

## 肥満ラットにおける自発運動トレーニングが ストレスに関連した脳内神経活動に及ぼす影響

柳田 信也

東京理科大学理工学部

### Abstract

Throughout the world, obesity has become an increasing health concern due to its being a risk factor of lifestyle disease. Physical exercise is strongly recommended for obese people because it helps to improve lipid metabolism and in turn prevent lifestyle disease. In general, however, it is thought that obese people tend to have a negative impression regarding the performance of physical exercise. It is thus suggested that physical exercise might be detrimental to the mental condition of obese people, in spite of its efficacy in improving physical health. It is well known that mental condition is integrated by brain activity in several regions of the brain. Therefore, it is possible that brain activity related to mental condition in obese people differs from that in the non-obese. In this study, we examined the effects of spontaneous wheel running on the activation of several brain regions related to mental condition in obese (fa/fa) and lean (wild type) Zucker rats.

The Male Zucker rats were housed individually in plastic cages with or without an attached running wheel and were randomly assigned to either physically active or sedentary conditions. Physically active rats were allowed voluntary access to their wheels for 2 weeks. We assessed the expression of c-Fos, the protein encoded by the immediate early gene c-fos, which is well known as a transcription factor and functional marker of neuronal activity. This assessment was performed using immunohistochemistry in various brain regions related to mental conditions, such as the prefrontal cortex, paraventricular nucleus of the hypothalamus, central nucleus of the amygdala, and dorsal raphe nucleus.

Two weeks of spontaneous wheel running did not increase the expression number of c-Fos in all brain regions compared to sedentary conditions in both obese and lean rats. The number of c-Fos immunoreactive cells in specific brain regions was significantly higher in obese rats than that in lean rats. The results of the present study showed that spontaneous wheel running did not enhance c-Fos expression in several brain regions related to mental conditions in both lean and obese rats. The results of the present study, taken together with numerous studies that have shown that spontaneous wheel running, unlike forced exercise, has excellent effects on the maintenance of brain functions, suggest that it is necessary for obese people to have the ability to engage in spontaneous physical activity in their daily lives.

### 1. はじめに

肥満は生活習慣病をはじめとした様々な疾病のリスクファクターとなることから、21世紀の主要な健康課題である。特に先進諸国におけるメタボリックシンドロームの拡大は、肥満に対する適切な治療法や予防法の確立を必要としている。我が国においては、欧米諸国と比べ肥満者の割合は多くないことが統計学的資料によって示されているが、一方で糖尿病などの合併症の発症率が日本人では高い割合であるという説もあり、肥満は我が国においても例外なく対処すべき健康問題であると言える。

肥満の解消に効果的なものとして、一般的に運動療法と食事療法が挙げられる。特に、日常的な運動は、消費カロリーの増大による直接的な体脂肪の減少のみならず、筋量の増加による基礎代謝や安静時代謝の増加などの間接的な効果も有することから、肥満解消方法として広く推奨されている。さらに、特定健診保健指導の実施などによって、肥満解消のために運動を処方される人の数は増加していくことが予想される。肥満の解消、それに伴う生活習慣病の予防といった観点からすれば、この一連の流れに異論は見当たらない。しかしながら、一般的に肥満者は運動に対し嫌悪感や不快感を覚えると考えられ、運動を実施すること自体が精神的に強いストレスとなる可能性は否定できない。実際に、心理学分野における質問紙法を用いた先行研究において、肥満者の心理状態と一定期間の運動による変化を調査した結果、肥満者は日常生活において不安や怒りなどの心理状態に関するスコアが非肥満者よりも有意に高く、充実感などの良好な心理状態に関するスコアが低いこと、さらに、非肥満者は数週間の運動によって心理状態が良好に変化するのに対し、肥満者ではそれらのスコアが変化しないことが報告されている (Nieman et al. 2000, Stewart et al, 2003)。

不安やストレスなどの心理状態の変化は、脳内の多様な神経システムによって制御されている。肥満者が運動時に不快な心理状態に陥るといっているのであれば、肥満者の運動時の脳神経活動は非肥満者と異なることが示唆される。近年、実験動物を用いた研究によって、肥満モデル動物と通常の動物では運動時の神経活動が異なることが実証され始めてきている。Richard らは、レプチン受容体遺伝子の変異による単純性肥満のモデル動物である Zucker fatty ラットにトレッドミル走を行わせ、ストレス反応と関連が深い視床下部のコルチコトロピン放出ホルモン (CRH) 神経における mRNA 発現を非肥満モデルと比較した結果、Zucker fatty の方が有意に高い値を示したことを報告している (Richard et al. 1996)。また、我々もプレリミナリーなデータながら、Zucker ラットに急性 (60 分間) のトレッドミル走を行わせ、ストレスに関連する脳領域の神経活動について免疫組織化学的手法を用いて検討した結果、様々な脳部位の神経活動が非肥満ラット (lean) に比べ肥満ラット (fa/fa) では有意に亢進していることを明らかにしている。これらの研究結果は、実験によって得られたデータからみても、肥満者と非肥満者では運動に対する心理的影響が異なることを示唆している。しかしながら、先行研究においては、運動の条件 (種類・強度・時間など) については全く検討されておらず、これまでに得られている実験結果のみで、肥満が運動による心理的效果に及ぼす影響を決定づけることは難しい。近年、自発運動と強制運動のような運動のモダリティーの違いが、運動時の様々な生理学的反応に及ぼす影響の差異について注目が集まってきている。これまでに動物を用いた実験において、ラットなどのげっ歯類における日常的な自発運動では抑うつや不安症状の改善がみられるが、同程度の期間の強制的な運動を施した場合は、ストレスホルモン過多、副腎の肥大やリンパの萎縮といったストレス反応が引き起こされることが報告されている (Burghardt et al. 2004; Greenwood et al. 2003)。また、我々はラットに 1 時間の自発および強制運動を実施させた際の脳神経活動を比較検討した結果、ストレス反応の中核である視床下部室傍核のコルチコトロピン放出ホルモン (CRH) 神経の活動が、強制運動を行ったラットでは自発運動を行ったラットに比べ有意に亢進しており、さらに CRH 神経の活動を調節するセロトニンやドーパミンなどの神経活動も自発運動と強制運動では異なることを明らかにしてきた (Yanagita et al. 2005, 2007)。これらの結果から、運動に自ら積極的に取り組む場合と、強制的に取り組まされる場合では心理的效果は異なることが強く示唆される。

これまでの Zucker ラットを用いた先行研究においては、トレッドミルを用いてラットに強制運動を施す実験が行われており、自発運動時の肥満ラットの脳内神経活動についてはほとんど報告

されていない。一連の研究成果から考えると、肥満ラットにおいても、心理的効果に関連する脳内神経機構に及ぼす影響は、自発運動と強制運動を行った場合ではその効果を異にする可能性が高いと考えられる。そこで、本研究では単純肥満モデル動物である Zucker ラットを用い、一定期間の自発運動が脳神経活動に及ぼす影響について検討することを目的とした。また、その結果と強制運動によって得られる結果を比較検討することにより、肥満ラットにおける自発運動と強制運動の脳神経機構へ及ぼす影響の差異を明らかにすることも合わせて行った。本研究の結果は、心理的影響も加味したメタボリックシンドロームに対する運動処方、運動療法の確立に大きく寄与するものとなると考えられる。

## 2. 研究方法

### 2.1 実験動物

本研究では、肥満モデル動物として、雄の Zucker fatty ラット (fa/fa) が用いられた。fa/fa は 1961 年 Zucker らによって発見された単純性肥満のモデル動物として、広く実験に用いられている。fa/fa は、レプチン受容体遺伝子の突然変異が元におこるアミノ酸の変異によってレプチンのシグナル伝達が障害されることにより肥満症を発症することがわかっている。さらに、他の肥満モデルと異なり、血糖は正常であり糖尿病を呈さないことから肥満の影響を解析するモデルとしての有用性は高いと考えられている (Zucker 1961, Martin et al. 1986)。非肥満のモデル動物としては、Zucker ラットのワイルドタイプ (lean) を用いた。飼育環境は、12 時間の明暗サイクル (3 時明期開始—15 時暗期開始)、環境温 23°C が保たれた。すべての実験条件は東京理科大学動物実験委員会の規定に基づき行われた。

### 2.2 実験手順

fa/fa および lean ラットそれぞれのうち、半分を control 群とし、残りの半分を自発運動 (WR) 群とする 4 条件を設定した (fa/fa-control, fa/fa-WR, lean-control, lean-WR)。WR 群のラット (fa/fa-WR および lean-WR) は 14 日間、図 1 に示したような自由に運動可能な環境 (ランニングホイール) で一匹ずつ飼育された。飼育中のラットの 1 日の走行量は、ホイールに付属しているデジタル回転数カウンターによって回転数を毎日記録し、その回転数に円周(1.m)をかけた値を 1 日の走行距離として算出した。control 群のラット (fa/fa-control および lean-control) は通常の動物実験で用いられるプラスチックのケージにおいて 2 匹ずつ飼育された。14 日間の飼育の間、毎日すべてのラットの体重が計測された。

14 日間の飼育後、ラットの活動期である暗期開始後 (15 時以降) にペントバルビタールナトリウム(1ml/kg)によって麻酔され、ヘパリン含有生理食塩水を経心臓的に左心室から全身に循環させ、失血後に 4%パラホルムアルデヒド溶液(pH7.4)で環流固定した。その後、脳を摘出し、後固定液に浸し保存した。



図1 ランニングホイール付飼育ケージ

(Activity wheel and Living Chamber, model80859, Lafayette Instrument)

### 2.3 免疫組織化学

後固定の後の脳を、マイクロームによって  $40\mu\text{m}$  の厚さでスライスし、均等に 6 シリーズに分けた。そのうちの 2 シリーズを c-Fos タンパクの抗体によって免疫組織化学的染色のために使用した。免疫染色は我々の先行研究の方法に従い、free-floating 法で行われた (Kita et al. 2006)。染色手順については、まず、切片を 0.1M リン酸緩衝液(PBS)で 5 分ずつ 3 回洗浄し、ペルオキシダーゼ失活のため 1%過酸化水素水に 30 分間浸透した。再び PBS で洗浄した後、0.1%Triton・10%ウマ血清・c-Fos 抗体(rabbit pyclonal IgG/Santa Cruz Biotechnology, Inc)を加えた 0.1MPBS で 14-18 時間インキュベーションした。続いて、0.1%Triton/0.1MPBS(PBS-TX)で 5 分間 3 回洗浄し、0.1%Triton・10%ウマ血清・二次抗体(anti-rabbit IgG from donkey/CHEMICON INTERANTIONAL)を加えた 0.1MPBS で 2 時間インキュベーションした。PBS-TX で同様に洗浄し、アビジン-ビオジン標識酵素複合体(ABC、VECTASTAIN Elite ABC Standard kit、フナコシ)を加えた PBS-TX で 2-4 時間インキュベーションした。その後、PBS-TX で洗浄し、0.5M Tris-HCL・10%ニッケル飽和溶液・0.04%アミノベジン(DAB)溶液内に、1%過酸化水素水を  $0.3\mu\text{l}$  滴下し発色した。染色された切片は、スライドガラスに乗せて数日間乾燥させた後、エタノール・キシレンによって脱水処理し、カバーガラスをかけ乾燥した。その後、脳地図(Paxions and Watson 1998)によって標的脳領域である、前頭前野 (PFC)、視床下部室傍核 (PVN)、扁桃体中心核 (CeA) および背側縫線核 (DRN) が含まれる切片を選定し、光学顕微鏡からコンピューター上に画像を保存し、PFC 以外の脳領域においては発現した c-Fos 陽性細胞数をカウントし (image J, NIH)、定量化した。PFC においては、同様の方法でコンピューター上に画像を保存し、単位面積当たりの c-Fos 陽性細胞数を定量化した (DP2-BSW software, Olympus, Japan)。各脳領域における分析された脳地図上の座標は表 1 の通りである。

表1 脳領域と座標

脳領域名	略号	座標	選択領域
前頭前野	PFC	3.7 to 2.5 from bregma	内側
視床下部室傍核	PVN	-0.8 to -2.1	内側
扁桃体中心核	CeA	-1.7 to -2.6	中心部
背側縫線核	DRN	-7.2 to 7.8	中心部

(The rat brain 5th edition, Paxions and Watson)

c-Fos は核内の最初期発現遺伝子のひとつである *c-fos* 遺伝子からコードされるタンパク質であり、様々な外部刺激により急速かつ一過的に神経活動依存的に誘導されることから、神経活動の指標として一般的に用いられている。図 2 に c-Fos 陽性細胞の典型例を示した。黒い斑点が核内に発現した c-Fos の染色像を示しており、そのように核が染色されている細胞を c-Fos 陽性細胞としてカウントした。

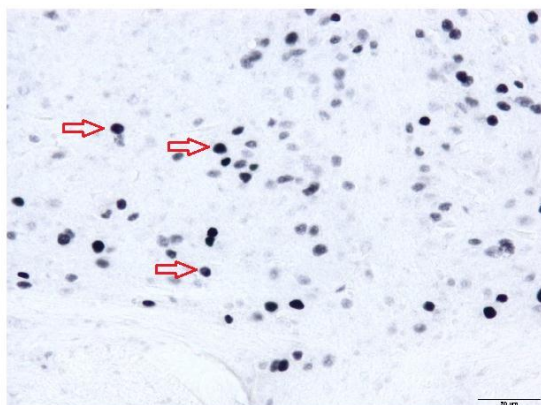


図2 免疫染色されたc-Fos陽性細胞の典型例

矢印が示している場所のような黒い斑点がc-Fos陽性細胞の核を表している。

## 2.4 強制運動実験

肥満ラットにおける自発運動の効果を強制運動（トレッドミル走：TR）時の比較するために、同様の実験条件（fa/fa-control, fa/fa-TR, lean-control, lean-TR）を設定した我々の先行研究のデータを使用した。

## 2.5 統計分析

本研究における実験データの統計解析は、二元配置分散分析（fa/fa-lean、走行条件）によって検定が行われ、有意な主効果が認められた場合には sheffe 法により多重比較検定を行った。また、有意な交互作用が認められた場合には単純主効果の検定によって要因間の検定を行った。結果はすべて平均値と標準誤差で表された。本研究において統計的有意水準はすべて 5%以下とした。

## 3. 実験結果

### 3.1 体重の推移

図 3 に 14 日間の飼育後の各群の平均体重を示した。2 要因（fa/fa-lean、control - WR）の分散分析を行った結果、肥満因子（fa/fa-lean）に有意な主効果が認められた ( $F(1,12)=361.2, p<0.01$ )。多重比較検定によって、運動の有無にかかわらず fa/fa の体重が lean よりも有意に高い値を示していることがわかった ( $p<0.01$ )。さらに、2 要因間に交互作用が認められたため ( $p<0.01$ )、単純主効果検定を行った結果、lean ラットにおいては control 群に比べ WR 群の体重が有意に低い値を示していることが明らかになった ( $p<0.01$ )。

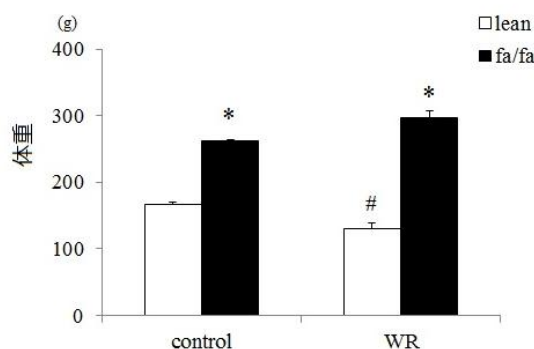


図3 fa/faおよびleanラットの体重の比較

\*:  $p < 0.05$  vs. lean, #:  $p < 0.05$  vs. control

### 3.2 WR群における自発運動量の推移

図4にWR群の14日間の1日あたりの自発運動量の推移を示した。自発運動開始1日目から既にfa/faに比べleanの1日の走行距離が顕著に長く (fa/fa  $525.5 \pm 34.7\text{m}$  vs. lean  $4336 \pm 951\text{m}$ )、その傾向は実験開始から7日間でより顕著になり (fa/fa  $1175.5 \pm 272.7\text{m}$  vs. lean  $14075.5 \pm 1251\text{m}$ )、実験終了の14日まで継続していた (fa/fa  $2298 \pm 796.8\text{m}$  vs. lean  $8580 \pm 348\text{m}$ )。

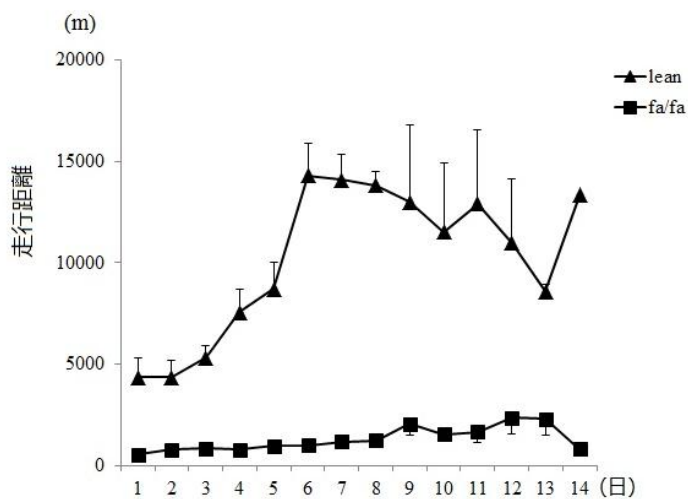


図4 WR群における14日間の走行距離の推移

### 3.3 c-Fos 陽性細胞数 (密度) の比較

図5にPFCにおけるc-Fos陽性細胞の免疫染色像の典型例を示した。赤枠がc-Fos陽性細胞数をカウントした領域を示しており、枠内の面積をコンピューターソフトウェアで計測し、カウントされた細胞数と合わせ単位面積当たりの陽性細胞密度を算出した。2要因 (fa/fa-lean、control -

WR) 間の平均値の比較をするために、二元配置分散分析を行った結果、control 群および WR 群ともに fa/fa の方が陽性細胞数の平均値が高い値を示しているものの、2 要因ともに要因間に有意な差は認められなかった (図 6, fa/fa-lean  $p=0.27$ , control - WR  $p=0.95$ )。また、交互作用も認められなかった。

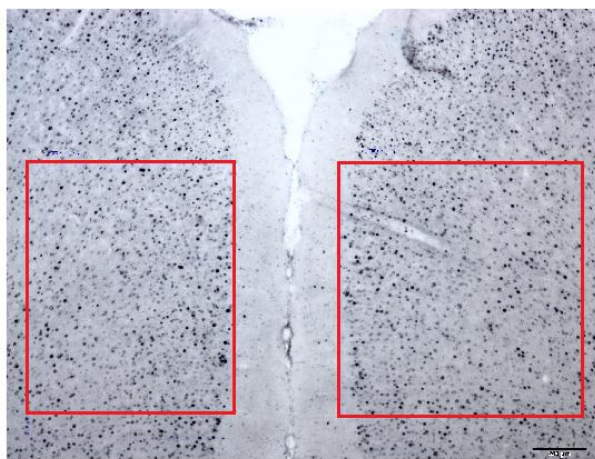


図5 前頭前野 (PFC)におけるc-Fos免疫染色画像の典型例

赤枠内の黒い斑点で示されているc-Fos陽性細胞数をコンピューター上でカウントし、さらに枠内の面積を計測することによって単位面積当たりの陽性細胞密度を算出した。  
scale bar=200 $\mu$ m

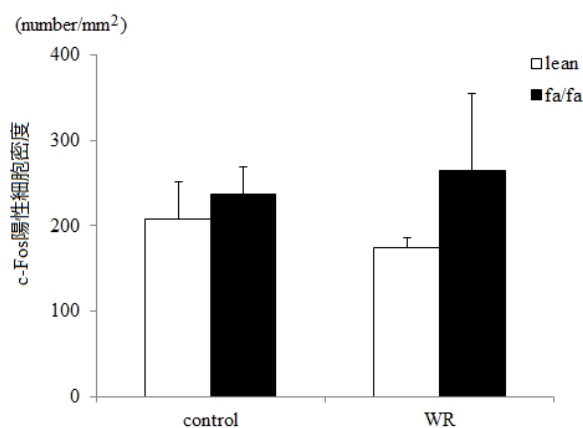


図6 PFCにおけるc-Fos陽性細胞密度

図 7 に PVN における c-Fos 陽性細胞の免疫染色像の典型例を示した。赤枠内に含まれる PVN (蝶の羽のような形) 領域内の c-Fos 陽性細胞数をカウントし、定量化した。2 要因 (fa/fa-lean, control - WR) 間の平均値の比較をするために、二元配置分散分析を行った結果、肥満要因 (fa/fa-lean) において有意な主効果が認められ ( $F(1.12)=16.74$ ,  $p<0.01$ , 図 8)、多重比較検定を行った結果、control 群および WR 群ともに fa/fa の方が lean に比べ有意に c-Fos 陽性細胞数が高い値を示していることがわかった ( $p<0.01$ )。運動要因 (control - WR) については、PVN における c-Fos 陽性細胞数に対して有意な主効果は認められなかった。また、要因間の交互作用も認められなかった。

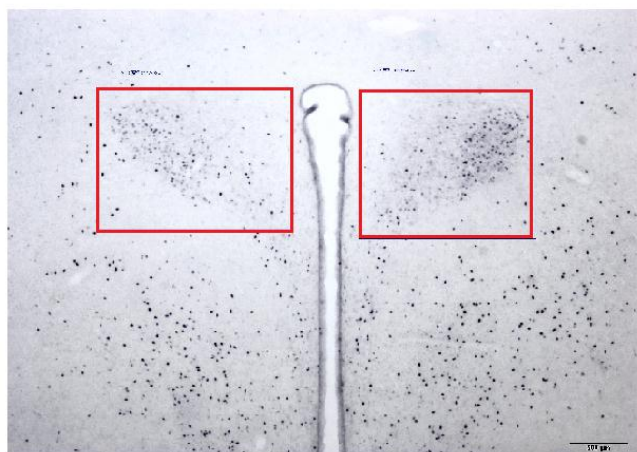


図7 視床下部室傍核 (PVN) におけるc-Fos免疫染色画像の典型例

赤い枠内のPVN内のc-Fos陽性細胞数をコンピュータソフトウェア上でカウントした。  
scale bar=200 $\mu$ m

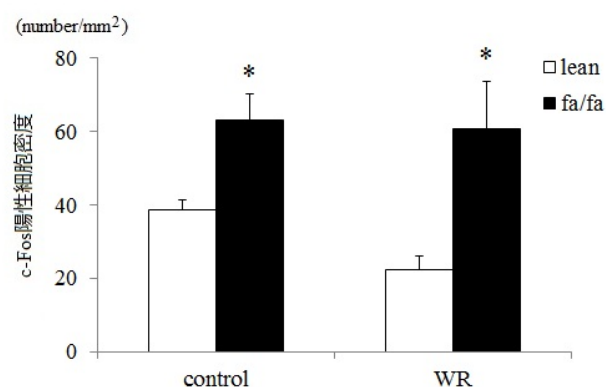


図8 PVNにおけるc-Fos陽性細胞数

\*;  $p<0.01$  vs. lean

図9にCeA、図10にDRNのc-Fos陽性細胞の免疫染色像の典型例を示した。これらの2領域においては、4条件（fa/fa-control, fa/fa-WR, lean-control, lean-WR）すべてにおいて、c-Fos発現はほぼみられず、条件間の差も認められなかった。

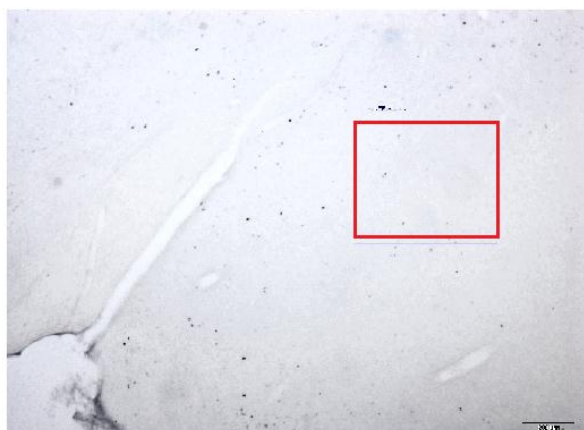


図9 扁桃体中心核 (CeA) におけるc-Fos免疫染色画像の典型例

scale bar =200μm



図10 背側縫線核(DRN)におけるc-Fos免疫染色画像の典型例

scale bar=200μm

### 3.4 自発運動と強制運動実験の比較

本研究の結果と、先行研究における強制運動によって得られた結果を比較検討するために、トレッドミルによる強制運動時のPFC、PVN、CeAおよびDRNにおけるc-Fos発現数を図11に示した。本研究の結果に示されたように、自発運動を行った場合では、運動によるc-Fos発現量の増加は検討された4つの脳部位すべてにおいてみられなかったが、強制運動を行った場合、4つの部位すべてにおいて有意な発現量の増加がみられている。さらに、PFCとDRNにおいてはトレッドミル走によって増加するc-Fos発現量がleanに比べfa/faでは有意に低く、PVNにおいては反対にleanに比べfa/faの方が有意に高い値であることが示されている。このように、強制運動ではleanおよびfa/faに関わらず運動によってストレスに関連する脳領域の神経活動が有意に高められるが、自発運動ではそのような神経活動の亢進はみられないことが明らかとなった。また、強制運動による脳神経活動への影響はfa/faにおいて顕著にみられるが、自発運動の場合においては、このような肥満状態による運動の脳神経活動への影響は少ないということが示され、自発運動と強制運動では肥満ラットにおけるストレスに関連した神経活動の特徴が異なることが明らかになった。

## 4. 考察

本研究では、肥満モデル動物であるZuckerラットを用い、肥満ラットにおける2週間の自発運動トレーニングがストレスに関連した脳内神経機構に及ぼす影響が検討された。

これまでに、心理学分野における質問紙法を用いた先行研究において、肥満者の心理状態と一定期間の運動による変化を調査した結果、肥満者は日常生活において不安や怒りなどの心理状態に関するスコアが非肥満者よりも有意に高く、充実感などの良好な心理状態に関するスコアが低いこと、さらに、非肥満者は数週間の運動によって心理状態が良好に変化するのに対し、肥満者ではそれらのスコアが変化しないことが報告されている (Nieman et al. 2000, Stewart et al. 2003)。



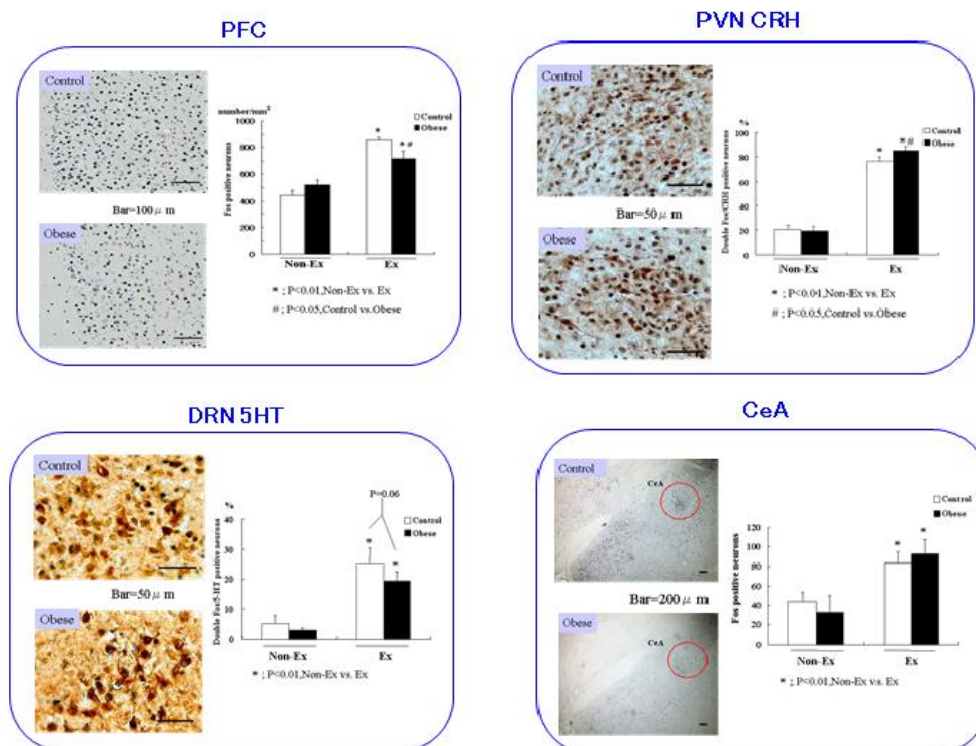


図11 強制運動時のストレスに関連する脳内神経活動の比較

Non-Exは運動なし、Exはトレッドミル走を示す。

controlはleanラット、obeseはfa/faを示す

快、不快などの情動、モチベーションなどの心理状態は中枢神経系によって支配されていることは言うまでもないことであり、“運動をしたくない”という心理が働くのであれば、脳神経系に何らかの変化が起こっていることが予測される。しかしながら、肥満という体組成の特性がこれらの心理的効果の違いを生む脳内メカニズムについてはほとんど報告がなく、運動による心理的効果が肥満者と非肥満者では、なぜ異なるのかについてはこれまでほとんどわかっていなかった。本研究の結果から、自発運動トレーニング後の脳神経活動において、肥満ラットと非肥満ラットの間には有意な差は認められないことが明らかになった。本研究は、肥満ラットと非肥満ラットにおける自発運動が脳神経活動に及ぼす影響を明らかにした初めての研究である。

肥満ラットに対する運動の効果の検討はこれまで主にトレッドミルを用いて行われてきた。我々は、これまでに、Zuckerラット(fa/fa；肥満モデル)と(lean；非肥満)にトレッドミル走を行わせ、運動時の神経活動を心理的变化に関連する様々な脳部位において比較検討し、ストレス反応の中枢である視床下部室傍核のコルチコトロピン放出ホルモン(CRH)神経の活動が、肥満ラットでは非肥満ラットに比べ有意に亢進しており、さらにCRH神経の活動を調節するセロトニン神経や、ストレスの認知判断をする前頭前野内側部の神経活動も肥満と非肥満ラットでは異なることを報告してきた(Yanagita et al. 2005、図11)。これらの結果は、肥満ラットは運動に伴うストレス反応を調整する機能が低く、このことが原因で心理的に負の影響がもたらされている可能性を示唆している。しかしながら、この結果のみで肥満者の運動に対する心理状態を特徴づける

ことは難しいと考えられる。それは、これら一連の研究によって用いられたトレッドミル走は、ラットに運動を強制する要素があり、そのことが運動時の様々な生理反応に影響することが示唆されるからである。Moraska らは、トレッドミル走は体重の減少や筋でのエネルギー代謝効率の上昇など生理学的にポジティブな影響がある一方で、副腎肥大やリンパ節の萎縮、免疫機能抑制などのネガティブな影響ももたらされると報告している (Moraska et al. 2000)。さらに、近年、いくつかの研究において、ラットなどのげっ歯類における日常的な自発運動が抑うつや不安症状を改善するが、同程度の期間の強制的な運動を施した場合はそのような反応がみられないばかりが、様々なストレス反応がみられることが報告されている (Burghardt et al. 2004; Greenwood et al. 2003)。これらの結果が示すように、ラットにおけるトレッドミル走などの強制運動は、それ自体が強いストレス反応をもたらすものであるが、自発運動はストレス緩和など精神的に良好な状態をもたらすものであると言える。強制運動において引き起こされるようなストレスに関連した脳領域における神経活動の亢進が自発運動ではみられないという本研究の結果は、トレッドミルによる強制運動トレーニングを行わせた場合とは大きく異なるものであり、自発運動トレーニングの特徴的な影響であると考えられる。また、本研究の結果は、心理的効果に対する自発運動の有用性は、肥満ラットにおいても高いということを示唆している。

本研究において、ストレス反応の中核である視床下部室傍核 (PVN) の神経活動が運動の有無にかかわらず fa/fa の方が lean よりも高いという結果が得られた (図 8)。この結果は、fa/fa に対してストレス反応を惹起するようなバイアスが加わった可能性を疑わせるものとなるが、この反応はバイアスではなく、fa/fa の PVN 神経活動のベースラインが高いことによるものであると考えられる。Timofeeva らは、in situ ハイブリダイゼーション法を用いて Zucker ラットの PVN における CRHmRNA 発現量を検討しており、fa/fa では lean に比べ発現量のベースラインが高く、食餌制限による発現量の増加も lean よりも高いことを明らかにし、fa/fa の PVN 神経の感受性が高いことを示唆している (Timofeeva et al. 2001; 2002)。本研究のラットにおいても同様な状態が fa/fa においてはみられてのものであると推測される。PVN 神経活動の感受性が高い fa/fa ラットであっても、自発運動を行った場合では PVN の神経活動レベルは lean と変わらないことから、自発運動はストレス反応が非常にマイルドな運動モダリティーであると考えられる。

自発運動ではストレス反応に関連する神経活動の亢進が肥満ラットにおいてもみられないという本研究の結果の解釈を鈍らせる要因がいくつかあると考えられる。まず、lean と比べ fa/fa の 1 日の自発走行量が顕著に低いことである (図 4)。実際に、運動の身体的効果の指標の一つであると考えられる体重の減少は、lean ではみられるものの fa/fa ではみられていない (図 3)。これらのことから、肥満ラットにとって本実験における自発運動は効果をもたらすほどのものではなかった可能性が考えられる。しかしながら、1 日あたりの走行量は lean ほどではないにしても、fa/fa においても少しずつ増加する傾向はみられるため、fa/fa においては 14 日間以上の自発運動を行わせることによって、効果は変化してくるかもしれない。いずれにせよ、14 日間の自発運動では、強制運動を行った時のようなストレス反応に関連した神経活動の亢進がみられないということから考えると、肥満ラットにおける運動の継続的な実施には自発運動が適していると考えられる。さらに、自発運動が適していると考えられながらも、肥満ラットの自発運動量が増えにくいというパラドックスも生まれてしまうため、この問題を解決することが肥満に対する効果的な運動方法の確立においては重要であると言える。

肥満ラットの自発運動量が増えないことに示されているように、肥満ラットが運動を行うことに対して、ネガティブな反応を示すのかについての生体における引き金はこれまでよくわかって

いなかった。近年、Schilder らによって、本来、体重が増加すると骨格筋構成タンパク質、トロポニンが選択的スプライシングによって配列を変化させ荷重の増加に適応するが、肥満ラットにおいては体重が増加しても選択的スプライシングが起らず体重の増加に骨格筋が適応できないことが報告され、これが肥満者の不活動性を生む一因であるという示唆がなされた(Schider et al. 2011)。脂肪組織や骨格筋の特性によって“活動を起こしたくない”という心理が働くのであれば、心理的な変化を統合する脳神経系に対して、末梢組織からの何らかのシグナル伝達が行われていること、もしくは中枢神経系内において脂肪組織や骨格筋の反応をモニタリングする機構があることなどが示唆される。しかしながら、肥満ラットに運動時の中枢と末梢組織のそのような相互作用については、我々の知りうる限りではこれまでにまったくわかっていない。しかしながら、Masuki らによってこの問題の解明に繋がるかもしれないと考えられる非常に興味深い報告がなされている。Masuki らは、循環機能に重要な役割を果たすバソプレッシン V1a 受容体の遺伝子多型が異なる被検者に、ウォーキングトレーニングを行わせた結果、TT 型を持つ群はトレーニング開始時の BMI や血圧が他の群に比べ高値を示しており、さらに TT 群は自発的に身体活動を行う割合が低いことを明らかにした。また、動物実験において、ワイルドタイプのマウスでみられる大脳皮質活動レベルの上昇に比例した血圧反射の抑制が、V1a 受容体をノックアウトしたマウスにおいてはみられず、V1a 受容体は、大脳皮質活動の上昇レベルに応じて、圧反射を抑制することにより、それに続く自発運動に重要な役割を果たしていることを示唆している (Masuki et al. 2009; 2010)。このような研究成果がより発展していくことにより、肥満ラットの自発運動量を増加させる方法を明らかにしていくことで、肥満ラットにおける自発運動の有用性がさらに高まっていくことであると考えられる。

本研究において、肥満ラットにおける自発運動はストレスに関連した脳神経活動を亢進させるものではないことが示され、運動に対して嫌悪感を抱きやすい肥満者が運動を行う場合、自ら積極的に運動に取り組むことが重要であることを示唆する結果となった。本研究の結果から、運動が脳機能、メンタルヘルスに及ぼす影響について新たな知見を得ることが期待され、心の健康を考慮した運動処方への確立に向けた基礎的データを提供するものとなったと考えられる。そのため、学術面での意義があるだけでなく、心の健康問題解決という実践面にも貢献することが期待され、自殺者が年間3万人を超える状況が続き、ストレスや抑うつ、不安など、心の健康が社会問題化していることを鑑みると、時宜にあった研究課題であったと言える。また、体脂肪の減少や筋力の増加といった身体的効果では、運動をするモチベーションとならない人々にとって、本研究の結果は運動習慣を形成する一助となることが予想され、運動習慣者数の増大にも寄与する可能性が考えられる。

## 5. まとめ

本研究において、肥満ラットにおける自発運動は、ストレスに関連した脳領域である前頭前野や視床下部室傍核、扁桃体中心核および背側縫線核の神経活動を亢進させる作用を示さないことが明らかになった。これらの結果は、先行研究において示されている強制運動とは作用を異にするものであり、肥満ラットにおける自発運動はストレスに関連した脳領域の神経活動を亢進させるほどのものではないということを示している。このことは、肥満ラットが運動を行うことにおける自発運動の有用性を高めるものとなったと考え、肥満者に対し運動に自ら積極的に取り組むことの重要性を訴えるものとなった。しかしながら、本研究の結果は神経活動の観点から肥満ラットの特徴を捉えただけのものであり、脳内神経システムの重要な要素である神経伝達物質放出量

や受容体活性、遺伝子発現量などについては未だ不明な点が多く残されている。そのため、肥満ラットの運動時の上記のような観点も踏まえたより詳細な脳内メカニズムの検討が必要であり、更なる研究の発展が望まれる。

#### 謝辞

本研究を遂行するにあたり、財団法人ミズノスポーツ振興財団より多大な研究助成を賜りました。ここに関係各位に対し深く感謝申し上げます。

#### 引用文献

- Burghardt, P., L. Fulk, et al. (2004). "The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats." *Brain Res* 1019(1-2): 84-96.
- Greenwood, B., T. Foley, et al. (2003). "Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons." *J Neurosci* 23(7): 2889-2898.
- Kita, I., Y. Seki, et al. (2006). "Corticotropin-releasing factor neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus are involved in arousal/yawning response of rats." *Behav Brain Res* 169(1): 48-56.
- Masaki, S. and H. Nose (2009). "Increased cerebral activity suppresses baroreflex control of heart rate in freely moving mice." *The Journal of physiology* 587(Pt 23): 5783-5794.
- Masaki, S., M. Mori, et al. (2010). "Vasopressin V1a receptor polymorphism and interval walking training effects in middle-aged and older people." *Hypertension* 55(3): 747-754.
- Martin, R.J., Harris, R.B., et al. (1986). "Evidence for a central mechanism of obesity in the Zucker fatty rat (fa/fa)." *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 183-1-10.
- Moraska, A., T. Deak, et al. (2000). "Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279(4): 1321-1329.
- Nieman, D., W. Custer, et al. (2000). "Psychological response to exercise training and/or energy restriction in obese women." *J Psychosom Res* 48(1): 23-29.
- Schilder, R. J., S. R. Kimball, et al. (2011). "Body weight-dependent troponin T alternative splicing is evolutionarily conserved from insects to mammals and is partially impaired in skeletal muscle of obese rats." *The Journal of experimental biology* 214(Pt 9): 1523-1532.
- Stewart, K., K. Turner, et al. (2003). "Are fitness, activity, and fatness associated with health-related quality of life and mood in older persons?" *J Cardiopulm Rehabil* 23(2): 115-121.
- Timofeeva, E. and D. Richard (2001). "Activation of the central nervous system in obese Zucker rats during food deprivation." *J Comp Neurol* 441(1): 71-89.
- Timofeeva, E., F. Picard, et al. (2002). "Neuronal activation and corticotropin-releasing hormone expression in the brain of obese (fa/fa) and lean (fa/?) Zucker rats in response to refeeding." *Eur J Neurosci* 15(6): 1013-1029.
- Richard, D., R. Rivest, et al. (1996). "Expression of corticotropin-releasing factor and its receptors in the brain of lean and obese Zucker rats." *Endocrinology* 137(11): 4786-4795.
- Yanagita, S., S. Amemiya, et al. (2007). "Effects of spontaneous and forced running on activation of hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurons in rats." *Life Sci* 80(4): 356-363.
- Yanagita, S., S. Suzuki, et al. (2005). "Acute treadmill running strongly activates stress-related neuronal systems in obese rats." *Advances in Exercise and Sports Physiology* 11(4S): 170.

Zucker, LM., Zucker, TF. (1961). "Fatty, a new mutation in the rat. "J. Hered. 52:275-278.