

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19498

研究課題名（和文）シナプス接着分子Arcadlinが運動による脳の健康増進に及ぼす影響の解明

研究課題名（英文）Role of Arcadlin in exercise-induced enhancement of brain functions

研究代表者

横川 拓海（Yokokawa, Takumi）

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：80844323

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究により、ランニングホイールを用いた自発性走運動によりシナプス接着分子であるArcadlinの海馬における発現量が増加することが明らかとなった。また、Arcadlin欠損マウスの行動解析（オープンフィールド試験・高架式十字迷路試験・Y迷路試験・バーンズ迷路試験）を実施したところ、Arcadlinが不安様行動ならびに空間記憶形成に関与していることが明らかとなった。一方、生化学解析においては、Arcadlinの欠損による海馬シナプス分子の発現量への顕著な影響は観察されなかった。以上の結果より、Arcadlinが運動による抗不安効果ならびに学習機能亢進に関与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動は、学習能力の改善、認知症・うつ病の予防に効果があることが報告されているが、その分子機序に関しては未だ不明点が多く残されている。本研究では、運動誘導性分子であるArcadlinが不安様行動および空間学習に関与することが明らかとなった。これらの知見は、運動による脳機能亢進の新規分子機序の可能性を示すだけでなく、その作用機序を模倣する新規栄養・薬理因子（運動模倣剤）の探索につながる可能性を有する点で、学術的・社会的意義を持つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we found that wheel running increases the expression of Arcadlin, a synaptic adhesion molecule, in the murine hippocampus. Furthermore, in behavioral analysis (open-field, elevated plus maze, Y-maze, and Barnes maze test), Arcadlin knockout mice showed anxiety-like behavior and impaired spatial memory. On the other hand, these mutant mice demonstrated no significant change in the expression of hippocampal synaptic molecules. These results suggest that Arcadlin may be related to exercise-induced suppression of anxiety and enhancement of learning function.

研究分野：運動生化学

キーワード：Arcadlin 運動 海馬 情動 学習

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

運動は、学習能力の改善、認知症・うつ病の予防に効果があることが報告されているが、その分子機序は明らかでない。運動による健康増進効果の分子機序の解明は、適切な運動療法の確立に寄与するだけでなく、その作用機序を模倣する新規栄養・薬理因子(運動模倣剤)の探索につながる可能性があり、臨床的意義を持つ。

神経細胞の活性化に伴い、最初期遺伝子の発現が即時的に亢進する。最初期遺伝子にコードされているタンパク質は、転写因子・シグナル分子・接着分子など様々であり、その一部はシナプス可塑性への関与が示唆されている。運動は海馬におけるいくつかの最初期遺伝子の発現を亢進させることが報告されていることから、最初期遺伝子は運動による脳機能亢進に関与している可能性が考えられる。

最初期遺伝子の一つである Arcadlin はシナプス接着分子として神経回路の可塑性に関与することが示唆されている。我々の予備検討において、運動により海馬の Arcadlin が増加するとの知見を得ていたことから、運動による脳の健康増進に Arcadlin が関与している可能性が考えられた。しかしながら、運動に伴う脳機能亢進における Arcadlin の役割を検証した先行研究は存在しない。

2. 研究の目的

本研究では、Arcadlin が運動による脳の健康増進を媒介している可能性を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

研究課題1：運動が脳の Arcadlin 発現に及ぼす影響の検討

2月齢の野生型 C57BL/6J マウスを、ランニングホイールを設置したケージで飼育することにより、1日・1週間・4週間の自発性走運動を施した。非運動群には、ランニングホイールを設置していない同サイズのケージで飼育したマウスを用いた。介入期間終了後、大脳皮質・海馬を摘出し、Arcadlin の遺伝子・タンパク質発現量を real-time polymerase chain reaction (PCR) 法ならびに western blot 法により評価した。

研究課題2：cyclic AMP (cAMP) 経路による Arcadlin 発現制御の可能性の検討

先行研究に従い、Mc4r-2a-Cre マウスを GsD-floxed マウスと交配し、デザイナードラッグの投与に伴い海馬の cAMP 経路が亢進する Mc4r-GsD マウスを作出した(Matsumura et al., Am J Physiol Endocrinol Metab, 2022)。コントロールには Mc4r-2a-Cre を持たない GsD-floxed (CON) マウスを用いた。2-3月齢にて、GsD アゴニストであるデスクロクロザピン (DCZ) の腹腔内投与3時間後に海馬を採取し、real-time PCR により遺伝子発現量を評価した。

研究課題3：自発行動・情動・学習に対する Arcadlin の関与の検討

2-3月齢の野生型ならびに Arcadlin 欠損マウスを用いて、オープンフィールド試験・高架式十字迷路試験・Y 迷路試験・パーズ迷路試験を実施した。行動解析後、海馬を採取し、遺伝子発現量ならびにタンパク質発現量を real-time PCR 法ならびに western blot 法により評価した。

4. 研究成果

研究課題1：運動が脳の Arcadlin 発現に及ぼす影響の検討

運動が脳の Arcadlin 発現に及ぼす影響を検討するために、1日から4週間の自発性走運動が海馬ならびに大脳皮質における Arcadlin の遺伝子ならびにタンパク質発現量に及ぼす影響を検討した。その結果、自発性走運動により海馬および大脳皮質の Arcadlin の遺伝子・タンパク質発現量が増加することが明らかとなった。以上より、Arcadlin は運動誘導性分子であることが示唆された。

研究課題2：cAMP 経路による Arcadlin 発現制御の可能性の検討

初代神経培養細胞を用いた先行研究により、Arcadlin の発現が cAMP 経路依存的に制御されていることが報告されている(Yasuda et al., Neuron, 2007)。一方で、生体レベルにおいては、cAMP 経路による Arcadlin の発現制御に関する知見は存在しない。そこで、本研究ではマウス生体にお

いて cAMP 経路が Arcadlin 発現を制御している可能性を検討した。まず、western blot 法により GsD の発現を確認したところ、Mc4r-GsD マウスの海馬において GsD の発現が確認された。DCZ 投与 3 時間後に海馬を採取し遺伝子発現量を評価したところ、CON マウスに比して Mc4r-GsD マウスにおいて、Arcadlin 遺伝子発現量が有意に高値を示した。以上より、マウス生体の海馬においても、cAMP 経路が Arcadlin の発現制御に関与していることが示唆された。

研究課題 3 A : Arcadlin の欠損が脳機能に及ぼす影響

Arcadlin の欠損が脳機能に及ぼす影響を検討するために、野生型ならびに Arcadlin 欠損マウスを用いて、自発行動量・不安様行動・学習機能に関わる行動解析を実施した。オープンフィールド試験において、Arcadlin 欠損マウスのセンターゾーンでの滞在時間が有意に減少しており、不安様行動の増加が示唆された。一方で、オープンフィールドでの移動距離に関しては、遺伝子型間で有意差は観察されなかったことから、Arcadlin の欠損は自発行動量に顕著な影響を及ぼさないことが示された。Y 迷路試験におけるワーキングメモリーの指標である自発的交替行動に関しても、Arcadlin の欠損による影響は観察されなかった。また、バーンズ迷路試験においては、学習期間後のプローブ試験にて標的ホール周辺での滞在時間が Arcadlin 欠損マウスにて有意に低下しており、空間記憶能力の低下が示唆された。

研究課題 3 B : Arcadlin の欠損が海馬遺伝子・タンパク質発現量に及ぼす影響

先行研究により、Arcadlin の欠損マウスは海馬のスパイン密度を増加させることが報告されている (Takeuchi et al., Neuroscience, 2020)。Arcadlin によるシナプスの量的制御の分子機序を探索するために、海馬サンプルを用いて western blot 法による生化学解析を実施した。その結果、シナプスマーカー (synaptophysin および Synapsin 1) のタンパク質発現量に顕著な変化は観察されなかった。また、海馬苔状線維終末に局在する synaptoporin についても変化は見られなかった。同様に、興奮性シナプスマーカー (VGLUT1、AMPA receptor subunits、NMDA receptor subunits、PSD95、Homer1) 抑制性シナプスマーカー (VGAT、GAD2、GABA A receptor subunits、Gephyrin) の発現量に関しても、顕著な変化は観察されなかった。加えて、N-cadherin をはじめとするシナプス接着分子に関しても、遺伝子型間で有意差は検出されなかった。

Arcadlin が海馬の神経活動に及ぼす影響を検討するために、神経活動依存的に発現制御を受ける最初期遺伝子の発現量を評価した。その結果、*Bdnf*、*Arc* といった最初期遺伝子の発現量に関して、遺伝子型間での有意差は観察されなかった。

以上より、運動誘導性分子である Arcadlin は、不安様行動ならびに長期記憶学習に関与しており、その機序はシナプス分子の発現制御によらないことが示唆された。これらの知見は、運動による脳機能亢進の新規分子機序を示唆するだけでなく、その作用機序を模倣する新規栄養・薬理因子 (運動模倣剤) の探索につながる可能性がある点で学術的・社会的意義を持つ。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yokokawa Takumi, Kido Kohei, Sato Koji, Hayashi Tatsuya, Fujita Satoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Altered expression of synaptic proteins and adhesion molecules in the hippocampus and cortex following the onset of diabetes in nonobese diabetic mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15673
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.15673	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsumura Shigenobu, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Kyo Satomi, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Fujita Kotomi, Yokokawa Takumi, Goto Tsuyoshi, Momma Keiko, Takenaka Shigeo, Inoue Kazuo	4. 巻 36
2. 論文標題 CRT1 deficiency, specifically in melanocortin 4 receptor expressing cells, induces hyperphagia, obesity, and insulin resistance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 e22645
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202200617r	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yokokawa Takumi, Sasaki Shohei, Sase Kohei, Yoshii Naomi, Yasuda Jun, Hayashi Tatsuya, Fujita Satoshi	4. 巻 17
2. 論文標題 Association of serum brain-derived neurotrophic factor with hepatic enzymes, AST/ALT ratio, and FIB-4 index in middle-aged and older women	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0273056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0273056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yokokawa Takumi, Hashimoto Takeshi, Iwanaka Nobumasa	4. 巻 9
2. 論文標題 Caffeine increases myoglobin expression via the cyclic AMP pathway in L6 myotubes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14869	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Jin, Ishikawa Fuka, Jinno Tomoki, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Sasaki Tsutomu, Yokokawa Takumi, Goto Tsuyoshi, Inoue Kazuo, Matsumura Shigenobu	4. 巻 17
2. 論文標題 Disruption of CRTC1 and CRTC2 in Sim1 cells strongly increases high-fat diet intake in female mice but has a modest impact on male mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0262577
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0262577	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Egawa Tatsuro, Ogawa Takeshi, Yokokawa Takumi, Kido Kohei, Goto Katsumasa, Hayashi Tatsuya	4. 巻 132
2. 論文標題 Methylglyoxal reduces molecular responsiveness to 4 weeks of endurance exercise in mouse plantaris muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 477 ~ 488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00539.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Jun, Murata Kao, Hasegawa Tsubasa, Yamamura Mana, Maeo Sumiaki, Takegaki Junya, Tottori Nobuaki, Yokokawa Takumi, Mori Risako, Arimitsu Takuma, Nishikori Shu, Fujita Satoshi	4. 巻 97
2. 論文標題 Relationship between protein intake and resistance training-induced muscle hypertrophy in middle-aged women: A pilot study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 111607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nut.2022.111607	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujiyoshi Haruna, Egawa Tatsuro, Kurogi Eriko, Yokokawa Takumi, Kido Kohei, Hayashi Tatsuya	4. 巻 23
2. 論文標題 TLR4-Mediated Inflammatory Responses Regulate Exercise-Induced Molecular Adaptations in Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23031877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura Shigenobu, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Kyo Satomi, Shima Daisuke, Yokokawa Takumi, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Goto Tsuyoshi, Momma Keiko, Ishihara Kengo, Berdeaux Rebecca, Inoue Kazuo	4. 巻 322
2. 論文標題 Stimulation of G _s signaling in MC4R cells by DREADD increases energy expenditure, suppresses food intake, and increases locomotor activity in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E436 ~ E445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpendo.00439.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yokokawa Takumi, Mori Risako, Suga Tadashi, Isaka Tadao, Hayashi Tatsuya, Fujita Satoshi	4. 巻 527
2. 論文標題 Muscle denervation reduces mitochondrial biogenesis and mitochondrial translation factor expression in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 146 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.04.062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokokawa Takumi, Sato Koji, Narusawa Ryoko, Kido Kohei, Mori Risako, Iwanaka Nobumasa, Hayashi Tatsuya, Hashimoto Takeshi	4. 巻 528
2. 論文標題 Dehydroepiandrosterone activates 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase and suppresses lipid accumulation and adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 612 ~ 619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mori Risako, Yokokawa Takumi, Fujita Satoshi	4. 巻 529
2. 論文標題 Modified expression of vitamin D receptor and CYP27B1 in denervation-induced muscle atrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 733 ~ 739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Egawa Tatsuro, Kido Kohei, Yokokawa Takumi, Fujibayashi Mami, Goto Katsumasa, Hayashi Tatsuya	4. 巻 176
2. 論文標題 Involvement of receptor for advanced glycation end products in microgravity-induced skeletal muscle atrophy in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Astronautica	6. 最初と最後の頁 332 ~ 340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actaastro.2020.07.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------