

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K11393

研究課題名（和文）運動離れの脳機構解明に向けた動物モデルの確立と扁桃体の関与の検討

研究課題名（英文）Establishing animal model for understanding brain mechanisms to avoid exercise: a possible involvement of amygdala

研究代表者

井上 恒志郎（Koshiro, Inoue）

北海道医療大学・リハビリテーション科学部・講師

研究者番号：30708574

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、ストレス高感受性BALB/cマウスを用いて、運動を嫌悪刺激として受容・記憶し、回避するという行動に扁桃体が関与しているかどうかを検討した。実験の結果、このマウスでは、強制的トレッドミル走運動（TR）がストレス反応の亢進と、嫌悪記憶の形成に関わる扁桃体領域の活性化を引き起こし、これらの変化が相関することを確認した。この結果は、今後、嫌悪刺激の記憶と回避をモデルとした運動離れの脳機能を検討していく上で、扁桃体が標的となる可能性を示唆する。また、TRの記憶・回避を評価する新たな行動テストの確立を試みたが失敗に終わったため、プロトコルなど今後さらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、運動をストレス性の嫌悪刺激として受容・記憶する脳領域の候補として扁桃体の関与が示唆された。我々には、記憶された嫌悪刺激を回避するという行動特性が備わっており、本研究の結果は、運動離れ（嫌いな運動を避ける行動）を引き起こす脳機能解明に向けた基盤データになると考えられる。我が国では、運動習慣者率の改善が大きな課題になっているが、運動離れの行動特性や脳機構が分かれば、改善のための手立てを検討する際の一助にもなり得ると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The present study investigated whether the amygdala is involved in the behaviour of accepting and memorizing the exercise as an aversive stimulus, and avoiding it, by using a stress-sensitive BALB/c mice. The results showed that, in the mice, forced treadmill running exercise (TR) caused an enhanced stress response (the elevated plasma corticosterone, and the paraventricular hypothalamic nucleus activation) and activation of an amygdala region, which involved in the formation of aversive memories, and that there were a significant positive correlation between the stress responses and the amygdala activation. These results suggest that the amygdala may be a potential target for future investigations of brain mechanism to avoid exercise basing on memory of aversive stimuli. In addition, attempts to establish a new behavioural test to assess TR memory and avoidance were unsuccessful, and further studies, including protocols, are required in the future.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：嫌悪刺激 ストレス 扁桃体 運動様式 マウス系統

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本邦では、運動習慣者率の改善が課題になっている。運動を習慣化できない理由は様々あり、近年では運動離れを引き起こす一因として「過去の不快な運動経験」が報告された (Matthewら, 2018) が、運動を不快な経験 (嫌悪刺激) として受容、記憶し、回避するという行動がどのように脳で調節されているのかは不明である。

動物には、嫌悪刺激を記憶し、再来時には回避しようとする行動特性が備わっている。脳では、扁桃体の基底外側核 (BLA) と呼ばれる領域が刺激の快不快の分別と嫌悪記憶の形成を担い、さらに BLA から扁桃体中心核 (CeA) の経路の活性化が嫌悪刺激再来時の回避行動の表出を担うと考えられている。我々は、ストレス脆弱性の高い BALB/c マウスでは、強制的な運動 (レッドミル走運動, TR) が不安・うつ様行動を増悪することを報告している。嫌悪刺激として一般的な電気ショックが同様に不安・うつ様行動を増悪することを踏まえると、BALB/c マウスにとって TR は嫌悪刺激になると考えられる (仮説 1)。また、前述の行動特性と BLA - CeA 経路の役割が運動にも当てはまるのならば、一度 TR を経験し、TR を嫌悪刺激として記憶した BALB/c マウスでは、TR を回避しようとする行動がみられ、その調節に BLA - CeA 経路の活性化が関与していると考えられる (仮説 2)。

### 2. 研究の目的

本研究では、上記仮説を検証することで、運動離れを招く脳機構の一端としての BLA、および BLA - CeA 経路の役割・可能性を明らかにする。

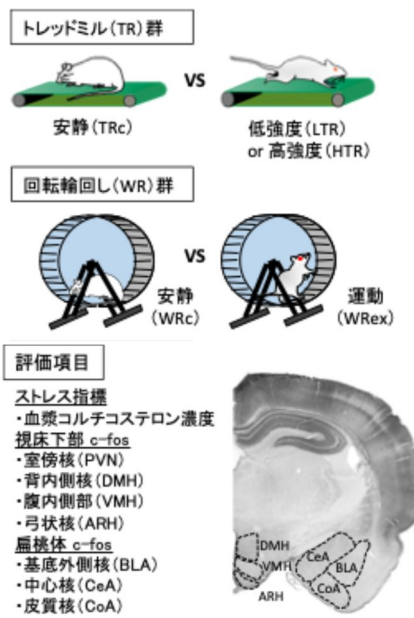
### 3. 研究の方法

仮説検証のために、本研究では、次の 2 課題を設定し、実験を行うこととした。

#### 課題 1: TR が BALB/c マウスにとってストレスを伴う嫌悪刺激になるか否かの確認

本課題では、TR が BALB/c マウスのストレス反応と扁桃体 (BLA, CeA) の活性化を引き起こすか否かを、運動の様式・強度別に、一般的なマウス (C57B6 マウス) と比較することとした。

両系統のマウスを、TR または自発的輪回し運動 (WR) の 2 群に分けた。さらに TR 群は安静 (TRc, トレッドミル上で安静)、低強度 (10 m/min, LTR)、高強度 (25 m/min, HTR) の 3 群、WR 群は安静 (WRc, WR 環境で安静) と運動 (WRex, LTR と等しい運動量) の 2 群に分けた。すべてのマウスに外頸静脈カニューレ留置術を施し、TR 群は各条件で 30 分間の安静または TR を行わせ、WR 群は安静または WR を行わせた。WRex では、自発運動量をリアルタイムでモニタリングし、LTR と同じ走行距離になった時点で運動を中止させた。安静または運動の直前、直後と 90 分後に採血し、脳を摘出した。ラジオイムノアッセイで血漿コルチコステロン (CORT, ストレス指標) 濃度の測定を行った。免疫組織染色で神経活動マーカー c-Fos を同定し、視床下部 (ストレス中枢) と扁桃体の神経活動を評価した。視床下部は、室傍核 (PVN)、背内側核 (DMH)、腹内側部 (VMH)、弓状核 (ARH) の 4 領域、扁桃体は、BLA, CeA, 皮質核 (CoA) の 3 領域に分けて解析した。統計解析は TR 群と WR 群に分けて行なった。

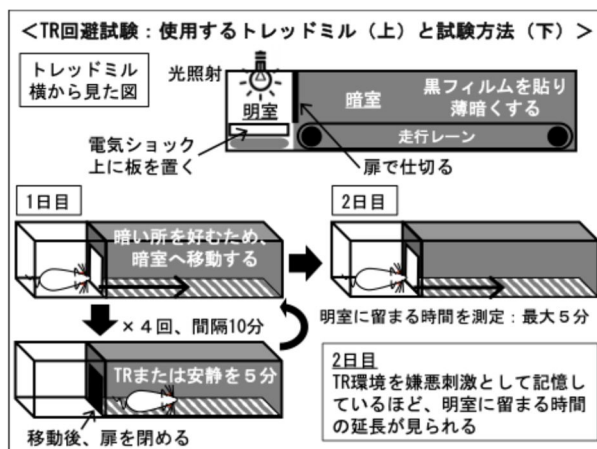


#### 課題 2: BALB/c マウスが TR を嫌悪刺激として記憶、回避し、それに BLA - CeA 経路が関与しているか否かの検討

本課題は、事前に TR を経験したマウスと未経験のマウスで、TR 環境暴露時の回避行動と BLA - CeA 経路の神経活動の違いを比較する課題 2-1 (モデル確立) と、BLA に神経活動の阻害剤またはプラセボを投与したマウスで、課題 2-1 でみられた TR 回避行動の変化を検討する課題 2-2 (機構解明) で構成される。研究期間内で検討できたのは、課題 2-1 までであったため、課題 2-1 のみの方法と結果を記載する。

##### 課題 2-1:

本研究では、トレッドミルを改造して右図の新たなプロトコルで TR 回避試験を実施し、モデルの確立を試みた。

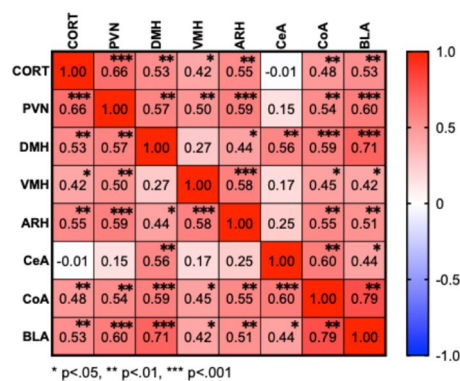


BALB/c マウスを、TR 経験群と TR 未経験群に分けた。TR 経験群の運動強度は、課題 1 でストレス反応の惹起が確認された LTR とした。LTR を 5 分間 4 セット経験させた場合と経験させなかった（同時間・回数トレッドミル上で安静にさせた）場合で、24 時間後に TR 環境へ再暴露した際の回避行動の変化を観察した。回避行動は、5 分間観察し、TR 回避スペースに滞在した時間（TR 経験群 > TR 未経験群と仮説）と TR 環境へ侵入した回数（TR 経験群 < TR 未経験群と仮説）から評価した。

#### 4. 研究成果

##### <課題 1>

BALB/c マウス：TRc 群に比べ、LTR 群と HTR 群では、運動直後の血漿 CORT 濃度の有意な上昇みられた。PVN、DMH、BLA、CeA、CoA では、TRc 群に比べ、LTR 群と HTR 群で有意な c-Fos<sup>+</sup>細胞数の増加が確認され、ARH では、TRc 群に比べ、HTR 群でのみ有意な c-Fos<sup>+</sup>細胞数の増加が確認された ( $p < .05$ )。VMH はいずれの群間にも変化は認められなかった。一方、WRc 群と WRex 群では、運動前後の血漿 CORT 濃度と、視床下部および扁桃体の全領域の c-Fos<sup>+</sup>細胞について、群間に違いはみられなかった。血漿 CORT 濃度と各脳領域との相関を分析したところ、視床下部全領域と有意な正の相関があり、特にストレス反応の起点となる PVN とは最も強い相関が確認された。一方、扁桃体では、BLA および CoA と有意な正の相関がみられ、BLA は PVN とも有意に相関した。



以上の結果は、BALB/c マウスでは、TR が運動強度に関係なくストレス反応を惹起し、この際、扁桃体が全領域（BLA、CeA、CoA）に渡って活性化することを示す。また、嫌悪記憶の形成に関わる BLA が血漿 CORT 濃度や PVN と相関していたことから、TR は BALB/c マウスにとってストレスを伴う嫌悪刺激になり、BLA がその受容と記憶に関係している可能性が高い。

C57B6 マウス：TRc 群と LTR 群と比較して、HTR 群でのみ、運動直後の血漿 CORT 濃度の有意な上昇と PVN c-Fos<sup>+</sup>細胞数の有意な増加が確認された。また BALB/c マウスと同様に、WRc 群と WRex 群では、運動前後の血漿 CORT 濃度と PVN c-Fos<sup>+</sup>細胞数に違いはみられなかった。扁桃体 c-Fos<sup>+</sup>細胞数は現在検討中である。

以上の結果は先行研究の結果を支持しており、C57B6 マウスでは、運動強度依存的に高強度の TR によってストレス反応が惹起されることを示している。

##### <課題 2>

TR 回避スペースに滞在した時間は、TR 経験群 ( $217.7 \pm 52.7$  秒) と TR 未経験群 ( $137.7 \pm 89.3$  秒) で違いは認められなかった [ $t(8) = 1.73$ ,  $p = .123$ ]。また、TR 環境へ侵入した回数も両群 (TR 経験群:  $9.4 \pm 4.39$  回, TR 未経験群:  $8.8 \pm 4.09$  回) で違いは認められなかった [ $t(8) = 0.22$ ,  $p = .829$ ]。これらの結果から、TR 回避試験の新たなモデル・プロトコルの確立には至らなかった。

当初の目的をすべて達成することはできなかったが、本研究により、扁桃体 (BLA) が運動を不快な経験 (嫌悪刺激) として受容・記憶する脳領域の候補となる可能性があることが示唆された。今後、この嫌悪刺激が運動回避行動に表出されるかどうかを検討するための行動テストの開発が必要となるが、本研究の結果は、運動離れを引き起こす脳機能の解明に向けた基盤データとなる。また本研究では、実験動物の系統や運動の様式によって、ストレス反応や脳神経活動に違いがみられることが明らかになった。特に高ストレス感受性の動物 (BALB/c マウス) では、強制的な運動が、低強度でもストレス反応を惹起し、それが嫌悪刺激として記憶される可能性が示唆された。この結果は、対象の特性を考慮した運動処方が重要になることを示唆する興味深い見聞である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 井上恒志郎、福家健宗、山口明彦
2. 発表標題 異なる強度の一過性トレッドミル走運動がBALB/cマウスのストレス反応に及ぼす影響
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koshiro Inoue, Masahiro Okamoto, Takemune Fukuie, Hideaki Soya
2. 発表標題 Relation between BDNF and acute-mild-exercise-induced memory consolidation : A study using BDNF receptor antagonist ANA-12
3. 学会等名 ARIHHP Human High Performance Forum 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井上恒志郎、山口明彦、福家健宗
2. 発表標題 北海道マラソンにおけるレース終盤のペース低下要因の走力別検討
3. 学会等名 日本体育・スポーツ・健康学会第72回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koshiro Inoue
2. 発表標題 Exercise as a trigger for "Flashbulb Memory"
3. 学会等名 2021 Korean Academy of Kinesiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koshiro Inoue, Takemune Fukuie, Akihiko Yamaguchi
2. 発表標題 Stress response to acute treadmill running with different intensities in BALB/c mice
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koshiro Inoue, Takemune Fukuie, Masahiro Okamoto, Hideaki Soya
2. 発表標題 Relation between BDNF and acute-mild-exercise-induced memory consolidation -Checking for the availability of a TrkB receptor antagonist ANA-12-
3. 学会等名 ARIHHPフォーラム2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上恒志郎、山口明彦、秋月茜
2. 発表標題 北海道マラソンのタイムやペースに対する30kmペース走の有効性の検討
3. 学会等名 日本体育・スポーツ・健康学会第71回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takemune Fukuie, Kazuya Suwabe, Koshiro Inoue, Hideaki Soya
2. 発表標題 The effect of clapping movement with groove rhythm on psychological states and executive function: a preliminary study
3. 学会等名 ARIHHPフォーラム2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koshiro Inoue, Takemune Fukuie, Masahiro Okamoto, Hideaki Soya
2. 発表標題 Brain regions activated by post-learning-mild-exercise ; a pilot study
3. 学会等名 ARIHHPヒューマン・ハイ・パフォーマンスフォーラム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 The effect of clapping movement with high-groove rhythm on executive function: A preliminary study
2. 発表標題 Takemune Fukuie, Kazuya Suwabe, Koshiro Inoue, Hideaki Soya
3. 学会等名 ARIHHPヒューマン・ハイ・パフォーマンスフォーラム2021
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関