

Research

生物学研究科
生物学専攻修士課程2年 佐藤 眞士

メリンジョ種子抽出物が食餌性肥満マウスの睡眠の質に及ぼす影響

現代日本の課題「睡眠の質改善」

現代日本では、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の睡眠障害を併発するリスクを高めます。肥満者の多くは、眠りについた後、夜中に何度も目が覚めて熟眠できないため、睡眠の質が低く、日中のクオリティ・オブ・ライフが低下することが問題となっています。肥満を解消するためには、日常生活の中で、食習慣、運動習慣、生活リズムの改善に取り組むことが基本となりますが、これらを継続的に実行することは難しいため、機能性表示食品の有効活用が求められています。インドネシア原産植物のメリンジョは「生命の樹」と呼ばれ、その種子にはポリフェノール的一种であるレスベラトロールを多く含んでいます。レスベラトロールが多く含まれる赤ワインを好んで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」の謎を解く鍵となるため、その効果に社会的関心が高まっています。そこで、食餌性肥満のモデルマウスを用いてメリンジョ種子抽出物の睡眠の質改善効果を検証する実験を行いました。

▶食餌性肥満マウスの作出

実験には、C57BL/6の雄マウスを用いました。3週齢のマウスを購入し、通常食で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4群（通常食

[Normal Diet: ND]群、高脂肪食[High-fat Diet: HFD]群、メリンジョ種子抽出物[Melinjo Seed Extract: MSE]を重量比1%で通常食に添加した[ND+MSE]群、メリンジョ種子抽出物を重量比1%で高脂肪食に添加した[HFD+MSE]群)に分け、16週間個別飼育しました。

▶脳波、筋電活動、および自発運動量の測定

マウスの頭蓋骨に脳波測定用の電極を、首の筋肉に筋電位測定用の電極を固定する手術行いました。手術後、マウスを2週間程度回復させた後、環境音やアーチファクトの混入を遮断できる専用の測定ケージにマウスを移して、測定環境に5日間程度順化させました。測定した脳波と筋電位シグナルはバイオアンプで増幅した後、コンピューターに収録しました。動物の活動状態は、赤外線行動量センサーと赤外線ビデオカメラで観察しました。

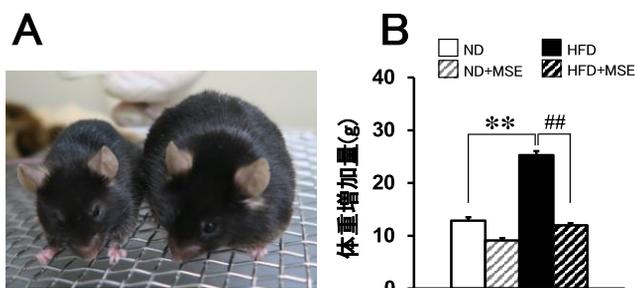
▶睡眠・覚醒の解析

睡眠・覚醒ステージは連続的に記録した脳波、筋電活動、および自発運動量データを基にSleepSign[®] ver. 3を用いて、10秒を1エポック（解析の最小単位）として判定しました。脳波を1エポックごとに高速フーリエ変換することで、各エポックの脳波強度(μV^2)を0.5Hz毎に算出しました。デルタ波(0.5~4Hz)強度が高く、かつ筋電活動が低いエポックをノンレム睡眠、シータ波(6~10Hz)強度の割合が高く、

かつ筋電活動が低いエポックをレム睡眠、自発運動がある、または筋電活動が高いエポックを覚醒と判定しました。覚醒、ノンレム睡眠、レム睡眠の構築を評価するために、各々について1日あたりの量、発生回数、平均持続時間(分)を算出しました。

▶メリンジョ種子抽出物の体重に及ぼす影響

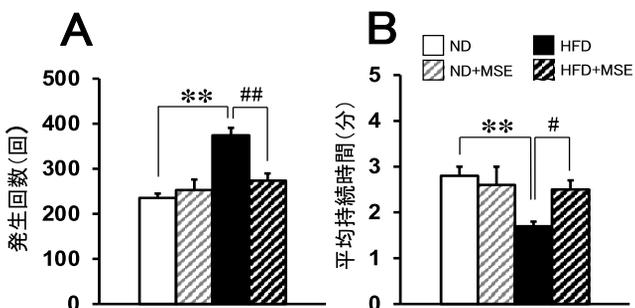
図1Aに実験終了時点の高脂肪食群のマウス(右)、メリンジョ種子抽出物を高脂肪食に添加した群のマウス(左)の典型例を示しました。高脂肪食群では通常食群に対して、体重増加量が2倍となりましたが、メリンジョ種子抽出物を通常食あるいは高脂肪食に添加した群では、通常食群とほぼ同様の値を示しました(図1B)。このことから、メリンジョ種子抽出物は食餌性肥満による体重増加分についてのみ解消させたと考えられました。



【図1】
メリンジョ種子抽出物の体重に及ぼす影響
**p<0.01 vs. ND, ##p<0.01 vs. HFD

▶メリンジョ種子抽出物のノンレム睡眠構築に及ぼす影響

ノンレム睡眠の構築をその発生回数(図2A)と平均持続時間(図2B)から評価しました。高脂肪食群は通常食群に対して、ノンレム睡眠の発生回数が有意に増加する一方、その平均持続時間は有意に短縮しました。また、メリンジョ種子抽出物を高脂肪食に添加した群では、覚醒の発生回数と平均持続時間が高脂肪食群に対して有意に改善しており、通常食群と同等レベルでした。



【図2】
メリンジョ種子抽出物のノンレム睡眠の発生回数と持続時間に及ぼす影響
**p<0.01 vs. ND, #p<0.05 vs. HFD

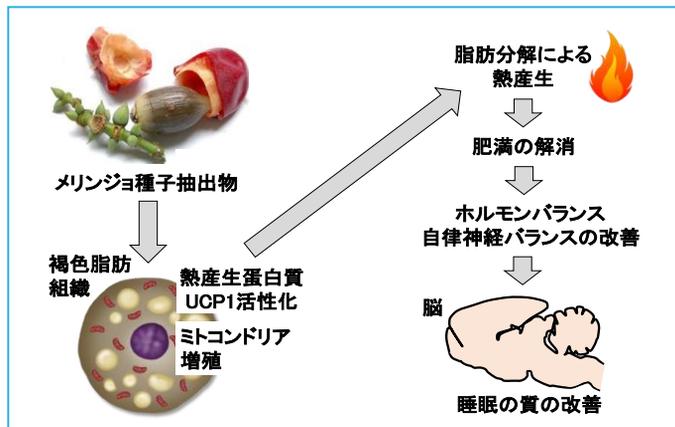
次に、ノンレム睡眠構築の変化をそのエピソード長のヒストグラムから詳細に調べました。高脂肪食群は通常食群に対して、短いノンレム睡眠エピソードの頻度増加が観察されましたが、メリンジョ種子抽出物を高脂肪食に添加した群では、20秒~40秒のものについて、通常食群と同等レベルまで抑えられており、ノンレム睡眠構築の正常化作用を認めました。このことから、メリンジョ種子抽出物は食餌性肥満によるノンレム睡眠の断片化を抑えることでノンレム睡眠の構築を回復させたと考えられました。

▶メリンジョ種子抽出物の覚醒構築に及ぼす影響

覚醒の構築の構築についてもその発生回数と平均持続時間から評価しました。高脂肪食群は通常食群に対して、覚醒の発生回数が有意に増加する一方、その平均持続時間は有意に短縮しました。メリンジョ種子抽出物を高脂肪食に添加した群では、覚醒の発生回数と平均持続時間が高脂肪食群に対して有意に改善しており、通常食群と同等レベルでした。次に、覚醒構築の変化をそのエピソード長のヒストグラムから詳細に調べました。高脂肪食群は通常食群に対して、10秒、20秒の短時間覚醒の頻度増加が観察されましたが、メリンジョ種子抽出物を高脂肪食に添加した群では、通常食群と同等レベルまで抑えられており、覚醒構築の正常化作用を認めました。このことから、メリンジョ種子抽出物は食餌性肥満による短時間覚醒の発生回数を抑えることで覚醒の構築を回復させたと考えられました。

修士論文としての「まとめ」

メリンジョ種子抽出物が食餌性肥満マウスの睡眠の質に及ぼす影響を評価しました。その結果、通常食で飼育したマウスは、長く持続するノンレム睡眠が高頻度で認められたのに対し、高脂肪食で飼育したマウスは、短時間覚醒の発生により、長いノンレム睡眠が断片化されたと考えられました。メリンジョ種子抽出物を高脂肪食に添加した場合は、この断片化が抑えられて、ノンレム睡眠の連続性が戻ることで、睡眠の質が回復したと考えられました。一方で、メリンジョ種子抽出物を通常食に添加した時は殆ど影響を与えなかったことから、睡眠の質を通常状態よりも更に高める作用はないと考えられました。ノンレム睡眠の持続性に基づくマウス評価は、同じ睡眠構築を持つヒトにも外挿できるため、メリンジョ種子抽出物のヒトにおける有用性が期待されます。



【図3】
睡眠の質改善に及ぼすメリンジョ種子抽出物の想定される作用機序

メリンジョ種子抽出物は、褐色脂肪組織のミトコンドリアを増殖させ、熱産生分子として知られる脱共役蛋白質1(Uncoupling Protein: UCP1)を活性化させることを当研究室は報告しています。UCP1は脂肪を分解して熱産生を促すことでエネルギー消費量を増加させて肥満を解消します。この結果、サイトカインとアディポカインを含むホルモンバランスや、自律神経バランスが改善することで、メタボリックシンドロームが改善されますが、これと並行して睡眠調節機構も是正され、睡眠の質が改善したと考えられます(図3)。