

マウスを用いた不安行動の検証と
トリプトファンによる不安行動の緩和

徳島県立城南高等学校 応用数理科

明石 亮大

野口 優作

矢部 直輝

目次

1. 研究の概要.....	3
2. 研究の動機と目的.....	4
3. 仮説.....	4
4. 実験方法.....	4
5. 予備実験.....	6
6. 実験 I.....	12
7. 結果・実験 I.....	13
8. 実験 II.....	18
9. 結果・実験 II.....	19
10. 考察.....	24

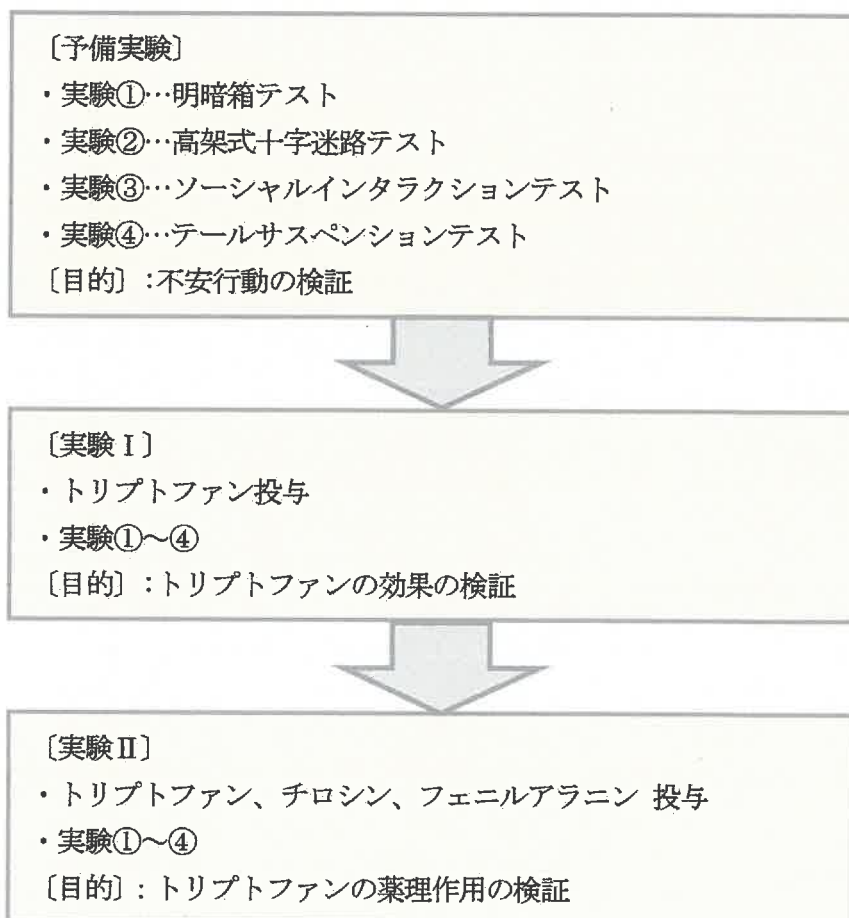
1. 研究の概要

マウスに社会的敗北ストレスを与え、うつ状態とし、そのマウスにトリプトファンを投与することにより、ストレスが緩和されるかを検証した。

本実験Ⅰでは、マウスにトリプトファンを与え、体重の変化を調べ、さらに、明暗箱テスト、高架式十字迷路テスト、ソーシャルインタラクションテスト、テールサスペンションテストを用いてマウスの行動がどのように変化するかを検証した。

本実験Ⅱでは、トリプトファンの薬理作用を検証するため、マウスにトリプトファン、フェニルアラニン、チロシンを与え、行動の変化にどのような差があるのかを検証した。

その結果から、トリプトファンを投与したマウスでは、不安行動が減少し、薬理作用の検証ではトリプトファンを与えたマウスでもっとも不安行動が減少していることがわかった。



2. 研究の動機と目的

近年、社会の複雑化によるストレスから、不安症状に陥る人々が増加している。必須アミノ酸であるトリプトファンは不安を緩和する作用があるとされ、サプリメントとして販売されている。

本研究では、マウスを対象として、トリプトファンによって不安行動がどのように緩和されるのかを検証することを目的とした。

3. 仮説

トリプトファンを与えたマウスでは、不安行動が減少し、うつ状態が改善される。

4. 実験方法

実験①：明暗箱テスト

明箱と暗箱のしきりに、マウスが通り抜けられる程度の穴をあける。マウスは名所よりも暗所を好むため、明箱に入れられたマウスは暗箱に入ろうとする。不安状態では、暗箱に滞在する時間が長いと考える。この実験では、5分間におけるマウスの暗箱滞在時間を測定する。



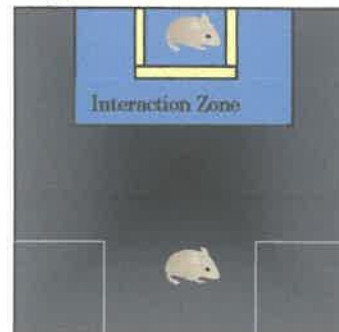
▲図1



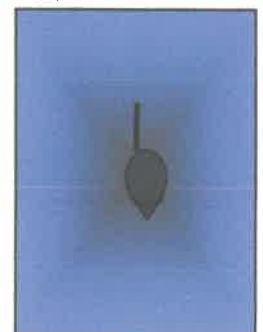
▲図2

実験②：高架式十字迷路テスト

床から高さ60cmにあるplatform(十字の中央)にマウスをおく。アームには壁があるもの(closed arm)とアームが無いもの(open arm)がある。不安状態では、十字迷路上におけるclosed armへの進入回数が多く、open armへの進入回数が少なくなると考える。



▲図3



▲図4

実験③：ソーシャルインタラクションテスト

大きな箱の中で実験マウスを一定時間行動させてその軌跡を追う。

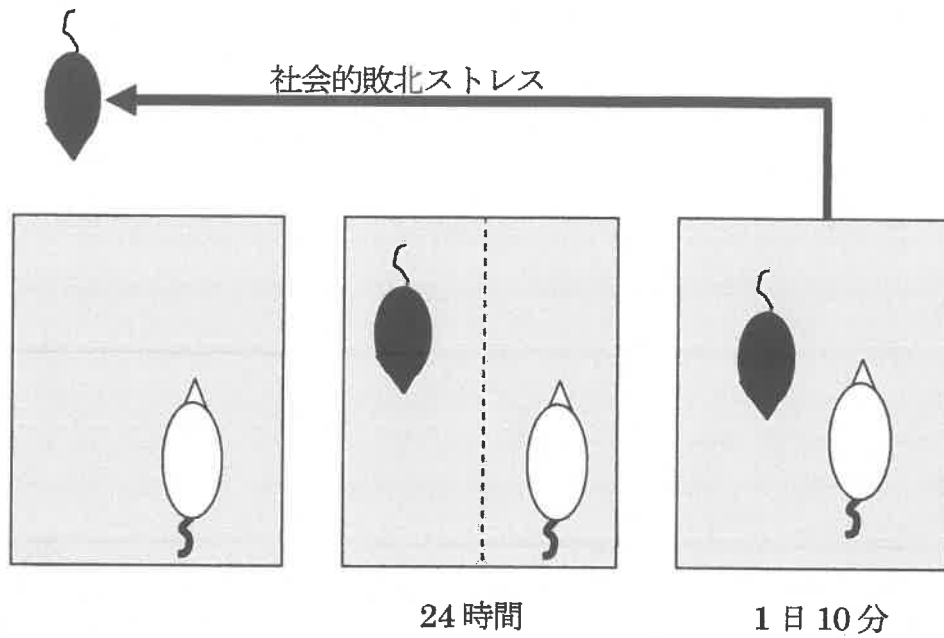
箱の一箇所に実験マウスと同等の大きさのマウスを置き、そのマウスの周辺10cmをInteraction Zoneとする。今回の実験では、実験マウスのInteraction Zoneでの滞在時間を測定した。

不安状態では、Interaction Zoneでの滞在時間が短くなると考える。

実験④：テールサスペンションテスト

マウスの尾を固定し逆さにぶら下げ、懸垂下で逃れようと動いている時間と無動の時間を計測する。不安状態では、無動時間が長くなると考える。

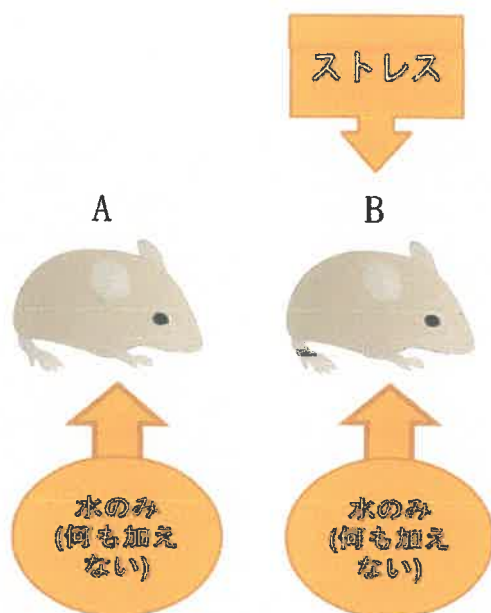
うつ病モデルマウスの作成



被験マウスを、それより体の大きいマウスのケージで 24 時間飼育した。このとき、二匹の間には透明の仕切り板を置いた。1日 10 分間だけ、この仕切り板をはずした。これにより二匹は接触し、しばしば喧嘩がおこし、被験マウスは敗北した。これを続けることで、被験マウスには社会的敗北ストレスとよばれるストレスがかかり、うつ病モデルマウスが完成した。

5. 予備実験

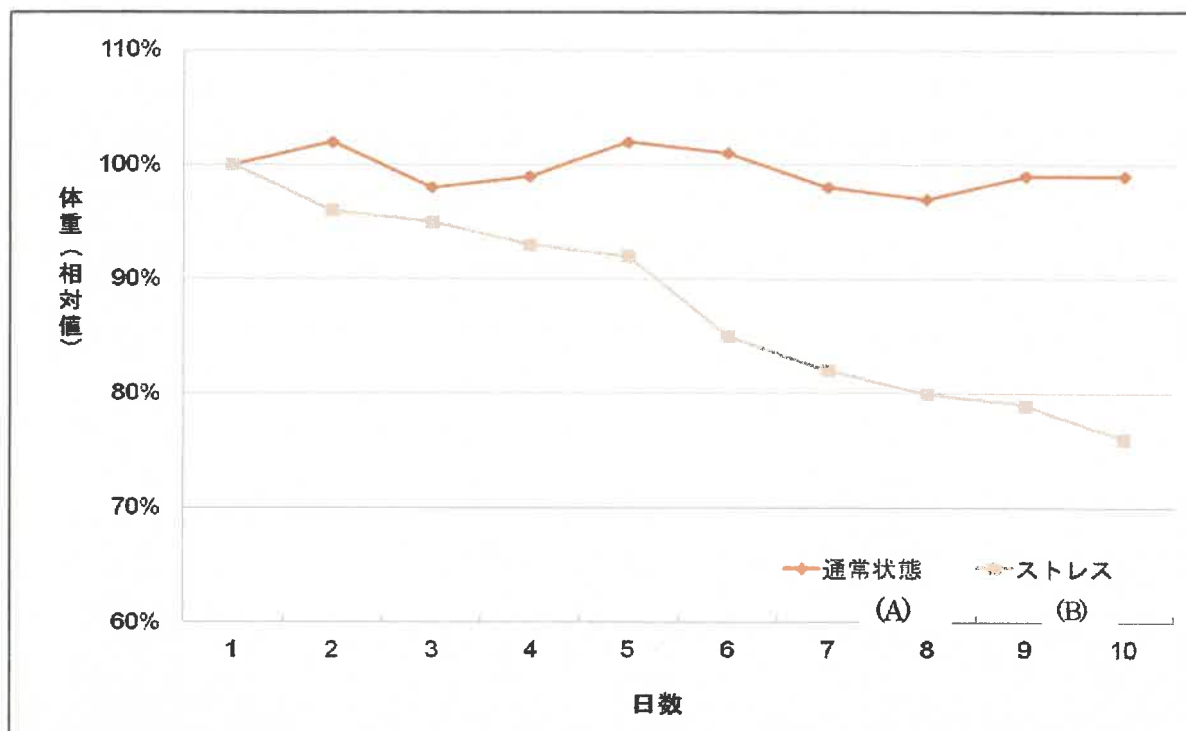
実験の条件



マウスをAグループ、Bグループに分け、マウスBに社会的敗北ストレスを与えて飼育した。このときマウスA,Bには通常通りの餌と水を通常通り与えた。予備実験ではマウスの体重変化、実験①～④の結果を検討した。

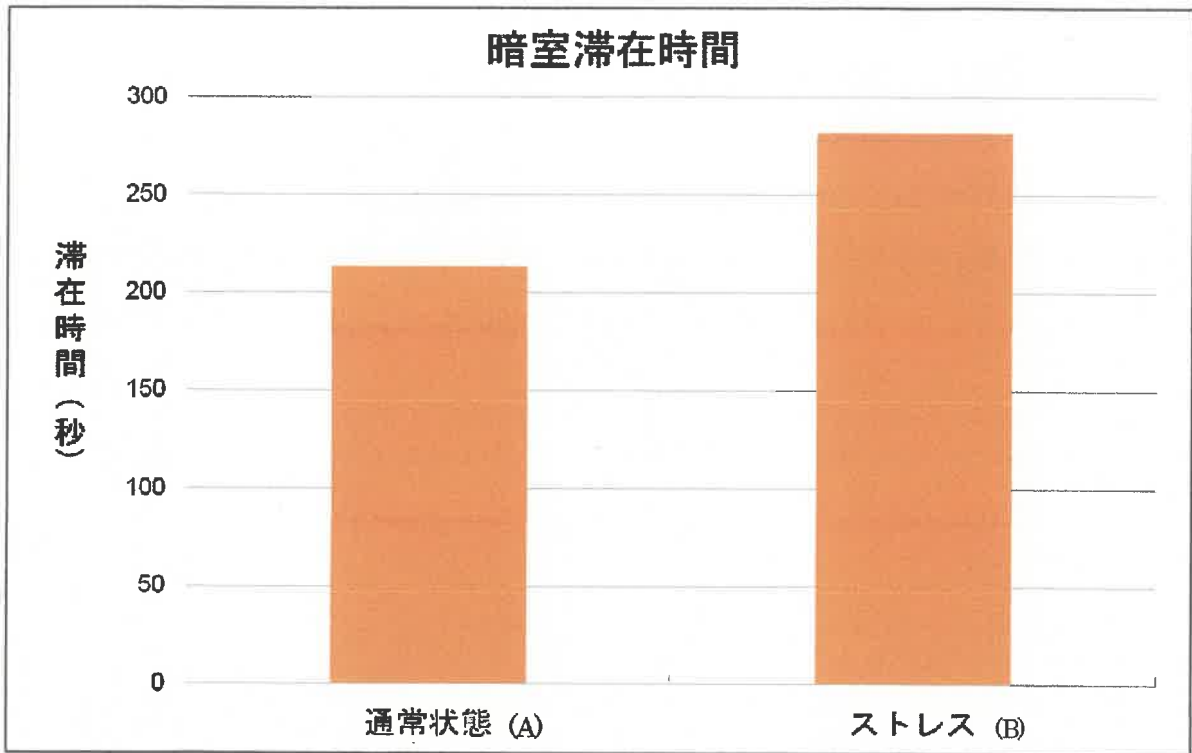
6. 結果・予備実験

体重変化の推移



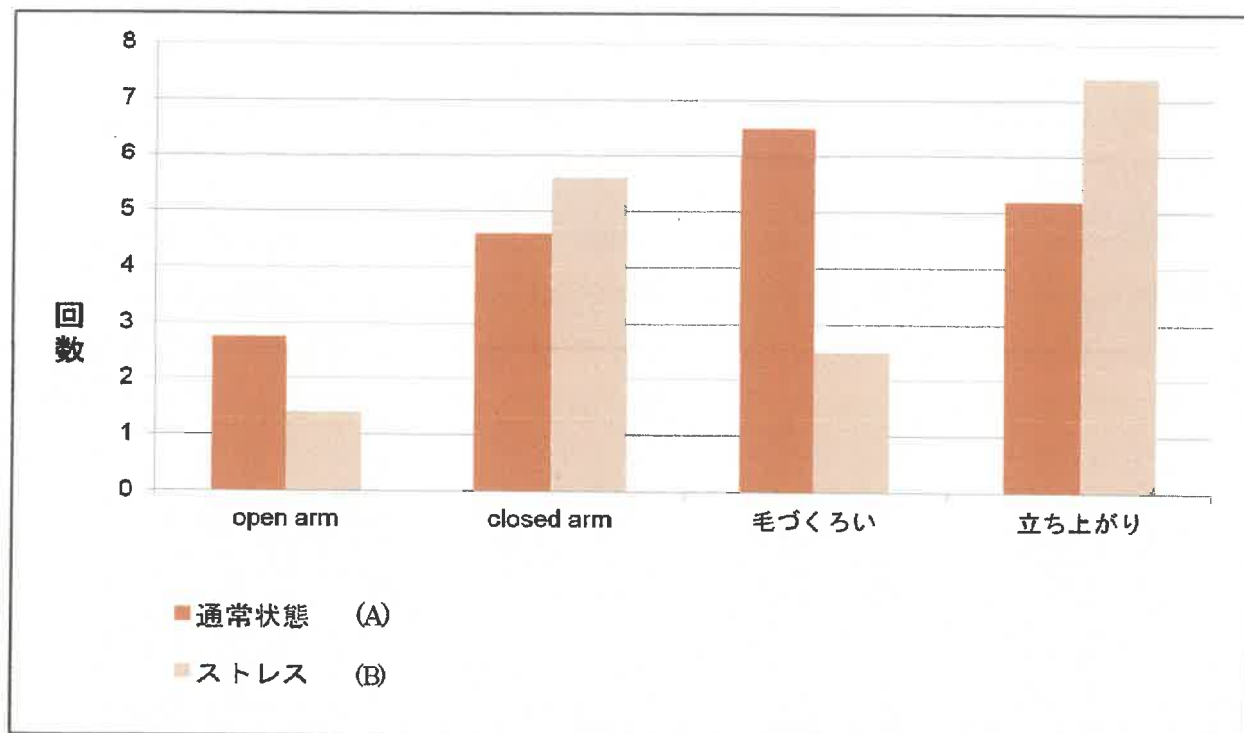
通常状態で飼育したマウス A ではあまり体重変化がみられないが、ストレスを与えたマウス B では有意に体重が減少している。したがって、マウスに社会的敗北ストレスを与えたマウスは体重が減少すると考えられる。

実験①：明暗箱テストの結果



マウス A に比べ、マウス B では暗室滞在時間が増加している。したがって、ストレスを与えたマウスでは暗室滞在時間が増加すると考えられる。

実験②：高架式十字迷路テストの結果



[不安行動]

open arm...グラフ値が大きいほうが低い

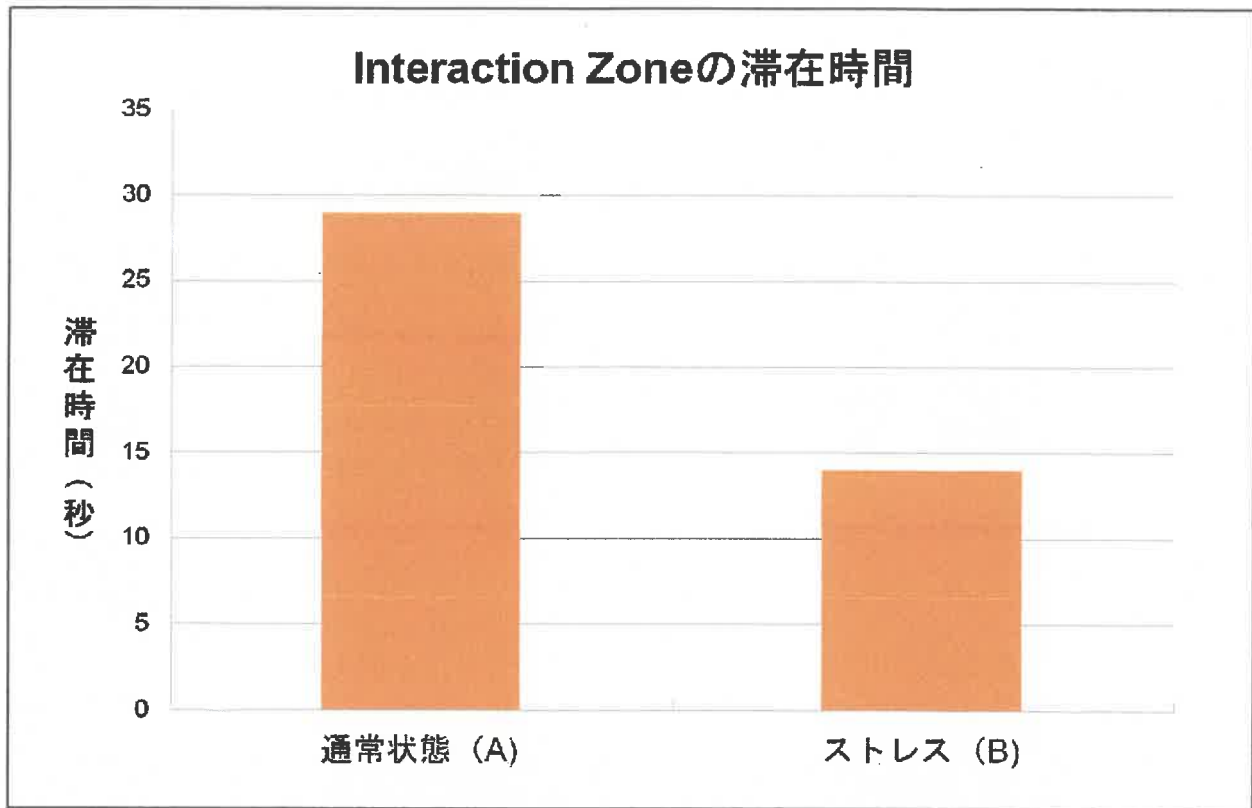
closed arm...グラフ値が小さいほうが低い

毛繕い...グラフ値が大きいほうが低い

立ち上がり...グラフ値が小さいほうが低い

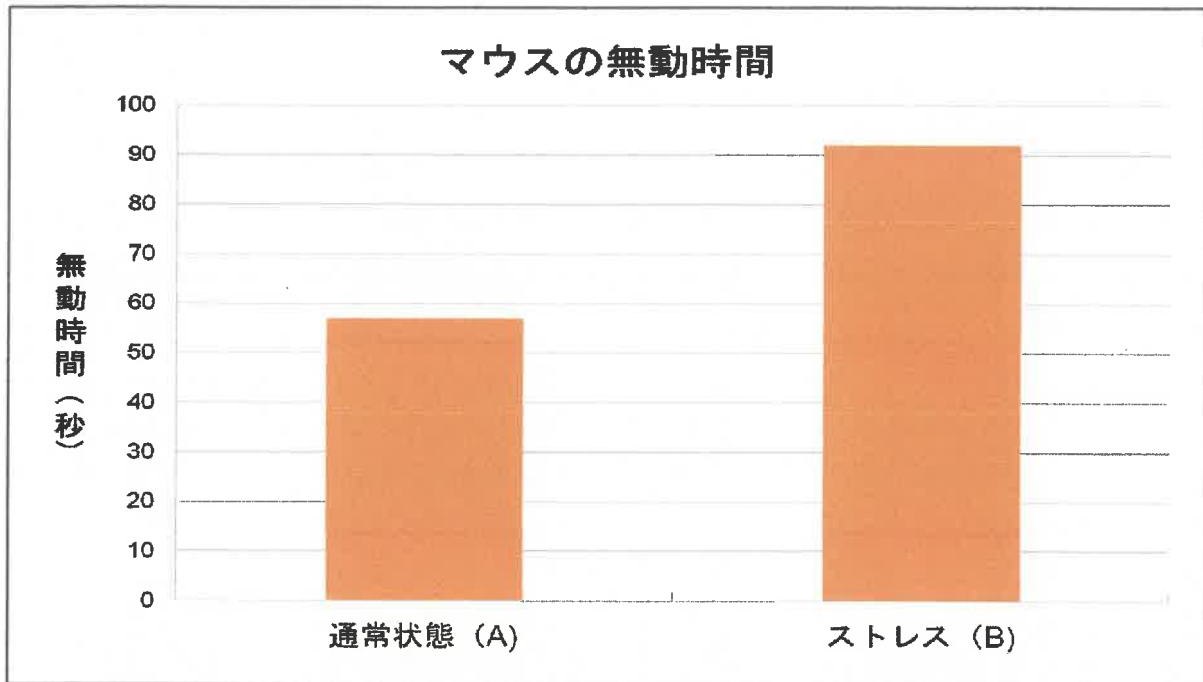
マウス A に比べ、マウス B では open arm への進入回数が減少し、closed arm への進入回数が増加し、毛づくろいは減少し、立ち上がりは増加している。したがって、ストレスを与えたマウスでは open arm への進入回数が減少し、closed arm への進入回数が増加し、毛づくろいは減少し、立ち上がりは増加すると考えられる。

実験③：ソーシャルインタラクションテストの結果



マウス A に比べ、マウス B では Interaction Zone での滞在時間が減少していることがわかる。したがって、ストレスを与えたマウスでは Interaction Zone での滞在時間が減少すると考えられる。

実験④：テールサスペンションテストの結果

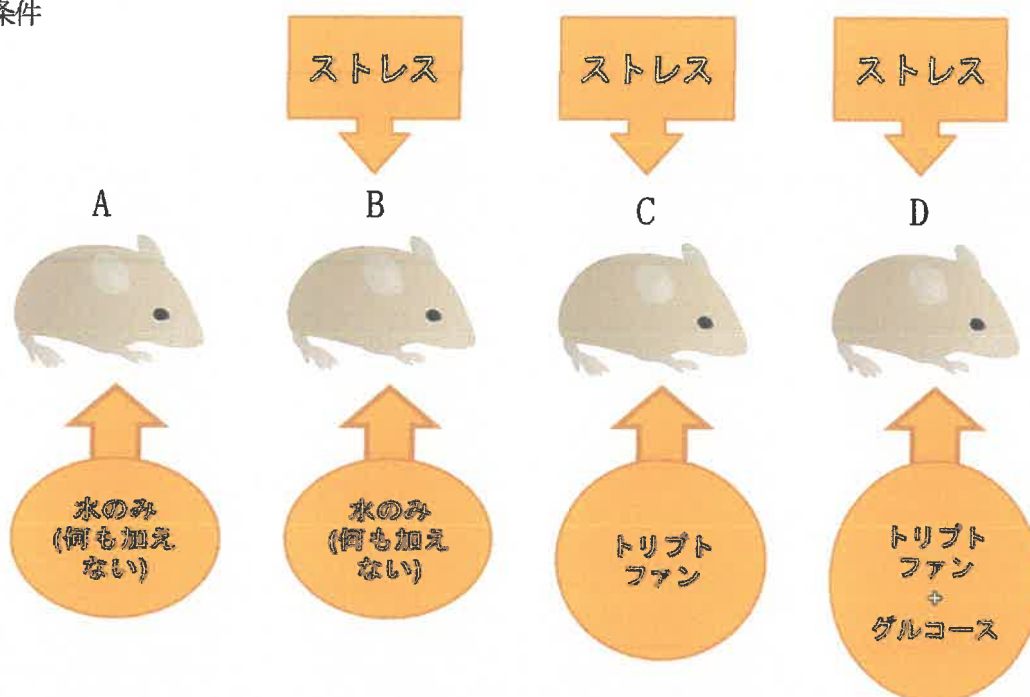


マウス A に比べ、マウス B では無動時間が増加していることがわかる。したがって、ストレスを与えたマウスでは無働時間が増加すると考えられる。

以上の実験より、マウスに社会的敗北ストレスを与えることにより、結果のように不安行動が増加することが確認できた。従って、実験①～④と条件を本実験に用いることを決定した。

6. 実験 I

① 実験の条件

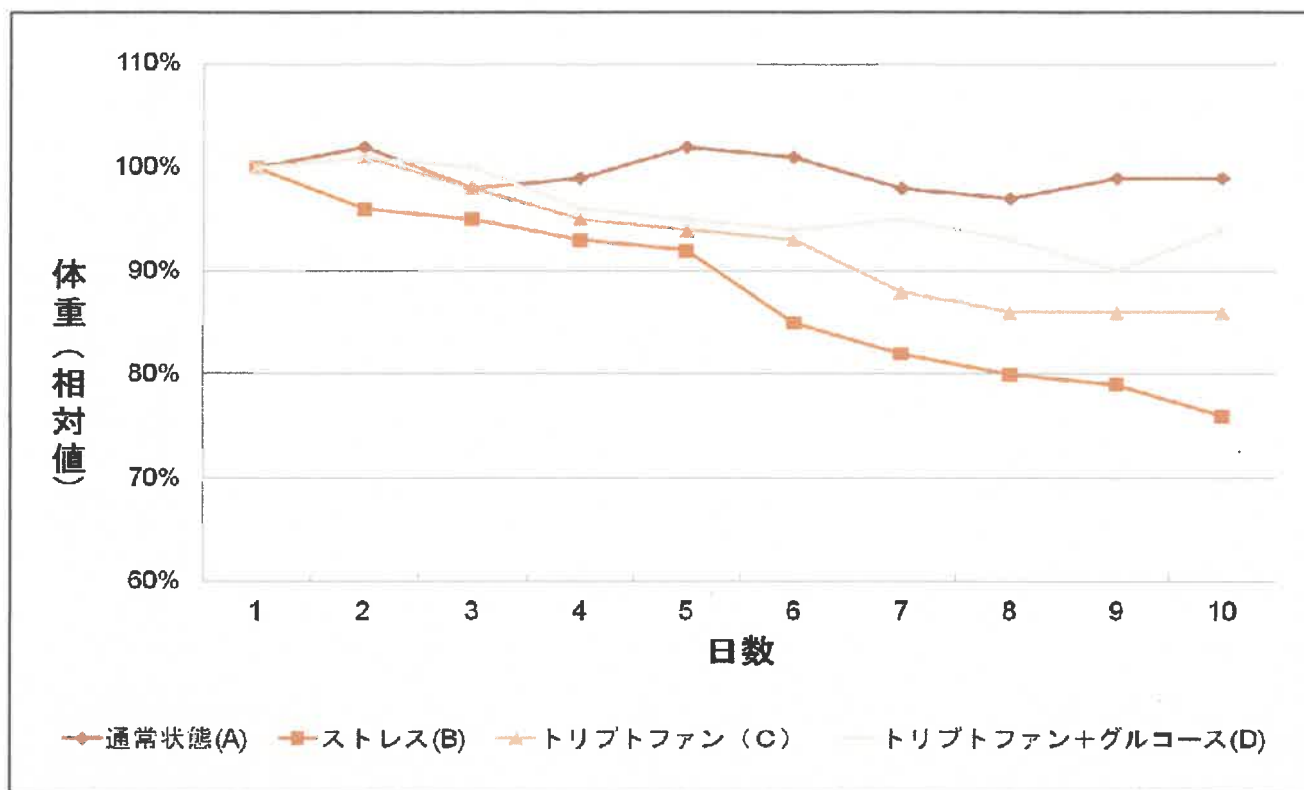


マウスを A,B,C,D の4つのグループに分け、マウス B~D に社会的敗北ストレスを与えた。マウス A,Bの飲料水には何も加えず、マウス Cの飲料水にはトリプトファン、マウス Dの飲料水にはトリプトファンとグルコースを溶かして与えた。

トリプトファンは、必須アミノ酸の一種で、セロトニンが脳内で合成される原料となる。しかし、トリプトファンが脳内に入るには血液脳関門を通る必要があるが、BCAA (分岐鎖アミノ酸) とトリプトファンは共通の輸送体を通して脳内に入るため、BCAA が血液中に多い状態ではトリプトファンの脳への取り込みが阻害され、結果、脳内セロトニン量が増えないことがある。脳内中の分岐鎖アミノ酸 BCAA は、トリプトファンに対し、脳内に取り込まれやすい物質である。脳内にこの BCAA が高い状態であれば、トリプトファンが脳へ取り込まれるのが阻害される。そこでトリプトファンを投与する際に糖としてグルコースを与えることにした。グルコースの投与によって、マウスの血糖値は上昇するため、インスリンが分泌される。インスリンは BCAA が骨格筋に取り込まれるのを促進するので、脳内中の BCAA 濃度が低下しトリプトファンが脳へ取り込まれやすくなる。

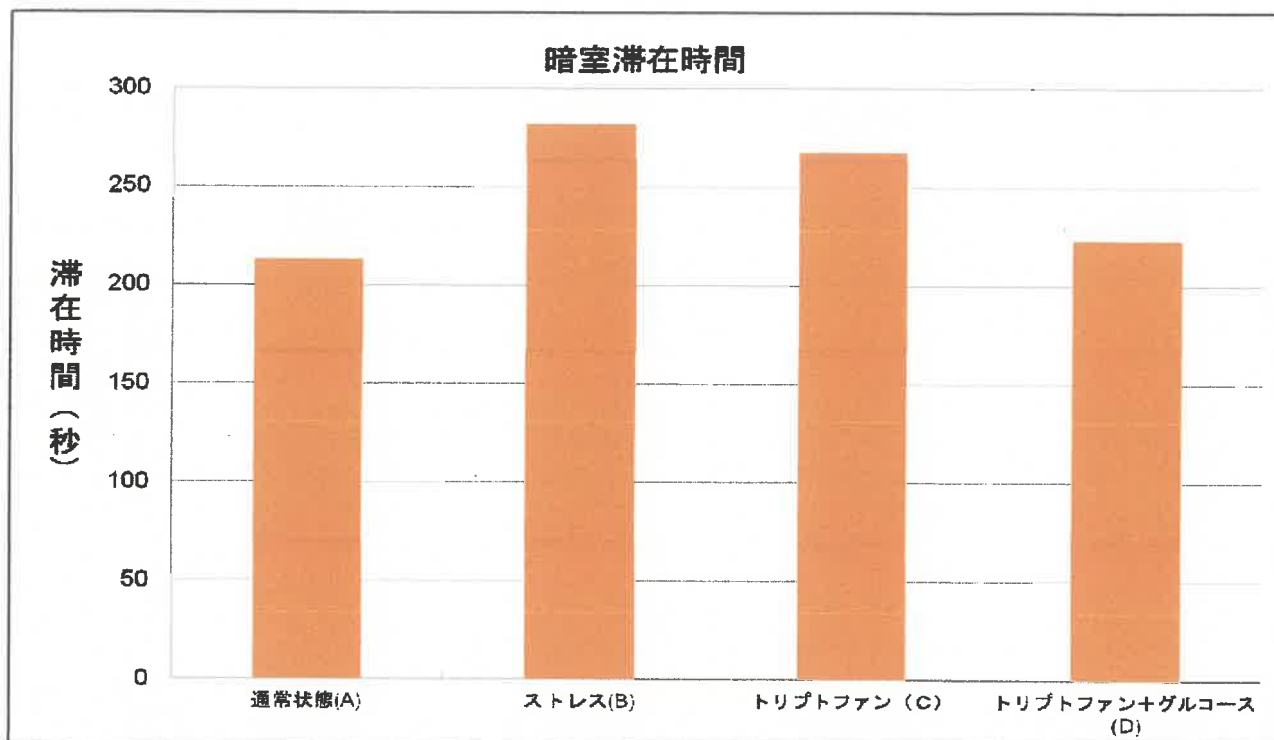
7. 結果・実験 I

体重変化の推移



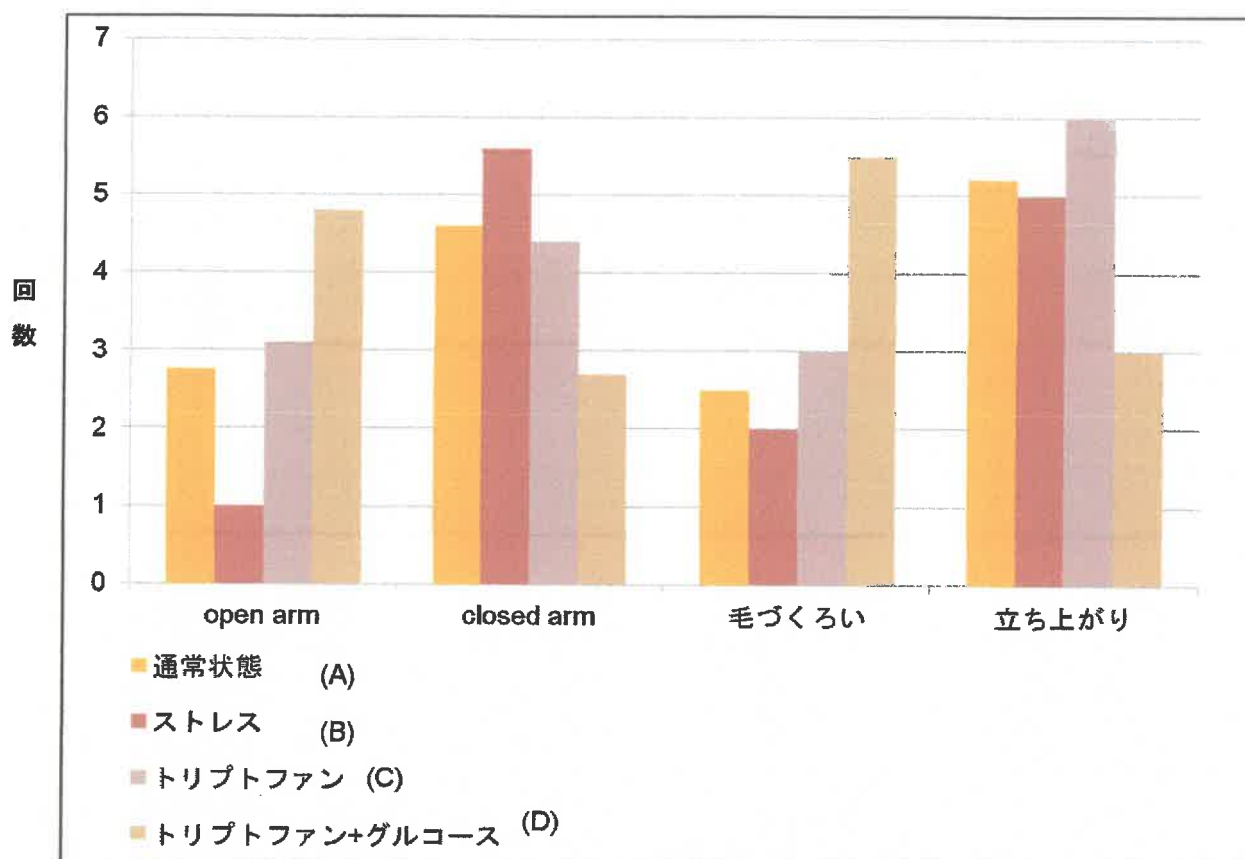
マウス B では有意に体重の減少がみられる。マウス C, D でも体重減少はみられるが、いずれも体重減少は緩和されている。とくにトリプトファンとともにグルコースを与えたマウス D では、さらに大きな効果がみられる。

実験①：明暗箱テストの結果



マウスBにくらべ、マウスCでは暗室滞在時間の減少がみられ、マウスDではさらに減少している。

実験②：高架式十字迷路テストの結果

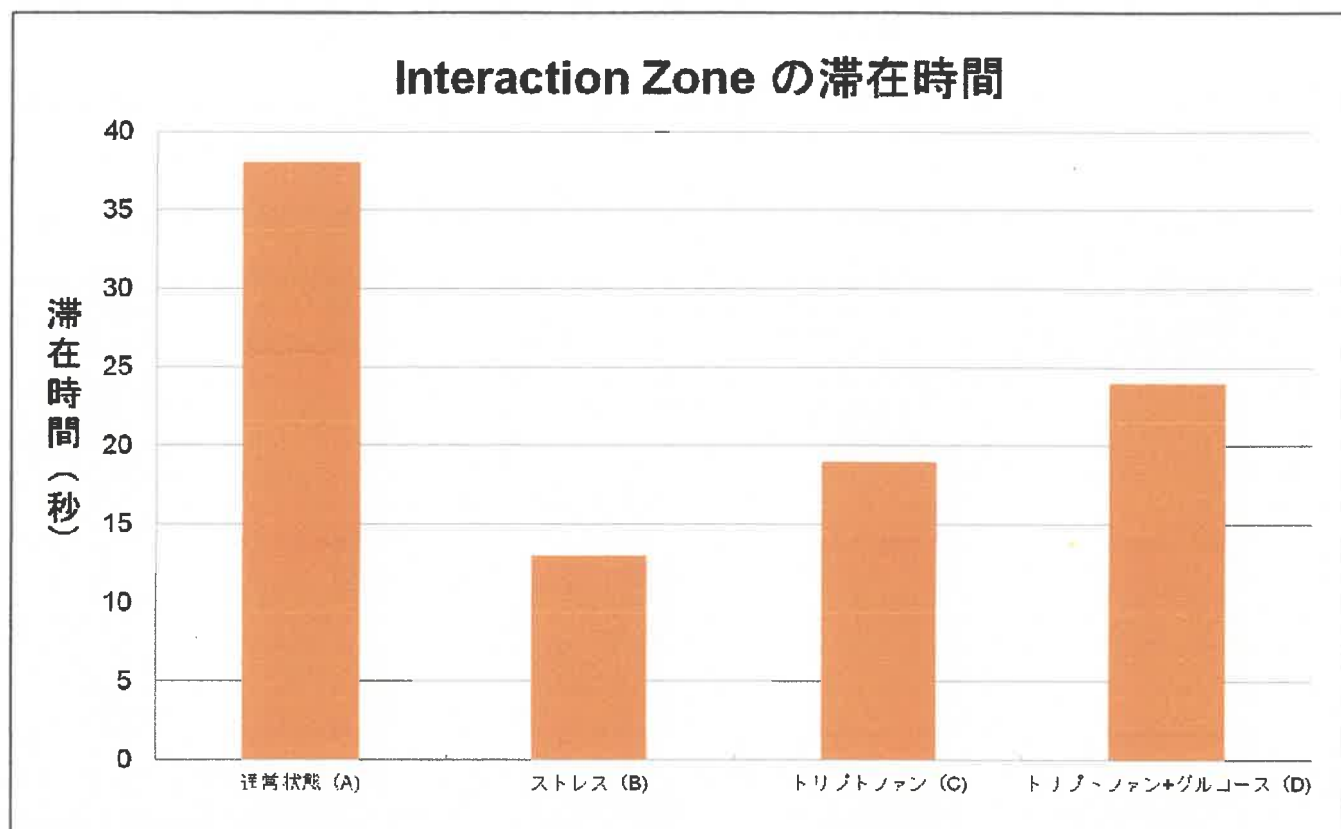


[不安行動]

open arm... グラフ値が大きいほうが低い
 closed arm... グラフ値が小さいほうが低い
 毛繕い... グラフ値が大きいほうが低い
 立ち上がり... グラフ値が小さいほうが低い

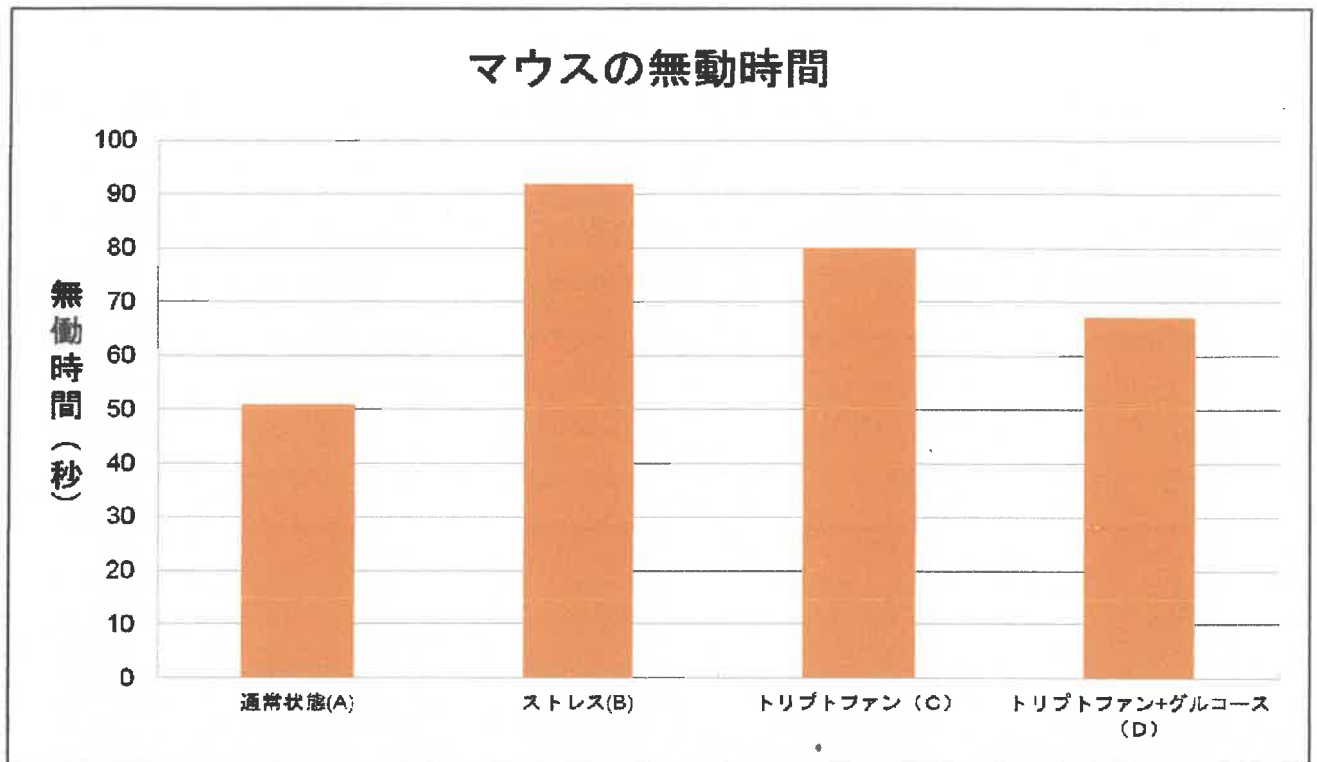
同様に、マウス C.D では、マウス B にくらべ、不安行動の減少がみられ、マウス D ではさらに効果が大きいことがわかる。

実験③：ソーシャルインタラクションテストの結果



同様に、マウス C,D では interaction zone での滞在時間は増加し、マウス D ではさらに効果は大きいことがわかる。

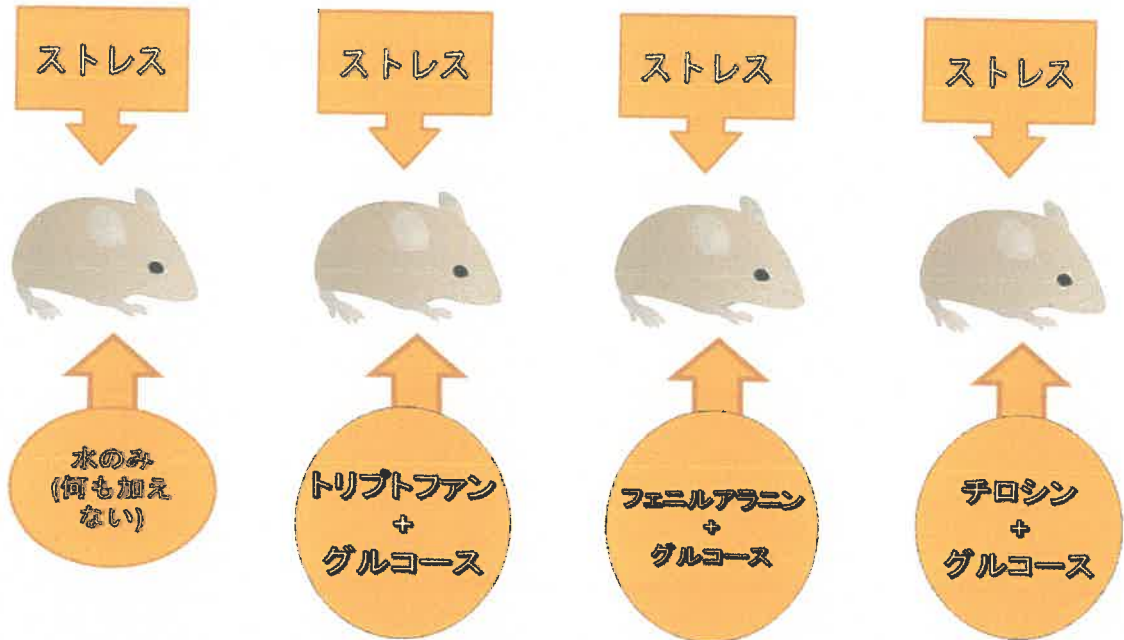
実験④：テールサスペンションテストの結果



同様に、マウス C,D では無動時間の減少がみられ、マウス D ではさらに効果が大きいことがわかる。トリプトファンの投与により、体重の減少は緩和されマウスの行動は変化した。トリプトファンのみの投与でも体重の減少は緩和され、不安行動が減少したが、トリプトファン+グルコースの投与では、さらに効果は大きくなった。このような簡単な実験でも効果がみられたことから、トリプトファンには薬理作用があることが考えられる。そこで、本実験Ⅱにおいてこの薬理作用の有無を検証した。

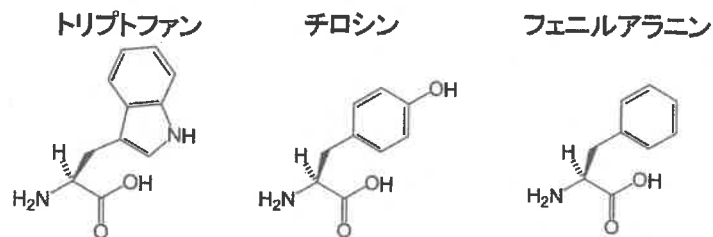
8. 実験Ⅱ

実験の条件



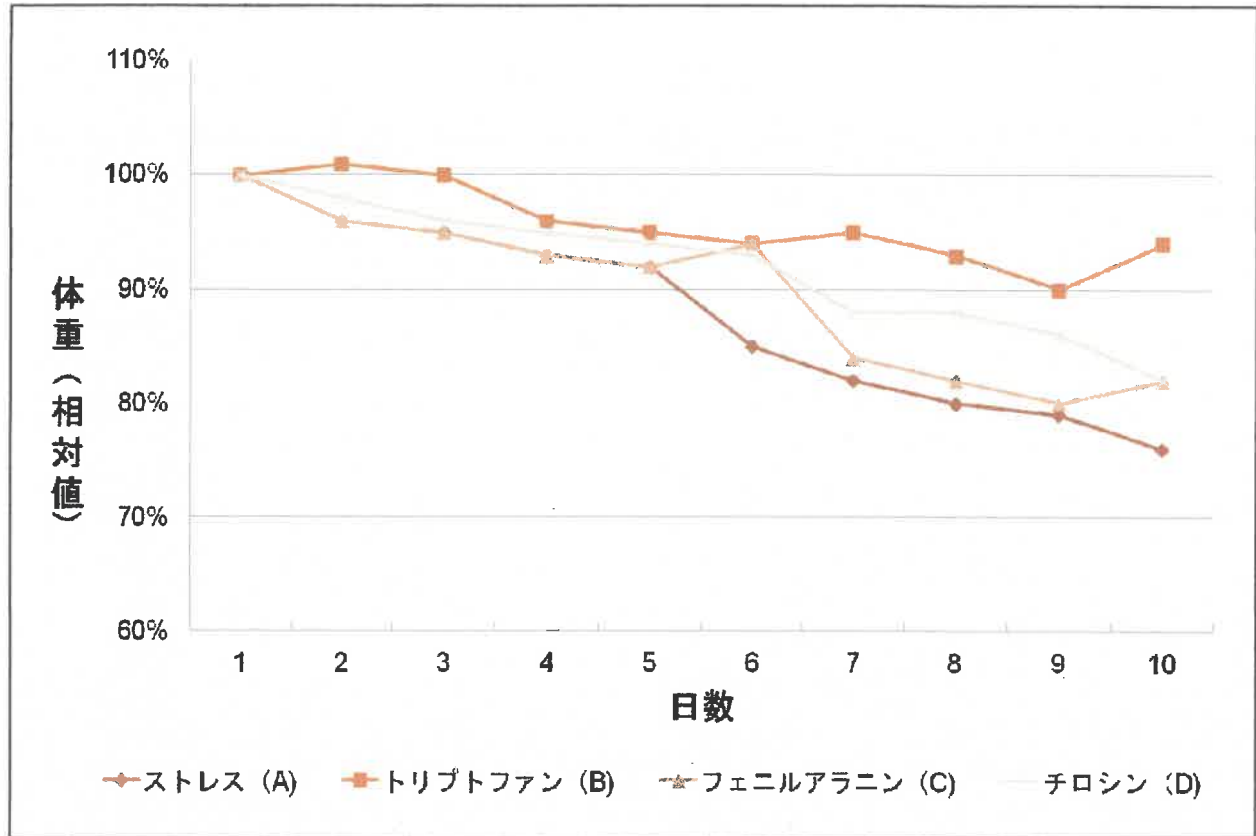
マウスをA,B,C,Dの4つのグループに分け、マウスAの飲料水には何も加えず、マウスBにはトリプトファンとグルコース、マウスCにはフェニルアラニンとグルコース、マウスDにはチロシンとグルコースを飲料水に加えた。

アミノ酸20種類のうち、芳香族アミノ酸であるトリプトファン、チロシン、フェニルアラニンを用いる。この三つを用いて対照実験を行うことで、脳内でセロトニンやドーパミンの分泌に関係し、不安を緩和する作用をもつトリプトファンの薬理作用を検証できると考えた。

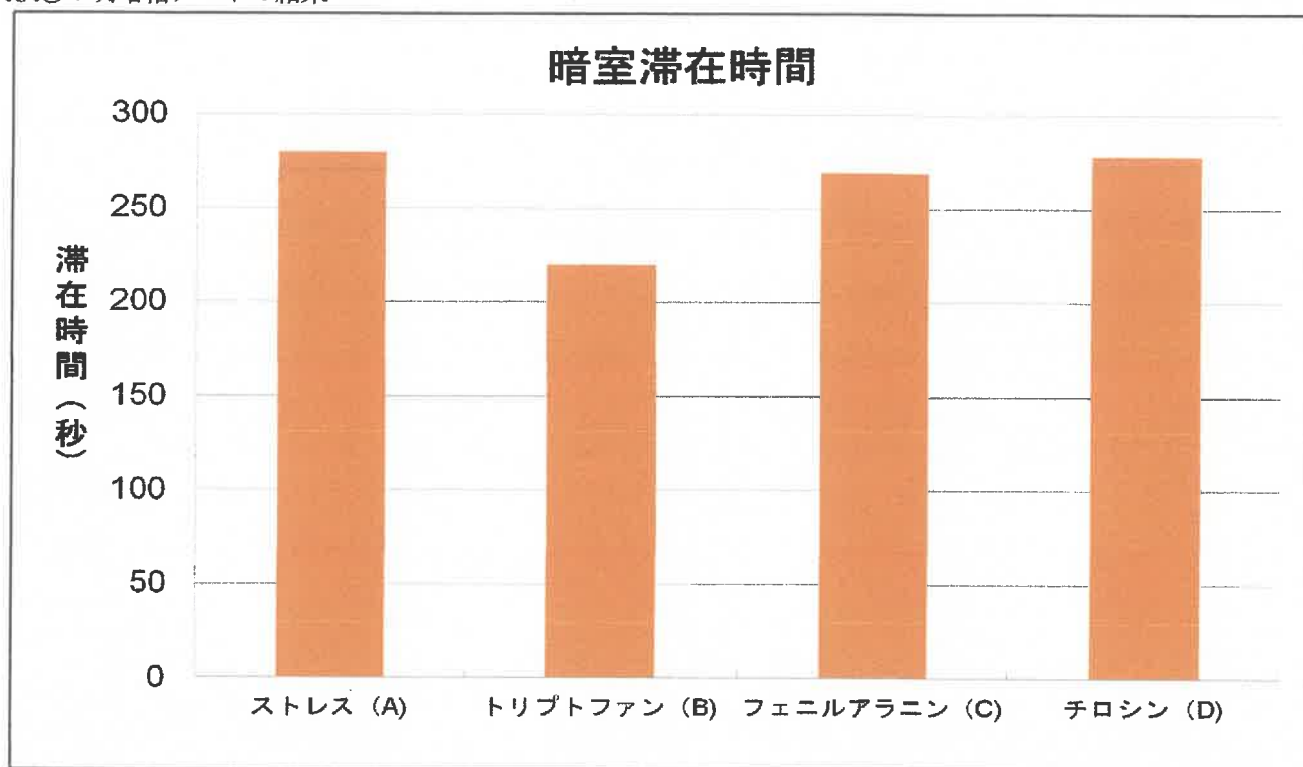


9. 結果・本実験Ⅱ

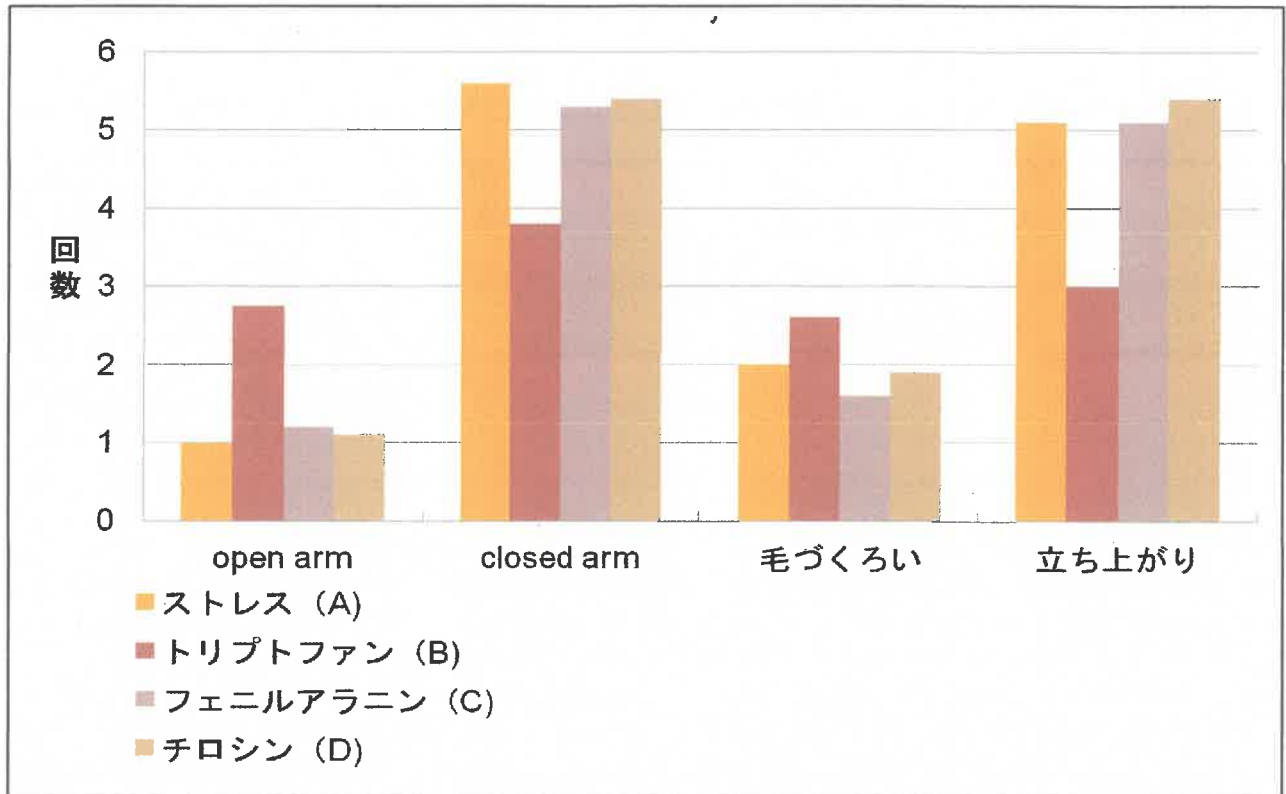
体重変化の推移



実験①：明暗箱テストの結果



実験②：高架式十字迷路テストの結果



[不安行動]

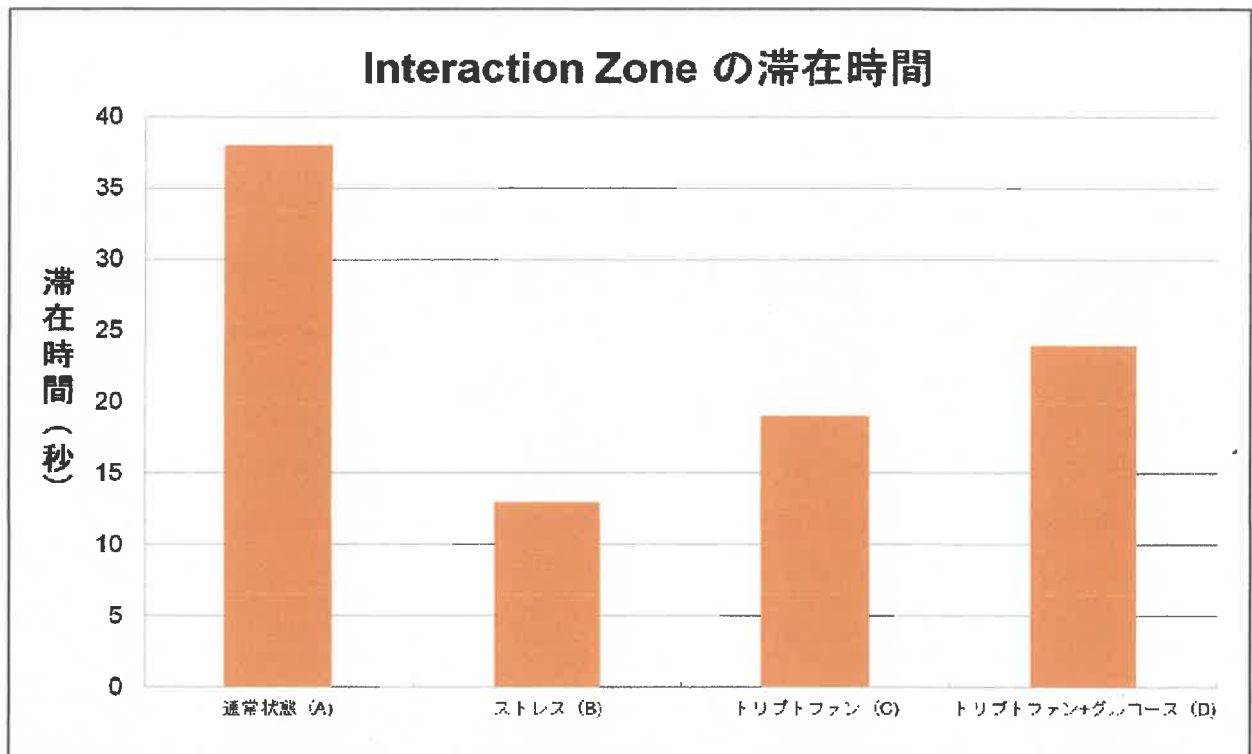
open arm... グラフ値が大きいほうが低い

closed arm... グラフ値が小さいほうが低い

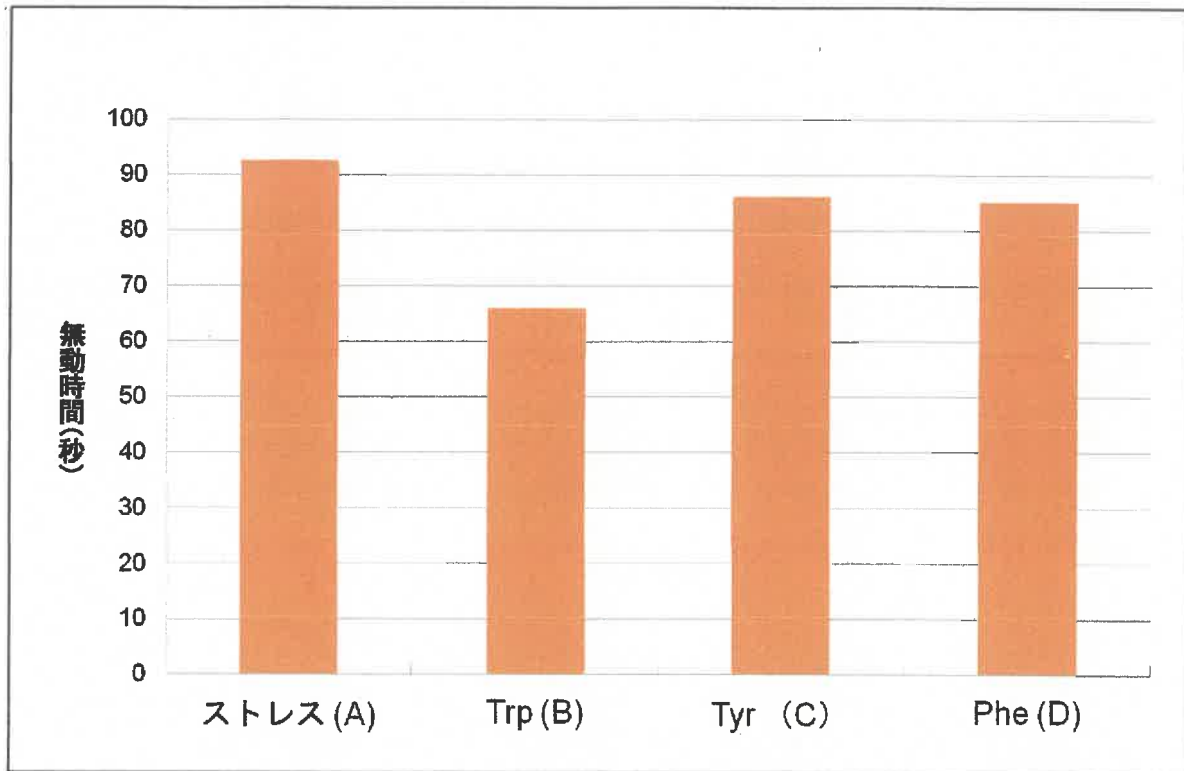
毛繕い... グラフ値が大きいほうが低い

立ち上がり... グラフ値が小さいほうが低い

実験③：ソーシャルインタラクションテストの結果



実験④：テールサスペンションテストの結果



10. 考察

トリプトファンを与えたマウスでは、不安行動が緩和されたことから、トリプトファンには不安を緩和する作用があると考えられる。

トリプトファンを与えたマウスでは、フェニルアラニン、チロシンを与えたマウスよりはるかに大きい効果があったことから、トリプトファンには薬理作用があると考えられる。

この研究から、トリプトファンを用いることでうつ病治療の手助けになるのではないかと考える。

また、トリプトファンの過剰摂取による、死亡事故も発生している。したがって、トリプトファンをサプリメントとして販売することは問題があるのではないかと考える。