



Research

生物学研究科
生物学専攻修士課程2年

佐藤 眞士

肥満が睡眠に及ぼす影響 の実験的検証

肥満は睡眠障害のリスク因子

現代日本では、食の欧米化や栄養の偏りなどが原因となり、肥満者が急増しています。肥満は糖尿病や動脈硬化症をはじめとした生活習慣病を引き起こすリスク因子となりますが、同時に、睡眠時無呼吸症や中途覚醒型不眠症などを併発するリスクを高めることが疫学調査から明らかとなってきました。しかしながら、肥満が睡眠に及ぼす影響に関しては不明な点が多く、疫学的調査のみではこれらの解明は困難です。そこで、修士研究では食餌性肥満マウスを用いて、肥満が睡眠・覚醒に及ぼす影響を実験的に検証する事を目的としました。

食餌性肥満マウス

実験には、肥満しやすい系統として知られているC57BL/6の雄マウスを用いました。3週齢のマウスを購入し、通常飼料（CE-2）で1週間馴化飼育した後、体重の平均値が等しくなるように2群に分け、その後、16週間にわたって引き続き通常飼料を摂取させたものを通常飼料群として10匹、同期間に高脂肪飼料（HFD32：粗脂肪含量32%で総エネルギー中の脂肪由来のカロリー比が約60%）を摂取させたものを高脂肪飼料群として10匹用いました。予備実験ではマウスを1ケージ3匹とした群飼育を行いました。ケージ内でマウスに優劣関係が出来ると、弱い個体は餌を十分に食べることが出来ずに肥満度が低くなるケースがありました。このため、本実験ではマウスを1ケージに1匹

の個別飼育としました。扱うケージの数が3倍になりケージ洗浄が大変になりましたが、良い実験結果を得るための大切な作業となるので手は抜けません。16週目の体重を比較すると、高脂肪飼料群は通常飼料群と比べて体重が1.5倍に増加しましたが、内臓脂肪と皮下脂肪の重量についてもそれぞれ4.7倍、10.3倍に増加していました。高脂肪飼料群は全例において食餌性肥満の誘導が確認できました。

ステイホーム期間に睡眠解析

実験用マウスもノンレム睡眠とレム睡眠が周期的に出現するので、基本的な睡眠構築はヒトと変わりません。一般に睡眠周期は脳の発達度と相関性が高く、哺乳類で最大の大脳を持つヒトが90～120分程度であるのに対し、小型哺乳類であるマウスでは「エピソード」と呼ばれる、秒～分の短い周期で出現します。

マウスの睡眠・覚醒の量的・質的評価は、脳波、筋電図、体動などのデータを基に専用の睡眠解析プログラム（SleepSign[®]）にて実施しました。この過程は比較的簡単なのですが、その後、脳波と同時に収録した赤外線ビデオ映像を見ながら、コンピューターの自動判定結果を目視により再確認してアーティファクトをひとつずつ修正するので、後半は根気のいる作業となります。最初に睡眠量を比較した結果が得られましたが、通常飼料群と高脂肪飼料群とでは全くと言っていい程に量的な違いがなかったので、正直ガッカリしました。▶▶▶

しかしながら、睡眠解析をしている段階で高脂肪飼料群のノンレム睡眠は通常飼料群と比べて連続性がなく、睡眠構築が変化してそうだという感覚がありました。これを客観的に示すことが出来れば、睡眠の質的な違いを示すことができそうです。この解決案として、ノンレム睡眠、レム睡眠、覚醒の各エピソードの持続時間に対するヒストグラム解析を提案されたのですが、大いに怯んでしまいました。何しろ、マウスは1日に600回近くノンレム睡眠、レム睡眠、覚醒を繰り返しているのです。20匹のマウスでは合計10,000個以上のデータを扱うことになるのですから。大変な解析となりましたが、食餌性肥満マウスの睡眠構築を明らかにすることが出来て嬉しかったです。新型コロナウイルス感染拡大を防ぐためのステイホーム期間に自宅のコンピュータで気兼ねなく解析できたのは今となっては良い思い出です。

ヒストグラム解析

マウス全個体において覚醒の全エピソードを調べたところ、覚醒エピソードの持続時間は、10秒～5,120秒(約85分)の範囲に分布しており、通常飼料群では40秒をピークとしたヒストグラム構成となっていました。高脂肪飼料群では、ピークが20秒にシフトしたヒストグラム構成となっており、10～20秒間の短い覚醒エピソードの頻度が通常飼料群と比べて2.5倍程度に増加していました。

ノンレム睡眠についても同様に調べたところ、ノンレム睡眠エピソードの持続時間は、10秒～2,560秒(約43分)の範囲に分布しており、通常飼料群では160秒をピークとしたヒストグラム構成となっていました。高脂肪飼料群でも、160秒をピークとしたヒストグラム構成となっていました。640秒以上の長い

ノンレム睡眠の頻度が減少し、その分、10～80秒の短いノンレム睡眠の頻度が通常飼料群と比べて2倍程度に増加しました。このことから、高脂肪飼料群では長いノンレム睡眠が短時間覚醒により分断されて短くなっていることが分かりました。

修士論文発表会に向けて

これまでの研究成果を昨年12月の東海大学研究交流会で発表しました。当日は、事前収録した動画を配信したのですが、何度も練習し自宅で落ち着いて動画を収録できたこともあり、幸いなことに優秀賞を授与して頂きました。この経験から真面目に実験に取り組むと共に人前でうまくプレゼンテーションする技術を身につけることが大切だとよく分かりました。これに対して、中間発表会ではたくさんの先生方の前で初めての対面発表となったので緊張してうまく出来ませんでした。



●第1回研究・作品展示交流会(札幌キャンパス主催)にてポスター部門に出展。



●2020年度東海大学研究交流会(研究推進部主催)にて「優秀賞」を受賞。

最後締めとなる修士論文発表会では、納得のゆく発表ができるように日々の研究活動を頑張っていきたいと思っております。

Coaching

生物学研究科・生物学部
教授(指導教員)

寺尾 晶

肥満性睡眠障害モデル の確立とその応用

機能的食品の効果検証

モデル動物確立のポイント

食餌性肥満マウスでは、短時間覚醒の増加により、ノンレム睡眠の持続性が失われることで「睡眠の質」が低下していることが示され、肥満者において顕著に見られる睡眠の断片化に起因する中途覚醒型の不眠症のモデル動物として活用できることが分かりましたが、これは佐藤君の努力と根気の賜物であると言えます。

1つ目のポイントは、マウスを長期間にわたって丁寧に飼育することで全個体において食餌性肥満を誘導させたことです。具体的には、彼の提案でマウスの飼育条件を群飼育から個別飼育に切り替えたこと、餌となる高脂肪飼料は酸化しやすいために都度調整し、2～3日毎に給餌したこと、体重を週に2回測定することでマウスの健康状態を管理したこと等が挙げられると思います。

2つ目のポイントは、根気よく睡眠解析をしたことです。大学への入構が制限されていた期間に随時リモートで状況を確認しながら、睡眠エピソードのヒストグラム解析を含め、様々な睡眠解析を実施することで食餌性肥満マウスの睡眠構築を明らかにしました。

佐藤君には職人気質の面があり、実直な姿勢で物事に責任を持って取り組みます。今後、社会人になってもこの強みを大切に持ち続けて欲しいと思います。

肥満者の「睡眠の質」を改善するためには、生活リズムを始め、食習慣や運動習慣を見つめ直してライフスタイルを習慣的に変化させることが肝心です。しかしながら、それを継続することは難しいのが実情であり、「睡眠の質」を改善することで、クオリティ・オブ・ライフを向上させるような機能的食品が求められています。

インドネシア原産植物として知られるメリンジョの種子には、ポリフェノールの一種であるレスベラトロールが多く含まれています。レスベラトロールは赤ワインにも含まれ、酵母で見いだされた長寿遺伝子である*Sir2*やその哺乳類ホモログである*Sirt1*を活性化させることがNature誌に発表されたことから、赤ワインをたくさん飲むフランス人には健康長寿者が多いという「フレンチパラドックス」の謎を解く鍵として注目されています。メリンジョには、肥満を改善し、インスリン抵抗性を予防し、糖尿病の進行を抑制する働きがあることを先に論文発表しましたが、睡眠に対する作用については未だ不明です。このような背景から、佐藤君と共にメリンジョの「睡眠の質」に対する改善効果について検証を進めています。