

高脂肪食摂取や運動トレーニング介入が情動性に及ぼす影響

—ランウェイテストによる評価—

富賀 裕貴¹⁾, 高橋 佑莉²⁾, 吉村 咲紀¹⁾, 後藤 里奈¹⁾, 釘本 郁美¹⁾
上原 吉就²⁾, 川中 健太郎²⁾, 田中 宏暁²⁾, 檜垣 靖樹²⁾

Effects of high fat diet and exercise training on affective behaviors measured by
runway test.

Yuuki TOMIGA¹⁾, Yuri TAKAHASHI²⁾, Saki YOSHIMURA¹⁾, Rina GOTO¹⁾, Ikumi KUGIMOTO¹⁾,
Yoshinari UEHARA²⁾, Kentaro KAWANAKA²⁾, Hiroaki TANAKA²⁾, Yasuki HIGAKI²⁾

Abstract

Mood disorders are among the most prevalent forms of mental illnesses world-wide, caused by changes in the dietary and exercise habits. To explore the mechanisms underlying high fat diet-induced mood disorders and exercise-induced anxiolytic effects, behavioral tests have been used to measure emotional behavior such as anxiety and depression in animal models. The runway test is one of the behavioral test paradigm. It is a simple and easy method to assess emotional behaviors. We previously reported that enriched environment (EE) increases total traversed number measured by the runway test in aged animals. This finding indicated that EE improved emotional behaviors, and has some anxiolytic effects. The purpose of this study was to examine the effect of the effect of high fat diet and, high fat diet and exercise intervention on emotional behaviors measured by the runway test. We also investigated whether behavioral parameters of the runway test correlates with those of elevated plus maze (EPM) test, which is a widely used behavioral assay for rodents. Male C57BL/6J mice were randomly assigned to the standard diet (SD), HFD, or HFD combined with exercise (HFD+Ex) group for 12 weeks. HFD+Ex mice were housed in voluntary wheel running cages for the final 6 weeks of the experiment. Here, we showed that total traversed number in the runway test were significantly increased in HFD+Ex mice compared with that of HFD mice. Although HFD partially decreased traversed number in middle of runway, total traversed number in HFD mice was comparable to that of SD mice. There is a positive correlation between the runway and EPM test parameter in SD mice, but not in HFD or HFD+Ex mice. Taken together, the present study indicated that emotional behaviors measured by the runway test were improved by exercise intervention in HFD mice. While, there were some differences between emotional behaviors measured by the runway test and anxiety-like behavior measured by the EPM test.

1) 福岡大学大学院スポーツ健康科学研究科

Graduate School of Sports and Health Science, Fukuoka University, Fukuoka, Japan

2) 福岡大学スポーツ科学部

Faculty of Sports and Health Science, Fukuoka University, Fukuoka, Japan

【背景】

近年、我が国における精神疾患を有する患者数は390万人を超え、社会的な問題になっている。そのうち躁うつ病を含む気分障害を有するものはおよそ113万人であると報告されており⁽²⁶⁾、このような気分障害は、現在も増加の一途をたどっている。うつ病や不安障害の発症原因には不明な点が多く残されているが、多様なストレス要因が複雑に絡み合って発症することからストレス関連疾患ともいわれている⁽¹⁶⁾。気分障害は自殺の主要因となることから、これらの予防・改善は、社会的に重要な課題である。

気分障害の発症原因の一つとして、近年の食生活や運動習慣の変化が挙げられる。西洋型の食生活に伴う肥満は、世界規模で拡大しており、様々な疾患のリスクとなることは既によく知られている⁽⁵⁾。これまでの研究から、肥満は、脂肪組織⁽¹⁾や骨格筋⁽⁸⁾といった末梢組織だけでなく、脳のような中枢神経にも重要な影響を及ぼすことが明らかとなってきた。近年の疫学調査によると、過体重と海馬容積との間に負の相関関係が認められること⁽³⁾、また西洋型の食生活は海馬容積を減少させることが報告されている⁽¹⁰⁾。特に、西洋型の食習慣は、うつ病や不安障害といった精神疾患とも関連することが明らかにされている⁽¹¹⁾。一方で習慣的な運動は、肥満の有効な改善策の一つとしてよく知られているが、それだけでなく、こころ・脳の健康維持増進に効果的であるというエビデンスが報告されている。ヒトを対象とした研究では、運動トレーニングは、高齢者の海馬容積を増加させ、海馬依存性学習・記憶を改善することが明らかにされている⁽⁴⁾。動物実験からも、運動は、海馬の脳由来神経栄養因子や (brain-derived neurotrophic factor; BDNF)^(14,21)、神経新生を増加させ⁽¹⁴⁾、抗不安効果をもたらすことが報告されている⁽⁷⁾。しかしながら、食生活や運動習慣が気分障害にどのように関与しているのか、その機序については、未だ不明な点が多く残されている。

このような気分障害の発症原因や予防・改善方

法の探索のために、実験動物を用いた不安水準といった情動性の測定や抗不安薬の薬効評価は、様々な行動学的手法によって試みられている。代表的な手法として、高架式十字迷路 (elevated plus maze; EPM) テストがある。EPM テストは、1955年に学習・記憶の測定に用いるために開発された高架式 Y 字迷路試験を応用して、Pellow ら⁽¹⁹⁾により1985年に報告されたものであり、行動科学的研究において情動性の評価のために広く用いられている。また、ランウェイテストは、実験動物 (ラット) の情動反応をより簡便に測定するために、藤田⁽²⁷⁾により考案されたものである。これらの行動学的手法は、それぞれの特徴を有している。EPM テストは、好奇心のような接近行動と、恐怖・不安のような回避行動に基づく接近-回避型モデルである。一方でランウェイテストは、安全な地下の巣穴での生活や、餌・水を得るためには外敵のいる危険で不安・恐怖を覚える地表へ出なければ生き延びることができないという、ラットの自然生態状況をシミュレートしたモデルである。したがって、これらの行動学的手法は、その特徴や性質を十分に理解した上で用いることが重要である。

ランウェイテストにおける情動性の重要な評価指標は、ランウェイ装置内の総通過区画数である。Fujita et al.⁽⁶⁾は、総通過区画数を基準とした選択交配実験から、情動性の高い系統と (Tsukuba High-Emotional Rat: THE)、低い系統を確立した (Tsukuba Low-Emotional Rat: TLE)。THE の総通過区画数は極めて低い一方で、TLE のそれは高い値を示す⁽¹³⁾。また、マウスを用いた実験では、選択交配により得られた高活動系マウスでは総通過区画数が高く、低活動系マウスでは低いことが報告されている⁽⁹⁾。我々はこれまで、藤田のラット用ランウェイ装置⁽²⁷⁾をマウス用に改変し、高齢マウスの豊かな環境介入 (enriched environment; EE) での飼育は、ランウェイテストにおける総通過区画数を増加させることを報告した⁽²³⁾。したがって、ラットとマウスのどちらにおいても、ランウェイテストの総通過区画数の増加は情動性の低下を、総通過区画数の減少は情動性の増加を示していると考えられる。

このようにランウェイテストは、情動性の評価に有用である可能性が示されてきた。しかしながらこれらの報告では、選択交配により得られた活動性の異なる動物系統間での検証しかなされておらず、ランウェイテストが食生活や運動習慣による情動性の変化を評価できるかどうかは明らかではない。本研究の目的は、高脂肪食摂取及び運動トレーニングがランウェイテストにより評価される情動性に及ぼす影響を明らかにすることとした。

【方法】

1. 被験動物

被験動物は C57BL/6J マウス (4 週齢, 雄性: 日本エスエルシー) を用いた。マウスは、福岡大学教育研究施設・附置研究所アニマルセンターの飼育室 (室温 $23.5 \pm 0.7^\circ\text{C}$, 湿度 $34 \pm 5.7\%$, 明暗期サイクル A.M. 8:00 点灯 -P.M. 8:00 消灯の 12 時間サイクル) にて飼育した。なお本研究は、福岡大学動物実験委員会の承認を得て実施された。

2. 高脂肪食及び運動トレーニング

2 週間の馴化期間の後、マウスは無作為に標準食 (standard diet; SD) 群, 高脂肪食摂取 (HFD) 群, 高脂肪食摂取及び運動トレーニング (HFD+Ex) 群の 3 群に分類した。SD 群 ($n=6$) は、標準食 (CE-7, Clea Japan, Tokyo, Japan; 14 % fat) を、HFD 群 ($n=7$) は高脂肪食 (HFD-32, Clea Japan, Tokyo, Japan; 57 % fat) を 12 週間の実験期間の間摂取した。HFD+Ex 群 ($n=8$) は、12 週間の実験期間中、高脂肪食を摂取し、そのうち後半 6 週間は、回転ホイールによる自発走行運動を行った。HFD 及び HFD+Ex 群は、どちらも回転ホイール付きのケージで飼育し、HFD+Ex 群のみ回転ホイールに自由にアクセスできるようにした。

3. 行動テスト

高脂肪食摂取あるいは運動トレーニング介入の短期間及び長期間の効果を検証するため、ランウェイテストと EPM テストによる情動性の評価は、12

週間の実験期間のうち、介入開始から 2, 6, 7, 12 週目に実施した。マウスへのストレスを考慮し、ランウェイテスト, EPM テストの順で実施した。すべてのテストは、明期である 13:00 及び 17:00 の間に実施した。各装置における照度は照度計により設定し、ランウェイ装置スタートボックスを 0 ルクス, ランウェイ装置走路及び EPM を 80 ルクスとした。嗅覚による影響を避けるため、それぞれのテストを実施する前に、すべてのテスト装置は、70% (v/v) エタノールで消毒し、乾燥させた。

3.1. ランウェイテスト

ランウェイテストは、以前の我々の報告と同様の手順で実施した⁽²²⁾。ランウェイテスト装置は、暗いスタートボックスと、明るいランウェイから構成され、その間はギロチンドアで隔てられた。ランウェイは、スタートボックスに近い箇所から順に A, B, C, D, E の 5 つのセクションに区切られた。マウスをスタートボックスに配置した 30 秒後にギロチンドアを開放し、その後マウスは装置内を自由に行動した。マウスの行動はビデオカメラにより 5 分間記録され、(1) 総通過区画数, (2) セクションごとの通過区画数, (3) セクションごとの滞在時間, (4) 排泄数, (5) のぞき潜時, (6) 出発潜時, (7) E セクション潜時を手動で計測した。

3.2. 高架式十字迷路 (EPM) テスト

高架式十字迷路テストは、先行研究の方法に従って実施した⁽¹⁷⁾。EPM テスト装置は 2 本のオープンアームと ($W \times L = 5 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$), 2 本のクローズドアーム ($W \times L = 5 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$, with 15-cm-height walls) から構成され、中心のプラットフォームで繋ぎ止められ、床下から 40cm の高さに設定された。マウスは、個体ごとに、オープンアームの方向を向くように中央に配置され、その後 5 分間、自由に探索行動を行わせた。マウスのすべての行動は、ビデオカメラにより記録され、(1) 総アーム侵入回数, (2) オープンアーム侵入回数, (3) オープンアーム侵入率, (4) オープンアーム滞在時間, (5) クローズドアーム滞在時間を手動で計測した。アーム内へ

四肢のすべてが侵入した時をアームへの侵入として定義し、カウントした。

4. 統計

2群間の比較には、対応のないt検定を用いた。3群間の比較には一元配置の分散分析を用い、主効果が得られた時、ボンフェローニの多重比較検定を用いた。ランウェイの総通過区画数とEPMテストの測定項目間の相関関係の検定にはピアソンの積率相関係数の検定を用いた。すべての統計は、5%未満の危険率を有意水準とし、統計解析ソフトPrism version 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA)を使用した。

【結果】

HFD+Ex群における一日当たりの平均走行距離は、 4.6 ± 1.1 kmであった。総通過区画数は、2週間のHFD摂取によって変化しなかった(図1A)。SD群と比べ6週間のHFD摂取により減少傾向を示した($p=0.05$, 図1B)。しかしながら、7および12週間のHFD群の総通過区画数は、SD群と同等の値であった、(図1C, D)。介入7週目のHFD+Ex群における総通過区画数は、3群間で有意な差を認めなかった(図1C)。しかしながら、HFD+Ex群における介入12週目の総通過区画数は、HFD群と比べて有意に高値を示した($p<0.05$, 図1D)。

続いて、ランウェイテストの通過区画数を、A, B, C, D, Eセクションごとに分類し評価した。2週間のHFD摂取では、SD摂取と比べて差は認められなかったが(図2A)、6週間のHFD摂取により、Bセクションにおいて減少傾向を示し($p=0.08$)、Cセクションにおいて有意な減少が認められた($p<0.05$, 図2B)。HFD+Ex群における通過区画数は、SDおよびHFD摂取と比べ、介入7週目ではSセクション、12週目ではAセクションにおいて有意に増加した($p<0.05$, 図2C)。

また、各セクションにおけるマウスの滞在時間を計測したところ、介入2週目のHFD群において有意な低値を示したが($p<0.05$, 図3A)、その他の

行動テスト実施時期及び、各群間において統計的に有意な差は認められなかった。覗き潜時、出発潜時、Eセクション潜時は、実験時期及び各群間において統計的な差は認められなかった(表1)。

EPMテストにおける総アーム侵入回数、及び総アーム侵入回数、オープンアーム滞在時間は、3群間で差は認められなかった(表2)。オープンアーム侵入率は、HFD群と比較し、HFD+Ex群において増加する傾向が($p=0.06$, 表2)、クローズドアーム滞在時間が減少する傾向が認められた($p=0.07$, 表2)。

ランウェイテストにおける総通過区画数とEPMテストにより計測した総アーム及びオープンアーム侵入回数、オープンアーム侵入率、オープンアーム及びクローズドアーム滞在時間との関連を検証した。SD群において、総通過区画数と、総アーム侵入回数($r=0.43$)、オープンアーム侵入回数($r=0.51$)、オープンアーム侵入率($r=0.52$)、オープンアーム滞在時間($r=0.42$)の間に有意な正の相関関係が認められた($p=0.05$, Fig.4A-D)。総通過区画数とクローズドアーム滞在時間の間には、有意な負の相関関係が認められた($r=-0.45$, $p=0.05$, Fig. 4E)。HFD群において、総通過区画数と総アーム侵入回数の間には有意な正の相関関係が認められたが($r=0.57$, $p=0.01$, Fig.5A)、その他の項目との間に相関関係は認められなかった(Fig.5B-E)。一方で、HFD+Ex群においては、総通過区画数とオープンアーム侵入率($r=-0.59$)及びオープンアーム滞在時間($r=-0.59$)の間に有意な負の相関が認められた($p<0.05$)。

【考察】

本研究では、ランウェイテストを用いて、高脂肪食摂取及び運動トレーニングが情動性に及ぼす影響について検証した。本研究における主要な知見は、(1) 12週間の高脂肪食摂取と6週間の運動トレーニングの併用は、総通過区画数を増加させること、及び(2) ランウェイテストによる総通過区画数とEPMテスト項目の相関関係は、各群により異なることであった。これらの結果は、高脂肪食摂

取中の運動トレーニングは抗不安効果をもたらすこと、また、高脂肪食摂取や運動が情動性に及ぼす影響は、ランウェイテストと EPM テストの間で、部分的に異なることを示唆している。

ランウェイテストの結果、滞在時間、覗き潜時、出発潜時、Eセクション潜時は、各実験時期及び各群間において統計的に顕著な差は認められなかった。通過区画数は、ランウェイテストにおけるもっとも重要な情動性の指標であることが報告されており⁽⁹⁾、これは、移動活動量や新規場面における探索行動を反映していると考えられている。本研究の結果、実験開始から2週目では、SD群とHFD群の間で総通過区画数に差はなかったが、6週目に減少傾向が認められた。その後HFD+Ex群は運動併用を開始し、7週目(運動併用1週間)では運動が総通過区画数に及ぼす効果は認められなかったが、12週目(運動併用6週間)では、運動による増加が認められた。すなわち、運動による情動性の改善には、長期的な介入が必要であることを示している。さらに、各セクションの詳細な通過区画数と滞在時間を計測した結果、滞在時間には差が認められないにも関わらず、通過区画数は、運動の併用による増加が観察された(Fig.1D)。これらの結果は、マウスがランウェイ装置内を、より素早く移動していることを示しており、情動性が低下しているとみなすことができる。この結果は、高齢マウスをEEで飼育した我々の先行研究の結果とも類似している⁽²³⁾。

先行研究では、3週間のHFD摂取は、顕著な体重増加を引き起こすが、マウスの不安様行動には影響を与えないことが報告されている⁽¹⁸⁾。しかしながら一方では、1週間のHFD摂取は、うつ様行動や、新規対象物への趣向性が低下することも報告されている^(12,20)。また、Mizunoyaら⁽¹⁵⁾は、魚油摂取と比較し、わずか3日間のみラード摂取が不安様行動を低下させることを報告している。これらの知見は、HFD摂取が脳機能に及ぼす影響は、摂取期間や食餌中の脂質の組成、うつや不安、新規対象物趣向性など、行動テストの評価項目により異なることを示唆している。これに対して、運

動が気分障害の改善に有効であることはすでによく知られており⁽⁷⁾、本研究においても運動併用による情動性の改善が観察された。我々の先行研究では、本研究と同様の運動プロトコルは、骨格筋におけるミトコンドリアマーカーであるクエン酸合成酵素活性を1.48倍増加させることを報告した⁽²⁴⁾。したがって、本研究における運動の効果は、特に有酸素性の運動による効果であることが示唆された。また先行研究では、運動はそれ単体の効果に加え、HFD摂取と併用した際には、HFD摂取による海馬のシグナル伝達低下の結果を正常に戻すことが報告されている⁽²⁾。本研究では、総通過区画数は、HFD摂取の影響を受けず、運動介入により増加した。このことから、ランウェイテストによる情動性の評価という点では、運動介入は、HFDによる脳機能低下を正常に戻すというよりも、運動による脳機能向上をもたらすことが示唆された。

総通過区画数は、ランウェイテストにおける最も信頼性の高い測度であることから^(28,29)、動物の不安様行動評価の行動テストとして広く用いられているEPMテスト評価項目との関連を検証した。EPMテストによる抗不安効果は、オープンアームへの侵入回数や滞在時間を指標として評価される^(19,25)。本研究の結果、SD群におけるこれらの指標及びクローズドアーム滞在時間とランウェイテストにおける総通過区画数の間には相関関係が認められた。しかしながら、HFD群及びHFD+Ex群ではこのような関連は認められなかった。したがって、ランウェイテストにおける総通過区画数は、通常飼育のマウスにおいては不安様行動をある程度反映していると考えられるが、HFDを摂取したマウス(HFD及びHFD+Ex群)においては、不安様行動の指標として用いるには注意が必要であることを示唆している。またこれらの結果は、

まとめると、ランウェイテストを用いて情動性を評価した結果、HFD+Exマウスの総通過区画数は増加したことから、運動は、HFD摂取マウスの情動性を低下させ、活動性を増加させることが示された。また、ランウェイテストの総通過区画数とEPMテスト評価項目の関連を検討した結果、通常

飼育マウスにおいては両者の間で相関関係が認められたが、HFD 摂取及び運動併用マウスでは相関関係は認められなかった。これは、HFD 摂取や運動が脳機能へ及ぼす影響が多様であることや、ランウェイテストで評価される情動行動と、EPM テストで評価される不安様行動の間には、違いがあることを示している。本研究の結果から、ランウェイテストは、動物モデルの情動性を評価し、気分障害の発症原因や予防・改善メカニズムの解明のために有用である可能性が明らかとなった。しかしながら同時に、これらの結果を正確に解釈するために複数の行動テストバッテリーを用い、包括的に情動性を評価することの重要性が示唆された。

【引用文献】

1. Abel ED, Peroni O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hadro E, Minnemann T, Shulman GI, Kahn BB. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature* 409: 729–733, 2001.
2. Cai M, Wang H, Li J-J, Zhang Y-L, Xin L, Li F, Lou S-J. The signaling mechanisms of hippocampal endoplasmic reticulum stress affecting neuronal plasticity-related protein levels in high fat diet-induced obese rats and the regulation of aerobic exercise. *Brain Behav Immun* 57: 347–359, 2016.
3. Cherbuin N, Sargent-Cox K, Fraser M, Sachdev P, Anstey KJ. Being overweight is associated with hippocampal atrophy: the PATH Through Life Study. *Int J Obes (Lond)* 39: 1509–14, 2015.
4. Erickson KI, Voss MW, Shaurya R, Basak C, Szabo A. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Hippocampus* 108: 3017–3022, 2011.
5. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander Hoorn S, Murray CJ. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet* 360: 1347–1360, 2002.
6. Fujita O, Annen Y, Kitaoka A. Tsukuba high-emotional and low-emotional strains of rats (*Rattus norvegicus*) - an overview. *Behav Genet* 24: 389–415, 1994.
7. Fulk LJ, Stock HS, Lynn A, Marshall J, Wilson MA, Hand GA. Chronic Physical Exercise Reduces Anxiety-Like Behavior In Rats. *Int J Sport Med* 25: 78–82, 2004.
8. Hayashi T, Wojtaszewski JF, Goodyear LJ. Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *Am J Physiol* 273: E1039-51, 1997.
9. Hosokawa H, Makino J. Behavior of high and low active strains of mice in the runway. *Tsukuba Psychol Res* 17: 29–35, 1995.
10. Jacka FN, Cherbuin N, Anstey KJ, Sachdev P, Butterworth P. Western diet is associated with a smaller hippocampus: a longitudinal investigation. *BMC Med* 13: 215, 2015.
11. Jacka FN, Pasco JA, Mykletun A, Williams LJ, Hodge AM, O’ Reilly SL, Nicholson GC, Kotowicz MA, Berk M. Association of Western and traditional diets with depression and anxiety in women. *Am J Psychiatry* 167: 305–11, 2010.
12. Kaczmarczyk MM, Machaj AS, Chiu GS, Lawson MA, Gainey SJ, York JM, Meling DD, Martin SA, Kwakwa KA, Newman AF, Woods JA, Kelley KW, Wang Y, Miller MJ, Freund GG. Methylphenidate prevents high-fat diet (HFD)-induced learning/memory impairment in juvenile mice. *Psychoneuroendocrinology* 38: 1553–1564, 2013.
13. Kitaoka A, Fujita O. Behavioral comparisons of the Tsukuba Emotional strains of rats (*Rattus norvegicus*) in three types of novel situations. *Behav Genet* 21: 317–325, 1991.
14. Kobil T, Liu Q-R, Gandhi K, Mughal M, Shaham Y, van Praag H. Running is the neurogenic and neurotrophic stimulus in environmental enrichment. *Learn Mem* 18: 605–609, 2011.
15. Mizunoya W, Ohnuki K, Baba K, Miyahara H, Shimizu N, Tabata K, Kino T, Sato Y, Tatsumi R, Ikeuchi Y. Effect of dietary fat type on anxiety-like and depression-like behavior in mice. *Springerplus* 2: 165, 2013.

16. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron* 34: 13–25, 2002.
17. Nishijima T, Llorens-Martín M, Tejada GS, Inoue K, Yamamura Y, Soya H, Trejo JL, Torres-Alemán I. Cessation of voluntary wheel running increases anxiety-like behavior and impairs adult hippocampal neurogenesis in mice. *Behav Brain Res* 245: 34–41, 2013.
18. Ohland CL, Kish L, Bell H, Thiesen A, Hotte N, Pankiv E, Madsen KL. Effects of *Lactobacillus helveticus* on murine behavior are dependent on diet and genotype and correlate with alterations in the gut microbiome. *Psychoneuroendocrinology* 38: 1738–1747, 2013.
19. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 14: 149–167, 1985.
20. Prasad A, Prasad C. Short-term consumption of a diet rich in fat decreases anxiety response in adult male rats. *Physiol Behav* 60: 1039–42, 1996.
21. Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara A, Iimura M, Fujikawa T, Chang H, McEwen BS, Nishijima T. BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. [Online]. *Biochem Biophys Res Commun* 358: 961–7, 2007. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17524360>.
22. Tomiga Y, Ito A, Sudo M, Ando S, Maruyama A, Nakashima S, Kawanaka K, Uehara Y, Kiyonaga A, Tanaka H, Higaki Y. Effects of environmental enrichment in aged mice on anxiety-like behaviors and neuronal nitric oxide synthase expression in the brain. *Biochem Biophys Res Commun* 476: 635–640, 2016.
23. Tomiga Y, Ito A, Sudo M, Ando S, Maruyama A, Nakashima S, Kawanaka K, Uehara Y, Kiyonaga A, Tanaka H, Higaki Y. Effects of environmental enrichment in aged mice on anxiety-like behaviors and neuronal nitric oxide synthase expression in the brain. *Biochem Biophys Res Commun* 476: 635–640, 2016.
24. Tomiga Y, Yoshimura S, Ito A, Nakashima S, Kawanaka K, Uehara Y, Tanaka H, Higaki Y. Exercise training rescues high fat diet-induced neuronal nitric oxide synthase expression in the hippocampus and cerebral cortex of mice. *Nitric Oxide* 66: 71–77, 2017.
25. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc* 2: 322–8, 2007.
26. 厚生労働省 . 平成 26 年度患者調査 .
27. 藤田統 . ラットの情動反応性の測定としてのランウェイ・テストにおける諸反応の行動遺伝学的分析 : I - 表現型変異と子 - 親回帰に基づく遺伝率推定値 -. *心理学研究* 46: 281–292, 1975.
28. 藤田統 . ランウェイテスト . *生体の科学* 45: 506–507, 1994.
29. 藤田統 , 中村則雄 , 宮本邦雄 , 片山尊文 , 鎌塚正雄 , 加藤宏 . 選択交配により作られた高・低情動反応性系ラットの行動比較 . *筑波大学心理学研究* 2: 19–31, 1980.

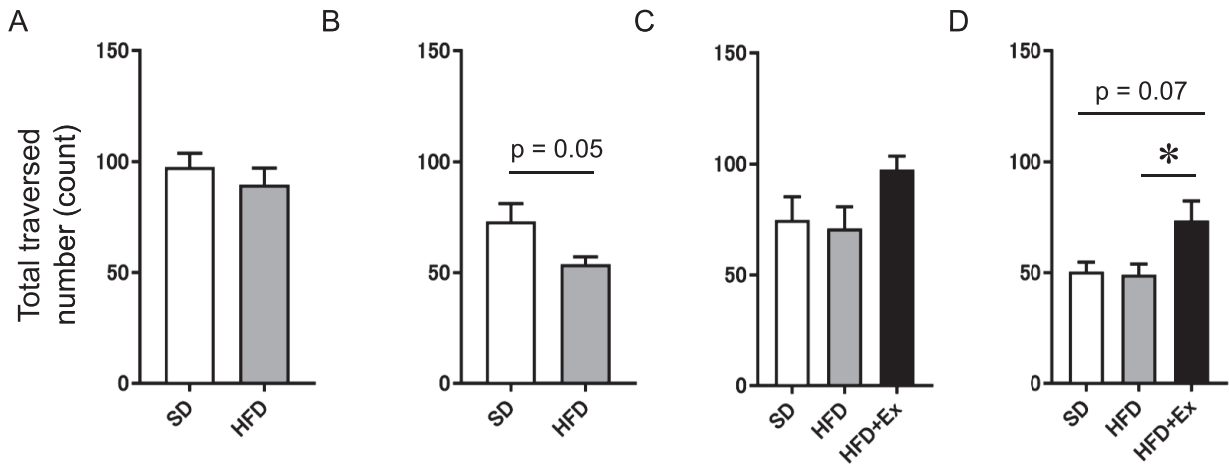


Fig 1. Total traversed number (A-D) in runway test at 2 (A), 6 (B), 7 (C), and 12 weeks (D). *: $P < 0.05$. All data are presented as means \pm S.E. (SD, $n = 6$; HFD, $n = 7$; HFD + Ex, $n = 7$).

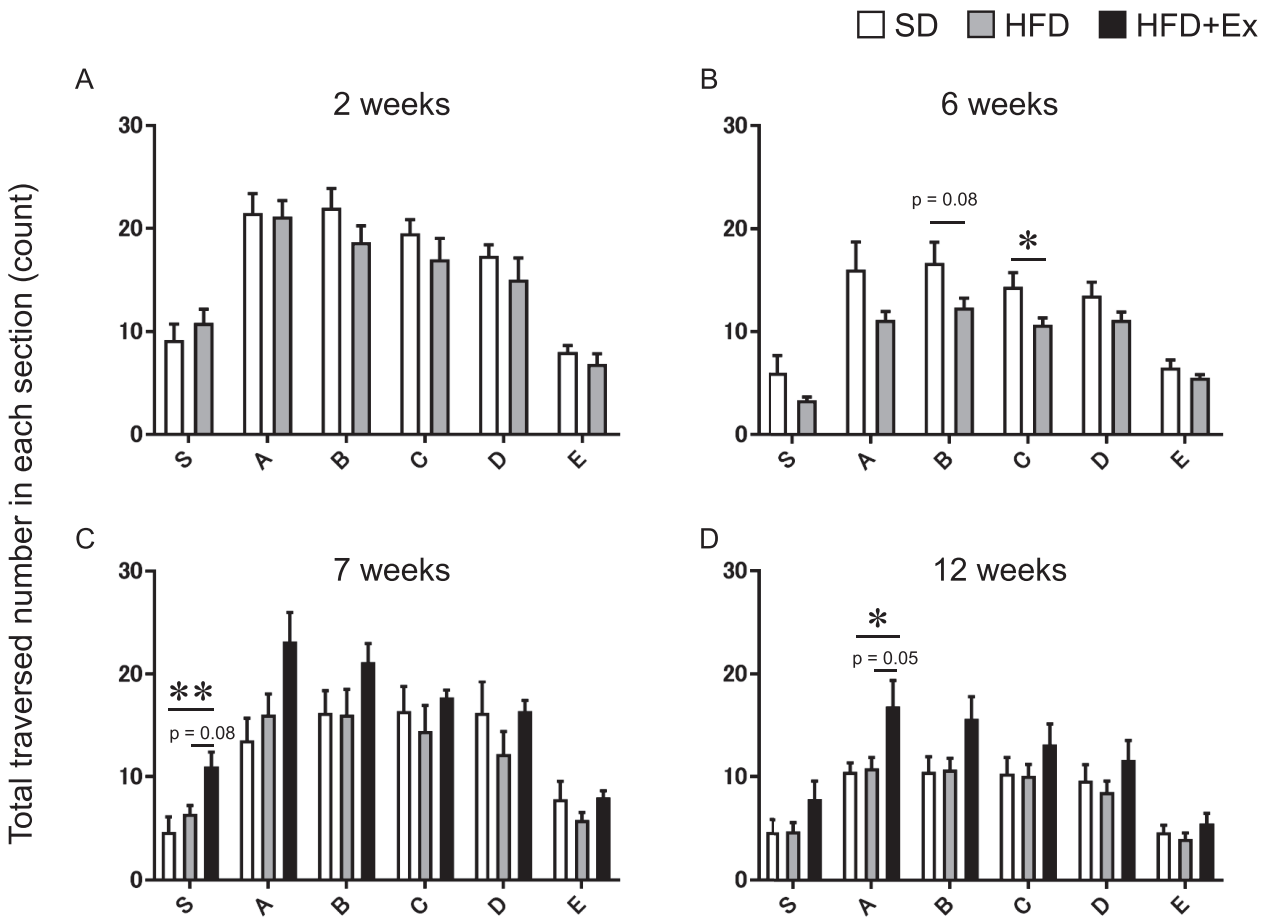


Fig.2 Traversed number in each section in runway test at 2 (A), 6 (B), 7 (C), and 12 weeks (D). **: $P < 0.01$, *: $P < 0.05$. All data are presented as means \pm S.E. (SD, $n = 6$; HFD, $n = 7$; HFD + Ex, $n = 7$).

高脂肪食摂取や運動トレーニング介入が情動性に及ぼす影響 (富賀・他)

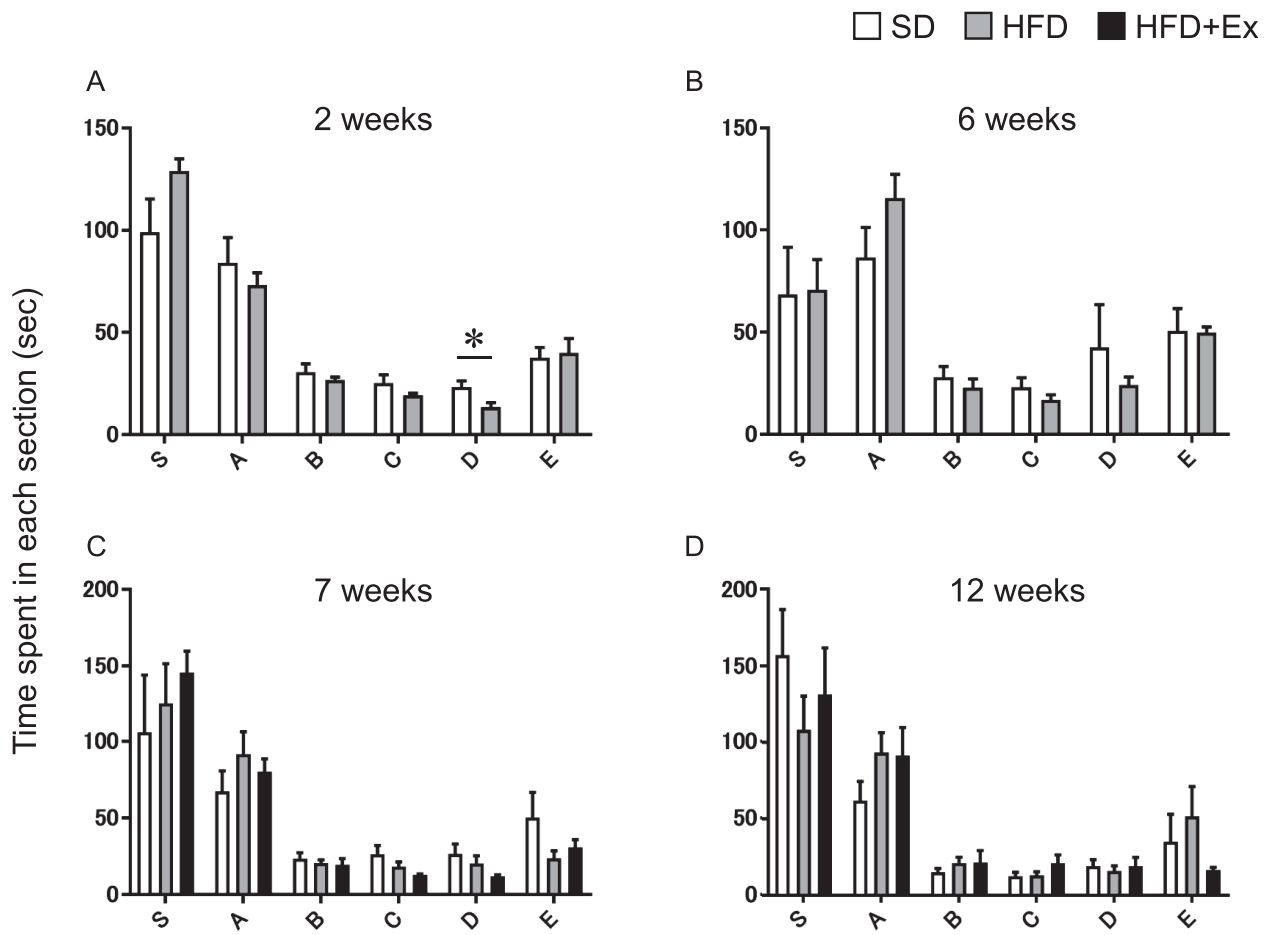


Fig.3 Time spent in each section in runway test at 2 (A), 6 (B), 7 (C), and 12 weeks (D). *: $P < 0.05$. All data are presented as means \pm S.E. (SD, $n = 6$; HFD, $n = 7$; HFD + Ex, $n = 7$).

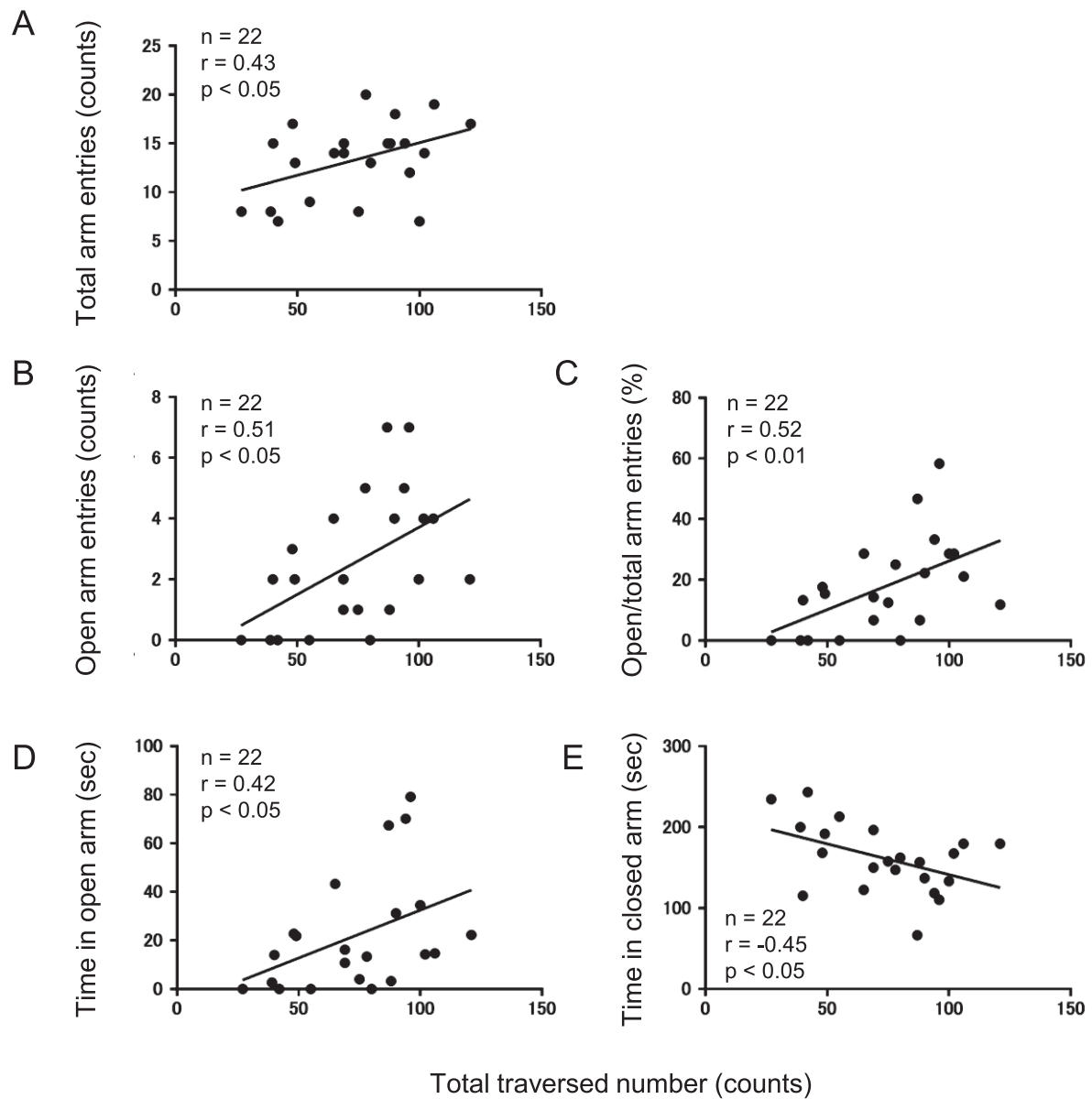


Fig.4 Correlation between total traversed number and total arm entries (A), open arm entries (B), percent of open arm entries (C), time in open arms (D), and time in closed arm (E) in EPM test in SD group. Correlations are shown total traversed number and behavioral parameter of EPM test in SD group. Lines in the scatter plots show significant correlation (by Pearson's product-moment correlations test).

高脂肪食摂取や運動トレーニング介入が情動性に及ぼす影響 (富賀・他)

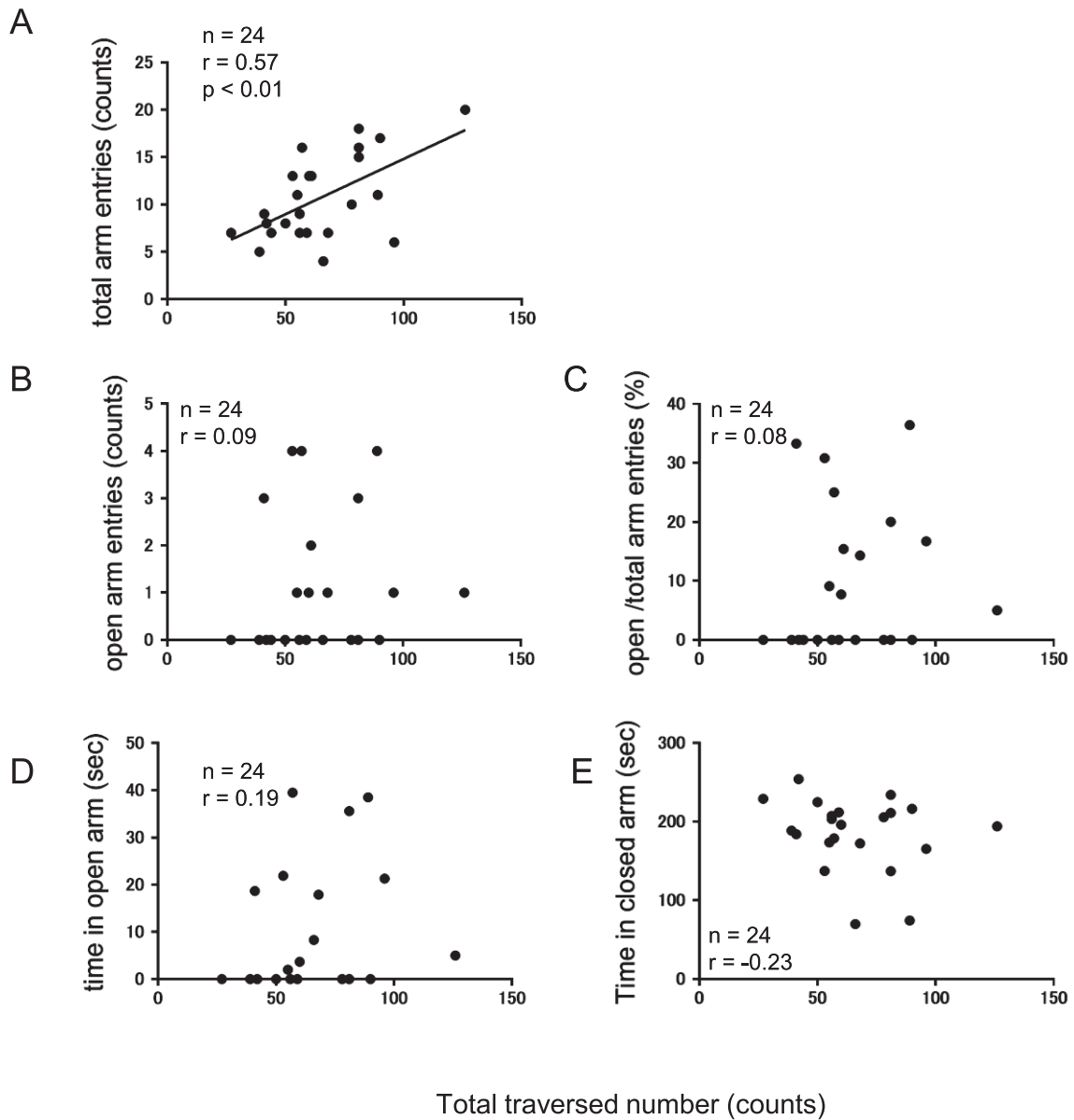


Fig.5 Correlation between total traversed number and total arm entries (A), open arm entries (B), percent of open arm entries (C), time in open arms (D), and time in closed arm (E) in EPM test in HFD group. Correlations are shown total traversed number and behavioral parameter of EPM test in HFD group. Lines in the scatter plots show significant correlation (by Pearson's product-moment correlations test).

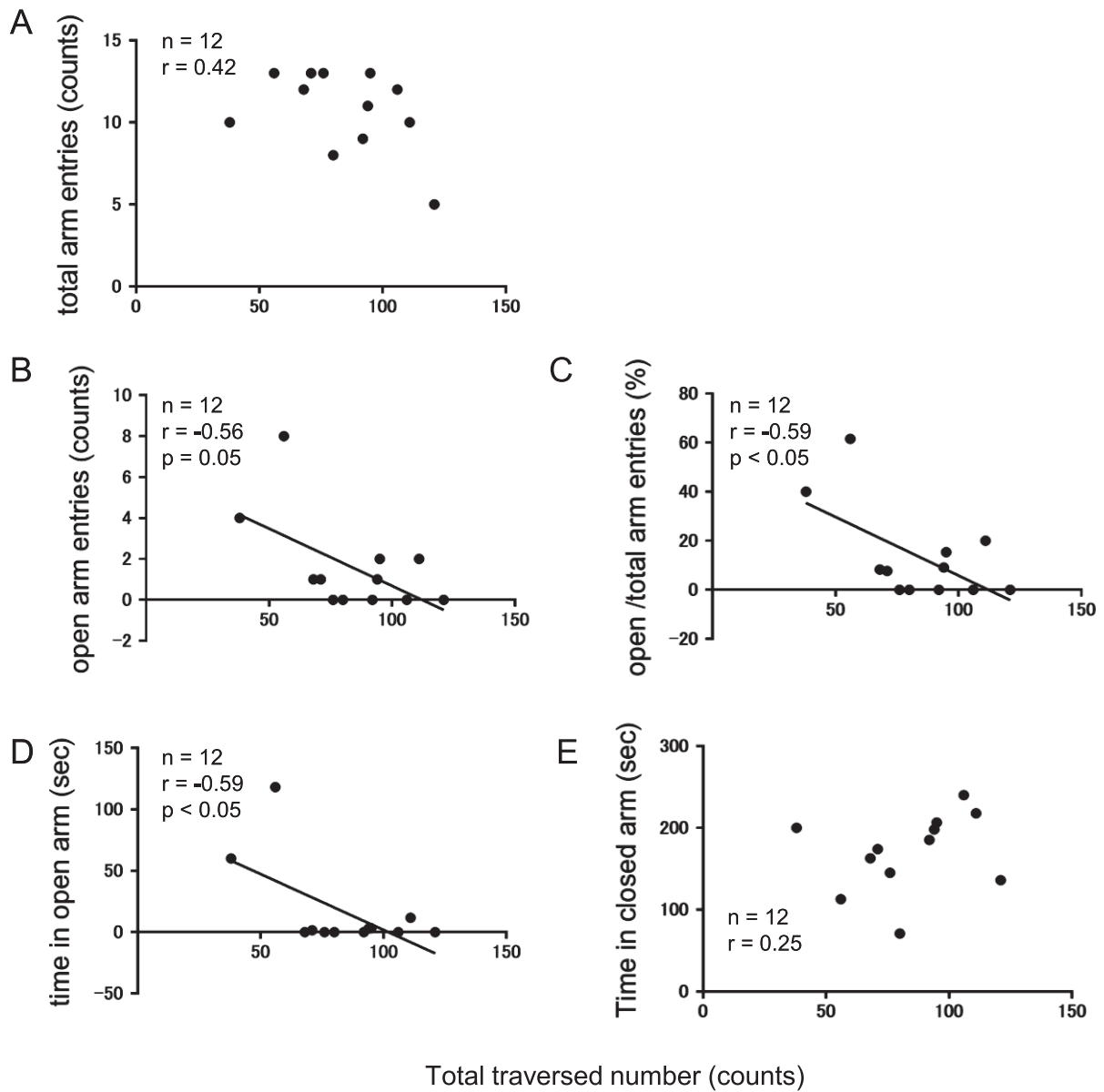


Fig.6 Correlation between total traversed number and total arm entries (A), open arm entries (B), percent of open arm entries (C), time in open arms (D), and time in closed arm (E) in EPM test in HFD + Ex group. Correlations are shown total traversed number and behavioral parameter of EPM test in HFD + Ex group. Lines in the scatter plots show significant correlation (by Pearson's product-moment correlations test)

高脂肪食摂取や運動トレーニング介入が情動性に及ぼす影響（富賀・他）

Table. 1 Behavioral parameters of runway test in SD, HFD, and HFD+Ex groups.

<i>Experimental period</i>	2 weeks		6 weeks		7 weeks			12 weeks			
	<i>group</i>	SD	HFD	SD	HFD	SD	HFD	HFD+Ex	SD	HFD	HFD+Ex
Peeping latency (sec)		4.0±1.6	4.8±1.0	3.5±2.7	5.1±1.2	5.0±2.3	5.3±1.8	3.1±1.6	7.6±2.2	4.5±1.8	6.5±2.2
Start latency (sec)		7.7±2.8	7.2±2.1	5.1±2.6	9.7±1.6	6.0±1.4	11.4±2.9	6.5±1.7	12.1±2.6	11.8±3.7	17.5±4.2
E section latency (sec)		12.4±3.0	15.4±3.3	18.6±2.3	16.2±2.1	10.3±1.7	28.9±13.3	12.3±2.8	17.6±3.2	29.3±8.8	27.4±8.0

No significant differences in all measurements were observed. All data represent the means ± S.E. (n = 5-7).

Table. 2 Behavioral parameters of EPM test in SD, HFD, and HFD+Ex groups at 12 weeks.

<i>group</i>	SD	HFD	HFD+Ex
Total arm entries (counts)	11.5 ± 1.7	7.6 ± 1.2	11.7 ± 1.0
Open arm entries (counts)	1.0 ± 0.5	0.2 ± 0.2	2.9 ± 1.1
Percentage of open arm entries (%)	6.6 ± 3.3	1.4 ± 1.4	22.9 ± 8.7 [†]
Time in open arm time (%)	11.1 ± 5.0	0.9 ± 0.9	39.6 ± 18.8
Time in closed arm time (%)	202.7 ± 12.4	208.9 ± 7.1	146.3 ± 23.2 [#]

[†] p = 0.06 vs. HFD. [#] p = 0.07 vs. SD and HFD. All data represent the means ± S.E. (n = 5-7).