

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17795

研究課題名(和文) ストレス脆弱動物におけるストレスの少ない運動条件とその神経基盤の解明

研究課題名(英文) Lower-stress exercise conditions for a stress-susceptible mice strain and the neural basis

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) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高ストレス感受性のBALB/cマウスでは、強制トレッドミル走運動(TR)がストレスである一方、回転ホイール自発運動(WR)は非ストレスであり、その調節に視床下部室傍核(PVN)や内側前頭前野(mPFC)が関係するという仮説を検証した。BALB/cマウスに30分の低・高強度TRまたは低強度TRと同距離のWRを行わせ、血中ストレスホルモン濃度とPVN神経活動(c-fos陽性細胞数)の変化を解析した。TRは運動強度に関係なくストレスホルモンの分泌を促進し、PVNを活性化したが、WRではこの変化はみられなかった。この結果は本研究の仮説を支持する。今後は詳細な脳機構の解明が課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般的な動物を用いた先行研究では、運動強度が運動時のストレス反応の決定因子となることが示されており、中強度を境に、中強度未満の軽い運動ではストレス反応の亢進が起らず、中強度以上の高強度運動によってストレス反応の亢進が起こることが報告されている。一方、本研究は、ストレス感受性の高い個体では、強制(受動的)な運動は強度に関係なくストレスとなるが、自発(能動的)な運動は非ストレスであることを示している。この結果は、運動をストレスとして受容するか否かが個体の特性によって左右され、ストレス高感受性の個体にストレスなく運動を処方する場合には能動的な運動実施の働きかけが重要となることを示唆する知見である。

研究成果の概要(英文)：This study tested a hypothesis that forced treadmill running (TR), but not voluntary wheel running (WR), induces stress responses in BALB/c mice having a stress-vulnerable, and that the stress responses may be mediated by the neural activity of paraventricular nucleus (PVN) and/or medial prefrontal cortex (mPFC). The mice performed TR at low-, or high-intensity for 30-min, or performed WR, in which the running distance is equated to the low-intensity TR condition. The changes of stress hormone in blood at pre-, and post-exercise, and the neural activity (numbers of c-fos-ir cells) of PVN were investigated. We found that TR increased the secretion of stress hormone and activated the PVN regardless of its intensity, and that the stress related changes were not shown in WR. These results support our hypothesis, although the future study is required to further delineate the regulatory neural mechanism.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：運動様式 BALB/cマウス ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

記憶や不安行動の調節に関わる海馬の神経可塑性の向上には、ストレスを伴う運動より、ストレスフリーな運動が有効である。一般的な動物 (C57BL マウスなど) では、運動強度が運動ストレスの決定因子となることが示されており、中強度 (乳酸閾値、LT) を境に、LT 未満の低強度運動ではストレス反応が惹起されず、LT 以上の中～高運動ではコルチコステロン (CORT) の分泌促進や視床下部室傍核 (PVN) の活性化といったストレス反応が亢進されることが報告されている。一方、ストレス感受性が高く、不安様行動を示しやすい BALB/c マウスでは、運動条件とストレス反応の関係やその神経基盤に関して詳細な検討がなされていない。そのため、BALB/c マウスにとってストレスが少ない運動条件、すなわち海馬の可塑性向上が期待される運動条件は不明である。

BALB/c マウスを用いた先行研究では、(1)一般的な動物でストレスとならない低強度 (<LT) のトレッドミル走運動 (TR) でも CORT の分泌が促されること、(2) 輪回し走運動 (WR) が「やる気」の座として知られる側坐核 (NAcc) を活性化すること、すなわち WR が前向きな運動であることが報告されている。またストレス調整に関しては、生体にストレス刺激が加わっても、それが自己制御可能な場合には内側前頭前野 (mPFC) によるストレス緩衝が起こることが報告されている。

これらの知見は、ストレス感受性が高い BALB/c マウスにとって TR はたとえ低強度であったとしてもストレスとなる一方、前向きに組める WR はストレスが少ない条件である可能性を示している。また、この時のストレス反応の調節には PVN、NAcc、mPFC といった領域の神経活動の違いが関係している可能性がある (仮説)。

2. 研究の目的

BALB/c マウスでは中強度の目安となる LT が TR のどの程度の速度に存在するか報告されていない。そこで本研究では、まず BALB/c マウスの LT を同定し、その後、この LT を基準にして、低強度 (<LT) または高強度 (>LT) の TR と WR (低強度 TR と走行距離を揃えた条件) が BALB/c マウスの血中 CORT 濃度、PVN、NAcc、mPFC の神経活動に与える影響を検討することにより、上記の作業仮説を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために、雄性 BALB/c マウスを用いて以下の実験を行った。

BALB/c マウスの LT の同定

トレッドミルでの走行に順化させるために 10 日間の走行学習を行った後に、頸静脈カニューレ留置術を施した。2～3 日間の回復の後、5 m/min から開始して、3 分ごとに 2.5 m/min ずつ速度を増加させる漸増負荷 TR をオールアウトまで行わせた。次の速度に移行する直前に採取を行い、血中乳酸値の変化を YSI 2300 で解析した。Two-segmented regression analysis により、血中乳酸値が急激に上昇する点 (LT) を同定した。

低・高強度の TR と WR が BALB/c マウスの血中 CORT 濃度および PVN、NAcc、mPFC の神経活動に与える影響の検討

10 日間の走行学習後に、すべてのマウスに外頸静脈カニューレ留置術を施した。2～3 日間の回復の後、BALB/c マウスに 30 分間の安静 (Sed) 低強度 TR (10 m/min、<LT)、高強度 TR (25 m/min、>LT)、WR を行わせた。WR は自発的な運動であるため、回転ホイールの回転数をオンタイムでモニタリングし、低強度 TR の走行距離に達した時点で運動を終了させた。各条件の運動前、運動直後、運動 90 分後の 3 点で採血を行い、運動 90 分後の採血が終わった後に深麻酔下で脳を摘出した。ラジオイムノアッセイで血中 CORT 濃度を、免疫組織化学染色で神経活動マーカーの一つである c-Fos を同定し、c-Fos 陽性細胞数から各領域の神経活動の変化を解析した。

4. 研究成果

実験 と について、研究期間内に以下の結果を得た。

Two-segmented regression analysis の結果、BALB/c マウスでは、漸増負荷 TR 中に血中乳酸値が急激に増加する速度は、20～22.5 m/min 付近に存在し、平均は 21.85 m/min であることが明らかになった。これは、BALB/c マウスの TR 時の中強度がおおよそ 21.85 m/min に相当することを示している。本研究では、この結果を基準に、低強度 (<LT) を 10 m/min、高強度 (>LT) を 25 m/min に設定して、実験 を行った。

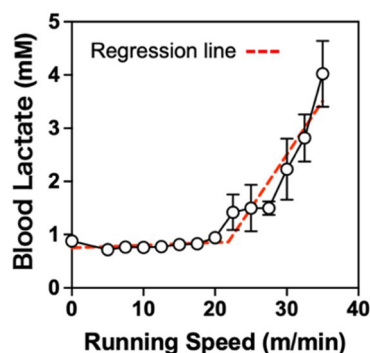
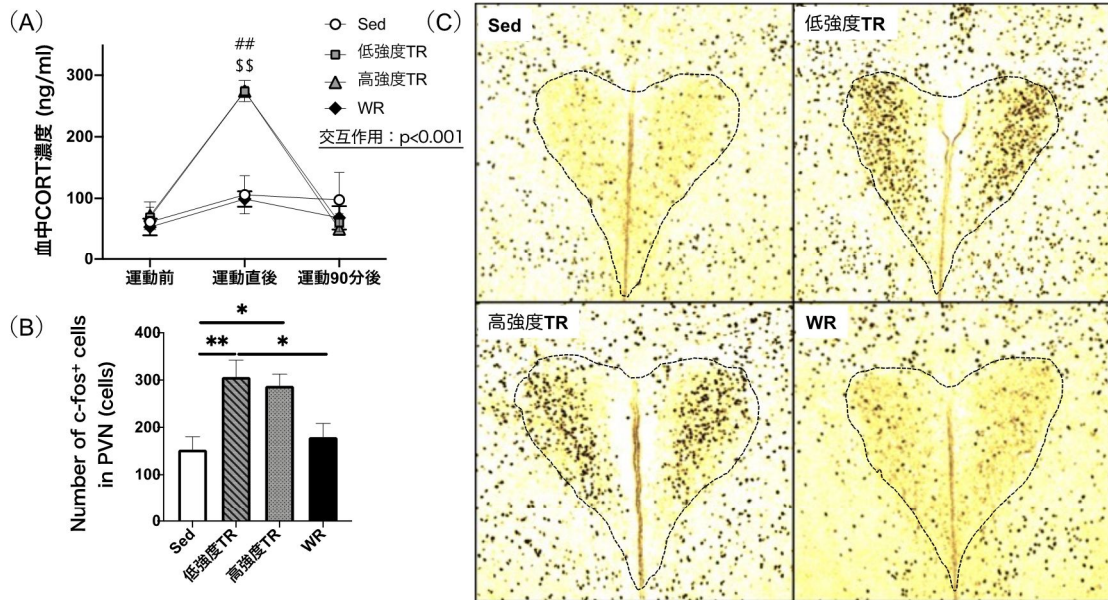


図1 漸増負荷運動中の血中乳酸値の変化

Data: Mean ± S.E. (n=5)

Sed に比べ、低強度 TR と高強度 TR の両群で運動直後の血中 CORT 濃度の有意な上昇が認められ、運動前と 90 分後では変化はみられなかった。c-Fos 陽性細胞数も Sed と比べて両運動群で有意な増加が認められた。一方、WR 群ではこれらの変化はみられなかった (図 2)。NAcc と mPFC の神経活動の変化は検討できていないものの、これらの結果は、本研究の仮説を支持し、TR は運動強度に関係なくストレス反応を惹起する一方、WR はストレス反応を惹起しないことを示している。



【図2】実験②の結果

Data: Mean \pm S.E. Sed; n=6, 低強度TR; n=7, 高強度TR; n=6, WR; n=6

$p < 0.01$; sed vs 低強度TR at 運動直後, \$\$ $p < 0.01$; sed vs 低強度TR at 運動直後 (Two-way ANOVA, Bonferroni)

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (One-way ANOVA, Tukey)

(A) 血中CORT濃度の変化、(B) PVNのc-fos陽性細胞数の変化、(C) PVNのc-fos陽性細胞の写真 (点線内がPVN解析領域、黒い点が陽性細胞を示す)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okamoto Masahiro, Mizuuchi Daisuke, Omura Koki, Lee Minchul, Oharazawa Akihiko, Yook Jang Soo, Inoue Koshiro, Soya Hideaki	4. 巻 -
2. 論文標題 High-intensity Intermittent Training Enhances Spatial Memory and Hippocampal Neurogenesis Associated with BDNF Signaling in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/cercor/bhab093	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上恒志郎、明戸真央、佐藤小春、瀬川明莉、竹内和輝、吉田晋、山口明彦、森田勲
2. 発表標題 低強度走運動トレーニングがストレス脆弱動物の不安・うつ用行動に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上恒志郎
2. 発表標題 記憶固定化に対する一過性低強度運動の有用性とその分子基盤の検討
3. 学会等名 ARIHHPヒューマン・ハイ・パフォーマンスフォーラム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上恒志郎
2. 発表標題 記憶の固定化を増強する運動強度と神経回路の探索
3. 学会等名 ARIHHPヒューマン・ハイ・パフォーマンスフォーラム2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上恒志郎、山口明彦、森田勲
2. 発表標題 一過性中強度運動による海馬CA1を介した記憶固定化促進に関わる脳部位
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上恒志郎、福家健宗、山口明彦
2. 発表標題 異なる強度の一過性トレッドミル走運動がBALB/cマウスのストレス反応に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上恒志郎、山口明彦、秋月茜
2. 発表標題 北海道マラソンの完走タイムやペースに対する30kmペース走の有効性の検討
3. 学会等名 日本体育・スポーツ・健康スポーツ学会第71回大会
4. 発表年 2021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
---------	---------