

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23240091

研究課題名(和文)低強度運動が認知機能を増強する分子基盤の解明：新たな運動処方の開発を目指して

研究課題名(英文)Molecular mechanisms of mild exercise enhance cognitive function : Developing a novel exercise protocol for the mind

研究代表者

征矢 英昭(SOYA, Hideaki)

筑波大学・体育系・教授

研究者番号：50221346

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 37,100,000円

研究成果の概要(和文)：運動は骨・筋のみならず脳、とりわけ認知機能を司る海馬に作用し、神経新生や認知機能の向上など有益な効果をもたらす。研究代表者らは、これまでに低強度運動でも十分に海馬の可塑性が高まることを明らかにしたが、そのメカニズムは未だ不明である。そこで、本研究では、低強度運動が海馬機能を高める分子基盤について検証した。その結果、低強度の運動効果は、アストロサイトの神経栄養効果や海馬で合成されるニューロステロイドの作用を介すことを明らかとなった。また、遺伝子発現の網羅的解析により、脂質代謝やタンパク質合成に関連した新たな分子基盤を同定した。これらの知見は、低強度運動の効果を解明する糸口となることが想定される。

研究成果の概要(英文)：Physical exercise has a powerful impact on the brain as well as muscles. Especially, it is well known that exercise enhances hippocampal neurogenesis and function. Currently, we have demonstrated that mild exercise is enough to enhance hippocampal plasticity. However, the molecular mechanisms of mild exercise enhance hippocampal function is unknown. To address this issue, we examined what factors and pathways regulate the exercise effects. Our results showed that the neurotrophic factor from astrocyte and neurosteroid synthesized in hippocampus regulated the mild exercise-induced neurogenesis. Furthermore, Ingenuity Pathway Analysis algorithms revealed that the mild exercise-influenced genes were principally related to lipid metabolism and protein synthesis. These evidences might serve in further elucidating the mechanism behind mild exercise induced cognitive gain.

研究分野：運動生化学

キーワード：低強度運動 海馬 認知機能 神経新生 アストロサイト ニューロステロイド マイクロアレイ IPA
解析

1. 研究開始当初の背景

運動は骨・筋のみならず脳、とりわけ認知機能を司る海馬に作用し、ニューロン(神経)新生や認知機能の向上など、急増するうつ病や認知症の改善にも有益な効果をもたらす。この運動効果の作用機序解明は、運動が筋同様に脳の可塑性を高めることを裏付け、脳機能を高める運動処方開発などへの貢献が期待される。研究代表者らは最近、独自の運動モデルを駆使し、低強度運動でも海馬が十分に活性化し、トレーニングでは神経新生を増強することを明らかにした。その際、神経周囲に存在するアストロサイトや種々のホルモン作用の関与が想定された(*Neuron*, 2010)が、その最適な運動条件や背景となる神経基盤(脳機構)は不明であり、認知機能を高める運動条件はいまだ決着をみない。

2. 研究の目的

本研究では、低強度運動が海馬機能を高める分子基盤を明らかにすることを目的とし、運動効果を仲介する因子としてアストロサイトから分泌される Wnt3a タンパク質やニューロステロイドの検証、およびその分子経路について網羅的な解析を実施した。

3. 研究の方法

(1) 実験1: 低強度運動がアストロサイトに及ぼす影響
グリアの一種であるアストロサイトから分泌される Wnt タンパク質の分泌と作用を通じて神経幹細胞から神経の分化に決定的役割を演ずるとする仮説が提唱され(研究分担者の桑原ら、*Nat Neurosci*, 2009)、アストロサイトが低強度運動誘発性の神経新生に対し、主要な役割を担っていることが想定される。そこで、実験1では低強度運動がアストロサイトの増殖を促し、神経新生に促進的に作用するか Wnt-3a タンパク質発現を高めるか検討した。被験動物には12週齢の C57/BL6 雄性マウスを用い、低強度(15 m/min)群、高強度(30 m/min)群、対照群の3群を設け、1日30分、週5回の走運動トレーニングを2週間課した。新生細胞のマーカーである BrdU はトレーニング最終週を迎えた全ラットに運動開始1時間前に腹腔内投与し、トレーニング終了2日目にサンプリングを実施した。摘出した脳から海馬歯状回を含む前額断切片を作成し、免疫組織化学染色法により神経新生を評価した。

(2) 実験2: 低強度運動が海馬ニューロステロイド合成を高めるか
これまでに低強度運動による神経新生増加は、その効果は精巣摘出ではなく、アンドロゲン拮抗薬により消失することを明らかにした。アンドロゲンは海馬でも合成されることから、低強度運動は海馬のアンドロゲン濃度を高め、神経新生を促進している可能性が高い。

被験動物には Wistar 系雄性ラットを用い、神経新生を高める2週間の低強度運動を課した。その後、有機溶媒により海馬からステロイドホルモンを抽出した。これまで海馬ニューロステロイドの定量は困難だとされてきたが、本実験では共同研究者である川戸教授らが確立した、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)および新規誘導体と LC-MS/MS(液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法)を併用する方法を用い、定量した。

(3) 実験3: 低強度運動が海馬機能を高める分子基盤の網羅的探索

海馬で合成されるニューロステロイドやアストロサイトから分泌される Wnt3 の関与を報告した。しかし、促進因子の同定だけでは、分子機構として十分とは言えない。これまで報告されている脳由来神経栄養因子(BDNF)やインスリン様成長因子(IGF-I)なども含め包括的な作用機序の検討が必要である。そこで実験3では、低強度運動による海馬機能の向上に関わる分子基盤の網羅的な探索を行った。実験はこれまでと同様に Wistar 系雄性ラットを用い、安静群、低強度群、高強度運動群の3群に分けた。6週間のトレッドミル走運動を行わせた後、海馬の機能である空間学習能力を評価するモリス水迷路を実施、その後、海馬を摘出、解析を行った。分子基盤の探索には遺伝子発現の網羅的解析が可能なマイクロアレイを用い、その情報を基に Ingenuity Pathways Analysis (IPA) によって各運動条件で変化がみられた遺伝子ネットワークの推定を行った。

4. 研究成果

(1) 実験1:
海馬歯状回アストロサイト数および新生アストロサイト数は各群間いずれの部位においても有意な差はみられなかった。一方、低強度運動は神経分化を促すアストロサイトの Wnt3 発現を高めることを明らかにした(図1)。アストロサイトは活性化することで神経栄養因子の産生や分泌を促進し、神経細胞に作用することが想定されるので、2週間の走運動トレーニングはアストロサイト数の増加ではなく活性化(viability)を促すことで神経新生の促進している可能性がある。アストロサイトが分泌する Wnt3 は Wnt- β カタニン経路を介して神経幹細胞の神経細胞分化を促すことから、運動で活性化したアストロサイトが神経細胞や神経幹細胞に対して神経栄養因子を介した神経栄養的役割を担っていると考えられる。

(2) 実験2:
低強度運動は海馬のアンドロゲン(DHT)濃度を高め、その効果は精巣摘出したラットでも同様であることが明らかになった。これまで、性ステロイドはアンドロゲンであるテストステロンからエストラジオール(E2)に変

換されて作用するとされてきたが、海馬のE2濃度に有為な差は見られなかった（図2）。この結果は海馬アンドロゲン、特にDHTが神経新生を促進する新たな因子であることを示唆する。これまでアンドロゲンは精巣から分泌され血液を介して脳に作用すると考えられてきたが、低強度運動は血液ではなく、海馬のアンドロゲン合成を高め、神経新生を促進していることが想定される。

(3) 実験3：

6週間の低強度運動は海馬の神経新生や空間記憶能力を高めた。一方、高強度運動群ではこれらの効果は見られなかった。この時、低強度運動では604個、高強度運動では415個の遺伝子に変化がみられ、両強度で共に変化がみられた遺伝子はわずか41個であった（図3）。これらの遺伝子の中に、脳由来神経栄養因子やインスリン様成長因子など、過去に運動に伴う海馬の機能向上に関与することが報告されている遺伝子は含まれていなかった。またIPAにより、低強度運動では特に脂質代謝（*ApoE*, *Cd36*）やタンパク質合成（*Igf2*, *Irs1*）に関わる遺伝子群に変化がみられることが明らかになった（図4）。これらの結果は過去に想定されていた機構とは異なり、脂質代謝やタンパク質合成が低強度特異的な機構として海馬機能の向上に寄与していることを示唆する。特に、APOEはアンドロゲンの基質となるコレステロールの輸送に関わることから、脂質代謝に関連する経路は、低強度運動が海馬機能を高める分子機構として、特に重要なものかもしれない。

ストレスを伴わない軽運動は体力レベルの低いヒトでも、気軽に実施可能であることから、子どもやお年寄りにとって朗報と言える。また、本研究で同定した脂質代謝の異常はアルツハイマー病（AD）の一因とされており、今後、ADを含む神経変性疾患患者における運動効果を検証する際にも、本研究により得られた知見は有用であることが想定される。

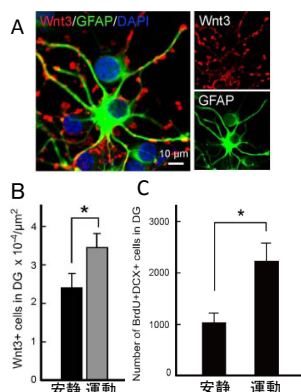


図1 2週間の低強度運動がWnt3発現に及ぼす影響 (A) Wnt3 (赤)免疫組織化学染色画像 (B) Wnt3発現量 (C) 新生幼若神経細胞数 (BrdU+/DCX+)

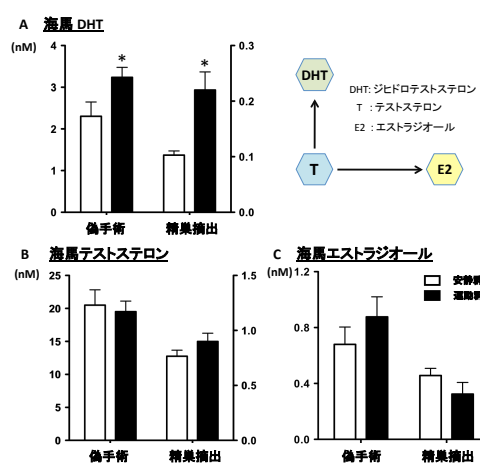


図2 2週間の低強度運動がニューロステロイド合成に及ぼす影響 (A) 海馬DHT (B) 海馬テストステロン (C) 海馬エストラジオール

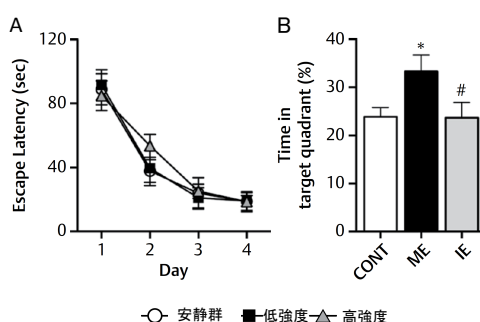


図3 低強度運動が海馬機能（モリス水迷路課題）に及ぼす影響 (A) 課題学習時間 (B) 記憶の保持・想起

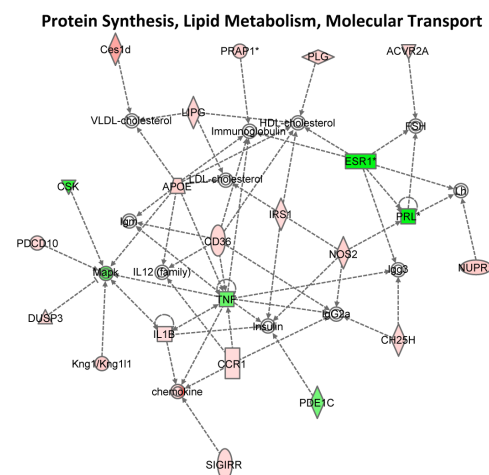


図4 IPA解析により同定された分子経路の一例 (詳細はInoue, PLoS ONE, 2015参照)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 21 件)

- Inoue K, Hanaoka Y, Nishijima T, Okamoto M, Chang H, Saito T, Soya H, Long-term mild exercise training enhances hippocampus-dependent memory in rats. International Journal of Sports Medicine, 査読有, 36 巻, 2015, 280-285
DOI: 10.1055/s-0034-1390465

- ② Okamoto M, Hojo Y, Inoue K, Matsui T, Kawato S, McEwen BS, Soya H. Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. PNAS, 査読有, 109 巻, 2012, 13100-13105
DOI: 10.1073/pnas.1210023109
- ③ Okamoto M and Soya H. Mild exercise model for enhancement of hippocampal neurogenesis: A possible candidate for promotion of neurogenesis. JPFMS, 査読有, 1 巻, 2012, 585-594
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpfsm/1/4/1_585/_pdf
- ④ Lee MC, Okamoto M, Liu YF, Inoue K, Matsui T, Nogami H, Soya H. Voluntary resistance running with short distance enhances spatial memory related to hippocampal BDNF signaling. Journal of Applied Physiology, 査読有, 2012, 1260-1266
- ⑤ Okamoto M, Inoue K, Iwamura H, Terashima K, Soya H, Asashima M, Kuwabara T. Reduction in paracrine Wnt3 factors during aging causes impaired adult neurogenesis. The FASEB Journal, 査読有, 25 巻, 2011, 3570-3582
DOI: 10.1096/fj.11-184697

〔学会発表〕(計 115 件)

- ① Soya H, Okamoto M, Ochi G, Yook J. Hair cortisol as a chronic stress marker for endurance athletes to avoid overtraining. 2014 KNSU International Conference (招待講演), 2014.11.6, ソウル (韓国)
- ② 征矢英昭. 海馬の活性化と可塑性を高める軽運動効果: 新たな運動プログラムの開発をめざして. 第 36 回日本生物学的精神医学会 第 57 回日本精神化学会 (招待講演). 2014.10.1, 奈良県文化会館 (奈良県奈良市)
- ③ 征矢英昭. 運動強度・神経活性相関と脳機構: 楽しい高強度インターバル運動効果. 第 69 回日本体力医学会大会 (招待講演). 2014.9.20, 長崎大学文教キャンパス (長崎県長崎市)
- ④ Soya H. Mild exercise enhances hippocampal neurogenesis and cognitive functions. International Sports Science Conference 2013 (招待講演). 2013.11.22, タンジュンマリム (マレーシア)
- ⑤ 征矢英昭. たくましい心を育む脳フィットネス. 第 15 回 Macnab

Memorial Lecture (招待講演), 2013.11.16, 郡山ビューホテル (福島県郡山市)

〔図書〕(計 40 件)

- ① 征矢英昭 他. 丸善出版, リッピンコットシリーズ イラストレイテッド生理学, 2014, 640 (553-564)
- ② Matsui T and Soya H. Springer, Social Neuroscience and public health: Brain glycogen decrease and supercompensation with prolonged exhaustive exercise, 2013, 318 (253-264)
- ③ 征矢英昭 他. 大修館書店, からだの発達と加齢の科学: 内分泌機能の発達と加齢変化. 2012, 261 (84-97)
- ④ 岩村弘基, 征矢英昭. シーエムシー出版, アスタキサンチンの機能と応用: 海馬の可塑性とアスタキサンチン, 2012, 242 (66-72)

〔その他〕

ホームページ等

征矢研究室 ホームページ
<http://soyalab.taiiku.tsukuba.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

征矢 英昭 (SOYA, Hideaki)
筑波大学・体育系・教授
研究者番号: 50221346

(2) 研究分担者

桑原 知子 (KUWABARA, Tomoko)
独立行政法人産業技術総合研究所・幹細胞工学センター・研究員
研究者番号: 90358391

研究分担者

川戸 佳 (KAWATO, Suguru)
東京大学・総合文化研究科・教授
研究者番号: 50169736

研究分担者

劉 宇帆 (LIU, Yu-Fan)
筑波大学・体育系・研究員
研究者番号: 90599680