

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17605

研究課題名（和文）一過性の高強度運動に伴う乳酸の増加が空間作業記憶の向上に關与するか否か

研究課題名（英文）Does lactate increase by a single high-intensity exercise contribute to the enhancement of working memory?

研究代表者

朴 ジョンヒョク（PARK, Jonghyuk）

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・研究員

研究者番号：80835843

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：近年、神経細胞への乳酸添加が細胞内NADH/NAD<sup>+</sup>比を高め、神経可塑性関連の初期応答遺伝子（IEGs）の発現を高めることが報告されている。そこで、非運動群と比較して30分間の高強度のトレッドミル走運動を課したマウスにおいては運動後にY字型迷路試験による短期作業記憶の向上、並びにIEGs（Arc, c-Fos, Zif268）mRNA発現量の増加が認められた。さらに、マウスの腹腔内へ乳酸投与は海馬のNADH/NAD<sup>+</sup>比を増加させる傾向を示したことから、運動由来の乳酸が海馬のNADHの増加およびIEGsの発現量の増加に寄与し、短期作業記憶の向上効果をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

定期的な運動が脳機能を向上させ、認知症の予防効果をもたらす。近年、運動による骨格筋から生理活性物質の増加がアルツマイマー病でみられる記憶力の低下、認知障害に対して防御的な効果を示す。そのうち乳酸は脳、特に海馬の神経細胞を活性化し作業記憶を向上させる重要な因子と考えられている。本研究の成果は、血中乳酸濃度を高める強度の一過性運動においても短期作業記憶の向上効果を示し、その機序にはIEGsの発現を高めるNADH/NAD<sup>+</sup>比の増加が重要な役割を果たす可能性が示唆された。従って、今後、健康の維持増進のために高強度運動を推奨していく上で重要な基礎的研究結果となり得ることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Lactate to neurons increases the intracellular NADH/NAD<sup>+</sup> ratio, which stimulates the expression of synaptic plasticity-related genes such as Arc, c-Fos, and Zif268 (Immediate-early genes; IEGs). Therefore, we examined whether treadmill running enhanced working memory in the Y-maze test compared to the non-exercise mice. Mice subjected to high-intensity, but not moderate intensity, showed increased working memory compared with non-exercise mice. In addition, in high-intensity exercising mice, the hippocampal IEGs mRNA expressions were increased compared to non-exercise mice and moderate intensity. Furthermore, the intraperitoneal administration of 10 mM lactate into mice showed a tendency to increase the NADH/NAD<sup>+</sup> ratio in the hippocampus, indicating that exercise-derived lactate may cause an increase in NADH of the hippocampus, contributing to increased expression of IEGs. The results suggest a beneficial effect of high-intensity exercise on short-term working memory.

研究分野：運動生理学

キーワード：高強度運動 作業記憶 乳酸 NADH/NAD<sup>+</sup>

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

最近、空間的作業記憶は脳の前頭前野だけではなく海馬により調節されていると考えられている。一方、乳酸は脳、とりわけ記憶を担う海馬神経細胞の活動に主要なエネルギー基質であり、認知機能に影響する。一過性の高強度運動は、血中乳酸濃度の増加を伴わない強度の運動と比較して、海馬の PGC-1 $\alpha$  およびミトコンドリア DNA の増加をもたらすことが明らかにされている (Park ら、2021)。しかし、これらのことが運動後の作業記憶能に及ぼす影響については不明であった。近年、初代培養神経細胞に対する 20 mM の乳酸添加は、細胞内の NADH/NAD<sup>+</sup> 比を高め、それが NMDA 受容体を活性化し、その下流の ERK1/2 を含むシグナル伝達経路を活性化して神経可塑性関連の初期応答遺伝子群 (Immediate-early genes; IEGs) Arc, c-Fos, Zif268 の発現を高めることが報告されている (Yang ら、2014)。さらに、ERK1/2 の活性は記憶・学習に関わる脳由来神経栄養因子 (BDNF) を増加させる (M. Alonso ら、2004)。しかし、これらの先行研究は *in vitro* 実験による結果を示しており、*in vivo* 実験系の検討はされていない。この背景を踏まえ、マウスへの乳酸産生を引き起こす運動負荷は、作業記憶能の増加をもたらす、その機序について乳酸は海馬の NADH/NAD<sup>+</sup> 比を増加させ、IEGs 発現の増加に寄与し空間的作業記憶の向上に関与するという仮説を立てた。

### 2. 研究の目的

- (1) 血中乳酸濃度の増加をもたらす一過性の疲労困憊運動 (高強度運動) が Y 字型迷路試験による短期作業記憶能を高めるか否か、また作業記憶の増加に海馬における IEGs 発現量の増加が関与するか否かを明らかにすることを目的とした。
- (2) 乳酸の腹腔内投与が短期作業記憶能に対する一過性運動の効果を発揮するか否かについて検討した。
- (3) 腹腔内への乳酸投与により海馬の NADH/NAD<sup>+</sup> 比を高めるか否かを検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

- (1) 8 週齢の雄 C57BL/6J マウスを①非運動群 (non-Ex)、②中強度運動群 (30m/min)、③高強度運動群 (All-out) の 3 群に分けた。①は非運動群として 30 分間トレッドミル上に置き、②はトレッドミル速度 30m/分で 30 分間の走運動を課した。③はトレッドミル速度 20m/min より開始、1 分間走運動を行い、10 秒間の休憩をはさみ 3 回行うことを 1 セットとし、3 セット後に 5m/min ずつ速度を上げ、マウスが疲労困憊に至るまでの高強度走運動を課した。また、運動直後には血中乳酸濃度の測定を行った。さらに、運動 30 分後、短期作業記憶を評価するために Y 字型迷路 (Y-maze) 試験を 10 分間実施し、その後海馬を摘出し、リアルタイム qRT-PCR 法により IEGs (Arc, c-Fos, Zif268) mRNA 測定を行った。
- (2) 上記と同週齢のマウスを用いて①処置なし群 (コントロール)、②乳酸投与群、③乳酸+4-CIN 投与群の 3 群に分けた。①と②には Vehicle を、③には神経細胞への乳酸の取り込みを担う MCT2 の阻害剤 4-CIN を腹腔内に投与し、30 分後に Saline または乳酸を投与した。さらに、その 30 分後に(1)と同様の Y-maze 試験を行った。
- (3) マウスの腹腔内へ乳酸を投与し、30 分後に海馬を摘出し NAD/NADH Assay Kit を用いて NADH/NAD<sup>+</sup> 比の測定を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 運動直後の血中乳酸濃度は non-Ex 群と比較して 30m/min 群および All-out 群ともに有意な増加が認められた (図 1A)。しかし、Y-maze 試験では non-Ex と比較して All-out 群のみ短期作業記憶能の増加が認められた (図 1B)。さらに、海馬における IEGs mRNA 発現量においても non-Ex 群と比較して 30 m/min 群で有意な増加が認められず、All-out 群では Arc、c-Fos、Zif268 いずれも有意な増加が認められた (図 1C)。

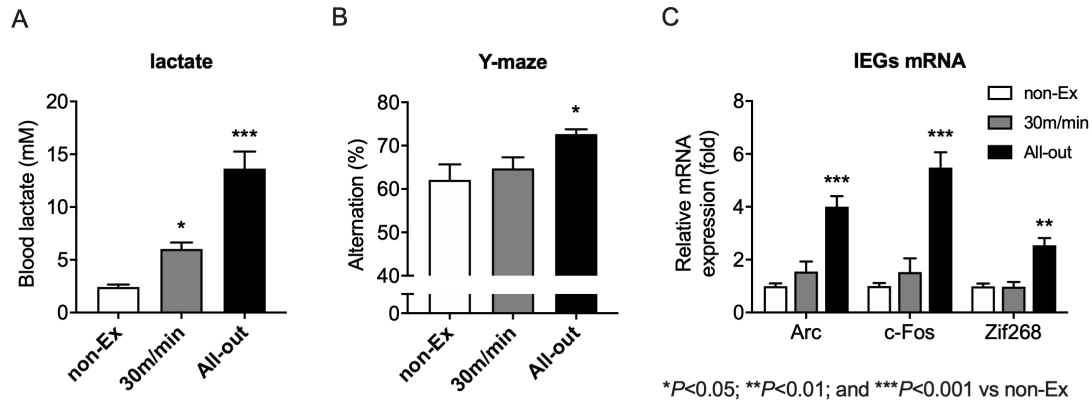


図 1. 一過性運動後の (A) 血中乳酸濃度、(B) 自発交賛行動率 (Y-maze)、(C) 海馬 IEGs mRNA 発現量の変化

(2) この実験では、コントロール群と比較して乳酸投与および乳酸投与+4-CIN 群、両群ともに Y-maze の自発交賛行動率の変化は認められなかった。しかし、3、(2)の実験では Y-maze 試験の際、乳酸投与後にいずれも各アームに進入回数が異常に少なかったため、正確な自発交賛行動率の評価ができなかった。これらはマウスへの乳酸投与が短期作業記憶に影響しないことの結果であるが、マウスへの乳酸投与量、投与時間帯等が適切ではなかった可能性があるため、(今後再び実験計画を見直して) 再検討する予定である。

(3) 3、(3)のマウスへの腹腔内乳酸投与は海馬における NADH/NAD<sup>+</sup>比を増加させる傾向を示した。

#### (4) まとめ

中強度および高強度運動を課したマウスにおいて 30 分間の走運動により血中乳酸濃度の増加が認められたが、Y-maze 試験による自発交賛行動率は異なる結果が得られた。この結果から、一過性運動後の短期作業記憶能の増加には血中乳酸濃度 10 mM 以上を示す強度の運動が必要である可能性が示された。同様に海馬の IEGs mRNA 発現量の増加にも中強度運動より高強度運動で顕著な増加が認められた。さらに、乳酸は海馬の NADH/NAD<sup>+</sup>比を高める傾向を示したことから、運動により血中で増加する乳酸が、その後海馬の IEGs を高める因子の一つとして作用し、運動の作業記憶向上効果に重要な役割を担う可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Park Jonghyuk, Kim Jimmy, Mikami Toshio	4. 巻 433
2. 論文標題 Exercise hormone irisin prevents physical inactivity-induced cognitive decline in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 114008 ~ 114008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2022.114008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kim Jimmy, Park Jonghyuk, Mikami Toshio	4. 巻 16
2. 論文標題 Regular low-intensity exercise prevents cognitive decline and a depressive-like state induced by physical inactivity in mice: a new physical inactivity experiment model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 866405-866405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2022.866405	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Park Jonghyuk, Kim Jimmy, Mikami Toshio	4. 巻 12
2. 論文標題 Exercise-Induced Lactate Release Mediates Mitochondrial Biogenesis in the Hippocampus of Mice via Monocarboxylate Transporters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 736905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2021.736905	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mikami Toshio, Kim Jimmy, Park Jonghyuk, Lee Hyowon, Yaicharoen Pongson, Suidasari Sofya, Yokozawa Miki, Yamauchi Ken	4. 巻 11
2. 論文標題 Olive leaf extract prevents obesity, cognitive decline, and depression and improves exercise capacity in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-90589-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 朴 ジョンヒョク、金 芝美、三上 俊夫
2. 発表標題 身体不活動の認知機能低下に対する運動ホルモンirisinの予防効果
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金 芝美、朴 ジョンヒョク、三上 俊夫
2. 発表標題 定期的な運動は加齢に伴う海馬NAD+量の低下を抑制して認知機能の低下を改善するか否か
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三上 俊夫、金 芝美、朴 ジョンヒョク
2. 発表標題 トレッドミル走後の骨格筋からのIGF-1放出をin vitroの実験系で検証する
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------