

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700609

研究課題名(和文) 幼少期運動によるストレス対処機能の形成メカニズム

研究課題名(英文) Early voluntary exercise prevents decrease in stress vulnerability induced by early life stress

研究代表者

石川 淳子 (ISHIKAWA, Junko)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30570808

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、早期に離乳をされたラットは正常離乳ラットよりもストレスに対して脆弱になるが、早期離乳直後から運動をすることでそれが阻止されることが明らかとなった。また、早期離乳ラットでは、ストレス暴露による内側前頭前野c-Fos陽性細胞の低下と扁桃体基底外側核c-Fos陽性細胞の増加、扁桃体基底外側核の電気刺激による内側前頭前野の順行性応答潜伏延長が認められた。以上のことから、早期離乳によるストレス脆弱性とそれに対する幼少期運動の阻止効果のこのメカニズムには、内側前頭前野と扁桃体基底外側核のストレス応答性とこれら2領域の連携機能が関わっていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Early social isolation increases the risk of developing neuropsychiatric disease due to stress. The present study investigated whether early weaning (EW) could cause decrease in stress vulnerability and dysfunction of medial prefrontal cortex (mPFC) and basolateral nucleus of amygdala (BLA), and whether voluntary exercise during early postnatal period (EW+EX) could prevent changes induced by EW. Electric foot shock increased learned helplessness behavior of EW rats, but not EW+EX rats, as compared to normal weaned (NW) rats. The number of c-Fos positive cells after exposure to open field stress of EW rats was higher in the BLA and lower in the mPFC as compared to NW and EW+EX rats. Excitatory latencies of mPFC neurons to amygdalar stimulation of EW rats were significantly longer than NW rats. These data suggest that EW decreases stress vulnerability due to dysfunction of mPFC and BLA, and which are prevented by voluntary exercise during early postnatal period.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学/身体教育学

キーワード：前頭前野 扁桃体 ストレス 運動

1. 研究開始当初の背景

ストレスにうまく対処することが出来ず、引きこもり、不安障害、うつ病などの情動異常を示す子供・若者が増加しているが、この『ストレス脆弱性』は、幼少期ストレスによって誘発されることが示唆されている (Parfitt et al., Horm Behav, 2007; Uchida et al., J Neurosci, 2010)。

ストレス対処には、ストレスに対する不安・恐怖・怒りなどの情動表出を担う「扁桃体」と、扁桃体を制御する「前頭前野」の連携機能が重要であると考えられている (Correll et al., Biol Psychiatry, 2005; Milad et al, Biol Psychiatry, 2006; Akirav and Plast, Neural Plast, 2007)。このため、幼少期ストレスは、「前頭前野」、「扁桃体」、及び「前頭前野 - 扁桃体間の神経投射」の機能形成に影響を及ぼしている可能性がある。

先行研究により、幼少期ストレスである早期離乳をラットに施すと、新奇環境ストレス下で「多動」を示すこと、セロトニンやノルアドレナリン等のモノアミン神経線維が内側前頭前野と扁桃体基底外側核で特異的に減少することを発見した (Ishikawa & Ishikawa, Neuroscience, 2013)。新奇環境下での多動は、ストレスに対する異常反応であると推測される。また、モノアミンは脳機能の形成や維持に不可欠であるため、早期離乳は、内側前頭前野や扁桃体基底外側核の機能異常を誘発している可能性がある (Yan et al., Brain Res Dev Brain Res, 1997; Hohmann et al., Neural Plast, 2000; Matsukawa et al., Neuroscience, 2003)。一方、早期離乳によるこれらの変化は、幼少期に自発運動をすることで全て阻止されることを発見した。以上のことから、幼少期ストレスによって誘発される『ストレス脆弱性』は、幼少期に運動することで防ぐことができ、また、そのメカニズムにはストレス対処に関わる「内側前頭前野と扁桃体基底外側核の連携機能」が関与していることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、(1)幼少期ストレスである早期離乳によりストレスに対して脆弱になること、(2)早期離乳をしても幼少期に運動をすればそれらを阻止できることを検証し、(3)早期離乳と運動効果のメカニズムを解明す

るために、ストレス対処機能を担う前頭前野と扁桃体の連携機能を検証することである。

3. 研究の方法

本研究では、早期離乳による影響とそれに対する幼少期運動の効果を検証するために、早期離乳ラット (EW)、早期離乳直後から自発運動するラット (EW+EX)、正常離乳ラット (NW)の3群について、ストレス脆弱性と内側前頭前野 - 扁桃体基底外側核間の連携機能を比較検証する。

(1) 動物群作製

実験動物は雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。NW 群は生後 30 日齢に離乳を行い、その後、単独飼育を行った。早期離乳群は生後 14 日齢に離乳を行い、回転式ランニングホイールを取り付けたケージで単独飼育する群 (EW+EX)と、回転不可のランニングホイールを取り付けたケージで単独飼育する群 (EW)に分けた。その後、9~13 週齢の間で下記の試験を行った。

(2) ストレス脆弱性確認のための行動実験

回避不可能な電気ショック(0.8mAの10秒間を60回)を与えた後に、オープンフィールド試験、高架式十字迷路試験、学習性無欲試験を行った。

オープンフィールド試験

直径 60cm で線により 19 ゾーンに区分されている円形オープンフィールドを用いた。ラットをこのオープンフィールドに入れ、5 分間における grooming と rearing の回数、活動量 (尻尾のつけ根と線との交点の総回数)、フィールド中心部での活動割合を評価した。

高架式十字迷路試験

高さ 50cm、各アームの幅と長さがそれぞれ 10cm、45cm の高架式十字迷路を用いた。15 分間におけるオープンアームへの侵入割合と滞在割合を解析した。

学習性無欲試験

床がグリッドになっており、且つ、2部屋に分かれているテストボックスを用いた。音と光の提示 5 秒後に足元にあるグリッドから電流(0.8mA、10 秒間)が流れるが、もう一方の部屋に逃げれば電撃を回避できるようにした。これを 60 回試行し、電撃を回避した回数を評価した。

(3) 内側前頭前野・扁桃体基底外側核ニューロンのストレス応答性評価

ラットを 15 分間新奇環境ストレスに暴露した 1 時間後に脳を 4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定を行った。その後、内側前頭前野と扁桃体基底外側核を含む冠状切片 (40 μ m) を作製し、抗 c-Fos 抗体を用いた免疫染色を行った。解析は、内側前頭前野・扁桃体基底外側核における c-Fos 陽性細胞数を算出した。

(4) 内側前頭前野 - 扁桃体基底外側核間の神経投射機能評価

麻酔下 in vivo 電気生理学的手法で、内側前頭前野の電気刺激に対する扁桃体基底外側核の、扁桃体基底外側核の電気刺激に対する内側前頭前野の神経細胞の順行性・逆行性応答を調べた。解析は、応答を示すための刺激閾値と応答潜時を 3 群間で比較した。

4. 研究成果

(1) ストレス脆弱性評価

オープンフィールド試験における grooming, rearing 回数、活動量は 3 群間で差は検出されなかったが、EW+EX 群は中心部での活動割合が増加していた。高架式十字迷路では 3 群間に差は検出されなかった。一方、EW 群は学習性無欲試験における電気ショック回避回数が減少していたが、EW+EX 群では減少は認められなかった。以上の研究成果より、早期離乳による学習性無欲試験でのストレス脆弱性が確認され、また、早期に離乳されても幼少期に運動をすることで学習性無欲試験でのストレス脆弱性が誘発されないことが解った。

(2) 内側前頭前野、扁桃体基底外側核ニューロンのストレス応答性

新奇環境ストレス暴露による EW 群の c-Fos 陽性細胞は、内側前頭前野で減少と扁桃体基底外側核で増加していた。このことから、早期離乳により、ストレス時における内側前頭前野と扁桃体基底外側核の活動が変化することが確認された。

(3) 前頭前野 - 扁桃体基底外側核の連携機能

内側前頭前野を電気刺激による扁桃体基底外側核の順行性応答・逆行性応答の潜時と刺激閾値には 3 群間で差がなかった。一方、扁桃体基底外側核の電気刺激による内側前頭前野の逆行性応答の潜時と刺激閾値には 3 群間で差がなかったが、順行性応答の潜時が EW 群では長くなっていた。EW 群内側前

頭前野の電気刺激による扁桃体基底外側核の逆行性応答の潜時は長くなっていなかったことから、これはシナプス伝達機能の変化であることが示唆された。

本研究により、幼少期ストレスにより、ストレスに対して脆弱になること、内側前頭前野・扁桃体基底外側核ニューロンのストレス応答が変化すること、扁桃体基底外側核から内側前頭前野への伝達が遅延することが解り、これらは幼少期に運動することで阻止されることが明らかとなった。

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)

Ishikawa J, Ogawa Y, Owada Y, Ishikawa A. Hyperlocomotor activity and stress vulnerability during adulthood induced by social isolation after early weaning are prevented by voluntary running exercise before normal weaning period. Behav Brain Res, 264, 197-206, 2014. doi: 10.1016/j.bbr.2014.02.007. Epub 2014 Feb 15. [査読あり]

Ishikawa K, Yasuda S, Fukuhara K, Iwanaga Y, Ida Y, Ishikawa J, Yamagata H, Ono M, Kakeda T, Ishikawa T.

4-Methylcatechol prevents derangements of brain-derived neurotrophic factor and TrkB-related signaling in anterior cingulate cortex in chronic pain with depression-like behavior. Neuroreport, 25, 226-232. 2014. doi: 10.1097/WNR.000000000000072. [査読あり]

[学会発表](計 2 件)

石川 淳子, 石川 晃教, 美津島 大. 報酬/罰価値の比較評価における前頭前野・扁桃体基底外側核の機能. 第91回日本生理学会大会, 2014年3月18日(鹿児島・鹿児島大学郡元キャ

ンパス)

谷口 洋樹、石川 淳子、美津島 大、海馬
CA1 ニューロンにおける、エピソード前後の発
火活動とリアルタイム変化. 第91回日本生理学
会大会、2014年3月18日(鹿児島・鹿児島大学
郡元キャンパス)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1)研究代表者
石川 淳子 (ISHIKAWA, Junko)
山口大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：30570808

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし