

| | | | | |
|---------|---|---------|----|----|
| 氏名 | 井上 恒志郎 | | | |
| 学位の種類 | 博士 (体育科学) | | | |
| 学位記番号 | 博甲第 7545 号 | | | |
| 学位授与年月 | 平成 27 年 7 月 24 日 | | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | | |
| 審査研究科 | 人間総合科学研究科 | | | |
| 学位論文題目 | 低強度運動による海馬機能の向上とその分子機構 ：網羅的遺伝子発現解析を用いた検討 | | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 征矢 | 英昭 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 大森 | 肇 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 教育学博士 | 西保 | 岳 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士 (医学) | 一谷 | 幸男 |

論文の内容の要旨

(目的)

本研究では、運動強度の調節が可能なトレッドミルとマイクロアレイおよび Ingenuity Pathway Analysis (IPA) の網羅的遺伝子発現解析を用いて、海馬機能の向上に有効な運動強度とその分子機構を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

本研究では、乳酸性作業閾値 (LT) を基準に、Wistar 系雄性ラットを 6 週間の安静、低強度 (< LT) 運動、高強度 (< LT) 運動の 3 群に分け、ストレス反応を伴わない低強度運動が海馬の歯状回で起る神経新生 (AHN) を促進し、海馬機能を向上させるという仮説を検証し (研究課題 1)、その後なぜ低強度運動が AHN や海馬機能の向上に有効か、その分子機構を推定した (研究課題 2)。研究課題 1 では、LT を境に異なる強度の走運動トレーニングがストレス反応、AHN および海馬機能に与える影響を検討した。ストレス反応は代表的なストレス指標である副腎・胸腺湿重量および血漿コルチコステロン (CORT) 濃度の変化から、AHN は免疫組織化学染色によって同定した新生成熟神経細胞 (BrdU/NeuN 陽性細胞) の数の変化から検討した。さらに海馬機能は、モリス水迷路の場所学習逃避訓練とプローブテストの成績から、それぞれ記憶の獲得 (学習) および保持・想起の変化を評価した。研究課題 2 では、各運動条件で増強または抑制された遺伝子をマイクロアレイにより網羅的に解析し、それらの遺伝子の中から IPA を用い AHN の調節に重要となる因子の統計的 ($p < 0.05$) な絞り込みを IPA により行った。

(結果)

研究課題 1 では、低強度および高強度の走運動トレーニングがストレス反応、AHN、海馬機能に及ぼす影響を検討し、高強度運動のみで汎適応症候群の兆候（副腎の肥大、胸腺の萎縮、高 CORT 血漿）が確認され、低強度運動ではこの兆候がみられないこと、高強度運動ではなく、低強度運動が新生成熟神経細胞の数を増加させ、さらにモリス水迷路のプローブテストの成績を向上させることを明らかにした。

研究課題 2 では、異なる強度の走運動トレーニングが海馬遺伝子発現に与える影響をマイクロアレイ及び IPA で解析した。マイクロアレイでは、低強度運動（604 個）が高強度運動（415 個）に比べ、多くの遺伝子発現を変化させ、それらの遺伝子のうち 93%（563 個）の遺伝子が低強度運動特異的に変化することがわかった。一方、両運動群で同定された遺伝子のなかに先行研究で運動時の AHN 促進への関与が報告されている因子（BDNF や IGF1 など）はみられなかった。IPA 解析によると低強度運動は、タンパク質合成の促進（増強：IGF2, IRS1）、コレステロールや脂肪酸の輸送（増強：APOE, CD36）、軽度の炎症反応の促進（増強：IL1B, 抑制：TNF）に関わる遺伝子が誘導され、それらが AHN 促進を担う包括的な機構として初めて明らかとなった。

(考察)

本研究により、AHN を促進するストレスフリーの 6 週間の低強度（<LT）運動が海馬機能（特に記憶の保持・想起能力）の向上に有効であることが明らかになり、①タンパク質合成の促進をもたらす IGF2-IRS1-PI3K/Akt 経路の活性化や②神経へのコレステロール輸送を高める APOE の増強、③炎症反応の軽度な活性化を引き起こす IL1B の増強および TNF の抑制が低強度運動による AHN の促進とそれに伴う海馬機能の向上を担う新たな機構・因子として推定された。本研究で新たに推定された機構や因子は、運動で高まる海馬機能のメカニズム解明において、新展開をもたらすことが期待される。今後は、これらの機構や因子と低強度運動による AHN 促進および海馬機能の向上との因果関係をより詳細に検討していく必要がある。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は、子どもや高齢者など低体力者でも気軽に取り組める低強度運動をモデル化し、その際の海馬機能の向上に有効かどうかを高強度運動との比較から検証し、その分子機構を最先端の網羅的遺伝子発現解析技術（マイクロアレイと IPA）により推定した研究である。

本研究ではまず、ラットの LT（約 20 m/min）を基準に、ストレスフリーの低強度（<LT, 15 m/min）運動では AHN と海馬機能が促進される一方、ストレス反応の亢進を伴う高強度（>LT, 40 m/min）運動ではその効果が消失するという仮説を検証した。トレーニング期間を 6 週間に設定し、6 週間の低強度および高強度の走運動トレーニングの後、ストレス反応、AHN、海馬機能の変化を検討。低強度運動では副腎・胸腺湿重量と血漿 CORT 濃度のストレス指標に変化がみられないこと、新生成熟神経細胞数が増加し、さらに記憶の保持・想起能力を評価するモリス水迷路のプローブテストにおいて成績が向上することなどを確認した。一方、高強度運動では、副腎の肥大、胸腺の萎縮、高 CORT 血漿など慢性的なストレス反応亢進を示す症状が確認され、更に新生成熟神経細胞数やプローブテストの成績は不変であることを確認した。これらの結果から、海馬機能の向

上には AHN を促進する 6 週間のストレスフリーの低強度 (<LT) 運動が有効であることが初めて明らかになった。最後に、この海馬機能に対する運動効果が異なる 6 週間の走運動トレーニングモデルを用い、マイクロアレイによる海馬遺伝子発現の網羅的解析と IPA による因子・機構の絞り込みから、低強度運動が AHN および海馬機能を高める包括的な分子機構を高強度運動との比較から検討した。マイクロアレイにより、低強度運動が高強度運動よりも多くの遺伝子発現を変化させ、そのうちの 93% の遺伝子が低強度運動特異的に変化すること、変化がみられた遺伝子のなかに BDNF や IGF1 などのこれまで運動時の海馬適応への関与が想定された因子が含まれないことを確認した。これは、低強度運動が高強度運動とは独立した新たな機構を介して AHN や海馬機能を高める可能性を示唆する。また、IPA ではマイクロアレイで変化を確認した遺伝子のうち、AHN と関連がある遺伝子に標的を定め、新たな機構の統計的 ($p < 0.05$) 推定を行った。その結果、タンパク質の合成促進 (IGF2-IRS1-PI3K/Akt 経路の活性化)、コレステロールの輸送 (APOE の活性化)、軽度の炎症反応の促進 (IL1B の活性化と TNF の抑制) に関わる機構や因子が低強度運動で高まる AHN を担う新たな経路として推定された。IGF2-IRS1-PI3K/Akt 経路は新生細胞の生存・成熟の促進に寄与することが報告されており、低強度運動でのみ新生成熟神経細胞の数が増加した背景にはこれらの因子の関与が想定され興味深い。今後は、これら IGF2 を中心とした遺伝子の変化が低強度運動による AHN の促進と関係しているか否か、遺伝子改変動物や特異的拮抗薬などを用いて明らかにする必要がある。

本研究の知見は、これまでの運動条件を無視してきた研究とは異なり、海馬の機能向上に有効な低強度運動モデルで重要となる因子の絞り込みを行った。ストレスフリーの低強度運動は体力レベルの低い人でも気軽に実施可能であることから、これらの因子は、子どもやお年寄り、アルツハイマーといった神経変性疾患患者で海馬機能を高めるさいにも、その標的になる可能性が高いと考えられる。

平成 27 年 6 月 8 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (体育科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。