

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26500014

研究課題名(和文) 睡眠および食習慣の乱れに起因した生活習慣病動物モデルの確立と病態解明

研究課題名(英文) Animal models for elucidation of the mechanisms of psychiatric symptoms induced by sleep and dietary habits

研究代表者

八百板 富紀枝 (YAOITA, Fukie)

東北医科薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：00382672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)： 現代社会では、多様な生活形態に起因する問題点があり、これらは生活習慣病の発症と強く関連する。本研究では、特に睡眠および食習慣の乱れに焦点を絞り、それぞれマウスに断続的断眠ストレスを負荷することおよびマウスを粉末食で飼育することに起因して発現する情動行動障害について、その発現機構を検討した。これらの検討から、断眠誘発の情動行動障害の発現には、ノルアドレナリン神経ならびにインクレチンの関与が示唆された。一方、粉末食飼育誘発の情動行動障害には、モノアミン神経系の関与ならびにグルココルチコイドの関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Numerous changes in human lifestyle in modern life increase the risk of disease. Especially, modern sleep and dietary habits are crucial factors affecting lifestyle disease. In our studies, we examined both the influence of intermittent sleep deprivation (SD) treatment and long-term powdered diet feeding on emotional behavior in mice, and focused on the mechanisms underlying these impaired behaviors. Our findings were as follows: SD treatment and long-term powdered diet feeding induced abnormal emotional behavior in elevated plus maze test. The SD affected noradrenergic neuron and incretin. On the other hand, long-term powdered diet feeding affected monoaminergic neuron and glucocorticoid. Therefore, these mice can be useful models for elucidation of the mechanisms of psychiatric symptoms induced by sleep and dietary habits.

研究分野：薬理学

キーワード：高架式十字迷路試験 インクレチン 睡眠習慣 食習慣 粉末食

1. 研究開始当初の背景

現代社会における問題点の一つに、多様な生活形態に起因する睡眠時間の短縮や食習慣の質的な低下が挙げられる。これらは生活習慣病の発症と強く関連しており、その症状は身体的なもののみならず精神的なものもある。しかし、その発症メカニズムについては、ほとんど明らかにされていない。

これまでに、マウスへのプラットフォーム法を使用した断続的断眠ストレス負荷により前頭皮質におけるモノアミン神経系の変化、自発運動量の増加、自発的交替行動の障害及び腸管輸送能の亢進状態などが認められることを報告していた。

また、長期間の粉末食により飼育されたマウスにおいて、前頭皮質におけるドパミン神経系の変化、自発運動量の増加、社会性行動の障害、血漿コルチコステロン濃度の増加、血圧の上昇及び糖代謝の異常などが認められることを報告していた。これらのうち、社会性行動の障害は不安関連行動の一つであるが、この方法以外に不安関連行動を評価できる方法として、高架式十字迷路試験がある。この方法を用い、断続的断眠ストレス負荷及び長期間粉末食飼育誘発性の情動行動障害を評価することで、不安関連行動の多角的な検討が可能であると考えた。

一方、長期間粉末食飼育により血圧の上昇が認められることについては、給餌される飼料形態が粉末であるため、顎の運動量が長期間に渡り低下していることを一つの因子と考えた。

以上のことを踏まえて、睡眠及び食習慣の乱れに起因して発現する精神的並びに身体的な症状の発現機構の解明のため、本研究に着手した。

2. 研究の目的

現代社会では、生活様式の変化から、生活習慣病の発症など様々な問題点がある。このような問題点は成人のみならず、子ども期を含めたヒトの一生の間に出現する情動行動障害などのあらゆる症状の発現に関与していることが推測できる。

本研究では、特に睡眠及び食習慣の乱れに焦点を絞り、これらに起因して発現する情動行動障害について、その発現機構を検討することを目的とした。このことを明確にすることにより、特異的治療法や予防方法の開発促進に寄与することが期待できる。さらには、将来を担う子どもの健やかな発育・発達において、睡眠及び食習慣の重要性の根拠を国民に提示することができると考えている。

3. 研究の方法

離乳後 3 週令の ddY 系及び Balb/c 系マウスを使用し、それぞれ断続的に断眠ストレスを負荷すること及び粉末食で飼育することを行った。これらの処置により発現することが判明した高架式十字迷路試験における不

安関連行動の障害を指標として、その発現機構についての検討を行った。このとき、睡眠-覚醒は、ノルアドレナリン神経系及びインクレチンの分泌に深く関与することが知られていることから、ノルアドレナリン神経関連薬並びにインクレチン製剤を使用した検討を行った。

一方、長期間の粉末食飼育に起因する高架式十字迷路試験における不安関連行動の障害では、これまでに別の行動指標においてであるが、ドパミン神経系の関与が示唆されていたため、ドパミン神経に作用する薬物、加え、ノルアドレナリン神経に作用する薬物を用いた検討を行った。

また、長期間粉末食飼育マウスでは、これまでに、血漿コルチコステロン濃度の増加を明らかにしている。この増加と不安関連行動の障害及び血圧の上昇との関与を探るため、飼育途中から餌を置換し、不安関連行動の障害、血圧の上昇及び血漿コルチコステロン濃度の増加が改善されるかどうかについての検討を行った。さらに、長期間粉末食飼育で認められる血圧の上昇については、マウスを拘束した状態でプラスチックプレートを噛み砕かせること及び飼育途中から餌を置換することを行い、これらの影響を検討した。

4. 研究成果

(1) マウスへの断続的断眠ストレス負荷及び長期間の粉末食飼育により、高架式十字迷路試験において、不安関連行動に障害が認められることが判明した。

これらのことから、睡眠及び食習慣がマウスの不安関連行動の障害に影響を及ぼすことが明らかとなった。

(2)(1)の成果である断続的断眠ストレス負荷により誘発された不安関連行動の障害は、アドレナリン 2A 受容体アゴニストであるオキシメタゾリンで改善されることを明らかとし、その作用は、非選択的 2 受容体遮断薬のヨヒンビン並びに選択的 2A 受容体遮断薬の BRL44408 により抑制されることが判明した。さらに、このマウスの海馬では、ノルアドレナリントランスポーター (NAT) 及び 2A 受容体の発現量に変化が生じていることが明らかとなった。

これらのことから、断続的断眠ストレス負荷により誘発された不安関連行動の障害の発現には、ノルアドレナリン神経の機能変化が関与する可能性が示唆された。

(3)(1)の成果である断続的断眠ストレス負荷により誘発された不安関連行動の障害は、インクレチン製剤であるエキセナチドの脳室内投与で改善されるが、末梢投与では改善されないことを明らかにした。さらに、すでに報告している断続的断眠ストレス負荷により誘発される腸管輸送能亢進状態に対してもエキセナチド脳室内投与が改善作

用を示すことを明らかにした。

これらのことから、断続的断眠ストレス負荷に起因する各症状の発現に対してインクレチンが関与していることが判明した。

(4)(1)の成果である長期間の粉末食により飼育されたマウスに認められる不安関連行動の障害は、NAT 阻害薬のアトモキセチン、モノアミントランスポーター阻害薬のメチルフェニデート並びに選択的ドパミン D4 受容体アゴニストの PD168007 により改善されることが明らかとなった。また、このマウスの前頭皮質では、NAT 並びに 2A 受容体の発現量に変化が生じていることが判明した。

これらのことから、粉末食飼育誘発の不安関連行動の障害の発現には、ノルアドレナリン及びドパミン神経系の機能変化が関与する可能性が示唆された。

(5) これまでに、長期間粉末食で飼育を行ったマウスでは、血漿コルチコステロン濃度の増加及び血圧の上昇が認められることを報告してきた。本研究では、飼育途中に粉末食から固形食に置換を行うことで、血漿コルチコステロン濃度の増加、血圧の上昇及び(1)の成果である長期間の粉末食により、飼育されたマウスに認められる不安関連行動の障害が改善されるかどうかについて検討を行った。その結果、これらの3つの指標は餌の置換によって改善することが明らかとなった。

これらのことから、粉末食飼育により誘発された血漿コルチコステロン濃度の増加及び血圧の上昇及び不安関連行動の障害の発現に、視床下部 - 下垂体 - 副腎 (HPA 系) が関与している可能性が示唆された。

(6)(5)の成果より、長期間粉末食飼育マウスで認められる血圧の上昇は、飼育途中から固形食へ置換することで抑制されることが判明した。これらの粉末食及び固形食は、同じ栄養成分を含む。また粉末食及び固形食飼育群との間には、飼育期間を通して体重に差が無いことを既に報告している。従って、単に餌の硬度の違いが顎の運動量に影響し、そのことが血圧の上昇に関与しているかを検討した。その結果、マウスを拘束しプラスチックプレートを噛み砕くことが可能な群及び拘束のみでプレートが無い群を比較したが、血圧に変化がないことが判明した。この傾向は固形食群においても同様であった。

これらのことから、長期間の粉末食飼育により、顎や咬筋への負荷が不足してしまうこと以外の因子が粉末食飼育群の血圧上昇に関与している可能性が示唆された。しかし、今回使用した血圧測定装置は、保温箱の中のホルダーにマウスを 20 分間固定した後に計測するものであった。このような測定条件は、連日の拘束の状態と近似しており、そのために体を固定されることへの慣れがマウスに

生じた可能性も考慮する必要があると考えている。

<引用文献>

Masahiro Tsuchiya, Fukie Niijima-Yaoita, Hiroyuki Yoneda, Kou Chiba, Shinobu Tsuchiya, Yoshihiro Hagiwara, Keiichi Sasaki, Shunji Sugawara, Yasuo Endo, Koichi Tan-No, Makoto Watanabe, Long-term feeding on powdered food causes hyperglycemia and signs of systemic illness in mice, *Life Sciences*, **103**, 8-14 (2014).

Fukie Niijima-Yaoita, Masahiro Tsuchiya, Hiroko Saito, Yuka Nagasawa, Shigeo Murai, Yuichiro Arai, Osamu Nakagawasai, Wataru Nemoto, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No, Influence of a long-term powdered diet on the social interaction test and dopaminergic systems in mice, *Neurochemistry International*, **63**, 309-315 (2013).

Fukie Niijima, Hiroko Saito, Shigeo Murai, Yuichiro Arai, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No, Hiromi Watanabe, Hajime Hiraga, Takeshi Tadano, Effects of atomoxetine on levels of monoamines and related substances in discrete brain regions in mice intermittently deprived of rapid eye movement sleep, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **33**, 617-621 (2010).

Fukie Niijima, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No, Takeshi Tadano, Inhibitory effects of methylphenidate and atomoxetine on jumping behavior induced by intermittent rapid eye movement (REM) sleep deprivation stress in mice, *Biogenic Amines*, **20**, 99-111 (2006).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Fukie Niijima-Yaoita, Yuka Nagasawa, Masahiro Tsuchiya, Yuichiro Arai, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No, Effects of methylphenidate on the impairment of spontaneous alternation behavior in mice intermittently deprived of REM sleep, *Neurochemistry International*, **100**, 128-137(2016). 査読あり.

DOI: 10.1016/j.neuint.2016.09.010

八百板富紀枝, 断続的なレム断眠負荷による病態動物モデルの作製, *BIO Clinica*, **31**, 993-995 (2016). 査読なし.

八百板富紀枝, 睡眠や食習慣の乱れに起因した精神神経障害動物モデルの作製, 薬学雑誌, 136, 895-904 (2016). 査読あり.

DOI: 10.1248/yakushi.15-00283

[学会発表](計12件)

八百板富紀枝, 永澤佑佳, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 只野武, 丹野孝一, 断続的レム断眠負荷誘発性交替率低下に対するメチルフェニデートの効果, 日本薬学会第137年会, 2017年3月24日~27日, 仙台国際センター(宮城県仙台市).

Hiroyuki Yoneda, Masahiro Tsuchiya, Fukie Niiijima-Yaoita, Shinobu Tsuchiya, Yoshihiro Hagiwara, Keiichi Sasaki, Shunji Sugawara, Yasuo Endo, Koichi Tan-No, Makoto Watanabe, Long-term feeding on powdered food causes hyperglycemia and signs of systemic illness in mice, International Conference on Food for Health in Niigata 2016, 2016年11月10日~11日, TOKI MESSE(新潟県新潟市).

八百板富紀枝, 永澤佑佳, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 只野武, 丹野孝一, 断続的断眠ストレス負荷誘発性交替行動障害における海馬誘導型一酸化窒素合成酵素の関与, 第67回日本薬理学会北部会, 2016年9月30日, 北海道大学学術交流会館(北海道札幌市).

八百板富紀枝, 村上裕樹, 柴田楓, 菅原彩, 只野武, 丹野孝一, 過敏性腸症候群モデルの消化器症状におけるアドレナリン2受容体サブタイプの関与, 第55回日本薬学会東北支部大会, 2016年9月25日, 奥羽大学(福島県郡山市).

八百板富紀枝, 柴田楓, 菅原彩, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 長期粉末飼育誘発性マウス異常行動に対するADHD治療薬の効果, 平成28年度東北医科薬科大学創薬研究センターシンポジウム, 2016年6月18日, 東北医科薬科大学(宮城県仙台市).

武藤正通, 八百板富紀枝, 村上裕樹, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 過敏性腸症候群モデルの消化器症状における腸管2cアドレナリン受容体の関与, 第54回日本薬学会東北支部大会, 2015年9月26日, 岩手医科大学(岩手県紫波郡矢巾町).

藤巻玲香, 八百板富紀枝, 佐々木貴史, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 長期粉末飼育誘発性マウス異常行動に対するメチルフェニデートの効果, 第54回日本薬学会東北支部大会, 2015年9月26日, 岩手医科大学(岩手県紫波郡矢巾町).

八百板富紀枝, 永澤佑佳, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 根本互, 中川西修, 丹野孝一,

只野武, 断続的断眠ストレス負荷誘発性情動行動障害に対するADHD治療薬の効果, 第66回日本薬理学会北部会, 2015年9月18日, 富山国際会議場(富山県富山市).

高橋由衣, 八百板富紀枝, 名村幸大, 西館俊介, 菅野秀一, 石川正明, 米澤彦彦, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 断続的断眠ストレス負荷誘発性腸管輸送能の亢進状態における腸管2アドレナリン受容体の発現について, 第53回日本薬学会東北支部大会, 2014年10月5日, いわき明星大学(福島県いわき市).

名村幸大, 八百板富紀枝, 永澤佑佳, 西館俊介, 高橋由衣, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 断続的断眠ストレス負荷誘発性異常行動に対するADHD治療薬の効果について, 第53回日本薬学会東北支部大会, 2014年10月5日, いわき明星大学(福島県いわき市).

西館俊介, 八百板富紀枝, 名村幸大, 高橋由衣, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 長期粉末飼育による低不安行動の発現におけるGABA-A受容体の関与, 第53回日本薬学会東北支部大会, 2014年10月5日, いわき明星大学(福島県いわき市).

八百板富紀枝, 西館俊介, 高橋由衣, 名村幸大, 土谷昌広, 荒井裕一朗, 根本互, 中川西修, 只野武, 丹野孝一, 食習慣の質的低下がマウス不安関連行動に及ぼす影響について, 2014年9月26日~27日, コラッセ福島(福島県福島市).

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/yakuri/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八百板富紀枝(YAOKITA, Fukie)

東北医科薬科大学・薬学部・講師

研究者番号: 00382672