

機関番号：12102
 研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20300214
 研究課題名 (和文) 海馬の神経新生と認知機能を高める最適運動強度の探索：ストレスの関与から
 研究課題名 (英文) The optimum intensity of exercise to enhance adult hippocampal neurogenesis: The role of glucocorticoid (corticosterone)
 研究代表者
 征矢 英昭 (SOYA HIDEAKI)
 筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授
 研究者番号：50221346

研究成果の概要 (和文)：海馬神経新生を促進するためには、運動ストレスを伴わない低強度運動が有効である一方、運動ストレスが生じる高強度運動ではその効果が消失した。さらに、低強度運動により海馬で増加する神経新生に対しコルチコステロン (CORT) がその受容体である GR、MR を介して促進的に作用 (栄養効果) し、高強度運動では GR を介した抑制作用が優位となることが明らかとなった。CORT は運動強度特異的に生じる海馬可塑性の決定因子として重要な役割を担うことが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：A low intensity exercise without stress enhanced adult hippocampus neurogenesis (AHN), while the effect disappeared by a high intensity exercise with stress. Furthermore, it became clear that low intensity exercise induced AHN via corticosterone (CORT) pathway and found that inhibitory effect of glucocorticoid receptor (GR) became dominant in the high intensity exercise. It was suggested that CORT took an important role in specific effect of exercise intensities on hippocampal plasticity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2009年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2010年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学, スポーツ科学

キーワード：軽運動、成熟海馬、神経新生、ストレス、走運動、幼若神経、認知機能、乳酸閾値

1. 研究開始当初の背景

(1) 輪回し運動と脳の可塑性：1995年、米国 UC-Irvine 校の Cotman 教授らが、輪回し運動させたマウス海馬で BDNF (脳由来神経栄養因子) の増加を初めて報告した。神経可塑性を高め、アルツハイマー病 (AD) の脳で大きく減少する BDNF が運動で増加するなら認知機能の改善にも運動が良いと期待が高ま

っている。2002年、米国ソーク研究所の Gage たちは、豊かな環境、とりわけ輪回し運動が神経新生やモーリス水迷路の成績 (空間認知機能) を高め、シナプス伝達効率化 (LTP 増強) も起こることから、自発的な運動が海馬の発達を促し、認知機能を高めることを示唆した。しかし、輪回し運動は間欠的な運動形態を示し、走速度も意外に速く (>40/min)、一定し

ないため、運動処方につながる運動条件はいまだに不明である。この解明には運動強度を調節できる実験手法を用い、効果を明らかにする必要がある。

(2) 我々の先行研究-1 (中強度で活性化する視床下部): この課題に対して我々は一貫して強度(速度)や時間を調節できるトレッドミルを用いた独自の走運動モデルで検討を重ねてきた。ラットでもヒト同様、LT(乳酸閾値)が評価できること。さらに、LT強度を越える(>LT)と視床下部-下垂体-副腎軸が活性化し、ストレス反応がみられるが(Soya, 2002; Saito & Soya, AJP:IRCP)、LT以下(<LT)ではみられないことを見いだした(Soyaら, Neurosci Res, 2007)。ストレスにより最終的に副腎皮質から分泌されるグルココルチコイド(GC)は、その受容体を介して神経新生を抑制する(2006)。したがって、ストレス反応を伴う中強度以上の運動は、血中GC-海馬(液性)ルートを通じて運動誘発性神経新生を抑制する可能性がでてきた。

(3) 我々の先行研究-2 (低強度で活性化する海馬): 運動時における海馬の神経の活性化について、ここでも独自のラット走運動モデルを用い、細胞興奮の指標となるc-fos遺伝子の脳内発現部位や発現量の違いを運動強度との関連で検討した。その結果、海馬はLT以下(<LT)の低強度運動でも超LT強度(>LT)と同様に活性化することから、海馬は低強度運動で十分活性化することが初めて明らかとなった(Soyaら, BBRC, 2007)。

2. 研究の目的

運動は海馬の神経新生や認知機能を高めることが報告されているが、その最適な運動条件(速度など)の詳細についてはいまだ決着をみない。そこで、本研究ではストレスを伴う・伴わない、二つの異なる運動強度による独自のラット走運動モデルを用い、海馬歯状回の神経新生を高める最適運動強度について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 実験1: 異なる強度の運動トレーニングが海馬神経新生に与える影響

①マウスの走運動ストレスモデルの確立

マウスにおけるストレス反応を亢進する閾値LTを評価するため、C57BL/6J雄性マウス12週齢8匹に10日間の走行学習を行わせた後、採血用のカテーテルの外頸静脈から右心房に挿入する手術を行い、体重回復を確認した後、3分毎に分速2.5m漸増させる走行試験を行った。走行中の血中乳酸濃度の変化からLT出現走速度を求めた。また、求めたLT

を基準とした運動ストレスモデルを確立するため、マウス21匹にLT評価時と同様の走行学習を行わせ、LT強度以上群(分速30m)、LT強度以下群(分速15m)、トレッドミル上に置くだけの対照群の3群に分け、30分間の固定負荷走行試験を行った。走行試験直後に断頭し、採血を行い、血中乳酸濃度、ストレスの生理的指標である血漿コルチコステロン濃度を測定した。

②異なる強度のトレッドミル走運動トレーニングがマウス海馬神経新生に及ぼす影響

実験1-①で確立したマウス走運動ストレスモデルを用いて、マウスをトレッドミル上に置くだけの非運動群、ストレスを伴わない低強度群(分速15m)、ストレスを伴う高強度(分速30m)の3群に分け、1日30分、週5回のペースで2週間の走運動トレーニングを施した。後半の5回の運動前には、新生細胞マーカーであるBrdUを腹腔投与した。トレーニング終了2日後に灌流固定を施し、摘出した脳から海馬歯状回を含む凍結前額断脳切片(50 μ m)を作成した。作成した切片は96マルチウェル培養プレートに採集した。プレートの1列(400 μ m間隔の連続冠状切片)の切片にNissl染色を施し、カヴァリエリの定理から体積を求めた。さらに、Nissl染色に用いた列と隣り合う1列に免疫組織化学染色を施し、BrdU抗体、DCX抗体、NeuN抗体を用いて成熟段階別に新生細胞を同定した。解析は歯状回全体を網羅的に解析できるStereologyを用いて各新生細胞を評価し、AHNへの運動効果を検討した。

(2) 実験2: 運動に伴うストレスが成体海馬神経新生に及ぼす影響: 副腎皮質ホルモンの役割

運動強度特異的に生じる海馬可塑性の決定因子として、LT以上の運動で高まるコルチコステロン(CORT)による影響が想定される。CORTの受容体にはグルココルチコイド受容体(GR)とミネラルコルチコイド受容体(MR)の2種類が同定され、AHNに対し促進と抑制の相反的作用が示唆されているが、運動で高まるAHNにおけるCORTの関与を2つの受容体の機能から検討はされていない。実験2では、これら受容体の特異的拮抗薬(GR拮抗薬Mifepristone, MR拮抗薬Spironolactone)を使用し、異なる運動強度(低強度:15m/min, 中強度:30m/min)においてCORTがAHNに与える影響について検討した。毎回の運動1時間前にSpironolactone, Mifepristone、もしくは溶媒のポリエチレングリコール(Vehicle)を皮下投与した。それ以外のプロトコルは実験1-②と同様に実施した。

4. 研究成果

(1) 実験1-①における漸増負荷走行試験時の血中乳酸濃度変化の典型例を図1に示した。LT値は血中乳酸濃度の変化から2本の回帰直線を引き、数学的に算出した。その結果、トレッドミル走運動時のC57BL/6JマウスLT出現走速度は分速 20.3 ± 0.6 mであることが明らかとなった。この走速度は先行研究で示されたラットのLT出現走速度とほぼ同様の値を示していることから、マウスの走速度に対する生理的評価をラットと同様に行えることが明らかとなった。

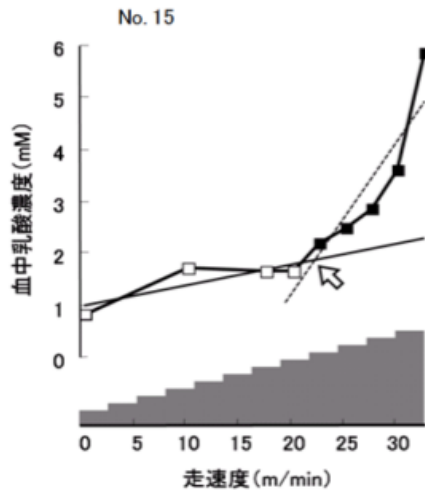


図1 漸増負荷走行試験時の血中乳酸値の変化(典型例)

(2) 実験1-①に固定負荷走行試験直後の血中乳酸濃度(2-A)、血漿コルチコステロン濃度(2-B)を図2に示した。血中乳酸濃度は対照群、LT強度以下(分速15m)群と比較してLT強度以上群で有意に増加した。血漿コルチコステロンは対照群と比較するとLT強度以上群でのみ有意に増加した。これにより、マウスにおいても、LT強度以上の運動ではHPA軸が活性化しストレス反応が生じることが明らかとなり、LT強度以上の走運動はラットと同様、マウスでも“走運動ストレスモデル”として妥当であることが示唆された。

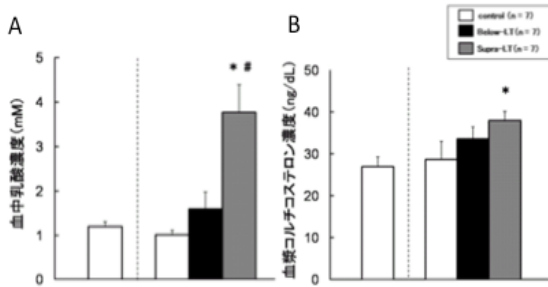


図2 固定負荷試験後の血中乳酸値、血漿コルチコステロン濃度

*: $p < 0.05$ vs control, #: $p < 0.01$ vs Below-LT. Values are mean \pm S.E.

(3) 実験2における2週間の走運動トレーニング後の歯状回新生細胞数を図3に示した。海馬歯状回における新生細胞数(Total BrdU+ cells)は、非運動群と比較して低強度群で有意に増加したが、高強度群では変化しなかった(図3-A)。また、新生細胞を成熟段階別にみとところ、新生神経幹・前駆細胞数はいずれの群間にも有意な変化はみられなかった(図3-B)が、新生未成熟神経細胞(DCX+ BrdU+ cells)および新生成熟神経細胞数(NeuN+ BrdU+ cells)は非運動群と比較して低強度群でのみ有意に増加した(図3-C, D)。このことから、神経新生の促進には低強度運動が有効であり、特に未成熟神経細胞、成熟神経細胞の新生を促進することが明らかとなった。

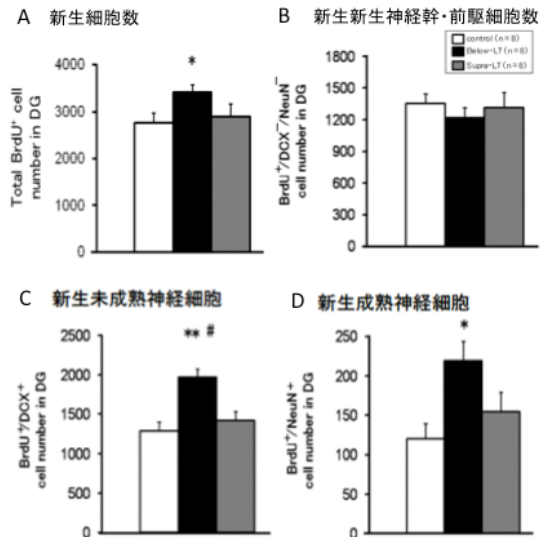


図3 2週間の走運動後の歯状回における成熟段階別新生細胞数

*: $p < 0.05$ vs control, **: $p < 0.01$ vs control, #: $p < 0.01$ vs Supre-LT. Values are mean \pm S.E.

(4) 実験2における歯状回新生細胞数を図4に示した。新生細胞数は低強度で有意に増加し、高強度では増加しなかった。これに対し、GRとMRの阻害は、いずれも低強度運動による新生細胞数の促進効果を消失した(図4-A)。新生未成熟神経細胞数(DCX+ BrdU+ cells)も新生細胞数と同様に低強度群で有意に増加し、高強度運動は増加しなかった。これに対し、GRとMRの阻害はいずれも低強度における新生神経芽細胞数の増加を消失させた(図4-B)。これにより、低強度運動により神経新生の促進効果はGRまたはMRの作用を介していることが示唆された。

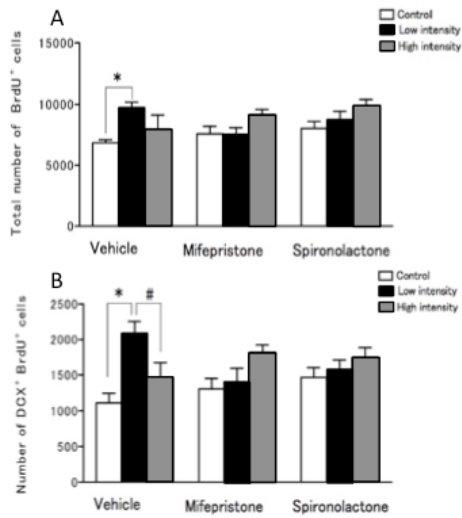


図4 トレーニング後の各神経新生発段階における新生細胞数
二元配置ANOVA(投与×運動強度) Post hoc tests : Bonferroni
All values are given as mean ± standard error of the mean (SEM).
*P<0.05 vs. Vehicle Control. #p<0.05 vs. Vehicle High.

(5) 実験2における血清コルチコステロン濃度と新生未成熟神経細胞数(DCX+ BrdU+ cells)との相関を図5に示した。両者の相関関係はGRを阻害した時のみに認められた。すなわち、GRの働きが阻害されたとき、神経芽細胞数は血清コルチコステロン濃度に依存して増加することが示唆された(図5-B)。

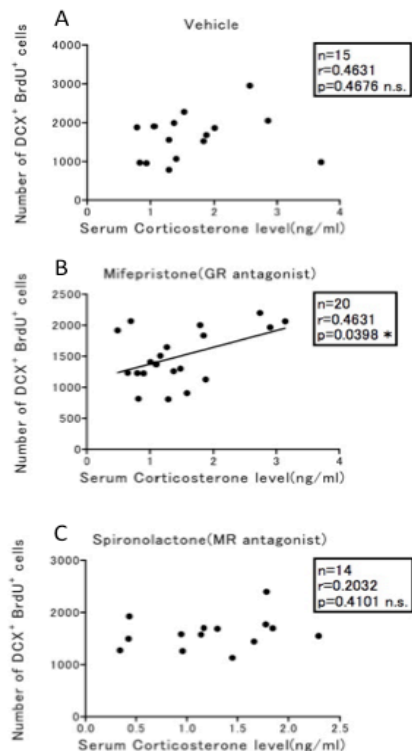


図5 血清コルチコステロン濃度と新生神経芽細胞数との相関

以上のことから、ストレスにより惹起されるステロイドホルモンは、低強度では海馬に栄養効果を、高強度では逆に抑制因子として作用するなど、運動強度特異的に生じる海馬可塑性の決定因子として働く可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- 1) Soya H, Okamoto M, Matsui T, Lee M, Inoue K, Nishikawa S, Soya S, Fujikawa T, Chang H, Nishijima T: Brain Activation Through Exercise: Study on exercise conditions which lead to neuronal activation and hippocampal neurogenesis, *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*, 査読無, 60, 2010, 794-796
- 2) Soya H, Okamoto M, Matsui T, Lee M, Inoue K, Soya S, Nishikawa S, Fujikawa T, Chang H, Nishijima T: Brain activation through exercise: study on exercise conditions which leads to neuronal activation and hippocampal neurogenesis, *International Sport Science Congress: Sport and Identity in a Multicultural Society*, 査読有, 2010, 188-198
- 3) Nishijima T, Piriz J, Duflos S, Fernandez AM, Gaitan G, Gomez-Pinedo U, Verdugo JM, Leroy F, Soya H, Nunez A, Torres-Aleman I: Neuronal Activity Drives Localized Blood-Brain-Barrier Transport of Serum Insulin-like Growth Factor-I into the CNS, *Neuron*, 査読有, 67, 2010, 834-846
- 4) 征矢英昭、岡本正洋、井上恒志郎: 運動により脳をエイジングから守る, *ANTI-AGING MEDICINE*, 査読無, 6, 2009, 040-044
- 5) 征矢英昭: 脳に豊かさを与えるスポーツ・運動の意義—海馬の可塑性を高める運動効果から—, *体育の科学*, 査読無, 59, 2009, 749-758
- 6) 山村侑平、征矢英昭: 脳を活性化させる運動—海馬の可塑性を高める運動条件の探索—, *体育の科学*, 査読無, 59, 2009, 189-197
- 7) 岡本正洋、征矢英昭: アーリーライフステージの運動と海馬の発達・社会ストレスの影響, *子どもの発育発達*, 査読

- 無, 5, 2008, 212-216
- 8) 山村侑平、征矢英昭：環境と神経新生, *Clinical Neuroscience*, 査読無, 26, 2008, 912-914
 - 9) 征矢英昭：第7章, 海馬の可塑性を高める運動効果と分子機構. 特集, 分子メカニズムから考えるスポーツ効果：生活習慣病と関連して, 臨床スポーツ医学, 査読無, 10, 2008, 1175-1180

[学会発表] (計 23 件)

- 1) 征矢英昭：シンポジウム：軽運動による脳の活性化と可塑性, 同志社大学スポーツ健康科学会 (招待講演), 2010/11/23, 同志社大学, 京都
- 2) Okamoto M, Inoue K, Matsui T, Lee M, Soya H: Blockade of androgen receptors inhibits treadmill running-induced adult hippocampal neurogenesis, *Neuroscience*, 2010/11/14, San Diego, USA
- 3) Inoue K, Rakwal R, Lee M, Okamoto M, Soya H: Delineation of the molecular profile of the effects of intense exercise training on neurogenesis, *Neuroscience*, 2010/11/14, San Diego, USA
- 4) Minchul L, Nogami H, Inoue K, Okamoto M, Matsui T, Soya H: Loaded wheel running enhance BDNF function in the rat hippocampus, *Neuroscience*, 2010/11/14, San Diego, USA
- 5) 征矢英昭：臨床スポーツ医学会：教育講演②「脳を鍛える運動効果とホルモン」, 日本臨床スポーツ医学会 (招待講演), 2010/11/06, エポカル, つくば
- 6) 征矢英昭：シンポジウム：運動で高めるメンタルヘルスと脳機能。メンタルヘルスを高める運動と脳機能海馬の可塑性と軽運動, 日本体力医学会第 65 回大会 (招待講演), 2010/09/16, 和洋女子大学, 千葉
- 7) Soya H: Brain Activation Through Exercise: Study on exercise conditions which lead to neuronal activation and plastic change in the hippocampus, *International Sports Science Congree* (招待講演), 2010/08/30, Chuncheon, Korea
- 8) 征矢英昭：シンポジウム：低強度運動による認知機能改善効果を担う分子機構：運動とアンチエイジング、基礎：運動による身心への有益な効果、シンポジウム 3, 第 10 回日本抗加齢医学会総会, 2010/06/11, 国立京都国際会館, 京都
- 9) 征矢英昭：海馬の活性と可塑性を高める

- 運動強度と分子機構, シンポジウム：運動はメンタルヘルスの維持改善に有効か, 第 143 回日本体力医学会関東地方会, 2008/7/5, 明治安田生命 4F, 東京
- 10) Soya H, Okamoto M, Yamamura Y, Deocaris CC: Would mild exercise be beneficial for hippocampal functions?, *Strategies to reduce risks on the brain development contingent to urbanization, Japan/China Symposium 2008*, 2008/10/24, University of Tsukuba, Tsukuba

[図書] (計 2 件)

- 1) 岡本正洋, 征矢英昭：真興交易, 身体トレーニング：運動生理学からみた身体機能の維持・向上, 海馬, 2009, 40-46
- 2) 井上恒志郎, 征矢英昭：Medical View, 認知機能のアンチエイジング：運動、脳とアンチエイジング (抗加齢) 医学, II アンチエイジングの医学と臨床改訂 2 版、日本抗加齢医学会編, 2008, 126-128

6. 研究組織

(1) 研究代表者

征矢 英昭 (SOYA HIDEAKI)
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授
研究者番号：50221346

(2) 研究分担者

朝田 隆 (ASADA TAKASHI)
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授
研究者番号：90184142

