HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	敗血症マウスのシナプス可塑性への運動療法の効果 ： 脳由来神経栄養因子に注目して
Author(s)	副島, 崇旨
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16647号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16647
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98257
Type	doctoral thesis
File Information	SOEJIMA_Takashi_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏名　副　島　崇　旨

学 位 論 文 題 名

敗血症マウスのシナプス可塑性への運動療法の効果～脳由来神経栄養因子に注目して～

（The Effects of Treadmill Exercise on the Recovery of Synaptic Plasticity in Septic Mice: A Focus on Brain-derived Neurotrophic Factor/Tropomyosin-related Kinase B Signaling）

【背景と目的】

敗血症は、世界的に重大な健康問題の一つであり、その病態の解明や診療技術の進歩により死亡率は低下しているものの、長期的な後遺症の克服が重要な課題となっている。敗血症関連脳症は、敗血症によって引き起こされる中枢神経系の障害であり、不可逆的な認知機能障害の原因となることが報告されている。近年、敗血症関連脳症の病態生理に関する研究が進み、神経炎症がその発症および進行に中心的な役割を果たすことが示唆されている。しかしながら、現在に至るまで臨床応用可能な治療法は確立されていないのが現状である。近年、集中治療領域において運動療法を中心としたリハビリテーションの有効性が注目されており、最新の敗血症診療ガイドラインにおいても早期リハビリテーションの実施が推奨されている。さらに、運動療法は単に身体機能の回復を促進するだけではなく、認知機能の改善にも寄与することが示されている。その分子メカニズムの一つとして、脳由来神経栄養因子がシナプス可塑性の向上や神経細胞の生存を促進することが知られている。そこで本研究では、「敗血症モデルマウスにおける認知機能障害が運動療法によって改善され、その効果に脳由来神経栄養因子が関与する」との仮説を立て、以下の実験を実施した。

【対象と方法】

本研究では、8–12 週齢の C57BL/6J マウスを用いて敗血症モデルを作製し、敗血症誘導後に実施した運動療法の影響を検討した。敗血症モデルは、盲腸結紮穿孔（CLP: cecal ligation and puncture）を施すことで確立し、対照群として開腹操作のみを行った偽手術群（sham）を設定した。運動介入群（exercise）は、トレッドミルを用いて 1 日 30 分間の低強度運動（8 m/min）を 7 日間実施した。対照群として、トレッドミルに乗せるのみで運動を行わない非運動群（sedentary）を設定し、マウスを sham + sedentary 群、sham + exercise 群、CLP + sedentary 群、CLP + exercise 群の 4 群に分けた。

敗血症誘導 1 週間後に運動療法の効果を以下の項目で評価した。まず、シナプス可塑性の変化を評価するため、電気生理学的手法を用いて海馬 CA1 領域の興奮性シナプス後電位を測定した。シーターバースト刺激による長期増強を誘導し、150 分後の後期相長期増強を指標とした。次に、脳由来神経栄養因子の発現変化を検討するため酵素結合免疫吸着測定法を用いて海馬の脳由来神経栄養因子の濃度を測定した。さらに、運動療法が行動量に及ぼす影響を評価するため、オープンフィールドテストを実施し、10 分間の探索行動に伴う総移動距離を測定した。また、敗血症誘導後 1 週間の生存曲線を作成した。

さらに、運動療法のシナプス可塑性への影響における脳由来神経栄養因子の役割を検討するため、敗血症マウスに脳由来神経栄養因子受容体拮抗薬である ANA-12 を、敗血症誘導後 1 週間にわたり腹腔内投与し、同様の運動介入を実施した。対照群として、溶媒のみを投与した溶媒群（vehicle）を設定し、マウスを CLP + exercise + vehicle 群、CLP + exercise + ANA-12 群、CLP + sedentary + ANA-12 群の 3 群に分けた。そして、敗血症誘導 7 日後に先に述べた電気生理学的手法を用いてシナプス可塑性の評価を行った。

【結果】

海馬 CA1 領域の後期相長期増強は、敗血症誘導 1 週間後に有意に障害されていた（CLP + sedentary: 144 ± 15% vs. sham + sedentary: 184 ±34%; P = 0.008）。しかし、運動療法により回復が認められた（CLP + exercise: 189 ± 36% vs. CLP + sedentary: 144 ± 15%; P = 0.003）。次に、海馬の脳由来神経栄養因子濃度は、敗血症誘導 1 週間後に有意に低下していた（CLP + sedentary: 3220 ± 647 pg/mg protein vs. sham + sedentary: 4340 ± 890 pg/mg protein; P = 0.001）。しかし、運動療法によりその濃度は有意に増加した（CLP + exercise: 4190 ± 671 pg/mg protein vs. CLP + sedentary: 3220 ± 647 pg/mg protein; P = 0.007）。さらに、オープンフィールドテストの総移動距離は、敗血症誘導 1 週間後に有意に低下した（CLP + sedentary: 47.7 ± 8.0 m vs. sham + sedentary: 62.2 ± 12.6 m; P = 0.013）。しかし、運動療法による改善は認められなかった（CLP + exercise: 54.1 ± 10.6 m vs. CLP + sedentary: 47.7 ± 8.0 m; P = 0.38）。また、運動療法は敗血症誘導後 1 週間の生存曲線を有意に変化させた（P < 0.001）。最後に、ANA-12 の投与により、運動療法によって回復した敗血症マウスの後期相長期増強は有意に低下した（CLP + exercise + ANA-12: 155 ± 22% vs. CLP + exercise + vehicle: 194 ± 37%; P < 0.001）。一方で、運動を行わなかった敗血症マウスでは、ANA-12 によるさらなる後期相長期増強の低下は認められなかった（CLP + sedentary + ANA-12: 153 ± 28% vs. CLP + exercise + ANA-12: 155 ± 22%, P = 0.984）。

【考察】

後期相長期増強は長期記憶の細胞学的基盤と考えられ、海馬は敗血症において最も脆弱な脳の部位として知られている。本研究では、敗血症マウスの海馬 CA1 領域での後期相長期増強の低下を示したが、これは敗血症関連脳症に伴う認知機能障害を反映していると考えられる。また、運動療法による後期相長期増強の改善は、運動が認知機能を向上させることを示した先行研究を支持する結果となった。さらに、本研究では、集中治療室における急性期リハビリテーションを模倣し、1 週間の低強度強制運動介入を実施した。そのため、実臨床でも適用可能な運動療法が、敗血症関連脳症に対して有効である可能性が示唆される。脳由来神経栄養因子は、シナプス可塑性に関連するタンパク質の合成を必要とする後期相長期増強において重要な役割を果たすと考えられている。本研究では、運動療法が敗血症誘導により低下した海馬の脳由来神経栄養因子濃度を回復させることを明らかにした。一方で、運動療法は敗血症マウスにおける行動量の低下を回復させなかった。しかし、先行研究では行動量はシナプス可塑性と直接的な関連を示さないことが報告されている。さらに、行動量の低下は行動学的評価の解釈を困難にする要因となる可能性がある。また本研究では、運動療法が敗血症誘導後の生存曲線に影響を与えた。この機序については詳細な検討を行なっていないが、運動療法がハードアウトカムを改善する可能性を示唆している。

最後に、脳由来神経栄養因子受容体拮抗薬である ANA-12 の投与により、運動療法による敗血症マウスの後期相長期増強の改善が阻害された。この結果は、運動療法による後期相長期増強の改善が脳由来神経栄養因子とその受容体におけるシグナル伝達を介している可能性を示唆する。また、ANA-12 の投与が運動を行わなかった敗血症マウスにおいて、さらなる後期相長期増強の低下を引き起こさなかったことから、敗血症誘導による後期相長期増強の阻害もまた、同様の経路が関与していると考えられる。

【結論】

本研究の結果、敗血症誘導後のトレッドミルによる低強度運動は、海馬 CA1 領域の後期相長期増強を改善することが明らかになった。また、脳由来神経栄養因子がこの機序に関与している可能性が示唆された。さらに、運動療法は敗血症誘導後の生存曲線に影響を及ぼしたが、行動量の回復には寄与しなかった。以上の結果から、敗血症マウスにおいて運動療法がシナプス可塑性を改善する可能性が示された。