

立教大学コミュニティ福祉研究所学術研究推進資金
大学院生研究 2018年度研究成果報告書

研究科名	立教大学大学院 コミュニティ福祉学研究科 コミュニティ福祉学専攻	
指導教員	所属・職名	氏名
	コミュニティ福祉学部	石渡貴之 印
研究課題名	強制運動と自発運動が生理指標、情動行動、脳内神経伝達物質に及ぼす影響の比較	
研究代表者	在籍研究科・専攻・学年	氏名
	コミュニティ福祉学研究科 コミュニティ福祉学専攻・2年次	松長大祐 印
研究期間	2018年度	
研究経費	100千円	

研究の概要 (200~300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

運動を行う上で身体に発生するストレスと情動的なストレスとの関連は、明らかになっていない部分が多い。本研究では運動の様式を自発運動と強制運動に区別しその差異を明らかにすることを目的としている。先行研究において、強制運動では自発運動と比較するとストレスがかかる為、行動テストや脳内神経伝達物質の分析においてポジティブな反応は見られなかったという報告が多い。しかし、強制運動や自発運動による行動と脳内神経伝達物質の関連については明らかになっていない。そこで本研究では、自発運動群、強制運動群、コントロール群の3群を設定し比較した。各運動群の走行距離を統一し、情動行動と脳内神経伝達物質の関連を明らかにした。

キーワード (研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

{ 運動 } { 情動行動 } { 脳内神経伝達物質 }

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)**【研究背景】**

自発運動と強制運動の差異に着目した研究は少なく、情動行動と脳内神経伝達物質の関連は明らかになっていない。先行研究では、細胞の成長や増殖に重要な役割を担う mTOR ニューロンの発現が側坐核において自発運動の方が増加したという報告 (Lloyd et al., 2017) があるが、運動量を統一できていないことが問題点である。運動量を統一した研究では、自発運動の方が海馬の血管新生を促進する (Morgan et al., 2018) こと報告されている。このように自発運動と強制運動といった運動の様式の違いは、同じ運動においても異なった影響を与える可能性がある。

脳内神経伝達物質の違いにおいても同様のことが考えられる。前頭前野、海馬において強制運動では、ノルアドレナリンの主要代謝産物である MHPG が増加し、両運動群ともコントロール群と比較して橋と延髄のノルアドレナリンが増加したという報告がある (Dishman et al., 1997)。しかし、運動と脳内神経伝達物質 (ノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニン) の研究は、2000年代からは、あまり進んでおらず、各物質の脳部位における特異的な反応や作用は明らかになっていない。

また同じように情動行動を測る実験を行っている研究では、自発運動をさせた場合、不安様行動の増加 (Paul et al., 2004) することや、強制運動と比較した場合、自発運動群よりも活動量が低下する (Leasure et al., 2008) ことが報告がされており、統一した見解が得られていない。

【研究目的】

強制運動と自発運動を比較し、生理指標、情動行動、脳内神経伝達物質に及ぼす影響の違いを明らかにする。

【実験方法】

実験には Wistar 系雄ラット 36 匹を用いた。全てのラットは、12h : 12h の明暗周期下で飼育し、水・エサの摂取は自由とし、環境温は $23 \pm 1^\circ\text{C}$ に設定した。自発運動群 (Voluntary : V 群) は、暗期の一時間のみ回転ホイールを与え、自発的運動をさせ、強制運動群 (Forced : F 群) には自発運動群のラットが走行した平均距離を強制運動用の回転ホイールにて走らせた。なお V 群、F 群とも運動は週 5 回行うこととした。以上の環境で一か月間飼育し、その後情動や活動性を測る行動テストと脳内神経伝達物質の分析を行い、コントロール群 (Control : C 群) の 3 群で比較した。

・生理指標

実験を始める前にラットの腹腔内に深部体温と活動量を測定する nanotag (キッセイコムテック) を埋め込む手術を行い、そのデータを読み込むことで深部体温、活動量の変化を分析した。手術ではラットに気化麻酔 (イソフルラン) をかけ、意識が朦朧としているところに三種混合麻酔 (25ml あたりドミトール 1.875ml, ミダゾラム 2ml, ベトルファール 2.5ml) をシリンジで腹腔 2 カ所に、合計 5ml / 体重 (kg) 注入した。麻酔が効いた後は開腹し、nanotag を腹腔内に縫い付けて固定した後、縫合して腹を閉じた。縫合後は麻酔薬と同量の拮抗薬 (メデトミジン) をラットの腹腔内に注入し、ラットを目覚めさせ、手術の成功を確認した。手術後 1 週間は回復期とし、全てのラットを通常条件で飼育した。その後ラットを無作為に自発運動群、強制運動群とコントロール群に分けた。

体温と活動量の測定は 5 分に 1 度計測するように nanotag を設定した。実験終了後はラットを気化麻酔にかけて意識が朦朧としている中、心臓にペントバルビタールナトリウムを注入して安楽死させ、その後開腹して nanotag を取り出した。

・行動テスト : オープンフィールドテスト

ラットを新奇な環境である白い箱の中に放ち、その際の行動から不安様行動を調べるテストである。箱は縦横 75cm × 高さ 50cm で、底を黒いペンで 4 × 4 マスに分けた。測定項目は、中央滞在時間 (中央の 4 マス)、区画移動数で、10 分間の測定を行った。当テストはラットが活発となる暗期 (赤色照明下) で行った。

研究成果の概要 つづき**・脳内神経伝達物質**

それぞれの群のラットを一か月飼育した後、安楽死させ、素早く脳を摘出した。全てのラットの脳摘出は 14:00 ~ 2:00 の暗期の間、光の影響を最小限にするために赤色照明下にて行われた。脳取り出しから脳内神経伝達物質（ノルアドレナリン：NA、ドーパミン：DA、セロトニン：5-HT）の分析までの手順は以下に記した。

摘出した脳をリンゲル液内（リンゲル液 1L あたり NaCl : 8.6g, KCl : 0.30g, CaCl₂ : 0.33g）でマイクロスライサー（PRO7, 堂阪イーアム）にて厚さ 300 μ m の切片を作成し、脳地図（Paxinos & Watson, 1986）と照らし合わせながら、特定の脳部位をマイクロパンチ（BP-10F, Kai medical）で直径 1mm の大きさで取り出した。取り出した試料はマイクロチューブ内でホモジナイザーにて磨り潰し、0.2M 過塩素酸（PCA）160 μ l にて除タンパクを行い、除タンパクを完全にするために冷蔵庫で 30 分以上冷却した。冷却した試料は遠心分離（CF15RX II, Hitachi Koki）（18,800G \times 15 分, 0 $^{\circ}$ C）にかけ、上澄みを採取して 0.45 μ m のフィルター（Millipore, Bedford, MA）で濾過した。最後に 1M 酢酸ナトリウム 40 μ l で pH 調整を行った。

上記の試料は高速液体クロマトグラフィー（HPLC : High Performance Liquid Chromatography, ECD-700 system, エイコム）にて分析を行った。試料内の NA、DA、5-HT を分離する役割を果たすカラムは EICOMPAK SC-50DS（3.0mm id \times 150mm, エイコム）を用いた。分析時に用いる緩衝液（バッファー）は、メタノールの濃度を 17% にした。

脳の分析部位は、NA を合成する青斑核、DA を合成する黒質と腹側被蓋野、5-HT を合成する背側縫線核と正中縫線核の細胞体 5 部位と、認知機能を司る前頭前野、運動調節を司る線条体、体温調節を司る視索前野、内発的な活動を司る側坐核（shell 領域）、ストレス反応を司る室傍核、摂食中枢のある視床下部外側野、満腹中枢のある視床下部腹内側核、自律神経を司る視床下部背内側核、記憶を司る海馬、情動を司る扁桃核といった投射先 10 部位で、計 15 部位である。

【実験結果】**・行動テスト：オープンフィールドテスト**

F 群と V 群の中央滞在時間が C 群と比較して、有意に減少した。区画移動数は、F 群が V 群と C 群と比較して有意に減少した。

・生理指標**(体重)**

飼育期間中、F 群と V 群に差は見られなかった。しかし、飼育から 16 日目から C 群と比較して F 群、V 群の体重が有意に増加した。

(活動量)

自発運動または強制運動を継続して行っても、運動をさせていない時間帯で各群の活動量に差異は認められなかった。また、飼育から 4 週間後の運動を行わない日においても活動量に各群で差はなく、作為的に運動を継続させても運動をさせない日の活動量には影響しないことが分かった。

明期と暗期に分けて分析した結果、明期における両運動群の活動量が有意に減少した。

(深部体温)

一時間ごとの分析の結果、有意に深部体温が変化する時間帯なかった。

明期と暗期に分けて分析した結果、明期における深部体温が C 群と比較して V 群が有意に低下した。

・脳内神経伝達物質

5-HT を合成している細胞体のうち、背側縫線核 (DR) において F 群の 5-HT の含有量が V 群と C 群と比較して有意に減少した。同じく 5-HT の細胞体である正中縫線核 (MR) において有意差は認められなかった。

運動機能や意思決定に関与していると考えられている線条体 (CPU) において F 群の DA の含有量が V 群と比較して有意に減少した。

最後に全体の考察、まとめが欲しいですね。

研究発表 (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

④ 学会発表 (発表タイトル, 発表者名は入れなくて良いですか?)

会名 : Federation of European Neuroscience Societies (FENS)

開催日 : 2018/7/7～7/11

開催場所 : ドイツ (ベルリン)

会名 : 第32回運動と体温の研究会

開催日 : 2018/9/6

開催場所 : アオッサ・ハピリン (福井)

会名 : 第73回日本体力医学会大会

開催日 : 2018/9/7～9/9

開催場所 : アオッサ・ハピリン (福井)