

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 18 日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700775

研究課題名(和文) 運動が海馬機能を高める分子基盤の解明：細胞外プロテアーゼに着目して

研究課題名(英文) Importance of extracellular proteases in mediating exercise-induced promotion of hippocampal plasticity

研究代表者

西島 壮(Nishijima, Takeshi)

首都大学東京・人間健康科学研究科・助教

研究者番号：10431678

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：細胞外プロテアーゼであるマトリックスメタロプロテイナーゼ9(MMP-9)は、細胞外環境のリモデリングを通じて神経機能を調節する。そこで本研究は、「運動による海馬神経機能の向上にMMP-9が関与する」という作業仮説を検証することを目的とした。実験の結果、ラットに一過性の低強度トレッドミル走運動を行わせた12時間後に、海馬MMP-9酵素活性が上昇することが明らかとなり、この結果は本仮説を一部支持する。今後は、MMP-9活性の抑制が運動による神経新生促進を阻害するか検証する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), an extracellular protease, plays a critical role in regulating neuronal function through remodeling of extracellular matrix. In this study, we have investigated whether MMP-9 is involved in exercise-induced promotion of hippocampal plasticity. We found that MMP-9 proteolytic activity in the rat hippocampus was increased at 12 h after a bout of treadmill running at mild intensity, which partially supports our hypothesis. Further studies are needed to examine whether inhibition of MMP-9 activity diminishes exercise-induced promotion of hippocampal plasticity, such as neurogenesis

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：マトリックスメタロプロテイナーゼ MMP-9 低強度運動 海馬 細胞外環境

1. 研究開始当初の背景

運動は記憶・学習を担う海馬の神経細胞を新生させるなど構造的変化をひき起こし、その神経機能を高める。しかしながら、海馬に対する運動効果の背景にある分子メカニズムの全容は、未だ明らかにされていない。

脳神経系の機能は、それを構成する各種細胞（神経細胞、グリア細胞など）に加え、脳容積の約 20%を占める細胞外環境によって下支えされている。そして細胞外環境の調節には、細胞外プロテアーゼ（タンパク分解酵素）の働きによって細胞外環境が再構築されることが重要となる。海馬においてはマトリックスメタロプロテイナーゼ-9 (matrix metaroproteinase-9, MMP-9) の発現量が高く、MMP-9 は海馬の神経機能の調節に重要な役割を担うことが知られている。しかしながら、これまで運動による海馬神経機能の向上に関わる分子メカニズムとして細胞外環境に着目した研究は非常に少なく、MMP-9 が関与するか否かは明らかにされていない。

そこで本研究は、「運動による海馬神経機能の向上に MMP-9 が関与する」という作業仮説を立てた。本仮説を検証するためにはまず、運動が海馬 MMP-9 酵素活性を高めるか否かを明らかにする必要がある。これまで我々は、運動が海馬神経活動を高めることを明らかにした (Nishijima et al., 2012)。そして神経活動の活性化は MMP-9 酵素活性の上昇させるトリガーとなる (Nagy et al., 2007)。したがって、一過性運動後に MMP-9 酵素活性が上昇する可能性は極めて高い。

2. 研究の目的

本研究は、「運動による海馬神経機能の向

上に MMP-9 が関与する」という作業仮説を検証する第一歩として、一過性運動が海馬 MMP-9 酵素活性を高めるか否か明らかにすることを目的とした。なお、海馬の神経活動は運動強度に依存して活性化する (Lee et al., 2003)。また、神経活動の活性化から MMP-9 の酵素活性が上昇するまでには 12~24 時間かかることが報告されている (Nagy et al., 2007)。そこで、本研究においても、運動強度と運動終了後の経時的変化を考慮し、一過性運動後の MMP-9 酵素活性の変化を解析した。

3. 研究の方法

実験には、Wistar 系雄性ラットを用いた。ラットに異なる運動強度 (対照群:0 m/分、低強度群:10 m/分、高強度群:25 m/分) の一過性トレッドミル走運動 (30 分間) を行わせ、運動終了の直後、および 6、12、24 時間後に深麻酔下で海馬を採取した。MMP-9 酵素活性は、ゲルザイモグラフィ法により定量・解析した。

4. 研究成果

まず、本研究で用いたゲルザイモグラフィ法の妥当性を検証した。カイニン酸は、海馬の神経活動を強く活性化させ、MMP-9 酵素活性を上昇させることが知られている。そこで本研究においてもカイニン酸投与による MMP-9 酵素活性増加を再現できるか検証した。その結果、ラットにカイニン酸 (10 mg/kg BW) を投与した 24 時間後の海馬において、先行研究と同様の顕著な MMP-9 酵素活性の増加を確認できた (図 1、左)。さらに、メタロプロテイナーゼの非特異的阻害剤

である EDTA (10 mM) を酵素反応促進液に加えると、先行研究と同様に MMP-9 の作用によるゼラチン分解は完全に抑制されることを確認した (図 1、右)。

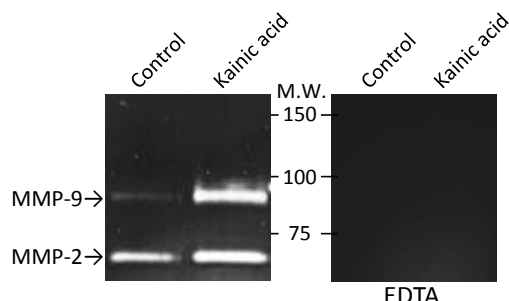


図 1. ゲルザイモグラフィ法の妥当性の検証

図 2 に、一過性トレッドミル走運動後の海馬 MMP-9 酵素活性の変化を示した。解析の結果、低強度トレッドミル走運動 (10 m/分) を行った 12 時間後に、MMP-9 酵素活性が有意に上昇することが明らかとなった。高強度トレッドミル走運動 (25 m/分) では、6~24 時間後に対照群と比較して MMP-9 酵素活性が高まる傾向がみられたが、統計的有意差は認められなかった。

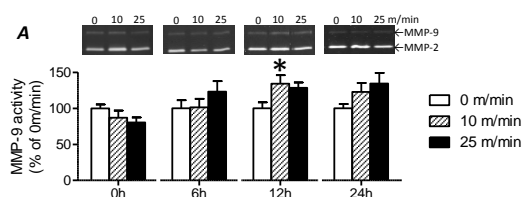


図 2. 一過性トレッドミル走運動後の海馬 MMP-9 酵素活性の変化 MMP-9 酵素活性は、各時点における対照群を 100%とした相対値で示した。n = 8-9, Mean±SE, * P < 0.05.

以上の結果から、低強度運動後に海馬 MMP-9 酵素活性が上昇することが明らかに

なった。先行研究より、低強度運動が海馬における神経新生を促進させることが報告されている (Okamoto et al., 2012)。新たに生まれた神経細胞が既存の神経ネットワークに動員されるためには細胞外環境の再構築が必要であり、実際に MMP-9 が神経新生の調節に関与することも明らかにされつつある。したがって、長期間の運動による海馬神経新生の促進には MMP-9 による細胞外環境の再構築が関与している可能性は高い。今後は MMP-9 抑制が運動による神経新生を阻害するか、検証する必要がある。

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 3 件)

1. Nishijima T, Kawakami M, Kita I. Long-Term Exercise Is a Potent Trigger for Δ FosB Induction in the Hippocampus along the dorso-ventral Axis. PLoS ONE, 8(11): e81245. doi:10.1371/journal.pone.0081245, 2013. (査読有)
2. Nishijima T, Llorens-Martin M, Tejada GS, Inoue K, Yamamura Y, Soya H, Trejo JL, Torres-Aleman I. Cessation of voluntary wheel running increases anxiety-like behavior and impairs adult hippocampal neurogenesis in mice, Behavioural Brain Research, 245: 34-41, 2013. (査読有)
3. Nishijima T, Okamoto M, Matsui T, Kita I, Soya H. Hippocampal

functional hyperemia mediated by NMDA receptor/NO signaling in rats during mild exercise. *Journal of Applied Physiology*, 112:197-203, 2012.

(査読有)

[学会発表] (計 10 件)

1. Nishijima T, Hosokawa M, Amemiya S, Kita, I. Intensity-dependent effects of background noise on motor learning and performance in mice. Annual Meeting of International Behavioral Neuroscience Society, Ireland, June 2013.
2. 西島 壮、征矢英昭、Torres-Aleman I、神経-血管-栄養因子連関を促す運動効果、シンポジウム「脳は筋肉と同様に変わるのか?」、第 68 回日本体力医学会大会、東京、2013 年 9 月
3. 西島 壮、市川里沙、北 一郎、自発運動中断による不活動化がマウス海馬における炎症性サイトカイン発現に及ぼす影響、第 68 回日本体力医学会大会、東京、2013 年 9 月
4. 川上将史、北 一郎、西島 壮、一過性トレッドミル走運動に対するラット海馬における MMP-9 活性応答の解明、第 68 回日本体力医学会大会、東京、2013 年 9 月
5. Nishijima T, Tamata H, Kita I. Voluntary wheel running that enhances neurogenesis does not activate microglia in the mice hippocampus. APS Intersociety Meeting: The Integrative Biology of

Exercise VI, Colorado, USA, October, 2012.

6. Nishijima T, Kita I. Constitutive Neuronal Activation in the Mouse Brain with 4 weeks of Voluntary Running, Neuroscience2012, Nagoya, Japan, September, 2012.
7. 西島 壮、北 一郎 「長期間の自発走運動によって活性化する脳部位のマッピング」、第 67 回日本体力医学会大会、岐阜、2012 年 9 月
8. 細川万智、雨宮誠一郎、北 一郎、西島 壮 「環境ストレスが運動学習および運動パフォーマンス発揮に及ぼす影響とその神経メカニズム」、第 67 回日本体力医学会大会、岐阜、2012 年 9 月
9. 玉田 光、北 一郎、西島 壮 「自発走運動がマウス海馬のミクログリア活性に及ぼす影響」、第 67 回日本体力医学会大会、岐阜、2012 年 9 月
10. Nishijima T, Itagaki T, Amemiya S, Kubota N, Motoki C, Kita I. Withdrawal of habituated wheel running decreases cell proliferation and the number of immature neuron in the mice hippocampus through the BDNF-independent pathway. 8th IBRO World Congress of Neuroscience, Florence, Italy, July, 2011.

[図書] (計 1 件)

1. 西島 壮 (富樫健二 編)、化学同人、初めて学ぶ健康・スポーツ科学シリーズ 3 「スポーツ生理学」、2012、「スポーツと内分泌・ストレス (pp71-84)」、「スポー

ツと脳機能 (pp85-96)」を分担執筆

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.comp.tmu.ac.jp/behav-neurosci/
index.html](http://www.comp.tmu.ac.jp/behav-neurosci/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西島 壮 (TAKESHI NISHIJIMA)

首都大学東京・大学院人間健康科学研究
科・助教

研究者番号 : 10431678

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし