

平成30年6月18日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K16559

研究課題名(和文) うつ病の予防・改善をもたらす運動効果:RNA-Seqによる海馬分子基盤の解明

研究課題名(英文) The effect of exercise to overcome stress and depression: Elucidation of a hippocampal molecular mechanism using RNA-Seq

研究代表者

岡本 正洋 (OKAMOTO, Masahiro)

筑波大学・体育系・助教

研究者番号：30726617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：これまで低強度運動が海馬神経新生を高め、記憶能を向上させることを報告してきた。近年、海馬、特に腹側部は情動やストレス反応の調節も担うことから、抗うつなどの運動効果でも海馬は重要な役割を果たすことが想定される。とりわけ、運動による一過性ストレスへの対処能向上のメカニズム解明は、慢性的なストレスが原因とされるうつ病などを予防する上でも有用な知見となる。そこで、本研究では低強度運動で高まるストレス耐性の神経基盤について検証した。その結果、習慣的な低強度運動は一過性のストレスによる認知機能の低下を防ぎ、その神経基盤として、海馬腹側部の遺伝子発現応答を高めていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have already demonstrated that mild exercise increased adult hippocampal neurogenesis and enhanced spatial memory. Recently, it is reported that hippocampus, especially ventral region, is associated to regulate emotion and stress response. It is assumed us that mild exercise reinforces stress resistance through the hippocampus plasticity. The aim in this study is to confirm whether mild exercise enhances stress resistance and to elucidate the mechanism. As a result, we found that mild exercise training for 6 weeks prevented the cognitive decline by acute stress. Then, RNA-Seq analysis had revealed that mice showing stress resistance had notably increased gene expressions in ventral hippocampus compared to dorsal gene expression. These results suggest that mild exercise opens a window of ventral hippocampal plasticity by enhancing gene responsiveness to acute stress. This knowledge would be a clue to prevent the psychiatric disorder related chronic stress such as depression.

研究分野：運動生化学、スポーツ神経科学

キーワード：低強度運動 海馬 ストレス耐性 うつ病 RNA-Seq

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 運動の効果は骨や筋のみならず、中枢である脳にも及び、認知機能を向上させる。特に記憶や学習を司る海馬では、運動が海馬の神経新生を高め、記憶や学習能力を向上させることが数多く報告されている (van Praag *et al.*, 1999)。これまで、どのような運動が海馬の可塑性を高めるのか、その詳細な運動条件は不明であったが、私どもは独自の運動モデルを用い、ストレスをあまり伴わない低強度運動でも海馬の神経細胞は十分に活性化し、神経新生の増加、認知機能が向上することを明らかにしてきた (Okamoto *et al.*, 2012; Inoue *et al.*, 2015)。

(2) 近年、海馬は記憶や学習だけでなく、情動やストレス反応を調節することが報告されている。先述したように、低強度運動は海馬の可塑性を高めることから、運動による抗うつ・抗不安効果の神経基盤として、海馬が重要な役割を担っている可能性が高い。ストレス対処能力の向上は、メンタルヘルスの観点から重要である。とりわけ、運動による一過性ストレスへの対処能向上のメカニズム解明は、慢性的なストレスが原因とされるうつ病などを予防する上でも基礎的な知見となるが、未だ運動で高まるストレス耐性 (stress resistance) の神経基盤については明らかではない。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では遺伝子の網羅的解析が可能である次世代シーケンサによる RNA シーケンシング (RNA-Seq) 技術を活用し、低強度運動で高まるストレス耐性の分子基盤を明らかにし、運動が心の健康増進を促す有用な手段である科学的根拠を提示することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 被験動物

雄性の C57BL6 (12 週齢) を用い、一週間の予備飼育後、安静群、運動群、ストレス群、運動+ストレス群の計 4 群にわけて、実験を実施した (各群、n=8)。

#### (2) 運動プロトコル

トレッドミルを用い、運動群には 6 週間の低強度トレーニング (分速 7m、1 回 30 分、週 5 日) を課した。マウスの運動強度は VT (換気性作業閾値) を十分に下回るように設定した。一方、安静群は運動群と同時間、トレッドミル上に安置した。

#### (3) 一過性の拘束ストレス

ストレス群には運動のトレーニング終了の 2 日後、2 時間の一過性ストレスを課した。マウスはストレス中 (呼吸用穴などが配慮された) 50ml チューブ内で拘束された。その間、対照群はホームケージで過ごした。

#### (4) 認知機能テスト (Y 迷路)

本研究では、空間作業記憶の評価する課題として Y 迷路を用いた自発的交替行動課題 (spontaneous alternation task) を実施した。ストレス終了 30 分後、マウスを Y 迷路のいずれかのアームに置き、6 分間、装置内の行動を観察した。アームへの総進入回数を自発行動の指標とし、空間作業記憶は、交代行動率 (%) = 交代行動数 / (総アーム侵入回数 - 2) X 100 により評価した。

#### (5) RNA-Seq による遺伝子の網羅的解析

運動がストレス耐性を高める分子基盤を明らかにするために、RNA-Seq による遺伝子の網羅的解析を行った。海馬は背側部と腹側部で機能が異なることが示唆されている。そこで、本研究では、行動テストの翌日、摘出した海馬を背側と腹側に分けて分画し、それぞれの RNA を抽出した。RIN (RNA Integrity Number) が 8 以上のサンプルを解析に用いた。NexSeq (Illumina) を用いてデータの取得、解析を行った (ロックフェラー大学施設を活用)。

### 4. 研究成果

#### (1) 低強度運動で高まるストレス耐性

運動トレーニングの有無に関わらず、一過性の拘束ストレスを課されたマウスでは自発行動量が有意に増加した。一方、空間作業記憶を意味する自発的交替行動課題の成績は、一過性ストレスによって有意に低下したものの、低強度の運動トレーニングしたマウスではその低下は見られなかった (図 1)。これらの結果は、6 週間低強度運動トレーニングがストレス耐性を高め、一過性のストレスによる認知機能の低下を防いだことを示唆する。

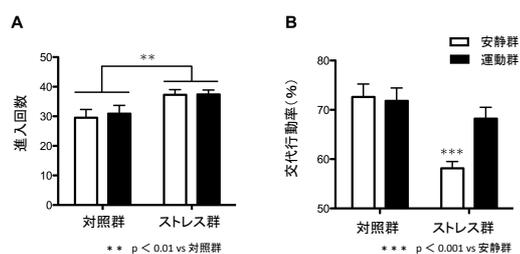


図1 低強度運動は一過性ストレスによる認知機能の低下を防ぐ

#### (2) 一過性ストレスに対する海馬の遺伝子発現応答

運動がストレス耐性を高める時に、海馬ではどのような変化が起こっているのか明らかにするために、RNA-Seq 技術を活用し、解析を行った結果、海馬の背側部と腹側部では遺伝子変動に大きな違いがあることがわかった。図 2 は安静群と各群 (運動群、ストレス群、運動+ストレス群) を比較した時に有意に変動した遺伝子の数を、背側部と腹側部に分けて明示している。背側部では、安静群と比較

し、300-500 程度の遺伝子変動であるのに対し、腹側部では、ストレス耐性を示すマウスでは安静群と比較し、1900 近い遺伝子の変動を示すことが明らかになった。このことは海馬、特に腹側部がストレス耐性に強く関与していることを示唆する。そこで、この遺伝子群に対し、DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) による遺伝子群の機能解析を実施した所、Transcription のクラスターが最上位に位置することが判明した。また、エピジェネティクス関連因子をリストアップし、4 群のヒートマップを作成した所、ストレス耐性を示したマウスでは他の 3 群比較し、エピジェネティクス関連因子の顕著な変動が見られた。

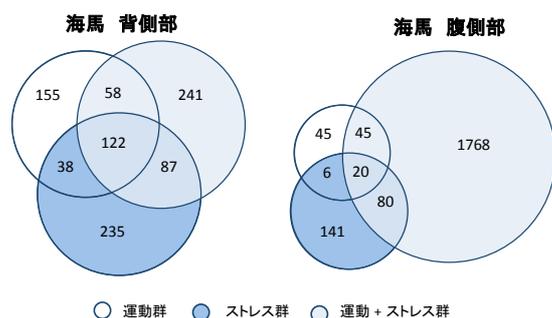


図2 背側-腹側海馬の遺伝子発現変化

### (3) まとめ

運動がメンタルヘルスを高めることはほぼ一致した見解であるが、その分子基盤は未だ不明である。本研究により、低強度運動トレーニングはストレス抵抗性を高め、その時、海馬腹側部の遺伝子発現変動が顕著であることが明らかになった。このことは、ストレスに打ち克つ神経基盤として海馬の腹側部が重要な役割を担う可能性が高いことを示唆する。今後、より詳細な分子機構の検証を重ねることで、本研究の知見が、運動によるうつ病などの精神疾患に対する予防・改善効果のメカニズム解明の糸口となることが期待される。

### <引用文献>

- ① van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience*, 2:266-270, 1999.
- ② Okamoto M, Hojo Y, Inoue K, Matsui T, Kawato S, McEwen BS, Soya H. Mild increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 13100-13105, 2012.
- ③ Inoue K, Okamoto M, Shibato J, Lee MC,

Matsui T, Rakwal R, Soya H. Long-Term Mild, rather than Intense, Exercise Enhances Adult Hippocampal Neurogenesis and Greatly Changes the Transcriptomic Profile of the Hippocampus. *PLoS One*, 10:e0133089, 2015.

### 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 4 件)

- ① Nasca C, Bigio B, Zelli D, de Angelis P, Lau T, Okamoto M, Soya H, Ni J, Britcha P, Greengard P, Neve RL, Lee F, McEwen BS. Role of the astroglial glutamate exchanger xCT in ventral hippocampus in resilience to stress. *Neuron*, 96, 402-413, 2017, 査読有. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.09.020
- ② Pereira AC, Gray JD, Kogan JF, Davidson RL, Rubin TG, Okamoto M, Morrison JH, McEwen BS. Age and Alzheimer's disease gene expression profiles reversed by the glutamate modulator riluzole. *Mol Psychiatry*, 22, 296-305, 2017, 査読有. DOI: 10.1038/mp.2016.33
- ③ Shima T, Matsui T, Jesmin S, Okamoto M, Soya M, Inoue K, Liu YF, Torres-Aleman I, McEwen BS, Soya H. Moderate exercise ameliorates dysregulated hippocampal glycometabolism and memory function in a rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 60, 597-606, 2017, 査読有. DOI: 10.1007/s00125-016-4164-4

[学会発表] (計 9 件)

- ① 岡本正洋：軽運動で脳を鍛えることのできるのか？第 22 回日本体力医学会東海地方会、2018 年 3 月 18 日、野依記念学術交流館（愛知県・名古屋）。
- ② Okamoto M. Androgen effect on mild exercise-induced hippocampal neurogenesis. *Human High Performance-oriented Sports Neuroscience by Integrating Basic Neuroscience*, 2018.2.28, University of Tsukuba (Ibaraki, Tsukuba).
- ③ Okamoto M, Pereira AC, Gray J, Davidson RL, Kogan J, Larson CS, McEwen, BS, Soya H. Mild exercise causes dynamic change of hippocampal gene expression in response to acute stress.

Neuroscience 2017, 2017. 11. 14.  
Washington DC (USA),

- ④ Okamoto M, Pereira AC, Gray JD, Davidson RL, Larson CS, Kogan JF, Soya H, McEwen BS. Mild exercise opens a window of ventral hippocampal plasticity by enhancing gene responsiveness to acute stress. Stress meeting 2017, 2017. 6. 30. Princeton (USA).
- ⑤ Okamoto M. Importance of glutamate homeostasis for the beneficial exercise effect on depression and memory. Global Initiative for Sports Neuroscience, 2017. 2. 20. University of Tsukuba (Ibaraki, Tsukuba).

[図書] (計 2 件)

- ① 岡本正洋, 征矢英昭, 他. 講談社, もっとなつとく使えるスポーツサイエンス, 2017, 208 (150-151, 154-155).
- ② ビクター・カッチ, ウィリアム・マッカーードル, フランク・カッチ, 田中喜代次, 西平賀昭, 岡本正洋, 征矢英昭, 他. 西村書店, カラー運動生理学大事典, 2017, 648 (336-365).

[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://soyalab.taiiku.tsukuba.ac.jp>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岡本 正洋 (OKAMOTO, Masahiro)

筑波大学・体育系・助教

研究者番号 : 30726617

(2) 研究分担者 : 該当なし

(3) 連携研究者 : 該当なし

(4) 研究協力者 : 該当なし