

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350825

研究課題名(和文) グルココルチコイドは高強度運動による海馬での神経新生の増加を引き起こす要因か否か

研究課題名(英文) Dose glucocorticoid induce enhance hippocampal neurogenesis following a single bout of intense exercise?

研究代表者

三上 俊夫 (Mikami, Toshio)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60199966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究においては、1回の高強度運動がもたらす海馬での神経新生の増加は高強度運動により増加するグルココルチコイドが引き金となっているか否かについて検討した。そのため、マウスにグルココルチコイド受容体(GR)拮抗薬、ミフェプリストン、を腹腔内投与してから高強度のトレッドミル走を行わせ、運動後に海馬を採取し、海馬での神経新生、脳由来神経栄養因子(BDNF)のmRNA発現を経時的に調べた。その結果、1回の高強度運動後に起こる海馬神経新生の増加には高強度運動により増加する血漿グルココルチコイドに由来する海馬での脳神経栄養因子の増加が大きな影響を及ぼしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, whether glucocorticoid has an effect on enhancement of hippocampal neurogenesis after a single of acute intense exercise is examined. The mice were intraperitoneally injected glucocorticoid receptor antagonist, mifepristone, 30 min before exercise, subjected to a single bout of intense running on treadmill and excised immediately, 6, 12 and 24 h after exercise to examine neurogenesis and expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). The findings suggested that the glucocorticoid increased after intense exercise has important effect on the enhancement of BDNF, which may be contributed to the increase of hippocampal neurogenesis caused by a single bout of intense exercise.

研究分野：運動生理学

キーワード：高強度運動 海馬 神経新生 グルココルチコイド 阻害剤 ミフェプリストン 脳由来神経栄養因子 mRNA

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究結果より、一回の高強度運動後の翌日に海馬での神経新生が増加することが明らかになっている。しかしながら、この神経新生の増加の作用機序は明らかにされていない。海馬の神経新生を増加させる重要な要因に脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor: BDNF) があり、BDNF は運動により増加する。一方で、高強度運動時には血漿グルココルチコイド濃度が増加する。グルココルチコイドの増加は Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) 経路の活性化を介して BDNF の発現を増加させる。そこで本研究では、高強度運動によるグルココルチコイドの増加、海馬での BDNF 発現増加、海馬での神経新生との関係に着目して研究をおこなった。

2. 研究の目的

本研究においては、1 回の高強度運動がもたらす海馬での神経新生の増加は高強度運動により増加するグルココルチコイドが引き金となっているか否かについて検討した。そのために各年度において、以下の目的の実験を行った。

[実験 1 (平成 25 年度)]

これまで申請者の先行研究結果より、高強度運動の 12、24、48 時間後には海馬の神経新生と Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 発現が有意に増加することが明らかになっている (Lee, in press)。この結果を踏まえて、平成 25 年度は高強度運動後の海馬の神経新生に対してグルココルチコイドが関与しているか否かについて検討した。

[実験 2 (平成 26 年度)]

昨年度の研究結果より、高強度運動の 30 分後にグルココルチコイド受容体の拮抗剤である mifepristone を腹腔内投与すると、本来、高強度運動の翌日に観察される海馬での神

経新生の増加が消失した。この結果より、一回の高強度運動後に生ずる海馬での神経新生の増加には運動により増加するグルココルチコイドが関係することが明らかになった。神経新生の増加をもたらす要因としては海馬の脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor: BDNF) が知られている。そこで、本年度は高強度運動後の海馬での神経新生の増加に BDNF が関係しているか否かについて検討した。

[実験 3 (平成 27 年度)]

平成 26 年度は高強度運動後の海馬での神経新生の増加に BDNF が関与しているか否かについて検討した。その結果、運動後 24 時間後の海馬の BDNF mRNA は 1 回の高強度運動負荷により増加し、この増加は運動前の GR 拮抗剤投与により消去される傾向がみられたが、薬剤投与による有意な差は認められなかった。この結果より、1 回の高強度運動により引き起こされる海馬での BDNF mRNA の増加にグルココルチコイドが関係している可能性は認められなかった。これらの結果を踏まえて今年度は、運動の直後、6、12 時間で BDNF mRNA を測定することを試みた。

3. 研究の方法

[実験 1]

ICR 雄マウスに 1 週間のトレッドミル慣らし走 (トレッドミル速度 10 m/分, 1 日 10 分間, 5 日間) を行かせた後、これらのマウスを (1) グルココルチコイド受容体 (Glucocorticoid Receptor: GR) 拮抗薬 (Mifepristone)、(2) ビークル、(3) GR 拮抗薬+運動、(4) ビークル+運動の 4 群に分けた。各群マウスに GR 拮抗剤を腹腔内投与し、(3) と (4) 群のマウスには投与 30 分後に高強度のトレッドミル走を負荷した。運動直後に Bromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与して運動 24 時間後に麻酔下で心臓から

生理食塩水を灌流して脱血した後解剖して脳を採取した。(1)と(2)群のマウスも同じ時間帯で解剖して脳を採取した。採取した脳をパラホルムアルデヒドで固定後、抗 BrdU 抗体を用いた免疫組織染色法により海馬歯状回の BrdU 陽性細胞を測定した。

[実験 2]

ICR 雄マウスを(1)グルココルチコイド受容体 (Glucocorticoid Receptor:GR) 拮抗薬 (Mifepristone), (2)vehicle, (3)GR 拮抗薬+運動、(4)vehicle+運動の 4 群に分けた。(3)と(4)群のマウスには vehicle または GR 拮抗剤を腹腔内投与し、その後、疲労困憊に至るトレッドミル走を負荷した。(1)と(2)群のマウスも vehicle または GR 拮抗剤を腹腔内投与した。全群マウスとも薬剤投与 24 時間後にマウスを断頭して海馬を採取し、海馬から市販の RNA 抽出キットを用いて RNA を抽出し、抽出した RNA 用いてリアルタイム PCR 法にて BDNF mRNA の定量を行った。

[実験 3]

ICR 雄マウスを(1)グルココルチコイド受容体 (Glucocorticoid Receptor:GR) 拮抗薬 (Mifepristone), (2)vehicle, (3)GR 拮抗薬+運動、(4)vehicle+運動の 4 群に分けた。(3)と(4)群のマウスには vehicle または GR 拮抗剤を腹腔内投与し、その後、疲労困憊に至るトレッドミル走を負荷した。(1)と(2)群のマウスも vehicle または GR 拮抗剤を腹腔内投与した。全群マウスとも薬剤投与または運動の直後、6 および 12 時間後にマウスを断頭して海馬を採取し、海馬から市販の RNA 抽出キットを用いて RNA を抽出し、抽出した RNA 用いてリアルタイム PCR 法にて BDNF mRNA の定量を行った。

4. 研究成果

[実験 1]

運動後 24 時間後の海馬の BrdU 陽性細胞数は 1 回の高強度運動負荷により増加し、この増加は運動前の GR 拮抗剤投与により消去される傾向がみられたが、薬剤投与による有意な差は認められなかった。この結果より、1 回の高強度運動により引き起こされる海馬での神経細胞の増殖には運動により増加するグルココルチコイドが関係している可能性が示唆された。

[実験 2]

運動後 24 時間後の海馬の BDNF mRNA は 1 回の高強度運動負荷により増加し、この増加は運動前の GR 拮抗剤投与により消去される傾向がみられたが、薬剤投与による有意な差は認められなかった。この結果より、1 回の高強度運動により引き起こされる海馬での BDNF mRNA の増加にグルココルチコイドが関係している可能性は認められなかった。

[実験 3]

運動後 6 および 12 時間後の海馬の BDNF mRNA は 1 回の高強度運動負荷により増加し、この増加は運動前の GR 拮抗剤投与により消去される傾向がみられた。この結果より、1 回の高強度運動により引き起こされる海馬での BDNF mRNA の増加にグルココルチコイドが関係している可能性は認められた。

[まとめ]

本研究においては、1 回の高強度運動がもたらす海馬での神経新生の増加は高強度運動により増加するグルココルチコイドが引き金となっているか否かについて検討した。そのため、マウスにグルココルチコイド受容体 (GR) 拮抗薬、ミフェプリストン、を腹腔内投与してから高強度のトレッドミル走を行わせ、運動後に海馬を採取し、海馬での神経新生、脳由来神経栄養因子 (BDNF) の mRNA 発現を経時的に調べた。その結果、1 回の高強

度運動後に起こる海馬神経新生の増加には高強度運動により増加する血漿グルココルチコイドに由来する海馬での脳神経栄養因子の増加が大きな影響を及ぼしていることが示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

三上 俊夫 (MIKAMI, Toshio)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60199966

(2)研究分担者

太田 成男 (OHTA, Shigeo)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：00125832

(3)連携研究者

なし ()

研究者番号：