

平成 21 年 6 月 26 日現在

研究種目：基盤研究(c)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19500670
 研究課題名（和文） 精神的ストレスによる海馬での神経新生の低下に対して身体運動は抑制効果を持つか否か
 研究課題名（英文） Dose physical exercise prevent mental stress-induced impairment of hippocampal neurogenesis?
 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

研究成果の概要：

長時間の身体拘束によりマウスに継続的な精神的ストレスを負荷すると同時に自発運動を行える環境で飼育して、精神的ストレスによる神経新生の低下に対し身体運動が抑制効果を持つか否かについて検討した。また、精神ストレスによる神経新生の低下に及ぼす身体運動の予防効果とIGF-1との関係についても検討した。その結果、身体運動はストレスより引き起こされる学習記憶能力と海馬の神経新生の低下を予防する効果があることが明らかとなり、その身体運動の予防効果にはIGF-1の作用が関与していることが証明された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：ストレス、運動、神経細胞、神経新生、IGF-1

1. 研究開始当初の背景

現代の高齢化社会で問題となっているアルツハイマー病の原因の一つには、酸化ストレスによる中枢神経細胞のアポトーシス死の亢進がある。これに関連して興味深いことは、アルツハイマー病の発症率は精神的ストレスの多い生活をしている人で高く、精神的ストレスによる脳での活性酸素の増加

が脳機能の低下をもたらすと考えられている。

精神的ストレスが脳機能に悪影響を及ぼすことは動物実験でも数多く報告されている。その悪影響の一つは精神的ストレスによる記憶学習能力の低下である。実験動物の記憶学習能力を調べるに際しては、水を満たした円形プールに動物を入れ、水面下に隠れた台に泳ぎ着くま

での時間を測定する water maze test (WMT) (Morris, 1981)が一般的に行われている。WMTを用いた先行研究結果において、精神的ストレスを負荷したマウス(Stranahan et al, 2006)、加齢マウス(van Praag et al, 2005)、Alzheimer 病の発症要因の一つである amyloid β 蛋白質を発現させたトランスジェニックマウス(Carro et al, 2006)等で記憶学習能力の低下が生ずることが報告されている。そして、これらの記憶学習能力の低下をもたらす大きな要因として、脳の海馬領域での神経新生(neurogenesis)の低下が考えられている。

脳を構成する細胞、すなわち神経細胞やグリア細胞は、未分化な神経幹細胞が増殖・分化すること(神経新生)により産生される。神経新生は胎生期に爆発的に起きるが、生後の脳においても側脳室前方上衣下層(subventricular zone)および海馬歯状回の顆粒細胞下層(subgranular zone)などの特定の領域で起こっており、これらの新たに生み出された神経細胞は実際に神経ネットワークに組み込まれて機能している。そして、精神的ストレスは海馬における神経新生を低下させ(Luo et al, 2005)、このことが記憶学習能力の低下の大きな要因であると論じられている。

一方、加齢マウス(van Praag et al, 2005)、脳に障害をもたらす domoic acid を投与したラット(Carro et al, 2001)、amyloid β 蛋白質を発現させたトランスジェニックマウス(Adlard et al, 2005)等でみられる記憶学習能力の低下に対して、身体運動が改善効果を持つことが報告されている。また、身体運動は海馬の神経新生を促進することも報告されている(van Praag, 1999)。そして、身体運動をもたらすこれらの効果の要因としては、運動により循環血中から脳内への insulin-like growth factor-1 (IGF-1)の取り込みが増加することが考えられている。ラットへのトレッドミル走は頸動脈中に投与した IGF-1 の脳脊髄液への取り込みを増加させ(Carro et al, 2000)、身体運動によりもたらされる海馬での神

経新生の増加は抗 IGF-1 抗体の投与により消失する(Trejo et al, 2001)。脳内に取り込まれた IGF-1 は IGF-1 receptor のリン酸化を引き起こし、さらに Akt のリン酸化を引き起こし(Carro et al, 2006)、脳内の脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor; BDNF)の増加を増加させ(Ding et al, 2006)、これにより神経新生を促進することが推測されている。

これらの先行研究と関連して、我々も独自に作成した拘束ケージと飼育ケージを用いてマウスに精神的ストレスを負荷して、精神的ストレス負荷により WMT での記憶学習能力が低下し、この時に継続的に身体運動(トレッドミル走)を行わせると低下が抑制され、運動により海馬での Akt のリン酸化が増加する結果を得ている(平成 17-18 年度、科学研究費基盤研究 C にて報告)。しかし、身体運動がもたらす神経新生の促進効果を精神的ストレス時で検討した研究はなされていない。

2. 研究の目的

前述の背景を基に平成 19 年度の研究では、長時間の身体拘束によりマウスに継続的な精神的ストレスを負荷すると同時に自発運動を行える環境で飼育して、精神的ストレスによる神経新生の低下に対し身体運動が抑制効果を持つか否かについて検討した。

平成 20 年度の科学研究費の研究においては、JB-1 (IGF-1 receptor 阻害剤)を充填した Alzet 浸透圧ポンプを皮下に埋め込み JB-1 をマウスに持続的に投与し、精神ストレスによる神経新生の低下に及ぼす身体運動の予防効果と IGF-1 との関係を検討した。

3. 研究の方法

「平成 19 年度」

実験動物には 8 週令の雄の C57/BL/6 マウスを用い、以下の実験条件で 4 週間飼育した。(1)コントロール: 身体拘束を負荷せず通常の飼育ケージで飼育

した。(2)拘束:マウスを拘束用ゲージに1日8時間入れて身体活動を制限し、更に1匹当たりの飼育スペースを狭くした自作の6分割ケージで飼育した。(3)拘束+自発運動:前述の拘束用ゲージに1日8時間入れ、その後はマウスが回転ホイールを使って自発的な運動を行える環境で飼育した。4週間経過した時点で、WMTによる学習記憶能力の測定を行った。WMT終了後、麻酔下でマウスから脳を摘出し、脳を固定した後にマイクロスライサーにより脳切片を作成して抗Ki67抗体を用いた免疫組織化学的分析を行い、海馬の歯状回におけるKi67陽性細胞数を測定して神経新生について調べた。

「平成20年度」

実験動物にはAlzet浸透圧ポンプを背部の皮下に埋め込んだ8週令の雄のC57/BL/6マウスを用い、これらを以下の4群に分けて6週間飼育した。

(1)コントロール:身体拘束を负荷せず通常の飼育ケージで飼育した。(2)拘束:拘束用ゲージによる身体拘束を负荷し、6分割ケージで飼育した。(3)拘束+トレッドミル走:拘束用ゲージによる身体拘束とトレッドミル走(1時間、速度20m/分)を负荷し、6分割ケージで飼育した。(4)拘束+トレッドミル走+JB-1:(3)群と同様の処理を行った。(1)~(3)群のマウスに埋め込む浸透圧ポンプには生理食塩水を充填し、(4)群のマウスにはIGF-1受容体の阻害剤であるJB-1を充填した。実験開始4週目にBrdU投与、5週目にWMTによる学習記憶能力の測定、7週目に解剖を行った。

4. 研究成果

「平成19年度」

4週間のストレス負荷はWMTにより測定した学習記憶能力を著しく低下させた。しかし、同じストレスを负荷しても、自発運動の出来る環境で飼育したマウスでは、学習記憶能力の低下が有意に軽減された(図1)。同時に、ストレス負荷により海馬歯状回でのKi67陽性細胞数は有意に減少したが、自発運動はこの減少を有意に軽減した(図2)。抗Ki67抗体を用いた染色像

を図2に示した。

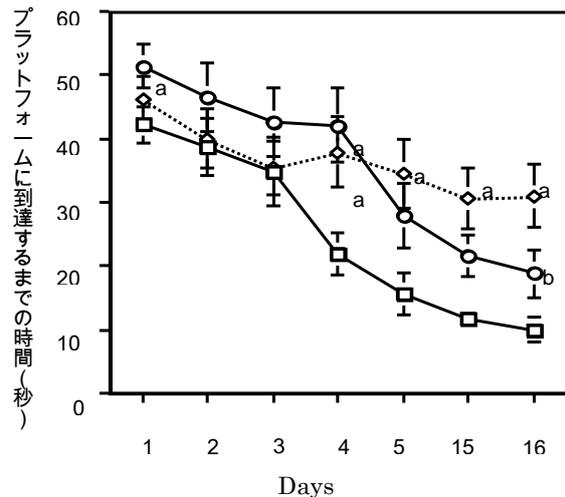
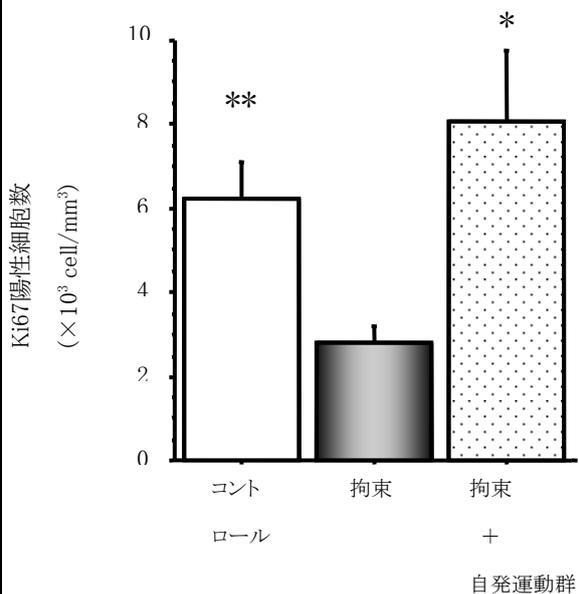


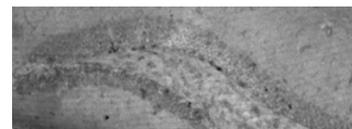
図1 ウォータメイズテストにおけるプラットフォーム到達時間の変化

a; p<0.05 vs. コントロール, b; p<0.05 vs. 拘束

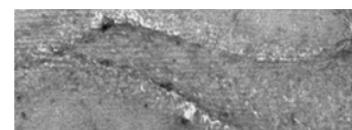
□ コントロール
◇ 拘束
○ 拘束+自発運動群



コントロール



拘束



拘束+自発運動群

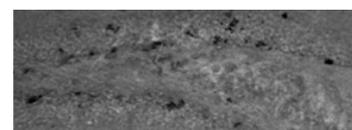


図 2 海馬歯状回におけるKi67陽性細胞数

* p<0.05 vs. 拘束

これらの結果より、自発的運動はストレスより引き起こされる学習記憶能力と海馬の神経新生の低下を予防する効果があることが明らかとなった。

「平成20年度」

ストレス負荷によりWMTで測定したマウスの学習記憶能力はコントロールに対して有意に低下し、この低下はトレッドミル走を行わせることにより有意に改善した。しかし、JB-1投与によりトレッドミル走による回復効果は消失した(図 3)。同時に、BrdU陽性細胞数もストレスにより低下し、運動により回復し、JB-1投与により運動がもたらす予防効果が阻害された(図 4)。

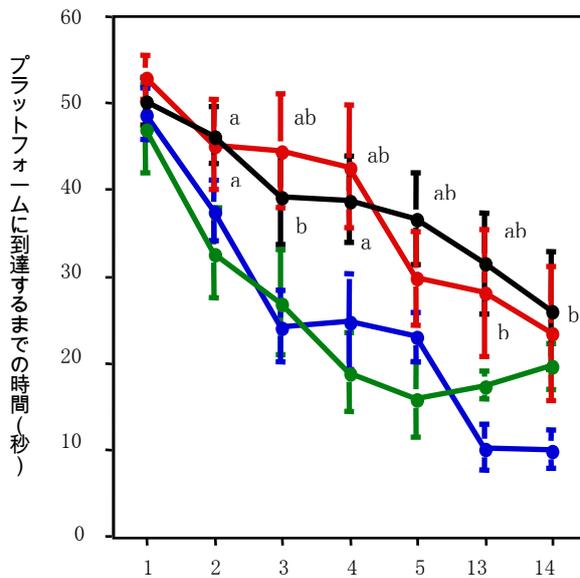


図 3 ウォータメイズテストにおけるプラットフォーム到達時間の変化

a; p<0.05 vs. コントロール, b; p<0.05 vs. ストレス+運動

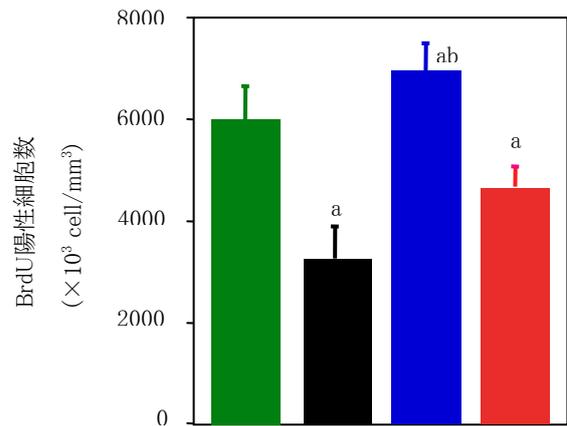
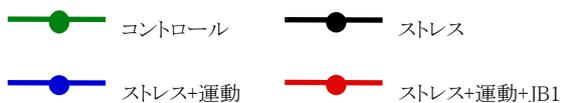


図 4 海馬歯状回におけるBrdU陽性細胞数

a; p<0.05 vs. コントロール, b; p<0.05 vs. ストレス+運動



この結果より、ストレスによる学習記憶能力と神経新生の低下に対する身体運動がもたらす回復効果には、IGF-1 の作用が関与していることが証明された。

平成 19~20 年度の研究成果より以下のことが明らかになった。身体運動はストレスより引き起こされる学習記憶能力と海馬の神経新生の低下を予防する効果を持ち、その身体運動の予防効果には IGF-1 の作用が関与していることが証明された。

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 1 件)

Nakajima S., Ohsawa I, Nagata K., Ohta S., Ohno M., Ijichi T. Mikami T.: Oral supplementation with melon superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences in the brain and prevents stress-induced impairment of spatial memory. Behavioural Brain Research 200, 15-21, 2009.

[学会発表] (計 3 件)

1) 中島早苗, 永田和史, 大野 誠, 三上俊夫: 抗酸化物質の摂取は拘束による記憶学習能力の低下を抑制する, 第74回日本体力医学会総会, 2007, 9, 静岡.

2) Toshio Mikami, Sanae Nakajima: Protective effect

of exercise on stress-induced impairment of spatial memory is dependent on IGF-1. 13th Annual Congress European College of Sport Science, 2008, 7, Estoril.

3) 三上俊夫: 身体運動が神経新生と学習記憶能力に与える影響をIGF-1 との関係から考察する, 第 23 回日本体力医学会近畿地方会, 2009, 1, 大阪.

6. 研究組織

(1)研究代表者 三上俊夫

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

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