

社会的敗北ストレス暴露に伴う神経炎症とうつ様行動に対する 大豆イソフラボンの効果

藤川 理沙子・神野 尚三*

九州大学大学院医学研究院生体制御学講座神経解剖学分野

Potential Effects of Soy Isoflavone Genistein on the Neuroinflammation and Depression-related Behaviors in a Mouse Model of Social Defeat Stress

Risako FUJIKAWA and Shozo JINNO*

Department of Anatomy and Neuroscience, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582

ABSTRACT

Social stress is considered a major cause of depressive disorder in humans. Recently, the resident-intruder paradigm of social defeat (SD) has been standardized as a rodent model of depression. This animal model can exhibit depression-like social avoidance behavior, a typical symptom of human depression. In this study, we analyzed the potential effect of soy isoflavone genistein on depression-related behaviors and neuroinflammation in a mouse model of SD stress. Time spent in a closed arm in the elevated plus maze (EPM) test and that spent in an avoidance zone in the social interaction (SI) test were increased by exposure to SD stress for 10 days. Results of the EPM and SI tests were not altered by subsequent administration of genistein for 14 days. In contrast, in the forced swim test, immobility was increased by SD stress, and decreased by subsequent genistein administration. The numerical densities of microglia, the resident immune cells in the brain, were increased by SD stress in the stratum pyramidale of the hippocampus, and decreased by genistein. The number of nodes and ends, and total lengths of microglial processes in the hippocampus were decreased by SD stress, and increased by genistein. Finally, we examined the potential alterations in adult hippocampal neurogenesis by SD stress and genistein, as recent studies have suggested that neuroinflammation induced by social stress may suppress the production of new neurons. The spatial densities of immature neurons were decreased by SD stress, and increased by genistein, whereas those of neural stem cells and astrocytes were not affected by SD stress or genistein. Our findings

*〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1

suggest that soy isoflavone genistein may, in part, alleviate depression-related behaviors and neuroinflammation caused by SD stress. *Soy Protein Research, Japan* **23**, 90-98, 2020.

Key words : social stress, depression, hippocampus, neuroinflammation, microglia, adult neurogenesis

日本では近年、セクシャルハラスメントやパワーハラスメントなどの社会的なストレスが原因と考えられるうつ病の増加が社会的な問題になっている。これまで、うつ病の病態仮説としてはセロトニンに代表されるモノアミン神経系の機能不全が信じられてきた。実際に、うつ病患者の治療においては、セロトニンやノルアドレナリンの再取り込み阻害薬等が第一選択薬として用いられている。それらには一定の治療効果が認められているが、治療が奏功せず、難治化する患者が一定の割合（10–30%）で存在することもまた事実である。このため、うつ病のモノアミン仮説に変わる新たな病態の理解と治療戦略の創出はメンタルヘルス対策における重要な課題になっている。

2000年代になり、精神・神経疾患に罹患した患者の血液や死後脳を用いた研究によって、サイトカインやプロスタグランジンなどの炎症関連分子の異常が多く報告されるようになった。現在までに、アルツハイマー病や統合失調症、うつ病、双極性障害などの多くの精神・神経疾患の病態に神経炎症が関わっていることが示唆されている¹⁾。我々は近年、植物由来エストロゲン類縁体の抗炎症作用に着目し²⁾、精神・神経疾患のモデルマウスにおける大豆イソフラボンの有用性の基礎研究に取り組んでいる。これまでに、加齢マウスにおける成体海馬神経新生の低下（認知機能低下のモデル）に対してダイゼインが促進作用を有することや³⁾、銅キレーターであるクプリゾン投与によるマウス海馬のミエリン脱落（統合失調症・多発性硬化症のモデル）に対してゲニステインが抑制作用を示すことなど⁴⁾を報告してきた。これらから我々は、メンタルヘルスの向上に大豆イソフラボンは何らかの貢献ができるのではないかと、考えるに至っている。

我々は最近、ヒトのうつ病に近い動物モデルとして注目されているresident-intruder paradigmを用いた社会的敗北ストレスモデルマウスの作出に成功した。このモデルでは、大きく攻撃的なICRマウス（resident）に小さくおとなしいC57BL/6Jマウス（intruder）を攻撃させる。攻撃を受けたマウスは、不安関連行動や社会的回避行動、無欲状態など、様々な異常行動を示

すが、いずれも社会的なストレスを受けたヒトがうつ病に陥った場合に見られる症状に近いことが特徴である⁵⁾。本研究で我々は、同モデルマウスを用いて、大豆イソフラボンのうつ様行動に対する効果を集学的に検討した。

方 法

実験動物

本研究では、合計34頭のC57BL/6J系統の成獣オスマウス（8-9週齢）を使用した。すべてのマウスは、大豆油をコーン油に置換し、大豆成分を含有しないよう改変したAIN-93Gの組成に基づく餌（大豆フリー餌）による飼育を行った。社会的敗北ストレスに暴露の後、リン酸緩衝液に懸濁したゲニステイン（30 mg/kg; 東京化成工業）、もしくはリン酸緩衝液を腹腔内投与した。全ての動物実験は九州大学動物実験委員会の承認を得て行われた。

行動解析

社会的敗北ストレス暴露を開始する1週間前から大豆フリー餌を与え、C57BL/6Jマウスの単独隔離飼育を開始した。大型のICRマウスのケージに小型のC57BL/6Jマウスを入れ、ICRマウスにC57BL/6Jマウスを攻撃させ、身体的ストレスを10分間与えた。次に、透明アクリル板の仕切りを入れたケージの両側にICRマウスとC57BL/6Jマウスを入れ、直接接触できない状態にして過ごす精神的ストレスを24時間与えた。これを10日間繰り返し、ストレス群とした（22頭）。コントロール（非ストレス暴露）群では、C57BL/6Jマウスを同じケージの仕切りの両側に一頭ずつ飼育した（12頭）。10日間のストレス暴露が終了した翌日に、高架式十字迷路試験で不安様行動を、社交性試験でうつ様行動の評価を行った。ゲニステインの効果を評価する実験では、10日間のストレス暴露に引き続いて、14日間のゲニステイン（11頭）、もしくはリン酸緩衝液（11頭）の投与を行い、高架式十字迷路試験（23日目）、社交性試験（24日目）、強制水泳試験（25日目）、26日

目に灌流固定を行った。コントロール（非ストレス暴露）群についても、同様の行動解析と灌流固定を行った。

免疫染色

マウスは、深麻酔下に濃度0.05%グルタルアルデヒド含有4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液（PB, 30 ml）による灌流固定を行い、振動刃マイクロームを用いて50 μ m厚の冠状断脳切片を作製した。実体顕微鏡下に海馬を摘出した。

以下の一次抗体に適切な蛍光色素標識二次抗体を組み合わせて免疫染色を行った。

- 1) ウサギポリクローナル抗ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba1) 抗体 (1:10,000, 和光純薬)
- 2) ウサギポリクローナル抗 S100 β 抗体 (1:10,000, Research Diagnostics Inc.)
- 3) モルモットポリクローナル抗 doublecortin (DCX) 抗体 (1:2,000, Millipore)
- 4) ヤギポリクローナル抗 sex determining region Y-box 2 (Sox2) 抗体 (1:2,000, Santa Cruz Biotechnology)

オプティカルダイセクター解析

各実験群のマウスの海馬から計18枚の切片（一頭あたり2切片）を選択し、免疫染色を行った。中倍の対物レンズ（ $\times 20$, NA 0.75）を装着したセクショニング顕微鏡（Apotome.2, Carl Zeiss）を用いて、海馬の領域毎に撮影した。画像解析にはImageJ1.44（NIH）を使用し、厳密なサンプリングを可能にするオプティカルダイセクター法に基づき⁶⁾、ミクログリア（Iba1陽性）、新生ニューロン（DCX陽性）、神経幹細胞（Sox2陽性/S100 β 陰性）、アストロサイト（Sox2陽性/S100 β 陽性）の空間分布密度の定量を行った。

ミクログリアの三次元再構築

各実験群のマウスの海馬から計8枚の切片（一頭あたり2切片）を選択し、免疫蛍光染色を行った。高倍の対物レンズ（ $\times 63$, NA 1.4）を装着したセクショニング顕微鏡（Apotome.2）を用いて、海馬CA1領域の上昇層を撮影した。ミクログリアの突起と細胞体の三次元再構築には専用のソフトウェア NeuroLucida（MBF Bioscience）を使用した。

統計解析と画像処理

統計解析にはKaleidagraph 4.5（ヒューリンクス）を使用し、3群間の検定にはone-way ANOVAを、2群

間の検定にはWelchのt検定を用いた。P値が0.05未満の場合に有意差ありとした。画像処理にはPhotoshop CS6（Adobe）を使用した。

結 果

社会的敗北ストレスによるうつ様行動に対するゲニステインの作用

最初に、社会的敗北ストレスによる行動学的変化を検討した（Fig. 1A）。10日間のストレス暴露が終わった翌日、高架式十字迷路試験を行った。コントロール群に比較して、ストレス群のC57BL/6Jマウスでは、closed armにおける滞在時間の延長と、open armにおける滞在時間の短縮が見られ、不安様行動が示唆された（Fig. 1B, C）。社交性試験では、社交性スコア（ICRマウスに接近する割合）に差はなかったが、忌避行動（ICRマウスから距離を取る行動）を示す時間がストレス群で増加し、うつ様行動が示唆された（Fig. 1D, E）。

次に、10日間の社会的敗北ストレス暴露後にゲニステインを2週間投与したマウスの行動学的解析を行った。高架式十字迷路試験と社交性試験については、ゲニステイン投与による変化は認められなかった（Fig. 1F-I）。一方で、うつ病の精神運動抑制に類似した行動を評価する強制水泳試験では、ゲニステイン投与群において無動時間の短縮と移動距離の延長が認められた（Fig. 1J, K）。これらの結果は、ゲニステインの投与は社会的敗北ストレスによるうつ様行動の一部を改善する可能性を示唆している。

社会的敗北ストレスによる海馬ミクログリアの増加に対するゲニステインの作用

10日間の社会的敗北ストレス暴露後、14日間のゲニステイン投与を行い、海馬のIba1陽性ミクログリア（脳の免疫細胞）の空間分布密度の変化を検討した（Fig. 2A-C）。上昇層（stratum oriens, so）では、ミクログリアの空間分布密度はストレスによる変化は起こらず、ゲニステインの影響も認められなかった（Fig. 2D）。一方で、錐体細胞層（stratum pyramidale, sp）では、ストレス群でIba1陽性ミクログリアの密度が増加し、ゲニステイン投与によって減少していた（Fig. 2E）。放線層（stratum radiatum, sr）では、ストレス群でIba1陽性ミクログリアの密度が増加していたが、ゲニステインの効果は有意ではなかった（Fig. 2F）。これらの結果は、社会的敗北ストレスは海馬に神経炎

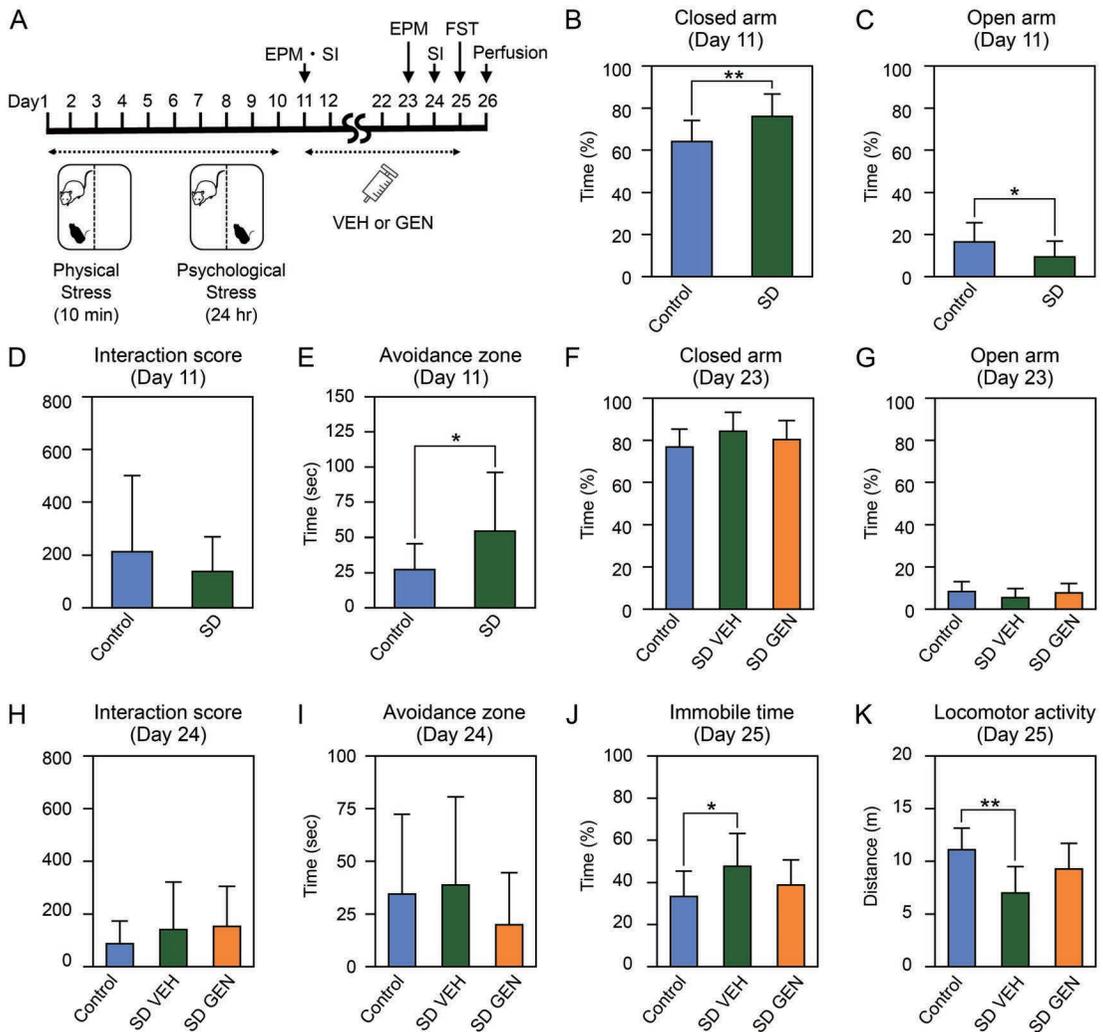


Fig. 1. Alterations in the depression-related behaviors by social defeat (SD) stress and soy isoflavone genistein (GEN). (A) The schedule of SD stress, administration of vehicle (VEH) or genistein, elevated plus maze (EPM) test, social interaction (SI) test, and forced swim test (FST). (B, C) The time spent in the closed arm (B) and open arm (C) in the EPM test on day 11. (D, E) The interaction score (D) and time spent in the avoidance zone (E) in the SI test on the same day. (F, G) The time spent in the closed arm (F) and open arm (G) in the EPM test on day 23. (H, I) The interaction score (H) and time spent in the avoidance zone (I) in the SI test on day 24. (J, K) The time in immobility (J) and distance traveled (K) in the FST on day 25. Data, represented as mean \pm standard deviation, were analyzed by Welch's *t*-test (A-E; Control, $n = 12$ mice, SD, $n = 22$ mice) and one-way ANOVA with *post hoc* Tukey's honestly significant difference test (F-K; Control, $n = 12$ mice, SD VEH, $n = 11$ mice, SD GEN, $n = 11$ mice). Statistical significance: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

症を惹起し、ゲニステインの投与は炎症反応を部分的に抑制できる可能性を示唆している。

社会的敗北ストレスによる海馬ミクログリアの形態変化に対するゲニステインの作用

10日間の社会的敗北ストレス暴露後、14日間のゲニ

ステイン投与を行い、海馬のIba1陽性ミクログリアの突起形態を解析した (Fig. 3A-C)。社会的敗北ストレスによってミクログリアに突起形態の変化が認められたが、ゲニステインによってそれらは抑制されていた。

コンピュータによる三次元再構築を行い、突起の形態を定量的に解析した (Fig. 3D-F)。その結果、スト

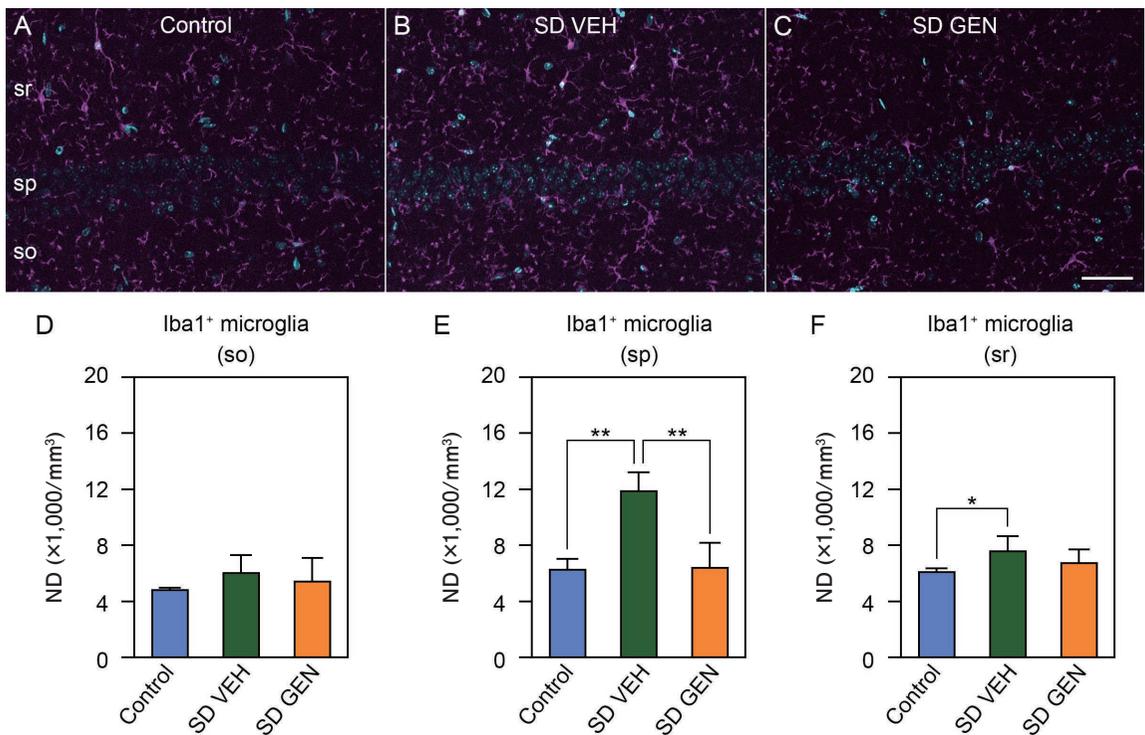


Fig. 2. Alterations in the distributions of microglia in the CA1 region of the hippocampus by social defeat (SD) stress and soy isoflavone genistein (GEN). (A-C) Double fluorescence for ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1, magenta) and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, cyan) in the CA1 region of the hippocampus obtained from control mice (A), mice exposed to SD stress for 10 days and subsequently received administration of vehicle (VEH, B) or GEN (C) for 14 days. (D-F) The numerical densities (NDs, $\times 1,000/\text{mm}^3$) of Iba1-positive (Iba1⁺) microglia in the stratum oriens (so, D), stratum pyramidale (sp, E), and stratum radiatum (sr, F) of the CA1 region of the hippocampus. Scale bar in C, 50 μm for A-C. Data, represented as mean \pm standard deviation, were analyzed by one-way ANOVA with *post hoc* Tukey's honestly significant difference test: $n = 3$ mice per group. Statistical significance: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

レス群では、ミクログリアの突起の分岐 (Nodes) と終末 (Ends) の減少と突起長 (Total length) の短縮が生じること、ゲニステインはそれらの変化を抑制することが明らかになった。突起の短縮や分岐の減少などの形態学的変化は、ミクログリアの活性化と神経炎症に関連していると考えられている。これらの結果は、社会的敗北ストレスは海馬のミクログリアの活性化と神経炎症を誘導し、ゲニステインの投与はそれを抑制する可能性を示唆している。

社会的敗北ストレスによる成体海馬神経新生の低下に対するゲニステインの作用

最近、うつ病に伴う神経炎症が成体海馬神経新生を抑制する可能性に注目が集まっている⁷⁾。このため我々

は、社会的敗北ストレス暴露とゲニステイン投与による新生ニューロンや神経幹細胞の空間分布密度の変化を解析した (Fig. 4A-C)。DCX陽性新生ニューロンの空間分布密度は社会的敗北ストレス暴露によって低下し、ゲニステイン投与によって増加していた (Fig. 4D)。Sox2陽性/S100 β 陰性神経幹細胞の密度は社会的敗北ストレス暴露やゲニステイン投与による影響を受けなかった (Fig. 4E)。S100 β 陽性/S100 β 陽性アストロサイトの密度についても社会的敗北ストレス暴露とゲニステイン投与による影響は認められなかった (Fig. 4F)。これらの結果は、社会的敗北ストレスの暴露は新生ニューロンを減少させる可能性があること、ゲニステインの投与は新生ニューロンを増加させる可能性があることを示唆している。

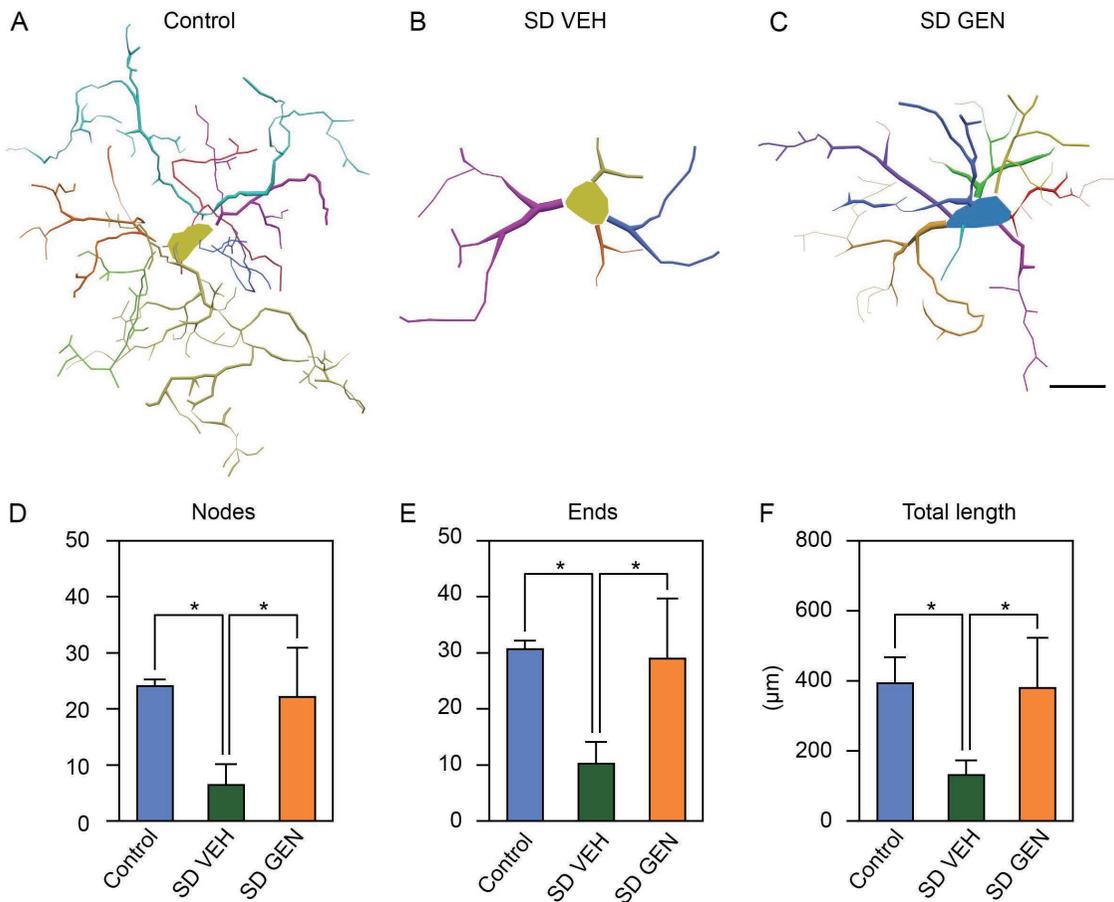


Fig. 3. Alterations in the morphological characteristics of microglia in the CA1 region of the hippocampus by social defeat (SD) stress and soy isoflavone genistein (GEN). (A-C) Computer-based tracing of ionized calcium-binding adapter molecule 1-positive (Iba1⁺) microglia obtained from control mice (A), mice exposed to SD stress for 10 days and subsequently received administration of vehicle (VEH, B) or GEN (C) for 14 days. (D-F) The nodes (D), ends (E), and total lengths (F) of the processes of Iba1⁺ microglia. Scale bar in C, 10 μm for A-C. Data, represented as mean ± standard deviation, were analyzed by one-way ANOVA with *post hoc* Tukey's honestly significant difference test: *n* = 3 mice per group. Statistical significance: **P* < 0.05, ***P* < 0.01.

考 察

本研究で我々は、10日間の社会的敗北ストレスに暴露したマウスを用いて、高架式十字迷路試験、社交性試験、強制水泳試験でうつ様行動が誘導されることを確認した。14日間のゲニステイン投与では、高架式十字迷路試験や社交性試験では明らかな改善効果が認められなかったが、強制水泳試験において無動時間の短縮と移動距離の延長が起ることを見出した。先行研究においても、卵巣摘出メスマウスの強制水泳試験に

において、ゲニステインが無動時間を短縮することが報告されている⁸⁾。しかしながら、社会的敗北ストレスモデルの強制水泳試験において、ゲニステインの投与によって無動時間や移動距離が短縮することを示したのは本研究が世界で初めてである。高架式十字迷路試験におけるopen arm滞在時間はうつ病における不安関連行動に¹⁰⁾、社交性試験における忌避行動はうつ病における引きこもり傾向などに¹¹⁾関連していると考えられている。一方で、強制水泳試験における無動時間や移動距離はうつ病における精神運動抑制(頭の働きや動作が緩慢になるうつ病の症状)に関連していると

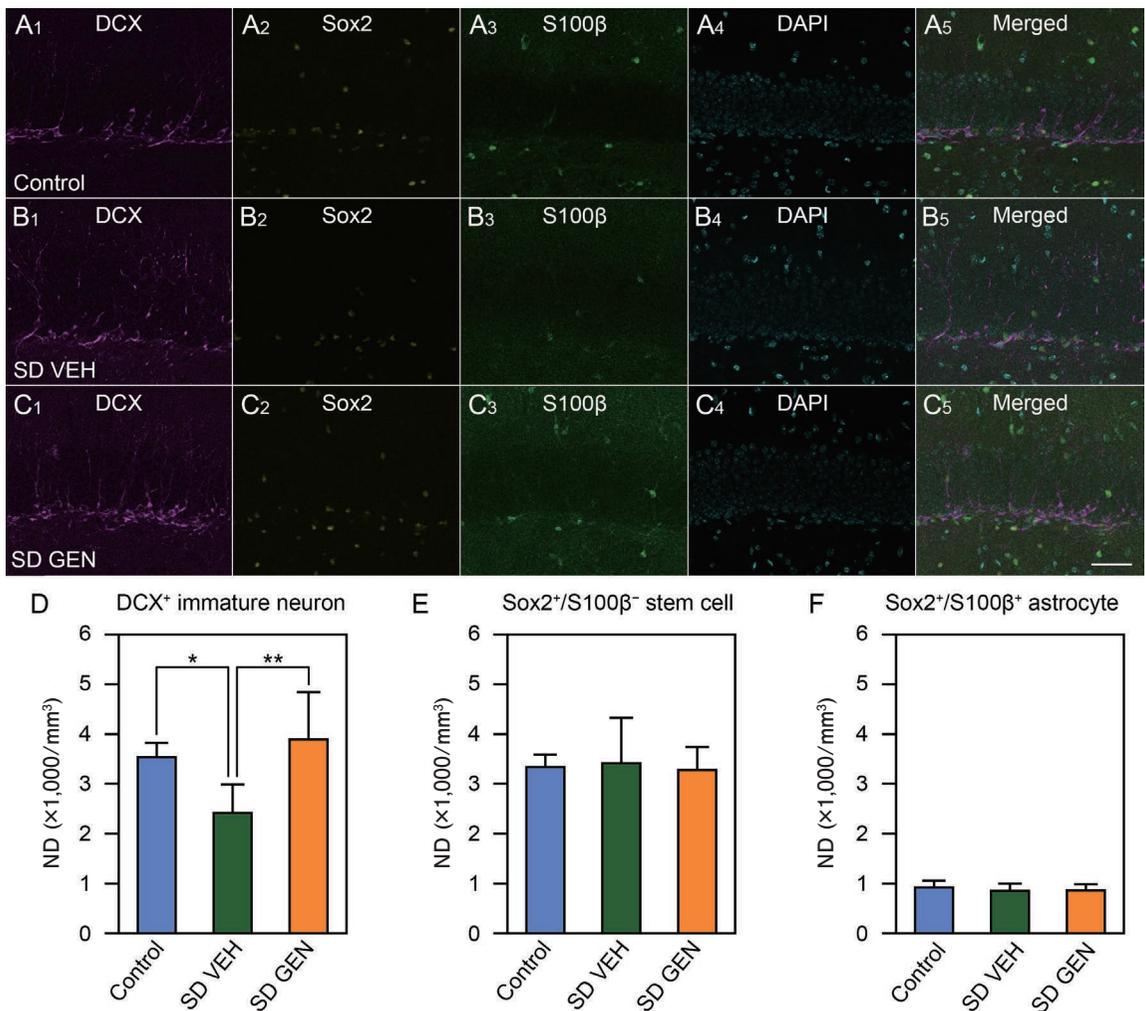


Fig. 4. Alterations in the adult hippocampal neurogenesis by social defeat (SD) stress and soy isoflavone genistein (GEN). (A-C) Quadruple fluorescence for doublecortin (DCX, magenta), sex determining region Y-box 2 (Sox2, yellow), S100β (green), and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, cyan) in the CA1 region of the hippocampus obtained from control mice (A), mice exposed to SD stress for 10 days and subsequently received administration of vehicle (VEH, B) or GEN (C) for 14 days. The numerical densities (NDs) of DCX-positive (DCX⁺) immature neurons, Sox2⁺/S100β⁻ neural stem cells, and Sox2⁺/S100β⁺ astrocytes. Scale bar in C, 50 μm for A-C. Data, represented as mean ± standard deviation, were analyzed by one-way ANOVA with *post hoc* Tukey's honestly significant difference test; *n* = 3 mice per group. Statistical significance: **P* < 0.05, ***P* < 0.01.

考えられている⁹⁾。これらから、社会的敗北ストレスによるうつ病の症状に対するゲニステインの有効性は限定的であるが、精神運動抑制については改善効果を有する可能性が示唆される。

ミクログリアがうつ病患者の脳やうつ病モデル動物の海馬で増加していることは先行研究によって報告されている¹²⁾。また、海馬における炎症関連遺伝子の発現変動¹³⁾が明らかになるなど、神経炎症による海馬の

機能変調がうつ病の病態基盤の一つであることを示唆する報告は多い。本研究で我々は、社会的敗北ストレスモデルマウス の海馬におけるミクログリアの増加や突起形態の変化を明らかにした。これらの結果は社会的敗北ストレスによる神経炎症を示唆している。一方で、大豆イソフラボンの抗神経炎症効果についての研究は、アルツハイマー病モデルや¹⁴⁾、感染症モデル¹⁵⁾などに限られ、精神科の領域では世界的にみてもまだ

少ない。我々は、社会的敗北ストレスマウスにおけるミクログリアの増加と突起の形態変化について、ゲニステインが抑制する可能性を見出した。ミクログリアの密度の増加や、突起の短縮や分岐の減少は、神経炎症において典型的に認められる変化である¹⁶⁾。本研究の結果は、社会的敗北ストレスによる海馬の神経炎症に対し、ゲニステインがその一部を抑制し、うつ病の症状の改善につながる可能性を示唆するものである。

うつ病患者やうつ病のモデルでは成体海馬神経新生が抑制されることが示されている¹⁷⁾。その原因は不明

な点が多いが、神経炎症が新生ニューロンの産生を阻害していることが示唆されている¹⁸⁾。本研究で我々は、神経新生は社会的敗北ストレスによって低下し、ゲニステインによって促進されることを見出した。近年の研究によって、成体海馬神経新生の促進は抗うつ薬の効果発現に必要であることが明らかになっている¹⁹⁾。これらから、ゲニステインの投与は神経炎症を抑制し、成体海馬神経新生を促進することで、うつ様症状の改善に役立つ可能性を示唆するものである。

要 約

(1) 社会的敗北ストレスに暴露したマウスに誘導されるうつ様行動の一部（強制水泳試験における無動時間と移動距離）はゲニステイン投与によって改善した。(2) 海馬CA1領域の上昇層におけるミクログリアの空間分布密度は社会的敗北ストレス暴露によって増加し、ゲニステインの投与によって減少した。(3) 海馬CA1領域のミクログリアの突起の形態は社会的敗北ストレス暴露による活性化を示したが、ゲニステインの投与はそれを抑制した。(4) 成体海馬神経新生は社会的敗北ストレス暴露によって低下し、ゲニステイン投与によって促進された。(5) 大豆イソフラボン（ゲニステイン）は、社会的ストレスによるメンタルヘルスの不調に対して有用である可能性がある。

文 献

- 1) Bauer ME and Teixeira AL (2019): Inflammation in psychiatric disorders: what comes first? *Ann N Y Acad Sci*, **1437**(1): 57-67.
- 2) Essawy AE, Abdou HM, Ibrahim HM and Bouthahab NM (2019): Soybean isoflavone ameliorates cognitive impairment, neuroinflammation, and amyloid beta accumulation in a rat model of Alzheimer's disease. *Environ Sci Pollut Res Int*, **26**(25): 26060-26070.
- 3) Yamada J, Hatabe J, Tankyo K and Jinno S (2016): Cell type- and region-specific enhancement of adult hippocampal neurogenesis by daidzein in middle-aged female mice. *Neuropharmacology*, **111**: 92-106.
- 4) Ohgomori T and Jinno S (2019): Cuprizone-induced demyelination in the mouse hippocampus is alleviated by phytoestrogen genistein. *Toxicol Appl Pharmacol*, **363**: 98-110.
- 5) Pfau ML and Russo SJ (2016): Neuroinflammation regulates cognitive impairment in socially defeated mice. *Trends Neurosci*, **39**(6): 353-355.
- 6) Schmitz C and Hof PR (2005): Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience*, **130**(4): 813-831.
- 7) Troubat R, Barone P, Leman S, Desmidt T, Cressant A, Atanasova B, Brizard B, Hage WE, Surget A, Belzung C and Camus V (2020): Neuroinflammation and depression: A review. *Eur J Neurosci*, doi: 10.1111/ejn.14720.
- 8) Kageyama A, Sakakibara H, Zhou W, Yoshioka M, Ohsumi M, Shimoi K and Yokogoshi H (2010): Genistein regulated serotonergic activity in the hippocampus of ovariectomized rats under forced swimming stress. *Biosci Biotechnol Biochem*, **74**(10): 2005-2010.
- 9) Unal G and Canbeyli R (2019): Psychomotor retardation in depression: A critical measure of the forced swim test. *Behav Brain Res*, **372**: 112047.
- 10) Pellow S, Chopin P, File SE and Briley M (1985): Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, **14**(3): 149-167.

- 11) Toth I and Neumann ID (2013): Animal models of social avoidance and social fear. *Cell Tissue Res*, **354**(1): 107-118.
- 12) Hu X, Dong Y, Jin X, Zhang C, Zhang T, Zhao J, Shi J and Li J (2017): The novel and potent anti-depressive action of triptolide and its influences on hippocampal neuroinflammation in a rat model of depression comorbidity of chronic pain. *Brain Behav Immun*, **64**: 180-194.
- 13) Bartels MF, Winterhalter PR, Yu J, Liu Y, Lommel M, Möhrlein F, Hu H, Feizi T, Westerlind U, Ruppert T and Strahl S (2016): Protein O-Mannosylation in the murine brain: occurrence of mono-O-mannosyl glycans and identification of new substrates. *PLoS One*, **11**(11):e0166119.
- 14) Park YJ, Ko JW, Jeon S and Kwon YH (2016): Protective effect of genistein against neuronal degeneration in ApoE(-/-) mice fed a high-fat diet. *Nutrients*, **8**(11).
- 15) Mirahmadi SM, Shahmohammadi A, Roustaei AM, Azadi MR, Fahanik-Babaei J, Baluchnejadmojarad T and Roghani M (2018): Soy isoflavone genistein attenuates lipopolysaccharide-induced cognitive impairments in the rat via exerting anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *Cytokine*, **104**: 151-159.
- 16) Arcuri C, Mecca C, Bianchi R, Giambanco I and Donato R (2017): The pathophysiological role of microglia in dynamic surveillance, phagocytosis and structural remodeling of the developing CNS. *Front Mol Neurosci*, **10**: 191.
- 17) Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA and Gage FH (1998): Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*, **4**(11): 1313-1317.
- 18) Ryan SM and Nolan YM (2016): Neuroinflammation negatively affects adult hippocampal neurogenesis and cognition: can exercise compensate? *Neurosci Biobehav Rev*, **61**: 121-131.
- 19) Perera TD, Dwork AJ, Keegan KA, Thirumangalakudi L, Lipira CM, Joyce N, Lange C, Higley JD, Rosoklija G, Hen R, Sackeim HA and Coplan JD (2011): Necessity of hippocampal neurogenesis for the therapeutic action of antidepressants in adult nonhuman primates. *PLoS One*, **6**(4): e17600.