

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19489

研究課題名（和文）運動は脳内NAD+を調節して身体不活動由来の認知機能低下を予防するか否か

研究課題名（英文）Does exercise prevent cognitive decline to do physical inactivity by brain NAD+?

研究代表者

金 芝美（Kim, Jimmy）

日本医科大学・大学院医学研究科・ポストドクター

研究者番号：00868177

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、定期的な運動が脂肪組織からの血中eNAMPT放出を高めて脳内NAD+量を増加させ、このことが不活動による認知機能の低下やうつ様症状を予防するかについて検討した。一過性のトレッドミル走運動強度による血漿eNAMPT量の変化は運動前と比較して低・中・高運動強度の1時間後でeNAMPT量の有意な増加が認められた。また、20週間の不活動飼育は認知機能の低下及びうつ様症状が見られたが、定期的な低強度運動によりこれらの結果を回復させた。これらの結果から低強度運動は血中eNAMPT放出を高めて、このことが不活動による認知機能の低下やうつ様症状を予防に重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの動物を用いて運動不足を調査する研究では、筋萎縮を引き起こすための後肢懸垂とギブス固定の手法を用いる。しかし、これらの方法は動物における深刻なストレスを引き起こし、長期間飼育が難しいため、認知機能とうつ様症状を評価する実験方法では限界があると考えられる。本研究の成果は、我々が考案した新しい身体的不活動モデルがマウスにストレスを与えず、長期間飼育が可能である実験結果を得られた。従って、認知機能およびうつ状態に及ぼす影響を調べるための適切な実験方法で、身体活動制限、ストレス等に伴う脳機能低下に対する運動の予防効果を推奨して行く上で重要な基礎的研究結果となりうることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated whether regular exercise elevates blood eNAMPT release from adipose tissue and increases the NAD+ level in the brain, which prevents cognitive decline and a depression-like state due to inactivity. Changes in plasma eNAMPT levels due to a single bout of exercise intensity showed a significant increase in eNAMPT levels after 1 hour of low, medium, and high-intensity exercise compared to before exercise. In addition, 20 weeks of inactivity resulted in cognitive decline and a depression-like state, and regular low-intensity exercise prevented these results. These results suggest that low-intensity exercise increases blood eNAMPT levels, which is essential in preventing cognitive decline and a depression-like state due to inactivity.

研究分野：運動生理学

キーワード：身体不活動 NAD+ 定期的運動 認知機能 海馬

### 1. 研究開始当初の背景

身体的な不活動状態は肥満や筋萎縮をもたらす、さらにメンタルヘルスに悪影響を及ぼす。しかし、不活動が生体にもたらす生理学的な影響を動物実験で調べた研究は極めて少ない。反対に運動は糖尿病、肥満、高血圧およびメンタルヘルスや生活の質の改善に効果をもたらすことが認められている。一方、Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) は全ての生物種の酸化還元反応に関係する補酵素であり、老化、代謝、炎症などの多彩な生物学において重要な役割を果たす。そして、脳(Stein & Imai, 2014)、骨格筋(Yoshino et al., 2011)、脂肪組織(Camacho-Pereira et al., 2016)等の全身の各臓器で NAD<sup>+</sup>量が老化に伴い減少することが報告されている。さらに、NAD<sup>+</sup>合成経路の律速酵素として働く Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) は脂肪組織から血中に分泌されて、様々な臓器に取り込まれ、NAD<sup>+</sup>合成に貢献する。そして、加齢により脂肪組織からの NAMPT 分泌が低下し、血液を介して脳に送られる NAMPT 量が低下により、最終的に脳内 NAD<sup>+</sup>量が減少することが原因で加齢による脳機能の低下をもたらす(Yoshida et al., 2019)。その上、血液中への NAMPT 補充は加齢による脳内 NAD<sup>+</sup>の減少を抑制して脳機能の低下を予防することが明らかになった。これまでに血液循環中の NAD<sup>+</sup>合成系酵素 NAMPT が老化を制御する重要な因子であることが明らかにされているが、運動による認知機能の改善効果にも有効かについて不明である。また、運動が脳内 NAD<sup>+</sup>を調節して身体不活動による認知機能の低下を予防するかについても解明されていない。

### 2. 研究の目的

定期的な低強度運動が脂肪組織から NAMPT 放出を高めて脳内 NAD<sup>+</sup>量を増加させ、このことが身体不活動による認知機能の低下やうつ様症状の予防に関係するののかについて検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 脂肪組織から循環血中への NAMPT 放出を高める最適な運動条件を探るために、一過性のトレッドミル走運動強度による血漿 NAMPT 量の変化をタイムコースで観察し、かつ運動強度と関係させて検討した。雄の C57BL/6J マウスに一過性の低強度 (10m/min、1 時間)、中強度 (20m/min、1 時間)、高強度 (20m/min~疲労困憊、約 30 分) トレッドミル走運動を課し、運動前、運動 1、2、4 時間後に採血し、血漿 NAMPT 量を Western blot 法により定量した。

(2) 定期的な運動が身体不活動由来の認知機能低下及びうつ様症状の発症の予防に貢献するか否かについて検討した。8 週齢のマウスを無作為に ① 通常飼育群、② 身体不活動群、③ 身体不活動+運動群の 3 群に分けた。① 群は通常のマウス用飼育ケージで飼育し、②、③ 群は我々が考案した 6 分割ケージに飼育し、更に ③ 群は低強度運動 (10m-15m/min) で週 3 回、1 時間のトレッドミル走を行わせた。しかし、身体不活動の影響によってマウスの運動能力が低下して 1 時間までは走れなかったため、マウスの運動能力に応じてトレッドミル速度を 10-15m/min、30 分に変更した。この条件で 20 週間飼育後に Y-maz、Contextual Fear Condition Test (CFCT)、Sucrose Preference Test (SPT) の行動試験を行った (図 1)。

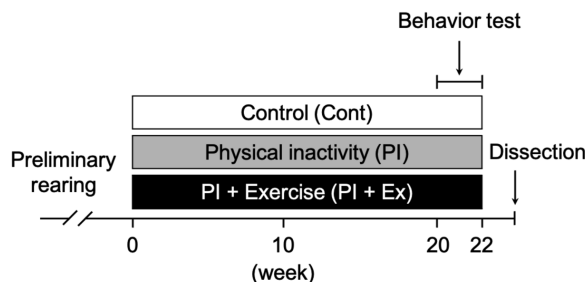


図 1. 実験スケジュール

(3) (2) の実験終了後、麻酔下で採血後に右心房より生食を還流して脱血し、その後に脳を採取し、右脳は免疫組織染色分析に用い、左脳からは海馬、皮質を採取した。右脳はホルマリン固定後に切片を作製し、認知機能やうつ様症状の発症・改善に関係が深い海馬の神経新生を調べるため、細胞増殖のマーカーである Ki67 免疫組織染色分析により評価した。さらに血漿は eNAMPT 量を Western blot 法によるタンパク質量の定量し、海馬では NAMPT 量及び Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) を RT-PCR による mRNA 定量を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) 一過性のトレッドミル走運動強度による血漿 NAMPT 量の変化は、運動前と比較して低・中・高運動強度の 1 時間後で NAMPT 量の有意な増加が認められた。これらの結果は運動強度に依存ではなく、運動自体が NAMPT の量を増加させる可能性が示唆された (図 2A-2C)。

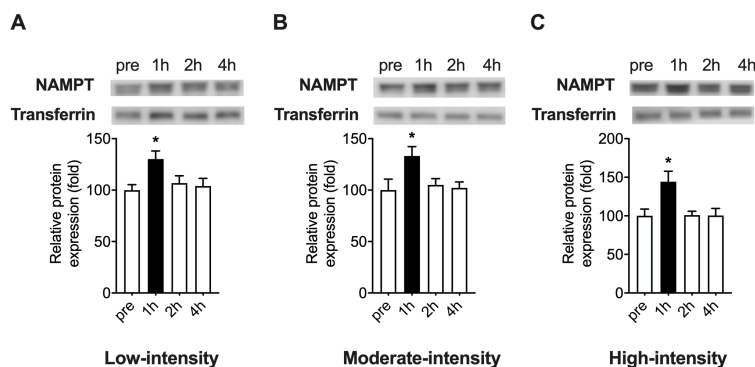


図 2. 一過性の運動強度による血漿 NAMPT 濃度の変化

(2) 20 週間の身体不活動の飼育はマウスの認知機能の低下およびうつ様症状が見られたが、定期的な低強度運動はこれらの結果を回復させた (図 3A-3C)。

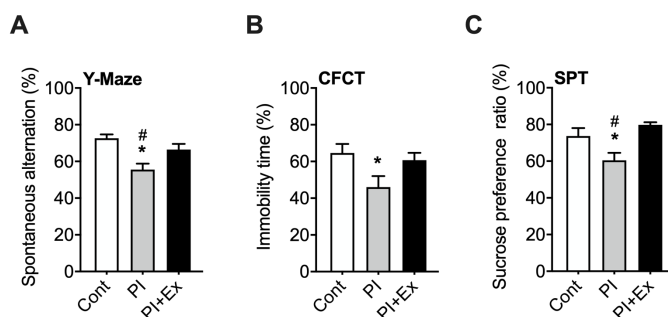


図 3. 20 週間の身体不活動による行動試験の変化

(3) 定期的な低強度運動は長期間身体不活動による神経細胞の増殖の減少 (図 4A) 及び血漿 NAMPT 量の低下を回復して、海馬の NAMPT 量を増加させた (図 3B-3C)。また、長期間の身体不活動の飼育は BDNF (脳由来神経栄養因子) の遺伝子発現を低下させたが、定期的な低強度運動により回復した (図 3D)。

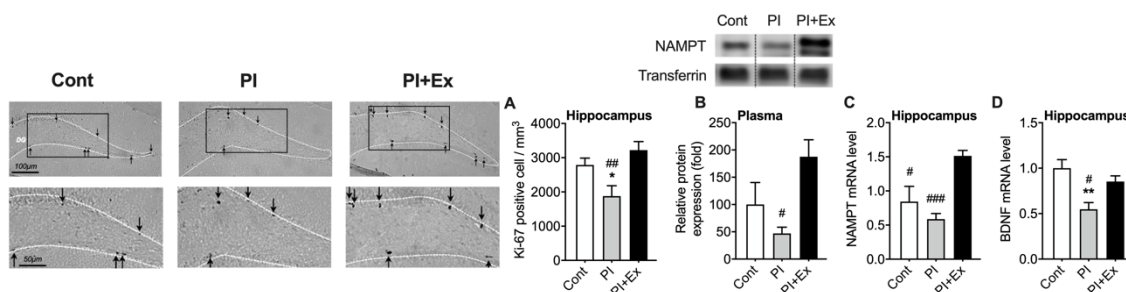


図 4. 身体不活動による血漿の NAMPT と海馬の Ki67、NAMPT、BDNF 発現の変化

#### (4) まとめ

定期的な低強度運動は血中 NAMPT 量を高めて、血液を介して海馬の NAMPT を増加させ、20 週間の身体不活動による認知機能の低下やうつ様症状を予防に重要な役割を果たしていることが示唆された。しかし、COVID-19 感染症の蔓延により当初の計画通りの遂行が困難となったため、脳 NAD<sup>+</sup> の測定は進まなかった。本研究の実験結果、運動による海馬の NAMPT 量増加は脳内 NAD<sup>+</sup> レベルの増加に関係することが期待される。今後は同様な条件で脳内の NAD<sup>+</sup> 量の測定を行う必要がある。

(引用文献)

- Camacho-Pereira, J., Tarrago, M. G., Chini, C. C. S., Nin, V., Escande, C., Warner, G. M., Puranik, A. S., Schoon, R. A., Reid, J. M., Galina, A., & Chini, E. N. (2016). CD38 Dictates Age-Related NAD Decline and Mitochondrial Dysfunction through an SIRT3-Dependent Mechanism. *Cell Metab*, *23*(6), 1127-1139. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.006>
- Stein, L. R., & Imai, S. (2014). Specific ablation of Nampt in adult neural stem cells recapitulates their functional defects during aging. *EMBO J*, *33*(12), 1321-1340. <https://doi.org/10.1002/emboj.201386917>
- Yoshida, M., Satoh, A., Lin, J. B., Mills, K. F., Sasaki, Y., Rensing, N., Wong, M., Apte, R. S., & Imai, S. I. (2019). Extracellular Vesicle-Contained eNAMPT Delays Aging and Extends Lifespan in Mice. *Cell Metab*, *30*(2), 329-342 e325. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.015>
- Yoshino, J., Mills, K. F., Yoon, M. J., & Imai, S. (2011). Nicotinamide mononucleotide, a key NAD(+) intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice. *Cell Metab*, *14*(4), 528-536. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.014>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

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 1-14
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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------