

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00768

研究課題名(和文) 睡眠と食習慣に焦点をあてた精神神経疾患モデルの病態解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism and new therapeutic methods for neuropsychiatric disease elicited by sleep and eating habits

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

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、ライフスタイルが変化したこと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。この関連性を明らかにするため、これまでに確立した睡眠や食習慣を反映させた精神神経疾患の病態動物モデルを使用し、それぞれの症状発現におけるヒスタミン神経系およびγ-アミノ酪酸(GABA)神経系の関与について検討を行った。

これらの検討から、睡眠習慣を反映した断続的断眠ストレス負荷マウスにおける低不安の発現には、ヒスタミンH1及びH3受容体が関与すること並びに食習慣を反映した長期粉末食飼育マウスにおける低不安の発現には、H2、H3受容体及びGABA-A受容体が関与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、適切な睡眠並びに食習慣の維持は、低不安などの情動症状の発現を予防する可能性があることを示唆したものである。すなわち、我々の社会生活において、ともすると軽視されることの多いこれらの生活習慣の重要性について、科学的な側面から検討した意義のある研究といえる。また、今回、上記の情動症状の発現に関与する受容体の存在を明らかにすることができた。これは、これらの受容体をターゲットとする治療薬の開発において重要な情報を提供するものである。以上、本研究において得られた知見は、子どもから大人までを含めた国民の健康維持に寄与し、医療費削減などの面においても国民の利益になるものであると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In our modern society, there are some problems caused by changes in lifestyle, which are strongly associated with the development of lifestyle-related diseases. To clarify these relationships, we used the established animal models of neuropsychiatric disorders that reflect sleep and eating habits, and investigated the involvement with histamine nervous system and γ-aminobutyric acid (GABA) nerve system in their symptoms. From these studies, we suggested that histamine H1 and H3 receptors are involved in the expression of hypoanxiety behavior in sleep-deprived mice that reflects sleep habits. Moreover, the involvement with H2, H3 and GABA-A receptors in the expression of hypoanxiety behavior in long-term powdered diet-fed mice that reflects dietary habits were suggested.

研究分野：行動薬理学

キーワード：ヒスタミン 不安関連行動 睡眠 食生活

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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、その病態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ホーム法を使用した睡眠剥奪（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、自発運動量の増加及び自発的交替行動の障害などが認められることを報告した（Nijijima et al., 2006, Nijijima et al., 2010, Nijijima-Yaoita et al., 2016）。また、長期間にわたる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、血圧の上昇並びに糖代謝の異常などが認められることを報告した（Nijijima-Yaoita et al., 2013, Tsuchiya et al., 2014）。これらの結果を踏まえて、社会性行動の障害は不安関連行動の一つであることから、その評価法である高架式十字迷路試験を用いてマウスへの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検討することで、不安関連行動に関する多角的な知見を得ることが可能であると考えた。

一方、不安関連行動の発現において、各ヒスタミン受容体欠損マウスを使用した検討の結果から、中枢ヒスタミン神経系の重要性が示唆されている。このヒスタミン神経系の細胞体は、後部視床下部にある結節乳頭核に存在することが知られているが、この部位は、睡眠覚醒サイクルの維持においても重要な働きを担っていることが明らかにされている（Schneider et al., 2014a, Schneider et al., 2014b）。

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情動障害などの不安関連行動に代表される精神的な症状の発現機構の解明を目的に、特に、中枢ヒスタミン神経系の関与に注目し研究に着手した。

2. 研究の目的

現代社会では、生活形態の時代的な変化に起因する生活習慣病が問題となっている。その症状の一つに、身体的並びに情動行動の障害といった精神的なものもあり、これらの影響が成人のみならず、子どもの健康な発育にまで及ぶことが懸念されている。

そこで本研究では、生活習慣のうち、特に睡眠及び食習慣に注目し、それぞれ、離乳後のマウスに睡眠剥奪ストレスを繰り返し負荷すること及び長期間粉末食で飼育することを行い、これらに起因して発現する情動行動障害（不安関連行動）について、その発現機構を検討することを目的とした。具体的には、これまでに検討してきたカテコールアミン神経系の関与に加え、不安関連行動や睡眠に関与する脳内ヒスタミン神経系の関与並びに不安関連行動との関連性が知られている アミノ酪酸（GABA）神経系の関与について検討を行った。

3. 研究の方法

(1)断続的断眠ストレス 離乳後3週令の ddY 系雄性マウスを使用し、水を張った水槽に面積の小さな島（直径 1.8 cm）を設置し、その上に動物を置くことで睡眠を剥奪する方法、すなわちプラットホーム法を用いて、断続的に断眠ストレス（20 時間 / 日）を負荷することを行った。負荷日数は 1、3 及び 5 日間とした。断続的断眠ストレス群の対照群としては、これまでも用いてきたケージ対照群に加え、水槽に面積の大きな島（直径 10 cm）を設置した水槽対照群を設けることで、実験条件の妥当性の確認を行った。

(2)長期粉末食飼育 離乳後3週令の Balb/c 系雄性マウスを使用し、17 週間粉末食で飼育することを行った。この粉末食飼育群の対照群としては、飼料の栄養成分は同一であるが形状がペレットタイプ（固形）のものを給餌した固形食飼育群を設けた。

(3)行動評価 高架式十字迷路試験を使用し、不安関連行動の評価を行った。この迷路は、床から 50 cm の高さに、安全な壁の有るアームと危険と考えられる壁の無いアームが直行する形状である。迷路の各アームを行き来する回数（総アーム進入回数）が多いとき、運動量の亢進状態を、一方、壁の無いアームに滞在する時間（オープンアーム滞在時間）が長いとき、低不安状態であることが推測できる。これらの行動を指標として、マウスに断続的断眠ストレスを負荷したとき及び長期間粉末食で飼育したときに発現することが判明している、総アーム進入回数の増加並びにオープンアーム滞在時間の増加に対する、ヒスタミン神経関連薬や GABA - A 受容体関連薬の影響を検討した。

(4)酵素発現量の評価 ヒスタミン生合成酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素（HDC）の遺伝子及びタンパク質発現量について、PCR 法及びウェスタンブロット法を使用し検討した。これらの検討において、睡眠覚醒サイクルや不安関連行動に関与する部位とされる視床下部をサンプルとした。

4. 研究成果

(1)マウスへの断続的断眠ストレス負荷後の高架式十字迷路試験において、オープンアーム滞

在時間の増加及び総アーム進入回数の増加といった不安関連行動に障害が認められることが判明している。これまでは、通常の飼育を行ったマウスを対照群(ケージ対照群)としていたが、今回は実験条件の妥当性を検討するため、負荷日数を1、3及び5日間とし、水槽対照群も含めた検討を行った。

その結果、負荷日数3日目において、両行動指標共に、ケージ対照群及び水槽対照群の両対照群と比較したとき、有意な変化が断続的断眠ストレス群において認められたことから、水槽条件を考慮したときの負荷日数としては3日目に妥当性があることが示唆された(図1)。

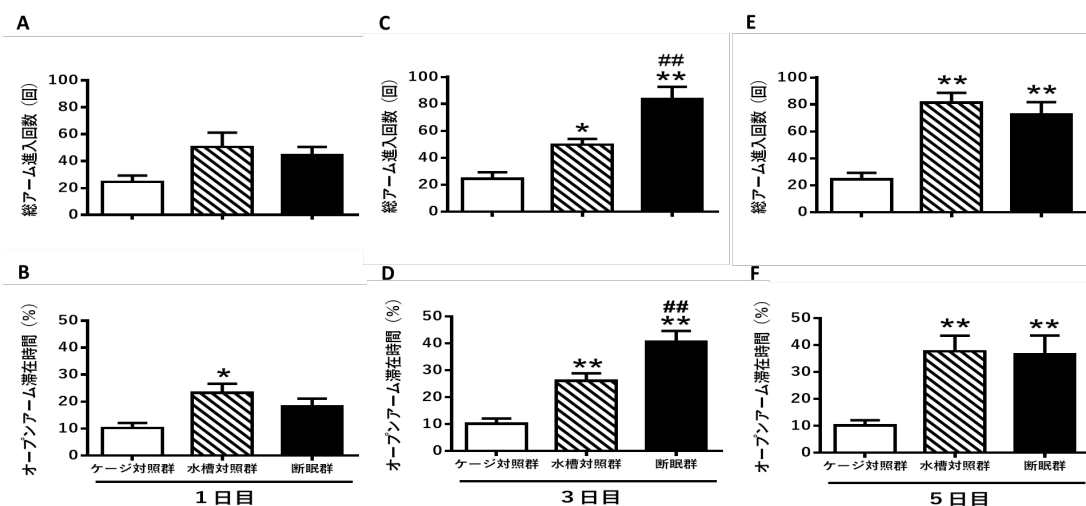


図1 高架式十字迷路試験における断続的断眠ストレス負荷日数に依存した総アーム進入回数の増加(運動量亢進)及びオープンアーム滞在時間の増加(低不安行動)

(2)妥当性が明らかとなった、断続的断眠ストレス負荷3日目のオープンアーム滞在時間の増加及び総アーム進入回数の増加における、脳内ヒスタミン神経系の関与について検討するため、ヒスタミン前駆体であるヒスチジン、ヒスタミンH1受容体遮断薬のピリラミン、H2受容体遮断薬のゾランチジン、H3受容体遮断薬のチオペラミド及びH4受容体遮断薬のJNJ777120を腹腔内投与し、これらの薬物投与による影響について検討を行った。その結果、断続的断眠ストレス群のオープンアーム滞在時間に対して、ヒスチジンは有意に増加作用を示すこと、ピリラミン及びチオペラミドは有意な抑制作用を示すことが判明した。一方、ゾランチジン及びJNJ777120は有意な影響を示さないことが明らかとなった。さらに、中枢ヒスタミン神経の細胞体が存在する視床下部をサンプルとして、HDCの遺伝子発現及びタンパク発現を検討したところ、断続的断眠ストレス負荷群において、発現量が有意に増加することが判明した。

以上の結果から、この断続的断眠ストレス負荷により発現するオープンアーム滞在時間の増加、すなわち低不安行動の発現には、視床下部において発現量が増加したHDCがヒスタミンを産生し、そのヒスタミンによるH1受容体及びH3受容体への刺激作用が関与している可能性が示唆された。

(3)これまでに、マウスを長期間粉末食で飼育することにより、社会性行動試験において障害(社会性行動時間の増加)が認められること並びに高架式十字迷路試験において障害(オープンアーム滞在時間の増加及び総アーム進入回数の増加)が認められることを明らかとしている。いずれの行動試験も不安関連行動を評価するものである。初めに、不安との関連について調べるため、高架式十字迷路試験における粉末食飼育群の変化に対して、抗不安薬のジアゼパム及び選択的GABA A受容体遮断薬のピククリンを投与し検討を行った。その結果から、ピククリンの投与は、粉末食飼育群のオープンアーム滞在時間の増加を抑制することが判明した。一方、固形食飼育群に対するピククリン投与による有意な影響は認められなかった。次に、ジアゼパムの投与は、粉末食飼育群に対する有意な影響は認められなかったが、固形食飼育群に対しては、抗不安効果(低不安行動、オープンアーム滞在時間の増加)の発現が認められることが判明した。

以上の結果から、長期間粉末食で飼育することにより発現するオープンアーム滞在時間の増加、すなわち低不安行動の発現には、GABA A受容体への刺激が過剰であることが関与している可能性が示唆された。

(4)長期粉末食飼育を行ったマウスに認められる、オープンアーム滞在時間の増加及び総アーム進入回数の増加における、脳内ヒスタミン神経系の関与について検討するため、H1受容体遮断薬のピリラミン、H2受容体遮断薬のゾランチジン、H3受容体遮断薬のチオペラミド及びH4受容体遮断薬のJNJ777120を腹腔内投与し、これらの薬物投与による影響について検討を行った。その結果、粉末食飼育群のオープンアーム滞在時間に対して、ゾランチジン及びチオペラミドの投与は有意な抑制作用を示すことが判明した。一方、ピリラミン及びJNJ777120の投与

は有意な影響を示さないことが明らかとなった。次に、ヒスタミン神経の細胞体が存在する視床下部をサンプルとして、HDC の遺伝子発現及びタンパク発現を検討したところ、粉末食飼育群及び固形食飼育群との間に有意な変化は認められないことが判明した。

以上の結果から、長期間粉末食で飼育することにより発現する低不安行動には、ヒスタミンによる H2 受容体及び H3 受容体の活性化が関与する可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Niijima F, Nakagawasai O, Tan-No K, Tadano T. Inhibitory effects of methylphenidate and atomoxetine on jumping behavior induced by intermittent rapid eye movement (REM) sleep deprivation stress in mice. *Biog. Amines*, 20, 2006, 99-111

Niijima F, Saito H, Murai S, Arai Y, Nakagawasai O, Tan-No K, Watanabe H, Hiraga H, Tadano T. Effects of atomoxetine on levels of monoamines and related substances in discrete brain regions in mice intermittently deprived of rapid eye movement sleep. *Biol. Pharm. Bull.*, 33, 2010, 617-621

Niijima-Yaoita F, Nagasawa Y, Tsuchiya M, Arai Y, Tadano T, Tan-No K. Effects of methylphenidate on the impairment of spontaneous alternation behavior in mice intermittently deprived of REM sleep. *Neurochem. Int.*, 100, 2016, 128-137

Niijima-Yaoita F, Tsuchiya M, Saito H, Nagasawa Y, Murai S, Arai Y, Nakagawasai O, Nemoto W, Tadano T, Tan-No K. Influence of a long-term powdered diet on the social interaction test and dopaminergic systems in mice. *Neurochem. Int.*, 63, 2013, 309-315

Tsuchiya M, Niijima-Yaoita F, Yoneda H, Chiba K, Tsuchiya S, Hagiwara Y, Sasaki K, Sugawara S, Endo Y, Tan-No K, Watanabe M. Long-term feeding on powdered food causes hyperglycemia and signs of systemic illness in mice. *Life Sci.*, 103, 2014, 8-14

a) Schneider EH, Neumann D, Seifert R. Modulation of behavior by the histaminergic system: lessons from H1R- and H2R-deficient mice. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 42, 2014, 252-266; b) Schneider EH, Neumann D, Seifert R. Modulation of behavior by the histaminergic system: lessons from HDC-, H3R- and H4R-deficient mice. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 47, 2014, 101-121

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fukie Yaoita, Kouta Namura, Kaede Shibata, Sayaka Sugawara, Masahiro Tsuchiya, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No	4. 巻 43
2. 論文標題 Involvement of the Hippocampal Alpha2A-Adrenoceptors in Anxiety-Related Behaviors Elicited by Intermittent REM Sleep Deprivation-Induced Stress in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	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） -	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 Fukie Yaoita, Masahiro Tsuchiya, Yuichiro Arai, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No	4. 巻 124
2. 論文標題 Involvement of catecholaminergic and GABAergic mediations in the anxiety-related behavior in long-term powdered diet-fed mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurochem. Int.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuint.2018.12.002	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 Fukie Yaoita, Masamichi Muto, Hiroki Murakami, Shiori Endo, Mifuyu Kozawa, Masahiro Tsuchiya, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No	4. 巻 186巻
2. 論文標題 Involvement of peripheral alpha2A adrenoceptor in the acceleration of gastrointestinal transit and abdominal visceral pain induced by intermittent deprivation of REM sleep	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiol. Behav.	6. 最初と最後の頁 52-61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.physbeh.2018.01.010.	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Fukie Yaoita, Masahiro Tsuchiya, Yuichiro Arai, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No
2. 発表標題 Involvement of catecholaminergic and GABAergic mediations in the anxiety-related behavior induced by long-term powdered food feeding
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八百板富紀枝, 宮澤 将之, 土谷 昌広, 土谷 忍, 神崎 展, 只野 武, 丹野 孝一
2. 発表標題 長期粉末食飼育マウスにおける結腸機能と免疫細胞の関連性
3. 学会等名 第70回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八百板富紀枝, 長谷山咲子, 宮澤 将之, 野田 芙優, 土谷 昌広, 丹野 孝一
2. 発表標題 長期粉末食飼育誘発性低不安行動におけるヒスタミン神経系の関与
3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八百板富紀枝, 名村幸大, 柴田 楓, 菅原 彩, 土谷昌広, 只野 武, 丹野孝一
2. 発表標題 断続的断眠誘発性衝動性様行動における海馬 2A受容体の関与
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukie Yaoita, Keigo Kawanami, Hiroki Imaizumi, Takeshi Tadano, Koichi Tan-No
2. 発表標題 Involvement of peripheral alpha2A adrenoceptor in the acceleration of gastrointestinal transit and abdominal pain induced by intermittent sleep deprivation
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八百板富紀枝、川浪啓豪、今泉宏紀、根本互、中川西修、丹野孝一
2. 発表標題 断続的レム断眠ストレス負荷誘発性衝動性様症状における海馬アドレナリン 2A受容体の関与
3. 学会等名 平成30年度東北医科薬科大学創薬研究センターシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八百板富紀枝、今泉宏紀、川浪啓豪、土谷昌広、只野武、丹野孝一
2. 発表標題 断続的断眠ストレス負荷誘発性低不安行動におけるヒスタミン神経系の関与
3. 学会等名 第69回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今泉宏紀、八百板富紀枝、川浪啓豪、長谷山咲子、丹野孝一
2. 発表標題 断眠ストレス負荷誘発性異常行動におけるヒスタミン神経系の関与
3. 学会等名 第57回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八百板富紀枝、川浪啓豪、今泉宏紀、丹野孝一
2. 発表標題 過敏性腸症候群モデルマウスにおけるエキセナチドの効果
3. 学会等名 第57回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八百板富紀枝、土谷昌広、荒井裕一朗、只野武、丹野孝一
2. 発表標題 長期粉末食飼育誘発性不安関連行動におけるノルアドレナリンおよびドパミン神経系の関与
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八百板富紀枝、小澤美芙由、遠藤汐梨、土谷昌広、荒井裕一朗、只野 武、丹野孝一
2. 発表標題 長期粉末食飼育誘発性低不安行動におけるグルココルチコイド受容体およびノルアドレナリン神経系の関与
3. 学会等名 第68回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 八百板富紀枝、川浪啓豪、今泉宏紀、柴田 楓、菅原 彩、只野 武、丹野孝一
2. 発表標題 断続的レム断眠ストレス負荷誘発性衝動性様症状における海馬ノルアドレナリン神経系の関与
3. 学会等名 第56回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 八百板富紀枝、今泉宏紀、川浪啓豪、土谷昌広、只野 武、丹野孝一
2. 発表標題 長期粉末食飼育がマウスの情動発達に及ぼす影響について
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----