

氏名	はたなか あきと 畑中 聡仁		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	甲第1821号		
学位授与の日付	令和2年3月16日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（課程博士）		
学位論文題目	Effects of low-intensity forced exercise on hyperemotionality in an olfactory bulbectomization rat model of depression （嗅球摘出うつ病モデルラットの情動過多反応における低強度強制運動の効果）		
論文審査委員	（主査） 福岡大学	教授	井上 亨
	（副査） 福岡大学	教授	井上 隆司
	福岡大学	講師	新居 浩平

## 内容の要旨

### 【目的】

精神科臨床において、運動療法はうつ病の治療法として注目され、世界中で実施されている。しかし、その効果は運動の方法、頻度、および強度によって異なり、統一したプロトコルや作用機序に関する明確な見解はない。一方、嗅球摘出（OBX）ラットはうつ病モデル動物として、優れた表面妥当性や予測妥当性を有することが知られている。以前の研究では、情動過多反応（HE）スコアやオープンフィールドテスト（OFT）、Y迷路試験（YMT）などの行動解析を用いて、介入前後のうつ病モデル動物の行動の変化を観察し、抗うつ作用が評価されてきた。現在までに、うつ病モデル動物に対する自発運動や強制運動の効果は様々な頻度や期間で行われてきたが、低強度の強制運動を行なった研究は行われたことはなかった。低強度の運動を選択した理由は、身体的な制限がある患者や高齢で高負荷の運動ができない患者にも行えるためより汎用性があると考えたからである。

OBXラットに対する低強度強制運動の効果がHEスコアを用いて評価できれば、今後の運動療法の発展やそのメカニズムの解明につながると考え本研究を行なった。

### 【対象と方法】

8週齢のWistarラット合計40匹をOBX手術群(29匹)と偽手術(Sham)群(11匹)に分けて、2週間の回復期間の後にHE合計スコアを測定し、10点以上であったOBXラットを以降の実験に使用することとした。HEスコアが均等になる様にOBX-Saline(Sal)(n=9)、OBX-Exercise(Exe)(n=10)、OBX-Imipramine(Imi)(n=10)の3群に割りつけた。Sham群、OBX-Sal群およびOBX-Exe群には生理食塩水を腹腔内注射し、OBX-Imi群にはイミプラミンを1日1回14日間注射した。注射前には毎回ラットの体重を測定した。注射後、OBX-Exe群は30分間低強度で回転する電動回転カゴの中で、他の群は30分間固定された回転しないホイールの中で、1日に1回合計14日間過ごした。15日目にHE合計スコアの測定、OFTとYMTを行なった。OFTではラットの総移動距離、アリーナの隅で過ごす時間と距離の割合について記録された。統計ソフトを用いて、各手順についてANOVAとTukey-Kramer法による有意差検定を行った。結果は平均±平均の標準誤差として表され、有意差は $P<0.05$ とした。

#### 【結果】

OBX手術日と比較した1日目の平均体重増加率は、Sham群と比較してOBX群で有意に低かった。第1日と比較した第14日の平均体重増加率では、全群間に有意差はなかった。その中で、OBX-Imi群とOBX-Sal群に有意差はなかった。全29匹の手術ラットは1日目に10点以上のHEスコアを示した。1日目のHE合計スコアは、Sham群と比較して全OBX群で有意に高かった。15日目のHE合計スコアは、偽手術群と比較してOBX-Sal群で有意に高かった。15日目のOBX-Exe群とOBX-Imi群のHE合計スコアは同等であったが、Sham群とOBX-Sal群のスコアと有意差はなかった。15日目のOBX-ExeのHE合計スコアは、OBX-Sal群より低い傾向があった。OFTでは、総移動距離は他の群と比較してOBX-Exe群で有意に長かった。アリーナの隅で費やされた時間の割合と移動距離の割合に全群間で有意な差はなかった。YMTにおいて、全群の間に総移動距離および交代反応に有意差は認められなかった。

#### 【結論】

低強度の強制運動がOBXうつ病モデルラットのHEを抑制する可能性があり、抗うつ作用を有する可能性があることを示した。また、OBXうつ病モデルラットが、抗うつ薬だけでなく運動療法にも反応するうつ病の動物モデルとしての妥当性を有する可能性を示した。この研究結果をもとに低強度の強制運動のうつ病に対する効果と生理学的な変化や脳の構造の変化との関連を調べる追加研究を行う予定である。それによって運動療法の機序やうつ病の機序の解明につながり、うつ病治療の発展に貢献する可能性がある。

## 審査の結果の要旨

本論文では、うつ病モデル動物である嗅球摘出ラット（OBX）に対する低強度強制運動の効果を情動過多反応によって評価し、低強度強制運動は抗うつ薬（イミプラミン）と同等の抗うつ作用を持つことが示唆された。今後、うつ病の運動療法やうつ病のメカニズムの解明に寄与する論文となり得るものと期待される。

### 1. 斬新さ

うつ病に対する運動療法はガイドラインにおいて推奨される治療の一つであり、様々な臨床研究において効果が実証されている。しかし、推奨される運動の頻度や強度については一定の見解は得られておらず、その作用機序に関しても未解明である。本研究はOBXに強制回転カゴを用いた低強度強制運動を行い、抗うつ薬と同様にラットのうつ病様行動を改善することを示唆した最初の研究である。

### 2. 重要性

うつ病の治療において、薬物療法だけでは十分な効果が得られない患者や、その副作用のために内服を継続できず不十分な効果しか得られない患者が依然として多く存在する。運動療法の抗うつ作用とそのメカニズムを検討することは、うつ病治療の選択肢を増やすことに繋がると考えられ、本研究の重要性は高い。

### 3. 実験方法の正確性

本研究では、嗅球のみを外科的に取り除いたOBXを実験動物として用いた。OBXは、比較的容易な手技で完成させることができ、古くから抗うつ薬の効果の検討に広く活用されてきた予測妥当性の高いうつ病モデル動物である。また、評価項目である情動過多反応は、今まで複数の論文に掲載されており、十分な確実性があると考えられる。

### 4. 表現の明確さ

研究の背景から、方法、結果、考察に至るまで正確かつわかり易い英文で構成され、その内容は論理的で明確である。

### 5. 主な質疑応答

Q：OBXの形態的な変化が予想通りになっているかどうかの確認はしたのか。

A：過去の研究においてOBXでは海馬の細胞は減少するが、抗うつ薬投与によって海馬の神経新生が起こることが確認されているため、今後、運動療法によって同様のことが起こっているかどうかを確認する予定である。

Q: 統計の解析において、時間の因子や、個体の量の因子を変化させる様な予備的な解析は行っているか。

A: 本研究では過去の研究と同様に、実験前と実験後の2点のみで比較を行ったが、ご指摘の通り、運動の量を調整した群を増やして比較する、途中の点で評価を行う、などを今後行うことを検討している。

Q: 色々な交絡因子があると思うが、雄雌の区別はしているか。その運動の期間や、ラットの8週齢は過去の文献と比べてどうか。嗅球摘出の影響は術後2週間で出るのか。

A: 雄のみを使用している。運動を用いた研究が少なくその方法や期間は定まっていないのが現状であるが、過去の文献と同様の週齢のラットを用いて、短い期間で低強度からその効果を検証し今後追加研究を行なっていけたらと考えている。嗅球摘出の術後は過去の文献でも2週間の回復期間を設けており、2週間で十分と考えられる。

Q: 運動の質的な問題について、他に種類はあるのか。

A: トレッドミルを使用した運動の研究も行われているが、走れなくなった場合には電気ショックを与えて走らせるためストレスがかかるなどの問題がある。今回は臨床研究に応用がしやすいと考えられる、ラットにストレスがかからず無理なく運動できる低強度の強制回転カゴを用いた運動を選択した。

Q: オープンフィールドテストにおいて、筋力低下によって差が出たという考察があったが、この研究では筋力を測ったか。

A: 本研究では行っていないが、考察を深めるために追加実験で検討を行う予定である。

Q: OBXの完成に関して、体重減少の起こる機序はわかっているのか。

A: 不勉強のため、機序が分かっているかどうかはわからない。過去の研究においても、体重減少は起こっており、本研究でも同様の傾向が見られたためOBXの完成の証拠の一つとした。

Q: 合計40例だが、各群の数が揃っていない理由は手術が難しかったからか。

A: 手術が理由ではなく、1群9匹以上を目指して1セット4~8匹のラット4つの郡全てを含むように振り分け実験を繰り返したところ、最終的に各群の数に違いが出た。

Q: 嗅球をとったらうつになるということであったが、これは行動パターンでうつになっていることがわかるということか。

A: OBXの行動異常は必ずしもヒトのうつ病とは一致していないところもあるが、過去の研究では行動異常が人のうつ病と同様に抗うつ薬により改善することが分かっている。

るため、その行動異常を抗うつ薬の評価の指標の一つとしてきた。その他、ホルモンや構造的な変化もヒトのうつ病と同様の変化を起こすことが知られている。

Q：ヒトの場合は臭いが分からなくなったらうつ病になるのか。

A：うつ病の患者は嗅覚が低下するという報告はある。

Q：今回の運動は低強度としているが、ヒトで言えば低強度はどのくらいか。

A：1日1回20分間のウォーキングくらいだと言われている。

以上の内容の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明確さ、及び質疑応答の結果を踏まえ審査員で協議した結果、本論文は学位論文に値すると評価された。