

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350697

研究課題名(和文) 運動による神経新生に報酬系が与える影響の解明

研究課題名(英文) The effect of reward system on neurogenesis and exercise

研究代表者

井之川 仁 (INOKAWA, HITOSHI)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：40285250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：運動は身体活動レベルを保つのみならず、慢性疾患を抑え、更に、中枢神経系に対しても神経新生を促す効果があることが明らかになってきている。加えて、正常な運動の遂行には大脳基底核におけるドーパミンの働きが重要であることが明らかになってきている。またドーパミン放出には日内変動がある可能性が考えられている。そこで、運動による報酬系ドーパミンの働きと概日リズムが神経新生に影響するのか、トレッドミルを用いた自発運動神経新生の関係ならびにドーパミンの概日リズムによる調節の有無を調べた。自発的な運動量と神経新生の関係を免疫染色を用いて解析中である。またドーパミン放出には昼夜差がある傾向が見られた。

研究成果の概要(英文)：It is becoming clear that exercise not only maintains physical activity level but also suppresses chronic diseases and has the effect of promoting neurogenesis in the central nervous system. In addition, it is becoming clear that the function of dopamine in basal ganglia is important for normal movement. It is also considered that there is a diurnal variation in dopamine release. Therefore, we examined whether the dopamine system and circadian rhythm affect neurogenesis, the relationship of spontaneous motor behavior and neurogenesis, and the regulation by circadian rhythm of dopamine. We are analyzing the relationship between spontaneous momentum and neurogenesis using immunostaining. There was also a tendency for dopamine release to have a difference in day and night.

研究分野：神経生理学

キーワード：ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

様々な運動生理学的知見から、適度な有酸素運動は身体活動レベルを保つのみならず、慢性疾患を抑え、更に、中枢神経系に対しても従来は考えられていなかった神経新生を促す効果があることが明らかになってきている (Fiuza-Luces et al, Physiology, 2013)。この神経新生は成熟した脳でも起こり、長期増強などシナプス間の伝達効率の変化のみならず、神経新生による、より柔軟な自己組織化が学習と記憶の根底にあると考えられてきている。齧歯類においては、輪回しによる持続的運動が神経新生を促すことが知られてきており (van Praag et al., PNAS, 1999)。身体活動は身体の健康のみならず脳神経の機能維持に決定的な役割を持つことが予測される。

応募者はこれまで、サルや齧歯類を用いた神経生理学的研究により報酬に基づく行動選択の神経機構を研究してきた。適切な行動の選択には報酬や罰に基づく行動選択が関与しており、大脳基底核の働きが重要であることを見出してきた (Muranishi, Inokawa et al, Exp Brain Res, 2011; Yamada, Inokawa et al, Eur J Neurosci, 2011; Yamada, Inokawa et al, J Neurophysiol, 2013)。持続的な運動はおそらく脳内の報酬系ドーパミンに作用し快という情動を形成し運動を続けさせると同時に様々な脳部位で神経新生を促すと予想される。一方、このような可塑的变化に重要な体内の様々なホルモン分泌や生理機能はサーカディアンリズムと呼ばれる約 24 時間の周期性のなかで高低している。サーカディアンリズムを生み出す脳部位に視交叉上核があり、視床下部を介して生理機能発現をサーカディアンリズムに合わせて調整している。従って、運動と報酬系ドーパミン及び、サーカディアンリズムの適切な連関が神経新生に大きく影響すると考えられ

る。運動による報酬系ドーパミンの働きとサーカディアンリズムが神経新生にどのように影響するのかを解明することは、運動による身体機能の活性化のみならず、脳機能の活性化にもつながるものであり、運動による利益を考える上で意義のある研究であると考えられる

2. 研究の目的

本研究では運動と報酬系ドーパミンおよびサーカディアンリズムとの関連に焦点を当てて以下の点を明らかにしたい。

運動量とドーパミン放出量並びに神経新生量の関係を明らかにする

運動量とドーパミン放出量の関係

運動量を定量的に調節するために小動物用トレッドミル上に慢性固定器で固定したラットを載せトレッドミルを走らせる。運動中にドーパミン濃度はどのように変動するのかを生体内 Fast scan cyclic Voltammetry (FSCV) を用いて経時的にドーパミン量を計測し、運動量の多少とドーパミン放出量関係を明らかにする。

運動量と神経新生の関係

運動量を定量的に調節するために小動物用トレッドミルにラットを載せトレッドミルを走らせる。その後、脳を摘出し免疫染色法により新生した神経の量を計測し、運動量の違いにより神経新生の程度に違いがあるか明らかにする。

報酬系ドーパミンが運動による神経新生に与える影響

ドーパミンの作動薬やドーパミン受容体の阻害薬をシステミックに注射し運動による神経新生に対する影響を調べる。

サーカディアンリズムに合わせた運動と神

経新生の関係

ラットなど齧歯類は輪回し機をケージ内に設置すると輪回し機を自発的に使用して輪回し運動を行う。輪回し機にアクセスできる時間帯を制限し、活動期の夜間にのみアクセスできる場合と明るい昼間にのみアクセスできるようにした場合に神経新生の量に影響があるか調べる

3. 研究の方法

ラットを用い、走運動を定量的に調べるために小型動物用のトレッドミルで走らせる。運動量とドーパミン放出量・神経新生量・サーカディアンリズムとの関連を調べる。

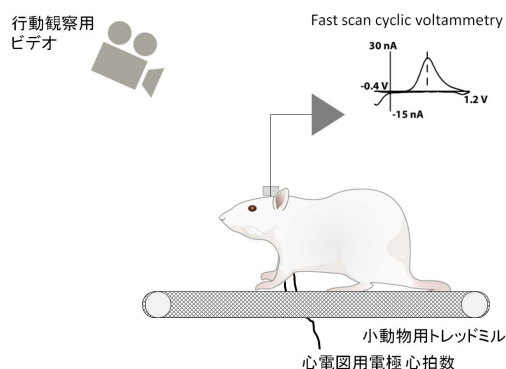
運動量とドーパミン放出の関係の解明

運動中にドーパミン濃度はどのように変動するのかを生体内 Fast scan cyclic Voltammetry (FSCV) を用いて経時的にドーパミン量を計測し明らかにする。FSCV は酸化還元電位を計測するもので、予め既知の濃度のドーパミン中に炭素電極を入れ酸化還元電位をキャリブレーションしておき、脳に電極を刺入しサイン波の電圧を加える事で生じる電位変化を検出し、ドーパミン濃度を測定する。時間的分解能が高く 100ms 毎に計測可能である。

トレッドミル走

小動物用トレッドミル(下図)にて走運動に般化させる。この時に、走運動に適応で

実験セットアップ 模式図



きる動物を選別する。

手術

FSCV ラットにイソフルラン(1.5~2%)で麻酔をかける。脳定位固定装置にラット頭部を固定する。直腸温を計測し体温維持装置で体温を制御。無菌操作下で、頭蓋骨を露出し、目的部位にあった部分の骨に小さな穴を開ける。滅菌した FSCV 用の電極を目的部位に刺入する。電極が正常に作動することを確かめた後レジンで固定する。

術後回復をへて、トレッドミル上での走運動を行わせる。異常がないことを確認し実験を行う。

走スピードとドーパミン放出の関係を調べる。段階的にスピードを上昇させドーパミン放出を測定する。測定部位は現在海馬、線条体、前頭皮質などを候補と考えている。

4. 研究成果

運動量と神経新生の関係

運動量を定量的に調節するために小動物用トレッドミルにラットを載せトレッドミルを走らせる。今回用いたトレッドミルは強制的にベルトが動くものではないため、動物の自発的な歩行行動を発現させることが重要であった。歩行行動の発現は動物間において個体差が大きく、定量的な運動量の差として観察することは困難であった。今後の研究においては動物をトレッドミル上で一定時間自発的に歩行するよう長期間の訓練を行い実施する必要があると考えられた。グループ間での定量性が担保されないが、個々の個体での差と神経新生の関連を調べる必要性もあると考えられる。現在解析を進めている。

運動量とドーパミン放出量の関連性

行動中の動物からドーパミン放出量を記録するために頭部を脳定位固定装置に固定し歩行させた。ポルタンメトリーによりドーパミン濃度測定を試みたが、値が大きく変化することがわかった。この変化が歩行運動を行うために誘発されたドーパミン変動か、歩行による振動ノイズが影響しているのかを検討する必要があることが明らかになった。今回の結果を踏まえ今後の改善点として実験を行う予定である。また、体内時計に基づくドーパミン放出量の調節が行われているかについても検討する必要があることが明らかになった。新たな実験視点として、予備的に記録実験を行うことを考えている。

サーカディアンリズムに合わせた運動と神経新生の関係については、前2項目について想定外のことが起こり、解決に時間がかかったために本申請による研究期間中での実験着手が不可能であった。昼夜にアクセスを制限する輪回し器の制作はそのため中止した。サーカディアンリズムによる動物の行動観察は既に始めているので、研究期間が終了しても実験を継続していきたいと考えている。

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)

1) Characteristics of fast-spiking neurons in the striatum of behaving monkeys.

Yamada H, Inokawa H, Hori Y, Pan X, Matsuzaki R, Nakamura K, Samejima K, Shidara M, Kimura M, Sakagami M, Minamimoto T. *Neurosci Res.* 2016 Apr;105:2-18 査読有り。

2) Effect of Multiple Clock Gene Ablations on the Circadian Period Length and Temperature Compensation in Mammalian Cells. Tsuchiya Y, Umemura Y, Minami Y, Koike N, Hosokawa T, Hara M, Ito H, Inokawa H, Yagita K.

J Biol Rhythms. 2016 Feb;31(1):48-56. 査読有り。

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

井之川 仁 (INOKAWA ・ HITOSHI)

京都府立医科大学 ・ 大学院医学研究科 ・ 講師

研究者番号 : 40285250