

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21268

研究課題名（和文）身体運動と繊毛運動による脳脊髄液・脳内間質液の流動を介する認知症・うつ抑制機構

研究課題名（英文）Inhibitory mechanisms of cognitive impairment and depression through cerebrospinal and interstitial fluid flows induced by exercise or motile cilia

研究代表者

越智 亮介（Ochi, Ryosuke）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：80965525

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：身体運動時に頭部に生じる衝撃を再現する介入である受動的頭部上下動は、脳内の細胞にメカニカルストレスを与え、高血圧や幻覚様反応を抑制することが報告されている。本研究では、受動的頭部上下動介入時に使用する麻酔が認知機能や情動行動に影響することが分かったため、無麻酔にて介入できる系である受動的体上下動を開発した。受動的体上下動介入はマウスにおける認知機能障害、うつ様行動、不安関連行動を抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動が認知症やうつ症状を改善することが報告されているが、その効果をもたらす本体は十分に明らかにされていない。本研究の結果は、運動時に身体に生じる衝撃が、運動による認知症やうつ症状の改善効果のメカニズムに関与していることを示唆するものであり、運動療法の最適化と、運動をしなくてもできない者にも適用できる治療法の開発につながる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate whether vertical head motions mimicking mechanical accelerations during physical exercise inhibit cognitive impairment and depression-like behavior in mice. Although mechanical impact on the head induced by passive head motion under anesthesia has been reported to mediate the effects of exercise on the brain, we found that anesthesia can affect cognitive function and emotional behavior in mice. Therefore, we developed a passive body motion system that can be used for awake mice as an alternative. The passive body motion ameliorated cognitive impairments, depression-like behavior, and anxiety-related behavior in mice.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：運動 メカニカルストレス 脳脊髄液 間質液 認知機能障害 うつ病 不安

1. 研究開始当初の背景

運動は認知症やうつ症状を改善することが報告されている。この運動の効果のメカニズムについてのこれまでの研究では、運動が末梢器官から分泌される因子を介して脳に作用する系が想定されてきた。身体運動はさまざまな要素（骨格筋の収縮、エネルギー消費の増加、血流量の増加など）から構成されている。しかし、運動による認知症やうつ症状の改善効果をもたらす本体はどの要素であるかが明らかにされておらず、この運動の効果の詳細な分子メカニズムは未解明である。

2. 研究の目的

運動時には、身体局所の変形や内圧変化が生じるため、その部の細胞に力学的刺激（メカニカルストレス）が加わる。運動時の頭部への衝撃を模倣する受動的頭部上下動は脳内の間質液の流動を促進し、それに伴って脳内の細胞にメカニカルストレスが加わることで、マウスの幻覚様反応やラットとヒトの高血圧を抑制することが報告されている (Ryu et al., *iScience*, 2020; Murase et al., *Nat Biomed Eng*, 2023)。そこで、運動による認知症やうつ症状の改善効果は運動時に生じる脳内の細胞へのメカニカルストレスを介する可能性があると考えた。本研究では、運動時の頭部の衝撃を模倣する介入が認知症やうつ症状を抑制するかを検証し、その背景にある分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 受動的体上下動介入の開発

マウスの体のサイズに合わせて作製した箱を用いて、マウスを無麻酔で緩やかに保定した。マウスを入れた箱を上下に動かすことにより、マウスの全身を上下動させた。

(2) 認知機能障害と情動機能障害に対する受動的体上下動介入の効果の検証

これまでの報告で認知機能障害や情動行動の変容が認められている高脂肪餌飼育モデルマウス、粉餌飼育モデルマウス、身体拘束ストレスモデルマウスに対して、受動的体上下動介入を行い、認知機能障害や情動行動の変容が抑制されるかを検証した。また、受動的体上下動介入の作用点となる脳領域と細胞種を同定するため、免疫組織化学と定量 PCR による認知情動関連領域の解析を行った。

(3) マウスの脳脊髄液の動態の観察

運動は脳脊髄液と間質液を介した老廃物の排出を促進し、認知機能を改善することが報告されている (He et al., *Front Mol Neurosci*, 2017)、この効果をもたらした運動の本体は明らかにされていない。これまでに、運動時に頭部に加わる衝撃を模倣した受動的頭部上下動は脳内の間質液の流動を促進することが明らかにされている (Ryu et al., *iScience*, 2020; Murase et al., *Nat Biomed Eng*, 2023)。そこで、運動時に頭部に加わる衝撃が脳脊髄液の流動を促進するかを検証するため、マウスの脳脊髄液の動態を評価する方法の確立に取り組んだ。

脳脊髄液の流動経路を探索するため、麻酔下のマウスの大槽内に蛍光デキストランを注入し、摘出脳の観察と多光子顕微鏡を用いた脳ライブイメージングにて蛍光局在を追跡した。

(4) 繊毛を生体で観察できる遺伝子改変個体の作製

脳脊髄液の流動は脳室上衣細胞の繊毛の運動により調節される (Olstad et al., *Curr Biol*, 2019)。脳室上衣細胞の繊毛運動と脳脊髄液の流動の関連性の解析には、生体内での両者のイメージングが不可欠であり、ゼブラフィッシュの稚魚が透明なため広く使用されてきた。しかし、ゼブラフィッシュの成魚は不透明なため、認知症を発症しやすい老化時での解析は不可能だった。そこで、成体でも全身が透明な小型魚である *Danionella Cerebrum* (Britz et al., *Sci Rep*, 2021) を用いて、Ar113b-EGFP を発現する遺伝子改変個体を作製し、成体での脳室上衣細胞の繊毛運動の観察を試みた。

4. 研究成果

(1) 受動的体上下動介入の開発

研究代表者の所属グループは、身体運動時の頭部の動きを再現する介入として、麻酔下にて行う受動的頭部上下動を用いていた。しかし、麻酔が認知機能や情動行動を評価する行動テストの結果に影響することが分かったため、無麻酔にて介入できる系である受動的体上下動を開発した。

(2) 認知機能障害や情動機能障害に対する受動的体上下動介入の効果の検証

受動的体上下動介入による効果の検出に適したマウスモデルを探索するため、認知機能低下、うつ様行動や不安関連行動の亢進を示すことが報告されている高脂肪餌飼育モデル、粉餌飼

育モデル、身体拘束ストレスモデルを作製した。

高脂肪餌飼育モデルマウスに対する受動的身体上下動介入は、介入開始後4週時点で、Y迷路試験の交替行動率を増加させ、尾懸垂試験の無動時間を減少させた。これらの結果から、受動的身体上下動は高脂肪餌飼育モデルマウスの認知機能を向上させ、うつ様行動を減少させることが示された。一方、介入開始後8週および12週時点では、受動的身体上下動介入による認知機能や情動行動への影響は認められなかった。

粉餌飼育モデルマウスは、飼育開始後4週時点で、文脈恐怖記憶試験におけるすくみ反応が減少しており、記憶機能が低下していることが示唆された。加えて、粉餌飼育モデルマウスの海馬歯状回では、神経幹細胞と新生ニューロンの空間分布密度が減少していた。一方、粉餌飼育モデルマウスに対する受動的身体上下動介入は、介入開始後4週時点で、物体位置認識試験において、位置が移動した物体を探索する時間を増加させた。これらの結果から、受動的身体上下動は粉餌飼育モデルマウスの認知機能を改善することが示唆された。介入開始後8週および12週時点では、受動的身体上下動介入による認知機能への影響は認められなかった。

身体拘束ストレスモデルマウスに対する受動的身体上下動介入は、介入開始後2週時点で、オープンフィールド試験の中心部移動距離率の低下を抑制する傾向があり、不安関連行動を抑制する可能性が示唆された。受動的身体上下動介入の作用点となる脳領域と細胞種を同定するため、海馬、内側前頭前皮質、扁桃体において、炎症と神経新生に関連する分子に着目した解析を行ったが、受動的身体上下動介入による影響は認められなかった。

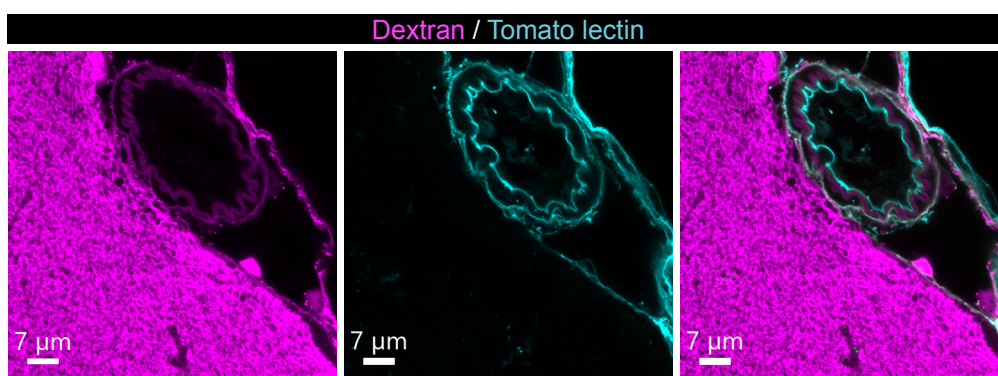


図 1. 摘出脳における 3 kD のデキストランの局在
3 kD のデキストランは血管基底膜と間質への局在が認められた。

(3) マウスの脳脊髄液の動態の観察

マウスの大槽内に注入した、分子量 3 kD と 2000 kD の蛍光デキストランの動態を比較したところ、注入 30 分後に摘出した脳において、どちらのデキストランでも視床下部と大脳皮質腹側で血管基底膜への局在が観察されたが、間質への局在は 3 kD デキストランでのみ認められた (図 1)。これは、間質への脳脊髄液流入は単なる液体の bulk 移動ではなく流動分子の径等に依存することを示唆する。加えて、脳ライブイメージングでも、マウス大槽内に注入した 3 kD 蛍光デキストランは大脳皮質背外側表層部の血管基底膜と間質にて認められた (図 2)。

(4) 繊毛を生体で観察できる遺伝子改変個体の作製

Danio rerio の F0 世代での Ar113b-EGFP の発現を確認し、ライブイメージングにより、稚魚の脳室上衣細胞の繊毛運動を観察できた。しかし、本研究期間内に、次世代の個体では変異遺伝子の伝達が確認できず、ラインの樹立には至らなかった。

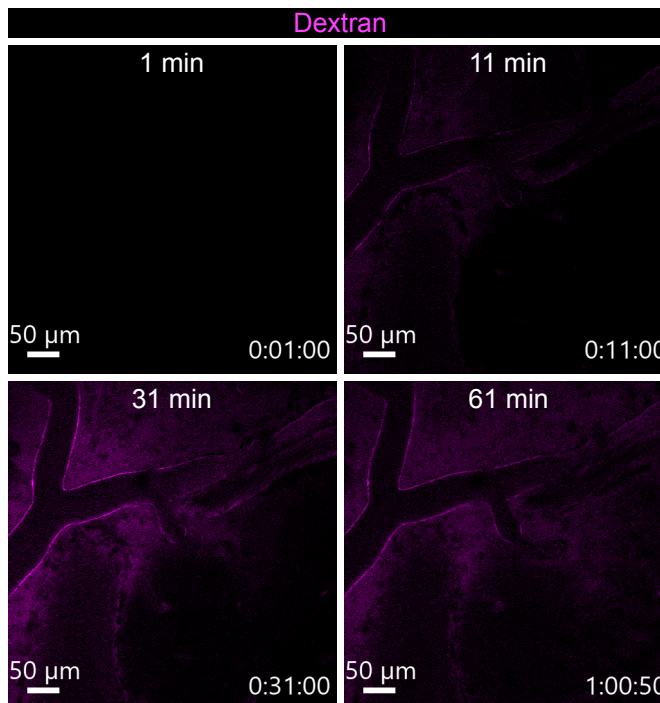


図 2. ライブイメージングによる 3 kD のデキストランの局在の観察

3 kD の蛍光デキストランは、大槽への注入開始 10 分後から、大脳皮質背外側表層部の血管壁と間質にて認められた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 越智亮介, 崎谷直義, 澤田泰宏, 望月直樹
2. 発表標題 蛍光イメージングによる脳脊髄液流動経路の解析
3. 学会等名 第31回日本医学会総会6NCリトリート
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 越智亮介, 田中秀知, 大島佑人, 飯沼今日子, 山田純, 神野尚三
2. 発表標題 ケモブレインモデルマウスにおける海馬のオリゴデンドロサイトの機能不全
3. 学会等名 日本解剖学会第79回九州支部学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 越智亮介, 田中秀知, 大島佑人, 飯沼今日子, 山田純, 神野尚三
2. 発表標題 抗がん剤投与による情動行動の変容と海馬のオリゴデンドロサイトの機能不全
3. 学会等名 第129回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2024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
---------	---------