

33. 軽運動で高まる海馬可塑性の分子基盤：ニューロステロイドの役割

征矢 英昭

Key words：軽運動，海馬，神経新生，アンドロゲン

筑波大学 体育系

緒 言

運動は骨・筋のみならず脳，とりわけ認知機能を司る海馬に作用し，ニューロン（神経）新生や認知機能の向上など，急増するうつ病や認知症の改善にも有益な効果をもたらす¹⁾。しかし，その最適な運動条件や背景となる神経基盤（脳機構）は不明であり，認知機能を高める運動条件はいまだ決着をみない。私どもは最近，独自に開発した走運動モデルを駆使し，低強度運動でも海馬が十分に活性化し^{2,3)}，さらにトレーニングでは，若齢動物だけでなく高齢動物においても神経新生を増強することを見いだした⁴⁾。低強度運動トレーニング男性ホルモン，とりわけ作用が最も強いDHT (dihydrotestosterone) が海馬で *de novo* 合成され，海馬の神経新生を促進することを明らかにした⁵⁾。これは，軽度の運動トレーニングでテストステロンがニューロステロイドとして海馬で合成・分泌され，男性ホルモン受容体 (AR, androgen receptors) を介して神経新生を仲介する可能性を初めて示唆するものである。しかしながら，これらの実験は雄性のみであり，海馬の男性ホルモンを介した軽運動の効果が雌雄に共通しているのか不明である。雌性の海馬でもアンドロゲンが合成されることことから，雌雄に関わらず，海馬アンドロゲンが軽運動の効果において重要な役割を担っている可能性が高い。認知機能を増強する低強度運動がもつ共通のメカニズムを明らかにすることは，人の運動処方開発への布石として重要である。

そこで本研究では，独自の走運動モデルを通じて雌ラットの低強度運動が海馬の可塑性を高める分子基盤としてDHTが重要な役割を担うか検証した。

方 法

血中エストロゲンが運動誘発性の海馬神経新生に及ぼす影響について検証するために，11週齢の雌性Wistarラットを卵巣摘出(OVX)群および偽手術(Sham)群にわけ，さらに各群を運動群(15 m/min)と安静群(0 m/min)にわけた。手術から1週間後にトレーニングを開始し，2週間の走運動トレーニング後，脳を摘出，海馬歯状回を含む前額断切片を作製し，免疫組織化学染色法により新生細胞を同定した。新生細胞のマーカーであるBrdU (50 mg/kg) はトレーニング開始の前日に投与し，神経新生はKi67, DCX, BrdUのマーカーを用いて評価した。

アンドロゲンおよびエストロゲン受容体が運動誘発性の海馬神経新生に及ぼす影響について検証するために，雌性Wistarラットアンドロゲン受容体拮抗薬(Flu)群，エストロゲン受容体拮抗薬(Tam)群と溶媒(Veh)群の3群にわけ，各群をさらに運動群と安静群に分けた。これらの拮抗薬は，トレーニング開始2時間前に皮下投与した(Flutamide, 30 mg/kg; Tamoxifen, 1 mg/kg BW)。対照群となるVehicle群には溶媒であるSesame oil (nacalai tesque, Japan)を皮下に投与した。各拮抗薬の投与は卵巣や子宮を萎縮させることが分かっている。そのため，トレーニング終了2日後に，それらを摘出し，拮抗薬の薬効を確認した。2週間の走運動トレーニングおよび神経新生の解析は1.と同様に行った。

結果

卵巣摘出手術に伴う血中エストロゲン濃度の減少が運動誘発性の神経新生に及ぼす影響について Fig.1 に示した。増殖細胞のマーカである Ki67 陽性細胞数は, Sham 群 ($p < 0.01$), OVX 群 ($p < 0.01$) ともに走運動により有意に増加した。同様に, Sham 群, OVX 群ともに運動により幼若神経細胞のマーカである DCX 陽性細胞数が有意に増加し (Sham 群: $p < 0.05$, OVX 群: $p < 0.05$), 成熟神経細胞を示す BrdU/NeuN 陽性細胞数も, 両群ともに運動により有意に増加した (Sham 群: $p < 0.01$, OVX 群: $p < 0.05$)。一方, 海馬歯状回の体積に有意な変化は見られなかった

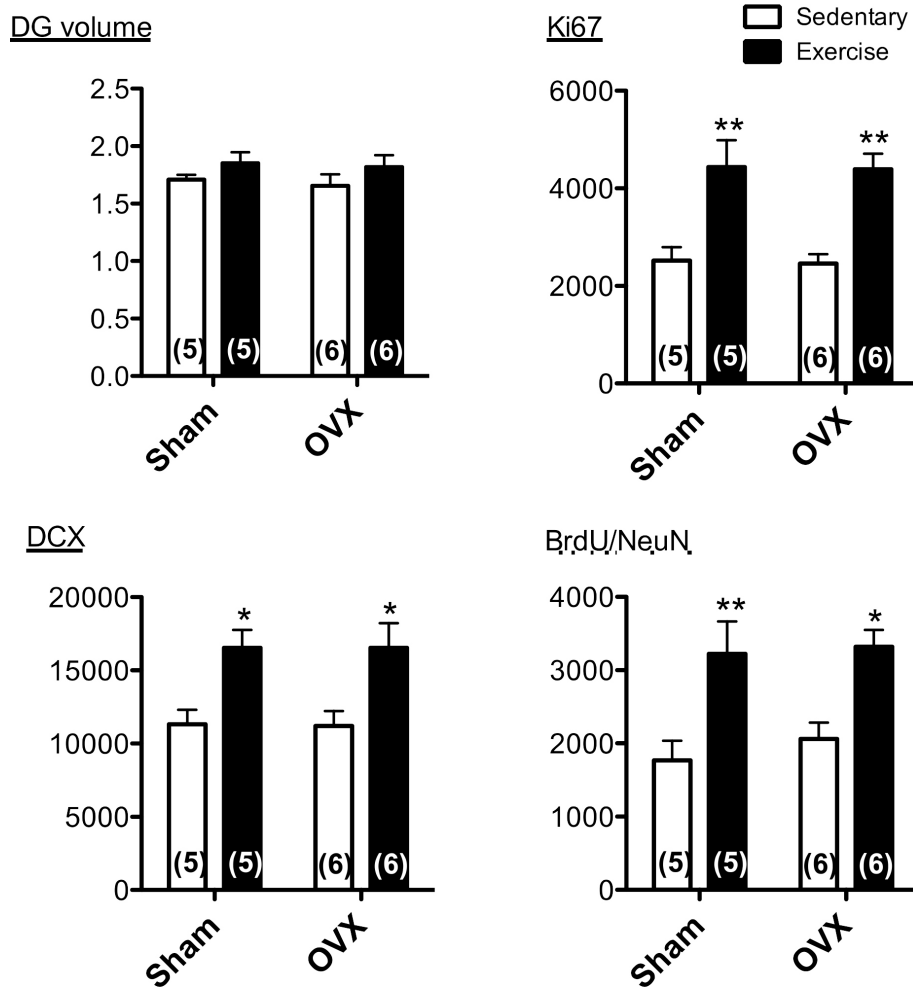


Fig. 1. Effects of ovariectomy on exercise-induced adult hippocampal neurogenesis.

Mild exercise significantly increased the number of Ki67⁺ cells in Sham, OVX. DCX⁺ and BrdU⁺/NeuN⁺ cells also were increased with Mild exercise increased in both groups. Data represent the mean \pm SEM (n =5-6 rats in each group). *P < 0.05, **P < 0.01 in comparison with sedentary rats (two-way ANOVA and Bonferroni post hoc tests). Sham: sham operation, OVX: ovariectomized.

アンドロゲンおよびエストロゲン受容体拮抗薬投与による体重, 卵巣や子宮湿重量の変化を Table1 に示した。エストロゲン拮抗薬投与は Veh 群と比較し, 卵巣 ($p < 0.05$) および子宮湿重量 ($p < 0.01$) を有意に減少させた。また, アンドロゲン受容体拮抗薬投与により, Veh 群と比較し, 子宮湿重量が有意に減少した ($p < 0.05$)。

Table 1. Body weight, ovary weight, uterus weight, vagina weight and adrenal gland weight of female rats treated with steroid receptor antagonists

	Vehicle	Tamoxifen	Flutamide
Body weight (g)	301.3 ± 2.9	290.0 ± 7.1	316.4 ± 9.8
Ovary (mg/g B.W)	0.47 ± 0.04	0.38 ± 0.02*	0.46 ± 0.02
Uterus (mg/g B.W)	1.45 ± 0.21	0.88 ± 0.01**	1.05 ± 0.07*
Vagina (mg/g B.W)	0.33 ± 0.06	0.33 ± 0.01	0.26 ± 0.02
Adrenal gland (mg/g B.W)	0.23 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.22 ± 0.02

Data represent the mean ± SEM (n = 5 rats in each group). *P < 0.05, **P < 0.01 in comparison with sedentary rats (one-way ANOVA and Bonferroni post hoc tests). Veh: vehicle, Tam, tamoxifen, Flu: flutamide.

アンドロゲン受容体拮抗薬投与が運動誘発性の神経新生に及ぼす影響について Fig2 に示した。Ki67 陽性細胞数は、Veh 群 (p < 0.001), Tam 群 (p < 0.05), Flu 群 (p < 0.05) とともに走運動により Ki67 陽性細胞数が有意に増加した。DCX 陽性細胞数は、Veh 群 (p < 0.05), Tam 群 (p < 0.05) の DCX 陽性細胞数は運動により有意な増加が認められたが、Flu 群では運動による DCX 陽性細胞数の増加はみられなかった。BrdU/NeuN 陽性細胞数は、Veh 群 (p < 0.05), Tam 群 (p < 0.05) の BrdU/NeuN 陽性細胞数は運動により有意な増加が認められたが、Flu 群では運動による BrdU/NeuN 陽性細胞数の増加はみられなかった。海馬歯状回の体積はいずれの群において、運動による変化はみられなかった。

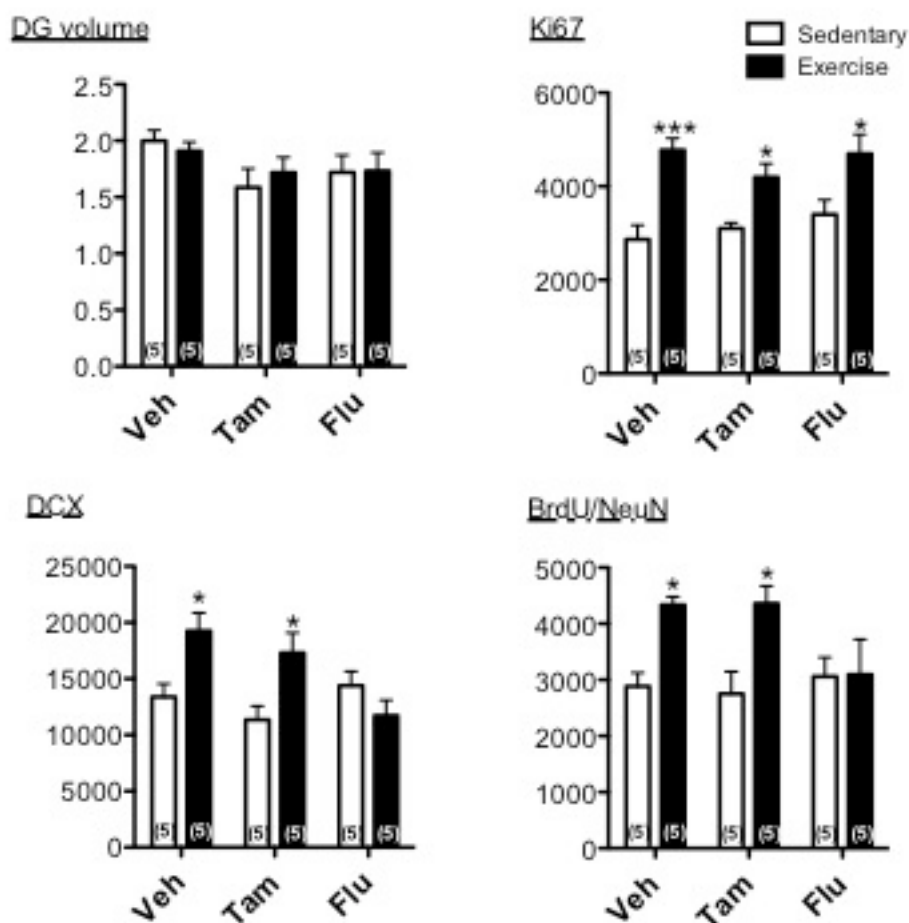


Fig. 2. Effects of sex steroid receptor antagonists on exercise-induced adult hippocampal neurogenesis.

Mild exercise significantly increased the number of Ki67⁺ cells in Veh-, Tam-, and Flu-treated rats. Flu, but not Tam, blocked the increase of the number of DCX⁺ and BrdU⁺/NeuN⁺ cells with mild exercise. Data represent the mean ± SEM (n = 5 rats in each group). *P < 0.05, ***P < 0.0001 in comparison with sedentary rats (two-way ANOVA and Bonferroni post hoc tests). Veh: vehicle, Tam: tamoxifen, Flu: flutamide.

考 察

本研究では、雌における低強度運動誘発性の神経新生に、アンドロゲンやエストロゲンなどの性ステロイドが関与するか検討した。その結果、卵巣摘出により血中エストロゲン濃度を低下させても、低強度運動により神経新生が促進されるが、その効果はエストロゲン拮抗薬ではなく、アンドロゲン拮抗薬であるフルタミドにより消失することが分かった。また、そのアンドロゲン作用、細胞増殖ではなく、神経細胞の分化を促進すること示唆された。

一般的に、雌では卵巣から分泌されるエストロゲンが血液を介し、脳に作用すると考えられてきた。しかし、本研究から運動による神経新生の増加にはエストロゲンではなく、アンドロゲンが関与することが明らかになった。雌では、血液中的アンドロゲン濃度は低い一方、海馬でアンドロゲンが合成されることが報告されている⁶⁾。雄と同様に、雌でも海馬で合成されるアンドロゲンが神経新生を促進する中心的な役割を担っている可能性が高い。これは、加齢に伴い、血中の性ホルモン濃度が低下する高齢者でも、運動により脳のニューロステロイドを高めることが出来れば、認知機能の維持・増進につながることを示唆しているのかもしれない。今後は低強度運動が雌の海馬ニューロステロイド合成に及ぼす影響などについて検証する必要がある。

共同研究者

本研究の共同研究者は、筑波大学体育系・運動生化学研究室の岡本正洋助教である。最後に、本研究に対してご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) van Praag, H., Christie, B. R., Sejnowski, T. J. & Gage, F. H. : Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96** : 13427-13431, 1999.
- 2) Soya, H. I., Mukai, A., Deocaris, C. C., Ohiwa, N., Chang, H., Nishijima, T., Fujikawa, T., Togashi, K. & Saito, T. : Threshold-like pattern of neuronal activation in the hypothalamus during treadmill running: establishment of a minimum running stress (MRS) rat model. *Neurosci. Res.*, **58** : 341-348, 2007.
- 3) Nishijima, T., Okamoto, M., Matsui, T., Kita, I. & Soya, H. : Hippocampal functional hyperemia mediated by NMDA receptor/NO signaling in rats during mild exercise. *J. Appl. Physiol.*, **112** : 197-203, 2012.
- 4) Okamoto, M., Inoue, K., Iwamura, H., Terashima, K., Soya, H., Asashima, M. & Kuwabara, T. : Reduction in paracrine Wnt3 factors during aging causes impaired adult neurogenesis. *FASEB J.*, **25** : 3570-3582, 2011.
- 5) Okamoto, M., Hojo, Y., Inoue, K., Matsui, T., Kawato, S., McEwen, B. S. & Soya, H. : Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **109** : 13100-13105, 2012.
- 6) Hojo, Y., Okamoto, M., Kato, A., Higo, S., Sakai, F., Soya, H., Yamazaki, T. & Kawato S. : Neurosteroid synthesis in adult female rat hippocampus, including androgens and allopregnanolone. *J. Steroids Hormon Sci.*, **S4** : 1-7, 2014.