

記憶を高めるには軽運動が有効！
～軽運動が記憶を高める分子基盤の一端を解明～

研究成果のポイント

1. 軽運動が認知機能増進に良いとする仮説を補強する新知見を得た。
2. 具体的には、軽運動は効果的に海馬の神経新生を促進することを実証した。
3. その背景となる脳機構として、これまでに想定されていた因子とは異なる新たな脳内調節因子とその機能について、網羅的な遺伝子解析により解明した。
4. 運動で高める海馬の認知機能解明に、新展開をもたらす情報が得られた。

国立大学法人筑波大学体育系 征矢英昭教授及びラクワール ランディープ教授の研究グループは、強度や期間など、どのような運動が記憶や学習を司る海馬の機能向上に有効で、それがどのような機構によって支えられているのかについて研究を行ってきました。本研究に先立ち、本年4月には、ストレスを伴う高強度運動ではなく、ストレスフリーの低強度運動が海馬の記憶保持・想起を高めることを6週間のトレーニングモデルにおいて世界で初めて報告しました(Inoue & Soya et al., 2015)。これは、運動強度が強ければ強いほどトレーニング効果が高まる骨格筋とは異なり、海馬の機能向上には、子どもやお年寄りといった低体力のヒトでも気軽に取り組める軽運動で十分であることを示す興味深い知見です。しかし、なぜ低強度運動が海馬の記憶保持・想起を高めるのか不明でした。

本研究では、ラットを使い、先行研究と同様の6週間モデルを用いて、異なる強度(低強度vs高強度)の走運動トレーニングが海馬の神経新生(海馬歯状回で起る新たな神経細胞の産生)と全遺伝子の発現に与える影響を検討しました。その結果、低強度運動でのみ新生細胞の成熟が促進されること、低強度運動では高強度運動の約1.5倍の数の遺伝子に変化が見られ、それらの大半(93%)が低強度特異的に変化することを明らかにしました。さらに、両運動条件で変化した遺伝子の中から、重要な役割を担う因子の絞り込みを行ったところ、BDNFやIGF1、VEGFといったこれまでに想定されてきた因子ではなく、タンパク質の合成促進(増強:IGF2, IRS1)、コレステロールの輸送(増強:APOE)、軽度の炎症反応の促進(増強:IL1 β , 抑制:TNF)に関わる因子が低強度運動による海馬機能および神経新生の促進に寄与する可能性を見出しました。

この知見は、運動で高まる海馬機能のメカニズム研究において新たな因子の重要性や展開を期待させるとともに、今後、低強度運動を高年齢動物や脳神経変性疾患モデル動物に応用していく上での基盤となると考えられます。

* 本研究の成果は、米国のオンライン科学専門誌「PLoS One(プロスワン)」に6月10日午後2時(日本時間11日午前3時)付けで掲載されます。

本研究は、科学研究費補助金基盤研究 B(20300214)、A(23240091)、ならびに文部科学省特別経費プロジェクト「たくましい心を育むスポーツ科学イノベーション」(平成22-25年度)の支援を一部受けて行われました。

研究の背景

近年、運動の効能が骨格筋や骨といった末梢の組織だけでなく、脳にも作用することがわかってきました。数ある脳部位の中でも、運動は記憶や学習を司る海馬に作用し、新たな神経細胞の産生(神経新生¹⁾)を促すとともに、記憶力を向上させます。その背景には、脳由来神経栄養因子(BDNF)やインスリン様成長因子(IGF1)などさまざまな因子の関与が想定されています。しかし、これらの因子を含めた、すべての因子について包括的に解析を行い、その中から、重要な因子を絞り込むという研究は不足していました。また、これまでの研究では、運動条件のコントロールが難しい「輪回し運動」が用いられてきました。そのため、どのような運動が海馬の機能向上に有効で、それがどのような分子機構に支えられているのかは不明でした。

先行研究において、私どもは、乳酸性作業閾値(LT)²⁾を境に、異なる強度(LT未満:低強度、LT以上:高強度)の6週間の走運動トレーニングが海馬機能に与える影響を検討し、慢性的なストレス反応の亢進を伴う高強度運動ではなく、ストレスフリーの低強度運動が記憶の保持・想起を促進することを報告しました(Inoue et al., 2015)。そこで本研究では、海馬機能を向上させる6週間の低強度運動が神経新生を促進するかどうか、そしてその調節にはどのような因子が重要となるのかを海馬遺伝子発現の網羅的解析から初めて検討しました。

研究内容と成果

本研究では、ラットを安静、低強度(15m/min)、高強度(40m/min)の3群に分け、5回/週の頻度で、6週間の走行トレーニングを行わせました。6週間後、血液を採取し、血中のコルチコステロン濃度を測定しました。コルチコステロンは代表的なストレスホルモンの一つとして知られており、生体にストレスが加わると血中の濃度が高まります。トレーニング後の血中コルチコステロン濃度の変化から、本研究でも、高強度運動のみがストレスとなることを確認しました。

モデルの再現性が確認された後に、摘出した脳を用いて、海馬の神経新生を解析しました。海馬の神経新生は、増殖(Ki67陽性)細胞、新生した細胞のうち神経細胞へと分化・成熟した(BrdU/NeuN陽性)細胞の変化から評価しました。その結果、Ki67陽性細胞数は強度に関係なく運動で増加する一方、BrdU/NeuN陽性細胞数はストレスフリーの低強度運動でのみ増加することが明らかになりました(図1)。この結果は、ストレスを伴う高強度運動ではなく、ストレスフリーの低強度運動が新生細胞の成熟促進に有効であることを示しています。

続いて、摘出した脳からさらに海馬を分画し、マイクロアレイ³⁾という手法(図2)を用いて海馬の遺伝子(mRNA)発現を網羅的に解析しました。マイクロアレイの解析では、低強度群および高強度群において、安静群と比較して、発現が1.5倍以上に増強または0.75倍以下に抑制された遺伝子を抽出しました。興味深いことに、各群で変化が見られた遺伝子のなかに、BDNFやIGF1といった運動時の海馬の適応に重要と考えられてきた因子は含まれていませんでした。また、変化が見られた遺伝子の総数は、高強度群(415個)よりも、低強度群(604個)で多く、そのなかのわずか41個だけが両群で共通して変化しました(図3)。これは、低強度運動が海馬神経のより大きな可塑的变化を引き起こし、それが高強度運動とは独立した機構や因子によって調節されていることを示唆します。

そこで、IPA(Insignia Pathway Analysis)⁴⁾という手法を用いて、低強度群で変化が見られたすべての遺伝子のなかから、どの因子が重要となるかを統計的($p < 0.05$)に絞り込みました。その結果、タンパク質合成の促進(増強:IGF2, IRS1)、コレステロールの輸送(増強:APOE)、軽度の炎症反応の促進(増強:IL1 β , 抑制:TNF)に関わる遺伝子が低強度運動で促進される神経新生の新たな調節因子として候補に挙げました(図4)。

今後の展開

本研究では、ストレスフリーの軽運動が海馬の機能だけでなく、神経新生をも促進し、それがBDNFやIGF1に変わる新たな因子(IGF2, IRS1, APOE, IL1 β , TNF)によって調節されている可能性をつかみました。これまでの研究で

は、運動条件を無視した検討が行われてきましたが、本研究では、海馬の機能向上に有効な軽運動モデルで重要となる因子の同定を行いました。軽運動は体力レベルの低い人でも、気軽に実施可能であることから、これらの因子は、子どもやお年寄り、アルツハイマーといった神経変性疾患患者で海馬を高める際にも、その標的となる可能性が高いと考えられます。今後は、これらの遺伝子が実際に低強度運動による神経新生や記憶保持の促進に寄与しているか否か、遺伝子改変動物や特異的拮抗薬などを用いて検討し、より詳細な機構解明を行っていくことが課題です。

参考図

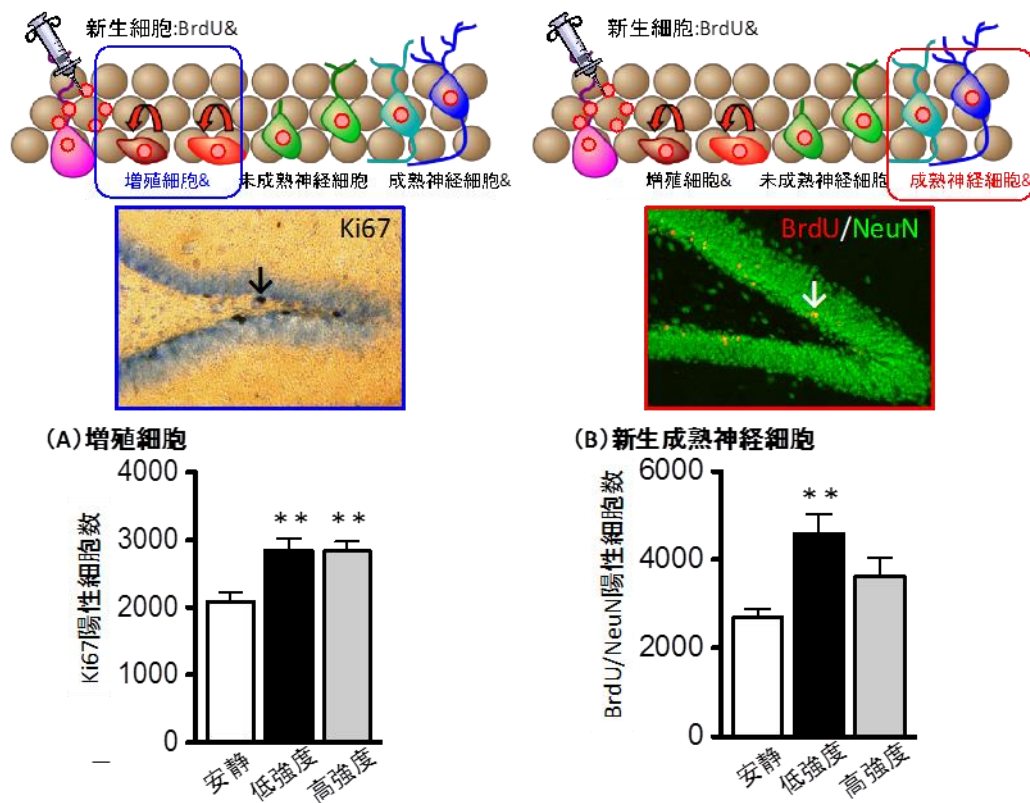


図1 異なる強度の6週間の走運動トレーニングが神経新生に及ぼす影響
 (A)Ki67 陽性細胞数、(B)BrdU/NeuN 陽性細胞数。細胞増殖は強度に関係なく、運動で有意に促進された。一方、新生細胞の成熟は、ストレスフリーの低強度運動のみで有意に促進された。

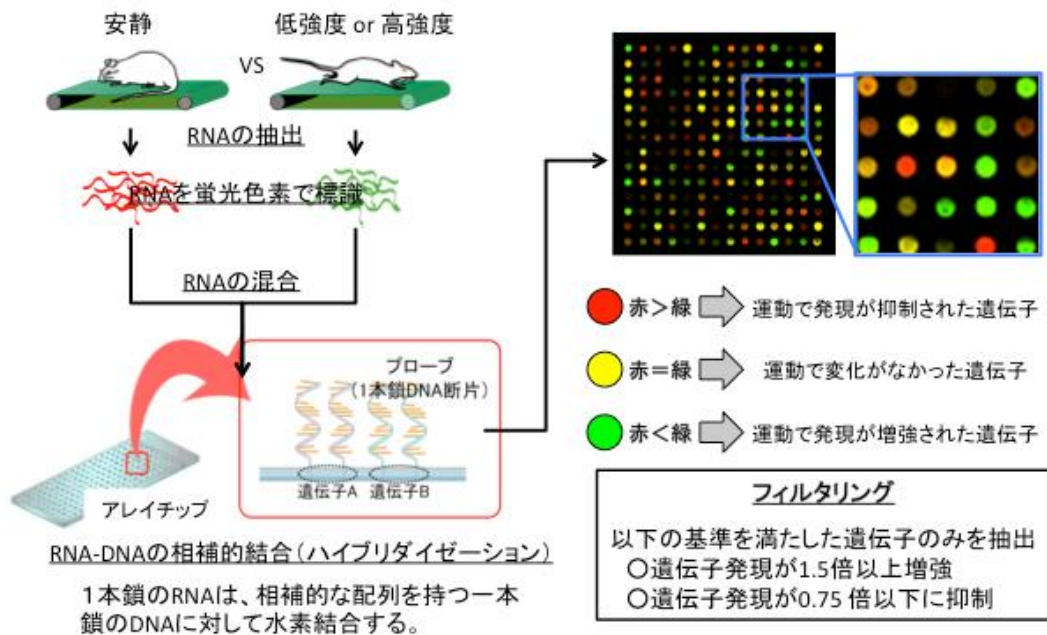


図 2 マイクロアレイの解析手順

マイクロアレイは、一度に複数の遺伝子の発現変化を同定できる手法である。実験では、安静群、低強度群、高強度群の海馬からRNAを抽出した後、異なる蛍光色素で標識した。標識したRNAを「安静群 vs 低強度群 or 高強度群」の組み合わせで混和し、マイクロアレイに滴下した。マイクロアレイ上には、約4万個の遺伝子のプローブが配置されており、このプローブと競合的なハイブリダイゼーションを起こさせることで、両者の蛍光強度の差から各遺伝子の発現の違いを比較した。

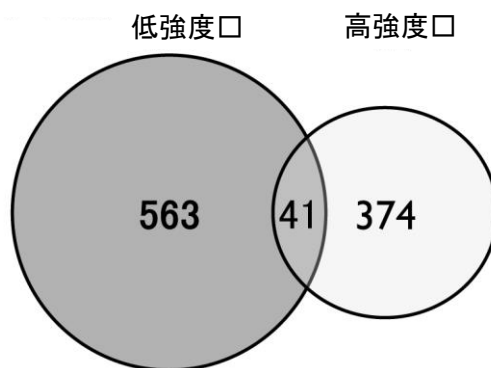


図 3 各運動強度で変化が見られた遺伝子の数

各運動強度で変化が見られた遺伝子の数をベン図で示した。円が重なった部分は、どちらの運動強度でも変化が見られた遺伝子の数を示している。高強度群(415個)と比較して、低強度群(604個)でより多くの遺伝子が増加し、その大半(563個)が低強度運動でのみ変化していることが明らかになった。両運動群ともに、BDNF や IGF1 といった、海馬の適応において重要と考えられている因子は含まれなかった。

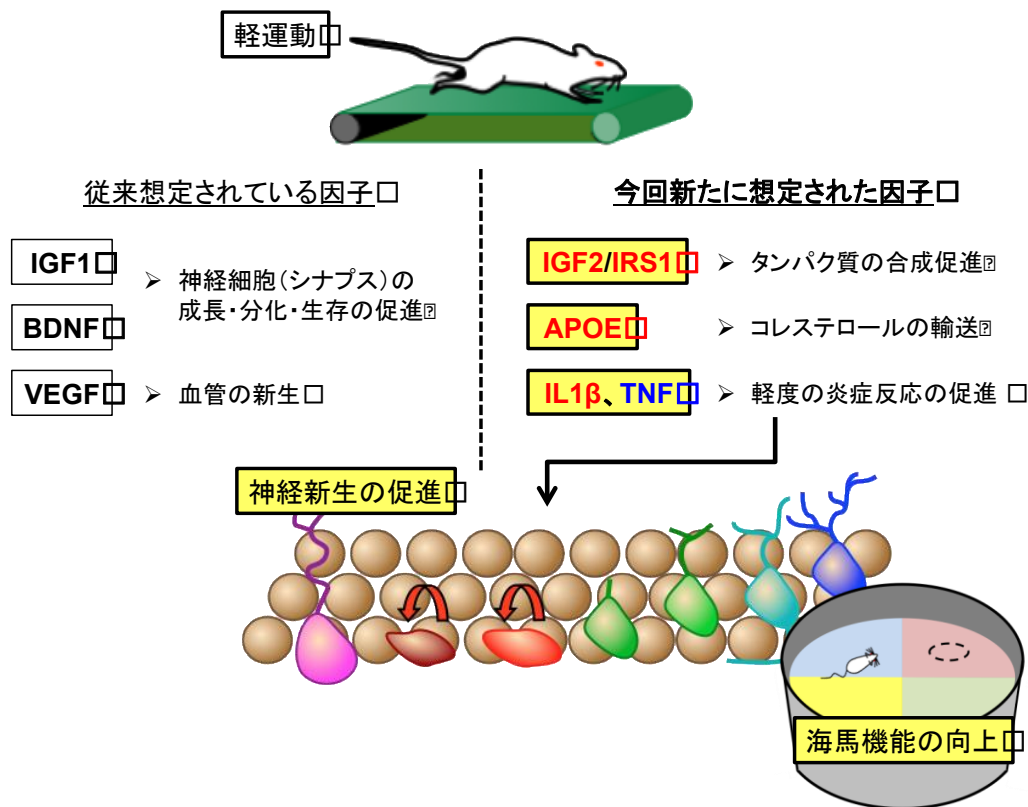


図 4 低強度で高まる海馬神経可塑性の分子基盤

IPAによって、低強度運動で重要となりうるものが示された遺伝子を示した。低強度運動で発現が増強される遺伝子は赤字、抑制される遺伝子は青字で示している。低強度運動では、タンパク質合成の促進(増強: IGF2, IRS1)、コレステロールの輸送(増強: APOE)、軽度の炎症反応の促進(増強: IL1 β , 抑制: TNF)に関わる遺伝子が海馬の神経新生の促進に寄与し、その結果、海馬機能(特に、記憶の保持・想起)が向上するというメカニズムが想定された。

用語解説

1) 神経新生: 神経新生とは、海馬の歯状回と嗅球で確認されている現象で、この2領域では成熟した個体でも一生に渡って新たな神経細胞が産生される。海馬の神経新生は、海馬歯状回顆粒細胞下帯の前駆細胞に端を発し、神経前駆細胞から分化した新生細胞は、増殖・分化・生存(組込み)という3つの過程を経て成熟神経細胞に成長する。新生細胞の成熟段階は、新生細胞のマーカである BrdU と各成熟段階で特異的に発現するマーカーを組み合わせることで評価できる。新しく産生された細胞のなかでも、神経へと分化・成熟し、既存の神経回路に組み込まれた細胞は記憶の形成において重要な役割を担っている。なお、この一連の成熟課程には4～6週間の期間を必要とする。

2) 乳酸性作業閾値(Lactate Threshold, LT): 徐々に強度を上げていくような運動を行っている際に、継続的に血中乳酸値をモニタリングすると、値が急激に増加するポイントが見られる。この点を LT といい、LT を境に、ACTH(副腎皮質刺激ホルモン)やコルチコステロン(副腎皮質ホルモン)といったストレスホルモンの分泌が亢進する。

3) マイクロアレイ: マイクロアレイは、一度に複数の遺伝子の発現変化を同定できる手法であり、現在では、1度の解析で全遺伝子の発現プロファイルを検討できるようになった。4種類の塩基(アデニン、グアニン、シトシン、チミン)が互いに相補性のある塩基同士と水素結合するという性質を利用した技術である。水素結合には、温度の上昇で結合が崩れ、冷却によって相補的配列を持つ別の DNA 鎖と再結合するという性質がある。このように、相補的な塩

基対と結合し2本鎖を形成することをハイブリダイゼーションという。マイクロアレイのチップ上には塩基配列が明らかになっているオリゴヌクレオチド(20塩基対、またはそれ以下の長さの短いヌクレオチドの配列)や cDNA(mRNA と相補的な塩基配列を持つ DNA)といったプローブが数万種類配置されている。このチップ上に、あらかじめ異なる蛍光色素で標識しておいた2種の mRNA を加え、競合的にハイブリダイゼーションさせることで、両者の蛍光強度の差から各遺伝子の発現の違いを比較することができる(図3)。

4) Ingenuity Pathways Analysis(IPA): 米国インジェニイティーシステムズ社が開発したソフトウェア。マイクロアレイで変化がみられた遺伝子について、各遺伝子の機能に基づく分類や遺伝子間のつながり(ネットワーク)の形成が可能になる。また、単に機能分類やネットワーク形成を行うだけではなく、その実験ではどのような機能を持った遺伝子ネットワークが最も大きな変動を見せたのか、統計的な重み付けを行うことができる。その実験条件において重要な遺伝子ネットワークが分かり、各遺伝子間の階層性の把握が可能になれば、マイクロアレイのデータをベースに、主要機構や因子の推定が可能になる。

参考文献

Koshiro Inoue, Yuta Hanaoka, Takeshi Nishijima, Masahiro Okamoto, Hyukki Chang, Tsuyoshi Saito and Hideaki Soya. Long-term mild exercise training enhances hippocampus-dependent memory in rats. *Int J Sports Med* 36: 280-285. 2015. DOI: 10.1055/s-0034-1390465

掲載論文

【題名】 Long-term mild, rather than intense, exercise enhances adult hippocampal neurogenesis and greatly changes the transcriptomic profile of the hippocampus. (高強度ではなく、低強度で行う長期の運動トレーニングが海馬の神経新生を促進し、より多くの遺伝子を変化させる)

【著者名】井上恒志郎^{1,2}, 岡本正洋¹, 柴藤淳子¹, 李旼喆¹, 松井崇¹, ラクワール ランディーブ¹, 征矢英昭¹

1 筑波大学体育系運動生化学研究室

2 北海道医療大学リハビリテーション科学部

【掲載誌】PLoS One (2015年6月10日)

問い合わせ先

征矢英昭(そや ひであき)

筑波大学体育系 (運動生化学研究室)