

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：37109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K01748

研究課題名(和文) 走運動による発達神経症モデルラットの記憶消去にAMPキナーゼ経路は関与するか

研究課題名(英文) Roles of AMPK signaling on memory extinction by chronic exercise in rats with low spatial learning ability

研究代表者

中野 裕史 (Nakano, Hiroshi)

中村学園大学・教育学部・教授

研究者番号：60301678

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、空間学習・記憶能力低下を呈するラットを用いて、嫌悪刺激による空間記憶獲得後の運動がミトコンドリア生成に関与するPGC-1 とAMPK の発現変化、および記憶の消去を生起するかどうかを検証した。空間学習・記憶能力低下を呈するラットでは、海馬のPGC-1、AMPK とともに低下しており、ミトコンドリア機能低下の可能性が示唆された。獲得された空間記憶の保持は走運動により低下し、記憶消去が認められた。その際、海馬背側部のPGC-1、AMPK とともに増加し、ミトコンドリア機能亢進の可能性が示唆されたものの、記憶消去とAMPキナーゼ経路の関係についてのさらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的な特色として、記憶の消去過程に及ぼす走運動の影響を検証することが挙げられる。その際、精神・神経疾患の要因の1つに脳のミトコンドリア機能不全が挙げられていることから、発達神経症モデルラットを用いることにより、症状緩和に対する運動効果のメカニズムが解明されるとともに、発達神経症児へ運動指導や運動療法にスポーツ科学的な視点が加わり、スポーツ科学研究と精神・神経疾患研究に貢献するものと期待する。また、記憶の消去過程の研究は、心的外傷後ストレス(PTSD)の予防と治療の観点からも注目されている分野である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify whether chronic exercise after the spatial memory acquisition by aversive stimulation causes extinction of the spatial memory and changes of protein expression of peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 (PGC-1) and 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) using rats with low spatial learning ability. The rats with low spatial learning ability have been low PGC-1 and AMPK expression. In rats with low spatial learning ability, the retention of the spatial memory by Morris water maze has been reduced by chronic running exercise, and PGC-1 and AMPK in dorsal hippocampus has increased. It is suggested that AMPK signaling may play an important role in memory extinction by chronic exercise in rats with low spatial learning ability, though the further investigation of the relationship between memory extinction and AMPK signaling is needed.

研究分野：スポーツ生理学

キーワード：運動 学習 記憶 AMPK PGC-1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳仔期に甲状腺ホルモンを阻害したラットではモリス水迷路課題における空間学習・記憶能力の低下と記憶した場所への固執傾向が認められ、海馬での脳由来神経栄養因子 (BDNF) の蛋白発現の低下が認められる。一方、モリス水迷路課題による空間記憶獲得後に2週間の走運動を実施すると、これらのラットでは記憶した場所への固執傾向が改善する。すなわち、嫌悪刺激による記憶獲得後の走運動は記憶の消去を促すことが示唆される。

精神・神経疾患の要因の1つに脳のミトコンドリア機能障害が挙げられており、学習・記憶能力と海馬のBDNF発現にはミトコンドリア生合成に關するperoxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 (PGC-1) など5' adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) 経路が重要である。

空間学習・記憶能力の低下を呈するラットに4週間の走運動を実施すると、空間学習・記憶能力の改善とともに海馬でのBDNF蛋白発現が増加することから、ミトコンドリア生理活性に關するAMPK経路の変化が記憶消去過程に影響している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

(1) 空間学習・記憶能力低下を呈するラットにおいて AMPK と PGC-1 蛋白発現が低下しているかどうかを検証する。

(2) 空間記憶獲得後の走運動が、空間記憶の消去及び AMPK と PGC-1 蛋白発現の変化を生起させるかどうかを検証する。

3. 研究の方法

(1) 4世代の選択交配によってモリス水迷路課題における空間学習・記憶能力の低い15-16週齢のWistar系ラットのオス5匹 (LOW), および統制群 (CON) として15-16週齢のWistar系ラットのオス5匹を実験に供した。

8-10週齢時にモリス水迷路課題を実施した (1試行/60秒間, 4試行/日, 5日間)。各試行は4カ所のランドマークのいずれかよりスタートし、プラットフォーム上に静止した場合を成功試技とした。6日目にはプラットフォームを取り除いたプローブテストを60秒間実施した。LOW群は平均逃避潜時が長く、プラットフォーム設置エリアの滞在時間が短い兄妹を12-13週齢時に選択交配した。15-16週齢時に海馬を摘出してBDNF蛋白発現をELISAで、TrkB, AMPK, PGC-1蛋白発現をWestern Blottingで検出した。

(2) 妊娠したWistar系ラットを使用し、その出生子のオス19匹を実験に供した。出産直後から0.02% Propylthiouracil (PTU) を飲料水として3週間母獣に投与し、母乳を介して甲状腺ホルモンの合成を阻害した。出産4日後にオスが最大数になるように1腹当たり10匹の仔に制限し、24日齢に離乳させた。

6週齢時にモリス水迷路課題を実施し (1試行/60秒間, 4試行/日, 7日間), 8日目にはプラットフォームを取り除いたプローブテストを60秒間実施した。

その後、AMPK活性化剤のAICAR投与群 (AICAR), 走運動群 (EXE), AICAR投与と走運動の両者を実施する群 (AICAREXE), コントロール群 (CON) に無作為に分類した。AICARは腹腔内注射により投与した (50mg/kg体重, 1回/日, 毎日/2週間)。CONとEXEには生理食塩水を腹腔内注射により投与した (50mg/kg体重, 1回/日, 毎日/2週間)。走運動はトレッドミル走とし (30分/日, 毎日/2週間), 1週目は走速度を10m/分まで漸増し, 2週目は15m/分まで漸増した。

終了1日後、保持テストとしてプローブテストを再度実施した。

さらに、その1日後に海馬を摘出して長軸に沿って3等分し、背側部と腹側部のAMPKとPGC-1蛋白の発現をWestern Blottingで検出した。

4. 研究成果

(1) モリス水迷路課題においてCON, LOWともにプラットフォームへの逃避潜時と遊泳距離が有意に短縮し ($p < 0.001$), 空間学習・記憶が成立した。しかし、遊泳速度が同じであるにもかかわらず、LOWはCONよりも逃避潜時と遊泳距離が有意に長く ($p < 0.005$), 空間学習・記憶能力が低かった (図1)。

プラットフォームを取り除いたプローブテストにおいて、4分以内でプラットフォームエリアの滞在時間に両群で差が認められな

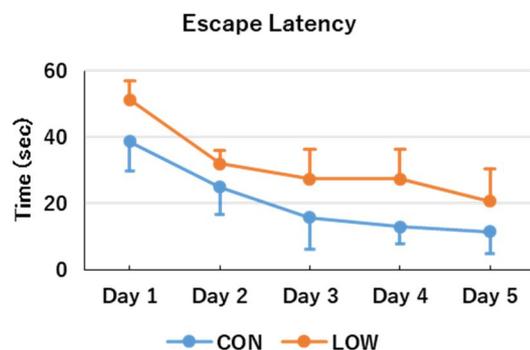


図1 モリス水迷路課題の逃避潜時

訓練と群の主効果が有意であり、訓練により逃避潜時が有意に短縮し ($F(4, 32) = 21.96, p < 0.001$), LOWの逃避潜時がCONよりも有意に長かった ($F(1, 8) = 22.85, p < 0.005$). Two-way ANOVA. Values are mean and SD.

った。

海馬の BDNF は LOW が CON よりも低値傾向を示したが、両群で差が認められなかった ($p = 0.06$)。一方、海馬の TrkB は LOW が CON よりも有意な低値を示した ($p < 0.01$)。

海馬の PGC-1 は LOW が CON よりも有意な低値を示し ($p < 0.01$) (図 2), AMPK も LOW が CON よりも有意な低値を示したことから ($p < 0.005$) (図 3), 空間学習・記憶能力と AMPK 経路の関与が示唆された。

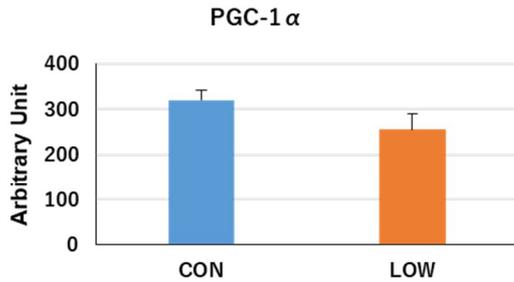


図2 海馬PGC-1α蛋白発現

LOWはCONよりも有意な低値を示した ($p < 0.01$)。t-test。Values are mean and SD.

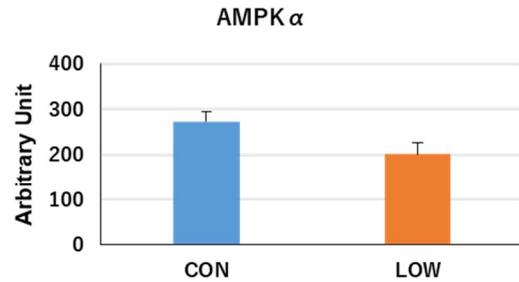


図3 海馬AMPKα蛋白発現

LOWはCONよりも有意な低値を示した ($p < 0.005$)。t-test。Values are mean and SD.

(2) 走運動前のモリス水迷路課題において、プラットフォームへの逃避潜時が有意に短縮した ($p < 0.001$) (図 4)。また、プローブテストにおいて、4分内でプラットフォームエリアの滞在時間が他のエリアよりも有意に長かったことから ($p < 0.001$), 空間学習・記憶の成立が認められた。



図4 モリス水迷路課題の逃避潜時

訓練により逃避潜時が有意に短縮した ($F(6, 108) = 51.57, p < 0.001$)。One-way ANOVA。Values are mean and SD.

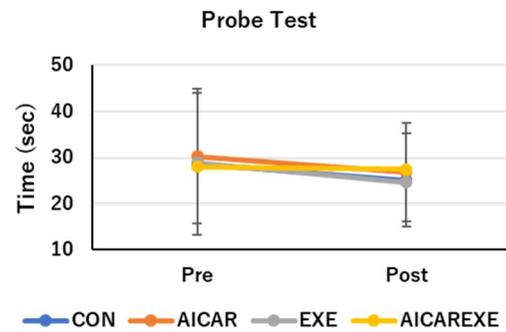


図5 プラットフォームエリアの滞在時間

EXEにおいて有意に短縮した ($p < 0.05$)。t-test。Values are mean and SD.

2週間後にプローブテストを再度実施した結果、CON, AICAR, AICAREXE ではプラットフォームエリアの滞在時間に有意な変化は認められなかった。一方、EXE はプラットフォームエリアの滞在時間が運動前よりも有意に短縮し ($p < 0.05$), 記憶消去が認められた (図 5)。

海馬背側部の PGC-1 は EXE が CON よりも有意に高値を示した ($p < 0.005$) (図 6)。海馬腹側部の PGC-1 は EXE と AICAREXE が CON よりも有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

海馬背側部の AMPK は EXE と AICAREXE が CON ($p < 0.005, p < 0.05$) および AICAR ($p < 0.001, p < 0.05$) よりも有意に高値を示した (図 7)。海馬腹側部の AMPK は EXE と AICAREXE が CON よりも有意に高値を示し ($p < 0.005, p < 0.05$), EXE が AICAR よりも有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

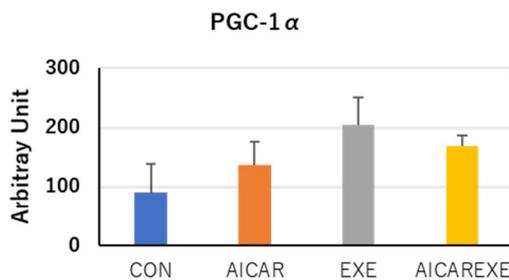


図6 海馬背側部PGC-1α蛋白発現

EXEはCONよりも有意な高値を示した ($p < 0.005$)。One-way ANOVA。Values are mean and SD.

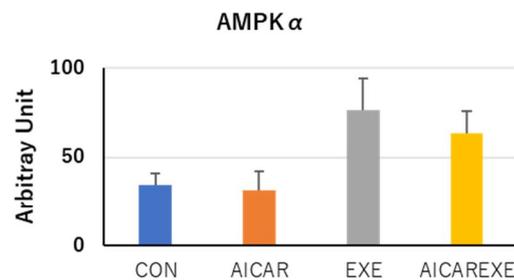


図7 海馬背側部AMPKα蛋白発現

EXEとAICAREXEがCON ($p < 0.005, p < 0.05$) およびAICAR ($p < 0.001, p < 0.05$) よりも有意に高値を示した。One-way ANOVA。Values are mean and SD.

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 中野裕史
2. 発表標題 空間学習能力低下を呈するラット海馬における PGC-1 蛋白発現
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----