生体システムにおける Tryptophan 感受性と 中枢性／精神性疲労のグリア-ニューロン回路

○山下雅俊^{1,2}・山本隆宣³

(¹帝塚山大学大学院心理科学研究科・²日本学術振興会・³帝塚山大学心理学部)

キーワード：中枢性／精神性疲労, Tryptophan, グリア-ニューロン間相互機構

Role of glia-neuron interactions in central fatigue induced by alteration of tryptophan sensitivity

Masatoshi YAMASHITA^{1,2} and Takanobu YAMAMOTO¹

(¹Department of Psychology, Tezukayama Univ., ²Japan Society for the Promotion of Science)

Key Words: Central/mental fatigue, Tryptophan, Glia-neuron interactions

目 的

中枢性／精神性疲労は慢性疲労症候群の病理状態と関係し (Castell et al., 1999), 認知機能の停滞, 社会生活の困難を導く。また, 不登校児童において慢性的な睡眠障害を基盤とした中枢性／精神性疲労の罹患率は 80%を占め, 就学の困難や精神疾患の発症にまで至る (Farmer et al., 2004; 三池, 2009)。

従来の中枢性疲労研究では, 血中 Tryptophan (Trp) の脳内取込みによる Serotonin (5-HT) や Kynurenic acid 生成の亢進が中枢性疲労の誘発機構に関与すると報告されてきた (Blomstrand et al., 1989; Yamashita et al., 2014)。しかし, 中枢神経の構成細胞としてニューロンは 10%程度であり, その大半がグリアで占めるため (Allen et al., 2009), 脳に移行し, 過剰状態にある Trp が, [1]どのような神経回路で中枢性疲労を誘発しているのか, [2]Trp 代謝産物がグリア内で既にストックされた状態なのか, 全くの未踏の領域である。

本研究では睡眠障害型中枢性疲労 (CFSD) モデルを用い, オリゴデンドログリアとシナプトゾーム内 (シナプス前) Trp および Monoamine (MA) 代謝産物動態と認知機能との関係性を検討した。

方 法

実験動物 Wistar 系雌性ラット 33 匹 (Control 群 14 匹, CFSD 群 19 匹) を用いた。

睡眠障害型中枢性疲労モデルの作製 CFSD モデルは Yamashita et al. (2013) の方法に従い作製した。即ち, ラットに睡眠-覚醒サイクル障害を課すため, プラットホーム (6.5 cm × 5 cm) が固定された水深 4.8 cm のプラスチック製観察箱 (18.5 cm × 31.5 cm × 24.4 cm, 水温 23 ± 1°C) で 5 日間飼育した。なお, この断眠疲労負荷法はラットが REM 睡眠時に筋弛緩状態になるとプラットホームから水中に落下し, 覚醒状態となることを応用している。

認知機能評価 海馬機能に依存した注意を伴う空間認知記憶 (交替行動率) と多動性は Y 字迷路課題を用いて 8 日間測定した。即ち, 本迷路は正三角形の板 (15 cm) を中心に 3 本のアームを結合し, 角度は全て 120°で構成した。また, 衝動性は高架式一字迷路課題を用いて 10 日間測定した。即ち, 本迷路は地上から 50 cm の高さに設置し, オープンアーム (60 cm) およびエンクロードアーム (60 cm) の 2 本で構成した。なお, 認知機能評価は断眠 1, 3 および 5 日目に実施した。

シナプトゾームの抽出 ラットの視床下部, 海馬, 大脳皮質, 線条体, 小脳および延髄の 6 部位を摘出した。各組織は 320 mM Sucrose を添加し, Potter 型テフロンホモジェナイザーによりホモジネート後, Krebs-Henseleit buffer により再懸濁させ, シナプス前を抽出した。

オリゴデンドログリアの抽出 ラットの視床下部および海馬

Figure 1 Y 字迷路課題による空間認知記憶(A)とシナプス前 Tryptophan 濃度(B)における CFSD の影響

の 2 部位を摘出した。各組織は Hank's balanced salt solution を加え, 遠心後, 酵素に反応させた。次に O4 Microbeads を添加し, 培養後, MACS buffer にサスペンドし, Hand MACS による細胞分離を行い, オリゴデンドログリアを抽出した。

脳内物質の定量 シナプス前 Trp および MA 代謝産物は電気化学検出器に接続した高速液体クロマトグラフィーで測定した。

結 果

Y 字迷路課題による空間認知記憶 (Fig. 1A) と多動性評価において Control 群と比較し, CFSD 群の交替行動率は断眠 5 日目まで有意に減少した ($p=0.048$)。CFSD 群のアーム侵入総回数は断眠 3 日目 ($p=0.014$) と 5 日目 ($p=0.00055$) で有意に上昇した。次に, 高架式一字迷路課題による衝動性評価において Control 群と比較し, CFSD 群のオープンアーム滞留時間は断眠 5 日目まで有意に長かった ($p=0.00104$)。

Control 群と比較し, CFSD 群の視床下部 ($p=0.022$) と海馬内 ($p=0.046$) シナプス前 Trp 濃度は有意に上昇し (Fig. 1B), 5-HT と MA 代謝産物濃度は有意に減少した。CFSD 群の視床下部と海馬由来オリゴデンドログリア内 Trp 濃度は上昇したが, 5-HT と MA 代謝産物動態は存在しなかった。

考 察

本研究結果より, CFSD は空間認知記憶の正確性が曖昧であり, 多動性と衝動性を誘発することを示した。また, CFSD により, 視床下部と海馬内シナプス前 Trp 濃度は上昇したが, 5-HT 生成は亢進しなかった。さらに驚くべきことは, オリゴデンドログリアには Trp のみの存在とその上昇が観察された。

電気生理学や内分泌学研究において, 脳内 Trp 濃度の上昇は活動電位の低下 (Gallagher et al., 1976) や認知機能の抑制 (Coppola et al., 2013) に関与することが認められている。また, 軸索保護を担うオリゴデンドログリアの機能不全はニューロンの活動電位の低下を生じ, 認知機能障害を誘発することが報告されている (Lee et al., 2000)。従って, 中枢性疲労の誘発機構は視床下部と海馬組織でのグリア-ニューロン間相互機構のダイナミックな変化により生じ, 過剰に増大した Trp は認知機能を抑制すると考えられる。