

令和 6 年 9 月 13 日現在

機関番号：82404

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11330

研究課題名（和文）海馬内細胞のメカニカルストレス応答機構

研究課題名（英文）The Mechanism of Mechanical Stress Response in Hippocampal Cells

研究代表者

前川 貴郊（Maekawa, Takahiro）

国立障害者リハビリテーションセンター（研究所）・研究所 運動機能系障害研究部・研究員

研究者番号：50782471

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は運動を組織・細胞に対する力学的刺激（メカニカルストレス）ととらえ、受動的なメカニカルストレスが海馬内の細胞応答に影響しているのが調べることである。ゲル化用ポリエチレングリコール（PEG）溶液によりマウスの海馬内の間質液をゲル化することによって認知機能が低下することから動作依存性の間質液流動が海馬内の細胞の恒常性を維持している可能性がある。しかしながら、老化促進モデルマウスの頭部に受動的なメカニカルストレスを加えることによって抗炎症、認知機能改善・向上効果を持つが調べたが、仮説とは逆に炎症促進、認知機能が低下する結果となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動による抗炎症、認知機能維持・改善の機構として体内での代謝的変動などが中心的に研究されており、脳内において運動刺激をメカニカルストレスとして捉えた研究はない。本研究では麻酔下で老化促進モデルマウスの頭部に受動的なメカニカルストレスを加えると炎症反応の促進および認知機能を低下させる結果となったが、脳内が直接的なメカニカルストレスに反応することを確認することができた。別の脳疾患モデルやメカニカルストレスの大きさを変化させ、抗炎症、認知機能維持・改善効果を持つ条件を検証し、高齢者や運動器障害者の認知機能維持・改善を目的とした運動療法や機器開発への応用を目指す。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to investigate whether passive mechanical stress affects cellular responses in the hippocampus by considering exercise as mechanical stimulation (mechanical stress) on tissues and cells. By gelling the interstitial fluid in the hippocampus of mice using polyethylene glycol (PEG) solution, it was found that cognitive function declined, suggesting that activity-dependent interstitial fluid flow may maintain cellular homeostasis in the hippocampus. However, when passive mechanical stress was applied to the heads of senescence-accelerated model mice, instead of showing anti-inflammatory and cognitive improvement effects, the results showed increased inflammation and a decline in cognitive function, contrary to our hypothesis.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：力学的刺激（メカニカルストレス） 海馬 抗炎症 認知機能

1. 研究開始当初の背景

運動による抗炎症、認知機能改善・向上のメカニズムを、運動時に身体局所に加わる、あるいは生じる力学的刺激（メカニカルストレス）という観点から解析する。

運動は脳内の記憶を司る海馬での神経新生を誘導し、認知機能を亢進させることや様々な神経疾患に効果を持つことが分かっている。アルツハイマー病やハンチントン病などの神経疾患は異常タンパク質の凝集・蓄積以外に炎症反応も併発している。運動は抗炎症作用を持つことが報告されており、炎症反応を低下させた結果、認知機能改善・向上につながる可能性が大いに考えられる。しかし、体内では代謝的変動や物理的ストレスなど、運動によって様々な刺激が加わるため、運動が炎症反応を抑え、認知機能を亢進させるメカニズムに関してはよくわかっていない。したがって、今現在も認知機能維持・改善に適切な運動強度や期間は完全には確立されていない。

細胞は体内外の環境変化に応答し、恒常性を維持している。環境変化の一つに細胞に加わる伸展や圧迫などのメカニカルストレスがある。生体内でメカニカルストレスを強く受けているのは骨格筋、軟骨、骨などの運動器系、また血管などの循環器系とされ、メカニカルストレスと細胞応答に関する研究の大部分がこれらの組織に着目し、解析されてきた。組織の変形・加圧によって間質液の流れ（間質流）が生じ、間質流によってメカニカルストレスの一つである流体剪断力が骨、骨格筋に加わり、恒常性を維持していることが報告されている (Miyazaki et al. Sci. Adv. 2019)。間質液は細胞の周りを取り囲んでおり、その存在は全身性である。このことから運動器系、循環器系以外の組織でも組織の変形・加圧による間質流が生じる可能性があり、日常活動動作によっても起こり得る。ラットを用いた研究で運動以外にも多くの社会交流や運動量の増加が見込める充実した環境下での飼育は神経新生を促進することが分かっており (van Praag et al. Nature Rev Neurosci. 2000)、身体活動レベルが高いことが脳の可塑的な変化を促進するということからその背景に動作依存性の間質流が関わっている可能性も考えられる。そこで海馬内の細胞はメカニカルストレスに応答するのか検討し、その結果、抗炎症、認知機能改善・向上効果をもたらすのか検討することとした。

2. 研究の目的

本研究では、メカニカルストレスを受容し生物学的信号に変換する機構、すなわちメカノセンサーを探るべく、メカニカルストレスに対する海馬の細胞応答を調べ、抗炎症作用・認知機能維持・改善効果が最大となるメカニカルストレスを探索し、認知症予防や治療への応用を図ることを目的とする。

3. 研究の方法

まず通常飼育の8週齢の雄のC57/BL6マウスを用いて海馬（を含む側頭葉の一部）に、ゲル化用ポリエチレングリコール（PEG）溶液を注入して海馬内をゲル化することにより限局的に間質液流動を阻害し、その時の認知機能を評価した（限局的脳間質腔ゲル化実験）。

次に21週齢の雄の老化促進モデル（SAMP8）マウスを用いてイソフルランによる吸入麻酔下で運動を模した受動的なメカニカルストレス（Passive head motion: PHM）を1日30分、2ヶ月間頭部に加え、行動テストと生化学的解析によってPHMの抗炎症・認知機能改善・向上効果について調べた。PHMの強度に関しては中程度のトレッドミル走運動時に頭部に加わる加速度と同程度の大きさ（1×g, 2Hz, Ryu et al. iScience. 2020）を用いた（PHMによる抗炎症、認知機能改善・向上効果を確認する実験）。

認知機能の評価は①Y字迷路を用いた8分間の自発交替行動試験（Ymaze test（作業記憶））、②Ymazeの3つの内の一つのアームを閉じた状態で15分間探索させ、24時間後に閉じたアームを記憶しているか調べる試験（Ymaze test（参照記憶））、③オープンフィールドに設置した物体を探索させ、24時間後に物体の位置を変化させた時、物体の元の位置を記憶しているか調べる試験（Object-place recognition test）の3種類の行動テストによって行われた。

これらの実験を行うことでPHMが抗炎症作用・認知機能維持・改善効果を持つか検証し、その分子メカニズムの解明を目指す。

4. 研究成果

4-1. 限局的脳間質腔ゲル化実験

ゲル化用ポリエチレングリコール（PEG）溶液を注入して海馬内をゲル化した群をPEG群、非ゲル化PEG溶液注入群を対照（CON）とし、処置後1か月間通常飼育した。Y-maze testとObject-place Recognition Testによって認知機能を評価したところ、CON群に比べPEG群では認知機能が低下することが確認できた（図1A～C）。

以上のことから海馬の恒常性は日常活動動作依存性の間質流によって維持されている可能性が示された。

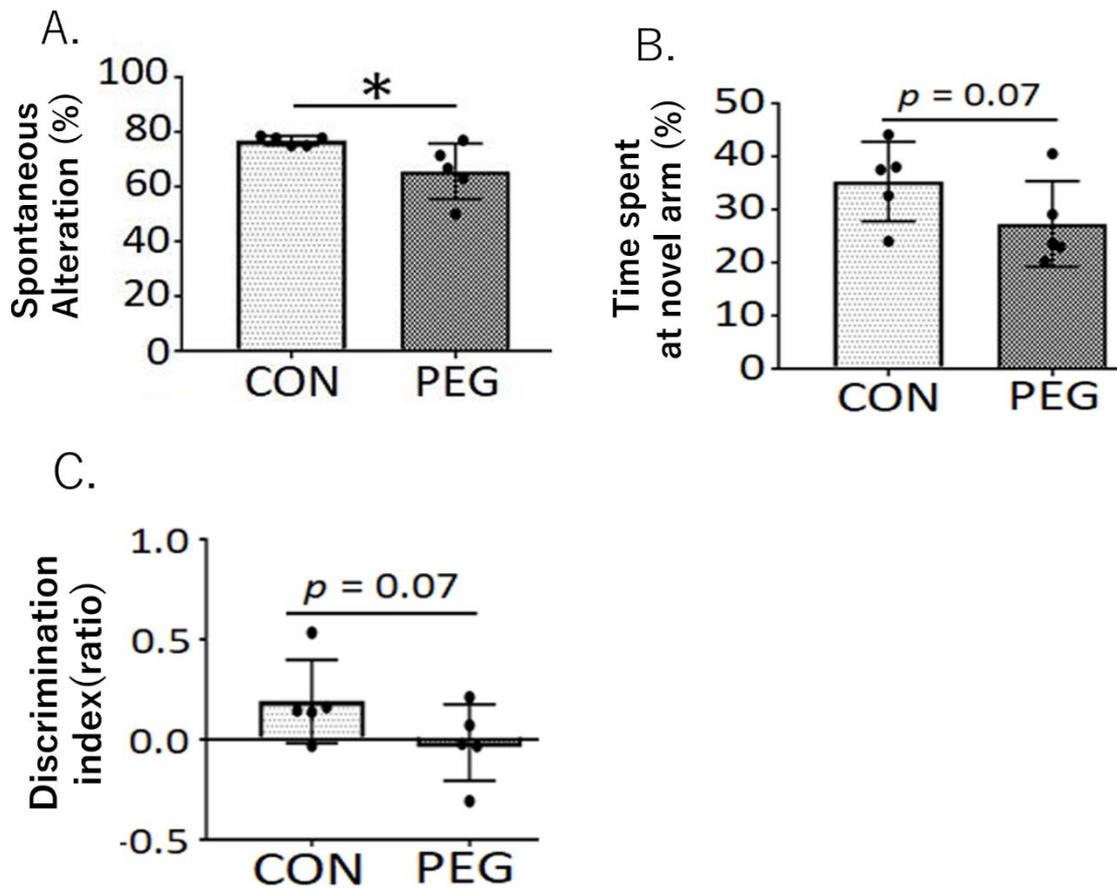


図 1. A: Ymaze test (作業記憶)、B: Ymaze test (参照記憶)、C: Object-Recognition Test (* $p < 0.05$, 平均 \pm S.D.)

4-2. PHMによる抗炎症、認知機能改善・向上効果を確認する実験

本実験では SAMP8 マウスを用いて 2 ヶ月間の PHM を頭部に加えたときの抗炎症抑制効果、また認知機能改善・向上効果を確認した。TNF α と MCP-1 の遺伝子発現は CON 群と PHM 群で差はなかったが、仮説とは逆に IL-1 β の遺伝子発現は CON 群に比べ、PHM 群で増加した (図 2)。

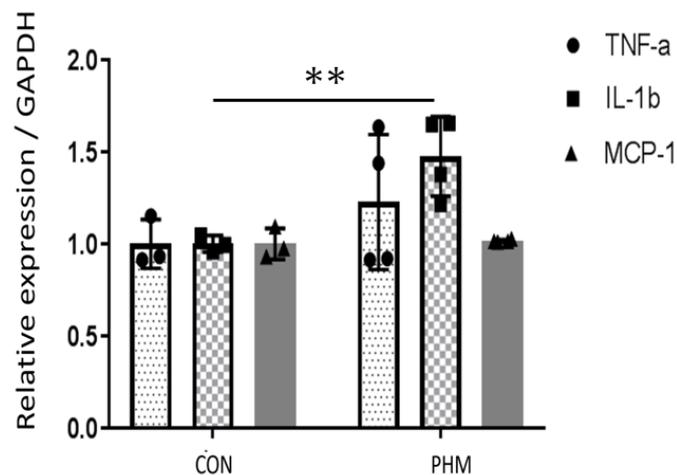


図 2. 炎症性サイトカインの遺伝子発現 (** $p < 0.01$, 平均 \pm S.D.)

また行動実験の結果、Y-maze を用いた記憶試験では CON 群と PHM 群で差は確認できなかったが (図 3、4)、Object-Recognition Test では CON 群に比べ PHM 群で認知機能が低下する結果となった (図 5)。

以上のことから本研究で用いたモデルマウスでは中程度のトレッドミル走運動時に頭部に加わる加速度の PHM で抗炎症効果、認知機能促進効果どころか逆に炎症の促進、また認知機能を低下させる結果となった。現在他の脳疾患モデルも検証しており、光梗塞法を用いた脳損傷モデルや PHM の加速度の大きさを変化させて PHM による炎症効果、認知機能促進効果を解析中である。

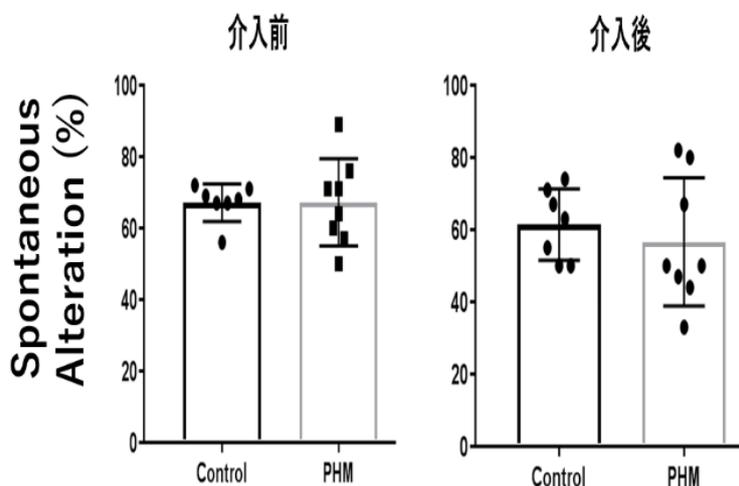


図 3. Y-Maze test (作業記憶) によって評価した 2 ヶ月間の PHM が認知機能にもたらす影響 (平均±S. D.)

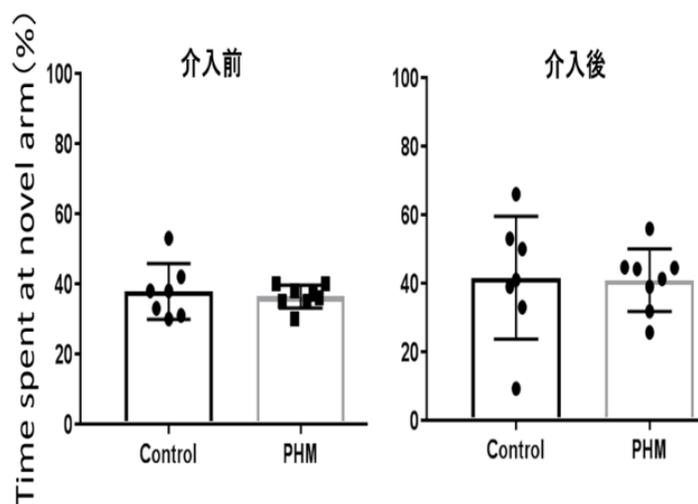


図 4. Y-Maze test (参照記憶) によって評価した 2 ヶ月間の PHM が認知機能にもたらす影響 (平均±S. D.)

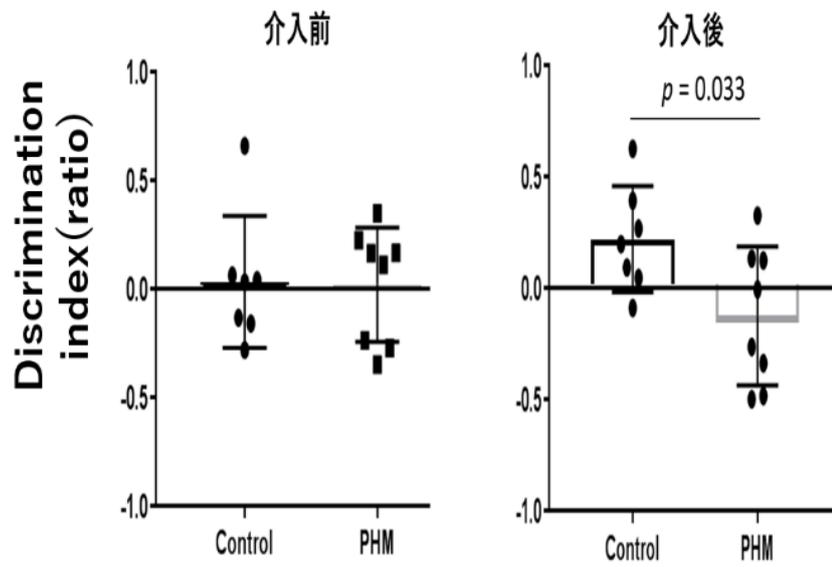


図 5. Object-Recognition Test によって評価した 2 ヶ月間の PHM が認知機能にもたらす影響 (平均±S. D.)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Maekawa Takahiro, Sakitani Naoyoshi, Ryu Youngjae, Takashima Atsushi, Murase Shuhei, Fink Julius, Nagao Motoshi, Ogata Toru, Shinohara Masahiro, Sawada Yasuhiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Application of Passive Head Motion to Generate Defined Accelerations at the Heads of Rodents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3791/63100	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 Murase Shuhei, Sakitani Naoyoshi, Maekawa Takahiro, Takashima Atsushi, Ogata Toru, Shinohara Masahiro, Nagao Motoshi, Sawada Yasuhiro	4. 巻 7
2. 論文標題 Interstitial-fluid shear stresses induced by vertically oscillating head motion lower blood pressure in hypertensive rats and humans	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 1350 ~ 1373
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41551-023-01061-x	査読の有無 無
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1件

1. 著者名 崎谷直義, 前川貴郊, 澤田泰宏	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 227
3. 書名 実験医学増刊 Vol.40 No.2 健康寿命の鍵を握る骨格筋	

〔産業財産権〕

〔その他〕

海外学術雑誌に掲載された注目すべき日本人の論文としてユサコ株式会社のサイトで取り上げられる
<https://www.usaco.co.jp/article/detail.html?itemid=1775&dispmid=610>

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
---------	---------