

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 11 日現在

機関番号：37109

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500642

研究課題名（和文） 定期的な運動が発達障害の症状を緩和する際の分子メカニズムの解明

研究課題名（英文） The molecular mechanisms of chronic exercise to improve the developmental disorders.

研究代表者

中野 裕史（NAKANO HIROSHI）

中村学園大学・教育学部・准教授

研究者番号：60301678

研究成果の概要（和文）：乳仔期の甲状腺ホルモン攪乱による発達障害モデル動物では、脳における脳由来神経栄養因子（BDNF）あるいはその受容体のタンパク発現低下とともに、多動、不安傾向の減弱、協調運動障害、学習・記憶障害を引き起こしたが、定期的な走運動は、発達障害モデル動物の脳における BDNF タンパク発現増加を引き起こすと同時に上記の症状を緩和することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Propylthiouracil (PTU)-induced thyroid hormone insufficiency during development has caused developmental disorder, e. g. less anxiety, motor impairment, and learning and memory impairment. On the other hand, running exercise training has enhanced spatial learning in alterations of brain BDNF level in subjects exposed to hypothyroid in the neonatal period.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学，スポーツ科学

キーワード：スポーツ生理学

1. 研究開始当初の背景

文部科学省の調査では、通常学級において学習面や行動面で著しい困難を持っていると担任教師が回答した児童生徒の割合は、約 6%にも上っている。発達障害の子どもの増加は、日本のみならず世界各国で報告されており、その背景には、診断基準の確立のみならず、社会問題となっている内分泌かく乱化学物質の影響が指摘されている。特に、甲状腺ホルモンは発達期脳の神経新

生や成熟に重要であり、妊娠中や授乳期のラットに甲状腺ホルモンをかく乱する化学物質を子宮内や母乳を通して曝露すると、生まれてきた子どもの学習・記憶障害が生じる。

発達障害の分子メカニズムは不明な点が多く、様々な病因仮説が提唱されている。脳由来神経栄養因子（BDNF）は神経細胞に対する分化誘導、突起伸展、生存維持、シナプス形成、アポトーシスの抑制などの役

割が広く知られている。このBDNFの遺伝子に変異を持つ者はエピソード記憶力が低いことや記憶と深い関係にある脳の海馬での活動異常が報告されている。また、BDNFの発現を低下あるいは消失させたミュータントマウスでは学習・記憶障害が生じており、さらにストレス下での多動を示すという報告もある。

ところで、定期的な走運動は、脊髄ならびに脳においてBDNFとその受容体の発現増加と神経細胞の形態変化や神経新生とともに、学習・記憶能力の向上を惹起する。

したがって、定期的な運動が、脳内BDNFの発現を増加させることによって発達障害の症状を緩和させるかもしれないと推測できる。

2. 研究の目的

(1) 乳仔期にPropylthiouracil (PTU) によって甲状腺ホルモンの合成を抑制した発達障害モデルラットの情緒特性、運動特性、認知特性とそれらに関係が深い脳部位でのBDNFとその受容体 (TrkBとp75NTR) のタンパク発現量を検討する。

(2) 上記の発達障害モデルラットに定期的な運動を施した際の行動学的特性の変化とBDNFの脳内発現を検討する。

3. 研究の方法

(1) 妊娠したWistar系ラットを使用し、その出産仔(オス42匹)を実験に供した。PTU群は出産直後から母獣に0.02%PTU水を摂取させ、21日齢以降は通常水に切り替えた。CON群には通常の水を摂取させた。両群とも出産4日後にオスが最大数になるように1腹当たり10匹の仔に制限し、24日齢時に離乳させた。8週齢時に高架式十字迷路、ロータロッド、モリス水迷路の順で行動テストを実施した。同じく8週齢時に前頭前野、扁桃体、海馬、小脳(虫部)を摘出し、BDNFをELISAキット(Promega)で、TrkBとp75NTRをウェスタンブロッティングで検出した。また、海馬と小脳においてBDNF免疫染色を行った。

(2) 妊娠したWistar系ラットを使用し、その出産仔(オス34匹)を実験に供した。PTU群は出産直後から母獣に0.02%PTU水を摂取させ、21日齢以降は通常水に切り替えた。CON群には通常の水を摂取させた。両群とも出産4日後にオスが最大数になるように1腹

当たり10匹の仔に制限し、24日齢時に離乳させた。4週齢時にPTU群では、走運動を実施するPTUE群を設け、トレッドミルによる走運動を課した(15m/分、60分/日、5日/週、4週間)。8週齢時に高架式十字迷路、ロータロッド、モリス水迷路を実施し、前頭前野、扁桃体、海馬、小脳(虫部)を摘出し、BDNFをELISAキット(Promega)で、TrkBとp75NTRをウェスタンブロッティングで検出した。

4. 研究成果

(1) 高架式十字迷路において、PTU群は総移動距離、オープンアームでの滞在時間が増加しており、多動と不安傾向の減弱が認められた(図1)。

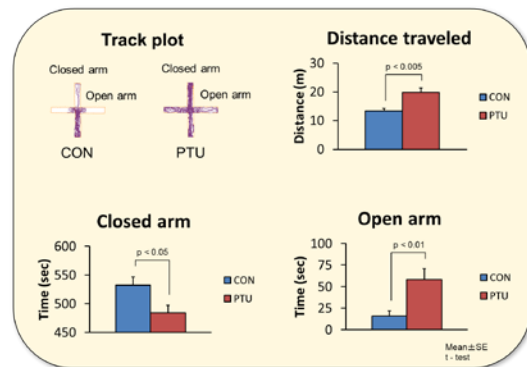


図1. 高架式十字迷路

ロータロッドにおいて、PTU群は落下時間が短縮しており、協調運動障害が認められた(図2)。

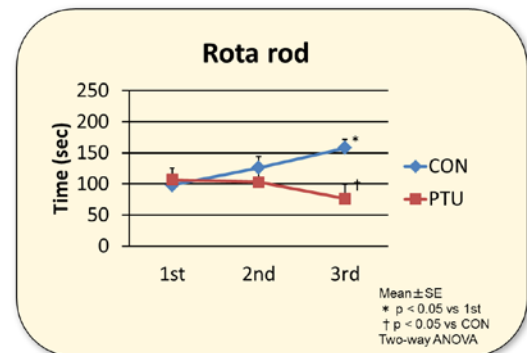


図2. ロータロッド

モリス水迷路において、PTU群ではプラットホームまでの逃避潜時の遅延と遊泳距離の延長(図3)、プラットホームを取り除いたプローブテストにおいてプラットホームが存在した4分円内への侵入回数が減少しており、学習・記憶障害が認められた。しかし、PTU群では前半と後半に差がなく、場所へのこだわり傾向が認められた。(図4)。

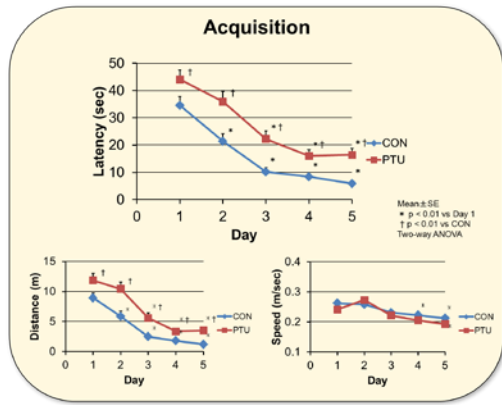


図 3. モリス水迷路学習

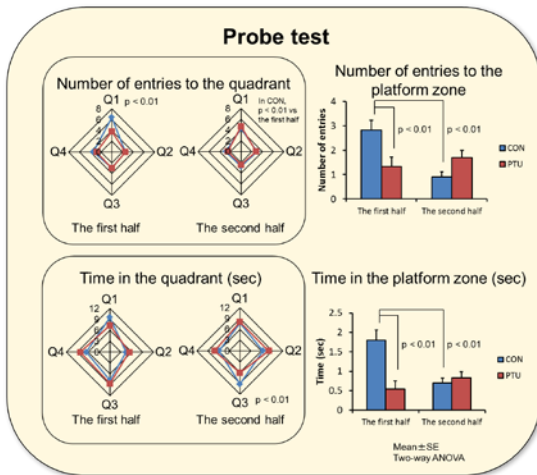


図 4. プローブテスト

BDNF は PTU 群の海馬, 小脳で低値を示した (図 5).

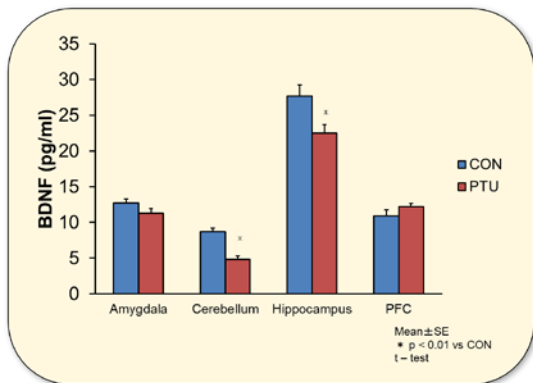


図 5. BDNF タンパク

ニューロンに豊富に存在するチロシンキナーゼ領域を持つ TrkB-FL は PTU 群と CON 群に差が認められず, アストロサイトに豊富に存在するチロシンキナーゼ領域を持たない TrkB-T1 は PTU 群の前頭前野, 扁桃体, 海馬, 小脳のすべてで低値を示した (図 6).

p75NTR は PTU 群の小脳を除いたすべての部位で低値を示した (図 7).

組織学的には PTU 群で海馬 BDNF 陽性細胞の減少, 小脳プルキンエ細胞の配列異常が認められた (図 8).

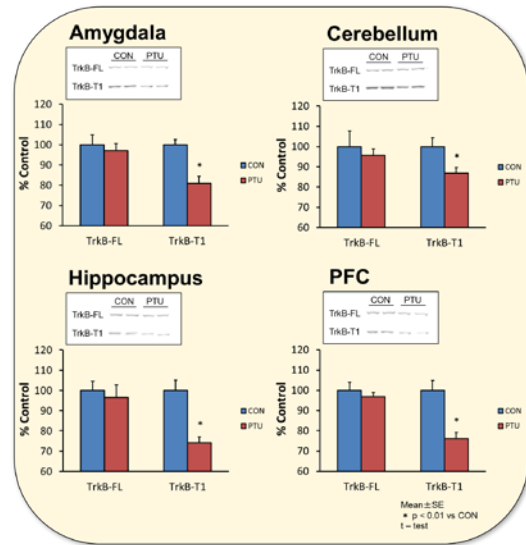


図 6. TrkB

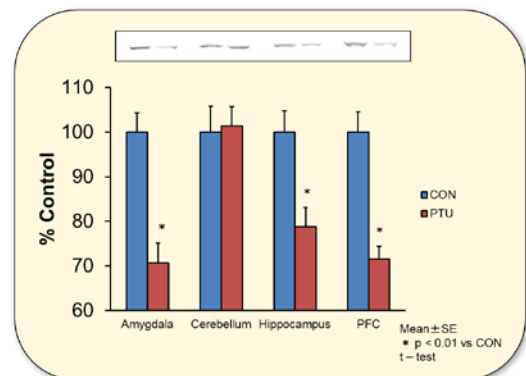


図 7. p75NTR

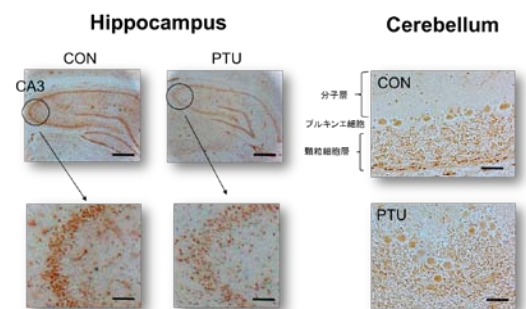


図 8. BDNF 免疫染色

(2) モリス水迷路において, PTU 群は CON 群に比べ, 学習開始 2, 3, 4 日目におけるプラットホームまでの逃避潜時の有意な遅延が認められた. 一方, 走運動を実施した PTU 群における有意な逃避潜時の遅延は, 学習開始 2 日目のみであり, 学習・記憶障害が軽減されていた (図 9).

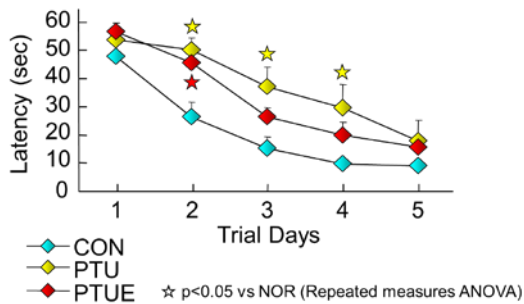


図 9. 走運動によるモリス水迷路学習の変化

プローブテストの前半 30 秒間では、何れの群もプラットホームが置かれていたエリアでの滞在時間が最も長かった。PTU 群と PTUE 群では、後半 30 秒間も同様であり、プラットホームが置かれていたエリアでの滞在時間には前半と後半で差がなく、こだわり傾向の改善は認められなかった。一方、CON 群では、プラットホームが置かれていたエリアでの滞在時間が、前半よりも後半で減少しており、他のエリアでの滞在時間が増加する傾向にあった (図 10)。

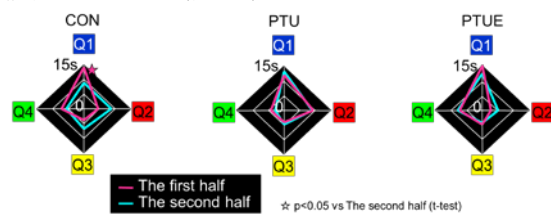


図 10. 走運動によるプローブテストの変化

BDNF は PTU 群に比べ PTUE 群の海馬, 小脳, 扁桃体で高値を示した (図 11)。

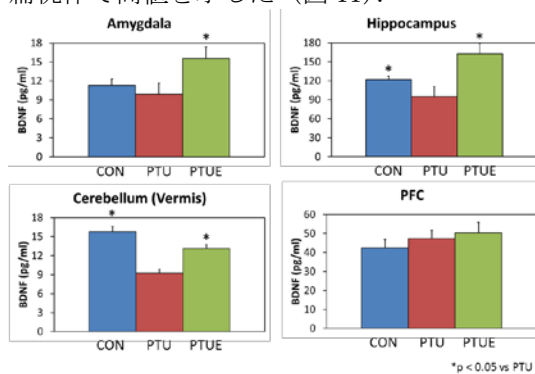


図 11. 走運動による BDNF タンパクの変化

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 中野裕史, 空間記憶保持に及ぼす走運動の影響, 第 66 回日本体力医学会大会, 2011 年 9 月 16 日, 山口.

- ② 中野裕史, 乳児期の甲状腺ホルモン攪乱による行動特性の変化と脳由来神経栄養因子の関係, 第 65 回日本体力医学会大会, 2010 年 9 月 17 日, 千葉.
- ③ 中野裕史, 恐怖刺激を伴う運動は発達障害の症状を悪化させる, 第 18 回日本運動生理学会, 2010 年 8 月 1 日, 鹿児島.
- ④ Nakano H, Effects of exercise training on spatial learning and serum brain-derived neurotrophic factor in PTU-exposed rat, The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, 2009 年 7 月 29 日, 京都.

[その他]

ホームページ等

<http://www.nakamura-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中野 裕史 (NAKANO HIROSHI)

中村学園大学・教育学部・准教授

研究者番号: 60301678