

作業療法による注意機能改善効果の時刻依存性 ～何時にリハビリテーションを行うと良いか？

(研究助成金 50万円)

北海道医療大学 リハビリテーション科学部
講師 西出 真也

〔2002年 北海道大学・歯学部卒
2007年 北海道大学 大学院歯学研究科 博士課程修了〕

共同研究者 北海道医療大学 リハビリテーション科学部 講師 桜庭 聡

〔研究応募書〕

研究目的

注意機能は認知機能の一つであり、記憶や思考など他の認知機能は適切な注意を行うことができはじめて機能することができるため、最も重要な高次脳機能であるといえる。そのため注意機能の的確な評価および改善のためのリハビリテーションは個人の生活の質（QOL）や日常生活動作（ADL）を向上させる上で重要である。注意機能障害は加齢に伴って進行するほか、脳出血など急性症状の後遺症として残存することもある。厚生労働省の調査（2012年）によると国内の認知症患者は65歳以上人口の7人に1人であり、2025年には5人に1人になると推計されている。

本研究の目的は、①ヒトおよびモデル動物の注意機能が一日の時刻によって変化するかどうか、および②医療機関における注意機能改善のための作業療法を何時に行うのが最も効果的かを明らかにすることである。そのために、ヒトを対象に注意機能の検査を様々な時刻に実施し結果を比較する。またマウスを用いて行動測定実験により注意機能などの認知機能の時刻依存性を測定する。医療施設および福祉施設において認知機能改善のために行った作業療法の記録を調査し、治療を行った時刻とその治療効果の関連を解析する。

体温やホルモン分泌など多くの生理機能は一日の中で変動している。この変動は細胞や器官の内因性の約24時間周期のリズムである概日リズムによって起こる。近年、薬物投与を行う時刻を、概日リズムを考慮して決定するなど時間医学の概念が広まってきた。リハビリテーションを、効果が最大になる時刻に実施することにより、対象者の早期回復や医療スタッフの負担軽減、医療費の削減が期待できる。

研究実施計画の概要

1. ヒトの注意機能の時刻依存性の解析
 - ・注意機能評価としてn-back taskおよびTrail Making Test (TMT) を使用する
 - ・検査は7時, 12時, 17時, 22時の4回を同じ日に行い, 成績が時刻に依存して変化するかどうか
 - ・腋窩温を測定し, 注意機能が最高・最低となる時刻を体温リズムを指標として解析する
 - ・認知機能など身体に障害の無い成人を対象とする
2. マウスの認知機能の時刻依存性の解析
 - ・マウス・ラットの認知機能の評価に広く用いられているY迷路を使用する
 - ・12時間明期・12時間暗期の環境下で飼育されたマウスを, 4時間おきに6回検査し認知機能の1日の変化を調べる
3. 作業療法効果の時刻依存性の検討
 - ・医療機関・福祉機関において過去に行われた視覚探索訓練などの作業療法の記録を調査する
 - ・作業療法が実施された時刻とTMTなどの注意機能検査の成績との相関を解析する
4. 倫理面の配慮
 - ・ヒトを対象とした調査は所属機関の倫理委員会の承認を得るとともに, 被検者から書面で同意を得る
 - ・動物実験は所属機関の動物実験委員会に諮り承認を得るとともに, 動物の福祉に配慮する

I 緒言

睡眠覚醒や代謝など多くの生理機能は約24時間周期の内因性リズムである概日リズムに制御されており, 概日リズムの異常は睡眠障害のみならず, 肥満や高脂血症など様々な生活習慣病の原因となる。覚醒度や計算能力などの脳機能も昼間に高いサーカディアンリズムを示すことから, 注意機能も時刻に依存して変動することが予想される。多くの高次脳機能は注意機能を基盤としており, その障害は様々な日常生活動作に影響する。注意機能障害は加齢に伴って進行するほか, 脳出血など急性症状の後遺症として残存することもある。作業療法には運動機能の回復訓練のみならず高次脳機能のリハビリテーションも含まれ, さまざまな視点から患者さんの日常生活動作や生活の質の向上を目指している。本研究はヒトを対象として注意機能検査と記憶力の検査を一日の中の様々な時刻で行い成績が時刻依存性を示すかどうかを検証する実験(実験1)と, 実験動物を対象として運動機能の回復訓練効果に時刻依存性があるかどうかを検証する実験(実験2)からなる。

II 研究方法

II-1 実験1

身体及び精神に障害のない男女31名を被験者とした。そのうち、25名（男性6名、女性19名、20-23歳）より有効な回答が得られた。被験者には口頭および文書にて実験内容の説明・依頼を行い、検査結果の提出をもって同意を得たとみなした。実験は北海道医療大学リハビリテーション科学部倫理委員会の承認を得て実施した。

注意機能の検査として広く臨床で使用されている Trail Making Test（以下：TMT）を用いた。TMTはPartingtonによって1944年に作成されたPartington's Pathways Testを起源とし、アメリカ軍の能力検査として改良され、現在の形式になった¹⁾。本研究には2019年に日本高次脳機能障害学会がオリジナルを改良して作成したTMT日本版を用いた。TMTにはPart AとPart Bの二つの形式があり、TMT-Aは被験者に1枚の用紙に書かれた散在する1から25までの数字を順に線で結ばせ所要時間を測定する検査である。TMT-Bは1から13までの数字と「あ、い、う…し」までの仮名12文字が散在した用紙を用いて、1-あ-2-い-3-う…のように交互に結ばせ所要時間を測定する検査である。TMT-Aは、視覚・運動性探索の速度と選択性注意を評価する検査であるのに対し、TMT-Bは認知の変換、注意の切り替えを必要とし、分配注意やワーキングメモリが反映される。記憶力検査として、広く臨床で用いられている検査の中から、問題数を多数用意しやすい三宅式記銘力検査を採用した。三宅式記銘力検査はベッドサイドで短時間かつ簡易に行うことができる言語性記憶検査として高次脳機能障害、精神疾患や認知症などの評価に広く使用されており、言語性短期記憶のみならず、対語の連想から学習に至る過程（プライミング）の能力を評価する。これまでに、三宅式記銘力検査は三宅・内田による対語リストだけでなく東大脳研式記銘力検査やS-PAなど派生して作成された検査が多数作成されている。

被験者に同日の7時、12時、17時、22時の計4回腋窩温測定、Visual Analogue Scale (VAS) を用いた覚醒度測定、TMT-A/B検査、三宅式記銘力検査をこの順に行うよう指示した。TMTA/B検査は学習効果が出ないようPartington作製のTMT（別予算で購入）およびTMT日本版（本研究課題にて購入）に当研究室にて作成した改変型を加えて計4種類以上の問題を用意した。オリジナルのTMT、TMT日本版、当研究室の改変型TMTは本研究の被験者とは別の被験者集団にて難易度に差がないことを事前に確認した。TMT-A/B検査結果は検査用紙の数字及び仮名を全て結ぶのに要した時間をストップウォッチを用いて測定し、記録したものを（以下「TMT-A値」「TMT-B値」とする）を解析した。

三宅式記銘力検査は事前に問題文を読み上げたものを録音し、被験者が再生した音声を聞きながら回答を録音することにより実施した。検査には三宅・内田による対語リストを使用した。検査用音声は三宅式記銘力検査の説明、有関係対語リスト、有関係対語問題、無関係対語リスト、無関係対語問題の順に読み上げたものを1セットとし、5セットの音声データを作成した。対語読み上げの際、対語間に1秒の間隔を空けて読み上げを行った。三宅式記銘力検査は出題した後10秒の間に回答がない場合は忘却したとみなされるため、問題読み上げの間隔は10秒とした。問題の再生および回答の録音は被験者が所有する機器を使用してもらった。回答は同一の実験者が聞き取り成績を判定した。

被験者にTMT-A/B検査用紙、三宅式記銘力検査出題音声データ、記録用紙、注意事項を記載した紙を封筒に入れて配布し、検査まで問題を見ないように指示した。実験前日までに被験者に練習用TMT-A/Bおよび三宅式記銘力検査音声データを用いて実施方法の確認をしてもらった。被験者は上記の検査を指定された時刻に自宅などの静かな環境で1人で行った。検査は指定時刻の15分前から15分後の間に行うように依頼し、実際に実施した時刻を記録用紙に記載させた。TMT-A/Bおよび三宅式記銘力検査音声は順序効果を排除するため、4通りの問題を各時刻に被験者ごとにランダムに振り分け、検査直前に通知した。

体温、覚醒度、各検査成績を縦軸に、測定時刻を横軸にとったグラフを作成し、データにコサインカーブをフィッティングした。フィッティングしたコサインカーブの式を式1に示す。

$$y = a \times \cos \{ (x-b) \times 2\pi / 24 \} + c \quad (\text{式1})$$

ここで、a：振幅、b：ピーク位相（時）、c：平均値である。

フィッティングは最小二乗法により実施した。簡潔に説明すると、はじめに任意の初期値a、b、c値を設定し、式1のxに測定時刻を代入しデータの予測値yを得た。次に実測値zとyの差の二乗 $(y-z)^2$ を各データについて求め、和を計算した。この和が最小となるa、b、c値をMicrosoft Excel (2016)のソルバーにて算出した。

II-2 実験2

運動療法として自発的回転輪運動を課し、運動療法効果の指標としてクエン酸回路の律速酵素であるCitrate Synthase（以下CS）活性を測定した。日常生活において骨格筋収縮に必要なATPの多くは好氣的代謝であるクエン酸回路・酸化的リン酸化により産生されるため、CS活性が上昇することにより、骨格筋の即時かつ強い収縮が可能となり、運動パフォーマンスが向上すると考えられる。本研究ではマウスに長期間の自発的運動を、休息期（明期）あるいは活動期（暗期）に行わせCS活性上昇効果の差を分析した。

雄性のC57BL/6Jマウス29匹（一部を本研究課題にて購入）を実験に用いた。マウスは温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $65 \pm 5\%$ 、12時間明期・12時間暗期の明暗周期（8:00-20:00照明）の環境下においてポリガーボネート樹脂製の飼育ケージを用いて飼育され、固形飼料と飲料水は自由摂取させた。概日リズム研究においては厳密な照度変化制御およびその他の環境を一定に保つことが必須であり、環境整備に本研究課題の予算を使用した。本研究は、北海道医療大学動物実験規定に基づき、北海道医療大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、マウスの骨格筋を採取した。骨格筋として左後肢ハムストリングスを採取し氷冷リン酸緩衝生理食塩水中に入れ、膝関節より約2-3mm近位の部位を一辺が約2-3mmの立方体になるように切り出した。採取した試料を $100 \mu\text{l}$ のCS Assay Buffer（希釈用緩衝液、後述のKitに添付）に移し、眼科用剪刀を用いて小片に刻んだ。その後、分析まで氷上で保存した。採取した試料をただちに氷上でホモジナイザーにて2秒間、40回ホモジナイズした。 $1000 \times g$ で5分間遠心機で遠心分離し、上清を得た。上清中に含まれるCSの活性測定をCitrate Synthase Activity Colorimetric

Assay Kit (BioVision 社) を用いて手順通りに行った。試料を CS Assay Buffer にて 5 倍希釈し、反応試薬と混和後ただちに吸光度計により Wavelength:450nm, Bandwidth:10nm のバンドパスフィルターを使用して吸光度を測定した。別に作成した標準曲線から吸光度と CS 活性の関係式を算出し、試料の吸光度から CS 活性を求めた。

マウスを 5 群に分け、それぞれ前値群 (6 匹), 24 時間群 (6 匹), 明期群 (6 匹), 暗期群 (5 匹), 対照群 (6 匹) とした。週齢は運動開始時 (前値群は CS 活性測定時) に 10 週齢とした。全ての群のマウスを運動負荷前に個別ケージに移し、暗期群以外の 4 群のマウスは 2 週間明暗周期環境に同調させた。暗期群は明暗逆転環境 (20:00-8:00 照明) 下で 4 週間同調させた。前値群は 2 週間の同調後ただちに試料採取を行った。24 時間群は 4 週間回転輪を入れた環境下におき、行動量を測定した (行動測定システムの一部の機器を本研究課題にて購入)。明期群, 暗期群は 4 週間毎日 9:00 に回転輪を入れ, 19:00 に取り除いた。暗期群は 20:00-8:00 照明のため, 21:00-7:00 のトレーニングに相当する。暗期群の作業は光による概日リズム変化を避けるために低照度の赤色灯下で行った。対照群は他の群と同様の環境下で回転輪を入れずに 4 週間飼育した。24 時間群, 明期群, 暗期群, 対照群は 4 週間の上記スケジュールの後, 試料採取を行った。試料採取はマウスの概日リズムへの影響を避けるために各群とも明期に行った。

Ⅲ 研究結果

Ⅲ-1 実験 1

TMT 値の時刻による変動をコサインカーブフィッティング, 分散分析により解析した結果の概要を表 1 に示す。フィッティングしたコサインカーブの式より, TMT 値が最小 (最も好成績), 体温, 覚醒度が最大となる位相を算出した。TMT-A 値は 18 時 45 分, TMT-B 値は 15 時 24 分に最も好成績となり, 体温が最高になる時刻は 19 時 23 分, 覚醒度は 17 時 19 分だった。分散分析の結果, 覚醒度と TMT-A 値は時刻による有意な変動を示した。

次に, 測定を行った 4 時点のうち, 体温が最高に達する時刻により被検者を分類して解析を行った。7 時に最高に達する被検者は 2 名のみであり, 12 時に最高に達する 8 名は体温が時刻による変動を示さなかったため, 以降の解析から除外した。17 時に最高点を示す 11 名を体温朝型群, 22 時に最高点を示す 11 名を体温夜型群とした。体温朝型群, 体温夜型群ともに体温, 覚醒度, TMT-A 値に時刻依存的な変動が見られた (表 1)。TMT-A 値は, 体温朝型群は 19 時 35 分, 体温夜型群は 18 時に最も好成績となり, 夜型群はより早い時間帯に成績が高まった。(TMT-A 値位相) - (体温位相) は朝型 3.2 時間, 夜型 -4.5 時間であった。二元配置分散分析の結果, 両群の間に有意差と交互作用は認めなかった (図 1)。

体温と同様に, 覚醒度が最高に達する時刻によって分類して解析を行った。7 時に最高に達する被検者はなく, 12 時に最高に達する 4 名は覚醒度が統計的に有意な変動を示さず, いずれも除外した。17 時に最高点を示す群 12 名を覚醒度朝型群, 22 時に最高点を示す群 11 名を覚醒度夜型群として比較した。覚醒度朝型群は TMT-A 値, TMT-B 値に, 夜型群は TMT-A 値に時刻依存的な変動を認めた。TMT-A 値は,

覚醒度朝型群は18時35分、覚醒度夜型群は19時03分に最も好成績となり、覚醒度朝型はより早い時間帯に成績が高まった。(TMT-A 値位相) - (覚醒度位相) は朝型 2 時間、夜型 -1.3 時間であった。TMT-B 値は、覚醒度朝型群は16時35分に最も良い結果となった。二元配置分散分析の結果、群間に有意差と交互作用は認められなかった (図 1)。

三宅式記銘力検査の結果のまとめを表 2 に示す。対象者全体の有関係対語の成績をコサインカーブフィッティングにより解析した結果、最高値位相は18.32時、平均値は8.06点、振幅は0.76点であり、時刻による統計的に有意な変動がみられた。無関係対語の成績の最高値位相は18.20時、平均値は4.74点、振幅は0.54点であり、時刻による有意な変動はみられなかった。覚醒度の最高値位相は17.32時、平均値は5.48、振幅は2.36であり、時刻による有意な変動がみられた。

有関係対語の覚醒度朝型の最高値位相は17.34時、平均値は7.64点、振幅は1.25点であり、覚醒度夜型の最高値位相は17.05時、平均値は8.36点、振幅は0.30点であった (図 2 A)。無関係対語は覚醒度朝型の最高値位相は19.26時、平均値は4.90点、振幅は0.89点であり、覚醒度夜型の最高値位相は17.69時、平均値は4.75点、振幅は0.46点であった (図 2 B)。一元配置分散分析の結果、覚醒度朝型の有関係対語の成績のみ時刻による有意な変動が示された。二元配置分散分析の結果、平均値の差および交互作用はみられなかった。有関係対語の体温朝型の最高値位相は17.03時、平均値は7.98点、振幅は0.69点であり、体温夜型の最高値位相は17.66時、平均値は7.57点、振幅は1.44点であった。無関係対語の体温朝型の最高値位相は18.47時、平均値は5.53点、振幅は1.07点であり、体温夜型の最高値位相は18.38時、平均値は4.15点、振幅は0.29点であった。いずれも時刻による統計的に有意な変動がみられなかった。二元配置分散分析の結果、平均値の差および交互作用はみられなかった。

表 1 TMT 値の時刻による変動の分析結果

		分散分析の P 値	最高値位相	平均値	振幅
全体	覚醒度	<0.001	17.3	5.5	2.4
	腋窩温	0.185	19.4	36.3	0.1
	TMT-A	<0.001	18.8	25.7	5.7
	TMT-B	0.186	15.4	40.9	4.1
腋窩温朝型	腋窩温	<0.001	16.4	36.3	0.2
	TMT-A	0.001	19.6	26.4	4.2
	TMT-B	0.419	17.4	40.0	3.4
腋窩温夜型	腋窩温	<0.001	22.5	36.3	0.2
	TMT-A	0.001	18.0	26.8	8.1
	TMT-B	0.479	15.8	44.2	5.2
覚醒度朝型	覚醒度	<0.001	16.6	5.8	3.1
	TMT-A	0.002	18.6	27.5	6.3
	TMT-B	0.032	16.6	41.7	5.1
覚醒度夜型	覚醒度	<0.001	20.4	6.1	1.7
	TMT-A	<0.001	19.1	24.6	4.7
	TMT-B	0.845	14.0	40.3	2.1

表 2 三宅式記憶力検査成績の時刻による変動の分析結果

		分散分析p値	位相	平均	振幅
全体	有関係	0.036	18.32	8.06	0.76
	無関係	0.234	18.20	4.74	0.54
	覚醒度	0.000	17.32	5.48	2.36
	体温	0.185	19.39	36.32	0.11
覚醒度朝型	有関係	0.031	17.34	7.64	1.25
	無関係	0.060	19.26	4.90	0.89
	覚醒度	0.000	16.56	5.81	3.14
	体温	0.425	18.45	36.35	0.07
覚醒度夜型	有関係	0.751	17.05	8.36	0.30
	無関係	0.792	17.69	4.75	0.46
	覚醒度	0.001	20.42	6.14	1.73
	体温	0.151	18.76	36.23	0.14
体温朝型	有関係	0.369	17.03	7.98	0.69
	無関係	0.106	18.47	5.53	1.07
	覚醒度	0.000	17.57	6.02	2.51
	体温	0.000	16.40	36.35	0.20
体温夜型	有関係	0.058	17.66	7.57	1.14
	無関係	0.813	18.38	4.15	0.29
	覚醒度	0.001	16.83	5.50	2.58
	体温	0.000	22.45	36.29	0.22

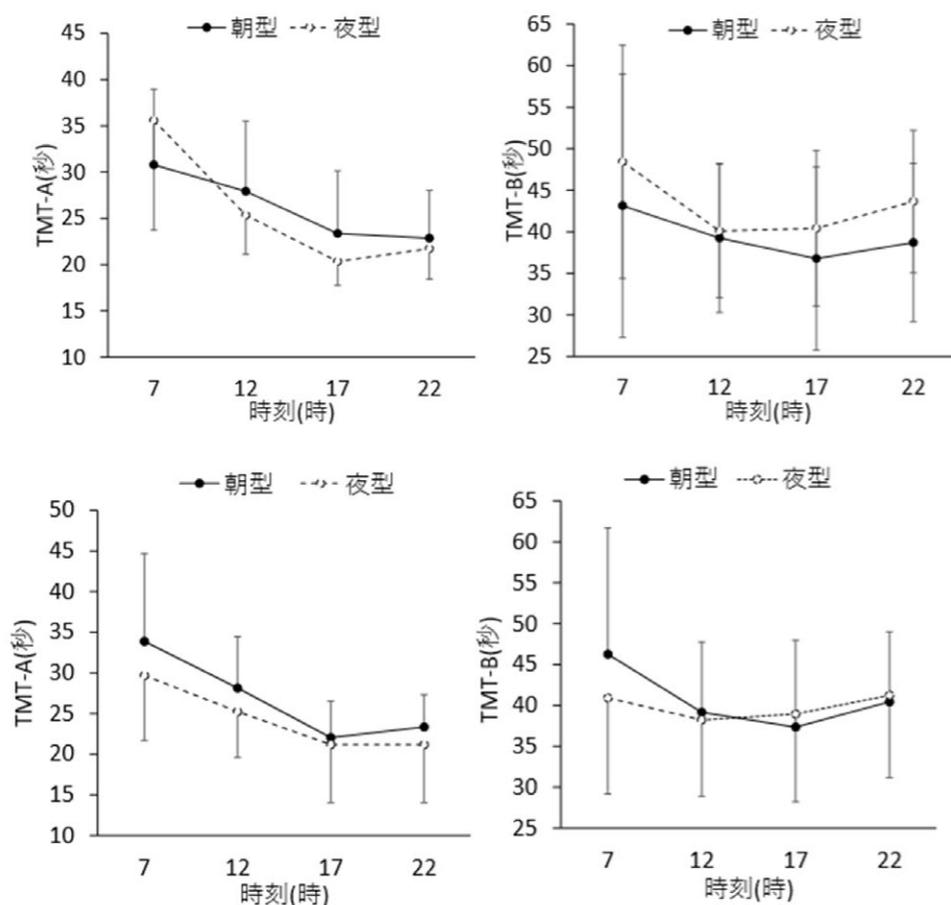


図 1 朝型夜型に被験者を群分けして解析したTMT値の変動

体温リズムにより朝型夜型に分けた解析（上段）と覚醒度リズムにより朝型夜型に分けた解析（下段）を平均値および標準偏差にて示す。

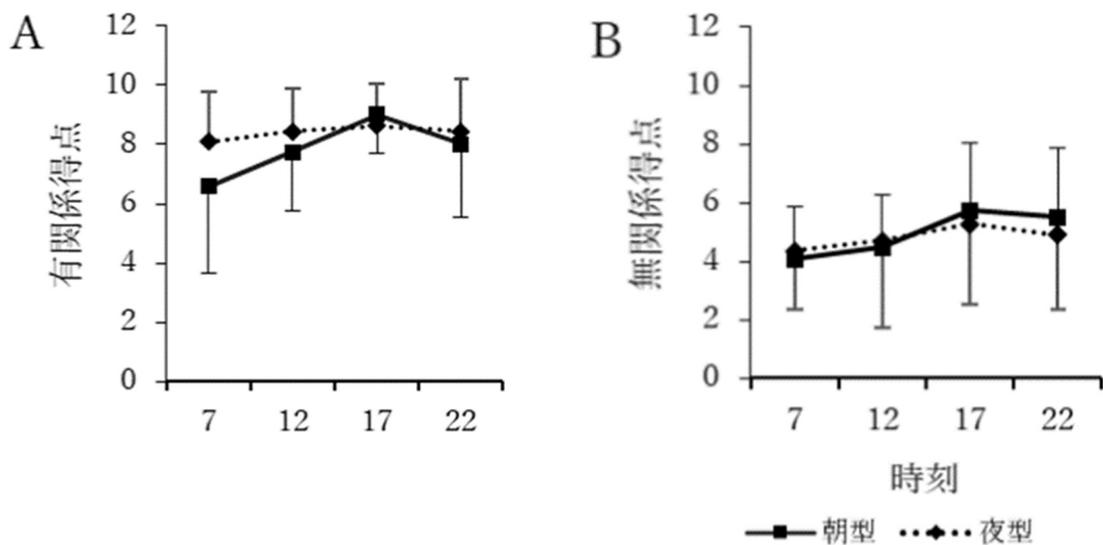


図2 朝型夜型に被験者を群分けして解析した三宅式記銘力検査結果の変動
覚醒度リズムにより朝型夜型に群分けして解析した結果を示す。

Ⅲ-2 実験2

測定したCS活性を集計した結果を図3に示す。各群のCS活性は以下の通りであった。前値群：424±32，対照群：458±108，24時間群：678±130，明期群：403±79，暗期群：510±54（平均値±標準偏差）。CS活性は24時間群が最も高値を示し，次いで暗期群が高値を示した。24時間群は他の4群に比べて統計的に有意な高値を示した（ $P=0.036$ ， $t=2.468$ ，vs 暗期群； $P=0.002$ ， $t=4.057$ ，vs 明期群； $P=0.015$ ， $t=2.916$ ，vs 対照群； $P=0.002$ ， $t=4.267$ ，vs 前値群）。暗期群は前値群，明期群に対して有意な高値を示したが，（ $P=0.016$ ， $t=2.970$ ，vs 前値群； $P=0.046$ ， $t=2.317$ ，vs 明期群）暗期群と対照群の間に差はなかった（ $P=0.408$ ， $t=0.869$ ，vs 対照群）。明期群，前値群，対照群の間に統計的有意差はなかった（ $P=0.606$ ， $t=0.532$ ，明期群 vs 前値群； $P=0.377$ ， $t=0.924$ ，明期群 vs 対照群； $P=0.503$ ， $t=0.695$ ，前値群 vs 対照群）。

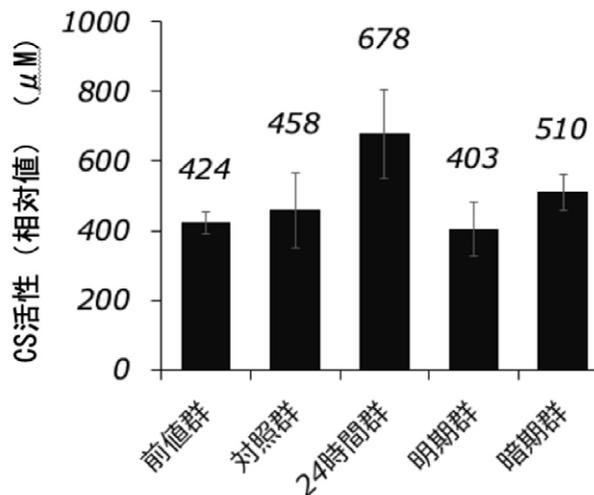


図3 マウスに運動させた時間帯によるトレーニング効果の差
トレーニング効果をクエン酸合成酵素活性（CS活性）にて評価した。

IV 考察

IV-1 実験1

全被検者のデータを用いたカーブフィッティングの結果、TMT-A値が最高になる位相はTMT-B値より遅かった。TMT-A値の位相は体温より早く、覚醒度より遅かった。振幅はTMT-A値がTMT-B値より大きく、覚醒度とTMT-Aに統計的に有意な時刻による変動がみられた。体温の振幅は0.1℃と小さかった。一般に核心温は夕方が高く朝方に低いサーカディアンリズムを示すが、今回測定した被検者の腋窩温の変動が小さかった原因として被検者の生活リズムが乱れていたことが考えられる。

TMT値は体温朝型群、体温夜型群とも夕方に最も好成績を示しTMT-A値、TMT-B値とも体温朝型群の方が遅い時間に好成績になった。体温朝型群の方が体温リズムのピーク位相が早く、代謝やホルモン分泌など生理機能一般のサーカディアンリズムの位相も早いと考えられるため、TMT値の変動は体温リズムを直接反映したものではないと思われる。いずれの群もTMT-A値はTMT-B値より遅い時間に好成績になった。1日を通しての平均値は、TMT-A値は群間に差はなく、TMT-B値は体温朝型群の方が成績が良かった。TMT-A値、TMT-B値とも振幅は体温夜型の方が大きかった。分散分析では両群ともTMT-Aのみに有意な変動が検出された。すなわち、TMT-A値は群間に差はなく比較的大きな変動を示し、TMT-B値は体温夜型群で変動が大きく成績が悪いことが示唆された。TMT値は覚醒度朝型群、覚醒度夜型群とも夕方に最も好成績を示し、TMT-A値は覚醒度夜型群、TMT-B値は覚醒度朝型群の方が遅い時間に好成績になった。いずれの群もTMT-A値はTMT-B値より遅い時間に好成績になった。1日を通しての平均値を群間で比較すると、TMT-A値、TMT-B値ともに覚醒度夜型群の成績が良かった。TMT-A値、TMT-B値とも振幅は覚醒度朝型の方が大きく、分散分析により覚醒度朝型群のTMT-A値、TMT-B値が有意に変動し、覚醒度夜型群はTMT-A値のみが変動することが示された。すなわち、TMT-A値は群間に差はなく大きな変動を示し、TMT-B値は覚醒度朝型で変動が大きく成績は覚醒度夜型の方が良いことが明らかになった。TMT-A値は振幅が大きく、統計的に有意な変動を示したことから、サーカディアンリズムの影響が大きいと言える。覚醒度が早く最高値に達する群ではTMT-A値も早く最高値に達するが、体温リズムとTMT-A値リズムには一定の位相関係はみられなかった。このことから、TMT-A値のリズムには体温リズムに比べて覚醒度リズムの方がより大きく影響すると言えるが、TMT-A値と覚醒度の最高値位相は一致せず、他の要因の関与も考えられる。

三宅式記銘力検査の成績も1日の中で変動しており、被験者全体のデータを解析した結果、能力が最も高いのは18時頃であった。有関係対語と無関係対語の成績の変動は、位相差が0.12時間であり両者の能力が上下するタイミングはほぼ同時であった。記憶能力が最大となる時刻は覚醒度に比べて約1時間遅く、体温と比べると約1時間早かった。覚醒度などの精神機能にみられるリズムと体温リズムは位相がほぼ等しくなると言われているが、本研究における両者の位相差は約2時間であり覚醒度の方が早く最高値に達した。覚醒度朝型群は覚醒度夜型群と比較して、有関係対語の位相に差はほとんどないが、無関係対語は約1.6時間遅かった。覚醒度リズムと無関係対語リズムの位相に乖離がみられたが、この原因として無関係対語の変動の振幅が小さく、リズムが不明瞭だったことが考えられる。一方、有関係対

語課題の成績は両群とも大きな変動を示したが位相差はなく、覚醒度リズムは有関係対語リズムに影響しないと思われる。体温朝型群と体温夜型群を比較すると、有関係対語、無関係対語ともに両群で位相の差はなかった。すなわち、体温リズムは記憶能力リズムの位相には直接影響しないといえる。しかし、体温朝型群では体温夜型群に比較して無関係対語の成績の一日を通した平均値が1.38点高く、被験者のサーカディアンリズムの特徴により記憶能力に差があることが示唆された。本研究の結果、覚醒度朝型群と覚醒度夜型群の記憶能力リズム位相は統計的な有意差を示さなかったが、被験者間の成績のばらつきが大きかったことも原因と思われる。被験者全体の有関係対語、覚醒度朝型群の有関係対語の成績が時刻により変動したことから、難易度が低いとされる有関係対語の記銘作業はサーカディアンリズムの影響を受け、17時から18時にかけて最大に達することがわかった。無関係対語課題において、被験者に課される単語の関連付け作業の能力は個人差も大きいと考えられ、サーカディアンリズムの影響は相対的に小さいため変動を示さなかったと思われる。

IV-2 実験2

自発的回転輪運動はマウスのハムストリングスにおけるCS活性を上昇させた。上昇量は4週間任意の時間帯に運動を行わせた24時間群が最も大きく、次いで活動期である暗期に運動を行わせた暗期群が大きかった。休息期である明期に回転輪を入れた明期群ではCS活性は上昇しなかった。対照群のCS活性は前値と有意な差がなく、24時間群および暗期群のCS活性の上昇はケージ内に回転輪を入れ、マウスの自発的運動量が増加したことによる効果である。本研究で行った回転輪を入れることによる自発的運動負荷、および4週間の運動期間は妥当であったと考えられる。CSは酸化的代謝が可能であるほぼ全ての細胞内に存在する酵素であり、アセチルCoAとオキサロ酢酸を反応させクエン酸を合成する、クエン酸回路における律速段階を触媒する酵素である。CS活性の上昇はATP合成能を増大させることがマウスで示されている²⁾。

暗期群は明期群よりCS活性上昇が大きかった。運動を行う時間帯によりCS活性上昇効果が異なった理由として2つの機序が考えられる。第一にマウスの概日リズムにより筋線維内のCSを制御するタンパク質量や酵素活性が変動し、同じ量の運動刺激であってもCSの反応が異なった可能性がある。CS遺伝子のプロモーター領域は概日リズムにより制御されるROR (retinoic acid receptor-related orphan receptor) 応答配列を含む。RORは時計遺伝子の一つであり、その翻訳産物は転写調節因子として様々な遺伝子を周期的に発現させる。CS発現をRORが周期的に調節するため、時刻によりCS量は変化すると考えられる。そのため、骨格筋への運動による刺激量が同じであっても、明期と暗期で活性化型CSの量に差が生じたのではないかと推察される。第二に明期と暗期のマウスの活動量が異なり、活動量に依存してCS活性が変化した可能性が考えられる。マウスは夜行性動物であるため、明暗環境下では活動の大部分を暗期に行う。実験開始時において暗期群は明期群に比べてより多く回転輪を回したと考えられる。しかし、ラットを用いた研究により自発的運動により概日リズムは変化すると報告があり³⁾、毎日決められた時間帯の運動にマウスの活動が徐々に同調すると考えられる。すなわち4週間の自発的運動により明期群の行動リズムが変化し、回転輪を入れている明期の活動量が増加していた可能性がある。

IV-3 今後の展開

本研究期間中に新型コロナウイルス感染症がまん延したため医療機関や福祉施設において注意機能障害のある人を被検者として概日リズム測定を実施することが困難であった。若年健康者において注意機能、記憶能力ともに小さいが有意な概日変動を示したことから、注意機能障害のある人においてもこれらの高次脳機能変動していると推測される。感染の収束の後に注意機能障害のある人のTMT値、三宅式記銘力検査成績の一日の変動を測定しリハビリテーションへの応用を目指す。また動物実験において運動療法効果の昼夜差がみられた。今後より細かく時間帯を区切り、リハビリテーション効果の最大となる時間帯を探索する。また今回立ち上げた行動測定、運動療法効果判定システムを活かし、動物実験において注意機能障害のリハビリテーションを模倣する実験系の構築を行う。

V 結 語

TMT検査および三宅式記銘力検査は実施する時間帯により成績が変わることがわかった。そのため検査の際は、なるべく実施する時間帯を一定にするべきである。また、1回の検査のみから患者の注意機能や記憶能力を評価せず、実施時間帯などの条件を変えて再評価することも必要である。運動効果は運動を実施する時間帯により異なり、夜行性のマウスでは活動期の暗期の運動の効果が高かった。マウスとヒトでは代謝の概日リズム位相は昼夜逆であるため、ヒトにおいては活動期の明期に効果が高いことが予想される。

【参考文献】

- 1) Adjutant General Office: The new Army Individual test of general mental ability, Psychological Bulletin 41(8), p532-538, 1944.
- 2) Cai Q, Zhao M, Liu X, Wang X, Nie Y, Reduced expression of citrate synthase leads to excessive superoxide formation and cell apoptosis. Biochem Biophys Res Commun, 1: 482(2): 388-394, 2017.
- 3) Mrosovsky, N. Salmon, PA. A behavioural method for accelerating re-entrainment of rhythms to new light-dark cycles. Nature. Nov26-Dec2; 330(6146): 372-3. 1987.