

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26750307

研究課題名(和文) 一過性中強度運動で高まる長期記憶の脳内神経機構の解明-扁桃体に着目して-

研究課題名(英文) The neural mechanism regulating acute moderate exercise-induced enhancement of long-term memory

研究代表者

井上 恒志郎 (INOUE, Koshiro)

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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：長期記憶の形成に不可欠な記憶の固定化は、海馬CA1での新規タンパク質合成や同部位への扁桃体からの入力によって調節されている。そこで本研究では、「一過性中強度運動(AME)による記憶固定化の促進に海馬CA1での新規タンパク質合成や扁桃体から海馬CA1への入力増強が関与している」という仮説を検証することとした。実験の結果、学習後のAMEがラットの記憶固定化(長期記憶)を促進し、この運動効果が海馬CA1へのタンパク質合成阻害剤の投与で抑制されることを明らかにした。この結果は仮説を支持するものであり、現在は仮説の検証に向けた解析を進めている。

研究成果の概要(英文)：Long-term memory consolidation requires de novo protein synthesis in hippocampal CA1 region, and the protein synthesis-dependent memory consolidation is partially controlled by amygdala activation. In this study, we examined whether acute moderate exercise (AME) boosts memory consolidation via newly protein synthesis in the hippocampal CA1, and whether the effects are shaped by input from amygdala. Our results, in rats, demonstrated that post-learning AME enhances memory consolidation, resulting in improved long-term memory, and that the AME-induced memory consolidation is abolished with protein synthesis inhibitor treatment in the hippocampal CA1. The findings partially support our hypothesis, but further studies are necessary to test whether the activation of amygdala-hippocampus circuit by AME could contribute to the AME-induced memory consolidation.

研究分野：複合領域

キーワード：一過性中強度運動 記憶の固定化 海馬CA1 タンパク質合成 扁桃体

1. 研究開始当初の背景

学習後に行う一過性運動が記憶の固定化を高め、長期記憶を促進することが報告されている (van Dongen *et al.*, 2016)。しかし、これらの研究では運動強度の設定が曖昧であり、さらに対象がヒトであることから、記憶固定化（長期記憶）の促進に有効な一過性運動の強度やその運動効果を支える詳細な神経機構は明らかではない。

記憶の固定化には、神経活動依存的な海馬 CA1 での新規タンパク質合成が不可欠である。また、ストレスを伴う状況では、扁桃体（快や不快を司るとされる脳部位）から海馬 CA1 への入力が高まり、新規タンパク質合成を介した記憶の固定化が促進される (McGaugh., 2014)。一方、運動は海馬 CA1 を活性化すること、そして中強度 (@乳酸閾値) 以上では生体にとってストレスとなることが報告されている (Soya *et al.*, 2007)。

これらのことから、一過性中強度運動は記憶固定化（長期記憶）の促進に有効であり、この運動効果が「扁桃体から海馬 CA1 への入力増強→海馬 CA1 での新規タンパク質合成」の経路を介して惹起されている可能性がある。

2. 研究の目的

この仮説を検証するために、本研究では、はじめに一過性中強度運動で記憶の固定化が高まるラットモデルを作成する (実験 1)。その後、このモデルを用いて、一過性中強度運動による記憶固定化の促進が海馬 CA1 へのタンパク質合成阻害剤の投与で抑制されるかどうかを検討する (実験 2)。さらに、一過性中強度運動による扁桃体から海馬 CA1 への入力増強が記憶固定化の促進に関与しているかどうかを、逆行性トレーサーや神経活動マーカー、神経活動阻害剤を用いて検討する (実験 3)。

3. 研究の方法

実験には、Sprague-Dawley 系雄性ラットを用い、記憶固定化（長期記憶）能力は位置認識試験により評価した。この試験は、げっ歯類の新規性を好む特性を利用した試験であり (図 1)、本研究では、学習試行とその 24 時間後に実施するテスト試行での識別率の変化から記憶固定化能力を評価した。なお、識別率は「新しい位置に動かした（動かす予定の）物体を探索した時間 / 各物体を探索した時間の和（総探索時間）」の式によって求めた。

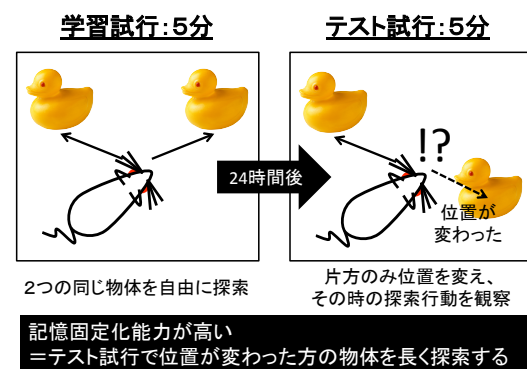


図 1 位置認識試験の概念図.

(1) 実験 1

ラットを安静群と運動群に分けた。学習試行の直後に、安静またはトレッドミルでの一過性中強度運動 (20 分、20m/min、@乳酸閾値) を行い、24 時間後にテスト試行を実施した。

(2) 実験 2

海馬 CA1 へのカニューレ留置手術を施したラットを、安静+プラセボ、安静+タンパク質合成阻害剤、運動+プラセボ、運動+タンパク質合成阻害剤の 4 群に分けた。学習試行直後の安静と一過性中強度運動の前に、カニューレを通じて海馬 CA1 にプラセボ (生理食塩水) またはタンパク質合成阻害剤 (アニソマイシン ; ANI, 両側に 25µg ずつ) を投与し、24 時間後にテスト試行を実施した。なお、運動条件は実験 1 に準じた。

(3) 実験 3

海馬 CA1 に逆行性トレーサー（コレラ毒素 B サブユニット；CTB）を投与し、2 週間の回復期間においてラットを安静群と運動群に分けた。学習試行直後に安静または一過性中強度運動（**実験 1**に準ずる）を行い、その 2 時間後に屠殺した。脳を灌流固定し、免疫組織化学染色により、CTB と神経活動マーカー（c-fos）の 2 重染色を行った。

4. 研究成果

(1) 実験 1

図 2 に学習試行時(A)とテスト試行時(B)の識別率の変化を示した。統計解析の結果、学習試行時の識別率は両群ともに変化が認められなかった。一方、テスト試行では運動群でのみ識別率の有意な向上が認められた。これらの結果は、学習試行において各群のラットが等しく記憶を獲得していたこと、そして学習試行直後の一過性中強度運動が記憶の固定化（長期記憶）を促進することを示している。これにより、**実験 1**の目的である「一過性中強度運動で記憶の固定化が高まるラットモデルの確立」に成功した。

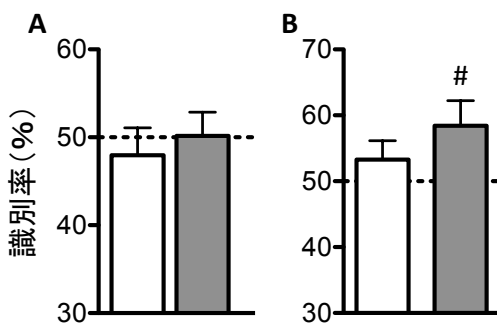


図 2 一過性中強度運動による学習 (A) およびテスト (B) 試行時の識別率の変化。白が安静群、灰色が運動群を示している。Mean ± SEM, #p<0.05 vs. chance level (50%), One sample t-test.

(2) 実験 2

図 3 に学習試行時(A)とテスト試行時(B)の識別率の変化を示した。**実験 1**と同様に、学習試行時の識別率はいずれの群でも変化は認められなかった。一方、テスト試行時の識別率は、運動+プラセボ群でのみ有意な向上が認められた。これらの結果は、学習試行直後の一過性中強度運動による記憶固定化の増強効果が海馬 CA1 へのタンパク質合成阻害剤 (ANI) の投与で消失すること、すなわち「一過性中強度運動による記憶固定化の増強が海馬 CA1 での新規タンパク質合成を介して調整されている」という**実験 2**の仮説が証明されたことを示している（投稿準備中）。

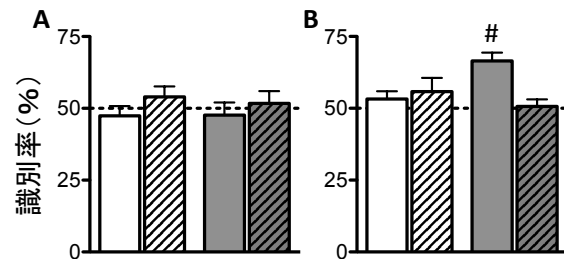


図 3 タンパク質合成阻害剤の投与と一過性中強度運動の組み合わせによる学習 (A) およびテスト (B) 試行時の識別率の変化。白が安静+プラセボ群、白斜線が安静+ANI 群、灰色が運動+プラセボ群、灰色斜線が運動+ANI 群を示している。Mean ± SEM, #p<0.05 vs. chance level (50%), One sample t-test.

(3) 実験 3

現在、海馬 CA1 の c-fos 陽性細胞数と扁桃体の c-fos&CTB 陽性細胞数が相関するかどうかを検討している。これが確認され次第、扁桃体への神経活動阻害剤（テトロドトキシン）の投与が一過性中強度運動による記憶固定化の促進を抑制するかどうかを検討する予定である。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計5件)

- ① 井上恒志郎、山口明彦、森田勲：一過性中強度運動による記憶固定化の促進効果は学習4時間後の海馬新規タンパク質合成阻害で消失する、第72回日本体力医学会大会、2017年9月16～18日、松山大学(愛媛県・松山市)
- ② 大塚裕之、井上恒志郎、泉唯史、吉田晋：有酸素運動の運動学習促進効果は運動強度に依存しない、第24回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会、2017年8月20日、千葉県立保健医療大学(千葉県・千葉市)
- ③ Inoue K, Yamaguchi A, Morita I: Single bout of moderate-intensity exercise facilitates memory consolidation via new protein synthesis in dorsal hippocampal CA1. *Experimental Biology* 2017, April 22-26, 2017, Chicago (USA)
- ④ 井上恒志郎、山口明彦、森田勲：一過性中強度運動による海馬新規タンパク質の合成を介した記憶固定化能力の向上、第71回日本体力医学会大会、2016年9月23～25日、いわて県民情報交流センター(岩手県・盛岡市)
- ⑤ 大塚裕之、井上恒志郎、小島謙一、泉唯史、吉田晋：一過性の中強度有酸素運動は運動学習の獲得を促進させる、第23回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会、2016年4月24日、千葉県立保健医療大学(千葉県・千葉市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 恒志郎 (INOUE, Koshiro)

北海道医療大学・リハビリテーション科学部／大学教育開発センター・講師

研究者番号：30708574