

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006-2008

課題番号：18380080

研究課題名（和文）中枢性疲労評価システムの構築と疲労制御を指向した食品開発基盤の整備  
 研究課題名（英文）Construction of evaluation system of central fatigue and its application to developing basis of food aimed for control of human fatigue

研究代表者

井上 和生 (INOUE KAZUO)

京都大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号: 80213148

研究成果の概要：

マウスにおいて軽度の運動負荷によって引き起こされ、自発行動量の低下で示される疲労が回復する過程を経時的に測定し、疲労度を評価する系を確立した。この評価系が摂取した物質により抗疲労・疲労回復作用を持つもの、および疲労を促進するものの両方を検出できることを行動する動機に影響する薬物で確認した。この系でグルコース、クエン酸の直前摂取が、またホエータンパク質の慢性摂取が疲労の軽減作用を持つことを示唆した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	8,300,000	2,490,000	10,790,000
2007年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2008年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	15,000,000	4,500,000	19,500,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：疲労、行動学、食品、神経科学、ストレス、抗疲労、疲労回復

## 1. 研究開始当初の背景

日本では疲労を感じている人の割合が疫学調査で6割程度に達し、社会的に大きな問題となっている。抗疲労、あるいは疲労回復機能を持つ食品によって疲労を軽減することは多くの人に求められていることであり、実際のそのような作用をうたう食品が販売されている。しかしながらその作用が科学的に証明されたものは未だないのが実情である。これには、疲労、特に中枢性疲労(=疲労感)の大きさをどのように評価すれば良いか、適切な方法についてコンセンサスが得られていないことが大きな現認の一つと考えられ

た。そこで、様々な知見と新たな疲労度測定法の開発などを統合し、科学的な評価系を構築することが求められていた。

## 2. 研究の目的

## (1) 肉体的疲労を伴わない疲労モデルの確立

現代の日本では強い肉体的労作に従事することで疲労が生じる人の割合は相対的にかなり低くなっていると考えられる。即ち、日本人の疲労の多くの部分は精神的な疲労に寄るものが多いと推察されるが、それにも関わらず、その発生機構を研究するため

の実験動物モデルは適切なものが存在しない。そこで本研究では精神的ストレスを負荷する装置であるコミュニケーションボックスを用い、ラットに疲労様の行動が引き起こされるかどうかを検討した。

(2) 動物行動学的手法を用いた疲労様行動の詳細な解析

疲労度を測定する方法として一般的に用いられるものは実験動物の自発行動を測定する方法で、疲労時には積極的に行動する意欲が低下することを利用し、自発行動量の低下を観察することにより疲労度の大きさとする方法である。この方法は新規環境で測定するため、本来の自発行動に探索行動が上乘せられ、疲労度が小さく見積もられる可能性がある。そこでホームケージに自発回転カゴを取り付け、一定時刻に運動できるよう訓練したラットを用い、疲労を引き起こすような負荷をかけた場合に両測定法での結果間に相違があるかどうか疲労度測定法としての妥当性を検討した。

(3) 抗疲労および迅速な疲労回復機能を有する食品のスクリーニングシステムの開発疲労に対する処方として、体力を増強する、あるいは心身の消耗を早期に回復させる作用を持つ食品のスクリーニングが可能なシステムの構築を目的とし、抗疲労・疲労回復作用はどのような測定系で評価できるかを明らかにする。疲労困憊には至らない適度な運動負荷を動物にかけ、その後自発行動の回復を経時的に測定する系により疲労回復度を評価できるかどうかを検討した。

### 3. 研究の方法

(1) 肉体的疲労を伴わない疲労モデルの確立

コミュニケーションボックスは9つの区画の底面に電気刺激するグリッドが設けられ、交互に絶縁のための底板を置き、電気刺激を受けるラットを隣の区画に入れられたラットが観察するように設計されている。電気刺激を受けずに観察するだけのラットは電撃を受けるラットの様子を見、鳴声を聴いたり糞尿の臭いをかぐことによって恐怖による精神的ストレスを受ける。このように精神的ストレスを受けたラットの、オープンフィールドでの自発行動量、およびホームケージに設けられた回転ケージでの自発運動量を測定し、コミュニケーションボックスによる精神的ストレスが疲労様の行動を引き起こすかどうかを検討した。

(2) 動物行動学的手法を用いた疲労様行動の詳細な解析

① [精神的ストレスと脳脊髄液中活性型 TGF- $\beta$  濃度] コミュニケーションボックスによる精神的ストレスを受けたラットの自発行動量、および回転ケージでの自発運動

量を検討した。また同じストレスを受けたラットの脳脊髄液中の活性型 TGF- $\beta$  濃度の測定を行った。

② [運動強度による疲労様行動発現機構の差異] また疲労様行動がどの程度の肉体的負荷から生じるのかが検討するため、トレッドミルによる走行のうち15m/minと20m/minで30分間の運動負荷を課し、その後自発行動量と脳脊髄液中活性型 TGF- $\beta$  濃度の測定を行った。

(3) 抗疲労および迅速な疲労回復機能を有する食品のスクリーニングシステムの開発10m/min、の低速で1時間の走行負荷を課した後のマウスの自発行動量の変化を経時的に測定し、その変化を記録した。精神的な負荷によってこの変化が影響を受けることを確認するためセロトニンの特異的再取り込み阻害剤であるシタロプラム、およびドーパミンアンタゴニストであるハロペリドールを投与した場合に行動量回復のパターンがどのように変動するかを検討した。運動負荷の30分前に水、グルコース、クエン酸などの有機酸溶液を経口投与し、これらが運動負荷後の行動量回復パターンにどのように影響するかを検討した。

市販飼料として MF (オリエンタル酵母), AIN93 配合を基本としタンパク質源としてカゼイン、ホエー、ダイズタンパクを含む精製飼料をそれぞれマウスに10日間摂取させ、運動負荷後の自発行動回復パターンがどのように影響されるかを検討した。

### 4. 研究成果

(1) 肉体的疲労を伴わない疲労モデルの確立

コミュニケーションボックスにより精神的ストレスを課したラットは摂食量が有意に減少したことから十分なストレスを受けていると考えられた。このラットでオープンフィールドでの自発行動量測定を行ったところ、ストレスを与えていないコントロールラットの行動量に比べて有意に高い値を示し、通常の評価であれば疲労は起こっていないと判断せざるを得なかった。しかし同じストレスを課したラットで、回転カゴによる自発運動量を測定したところ、コントロールラットの値に比べて統計的な有意差はなかったものの低い値を示した。この結果は、精神的ストレスにより自発的に運動する動機が抑制される傾向を示している。ヒトでは精神的ストレスを受けた後で疲労を感じることは多いことは経験的に理解される。ラットに精神的ストレスを課した場合に、簡便な方法として一般に用いられる自発行動量の減少を疲労度の大きさと見なす測定法では疲労がないと判定されたのは一見奇異な結果ではあるが、ヒトで受ける

ことがある精神的ストレスとは明らかに種類が異なるストレスを課していることが原因であるかも知れない。一方運動する動機の大さで評価した場合は疲労様行動が観察された。即ち、同じ精神的ストレスであっても測定法の差異により疲労様行動がありとされる場合となしとされる場合があることが示された。

(2) 動物行動学的手法を用いた疲労様行動の詳細な解析

①[精神的ストレスと脳脊髄液中活性型 TGF- $\beta$ 濃度] 運動により疲労させた動物の脳脊髄液中には活性型 TGF- $\beta$ が増大しており、脳内に TGF- $\beta$ を投与すると行動量が減少し疲労様の行動が現れることを我々は既に報告している。コミュニケーションボックスによる精神的ストレスは運動と同様に脳脊髄液中の活性型 TGF- $\beta$ 濃度を増大させるかを検討したが、ラット脳脊髄液中の活性型 TGF- $\beta$ 濃度に変化は見られなかった。このことから、自発的な運動に関する同期の減少に脳内活性型 TGF- $\beta$ は関与しないことが示唆された。

②[運動強度による疲労様行動発現機構の差異] 15m/min, および 20m/min の速度で 30 分間の走行をラットに課した場合、その後の自発行動量は運動強度に関わらず有意に低下した。一方運動負荷後の脳脊髄液中の活性型 TGF- $\beta$ 濃度は、20m/min で走行させた場合は有意に増加したが 15m/min の場合は有意な変化は見られなかった。このことから、同じ運動負荷による疲労であっても疲労様行動の発現には異なる機構が関与することが示唆された。

(3) 抗疲労および迅速な疲労回復機能を有する食品のスクリーニングシステムの開発 10m/min の低速で 30 分間走行負荷を課したマウスの自発行動回復は、コントロールとして何も投与していないマウスのそれと比べて、マウスで自発行動の増加を起こすことが報告されているシタロプラムではより早期に自発行動が増大し、運動負荷を行っていないマウスの自発行動と有意差が無くなるまでの経過時間が短くなった。これに対して自発行動を抑制することが示されているハロペリドール投与では同じ運動負荷でも自発行動低下が長時間続いた。このことから、この測定系では同一の運動負荷に対し自発行動を早期に回復させる(=抗疲労・疲労回復傾向)効果のあるもの、逆にその回復を抑制する(=疲労促進?)効果を持つものの両方向の作用が検出しうることを示された。

①[急性的に投与された食品成分の効果] この実験系を用い、抗疲労および迅速な疲労回復作用を持つ食品(成分)をスクリーニングを試みた。強制走行を開始する 30 分前

に水、グルコース、クエン酸、コハク酸を強制投与し、マウスで自発行動の回復を比較した。その結果、水に比べてグルコースとクエン酸では早期に自発行動が回復したが、コハク酸投与では逆に自発行動の回復が抑制された。抗疲労作用を示した食品成分はこの実験のみでは単に運動時のエネルギー源となって身体の消耗を抑制したのか、あるいはエネルギー代謝の効率などに影響して負荷した運動を相対的に軽度なものとしたのか、あるいは精神的な部分への影響により疲労感が軽減されたのか、などそのメカニズムについては明らかとはできない。しかし、単なる有機酸であってもその効果が自発行動の早期回復、即ち抗疲労・疲労回復的な面を持つように見えるもの、あるいは自発行動を抑制して疲労を促進するように見えるものがあることが明らかとなった。

②[比較的長期摂取させた食品成分の効果] マウスを飼育する際に混餌した食品成分が運動負荷後の自発行動回復にどのような作用をもつかを検討した。市販飼料(MF)を摂取させた群の自発行動回復をコントロールとして、カゼイン、ホエー、大豆タンパク質を含む飼料を 10 日間摂取したマウスでの自発行動回復を比較したところ、カゼイン、および大豆タンパク質群ではコントロール群とほぼ同様の回復曲線を示し、有意な差は観察されなかった。これに対しホエータンパク質を摂取した群では早期に自発行動回復が見られ、抗疲労・疲労回復作用を有する可能性が示された。今後は他の疲労度測定系でも同様の結果が得られるのか、あるいはその機構がどのようなものなのかを明らかにする必要がある。

## 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)

[学会発表] (計 1 件)

水野華与, 藤川哲兵, 山田あゆみ, 浜田拓, 井上和生, 伏木亨

「精神的ストレスによる中枢性疲労発生に関する研究」、日本農芸化学会関西支部支部例会 (第 458 回講演会)、2009 年 2 月 7 日、京都市

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 和生 (INOUE KAZUO)

京都大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号: 80213148

(3)連携研究者

都築 巧 (Tsuzuki Satoshi)

京都大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号: 50283651

大貫宏一郎 (Ohnuki Koichiro)

九州大学・ユーザーサイエンス機構・特任准  
教授

研究者番号: 50378668