

食によるオートファジーの活性化を介した健康制御の課題と有用性の調査研究

山星 千穂 (YAMAHOSHI, Chiho) 指導：原 太一

1. 研究の背景と目的

日本では人口減少や超高齢社会により健康寿命の延伸が喫緊の課題とされている。健康寿命の延伸を実現するため、日常生活における食に着目した疾患予防のアプローチが注目されているが、多くの機能性成分の効果は疾患モデルを指標に評価されることが多く、食品成分の健康増進効果を適切に判断する評価系が確立されていない。

一方、生体内の細胞品質管理機構であるオートファジーが疾患予防の観点で注目されている。オートファジーは細胞質成分の分解機構で、バルク分解や標的を設定した選択的分解により細胞の恒常性を維持すると考えられている。

本研究では哺乳類の生体組織・細胞におけるオートファジー影響に関する過去の研究を調査し、食によるオートファジー活性化を介した健康制御の課題と有用性を議論する。

2. 調査研究の実施方法

まず、オートファジー関連のタンパク質を整理し、オートファジーを活性化するメカニズムに関する過去の研究を整理する。続いて、オートファジー活性制御のためには亢進だけでなく抑制に関する研究について調査する必要があると考え、オートファジーの後期段階の抑制因子として知られるRubiconタンパク質の哺乳類の腎臓、肝臓、脂肪組織等の生体組織と由来細胞のオートファジー活性や恒常性に関する生理的役割に関する研究を調査し、実験データの詳細を確認・解析し、議論する。次に、オートファジー活性化に関わる食品成分に対する過去の研究の調査・整理を行う。最後に、ヒトの生体を対象としたオートファジー影響に関する過去の研究の調査・整理を行う。これらの過去の研究の調査結果から食によるオートファジー活性化を介した疾患予防を目的とした健康制御に関する課題と有用性を議論し、課題解決手法を提案する。

3. 調査結果

Rubiconタンパク質の役割を確認するため、Rubiconタンパク質やオートファジー関連タンパク質の全身性もしくは組織特異的な遺伝子発現制御による検証により、Rubiconタンパク質蓄積による恒常性阻害や、Rubiconタンパク質枯渇を介したオートファジー過剰亢進による恒常性阻害、オートファジー以外の処理機構における役割が検証されているが、食を介したオートファジー活性化によ

る健康制御を検討する上で下記のとおり、各種検証結果をばらつきなく取得し、検討し、更なる検証をする必要があると考える。(1)タンパク質の量の変化に加え、当該タンパク質に関連するmRNA転写量を測定し、タンパク質の量の変化が発現と分解のどちらの影響によるものかを把握する。(2)オートファジー関連タンパク質であるLC3-IIやp62タンパク質の量をウェスタンブロットティングにより把握することに加え、リソソーム阻害剤を加えて比較し、リソソーム阻害剤を加えることによる影響も考慮して、オートファジーフラックスを把握する。(3)全身性の遺伝子発現制御で特定の生体組織のみの影響だけでなく、生体組織間のクロストークを考慮して、生体全体でのオートファジー制御の影響を把握する。(4)特定の生体組織特異的な遺伝子発現制御を行ったことによる他の生体組織に対する影響およびその影響に問題がある場合はそれに対する対策を立案し、検証する。(5)栄養成分の経口摂取の時間帯によりオートファジー活性状態が変化する可能性を考慮した検証計画の策定と、生体から抽出した検体に対して評価するタイミングの妥当性を判断する。(6)ターゲットとする生体組織に対して直接栄養成分を投与した場合と、経口摂取・消化・吸収を考慮した場合の生体影響を考慮し、検証する。

4. 考察

食を介したオートファジー活性化による健康制御を考えるにあたり、各生体組織においてオートファジーを適切な活性状態を一定の範囲内で維持し、恒常性を維持する必要があり、6点課題を認識した。(1)過去の検証データ不足、(2)オートファジー活性制御の方向性、(3)特定生体組織のオートファジー制御による生体組織間影響・処理機構間影響の特定、(4)栄養成分の複数生体組織影響を踏まえた生体組織別オートファジー活性の許容範囲の特定、(5)経口摂取栄養成分の消化・吸収影響の考慮、(6)各研究の膨大なエビデンス抽出と整合性・関連性の客観的整理の困難性である。そこで前項に記載のアプローチを実施することに加え、取得データの標準化が必要と考えられる。

5. まとめ

本研究で認識した注意点を抑えた研究を進めることでオートファジー等の食による健康制御に関する研究の品質と効率を高めていきたいと考える。

異なるモダリティのMEGデータを用いた
クロスデコーディングによる神経共有表現の検証Exploring Neural Shared Representations
through Cross-Decoding of MEG Data from Different Modalities

中島 海 (NAKAJIMA, Kai) 指導：大須 理英子

導入

我々は意味概念をどのように保持しているのだろうか。人間は画像と文字のどちらで表示されてもその物体のカテゴリを識別できる。これは我々の脳がモダリティによらない独立した一種の概念のようなものを保持しているからだと考えられる。1つ1つの意味カテゴリーが脳内で幅広く分散されて表現されていることは多くの研究で検証されている。一方、意味カテゴリーの時系列処理に関しては不明なことが多い。特に異なるモダリティによる脳内共有表現を経時的に検証した研究は少ない。そこで本研究ではこの共有表現が存在するのか、またどのタイミングで存在するのか検証した。その際4つの意味カテゴリーを用いたクロスデコーディングを行った。クロスデコーディングとは片方のモダリティのデータを用いて機械学習モデルに学習させ、もう一方のモダリティのデータを用いてテストを行う手法である。

方法

サンプリング周波数1000Hz、64チャンネルからなる高温超伝導磁気シールドMEG（住友重機械工業株式会社製）を用いて脳活動を記録した。11名の健康な被験者（女性1名、 23.1 ± 4.5 歳）が実験に参加した。実験が最後まで遂行されなかったなどの理由で最終的に9名のデータを解析した。実験は画像と単語を使ったnaming課題を行なった。課題には4つのカテゴリー（動物と植物、食べ物、道具）を選んだ。それぞれのカテゴリーには3種類の物体を用意した。MEGデータを計測している間、それらの物体をスクリーン上に表示し、被験者はその物体名を発声する。被験者1人あたり画像と単語をそれぞれ576試行呈示した。

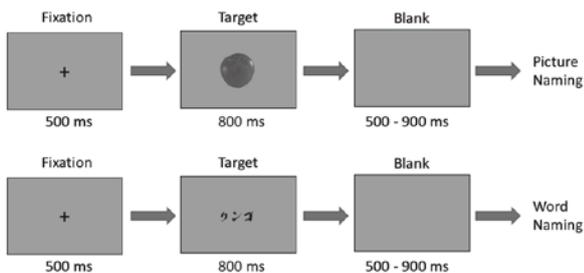


図1 実験課題

デコーディングに関しては4つのカテゴリーの分類と12種類の物体の分類の2種類行った。分類精度は刺激呈示から850msまでの間5ms毎に算出した。クロスデコーディングは訓練データにpictureデータ、テストデータにwordデータとその逆の2種類行った。分類結果が偶然のレベルに比べて有意に高ければその時点においてモダリティに独立な共有表現があることが示唆される。

結果

被験者ごとに分類精度を計算した。各時点において9人の分類結果がチャンスレベルに比べて有意に高いかウィルコクソンの符号順位検定を用いて調べた ($p < 0.05$)。Benjamini-Hochberg法を用いて多重比較検定補正を行なった。図上の各点がチャンスレベルに比べて有意に高い時点を表している。4つのカテゴリーの分類において、picture to word条件の際に分類精度が有意に高い時点が見つかった。word to picture条件や12種類の物体の分類におけるクロスデコーディングにおいて有意な時点は見つからなかった。

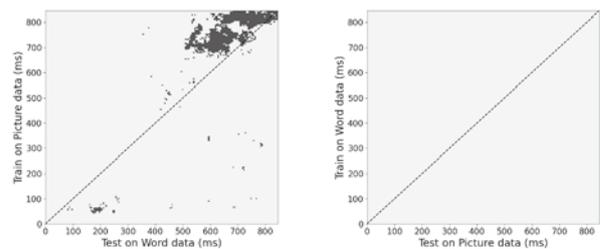


図2 picture to word条件 (左) : word to picture条件 (右)

結論

本研究において、4つのカテゴリーを用いたクロスデコーディングの結果からモダリティによらない神経共有表現が存在することがわかった。さらに画像に比べて単語の処理の方が早く共有表現にアクセスすることがわかった。また、pictureデータ・wordデータのみでデコーディングを行なった場合と比べて遅い時間帯から有意な時点が現れた。これはまず最初にモダリティに特化した処理が脳内で行なわれ、その後モダリティに独立した共有表現へと接続することを示唆している。

主体的運動が空間注意パフォーマンスに及ぼす影響

The Effect of Self-Generated Movement on Spatial Attention

伊藤 ゆうき (ITO, Yuki) 指導：大須 理英子

1. 背景

脳卒中を発症すると、約3割に半側空間無視 (Unilateral spatial neglect; USN) が出現する。これは、損傷領域と対側の空間に注意が向かない空間注意障害である。USN患者は無視空間に提示された探索対象を見落とす。視覚探索は内因性空間注意の一種で、眼球運動に密接に関連している。注意の先行により眼球運動の計画がたてられ、対象に視線が向けられる。USN患者の視覚探索障害の治療法には、患者の意識に働きかけた再学習や代償的アプローチが用いられるが、有効性については個人差が大きく、未だ統一された見解は得られていない。

主体的運動は視覚探索の成績を向上させ、さらに、操作する物体の運動主体感が高いと運動開始時に意図する運動方向へ注意が引きつけられる可能性が示唆されている。一方で、運動中においては、意図する運動方向への空間注意効果は不明である。本研究では、健常者を対象とし、主体的運動が意図する運動方向の空間注意に与える影響を、探索ベースの視覚注意課題を用いて検証した。本研究の成果から、USN患者の無視空間に注意を向ける有効な手段として臨床応用の可能性が期待される。

2. 方法

参加者24名 (年齢22.5±3.3歳) は、条件の異なる運動課題に続いて視覚注意課題を実施した。視覚注意課題のみのAttention条件、運動主体感が高いHigh条件、運動主体感が低いLow条件、受動的な眼球追従を行うPassive条件を作成した。High条件とLow条件の運動課題では、主体的運動を反映させる比率を変え、参加者は画面の赤い丸を操作した。Passive条件では、赤い円を追視した。視覚注意課題では、ターゲット出現後、素早くボタンを押すように指示した (図1)。ターゲットポジションは、運動方向とターゲット出現位置が一致する場合 (D) と、それらが不一致の場合 (od) で区別し、固視点からターゲット出現位置に近い順に1~3をラベリングした。以上4つの課題条件 (各1ブロック120試行) ごとにターゲットへの反応時間、運動軌跡、視点をデータで取得した。



図1 視覚注意課題の概略図

3. 結果

視覚注意課題における反応時間について、ポジション要因6水準、課題条件要因4水準で参加者内の二要因分散分析を実施した。その結果、ポジション要因と課題条件要因でそれぞれ主効果を認めた (ポジション: $F(5, 552) = 66.8, p < 0.001, \eta p^2 = 0.377$; 課題条件: $F(3, 552) = 30.2, p < 0.001, \eta p^2 = 0.141$)。また、ポジション要因と課題条件要因での交互作用が認められた ($F(15, 552) = 2.39, p = 0.002, \eta p^2 = 0.061$)。多重比較検定では、各ポジション要因における課題条件間を比較した場合、ポジションOd1、Od2、Od3において、Passive条件と比較し、High条件およびLow条件では反応時間が有意に減少していた。ポジションD3において、Attention条件と比較し、Low条件で有意な反応時間の減少を認めた (図2)。また、運動課題中、Low条件では、主体的運動が反映された操作対象に先立って視点が運動方向に位置していた。

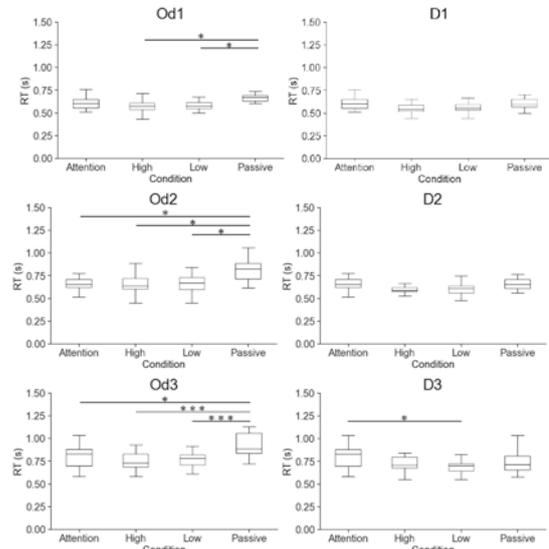


図2 各課題条件間での反応時間比較 (* : $p < 0.05$)

4. 考察

本研究では、主体的な運動が空間注意に与える影響について調査した。その結果、主体的な運動は、受動的な運動追視と比較し、目標とする運動方向と一致しない空間への注意が促進されることが明らかとなった。また、主体的な運動中、物体の運動主体感が低いときに、運動方向に対する注意が促進される可能性が示唆された。

皮膚での可視光の超知覚的受容が認知・行動に及ぼす影響

Effects of hyper-perceptual reception of visible light at the skin on cognition and behavior

井上 高貴 (INOUE, Takaki) 指導：大須 理英子

序論

皮膚は、人体の中で最大の臓器であり、表皮、真皮、皮下組織の3層構造をもつ。また、皮膚は一般的に触覚、圧覚、痛覚、温覚、冷覚のみが受容されることが知られている。しかし、表皮ケラチノサイトが光を感知することができるという研究が進んできている。光が情動や行動の変化に対して影響を及ぼす結果が示されている研究は数多くある。また、皮膚感覚における情動や行動の変化に対して影響を及ぼす結果が示されている研究も数多く存在している。しかし、表皮で感知された光による認知変容の研究はあまり進んでいない。そのため、本研究では視覚情報を介さない超知覚的な光受容による認知変容を明らかにすることを目的とする。本研究では、光刺激を表皮が感知することで、感情状態に影響を与えることを仮説として実験を行った。

方法

健康な男性11名(年齢: 21.1 ± 2.4 歳, 身長: 172.7 ± 6.7 cm, 体重: 59.55 ± 7.68 kg)を対象とした。実験はいずれも早稲田大学所沢キャンパスG棟599号室で実施した。光刺激として赤色のLEDライトを用いた。光刺激は課題実施中と実験開始前の5分間の安静の合計25分間、背中に行った。また、本課題は2種類(弁別課題、視覚探索課題)の課題を連続して行い、5分間の安静の後、再度同様の課題を実施した。また、1回目に光刺激あり群と、2回目に光刺激あり群のクロスオーバー法にて実施した。被験者は実験室に到着後、上半身裸で用意した衣服を指定の着用方法で着るよう指示した。その後、10分間の座位安静状態を取らせた。安静状態の後、ストレス指標として唾液アミラーゼ活性測定を実施した。また、測定は実験課題開始前、一回目の実験課題終了直後、二回目の実験課題終了直後の計三回行った。実験開始前の測定値を基準とし、変化量を求めた。

結果

弁別課題における条件間の比較では、有意な差はなく、light条件の反応時間の方がcontrol条件よりも速い傾向が見られた(control条件, 0.756 ± 0.254 ; light条件, $0.701 \pm$

0.198 ; $p = 0.072$)。また、感情評価比較でも有意な差は認められなかった($p = 0.868$)。視覚探索課題における条件間の比較では、有意な差は認められなかった($p = 0.422$)。唾液アミラーゼ活性の変化量の条件間比較では、有意な差はなく、同程度であった($p = 0.672$)。

考察

本研究では光刺激を皮膚が感知することで、感情に影響を与えることを仮説として実験を行った。光刺激を当てた際の認知変容を明らかにするために弁別課題と視覚探索課題の2種類の課題をcontrol条件とlight条件で比較した。課題実施前後でのアミラーゼ活性を測定し、生理データからストレス指標を定量化した。

弁別課題での条件比較では、有意な差は認められなかったが、平均反応時間の観点からcontrol条件よりもlight条件の方が平均反応時間が速い傾向が見られた。有意な差は認められなかったが、赤色の光刺激による反応時間に対して影響があることが示唆された。条件ごとの感情評価比較では、両条件において有意な差は認められなかった。

視覚探索課題では、条件間では有意な差は認められなかった。したがって、超知覚的受容としての赤色の光刺激では、感情状態への影響がないことが示唆された。

唾液アミラーゼ活性では、条件間における変化量の有意な差は認められなかった。

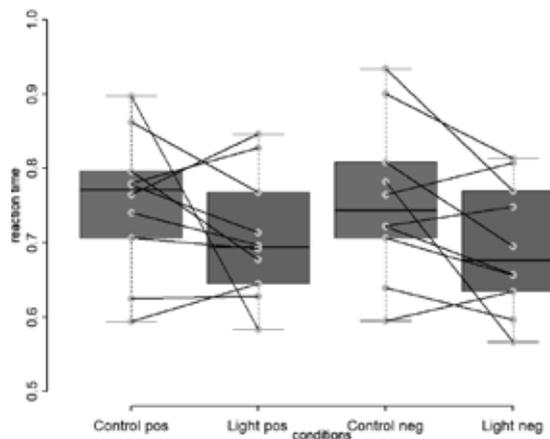


図1 弁別課題

消費者アンケートにおける本音／建前回答と脳活動の関連性検討

Neuroscientific Exploration of Social Desirability Bias:
Distinguishing Genuine and Socially Desirable Responses in Marketing Research

岡田 拓也 (OKADA, Takuya) 指導：大須 理英子

1. 導入

マーケティングリサーチでは、商品やブランド評価のために消費者による主観アンケートが用いられるが、報酬を伴う参加者が調査主や試験実施者の意向を慮った結果、社会的望ましさ (Social desirability bias, SDB) の影響を受けて自分の本心とは異なる回答をすることにより、調査結果の価値を低下させる可能性が指摘されている。日本の文化においては特に「本音と建前」として知られるこの現象について、マーケティングリサーチの観点から脳活動の関連を検討した研究は未だ少ない。そこで本研究では、実際の消費者アンケートを模した環境を構築し、SDBを生じさせる介入を実施することで、本音回答と建前回答の脳活動を計測する。脳計測は、モバイル型のfNIRS (機能的近赤外分光法) システムを用いて取得した。

2. 方法

34名の健康な右利き成人を対象に、本音(コントロール)、建前(SDB介入)、強制嘘の3条件で、2つの異なるブランドに所属する商品群の好ましき評価アンケートを実施した。脳活動と合わせ、回答結果と反応時間がPC上で取得された。建前条件では、建前回答を生じさせる目的で、試験実施者による特定のブランド推奨を伴うSDB介入が行われた。先行研究より、一般的な嘘に広く関わりとされる前頭前野(prefrontal cortex, PFC)、向社会的な行動および嘘に関わりとされる側頭頭頂接合部(temporo-parietal junction, TPJ)などをROIとした。結果については3条件とSDB介入対象／非対象の2商品タイプを独立変数とした二元配置分散分析を実施して主効果と交互作用を調査し、有意差がみられた条件について事後検定を行った。

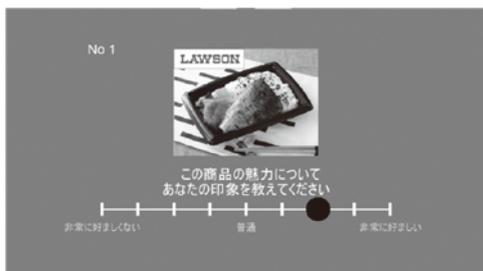


図1 商品に対する好ましき評価アンケート画面

fNIRSデータの前処理には、皮膚血流や体動ノイズを除去するための手法が使用され、一般線形モデルによる統計解析が行われた。

3. 結果

介入対象／非対象の商品比較において、回答スコアでは、SDB介入を行った建前条件内のみ2つの商品タイプに有意差がみられた ($t(165) = -3.451, p = .001$)。また、脳活動では介入条件の主効果において、PFCおよびPFCに含まれる右側背外側前頭前野 (R-DLPFC) と右側頭頭頂接合部 (R-TPJ) などが有意であった (PFC:F (2, 165) = 6.31, $p = .008$, R-DLPFC : F (2, 165) = 6.26, $p = .008$, R-TPJ : F (2, 165) = 5.4, $p = .009$)。本音条件と建前条件における脳活動の違いでは、事後検定の結果より、PFC、R-DLPFC、R-TPJにおいて本音条件と建前条件の比較の際に有意差がみられた (PFC : $t(165) = -3.227, p = .004$, R-DLPFC : $t(165) = -2.268, p = .036$, R-TPJ : $t(165) = -3.219, p = .004$)。一方で本音条件と強制嘘条件の比較では、PFCにのみ有意差がみられた (PFC : $t(165) = -2.896, p = .006$)。

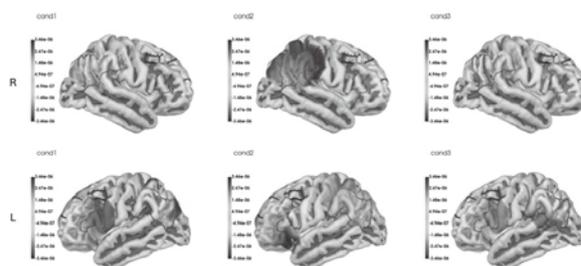


図2 計測チャンネルの活動状況3Dプロット

4. 考察

本研究では、アンケートにおける本音と建前の脳活動の違いを中心に検討した。SDB介入を行った建前条件では、回答スコアに有意な差がみられ、その際に嘘に関連するPFCおよびR-DLPFC、R-TPJの脳活動にも有意差がみられた。R-DLPFCおよびR-TPJは建前条件でのみ差がみられたことから、建前回答に関連する領域であることが示唆された。

宗教コミュニティの機能に着目した仏教福祉の実践に求められる要因

Factors Required for the Practice of Buddhist Welfare Focusing on the Functions of Religious Communities.

五井野 龍了 (GOINO, Tatsuaki) 指導：辻内 琢也

I. 背景と目的・意義

現代社会において、寺院と日常生活は切り離されつつあり、仏事を介してのみ周辺と関わる仏僧の様を指して、「葬式仏教」と揶揄される程、問題は深刻化しつつある。東日本大震災における支援活動や臨床現場での活動を通して、宗教者によるケアの効果は認められたものの、支援活動および地域活動の担い手として定着しているとは言い難い。そこで、本研究では、仏僧を中心として、仏僧の仏教実践によって形成されたコミュニティを「宗教コミュニティ」と仮説的に定義して、「宗教コミュニティ」において行われる支援活動および地域活動について調査を行う。「宗教コミュニティ」において行われる仏教社会福祉活動の実践を分析することによって、社会福祉実践を仏教者が行うことによる、支援対象者・仏僧双方における意義を明らかにすることや、社会福祉実践における仏僧の望ましいあり方を示すこと、仏教福祉の実践に求められる要因を明らかにすることを目的とする。本研究は、社会実践における仏僧の望ましいあり方を示すことで、現代社会に対応した仏教社会福祉実践のあり方を示すことができるという点や、仏僧および寺院の社会的意義を明らかにすることで、社会資源として寺院を位置付けることが可能になるという点で意義を持つ。

II. 研究方法

①文献研究による社会福祉実践の裏付けとなる仏教思想の発見②先行研究のレビューによる仏僧の社会福祉実践の傾向把握③フィールドワーク調査による「宗教コミュニティ」の観察④インタビュー調査による、仏教社会福祉活動の実践に関与する要因の分析

III. 調査対象

「宗教コミュニティ」において、仏教社会福祉活動の実践を行う三箇所の寺院、およびその寺院の住職に対してフィールドワーク及びインタビュー調査を行った。なお、調査対象の仏教の形態・宗派はそれぞれ以下の通りである。

①ベトナム仏教 ②臨済宗円覚寺派 ③浄土宗

IV. 分析方法

インタビュー調査で得られたデータを基に、逐語録を作成し、逐語録の要点を用いて、KJ法によって分類、構造化した。構造化され、抽出された項目および、項目同士の

相互関係について考察を行った。

V. 結果

分析によって、仏僧の仏教社会福祉実践に関する16項目が抽出され、項目は実践前、活動の実践、実践中の気づき、実践後の展開に分類された。実践前には、「僧侶像の形成」、「今日の寺院の課題」が分類された。活動の実践には、「支援活動の立ち上げ」、「実践のかたちは様々」、「苦に向き合う」、「現代で直面する様々な苦」、「地域活動」、「協働について」、「活動と布教」が分類された。実践中の気づきには「宗教的ケアの可能性」、「実践中での信仰の自覚」、「仏教の勉強と実践の関わり」、「支援の輪の広がり」、「地域アプローチと仏教アプローチの差異」が分類された。実践後の展開には、「さらなる支援の拡大」、「大学教育」が分類された。

VI. 考察

社会福祉実践を仏僧が行う意義は、仏教アプローチによって支援対象の苦痛に寄り添う資質を持つこと、宗教ケアが、今を生きる人の活力となる点だと考えられる。また、寺院の土地や物資を活用できることも仏僧が社会福祉実践を行う意義となりうると考えられる。仏僧にとっては、支援活動を通して、自身の信仰を見つめ直す機会となり、仏教者としての自身を高める契機となりうるという点で、社会福祉実践を行う意義があると言える。

社会福祉実践における仏僧の望ましいあり方とは、教義・儀礼に精通し、培った信仰に立脚した上で、四無量心や菩薩道を実践することであると考えられる。仏僧は苦痛に寄り添う資質を持ち、宗教ケアは独自の意義があると考えられるが、それは仏僧が日々より仏道を勤修し、確かな信仰に立脚して支援や活動を行うからに他ならない。

仏教福祉の実践に求められる要因は、仏僧が、周囲の模範たり得る仏教実践、および社会実践を行うことである。仏教福祉の実践とは、布施や愛護を行い、他者の幸せを實現しようとする状態を指し、より多くの人がこれを実践するには、「宗教コミュニティ」において周囲に影響を持つ仏僧が、日々の仏教実践をおろそかにせず、また市井で社会実践を行い、模範となる必要があると考えられる。仏僧の日々の取り組みが、「宗教コミュニティ」を介し伝播して、仏教福祉は実現する。

水中運動が神経活動に与える影響 —脳活動計測・行動指標・心理指標を用いた検討

Effects of underwater exercise on neural activity

Study using brain activity measurement, behavioral indicators, and psychological indicators

齋田 尚子 (SAIDA, Naoko) 指導：大須 理英子

1. 背景と目的

水中運動は、水の特性から、予防医学的な運動としても位置づけられている。これまで、水中運動による神経生理学的効果として、水中運動による副交感神経の亢進[1]や、立位バランス制御機能の向上[2]、入水後の内受容感覚の上昇[3]が報告されており、水中運動が神経活動に与える効果が期待できる。だが、陸上における運動との比較検討や、継続的な水中運動による神経活動の変化についての実証的な研究がなされていない。そこで、本研究では、水中運動特有の神経活動に与える影響を検討するために、水中と陸上でそれぞれ週に1回30分程度の運動を10週間実施する介入を行った。介入前後に、閉眼片足立ちとタンデム歩行（継ぎ足後ろ歩き）による体性感覚の計測およびfNIRS（機能的近赤外分光分析法）による脳血流量計測、心拍知覚課題と質問紙MAIA(Multidimensional Assessment of Interoceptive Awareness：内受容感覚への気づきの多元的評価)による内受容感覚の計測を行った。

1. 実験方法

対象：18歳以上の健康な男女16名を対象とし、過去の運動歴と本人希望により水中運動群10名（男性2名女性8名、平均年齢43.9歳）、陸上運動群6名（男性3名、女性3名、平均年齢40.0歳）に分類したが、使用できるデータは水中運動群では女性8名であった。本研究は早稲田大学・人を対象とする研究に関する実施承認を得て実施している（申請番号：2022-537）。実験開始前に実験内容について説明し、実験参加同意書に署名することにより同意を得た。

実験手続き：実験手続きを図1に示す。



図1 実験手続き

介入前後の計測内容は、心拍知覚課題・タンデム歩行・閉眼片足立ちおよび脳血流量計測・質問紙MAIAである。介入前計測後、水中・陸上それぞれで週1回30分程度の運動を10週間実施する介入を行った。安全かつシンプルで、水中・陸上で類似した運動を提示した。脳血流量計測では、姿勢制御に関連する一次運動野と体性感覚野に30チャンネル

を配置した。

3. 結果

全ての計測項目において、運動環境（水中・陸上）と介入前後で2要因分散分析（有意水準5%）を行った

心拍知覚課題：心拍一致率を用いた分析では、介入前後で $F(1,4) = 109.1$ 、 $p = 0.001$ と有意差がみられた。

質問紙MAIA：下位尺度8項目の各平均得点を用いた分析では、介入前後・運動環境・交互作用において有意差がみられたのは、下位尺度の「注意制御」のみであった。Bonferroni法を用いた単純主効果の検定では、 $F = 15.03$ 、 $p = 0.01$ で水中運動介入後に有意な効果がみられた。

タンデム歩行：両群の平均タイムを用いた分析では、介入前後で $F(1,4) = 92.89$ 、 $p = 0.001$ と有意差がみられた。

閉眼片足立ち(非利き足)：両群の平均タイムを用いた分析では、介入前後で有意差がみられなかった。

脳血流量計測：タンデム歩行・閉眼片足立ち（非利き足）時のoxy-Hb平均値を用いた分析では、全チャンネルにおいて介入前後で有意差がみられなかった。

4. 考察

水中運動が神経活動に与える影響は、心拍一致率とMAIA「注意制御」の向上により内受容感覚において示された。水圧や抵抗による不安定な水流の中で身体感覚への注意を保ち、姿勢や動作をコントロールすることや、水中での自己保全能力により、注意制御が改善されたと考察する。タンデム歩行で介入前後に有意差がみられた要因として、水中運動では環境適応のための複雑な感覚情報処理機能の向上、陸上運動ではトレーニングの特異性によると考察する。

<参考文献>

[1]青葉貴明他：低強度水中運動プログラムにより心臓副交感神経活動は一過性に亢進する。体力科学, Vol.71, 6, 2022

[2]. 木村哲也他：水による体性感覚への刺激が立位バランス調整機能に与える効果—水中運動の神経生理学的効果の検証—. デザントスポーツ科学, Vol.37, 74-81, 2016

[3] Yasuhiro Baba, et, al.: Does long-term training in a water immersion environment change interoception?. Int. J. Environ. Res. Public Health, 18, 10259, 2021

肥満モデルマウスにおけるWdr6欠損は脂質蓄積を抑制する

Wdr6 gene deletion suppresses fat accumulation in the *Lep^{ob/ob}* mouse model of obesity

中川 香里 (NAKAGAWA, Kaori) 指導：千葉 卓哉

【背景】

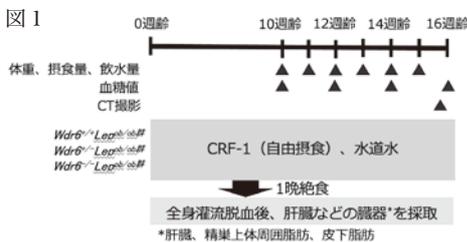
老化は避けることができない現象とされてきたが、近年の医療技術の発達や寿命の延長により、老化は治療可能な病であるという考えが広まってきた。老化を病気とすることは、これまで諦められてきた老化を原因とした病気の治療が可能となり、高齢化が進む社会において、長く健康を保つことが可能になると考える。

老化を促進する疾患の一つとして肥満症があげられる。肥満は、慢性炎症を引き起こすことから、加齢関連疾患の発症に大きく寄与する。肥満者は過去何十年にわたり世界中で増加し続け、深刻な問題となっているため、肥満を改善する方法を模索する必要がある。

これまでの研究で、脂質蓄積の制御に関わるWD repeat domain 6(WDR6)を見出した。in vitroにおいてWDR6をノックダウンすると、脂質蓄積が抑制されることがわかっている。そこで、本研究ではWdr6が欠損した肥満マウスモデルを作成し、生体内においてWdr6欠損が脂質蓄積にどのような影響を与えるのか解析した。

【方法】

動物実験の概要は図1の通りである。*Lep^{ob/+}*マウスとWdr6^{+/-}マウスと交配して、Wdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*群、Wdr6^{+/-}*Lep^{ob/ob}*群、Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の3群を作成した。基本的なパラメータとして体重、摂食量、臓器重量を測定した。精巣上体周囲脂肪および皮下脂肪の組織標本を作製し、Hematoxylin Eosin (HE) 染色を行い、切片上の脂肪細胞の断面積を算出した。

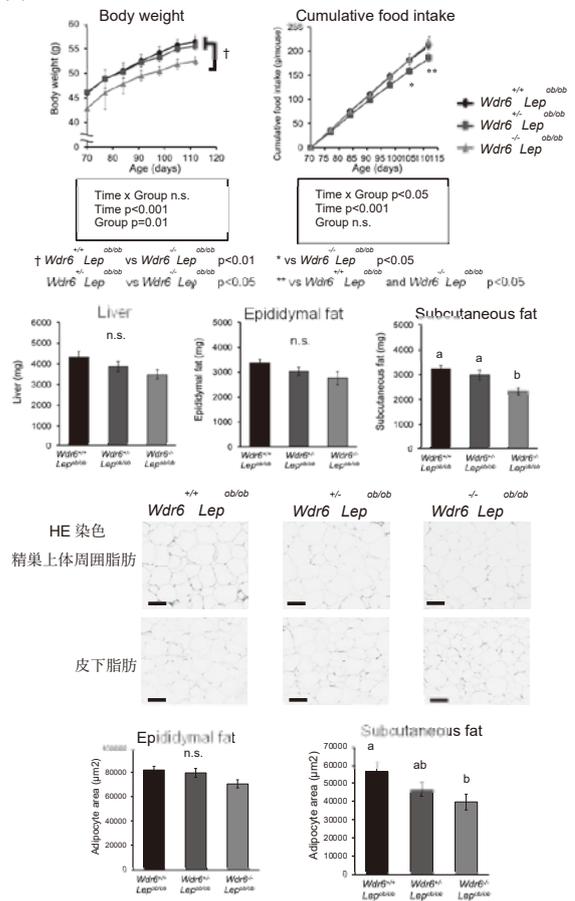


【結果】

Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の体重は、Wdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*群およびWdr6^{+/-}*Lep^{ob/ob}*群と比較して有意に低かった。Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の累積摂食量はWdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*群と比較して有意な差が認められなかった。Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の臓器重量および精巣上体周囲脂肪重量はWdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*群として比較して減少していたが、有意な差は認められなかった。Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の皮下脂肪重量においては

Wdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*群と比較して有意に低値を示した。また、脂肪細胞の面積を定量した結果、精巣上体周囲脂肪の脂肪細胞面積は、Wdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*と比較して、Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群に有意な差はなかったが、皮下脂肪の脂肪細胞面積はWdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*と比較して、Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群で有意に小さかった。

図2



【考察】

累積摂食量に有意な差がないにもかかわらず、Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の体重はWdr6^{+/+}*Lep^{ob/ob}*群およびWdr6^{+/-}*Lep^{ob/ob}*群と比較して有意に低いことから、WDR6の機能阻害は体重増加および脂肪組織重量を抑制することが明らかとなった。また、Wdr6^{-/-}*Lep^{ob/ob}*群の脂肪細胞のサイズが小さかったことから、分化・成熟が抑制されたため、脂肪組織の重量が減少したと考えられる。今後は、生体内の脂肪前駆細胞についてさらに詳しく解析を行う必要がある。

寒冷負荷時の血管運動機能に与えるツボの効果の検証

The effect of acupressure on the vascular function during cold stress

花岡 光子 (HANAOKA, Mitsuko) 指導: 永島 計

【研究背景と目的】

手技によりツボを刺激する足ツボ療法は、東洋医学の一つとして汎用されている。代表的なツボの一つである足三里への指圧は、冷え性の改善効果が示唆され皮膚温の上昇が報告されている(蒲原ら、2000)。しかし、これらの生理学的な機序は明らかではない。研究では足三里への指圧後に手の局所冷水負荷を行い、刺激中の血管収縮反応および、その後の回復過程を評価した。また同時に対側の反応や、全身の自律神経応答を評価することを目的として検証した。

【方法】

健康な若齢者7名は、半袖シャツと半パンに着替え、人工気候室内(温度27°C、相対湿度50%)で仰臥位安静とした。自作したツボ刺激器具と圧力センサーを用いて、5分間の右足三里のツボ刺激もしくは、偽ツボへの対照刺激を行った。その後、対側の左手を尺骨頭まで10°Cの水で10分間の冷水負荷を行った。その際、心電図、鼓膜温度、皮膚温、皮膚血流量を連続測定し、血圧は各期間の区切りで測定した。解析および統計は心拍数、皮膚温、皮膚血流量は、各刺激5分間前、各刺激時、冷水負荷前半5分および後半5分、冷水負荷後0-5分および15-20分について解析を行った。心電図解析は、心電図R波とR波の間隔(RRI)を5分毎のエポックで算出し評価した。隣接するRRIの差の根平均二乗よりRMSSD(迷走神経活動の指標)を求めた。RRIの周波数成分解析をフーリエ変換により行い、パワースペクトル密度から低周波成分(LF)と高周波成分(HF)の比であるLF/HF(交感神経活動の指標)を求めた。データは二元配置分散分析を行い(ツボ刺激、時間の2要因)、有意差を認めた場合には多重比較の方法としてBonferroniにて事後検定を行った。いずれも有意水準を $P < 0.05$ とし、データは平均値 ± 標準偏差で示した。

【結果】

左(冷水負荷側)、右(非冷水負荷側)の示指皮膚血流量は時間の主効果がみられた。ツボ刺激の主効果および、時間とツボ刺激の2要因の交互作用は認められなかった(負荷側: 条件: $P = 0.432$, 時間: $P < 0.001$, 条件 × 時間: $P = 0.375$; 非負荷側: 条件: $P = 0.844$, 時間: $P < 0.001$, 条件 × 時間: $P = 0.342$)。安静期間と比較して、負荷側は

負荷前半および後半、非負荷側は負荷前半と後半に減少した($P < 0.005$)。冷水負荷側、非冷水負荷側の示指皮膚温は時間の主効果がみられた。ツボ刺激の主効果および、時間とツボ刺激の2要因の交互作用は認められなかった(負荷側: 条件: $P = 0.417$, 時間: $P < 0.001$, 条件 × 時間: $P = 0.203$; 非負荷側: 条件: $P = 0.313$, 時間: $P < 0.001$, 条件 × 時間: $P = 0.298$)。安静期間と比較して負荷側は、負荷前半と後半、回復期0-5分に減少した($P < 0.005$)。平均皮膚温はツボ刺激の主効果ありの傾向がみられた。時間の主効果および、時間とツボ刺激の2要因の交互作用は認められなかった(条件: $P = 0.055$, 時間: $P = 0.198$, 条件 × 時間: $P = 0.393$)。RRI、心拍数、平均血圧はツボ刺激と時間の主効果および、時間とツボ刺激の2要因の交互作用は認められなかった。(RRI: 条件: $P = 0.942$, 時間: $P = 0.438$, 条件 × 時間: $P = 0.091$; 心拍数: 条件: $P = 0.942$, 時間: $P = 0.438$, 条件 × 時間: $P = 0.091$; 平均血圧: 条件: $P = 0.441$, 時間: $P = 0.088$, 条件 × 時間: $P = 0.570$)。RMSSD、LF/HFはツボ刺激と時間の主効果および、時間とツボ刺激の2要因の交互作用は認められなかった(RMSSD: 条件: $P = 0.192$, 時間: $P = 0.416$, 条件 × 時間: $P = 0.457$; LF/HF: 条件: $P = 0.434$, 時間: $P = 0.045$, 条件 × 時間: $P = 0.679$)。

【考察】

局所冷水負荷は皮膚の冷受容体や侵害受容体を刺激し、全身の交感神経活動を増加させることが知られており、全身の交感神経制御を評価する最適な手法であるため用いた。蒲原らは、快適環境下での足三里に対する指圧により、刺激後に刺激側下腿皮膚温の上昇と、筋血流量の有意な増加を報告している(蒲原ら、2000)。本研究では、10°Cの局所冷水負荷を用いて、局所の冷えにより交感神経活動が上昇した状態での、足三里のツボ刺激の効果を検証した。冷水負荷側と非冷水負荷側の示指皮膚血流量、示指皮膚温において、ツボ刺激の主効果および、時間とツボ刺激の2要因の交互作用は認められなかった。そのため、足三里のツボ刺激は、快適環境下では皮膚温や筋血流量を上昇させるが、10°Cの局所冷水負荷下では、皮膚血流量や皮膚温を変化させる程の交感神経への影響をもたらさないことが示された。

内部状態が行動変容に及ぼす影響の検討

The Effect of Mental Fatigue on Carbon Neutral Action

三上 悠 (MIKAMI, Yu) 指導：大須 理英子

1. 導入

近年ではモバイルアプリケーションの介入による行動変容が注目されている。しかし、これまで行動変容を目指す対象者の内部状態に着目した研究はない。対象者の内部状態によっては、同じ行動変容プログラムを適用しても効果が異なる可能性がある。そこで本研究では、脳の疲労状態に着目し、内部状態が行動変容に及ぼす影響を検討する。脳が疲労している状態では、プライマーを提示しても、望ましい行動を取らないという仮説を立てた。

2. 方法

実験では30名（男性26名、女性4名、20.9歳±1.7）を対象とし、参加者は脳疲労課題を実施する介入群と、映像視聴課題を実施するコントロール群にランダムに振り分けられた。脳疲労課題ではAX-CPTを60分間実施した。コントロール課題では、約60分間の映像視聴とした。

今回脱炭素行動の選択課題として、買い物にきた場面を想定してもらい、値段とCO2排出量の異なる同じ商品を提示し、よりどちらを選びたいかの度合いをVASで報告してもらった。この回答結果から、よりCO2排出量の少ない商品を選択する度合いの指標(DBC)を算出した。ベースラインとしてプライマーなし条件の選択課題(test1')を実施し、疲労課題または映像視聴課題の後にプライマーなし条件の選択課題(test1)とプライマー提示条件の選択課題(test2)を実施した。test1、test2のDBCからそれぞれtest1'のDBCの差分を算出することで行動変容を評価した。この値に対してプライマーの有無と脳疲労課題の介入有無の二要因分散分析を行った。

脳疲労が誘発されたかどうかは脳波、主観評価の2点から確認した。32チャンネルのワイヤレスモバイル脳波計(mbt)を使用し、脳疲労課題・コントロール課題の前後およびプライマーあり選択課題の後に、2分間の安静状態の脳波計測を行った。また、質問紙によって主観的な疲労度を評価した。

3. 結果

脳波計測の結果、脳疲労を示す結果は得られなかった。質問紙の結果から、疲労度は質問紙実施回の主効果に有意差が得られた ($F(2,52)=17.7588, p=0.0000, partial \eta^2=0.4058$)。質問紙実施回の要因について多重比較した

結果、第1回と第2回($t(26)=4.7228, p=0.0001$)、第1回と第3回($t(26)=4.3199, p=0.0002$)で、Shaffer補正された $p<0.05$ で有意差が得られた。

また、疲労が選択課題のプライマー提示に影響を及ぼすか検討するために、DBCの変化量について、脳疲労課題・コントロール課題

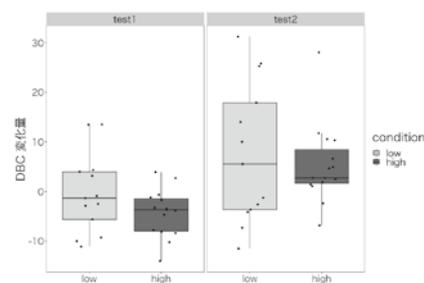


図1 主観的疲労度変化量別のDBC変化量

の前後の主観的疲労度変化量の高低群で群分けした(図1)。主観的疲労度変化量とプライマー有無の二要因分散分析の結果、プライマー有無の主効果に有意差が得られた ($F(1,26)=22.6799, p=0.0001, partial \eta^2=0.4659$)。

4. 考察

選択課題における商品選択のVASの検定結果から、プライマーを提示したことによって両群ともにDBCの変化量が有意に大きくなった。これは脳疲労課題の介入の有無に関係なく、プライマーの内容に従って脱炭素行動をとった、つまり行動変容したことを示している。

脳波の周波数解析の結果から、いずれも脳疲労は確認できなかった。また、質問紙による主観的疲労度の検定結果から、両群ともに60分間の介入課題によって疲労度は有意に増加し、その疲労は実験終了前まで持続していたことが示された。これらのことから、脳疲労課題の介入の有無に関わらず両群で主観的な疲労度は増加しており、介入群で十分な脳疲労が誘発されなかった、または両群で脳疲労が誘発された可能性がある。

また、図1よりプライマーを提示したことによって両群ともにDBCの変化量が有意に大きくなっている。これは、疲労状態に関係なくプライマーの内容に従って脱炭素行動をとったことを示す。本研究では、対象者の内部状態が異なると、プライマーに対する行動変容の度合いが異なる可能性があるという仮説を立てた。しかしこれらの結果から、主観的な疲労度は影響を与えないことが明らかとなった。

Spatiotemporal regulation of *de novo* and salvage purine synthesis during brain development

水越 智也 (MIZUKOSHI, Tomoya) 指導：榎原 伸一

The levels of purines, essential molecules to sustain eukaryotic cell homeostasis, are regulated by the coordination of the *de novo* and salvage synthesis pathways in mammals. Impairment in purine metabolism leads to various neurological diseases such as Lesch-Nyhan syndrome, seizure, and microcephaly. In the developing central nervous system (CNS), the *de novo* purine synthetic pathway is presumed to be mainly utilized because neural stem/progenitor cells (NSPCs) require large amounts of purines for abundant proliferation and neuron production. However, how these two pathways are balanced or separately utilized during CNS development remains poorly understood.

In this study, we revealed that the spatiotemporal regulation of two purine synthetic pathways is essential for proper CNS development. Along with brain development, there is a shift of utilization for purine synthetic pathways, with a greater reliance on the *de novo* pathway in the embryonic stages and a greater reliance on the salvage pathway in the postnatal—adult stages. The pharmacological effects of various purine synthesis inhibitors *in vitro* and the expression profile of purine synthesis enzymes indicated that NSPCs in the embryonic cerebrum mainly utilize the *de novo* pathway. Simultaneously, NSPCs in the cerebellum require both the *de novo* and the salvage pathways. *In vivo* administration of *de novo* inhibitors resulted in severe hypoplasia of the forebrain cortical region, indicating a gradient of purine demand along the anteroposterior axis of

the embryonic brain, with cortical areas of the dorsal forebrain having higher purine requirements than ventral or posterior areas such as the striatum and thalamus. This histological defect of the neocortex was accompanied by strong downregulation of the mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1)/ribosomal protein S6 kinase (S6K)/S6 signaling cascade, a crucial pathway for cell metabolism, growth, and survival. The forebrain—specific malformation by inhibiting *de novo* pathway is rescued by the upregulation of mTOR activator. These findings indicate that strict spatiotemporal regulation of purine synthesis in cooperation with mTORC1 signaling are crucial for the proper brain development.

However, we could not clarify the factor that drives the switch from *de novo* to salvage pathways as well as the molecular mechanisms of brain malformation caused by *de novo* purine synthesis inhibitors. Our future study will focus on regional and lineage-specific differences in purine metabolism in the brain. These studies might shed light on the significance of adaptive changes in purine metabolic pathways during the evolution of the mammalian cerebral neocortex. This research was published in eNeuro [1].

[1] Mizukoshi, T., Yamada, S., & Sakakibara, S. I. (2023). Spatiotemporal Regulation of *De Novo* and Salvage Purine Synthesis during Brain Development. eNeuro, 10(10). doi:10.1523/ENEURO.0159-23.2023

オートファジー制御における細胞性粘菌由来の生物活性物質DIF-1とその誘導体の機能解析

山田 龍 (Yamada, Ryu) 指導：原 太一

1. 序論

モデル生物として長年用いられている細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) の柄細胞分化誘導因子 (differentiation-inducing factor-1, DIF-1) とその代謝物であるDIF-3には、ヒト培養細胞に対して抗増殖活性、代謝活性やミトコンドリア機能制御をはじめとした生物活性が複数報告されている。それらをベースに合成された誘導体における生物活性の増強も報告されている。細胞の増殖活性、代謝制御やミトコンドリア機能制御にはその恒常性維持に機能するオートファジーも密接に関与する一方で、DIFがヒト培養細胞のオートファジーに与える影響についての知見は殆ど存在しない。また、その作用機序については未解明の範囲が広い一方で、報告された標的因子候補にはオートファジーと関連する因子が含まれる。したがって本研究では、DIFと新規誘導体によるヒト培養細胞のオートファジーに対する影響を検討し、そのメカニズムの一部可能性を示すこと及び、そのオートファジーとその他生物活性制御との関係性について明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

HeLa細胞を用いてDIF (16種) が細胞のオートファジーに与える影響を検討した。その作用機序の解析には遺伝子ノックアウトによる仮説検証を想定し、半数体モデルHapl細胞を用いた。オートファジーは蛍光活性化セルソーティング (FACS) を用いて解析した。細胞の代謝活性はWST-8を用いた脱水素酵素活性を指標に検討した。メカニズムの解析は複数のシグナル伝達経路特異的阻害剤、活性剤を用いて生物活性の変動をFACS及びWST-8を利用して評価した。

3. 実験結果

①オートファジー活性に及ぼすDIFの効果と主要なオートファジー関連シグナル伝達経路mTORC1の検討

HeLa細胞とHapl細胞においてDIF及び誘導体をそれぞれ処理したところ、2種のDIF誘導体 (Bu-DIF-3, CP-DIF-3) がオートファジーフラックスを活性化した。また、HeLa細胞において2種のDIF誘導体はmTORC1シグナル伝達経路非依存的にオートファジーを活性化した。

②RNA-SeqによるDIFの効果とその生物学的機能解析

DIFによる生物活性制御に関与する遺伝子の解析及びそれ

ら遺伝子の生物学的機能解析を、RNA-Seq解析を用いて検討した。解析からミトコンドリア電子伝達系の制御に関連する遺伝子に発現変動が認められた。それらに関連するシグナル伝達経路の関連遺伝子も発現変動が認められた。

③細胞のミトコンドリア機能に及ぼすDIF誘導体の効果

DIF処理による細胞のミトコンドリア膜電位の低下及び、活性酸素種 (ROS) レベルの上昇が認められ、DIF誘導体がミトコンドリア機能を阻害する可能性が示された。

④DIFによる生物活性制御に関与するキナーゼの解析

Membrane Antibody Arrayを用いて39種類のキナーゼリン酸化レベルを網羅的に解析した。結果、DIF誘導体処理した細胞では、ミトコンドリア制御に関連するシグナル伝達経路AMPKの下流に位置する複数のキナーゼ及びそれらシグナル伝達経路に関与するmTORC1/Akt関連キナーゼのリン酸化レベルも変動した。

⑤細胞のシグナル伝達経路に及ぼすDIFの効果

DIFによるミトコンドリア機能の阻害、RNA-Seq解析及びキナーゼの解析結果から、AMPKシグナル伝達経路を中心に、DIFによる生物活性との関係性に着目し、Bu-DIF-3とCP-DIF-3の作用機序に差異が存在する可能性を示した。

⑥DIF誘導体によるオートファジーの生理的意義

HeLa細胞において、プロテアソーム阻害剤処理によって低下する代謝活性がDIFとプロテアソーム阻害剤の併用によってオートファジー依存的に軽減されることが示された。

4. 考察

DIFがオートファジーを誘導することが明らかになった。また、DIFがミトコンドリア機能を阻害する可能性も示した。RNA-Seq解析、キナーゼ解析よりDIFの影響が見出されたAMPKシグナル伝達経路は、主要な代謝制御経路であるとともにミトコンドリア機能も制御する。加えてAMPKシグナル伝達経路はオートファジーへの関係が報告されているAkt/GSK-3/mTORC1経路とも複雑に関わり合っている。DIF誘導体2種がそれら経路と関連する可能性も、本研究において示唆された。したがって、DIFによる細胞のオートファジー活性と代謝制御は、ミトコンドリア機能の阻害を起点としたAMPK及びAkt/GSK-3/mTORC1シグナル伝達経路を介した細胞プロセスの制御によって引き起こされると推測される。