

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 5 月 29 日現在

機関番号：32660
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2010～2011
課題番号：22700660
研究課題名（和文） 自発および強制運動時のメンタルヘルスに関連する脳内神経システムの解明
研究課題名（英文） Clarification of neuronal systems related to mental health during spontaneous and forced exercise
研究代表者
柳田 信也（SHINYA YANAGITA）
東京理科大学 助教
研究者番号：80461755

研究成果の概要（和文）：本研究は、メンタルヘルスに関連する脳神経活動、遺伝子発現変動および神経伝達物質量について、自発運動と強制運動による影響の違いを詳細に比較検討したものである。本研究の結果から、自発運動を行った場合、強制運動に比べ、良好な心理状態に関連する脳内遺伝子発現変動が特徴的にみられること、抗不安・抗うつ作用を持つセロトニン量が自発運動によって増加すること、強制運動を行う場合でも繰り返し行うことによって脳は可塑的な変化を起こす可能性があることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We compared the effects of spontaneous and forced exercise on neuronal activation, gene expression, and neurotransmitter levels associated with mental health. The results showed that spontaneous exercise dysregulated a large number of genes related to positive mood conditions, and increased the level of serotonin transmissions compared to forced exercise. Furthermore, we revealed that repeated physical exercise could enhance neuronal plasticity even if exercise has forced modality.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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、神経科学

1. 研究開始当初の背景

現代社会において、抑うつ、不安、ストレスといったメンタルヘルスの問題は大きな関心事となっている。メンタルヘルスの維持増進に効果的なものの一つとして運動が挙げられるが、どのような運動をいかにして実施すべきかについては不明な点が多く、ほとんどデータが無いのが現状である。近年、運動によるメンタルヘルスの維持増進に影響

を及ぼす要因として、自発運動と強制運動の違いに注目が集まっており、その脳内神経機構を詳細に比較検討することによって、メンタルヘルスケアのための運動処方確立に向けた重要な知見が得られると考えられている。

2. 研究の目的

本研究では、メンタルヘルスの維持増進のた

めの運動処方確立に向け、特に自発運動と強制運動の違いに着目し、運動時のメンタルヘルスを統合する脳内神経機構を探ることを目的とした。そのため、ラットに急性の自発および強制運動を行わせ、心理的変化と関連が深い脳領域における神経活動、神経伝達物質放出量、遺伝子発現変動量について詳細に比較検討が行われた。そして、メンタルヘルスにおける運動の意義について、脳神経機構の視点から明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 自発および強制運動時のマイクロアレイおよび MeSH を用いた網羅的遺伝子発現変動解析

① 実験動物

- ・ 雄性 Wistar 系ラット

② 運動条件

- ・ 自発運動、強制運動ともに図 1 の回転筐（ランニングホイール）付ケージを使用
- ・ 自発運動群：ホイール内で 1 時間の自発運動
- ・ 強制運動群：本体メモリー内に保存された自発運動群の 1 時間の走行記録を再生したホイールの強制回転による運動
- ・ コントロール群：固定されたホイール内で 1 時間、特別な運動なし



図 1 メモリー機能付ランニングホイール

③ 実験プロトコル：運動終了後、即座に脳を摘出し、ブレインスライサーで 1mm にスライスし、標的脳部位をマイクロディセクションした。採取されたサンプルは液体窒素で凍結し、保存した。

④ 標的脳部位

- ・ 視床下部（室傍核を含む）

⑤ Total RNA 抽出：液体窒素冷却下で組織をホモジナイズし、ISOGEN により total RNA を抽出した。抽出・精製後の RNA の質を 18S、28S リボソーム RNA の検出により確認した後に、マイクロアレイ解析に供した。

⑥ マイクロアレイ

- ・ the SurePrint G3 Rat GE 8x60K Microarray (Agilent Technologies)
- ・ 58717 gene probes を搭載

⑦ アノテーション解析

- ・ 医学主題見出し用語 (MeSH) を用いたマイクロアレイデータの機能的解析：あらかじめ視床下部の機能に関連する MeSH を 100 選択し、データベース PubGene を用いて遺伝子を MeSH で機能的に分類した。この機能のうち、発現変動遺伝子群に濃縮されたものを確率検定により明らかにした。

(4) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による自発および強制運動時の神経伝達物質量の定量

① 実験動物、運動条件は (1) と同様

② 実験プロトコル：運動終了後、即座に脳を摘出し、ビブラトームで 300 μm にスライスし、標的脳部位をマイクロディセクションした。採取されたサンプルは過塩素酸溶液でホモジナイズし、遠心分離後の上清を HPLC に用いた。

② 標的脳部位

- ・ 前頭前野、視床下部室傍核、海馬歯状回、扁桃体中心核、腹側被蓋野、青斑核、背側縫線核

③ HPLC

- ・ セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリンおよびそれぞれの代謝産物を測定

(5) 強制運動時の Δ FosB タンパク質発現量

① 実験動物は (1) と同様

② 運動条件

- ・ 低強度 (10-15m/min) トレッドミル運動
- ・ 1、3 および 5 日間、1 回 30 分間

③ 実験プロトコル：運動終了後、還流固定し、脳を摘出した。摘出された脳はマイクロトームで 40 μm にスライスし、免疫染色に用いた。

④ 免疫組織化学

- ・ FosB 抗体を用いて免疫染色

⑤ 解析脳部位

- ・ 前頭前野、線条体、視床下部室傍核、海馬、扁桃体

4. 研究成果

初年度 (2010 年度) においては、まず、ラットにおける自発および強制運動の運動環境のセットアップを行い、これまで統一することが困難であった自発運動と強制運動の運動量をメモリー機能付ランニングホイールの使用により同等のものとすることができた。次に、このシステムを用いて、自発および強制運動時の脳内遺伝子発現変動をマイクロアレイによって解析し、その機能について MeSH を用いたアノテーション解析によって推定した。次年度 (2010 年度) は、自発

および強制運動時の神経伝達物質量を脳内の様々な部位で比較検討した。

主な研究成果として、自発および強制運動を比較すると、249 遺伝子において発現変動がみられ、自発運動とコントロールでは 462 遺伝子において発現変動がみられた。MeSH による解析を行った結果、変動があった遺伝子はモチベーションや不安などの心理状態、神経成長因子や視床下部関連ホルモン分泌等に関わるものであり、自発運動と強制運動の効果の違いを特徴付けるものであることが示唆された。とくに、強制運動群で発現変動した遺伝子群からは視床下部関連 MeSH が 1 つしか抽出されなかった一方で、自発運動群からは複数の MeSH が特徴的に抽出された(表)。

表 自発運動により抽出された MeSH

Comparison	Enriched categories
S vs E, L	Alpha-MSH Motor Activity Nerve Growth Factor Melanocortins Stress, Psychological
S vs L (S > L)	Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide Arcuate Nucleus Suprachiasmatic Nucleus Paraventricular Hypothalamic Nucleus
S vs F	Anxiety
F vs L	Neurons, Afferent (Cognition)

これらの発現変動遺伝子のうち、これらの MeSH がアノテーションされた遺伝子の発現パターンを図 2 に示した。さらに、遺伝子発現データから (a) 強制運動群では変動しないが自発運動群で変動した遺伝子と、(b) 自発運動群では変動しないが強制運動群で変動した遺伝子を抽出した。その結果、各々 (a) 195 遺伝子、(b) 80 遺伝子が抽出された。この遺伝子を MeSH (全 MeSH) 分類して機能的特徴を検討した結果、(a) 自発運動群で特徴的に発現する遺伝子はモチベーション、神経成長因子、視床下部関連ホルモン、行動活性などの機能に関連するものであったのに対し、(b) 強制運動群で特徴的に発現する遺伝子は細胞接着、神経保護因子、ストレス応答ホルモン(コルチコステロン)などの機能に関連するものであったことが明らかになった。

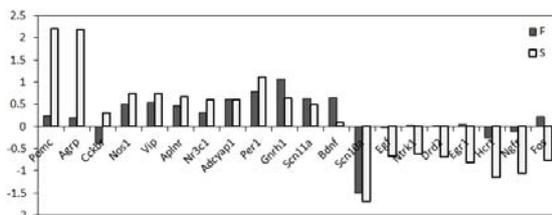


図 2 アノテーションされた遺伝子発現パターン

次に、これまでの結果を受けて、摂食やモチベーション、ストレスなどと深く関わる視床下部のモノアミン放出レベルについて、ホモジナイズ-HPLC法を用いて検討した。その結果、視床下部のセロトニン量は自発運動の方が強制運動よりも有意に高い値であり、ノルアドレナリン量は強制運動の方が高い値であることもわかった。セロトニンは、ストレスや不安時の脳神経活動を抑制することにより心理状態を安定させる働きを持ち、逆にノルアドレナリンはそれらに対し興奮性を持つと言われていたことから、この実験結果においても自発運動の心理的变化における特徴的な影響が認められたと考えられる。本研究の結果から、自発運動は強制運動よりも心理的に良好な状態をもたらす可能性が脳神経システムレベルで示された。

これまでの2つの実験を通して、自発運動は強制運動に比べ、メンタルヘルスの観点から考えると良好な効果をもたらす可能性が示唆される。しかしながら、様々な場面で効果が実証されている運動療法は自発的に行ったものばかりであるとは考えにくい。つまり、ある程度の強制性を持った運動であっても、繰り返されることによって、脳神経系においても可塑的な変化みられる可能性は捨てきれない。そこで、ラットにおける強制的なトレッドミル走が神経細胞の活動の可塑的な変化の指標となるΔFosB発現に及ぼす影響を様々な脳部位において網羅的に検討した。その結果、心理的な変化と関連が深い線条体や海馬において、運動日数の増加に伴いΔFosB発現量が有意に増加することがわかり、強制運動でも繰り返すことによって、運動時の心理状態は可塑的に変化することが示唆された。この繰り返しの効果については、今後、自発運動による影響についても詳細に検討されることが望まれる。

本研究では、運動によるメンタルヘルスの維持増進に影響を及ぼすパラメーターとして、運動のモダリティ(自発運動と強制運動)に注目したが、この影響にはモダリティ以外にも加齢や肥満などの身体状態、気温や湿度、大気などの環境の状態など様々な要因が複雑に関連してくると予想される。本研究をベースに、様々な実験モデルを形成し、多角的に運動時の脳神経機構を検討していくことで、運動とメンタルヘルスの関係がより詳細に解明させることが期待され、更なる研究の発展が望まれる。さらに、本研究で用いた方法を疾病モデル(神経疾患モデル、肥満モデル)などでも研究することにより、社会的に問題となっている疾病を克服する方法を見出すことができると期待される。

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)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. Seiichiro Amemiya, Shinya Yanagita, Satoko Suzuki, Natsuko Kubota, Chiharu Motoki, Tomomi Otsuka, Takeshi Nishijima, Ichiro Kita. Differential effects of background noise of various intensities on neuronal activation associated with arousal and stress response in a maze task. *Physiology & Behavior* 99(4):521-8, 2010
2. Ken Takeda, Yusuke Shinkai, Ken-ichiro Suzuki, Shinya Yanagita, Masakazu Umezawa, Satoshi Yokota, Hitoshi Tainaka, Shigeru Oshio, Tomomi Ihara, Masao Sugamata. Health effects of nanomaterials on next generation. *Yakugakuzasshi* 136(2)229-236, 2011
3. Masakazu Umezawa, Sayaka Kudo, Shinya Yanagita, Yusuke Shinkai, Rikio Niki, Taito Oyabu, Ken Takeda, Tomomi Ihara, Masao Sugamata. Maternal exposure to carbon black nanoparticle increases collagen type VIII expression in the kidney of offspring. *Journal of Toxicological Sciences* 36(4): 461-468, 2011
4. Shinya Yanagita, Jiro Kanemaru, Hiroko Ochiai, Masakazu Umezawa, Ken Takeda. Short term treadmill running increase expression of Δ FosB in several brain regions. *The Inaugural International academy of sportlogy* 62-67, 2011
5. 柳田信也. 運動で高める脳機能とこころの健康. *科学フォーラム* 11:24-29, 2011
6. 加藤義之, 柳田信也, 橋本卓弥, 市村志朗, 溝口博, 小林宏, 竹村裕. 連続ウェーブレット変換による表面筋電周波数解析を用いたマッスルスーツ着用時筋疲労の定量的評価. *ROBOMECH2012*
[学会発表] (計 11 件)
1. Masakazu Umezawa, Sayaka Kudo, Shinya Yanagita, Yusuke Shinkai, Rikio Niki, Taito Oyabu, Ken Takeda, Tomomi Ihara, Masao Sugamata. Maternal exposure to carbon black increases collagen type VIII expression in kidney of offspring. *Nanotoxicology 2010, the 5th International Conference of Nanotoxicology*, Edinburg (Scotland, UK), 2010. 6
2. 柳田信也. トレッドミル走がラットの脳

内 Δ FosB 発現に及ぼす影響. 第 19 回日本運動生理学会大会, 鹿児島, 2010. 7

3. 柳田信也, 金丸次郎, 梅澤雅和, 沼崎理英, 武田健. 酸化チタンの胎児期曝露が視床下部室傍核CRH神経の活動に及ぼす影響. 第 33 回日本神経科学大会, 兵庫, 2010. 9
4. 横田理, 柳田信也, 武田健. ディーゼル排気微粒子胎児期曝露が老齢マウスのコリン神経系に影響を及ぼす. 第 33 回日本神経科学大会, 兵庫, 2010. 9
5. Shinya Yanagita, Jiro Kanemaru, Masakazu Umezawa, Satoshi Yokota, Ken Takeda. Effects of exposure to titanium dioxide nanoparticles on activation of corticotrophin-releasing hormone neurons in pregnant rats and its offspring. Society for Neuroscience, 40th Annual Meeting, San-Diego (USA), 2010. 11
6. 横田理, 佐藤 央, 杉戸 雄四郎, 柳田信也, 武田健. 胎児期ディーゼル排気微粒子曝露が不安情動性と認知機能に及ぼす影響. 日本薬学会第 131 回年会, 静岡, 2011. 3
7. Shinya Yanagita, Jiro Kanemaru, Hiroko Ochiai, Masakazu Umezawa, Ken Takeda. Short term treadmill running enhance brain plasticity. 16th Annual Congress of the European College of Sport Science, Liverpool (UK), 2011. 7
8. 柳田信也, 梅澤雅和, 武田健. マイクロアレイ-MeSH法を用いた自発および強制運動時の視床下部遺伝子発現変動の比較. 第 19 回日本運動生理学会大会, 徳島, 2011. 8
9. 落合紘子, 柳田信也, 金丸次郎, 武田健. ディーゼル排ガスの胎児期曝露が発達期の脳皮質細胞数変化に及ぼす影響. 第 34 回日本神経科学大会, 神奈川, 2011. 9
10. 柳田信也, 梅澤雅和, 金丸次郎, 落合紘子, 武田健. 自発および強制運動時の視床下部における遺伝子発現変動の網羅的解析. 第 66 回日本体力医学会大会, 山口, 2011. 9
11. Shinya Yanagita, Hiroko Ochiai, Jiro Kanemaru, Ken Takeda. Prenatal exposure to diesel exhaust affects brain development in the motor cortex of neonatal rats. Society for Neuroscience, 41th Annual Meeting, Washington DC (USA), 2011. 11

[図書] (計 1 件)

1. 小澤博, 中永真吾, 藤原豊樹, 村上貴聡, 矢崎弥, 清岡智, 市村志朗, 柳田信也, 丸山克俊, 長澤淑恵. 健康スポーツ指導教本Ⅲ 体育科学とスポーツ文化Ⅲ『運動

で高める脳機能 - こころの健康に対する
運動処方 の確立に向けて - 』. 体育教育出
版会 pp80-91, 2011

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳田 信也 (YANAGITA SHINYA)

東京理科大学 理工学部 助教

研究者番号 : 80461755