時間帯がずれた生活を続けると、体内時計と睡眠時刻は脱同調し、睡眠時間の不足や睡眠の質の低下など不眠の状態となってしまう(佐々木, 2013)。このような不眠状態は、判断力・集中力を低下させるだけでなく、免疫力を低下させて健康に悪影響を及ぼしたり、睡眠の重要な機能である脳神経回路のメンテナンス機能を抑制してしまうと考えられている。生物時計の不具合に関連したこの種の睡眠の障害は、概日リズム睡眠障害と呼ばれている。高照度光療法やメラトニンの投与のように生体時計の位相を変化させることが症状を改善させることが知られているが、治療が難しいケースが多いことも報告されている(Lewy et al., 1992; 内山, 2013)。

2. 研究の目的

本研究は、ヒトの食生活を模したスケジュールで制限給餌を行い睡眠への影響を調べる動物実験を行う計画であった。このような研究を行うには、長期的に睡眠を安定に測定するためのシステムが必要であると考え、まずは測定システムの作製を行った。

3. 研究の方法

3.1 自動制限給餌器と赤外線カメラを用いた動物の姿勢・行動観測システムの作製

定時に給餌するための自動給餌システムを作成した(図 1A)。このシステムでは、実験室の明暗サイクルを制御しているタイマーから時間情報を受けたマイコンにより給餌箱の扉の開閉を制御する。さらに、動物の行動を解析するための解析ソフトも作成した(図 1B)。

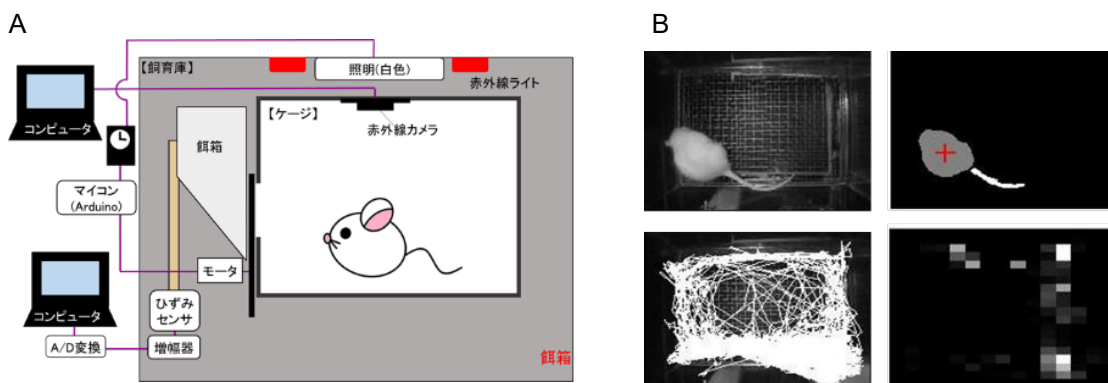


図 1 A: 作製した自動制限給餌器。動物ケージと餌箱の間には可動式の衝立があり、衝立はマイコンにより制御されている。また、餌箱を支える脚部にひずみセンサが付いており、餌の重さを測定している。さらに、赤外線カメラがケージの上部に取り付けられており動物の行動を撮影できる。B: 本研究で作成したビデオ解析ソフト。撮影した動物(左上)、動物の輪郭とその重心(右上)、重心の軌跡(左下)と滞在確率(右下)

3.2 撮影された動物の輪郭から睡眠-覚醒状態を推定するアルゴリズムの作成

撮影した動物の姿勢や動きから動物の睡眠-覚醒状態を推定できるかどうか検討した。動物の行動は、様々な方法で捉えることが可能であるため、動きがある活動状態と動きがない安静状態に分けることは容易であった。一方、安静状態には、睡眠状態とフリージングなど体動がない覚醒状態を含んでいるため、体動の有無だけでは睡眠-覚醒状態を判定することはできなかった。

本実験で使用しているラットにおいて安静状態では、丸まった姿勢と身構えた姿勢が観測された(図 2)。前者は主に睡眠時に、後者はフリージングなど覚醒時に現れる姿勢と考えられる。記録した映像から 2 つの姿勢を自動で分けることができれば、簡便に睡眠-覚醒状態を判別できる可能性がある。

姿勢を自動判別するために、姿勢に関連している特徴量を抽出した。抽出したのは、動物の面積、周囲長、長軸および短軸の長さ、長軸と短軸の長さの比(長軸/短軸)、Circularity の 6 つのパラメータである。睡眠と推定される丸まった姿勢と、覚醒と推定される身構えた姿勢の画像を 100 枚ずつ集め、これらを教師データとして判別分析を行った(教師データは実験者の主観に

より集めた)。さらに教師データとは異なる画像 200 枚を判別分析により分類し、目視の結果と比較をした。

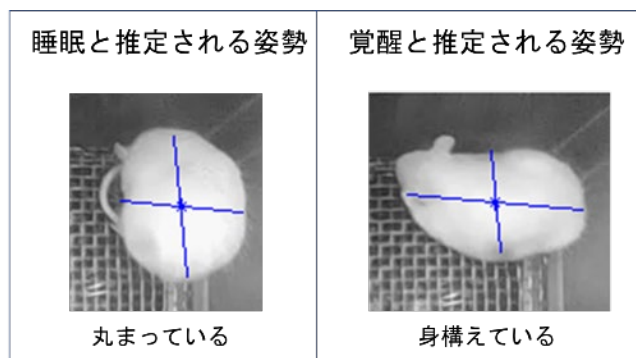


図 2: 視察判定により分けた 2 種類の姿勢。青点は重心位置、青線は長軸・短軸を表している。

3.3 げっ歯類用小型脳波・眼電図ロガーの作製

睡眠研究では、睡眠ステージングを行うために脳波や眼電図を測定するのが一般的である。脳波測定では、頭部に埋め込まれた電極とアンプがケーブルで繋ぐ必要があるが、この拘束により動物の活動は制限されてしまうため長期間の測定には向いていない。そこで、小型脳波・眼電図ロガーを製作することにした。小型脳波・眼電図ロガーは、高入力インピーダンスで振幅が小さい脳波や眼電図を増大するための増幅器(バンドパスフィルタ付)、アナログ信号をデジタル信号に変換する AD 変換器、デジタルデータを SD カードに保存するロガー、そしてこれらを駆動するための小型バッテリーを組わせて製作した。

3.4 げっ歯類用呼吸測定装置の作製

前節で示したように、製作したロガーにより動物の行動を妨げることなく脳波を測定できるようになったが、バッテリーの交換を数日おきに行う必要があるため 1 カ月以上にわたる長期測定には別の測定手法も必要であると考えた。

呼吸の周期は、ヒトでも動物でも睡眠-覚醒状態に依存して変化することから、呼吸周期により睡眠ステージングができる可能性が指摘されている。呼吸の測定には、体プレスチモグラフィが用いられるのが一般的であるが、この測定法は動物ケージを密閉する必要があるため長期的な測定には適していないと考えた。そこで、我々は永久磁石とコイルを用いた呼吸測定法を考案した。考案した方法は、小さな永久磁石(ネオジム磁石、直径 5 mm)を動物の皮下に埋め込み、呼吸による腹部や胸部の動きを磁束密度の変化で捉えるというものである。磁束密度の変化は、測定ケージの近くに設置したコイルに誘導される電圧によって測定した。

4. 研究成果

4.1 自動制限給餌器と赤外線カメラを用いた動物の姿勢・行動観測

本研究で作成した測定・解析システムにより、一日の特定の時間だけ給餌できるようになった。図3には、明期の途中である14~18時にもみ給餌器の扉を開いた時の動物の活動を示す。給餌時刻の直前から自発活動が増加する food anticipatory activity (FAA) を誘導できたことが確認できた。

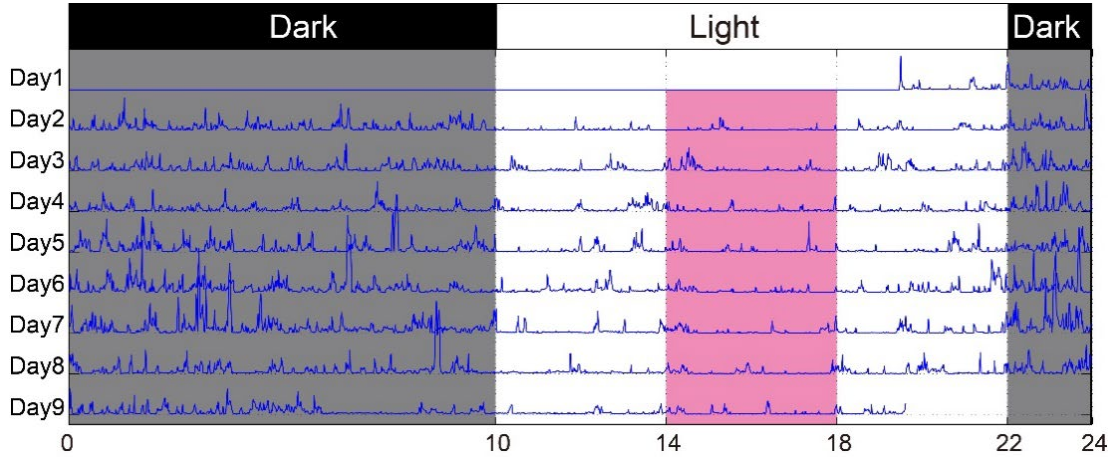


図3: 制限給餌により見られた日中の動物の活動。明期である14~18時(赤で示す時間帯)にのみ給餌を行った。

4.2 撮影された動物の輪郭から睡眠-覚醒状態を推定するアルゴリズムの作成

長軸/短軸と Circularity を特徴量として使用し、直線または円錐曲線で判別分析をした結果を図4に示す。図4Aで示すように線形判別では、睡眠様と推定される姿勢を正しく判別できたが、覚醒と推定される姿勢の12%を誤判定した。一方、図4Bに示すように、円錐曲線で判別した時は、睡眠と推定されると覚醒と推定される姿勢を共に99%という高い精度で判別することができた。

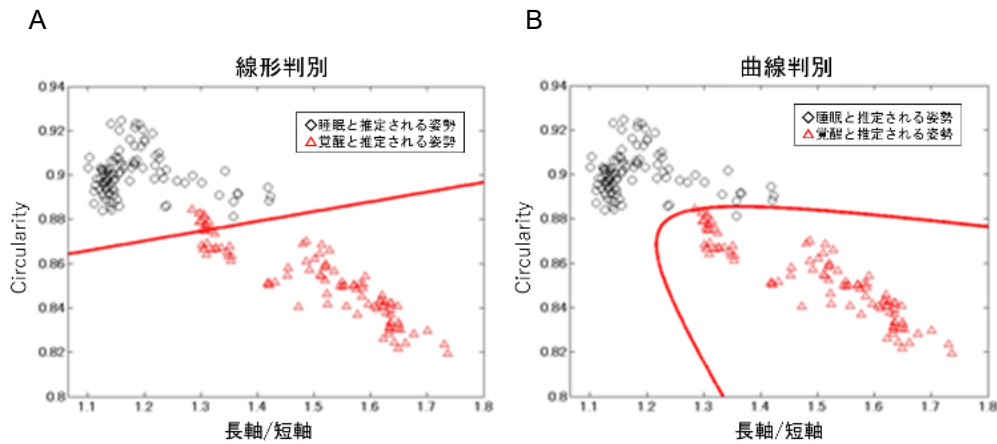


図4: 学習データから求めた2つの姿勢を分類する判別関数(赤線)と、テストデータ(睡眠と推定される姿勢(\diamond): $n=100$; 覚醒と推定される姿勢(\triangle): $n=100$)の長軸/短軸(横軸)と Circularity(縦軸)の散布図。Aは直線により、Bは円錐曲線により分類した。

4.3 げっ歯類用小型脳波・眼電図ロガーを用いた測定結果

方法で説明した条件を満たす脳波・眼電図ロガーの自作を試みたが、小型化が難しかったため、外注をした(図 5A)。ロガーは本体が 1.5 g、バッテリーは 1.2 g であり、24 時間以上の連続記録が可能である。差動で 2 チャンネルであり、脳波 1 チャンネルと眼電図 1 チャンネルの同時測定が可能である。サンプリング周波数は 100 Hz であり睡眠ステージで用いる脳波や眼電図の測定には十分であった(図 5B)。

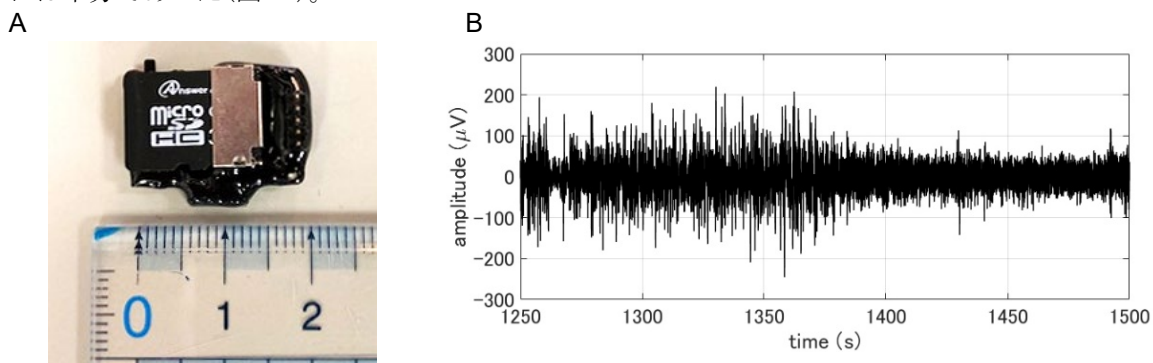


図 5 A: 本研究において外注して製作した小型脳波ロガーの外観。B: 測定した脳波。1370 秒までは高振幅の徐波が優位に出現していることからノンレム睡眠と判定される。一方、それ以降は低振幅のシータ波が優位に出現しておりレム睡眠と判定される。

4.4 げっ歯類用呼吸測定装置を用いた測定結果

測定結果を図 6 に示す。図 6 では、ケージに設置した流速計で測定した気流(図 6 下段)と作製した測定器で記録した呼吸波形(図 4 上段)を並べて表示している。図 6A には、動物が安静にしている時間帯に測定された磁気信号と気流を示している。磁気信号は気流と同期して振動していることから、考案した測定システムで呼吸が測定できていると解釈できる。一方、図 6B には、動物が活動している時間帯に測定した磁気信号と気流を示している。5 Hz 以上の速い周期活動も作製した測定器で記録できている様子が分かる。以上の結果から、我々が考案した測定器は、安静時にも活動時にも呼吸を測定できることが分かる。

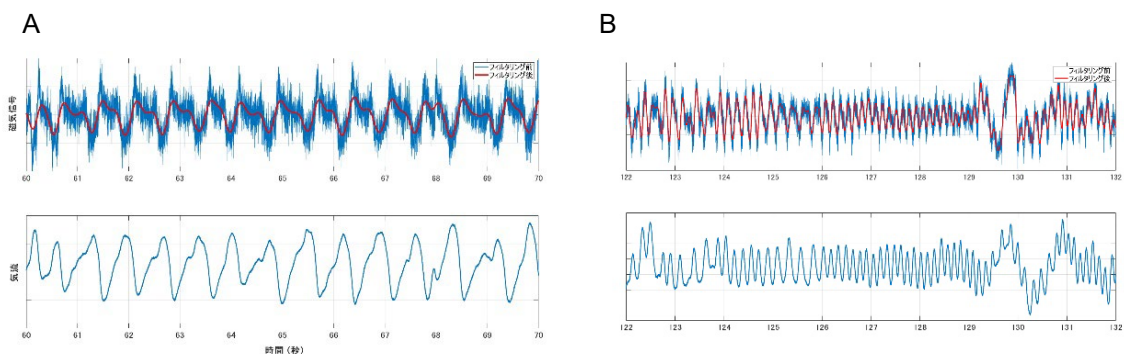


図 6 考案した永久磁石とコイルを用いた呼吸測定装置の性能評価。A: 動物が安静にしているときに測定した磁気信号(上段)とリファレンス信号である気流(下段)。1 秒弱の周期のゆっくりした周期的な信号(呼吸)が見られる。B: 動物が活動しているときに測定した磁気信号(上段)とリファレンス信号である気流(下段)。数 Hz 以上の速い周期的な活動が両方の信号から確認される。それぞれの上段の図において、青線は測定した元の波形を、赤線は低域通過フィルタに通した後の波形を示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 R. Amano, A. Karashima, I. Motoike, N. Katayama, K. Kinoshita, M. Nakao	4. 巻 18
2. 論文標題 Consistency index of daily activity pattern and its correlations with subjective ratings of QOL	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sleep and Biological Rhythms	6. 最初と最後の頁 297-304
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s41105-020-00271-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 A. Natsubori, T. Tsunematsu, A. Karashima, H. Imamura, N. Kabe, A. Trevisiol, J. Hirrlinger, T. Kodama, T. Sanagi, K. Masamoto, N. Takata, K-A Nave, K. Matsui, K.F. Tanaka, M. Honda	4. 巻 3
2. 論文標題 Intracellular ATP levels in mouse cortical excitatory neurons varies with sleep-wake states	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-01215-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 辛島彰洋, 柳田琢杜	4. 巻 34
2. 論文標題 ウェアラブルセンサを用いた睡眠時呼吸測定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 東北工業大学地域連携センター・研究支援センター紀要	6. 最初と最後の頁 69-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 S. Choilek, A. Karashima, I. Motoike, N. Katayama, K. Kinoshita, M. Nakao	4. 巻 19
2. 論文標題 Subjective sleep quality, quantitative sleep features, and their associations dependent on demographic characteristics, habitual sleep-wake patterns, and distinction of weekdays/weekends	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sleep and Biological Rhythms	6. 最初と最後の頁 369-381
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s41105-021-00326-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 辛島彰洋, 柳田琢杜, 丸田勝弘, 浅沼義信	4. 巻 32
2. 論文標題 ユーザ負担の少ない肺機能測定用ウェアラブル機器の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 東北工業大学地域連携センター・研究支援センター紀要	6. 最初と最後の頁 55-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 R. Yokoi M. Okabe N. Matsuda A. Odawara A. Karashima I. Suzuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Impact of sleep/wake-associated neuromodulators and repetitive low-frequency stimulation on human iPSC-derived neurons.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2019.00554	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 辛島 彰洋 中尾 光之	4. 巻 53
2. 論文標題 睡眠時神経活動と睡眠 覚醒制御機構の数理モデル	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 辛島 彰洋 中尾 光之	6. 最初と最後の頁 669-375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20837/1201702109	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 安倍凜生, 大堀萌奈, 辛島彰洋
2. 発表標題 加速度センサを用いた呼吸数モニタリングシステムの基礎的検討
3. 学会等名 令和4年東北地区若手研究者研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木圭介, チョイレク シワリー, 元池育子, 辛島彰洋, 片山統裕, 中尾光之
2. 発表標題 睡眠および生理学的状態の網羅的特徴付けとその食事習慣との関連性
3. 学会等名 電子情報通信学会 MEとバイオサイバネティックス研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辛島彰洋, 柳田琢杜
2. 発表標題 ウェアラブル磁気センサによる睡眠時呼吸リズムの計測
3. 学会等名 第60回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柳田琢杜 庭滉詩郎 辛島彰洋
2. 発表標題 ウェアラブルセンサによる睡眠時呼吸リズムの計測
3. 学会等名 電子情報通信学会MEとバイオサイバネティックス研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辛島彰洋, 石塚隆太, 伊藤智, 関直哉, 鈴木幸也,
2. 発表標題 日中の眠気が聴覚の周波数特性に及ぼす影響
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳田琢杜, 今野 颯, 辛島彰洋
2. 発表標題 ウェアラブルデバイスによる呼吸換気量測定を検討
3. 学会等名 2020年度電気関係学会東北支部連合大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 二口裕太, 元池育子, 山仲勇二郎, 辛島彰洋, 片山統裕, 中尾光之
2. 発表標題 生理学的指標およびQOLの月経周期のフェーズ依存性
3. 学会等名 電子情報通信学会MEとバイオサイバネティクス研究会(2020年10月)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳田琢杜, 庭滉詩郎, 辛島彰洋
2. 発表標題 ウェアラブルセンサによる睡眠時呼吸リズムの計測
3. 学会等名 電子情報通信学会MEとバイオサイバネティクス研究会(2021年1月)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辛島彰洋, 柳田琢杜, 佐川公平
2. 発表標題 加速度・地磁気センサを用いたウェアラブル呼吸リズム測定器の作成
3. 学会等名 日本睡眠学会第44回定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳田琢杜, 辛島彰洋
2. 発表標題 磁気センサを用いた呼吸数検出システムの開発
3. 学会等名 電子情報通信学会 MEとバイオサイバネティクス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Choilek, I. Motoike, T. Uchibayashi, A. Karashima, N. Katayama, M. Nakao
2. 発表標題 Is sticking to highly regular sleep/wake timing good for health? -- A quantitative study of associations between sleep/wake habit, objective sleep-related parameters, and subjective sleep quality --
3. 学会等名 電子情報通信学会 MEとバイオサイバネティクス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 A. Karashima, R. Tsukada, Y. Anzai, N. Katayama, M. Nakao
2. 発表標題 Influence of skilled reaching task on slow waves and sleep spindles in rats.
3. 学会等名 WorldSleep 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辛島彰洋, 石塚隆太, 伊藤智, 関直哉, 鈴木幸也, 片山統裕, 中尾光之
2. 発表標題 睡眠に依存した聴覚の周波数特性の変化
3. 学会等名 日本睡眠学会第43回定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 夏堀晃世, 辛島彰洋, 山本正道, 小島崇, 児玉亨, 正本和人, 高田則夫, 田中謙二, 本多真
2. 発表標題 睡眠覚醒に伴う大脳皮質の細胞内ATP動態の解明
3. 学会等名 日本睡眠学会第43回定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Amano, A. Karashima, I. Motoike, N. Katayama Norihiro, K. Kinoshita, M. Nakao
2. 発表標題 Heart rate variability and respiration rate variability dynamics differentiate subjective sleep quality depending on selected life style
3. 学会等名 生体医工学シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 辛島彰洋, 柳田琢杜, 佐川公平
2. 発表標題 加速度・地磁気センサを用いたウェアラブル呼吸リズム測定器の作成
3. 学会等名 日本睡眠学会第44回定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 A. Karashima, Masuda, A. Nakamura, H. Tsubokawa, N. Katayama, M. Nakao
2. 発表標題 Sleep-Wake State Dependence of Ca-permeable AMPA Receptor Expression in the Rat Cortex and Hippocampus.
3. 学会等名 47th Annual Meeting of Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 千葉溪也, 松崎優子, 佐藤望美, 石垣大和, 辛島彰洋
2. 発表標題 動物用非侵襲的な睡眠-覚醒モニタリングおよび心電図測定システムの製作
3. 学会等名 平成30年東北地区若手研究者発表会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 本多和樹、辛島彰洋ら	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 712 (pp.263-268, 257-262を担当)
3. 書名 睡眠学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------