

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K01737

研究課題名(和文) 運動による抗うつ効果に脳内イノシンを介したBDNFの発現調節が関与するか否か

研究課題名(英文) Whether exercise-induced antidepressant effects are regulated by inosine-mediated BDNF expression in the brain?

研究代表者

三上 俊夫 (Mikami, Toshio)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60199966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではうつ病治療における運動療法の有用性を確認すると共に、運動によりもたらされる抗うつ効果がイノシンを介したアデノシン受容体の活性化と関係するか否かについて検討した。マウスを不活動状態で飼育することにより身体活動量が通常の50%に低下し、それによりうつ様症状が発症した。この不活動飼育と並行して定期的な低強度運動をマウスに行わせることによりうつ様症状の発症が抑制された。そして、この運動時にアデノシン受容体阻害剤を投与しても運動によるうつ様症状の改善は影響しなかった。この事より、低強度運動によるうつ様症状の改善にはアデノシン受容体を介したイノシンの影響はみられないと推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

社会的なストレスが増加した現代社会において、うつ病を含む精神疾患患者は増加の一途をたどっている。一方、うつ病の予防・改善に運動が効果的であることは認知されているが、その作用機序は未だに明確ではない。本研究では運動の抗うつ効果を脳内イノシンの作用の点から検討した。しかし、本研究の結果からは、運動による抗うつ効果にイノシンの関与は見いだせなかった。しかし、その実験の過程で、身体的不活動がうつ様行動を引き起こす危険因子であることが明らかにされた。本研究は、身体活動量を低下させないことがうつ病予防の第一歩である啓蒙していく上での重要な研究結果となると期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we confirmed the usefulness of exercise therapy in the treatment of depression and examined whether the antidepressant effect induced by exercise was related to inosine action via adenosine receptors. By rearing mice in a 6-divided cage, physical activity decreased to 50% of the normal level, which caused depressive behaviors. The onset of depressive behaviors was inhibited by making mice exercise at low-intensity regularly while rearing inactively. The administration of adenosine receptor inhibitors did not affect the improvement of depressive behaviors caused by exercise. These results suggested that inosine was not related to improving depressive behaviors caused by low-intensity exercise.

研究分野：運動生理学

キーワード：運動 不活動 抗うつ イノシン アデノシン受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

運動がうつ病の改善に役立つことは認知されている反面、運動の持つ抗うつ効果の詳細な作用機序は明らかにされておらず、その作用機序解明のために実験動物を用いた研究も数多く行われていた。一方、申請者はプリン体中間代謝物質の一つであるイノシンがうつ病予防に効果を持つことを明らかにしていた (Muto et al, 2014)。一方、高強度の運動後には脳内のイノシン量が増加することが報告されており (Dworak et al, 2007)、また申請者は定期的な高強度運動がストレス負荷時のマウスのうつ様行動発症を予防することを明らかにしていた (Lee et al, 2018)。これらの結果を基に、運動によりもたらされる抗うつ効果にも運動由来の脳内イノシンの増加とイノシンを介したアデノシン受容体反応の活性化が関係する可能性が予想され、この点を解明するために本研究を実施した。

2. 研究の目的

社会的なストレスが増加した現代社会において、うつ病を含む精神疾患患者は増加の一途をたどっている。一方、うつ病の予防・改善に運動が効果的であることは認知されているが、その作用機序は未だに明確ではない。本研究ではうつ病治療における運動療法の有用性を確認すると共に、運動によりもたらされる抗うつ効果がイノシンを介したアデノシン受容体の活性化と関係するか否かについて検討した。その為まず、実験動物にうつ様症状を引き起こさせるモデルとして、マウスを身体的に不活動状態にすることの有効性を検討した。この不活動状態を一定期間行わせたマウスに定期的な運動を行わせ、うつ様症状の改善に対する運動の有効性を検討した。そして最後に、運動による抗うつ効果に対するイノシンの関与の有無を、アデノシン受容体阻害剤を投与する実験から検討した。

3. 研究の方法

(1) 実験1: 6分割ケージ飼育時の身体活動量の測定

今回、不活動飼育に用いた6分割ケージでの飼育がどの程度マウスの日常生活での身体活動量を低下させるかについて検討した。10週令のC57BL/6J 雄マウスを用い、これらのマウスを(1)コントロール群と不活動群の2群に分けた。不活動飼育群は通常のマウスケージをアルミ板で6個のスペースに仕切った自作の6分割飼育ケージで飼育した(図1)。この6分割ケージでの飼育が通常のマウスケージでの飼育に比べてどの程度日常生活での身体活動量を低下させるかについてナノタグを用いて検討した。麻酔下でマウスの腹腔内にナノタグを挿入し、1週間の回復期間の後、1週間通常ケージに4匹ずつ飼育した状態で身体活動量を測定し、その後、6分割ケージに移し1週間身体活動量を測定した。

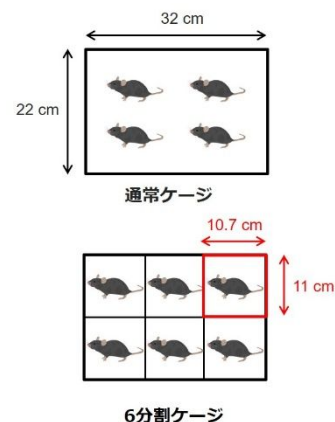


図1 6分割ケージと通常ケージの比較

(2) 実験2: 6分割ケージでの飼育によりマウスにうつ様症状と認知機能の低下が引き起こされるか否かについての検討

実験動物には10週令のC57BL/6J 雄マウスを用い、これらのマウスを(1)コントロール群(通常ケージ飼育)、(2)不活動群(6分割ケージ飼育)の2群に分け、各ケージ内で10週間飼育した。10週間後に、マウスのうつ様症状および認知機能を測定するために二つの行動試験を行った。うつ様症状の測定のためにはシヨ糖選択性試験(Sucrose Preference Test: SPT)を行った。SPTではマウスに水と1%シヨ糖水を与えてシヨ糖水を摂取する割合を調べ、シヨ糖水選択率が低下する程うつ状態が高いとする試験である。一方、Y迷路試験(Y maze test)は記憶学習能力のなかでも作業記憶能力(Working memory)を測定する試験である。

(3) 実験3: 不活動飼育によりもたらされたうつ様症状運動が改善するか否かについての検討

不活動状態での長期飼育はマウスにうつ様症状と記憶学習能力の低下をもたらすことを確認した結果を踏まえて、うつ様行動を発症しているマウスに定期的な運動を行わせ、運動負荷によりうつ様症状の改善がもたらされるか否かについて検討した。実験動物は10週令のC57BL/6J 雄マウスを用い、これらのマウスを通常ケージ飼育群(10匹)、不活動飼育群(40匹)の2群に分け、各ケージで10週間飼育した後にシヨ糖選択性試験を行いつつ様行動が発症していることを確認した。その後、不活動飼育群を無作為に(1)低強度運動、(2)中強度運動、(3)高強度運動、(4)運動なしの4群に分け、運動群には1日に30分、週3回のトレッドミル走を5週間行わせた。トレッドミル速度は低強度運動では10 m/分、中強度運動では20 m/分、高強度運動では25~30 m/分で行った。この運動トレーニングを行った期間はマウスを6分割ケージから通常ケージに移して飼育した。5週間後にうつ様状態の測定のために再びシヨ糖選択性試験を行った。

(4) 実験4: 不活動飼育と同時に行う定期的な運動がうつ様症状の発症を予防するか否か

についての検討

6分割ケージでの不活動飼育をさせながら定期的なトレッドミル走を行わせることが、不活動飼育によるうつ様症状の発症を予防するか否かについて検討した。実験動物は10週齢のC57BL/6J雄マウスを用い、これらのマウスを(1) 通常ゲージ飼育(10匹)、(2) 不活動飼育(10匹)、(3) 不活動飼育+低強度運動(10匹)、(4) 不活動飼育+中強度運動(10匹)、(5) 不活動飼育+高強度運動群(10匹)の5群に分けた。不活動飼育は前述の6分割ケージで飼育し、運動群は低強度運動ではトレッドミル速度10 m/分、中強度運動ではトレッドミル速度20 m/分、高強度運動ではトレッドミル速度30 m/分でのトレッドミル走を1日当たり30分間、週3回の頻度で10週間行わせることを試みた。しかし、実際に実験を開始してマウスに運動を行わせると、6分割ケージでの飼育が予想外にマウスの運動能力を低下させており、当初に予定していたトレッドミル速度20 m/分や30 m/分でのトレッドミル走をマウスが行えず、やむなくトレッドミル速度を10~15 m/分以下げて、この範囲で各マウスが走れる速度で運動を行わせることとした。したがって、実験条件は(1) 通常ゲージ飼育(10匹)、(2) 不活動飼育(10匹)、(3) 不活動飼育+運動(30匹)(トレッドミル速度10~15 m/分)に変更された。この条件で20週間、不活動飼育と運動負荷を行わせ、その後前述の行動試験を行った。行動試験終了後に断頭によりマウスを屠殺して海馬を採取し、RT-PCR法による脳由来神経栄養因子(BDNF)のmRNAの分析に用いた。

(5) 実験5: 運動によるうつ様症状の改善がアデノシン受容体をかいしたイノシンの作用に関与するか否かについての検討

不活動飼育によるうつ様症状が定期的な運動により予防されることが明らかになったが、この運動の抗うつ効果がアデノシン受容体を介したイノシンの作用に関与するか否かについて、アデノシン受容体阻害剤(8-cyclopentyl theophylline: CPT)を行動実験前に投与することにより検討した。10週齢のC57BL/6J雄マウスを用い、これらのマウスを(1) 通常ゲージ飼育群、(2) 不活動飼育群、(3) 不活動飼育+運動、(4) 不活動飼育+強度運動+CPT投与の4群に分けた。

不活動飼育は6分割ケージで飼育し、運動はトレッドミル速度10~15 m/分のトレッドミル走を1日に30分、週3回行わせて10週間飼育した後うつ様状態の測定のためにシヨ糖選択性試験と、作業記憶能力の測定のためにY迷路試験を行った。CPTは行動試験の30分前に腹腔内投与した。行動試験終了後にマウスを屠殺して海馬を採取して凍結保存した。

4. 研究成果

(1) 実験1

ナノタグを腹部に挿入したマウスを用いて行った日常生活における身体活動量の測定結果から、6分割ケージでの飼育は通常ケージでの飼育にくらべ、身体活動量を約50%低下させることが明らかになった(図2)。この結果から、6分割ケージでの飼育はマウスの活動量をかなり低下させることが確認できたため、このケージを用いた本実験を行うことにした。

(2) 実験2

10週間、6分割ケージで飼育した不活動群マウスは、コントロール群マウスに比べFSTでの無動時間が増加し、SFTでのシヨ糖選択性が低下した(図3)。これらの結果から、6分割ケージでの飼育がマウスにうつ様症状をもたらすことが確認できた。また、不活動マウスはY迷路試験の正解率およびFCTでの不動時間ともにコントロールマウスより有意に低値を示し、6分割ケージでの不活動飼育が認知機能を低下させることが明らかになった(図4)。これら結果は、不活動が脳機能に与える様々な影響であることを示唆する結果であった。

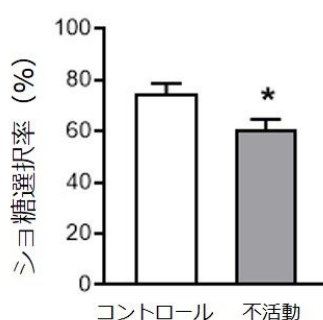


図3 シヨ糖選択性試験でのシヨ糖選択率

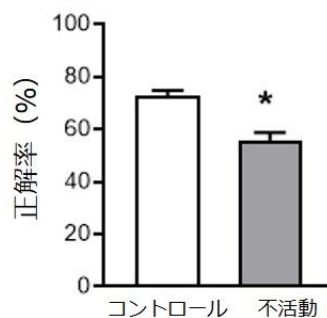


図3 Y迷路試験での正解率
このモデルマウスを使えな影響について検討が可能

(3) 実験3

行動試験の結果、運動の有無及び運動強度の違いに関わらず、10週間の不活動飼育で生じたうつ様行動は5週間の通常飼育により改善する結果となった。この結果から、不活動由来のうつ様行動は不活動状態で起こる症状であり、通常飼育に戻すことにより改善し、通常飼育下での更なる運動の抗うつ効果を検証するには難しいことが示された。この結果を基に、当初の実験計画を変更して不活動飼育と平行して運動を行わせる形で実験4を行った。

(4) 実験4

不活動飼育により低下したシヨ糖選択性は定期的な運動を負荷することによりコントロールレベルまで回復した(図5)。Y迷路試験での正解率も不活動飼育により低下し、定期的な運動負荷により回復した(図6)。これらの結果より、不活動飼育により生ずるうつ様症状や作業記憶能力の低下は、定期的な運動を実施することにより予防可能であることが明らかになった。海馬の脳由来神経栄養因子(BDNF)のmRNA発現は運動群で増加し、この増加がうつ様行動と作業記憶の低下の改善に關与した可能性が示唆された。

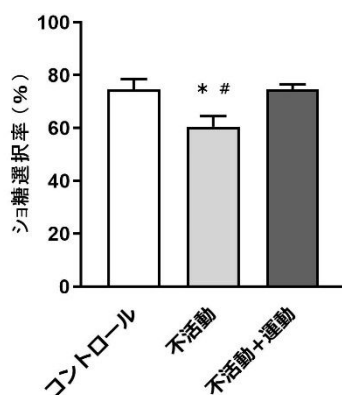


図5 シヨ糖選択性試験

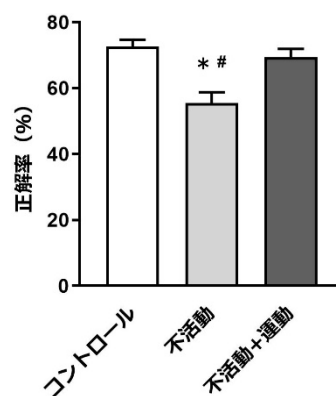


図6 Y迷路試験

(5) 実験5

不活動飼育により発症したうつ様行動と作業記憶の低下は定期的な運動により改善し、この改善はアデノシン受容体阻害剤の投与により影響を受けなかった。更に、不活動飼育により低下した海馬のBDNF mRNA発現は定期的な運動により改善したが、この改善はCPT投与により変化しなかった。この結果から、運動によるうつ様行動の改善にはアデノシン受容体を介したイノシンの関与は見受けられなかった。

(6) まとめ

本研究では運動の抗うつ効果を脳内イノシンの作用の点から検討した。用いた実験動物のマウスを不活動状態にしてうつ様症状を引き起こさせ、これに対する運動の抗うつ効果と脳内イノシンの関係を調べた。しかし、不活動飼育したマウスの運動能力が予想以上に低下し、脳内イノシン濃度を増加させる様な高強度の運動を行わすことが出来なかったことが主な原因で、本研究の結果からは、運動による抗うつ効果にイノシンの関与は見いだせなかった。今回明らかに出来なかった運動による抗うつ効果と脳内イノシンの関係は、別のうつ病モデルを使って今後検討していく予定である。しかし、その実験の過程で、身体的不活動がうつ様行動を引き起こす危険因子であることが明らかにされ、定期的な運動が不活動によるうつ様症状を予防することが明らかにされた。本研究は、身体活動量を低下させないことがうつ病予防の第一歩である啓蒙していく上での重要な研究結果となると期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三上俊夫
2. 発表標題 継続的運動は不活動由来の認知機能低下とうつ様症状の発症を予防する
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----