

令和 5 年 5 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19707

研究課題名（和文）運動によるストレスレジリエンス獲得の分子・神経メカニズム解明

研究課題名（英文）Molecular and neural mechanisms of stress resilience mediated by running exercise

研究代表者

内田 周作（Uchida, Shusaku）

京都大学・医学研究科・特定准教授

研究者番号：10403669

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：心理・社会ストレスは、ストレス抵抗性・回復力や記憶・認知などの高次脳機能を低下させることで精神疾患の発症リスク増大につながると想定されている。一方、適度な運動は記憶形成に重要な脳海馬領域を活性化すること、低中等度のうつ病患者に対しては、運動療法が有効である可能性が示唆されている。しかし、運動トレーニングがストレスレジリエンスを獲得する脳内メカニズムはいまだに不明である。本研究課題では、申請者が独自に確立した妥当性の高いうつ病モデルマウスを用いて、独自に見出したエピジェネティクス制御分子に着目することで、運動によるストレスレジリエンス獲得の分子・神経メカニズム解明をめざした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの運動と脳機能との関連研究の最大の問題点は、“現象論の記述”に留まっていることであり、運動トレーニングがストレスレジリエンスを獲得する脳内メカニズムはいまだに不明であった。本研究では、この問題点を克服するために、申請者が独自に確立した妥当性の高いうつ病モデルマウスを用いて、独自に見出したエピジェネティクス制御分子に着目することで、運動トレーニングによるストレスレジリエンス獲得の分子・神経メカニズムの一端を明らかにした。得られた成果は、運動による健康維持・増進の理解につながるだけでなく、ストレス性精神疾患の予防法や治療法の開発に資する可能性が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Psychological and social stress is assumed to increase the risk of developing mental illnesses by impairing higher brain functions such as stress resistance, recovery, memory, and cognition. On the other hand, moderate exercise has been shown to activate the hippocampal region of the brain, which is important for memory formation, and exercise therapy has been suggested to be effective for patients with mild to moderate depression. However, the brain mechanisms by which exercise training acquires stress resilience are still unclear. In this research project, the applicant aims to clarify the molecular and neural mechanisms of stress resilience acquisition by exercise by focusing on epigenetic regulatory molecules that they have independently identified using their own highly valid depression model mice.

研究分野：神経科学

キーワード：ストレス うつ レジリエンス 運動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年のストレス社会を背景に、うつ病に代表される精神疾患患者が増加し、社会問題となっている。また、コロナ禍による生活・労働環境の激変による運動不足がもたらす心身の消耗が指摘されている。心理・社会ストレスは、ストレス抵抗性・回復力(レジリエンス)や記憶・認知などの高次脳機能を低下させることで精神疾患の発症リスク増大につながると想定されている(Krishnan and Nestler, 2008; Uchida et al., 2018)。

一方、適度な運動は記憶形成に重要な脳海馬領域を活性化すること(Stranahan et al., 2006)、低中等度のうつ病患者に対しては、運動療法が有効である可能性が示唆されている(Krogh et al., BMJ Open, 2017)。しかし、これまでの運動と脳機能との関連研究の最大の問題点は、“現象論の記述”に留まっていることであり、運動トレーニングがストレスレジリエンスを獲得する脳内メカニズムはいまだに不明である。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究課題では、我々が独自に確立した妥当性の高いうつ病モデルマウスを用いて、独自に見出したエピジェネティクス制御分子に着目することで、運動トレーニングによるストレスレジリエンス獲得の分子・神経メカニズムの解明を目的とした。得られた成果は、運動による健康維持・増進の理解につながるだけでなく、ストレス性精神疾患の予防法や治療法の開発に資する可能性が期待できる。

我々はこれまでに、BALB/c マウスは閾値下の軽度ストレス負荷においてうつ様行動を示し、参照系統として知られる C57BL/6J マウスに比べてストレス脆弱性を有していることを見出した(Uchida et al., 2011; Higuchi et al., 2016; Abe-Higuchi et al., 2016; Sakai et al., 2021; Inaba et al., 2023)。すなわち、遺伝環境相互作用に起因する、ヒトにおけるうつ病発症メカニズムに即した妥当性の高いモデルとしての有用性が期待できる。また、このうつ病モデルマウスならびにうつ病患者において、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC4 と HDAC2)の発現・機能異常を見出している(Uchida et al., 2011; Higuchi et al., 2016; Hobara et al., 2010)。一方、ストレス脆弱性マウスを運動トレーニング(wheel running)に供したところ、ストレスレジリエンスを獲得すること、運動トレーニングによるレジリエンス獲得のメカニズムとして、mPFCにおけるHDAC4の機能変容を見出している。

そこで本研究では、「運動トレーニングは、内側前頭前野領域におけるHDAC4を介した遺伝子発現制御機構を変容させることで神経可塑性に寄与し、レジリエンスを獲得する」という仮説を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス

8週齢の雄性・雌性BALB/c(BALB)マウスを使用した。餌と水は自由摂取させ、12時間の明暗周期下で飼育した。動物使用に伴い、本学における動物実験指針及び動物実験規則等の指針に示される基準に適合することを確認し、当該委員会による使用許可を得た。

(2) 慢性ストレス負荷

オスマウスに軽度慢性社会性敗北ストレス(smSDS)を負荷した(Funayama et al., 2022; Inaba et al., 2023)。テストマウスを攻撃性の高いCD1マウスと5分間同居させ(肉体的

ストレス) その後一晩、ケージ内に仕切りを置き直接接触できないようにした(心理ストレス)。これを5日間あるいは10日間連続して行った。メスマウスに対しては慢性予測不能ストレスを3週間負荷した。

(3) 行動評価

Social interaction test: はじめて接触するマウスと5分間同一ケージにいれ、相手マウスとの接触時間を測定した。

Sucrose preference test: 水ボトルと1.5%スクロース液の入ったボトルをマウスに提示し、4時間での飲料水を計測した。スクロース液を飲んだ割合をSucrose preference (%)として算出した。Sucrose preferenceはアンヘドニアの症状の1つとされている。

(4) 遺伝子発現解析

マウスから内側前頭前野領域を取り出し、総RNAを抽出した。総RNAを用いた逆転写PCR反応によりcDNAを調整し、SYBR Green Master Mixを用いたリアルタイムPCR法にて目的mRNA発現量を定量解析した。内在性コントロールにはGAPDH mRNAを使用した。

(5) 統計解析

2群間比較にはunpaired t-testを、3群以上の比較にはOn-way ANOVAあるいはtwo-way ANOVAを使用した。有意差が認められた場合には、Bonferroni correctionあるいはTukey's post-hoc test分析を行った。p値が0.05未満を有意と判定した。

4. 研究成果

(1) 内側前頭前野(mPFC)はストレスレジリエンスに関わる

ストレス脆弱性マウスのmPFC神経細胞を薬理遺伝学的手法(hM3Dq DREADD)により人為的に活性化させ、レジリエンスを獲得するかを検討した。その結果、mPFCを活性化させたマウスはsmSDS負荷後も社交性の低下やアンヘドニア症状を示すことなく、ストレスレジリエンスを獲得していた。

(2) 運動トレーニングによるストレスレジリエンス獲得にはmPFC活性化が必要である

運動トレーニング(wheel running)施行マウスのmPFC神経細胞を薬理遺伝学的手法(hM4Di DREADD)に抑制させた際にストレスレジリエンスが消失するかを検討した。その結果、mPFC神経細胞を抑制させたマウスにおいて、運動トレーニングによるストレスレジリエンスが消失していた。この結果から、mPFCの機能が運動トレーニングによるストレスレジリエンス獲得に重要であることが示唆された。

(3) 分子メカニズムの解析: HDAC4機能抑制

mPFC特異的HDAC4機能抑制マウスを作製し、神経可塑性評価として神経細胞スパイン密度を、行動評価としてストレスレジリエンスを獲得するかを検討した。その結果、ドミナントネガティブ型HDAC4過剰発現マウスはストレスを負荷しても行動変容やスパイン密度低下といったストレス感受性に関連する表現型を示さなかった。

(4) 分子メカニズムの解析: HDAC4機能獲得

mPFC特異的HDAC4機能亢進マウスを作製し、運動トレーニング(wheel running)による神経細胞スパイン密度の変化とストレスレジリエンス獲得が消失するかを検討した。その結果、恒常的活性化型HDAC4過剰発現マウスは運動トレーニングを施行しても社交性の低下、アンヘドニア様行動、スパイン密度低下といったストレス感受性を示した。

以上の結果から、運動によるストレスレジリエンスにはHDAC4を介した遺伝子発現制御が重要であることが示唆された。

これまでの運動と脳機能との関連研究の最大の問題点は、”現象論の記述”に留まっていることであり、運動トレーニングがストレスレジリエンスを獲得する脳内メカニズムはいまだに不明であった。本研究では、この問題点を克服するために、我々が独自に確立した妥当性の高いうつ病モデルマウスを用いて、独自に見出したエピジェネティクス制御分子に着目することで、運動トレーニングによるストレスレジリエンス獲得の分子・神経メカニズムの一端を明らかにした。得られた成果は、運動による健康維持・増進の理解につながるだけでなく、ストレス性精神疾患の予防法や治療法の開発に資する可能性が期待できる。

<引用文献>

Abe-Higuchi N, Uchida S, Yamagata H, Higuchi F, Hobara T, Hara K, Kobayashi A, Watanabe Y. Hippocampal Sirtuin 1 Signaling Mediates Depression-like Behavior. *Biol Psychiatry*. 2016 Dec 1;80(11):815-826. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.01.009. Epub 2016 Jan 30. PMID: 27016384.

Funayama Y, Li H, Ishimori E, Kawatake-Kuno A, Inaba H, Yamagata H, Seki T, Nakagawa S, Watanabe Y, Murai T, Oishi N, Uchida S. Antidepressant Response and Stress Resilience Are Promoted by CART Peptides in GABAergic Neurons of the Anterior Cingulate Cortex. *Biol Psychiatry Glob Open Sci*. 2022 Jan 17;3(1):87-98. doi: 10.1016/j.bpsgos.2021.12.009. PMID: 36712563; PMCID: PMC9874166.

Higuchi F, Uchida S, Yamagata H, Abe-Higuchi N, Hobara T, Hara K, Kobayashi A, Shintaku T, Itoh Y, Suzuki T, Watanabe Y. Hippocampal MicroRNA-124 Enhances Chronic Stress Resilience in Mice. *J Neurosci*. 2016 Jul 6;36(27):7253-67. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0319-16.2016. PMID: 27383599; PMCID: PMC6705534.

Hobara T, Uchida S, Otsuki K, Matsubara T, Funato H, Matsuo K, Suetsugu M, Watanabe Y. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res*. 2010 Apr;44(5):263-70. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.08.015. Epub 2009 Sep 19. PMID: 19767015.

Inaba H, Li H, Kawatake-Kuno A, Dewa KI, Nagai J, Oishi N, Murai T, Uchida S. GPCR-mediated calcium and cAMP signaling determines psychosocial stress susceptibility and resiliency. *Sci Adv*. 2023 Apr 5;9(14):eade5397. doi: 10.1126/sciadv.ade5397. Epub 2023 Apr 5. PMID: 37018397; PMCID: PMC10075968.

Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature*. 2008 Oct 16;455(7215):894-902. doi: 10.1038/nature07455. PMID: 18923511; PMCID: PMC2721780.

Sakai Y, Li H, Inaba H, Funayama Y, Ishimori E, Kawatake-Kuno A, Yamagata H, Seki T, Hobara T, Nakagawa S, Watanabe Y, Tomita S, Murai T, Uchida S. Gene-environment interactions mediate stress susceptibility and resilience through the CaMKII β /TARP β -8/AMPA pathway. *iScience*. 2021 May 2;24(5):102504. doi: 10.1016/j.isci.2021.102504.

PMID: 34113835; PMCID: PMC8170005.

Stranahan AM, Khalil D, Gould E. Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. *Nat Neurosci*. 2006 Apr;9(4):526-33. doi: 10.1038/nn1668. Epub 2006 Mar 12. PMID: 16531997; PMCID: PMC3029943.

Uchida S, Yamagata H, Seki T, Watanabe Y. Epigenetic mechanisms of major depression: Targeting neuronal plasticity. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2018 Apr;72(4):212-227. doi: 10.1111/pcn.12621. Epub 2017 Dec 26. PMID: 29154458.

Uchida S, Hara K, Kobayashi A, Otsuki K, Yamagata H, Hobara T, Suzuki T, Miyata N, Watanabe Y. Epigenetic status of Gdnf in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron*. 2011 Jan 27;69(2):359-72. doi: 10.1016/j.neuron.2010.12.023. PMID: 21262472.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kawatake-Kuno Ayako, Murai Toshiya, Uchida Shusaku	4. 巻 14
2. 論文標題 The Molecular Basis of Depression: Implications of Sex-Related Differences in Epigenetic Regulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	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) 10.3389/fnmol.2021.708004	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 -

1. 著者名 Kawatake-Kuno Ayako, Murai Toshiya, Uchida Shusaku	4. 巻 15
2. 論文標題 A Multiscale View of the Mechanisms Underlying Ketamine's Antidepressant Effects: An Update on Neuronal Calcium Signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	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) 10.3389/fnbeh.2021.749180	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 -

1. 著者名 Funayama Yuki, Li Haiyan, Ishimori Erina, Kawatake-Kuno Ayako, Inaba Hiromichi, Yamagata Hirota, Seki Tomoe, Nakagawa Shin, Watanabe Yoshifumi, Murai Toshiya, Oishi Naoya, Uchida Shusaku	4. 巻 -
2. 論文標題 Antidepressant Response and Stress Resilience Are Promoted by CART Peptides in GABAergic Neurons of the Anterior Cingulate Cortex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological Psychiatry Global Open Science	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) 10.1016/j.bpsgos.2021.12.009	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 -

1. 著者名 Fuentes Ileana, Morishita Yoshikazu, Gonzalez-Salinas Sofia, Champagne Frances A., Uchida Shusaku, Shumyatsky Gleb P.	4. 巻 15
2. 論文標題 Experience-Regulated Neuronal Signaling in Maternal Behavior	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	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) 10.3389/fnmol.2022.844295	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 該当する

1. 著者名 Shirinian Margret, Chen Chong, Uchida Shusaku, Jadavji Nafisa M.	4. 巻 15
2. 論文標題 Editorial: The role of epigenetics in neuropsychiatric disorders	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	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) 10.3389/fnmol.2022.985023	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 該当する

1. 著者名 Inaba Hiromichi, Li Haiyan, Kawatake-Kuno Ayako, Dewa Ken-ichi, Nagai Jun, Oishi Naoya, Murai Toshiya, Uchida Shusaku	4. 巻 9
2. 論文標題 GPCR-mediated calcium and cAMP signaling determines psychosocial stress susceptibility and resiliency	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science Advances	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) 10.1126/sciadv.ade5397	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 -

1. 著者名 内田周作	4. 巻 33
2. 論文標題 ストレス感受性制御の脳内分子基盤	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本生物学的精神医学会誌	6. 最初と最後の頁 22-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 内田周作	4. 巻 72
2. 論文標題 運動によるストレスレジリエンス獲得におけるエピジェネティック修飾	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 体育の科学	6. 最初と最後の頁 837-842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shusaku Uchida
2. 発表標題 Epigenetic mechanisms driving synaptic plasticity and affective states under stressful situation
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayako Kawatake-Kuno, Erina Ishimori, Haiyan Li, Yusuke Sakai, Yuki Funayama, Hiromichi Inaba, Naoya Oishi, Toshiya Murai, Shusaku Uchida
2. 発表標題 ケタミン代謝産物による持続的な抗うつ作用の分子神経メカニズム
3. 学会等名 日本神経化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田周作
2. 発表標題 ストレス感受性制御における脳内分子基盤
3. 学会等名 日本精神神経薬理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shusaku Uchida
2. 発表標題 Constructive understanding of the mechanisms underlying psychosocial stress-induced behavioral heterogeneity
3. 学会等名 Molecular and Cellular Cognition Society Asia (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田周作
2. 発表標題 ストレス適応の個体差構築の分子神経基盤
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会
4. 発表年 2022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