

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13017

研究課題名（和文）運動時に賦活する機能的脳神経回路の同定と可塑性の探索

研究課題名（英文）Identification of functional brain networks recruited by physical exercise and its plasticity

研究代表者

北 一郎 (KITA, Ichiro)

首都大学東京・人間健康科学研究科・教授

研究者番号：10186223

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000 円

研究成果の概要（和文）：運動は、脳機能に多様な恩恵効果をもたらすことが知られている。これは運動が広範な脳領域に対して協調的に作用することを示唆している。本研究では、運動時に賦活化される機能的脳神経回路を可視化するために、運動時の脳内神経活動の時空間特性およびそれらが共変動する脳領域の集合体を免疫組織化学的、数理統計学的手法により同定することを目的とした。結果として、運動時に賦活化する機能的脳神経回路は運動強度に依存し、さらに、継続的な運動は、賦活脳領域の空間パターンおよび機能的脳神経回路を変化させることが示された。これらの結果から運動時に賦活化する機能的脳神経回路には運動条件依存性が存在する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Accumulating evidence suggested that physical exercise improves various brain functions, including memory and learning, emotion and cognitive/executive functions. The multiple effects of exercise on the brain function may be due to interaction of neural activation of multiple brain regions stimulated by exercise. In the present study, we tried to identify the functional brain network recruited by acute treadmill running in male Wistar rats, using c-Fos immunohistochemistry and correlation analysis. We found that the functional brain network recruited by exercise was formed depending on exercise intensity, and that chronic regular exercise could remodel the functional brain network recruited by acute exercise. These results suggest that the functional brain network recruited by exercise, which is defined by co-activation of multiple brain regions, may depend on intensity and duration of the exercise.

研究分野：運動生理学・行動神経科学

キーワード：運動 神経活動 機能的脳神経回路 免疫組織化学 相関分析 可塑性

## 1. 研究開始当初の背景

運動は、ストレスに起因する心身相関の病ともいわれる生活習慣病の改善のみならず、ストレスの軽減、不安・うつ症状の改善、記憶・学習能の向上など脳機能にも多様な恩恵効果をもたらす (Dishman, 1997)。このことは、運動が単一の神経系あるいは脳領域だけに影響するものではないことを示唆している。脳の機能局在についてはよく知られており、これまで運動と脳機能及びそれに伴う様々な反応については、機能特異的脳領域に焦点をあてた局所的な検討が多くなされてきている。しかし、それぞれの脳領域間においてどのようなクロストークが行われているのか、また、その神経回路の機能や構造が運動によってどのように変容するのかについては、依然として解明されていない。我々はこれまで動物実験を用い、運動による抗うつ・抗不安作用の背景にある神経機序を解明するための行動神経科学的実験を行ってきた。その成果として、運動条件を適切に設定することにより、運動はうつ、不安の改善に関連する神経機構に積極的に関与することを示しているものの (Yanagita et al. 2007; Kita, 2014)、それぞれの関連脳領域間の相互作用の解明には至っていない。このような行動神経科学的アプローチをベースとした運動による脳機能マッピングに関する研究は、国内外においても緒に就いたばかりであり、この観点のデータが蓄積されていけば、様々な精神機能の向上あるいは精神疾患の予防・治療のための新たな戦略が提案できるものと期待される。

## 2. 研究の目的

運動や身体活動は、身体にとどまらず、記憶・学習、情動反応、認知・実行機能といった精神機能 (脳機能) にも多様な恩恵効果をもたらすことが知られている。この多様性の背景には、運動が局所的な脳領域だけでなく、皮質 (意識的) および皮質下 (非意識的) の広範な脳領域間ネットワーク全体に協調的に作用することが関連していると考えられる。しかし、運動時に賦活化する脳全体の神経活動をもとに、その機能的脳神経回路およびその運動条件依存性について明らかにした研究はこれまでにない。最新の神経科学は、安静時でさえも脳内神経回路の活動は無秩序ではなく一定の時空間パターンを示すことを明らかにしているにもかかわらず、運動の恩恵効果を発現する機能的神経回路やそのリモデリングについては依然、解明されていない。

本研究では、運動時に賦活化される脳領域間ネットワーク (機能的脳神経回路) を可視化するために、動物実験を用いて各種運動条件による運動時の脳内神経活動の時空間特性について神経活動依存的遺伝子発現 (最初期遺伝子) を指標とする免疫組織化学法により明らかにし、それらの発現が共変動する脳

領域の集合体と機能的接続について数理統計学的手法により同定することを試み (脳機能マッピング)、その運動条件依存性および機能解剖学的可塑性について探索することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では、ヒトに外挿することを念頭に、運動時に賦活化する機能的脳神経回路の生物学的基盤の確立を目指し動物実験を用いた。各種運動条件 (強度、時間、期間) を設定し、本研究の目的を達成するために以下の課題を設定した。

急性運動時に賦活する脳神経回路の機能的マッピング (方法論の確立)

運動トレーニングによる急性運動時の機能的脳神経回路のリモデリングと行動変容 (可塑性の検討)

これらの課題の解決に向けて、まず、(1) 「運動時に賦活化する脳神経活動の時空間特性」について明らかにし、そのデータをもとに、(2) 「運動時に賦活化する脳神経回路の機能的マッピングと可塑的变化の同定」を試みた。

(1) 急性運動時に賦活化する脳神経活動の時空間特性の検討

【実験動物】

Wistar 系雄性ラット

【運動条件】

実験動物用トレッドミルを用いて、運動強度が異なる走運動 (非運動 0m/min、低強度 15m/min、高強度 25m/min) を、それぞれ異なる時間 (15 分、30 分、60 分) でラットに行わせた。

【免疫組織化学染色法】

神経活動を同定するために、走運動終了 90 分後に麻酔下で生体灌流固定を行い、脳を摘出した。免疫組織化学法により神経細胞活性化のマーカーである c-Fos タンパクの発現を可視化し、運動時に活性化した脳部位、活動の程度を同定した。同時に、細胞タイプ特異的な抗体を用いた二重染色法によって神経細胞の種類も同定した。

【行動科学実験】

運動によるうつ様行動に対する効果を評価するために強制水泳テストを用い、その結果を運動条件ごとに解析し、運動による精神機能改善効果 (行動変容) に対する運動条件依存性について検討した。

(2) 急性運動時に賦活化する脳神経回路の機能的マッピングと可塑性

【実験動物】

Wistar 系雄性ラット (上記 1 を含む)

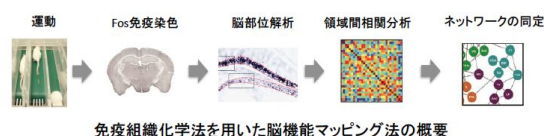
【運動トレーニング】

急性運動時に賦活化する脳神経活動に対する慢性運動 (運動トレーニング) の効果 (感受性の変化: 可塑性) を検討するために、異なる運動強度 (非運動 0m/min、低強度

15m/min、高強度 25m/min) の 60 分 / 日のトレッドミル運動を 4 週間ラットに行わせ、その前後で 30 分間の急性運動 (上記 1 と同様) を行わせた。

#### 【数理統計学的解析】

運動トレーニングの前後における急性運動による最初期遺伝子 (c-Fos) 発現パターンをもとに (上記 1 を含む) 各脳領域間の相互作用及び共変動について数理統計学的手法 (相関分析、クラスター解析) を用いて解析し、運動時に賦活化する脳神経回路の機能的マッピングを試みた。さらに、それらを運動条件ごとに解析し、運動時の脳神経活動及び機能的脳神経回路の運動条件依存性について検討した。



## 4. 研究成果

### (1) 急性運動時の脳内神経活動の運動条件依存性

#### -運動条件と抗うつ作用の関連-

我々は以前の研究 (Otsuka et al.2016) で、運動強度が異なることでうつ病の神経病態に関連する脳神経系に及ぼす急性運動の影響が異なることを報告した。しかし、たとえ同一の運動強度であっても、運動時間が異なることでこれらの脳神経系に及ぼす影響が異なることがいくつかの研究 (Meeusen et al.1996; Gomez-Merino et al.2001) で示唆されている。すなわち、運動が脳神経活動に及ぼす影響は、運動強度のみならず運動時間によっても異なる可能性が考えられる。そこで本研究課題では運動の時間・強度に焦点を当て、急性運動時の脳内神経活動の時空間特性について、免疫組織化学法により明らかにした。本実験では、運動時の脳内神経活動の運動条件依存性について確認するために、抗うつ作用に関連する視床下部室傍核の CRF 神経活動と中脳背側縫線核のセロトニン神経活動をピックアップし、同時に、うつ様行動との関連について検討した。その結果、急性運動は運動時間の長さ (15, 30, 60 分) に関わらず運動強度 (0, 15, 25 m/min) 依存的に CRF 神経の活動を活性化させた。一方で、セロトニン神経活動に関しては、運動強度および運動時間によって急性運動の作用が異なることが示唆された。すなわち、セロトニン神経活動は 15 分以上 (15, 30, 60 分) の低強度運動 (15 m/min; LT 以下) および 60 分の高強度運動 (25 m/min; LT 以上) で活性化することが示唆された。さらに、うつ様行動は 30 分以上 (30, 60 分) の低強度運動および 60 分の高強度運動で減少することが示された。これらのことは、急性運動時の脳内神経活動は運動条件に依存して変化すること

を示唆している。また、本実験結果から、30 分以上の低強度運動は、CRF 神経活動を過剰に亢進することなくセロトニン神経活動を活性化し、かつ抗うつ作用をもたらす効果的な運動条件であることが推測された。

### (2) 急性運動時の機能的脳神経回路の同定

#### -方法論の確立-

研究成果 (1) の結果をもとに、異なる運動強度 (0, 15, 25 m/min) の 30 分間の急性トレッドミル走によって賦活化する機能的脳神経回路の同定を試みた。対象脳部位は、運動および情動に関連する脳領域 (大脳皮質、大脳辺縁系、視床下部、脳幹のそれぞれにおける主要な神経核を選択) とした (ROI:20)。それぞれの脳部位について、運動時に賦活化する脳領域の空間特性を解析し、さらに脳部位間の神経活動について相関分析を行い、機能的脳神経回路の脳機能マッピングを試み、運動強度依存性について検討した。その結果、複数の脳部位において、運動時の神経活動は運動強度により異なることが示され、さらに、脳機能マッピングの結果から、低強度運動 (15 m/min, 30 min) は、高強度運動 (25 m/min, 30 min) に比べて、脳全体に、より協調的な脳神経活動を引き起こすことが示された。本実験の結果は、急性運動時に賦活化する機能的脳神経回路は運動強度により異なることを示唆する。これらの結果を踏まえると、本研究で試みた免疫組織化学法と相関分析を用いた新規手法は、運動時に賦活化する機能的脳神経回路の探索のための有効なツールとなる可能性を示している。

### (3) 運動トレーニングによる急性運動時の機能的脳神経回路のリモデリングと抗うつ効果

慢性運動 (運動トレーニング) がストレス関連精神疾患 (うつ病など) にみられる多様な身体的・精神的症状の予防・改善に有効であることは多くの臨床研究で示唆されている。この背景には、慢性運動による複数の脳領域や神経系の活性あるいは機能的脳神経回路の可塑的变化が貢献していることが考えられる。本実験では、運動強度の異なる 4 週間のトレッドミル運動 (0, 15, 25 m/min, 60 min/day, 5 times/ week) が、急性運動時の脳内神経活動 (感受性) および機能的脳神経回路 (リモデリング) に及ぼす影響について検討した。同時に、行動変容を確認するために、うつ様行動に対する慢性運動の効果についても評価した。その結果、運動トレーニング前の結果については、研究成果 (1) (2) と同様の結果であったが、運動トレーニング後では、急性運動時の脳内神経活動に適応的变化、すなわち急性運動による神経活動の感受性に変化がみられ、さらに、運動トレーニング後の急性運動時の機能的脳神経回路は新たにリモデリングされる傾向がみられた。また、トレーニング時の運動強度の違いに関

ならず、運動トレーニングによる抗うつ効果が認められ、同時に海馬神経新生の増加もみられた。これらのことから、慢性運動は、急性運動に対する脳内神経活動の適応的变化、海馬神経新生の増加、さらには機能的脳神経回路のリモデリングといった可塑的变化を引き起こし、行動変容に貢献する可能性が示唆された。

#### (4) まとめ

本研究課題開始初年度の28年度は、運動および情動に関連する脳領域(大脳皮質、大脳辺縁系、視床下部、脳幹のそれぞれにおける主要な神経核)を対象とし、異なる運動強度(非運動、低強度運動、高強度運動)および時間(短時間、中程度、長時間)での急性トレッドミル走を用い、運動条件依存的な神経活動および脳領域間の共変動パターンの抽出を試みた。結果として、本研究で試みた新規手法は運動時に賦活化する機能的脳神経回路の探索に有効なツールとなる可能性が示唆された。その結果をもとに29年度は、継続的な運動(慢性運動)によってリモデリングされる機能的脳神経回路と精神機能改善効果について検討を試みた。その結果、継続的な運動は、その強度に関わらず精神機能を改善し、また急性運動時の賦活脳領域の空間パターンおよび機能的脳神経回路を変化させることが示された。これらの結果から、運動時に賦活化する機能的脳神経回路には運動条件依存性が存在する可能性が示唆された。本研究課題の研究期間中の結果では、運動時に賦活する機能的脳神経回路を同定するための方法論が確立されたにすぎず、その機能的脳神経回路の生理学的妥当性、客観性については今後検討していく必要がある。そのためには、当初、目的としていた機能的脳神経回路と解剖学的神経回路の関係性、グラフ理論を用いたネットワークの客観性、神経薬理手法を用いた機能的妥当性などについてさらに検討しなければならない。

本研究のような脳全体(複数領域)の機能的ネットワークを解明しようとするアプローチは、運動による脳機能構造の適応現象(可塑性)のみならず、将来的には様々な精神機能に対する脳の作動原理の探索を可能とするものであると考えられる。

#### 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 2 件)

Nishii A, Amemiya S, Kubota N, Nishijima T, Kita I. (2017) Adaptive changes in the sensitivity of the dorsal raphe and hypothalamic paraventricular nuclei to acute exercise, and hippocampal neurogenesis may contribute to the

antidepressant effect of regular treadmill running in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11: 235 (1-13). 査読有

[doi:10.3389/fnbeh.2017.00235](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00235)

Nishijima T, Kamidozozo, Ishizumi, A, Amemiya S, Kita I. Negative rebound in hippocampal neurogenesis following exercise cessation. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 312: R347-R357. 査読有

doi: 10.1152/ajpregu.00397.2016

##### [学会発表](計 13 件)

石田舞奈、山西 祐、梅原美紀子、西島 壮、北 一郎．幼少期ストレス直後の一過性運動が恐怖記憶形成に及ぼす影響．第 72 回日本体力医学会大会、2017

笠原秀昭、西井愛裕、西島 壮、北 一郎．運動時に賦活する脳神経ネットワークは運動強度によって異なる．第 72 回日本体力医学会大会、2017

森川涼子、白壁麗奈、西井愛裕、相川めぐみ、西島 壮、北 一郎．急性運動による脳内神経活動と抗うつ作用-運動時間と強度の交互作用-．第 72 回日本体力医学会大会、2017

椎葉竜生、森川涼子、西島 壮、北 一郎．運動がラットの向社会的行動とその神経機構に及ぼす影響．第 72 回日本体力医学会大会、2017

船橋大介、武藤直也、北 一郎、西島 壮．マウス体内埋込型の小型活動量計の妥当性の検討．第 72 回日本体力医学会大会、2017

石田舞奈、雨宮誠一郎、西島 壮、北 一郎．既習得学習課題直前のマイルドなストレスは意志決定における「慎重さ」を高める．第 40 回日本神経科学大会、2017

笠原秀昭、森川涼子、椎葉竜生、西島 壮、北 一郎．急性運動がラットのセロトニン及び CRF ニューロンの神経活動とうつ様行動に及ぼす影響：運動の時間と強度の交互作用．第 40 回日本神経科学大会、2017

椎葉竜生、古屋里佳子、山田祥吾、西島 壮、北 一郎．鉄欠乏食と慢性ストレスがラットのうつ様行動と海馬神経新生に及ぼす影響．第 40 回日本神経科学大会、2017

森川涼子、椎葉竜生、白壁麗奈、西井愛裕、相川めぐみ、西島 壮、北 一郎．運動条件の違いによる抗うつ作用とセロトニン神経活動の関連．第 168 回日本体力医学会関東地方会、2016

椎葉竜生、山田祥吾、西島 壮、北 一郎．鉄欠乏食がラットのうつ様行動と海馬神経新生に及ぼす影響．第 71 回日本体力医学会大会、2016

森川涼子、西井愛裕、霜田麻奈、西島 壮、北 一郎：運動強度の異なる慢性トレッドミル走が視床下部室傍核の感受性、海馬神経新生及びうつ様行動に及ぼす影響。第 71 回日本体力医学会大会、2016

椎葉竜生、森川涼子、西島 壮、北 一郎：オキシトシン経鼻投与は求心性迷走神経を介して摂食抑制及び視床下部室傍核オキシトシンニューロンの c-Fos 発現を引き起こす。第 39 回日本神経科学大会、2016

森川涼子、椎葉竜生、西島 壮、北 一郎：運動時間及び強度の違いがラットのセロトニン及び CRF ニューロンの神経活動とうつ様行動に及ぼす影響。第 39 回日本神経科学大会、2016

〔図書〕(計 1 件)

北 一郎(単著) 山と溪谷社、脳と体がよみがえる！リズム深呼吸。2017、192

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.comp.tmu.ac.jp/sport/personal/kita/kita.html>

<http://www.tmu-hps.jp>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

北 一郎 (KITA, Ichiro)

首都大学東京・人間健康科学研究科・教授  
研究者番号：10186223

### (2)研究分担者

西島 壮 (NISHIJIMA, Takeshi)

首都大学東京・人間健康科学研究科・准教授  
研究者番号：10431678