

ストレスの科学

監修：若手研究者のための生命科学セミナー組織委員会

発行：(財)万有生命科学振興国際交流財団

はじめに



若手研究者のための生命科学セミナー組織委員

唐木英明

「若手研究者のための薬理学セミナー」が万有製薬(株)の主催で始まったのは1998年のことでした。大学での研究が細胞以下の分子・遺伝子レベルに集中し、学生の皆さんは酵素や受容体や遺伝子はよく知っているけれど、それが生体の機能や動物の行動にどのように関与するのかほとんど知らないという「部品生物学」の風潮が懸念されていました。そこで、このセミナーは「分子レベルから生体に」というスローガンの下に、生体について総合的に理解することを目的にして、一流の研究者をお招きして最新の知識を分かりやすく解説し、薬理学だけでなく生物を研究する楽しさを分かっていたいただいと願って始めました。

組織委員は、稲垣千代子(関西医科大学)、桂木 猛(福岡大学)、唐木英明(東京大学)、明樂 泰、池本文彦(万有製薬)の5名、事務局は鈴木国夫、雨宮千穂(万有製薬)の2名が担当しました。

セミナーの進行にも工夫を凝らして、モデレーター役の先生が分子レベルから生体までを含む一つのストーリーを作り、その中で数人の先生がトピックスについて話し、全部を聞き終わると一冊の本を読んだようにその分野の知識が整理できるという方法を採用しました。講演をされる先生方には、学会で使うようなデータスライドを禁止して、ストーリーを重んじた、視覚的に分かりやすいスライドに作り変えていただきました。また、少なくとも2回のリハーサルを行い、ストーリーとスライドの確認を行いました。こうして舞台公演のように入念な準備を重ねて本番を迎えます。

一番苦勞をしたのはテーマの選定です。セミナーは毎年1回ですが、一つのテーマを3年続けることにしました。第1シリーズ「イオンシグナル」では、1年目は唐木英明がモデレーターで「イオンチャネルとポンプの進化」、2年目は稲垣千代子がモデレーターで「イオンと細胞行動」、3年目は桂木 猛がモデレーターで「進化するATPシグナリング」をサブテーマにして、分子・遺伝子レベルから生命・生体機能の謎に迫る大変興味深い講演内容になりました。初年度のセミナーの内容は単行本「イオンシグナルの謎—カルシウムの40億年を渉獵する」(メディカルレビュー社、1999年)として出版することができました。

2001年から始まった第2シリーズ「脳」では、1年目は唐木英明がモデレーターで「脳と行動」、2年目は稲垣千代子がモデレーターで「脳と病気」、3年目は桂木 猛がモデレーターで「脳と記憶」をサブテーマにして、21世紀に残

された最大の未知領域である「脳」の謎に迫りました。

この間に主催が万有製薬(株)から(財)万有生命科学振興国際交流財団に変わり、組織委員が玉置憲一(実験動物中央研究所)、山本 慧(万有財団)そして唐木英明に交代し、セミナーの名称も「若手研究者のための生命科学セミナー」に変えて、薬理学に限らず、広く生命科学一般を取り扱うことを明確にしました。組織委員にはその後、尾仲達史(自治医科大学)と太田 尚(万有製薬)が加わりました。

そして、2004年から始まった第3シリーズ「ストレス」では、1年目は尾仲達史、井樋慶一(東北大学)がモデレーターで「ストレスと脳」、2年目は神庭重信(九州大学)がモデレーターで「ストレスと疾患」、3年目は二木鋭雄(産業技術総合研究所)がモデレーターで「ストレスと生活」をサブテーマにして、ストレス社会の現代では一般用語となっている「ストレス」を科学的なレベルで理解していただくと共に、ストレス社会を生き抜くヒントを探していただくことを目指しました。

そして、今回、このストレスシリーズが単行本として発行されることになりました。残念ながら「若手研究者のための生命科学セミナー」はストレスシリーズをもって9年間で終了になりましたが、本書の発刊は9回のセミナーを締めくくる記念であると共に、その内容は多くの研究者の参考になるものと考えています。

最後に、ご多忙中のところを原稿をお寄せいただいた先生方、本書の編集にご尽力を頂いた先生方に心から感謝します。[敬称省略]

(監修／唐木英明、玉置憲一、尾仲達史、太田 尚)

ストレスと脳



自治医科大学
医学部生理学講座
神経脳生理学部門

尾仲達史



東北大学大学院
情報科学研究科
医学系研究科

井樋慶一

ストレスという言葉が医学の世界に持ち込んだのは Cannon WB で、これを概念化し世に広めたのは、Selye H である。Selye H は 1936 年に、外界からの様々な刺激（ストレス刺激）に対する生体の非特異的反応を全身適応症候群（general adaptation syndrome）として雑誌 Nature に記載した。その後、ストレスの語は、世界中の多くの言語において日常的に用いられるようになった。現在、ストレスの語は Selye が言った生体全体のレベルのみならず、細胞レベルでも、ストレス蛋白質、酸化ストレスのように使用されている。

生体はストレス刺激の種類によらず非特異的な反応を示すことを、Selye は指摘した。しかし、詳細に見れば、加えるストレスの種類が異なれば生体の反応は異なる。さらに、個体が違えば、ストレス刺激に対する反応は、年齢、性別、過去の経験に応じて異なる。ストレス刺激が加われば頭が痛くなるヒトがいれば、お腹をこわすヒトもいる。さらに、何がストレス刺激として働くかも個々人により異なる。このようにストレス刺激に対する反応は多様で定義し難い。また、ストレス反応という結果を見てからこの原因をストレス刺激と定義し、ストレス刺激により誘発される反応をストレス反応とするという循環論法にもなっている。にもかかわらず、「ストレス」の語は日常語のみならず、科学の世界でも生き残っている。何故か？それは、疫学的に、所謂「ストレス」が精神的な疾患だけでなく身体的な疾患

の少なくとも増悪因子（場合によっては発症因子）になっていることが示されており、疾病のなりたちに関して共通する「ストレス」機構の存在が想定されるからである。

このストレス、特に現代社会で問題となる精神的ストレスを受容しているのは、脳である。脳の機能のうち「こころ」は、大きく分けて3つある。知情意である。このうち、「情」は延髄・視床下部・大脳辺縁系が、「意」は大脳の前半分、前頭葉が担っている。知情意のうち「情」が最も原始的な機能であり「こころ」の根底にあるもので、「意」はいわば司令塔に当たる。「情」を担う延髄・視床下部・大脳辺縁系は、自律神経系と内分泌系を通じて脳から身体へと出力している部分でもある。ストレスは脳の様々な階層に作用し、「こころ」を揺さぶり、身体を変容させる。

これまで、「ストレス」応答に共通した物質的な基盤が存在するのかどうか、あるとすればそれは何かを見出す努力が続けられてきたが、近年、ストレス研究は長足の進歩を遂げた。それは、ストレスを探る方法論として、これまでの古典的方法論以外に、発生工学を含む分子生物学的方法と画像解析の方法が導入されたからである。

第一部では、まず、最初にストレスの概説をし、次に「情」を司る延髄、視床下部、大脳辺縁系レベルにおけるストレス応答を説明する。次に、発生工学的手法を用いて作製した精神疾患のモデル動物について紹介する。最後に、「意」を司る前頭葉におけるストレス対処の機構について、画像解析を用いた研究を紹介する。第一部ではこのような順序で、脳においてストレスがどう受容され、どう処理されていくのかを解説し、残された課題を含めストレスの脳研究の最前線を分かりやすい言葉で提示する。

現代社会は高齢化が急速に進むなか、経済システムが過激に変革されつつある。個々人に対する負荷が増大しているこの「ストレス」社会においてストレスの脳機構を解明し解決することは社会に多大な利益をもたらすと期待される。

ストレスと疾患



九州大学大学院医学研究院
神庭重信

あらゆる疾患の原因は、遺伝子と環境とで説明できる。たとえば、交通外傷は環境が、血友病のような遺伝疾患は単一遺伝子が原因である。そしてがん・糖尿病・高血圧などの生活習慣病の発症には遺伝子と環境による同程度の寄与が推定されている。精神疾患の多くは、これら生活習慣病に類似しており、遺伝子の影響と環境の寄与がほぼ同程度であると考えられている。詳しくみるならば、急性ストレス障害のように、環境因子が大半を占めるものから、統合失調症や双極性障害のように、遺伝の寄与が70%近い疾患まで幅広い。精神疾患で対象とされる環境とは、もっぱら心理的ストレスのことであり、物質的な環境は今のところ明確ではない。

環境が精神疾患の発症に関与するとして、それには大きく二つの関わり方がある。一つは、精神疾患の発症脆弱性を作る環境ストレスであり、他は精神疾患の発症の誘因としてのそれである。発症脆弱性の形成に関わるストレスとして問題になるのは、幼弱期の環境である。胎児期から幼少時期、脳が発生・発達しつつあるとき、脳は環境への感受性が高く、かつ好ましい環境を強く必要とする。たとえば胎児期であれば、妊娠中の母親の受けるストレスが脳発達に影響することが知られている。また幼少時期であれば、親子関係を中心とする家庭環境の影響は極めて大きい。同じ遺伝子を共有する一卵性双生児でも、形質に違いが見られ、統合失調症や双極性障害で不一致例が見られる。これは一卵性双生児のおかれた同じ生活環境でも、個々人のユニークな体

験が重要であることを意味する。さらにいえば、発症に予防的に作用する環境もあれば、促進的に作用する環境もあるだろう。

以上のようなことを知って頂いた上で、第2部「ストレスと疾患」の構成と梗概を説明したい。神庭は、心理的ストレスが脳の微細構造、なかでも海馬の錐体細胞の萎縮あるいは神経新生に影響を与えることの実験的証拠を紹介し、ストレスのもたらす脳への影響が、かつて考えられていたように一過性の機能的障害に限らないことを説明する。脳内セロトニン系は、衝動性の制御や気分の安定化に深く関わっているが、幼少時期の影響がこの重要な神経伝達系に永続的に及ぶという事実を吉岡が明らかにした。曾良は、幼少時期に発症し、今日の日本社会で問題となっている多動性/注意欠陥性障害 (ADHD) のモデル動物の解析から、行動制御に大きな役割を果たしている前頭前野でノルアドレナリン系の機能不全が原因に深く関わっていることを解明した。ADHDは遺伝性が高く、一卵性双生児の一致率は80%と推計されているが、それでも発症や悪化にストレスが深く関与する。西川は、脆弱性・ストレスモデルで説明される統合失調症の多くが思春期になってから発症するという事実から、脳の回路が完成したときに初めて現れる、脳の発達特異的なタンパク質の存在を追求することでその原因に迫っている。三国は、生涯有病率が15%に達するといわれるうつ病の発症に関わるストレスが脳にどのような影響を与えるのかを脳画像と死後脳研究から明らかにしている。引き続きうつ病と関連した話題として、ゲノム創薬の視点から新規抗うつ薬の開発をめざしている山田に、その最新の展開を紹介していただいた。

精神疾患の多くは未だに難治である。ストレスは、脳の発生から発達、あるいは老化という、生涯に亘る時間軸の上に、脆弱性 (遺伝子) との交互作用をもって精神疾患の発症に関わる。取り上げる疾患は限られているが、第2部を通して、精神疾患の発症につながる要素としてのストレスのもつ意味を理解して頂きたいと思う。

ストレスと生活



産業技術総合研究所

二木 鋭雄

現代はストレスの時代といわれている。ストレスは日常生活で極めて身近なものであり、それから逃れられない。常日頃、人間関係などの社会的・心理的ストレス、あるいは環境ストレスにさらされていると感じている人は多い。しかし、ストレスの定義、概念は必ずしも明確ではない。「外からの刺激（ストレスラー）に対する生体の反応」、あるいは「生体の恒常性（ホメオスタシス）を障害する刺激に対する生物学的反応」などといわれることが多い。この外からの刺激は必ずしも精神的なものだけではなく、化学的、物理的、生物学的刺激もストレスといえよう。人間関係、失業、過労、独居、不安、怒りなどは代表的なストレスであるが、ダイオキシン、ホルムアルデヒド、環境ホルモン、合成化学物質などの化学的ストレス、O-157、ウイルス、病原菌などの生物的ストレス、あるいは紫外線、放射線、騒音、振動などの物理的ストレスなどがある。また、インターネットなど情報技術あるいは医療技術の爆発的な発展はテクノストレスというものをもたらしている。これらのストレスは、ヒトのこころ、身体にシグナルとして働き、生体はこれらに対してさまざまな応答をする。

このようなわれわれの日常生活における多種多様なストレスを科学的に解明、理解し、それに対処することは、現在目指している健康で活力ある社会の実現のために欠かせない。ストレスが多種多様であると同様に、ストレスに対するヒトの応答も様々である。健康な生活を実現するためには、ストレスに対する生体の応答を理解するとともに、ストレスによる障害を緩和、克服するすべを知り、さらにストレスを逆に楽しむ、利用することが必要である。ヒトをはじめとする生物は何億年という長い時間の進化の過程で極めて精巧で見事な防御システムを構築し、生体のホメオスタシスを維持している。少々のストレスがあってもそれにきちんと対応する見事なすべを知っている。むしろそれを利用して、生体は常にいい状態に自らをおいている。ストレスはいい刺激、シグナルでもある。もちろんストレスにより生体のシステムの一部に破綻が生じ、障害が現れることもある。ストレスの度合いを測り、知ることは重要な課題である。近年の分子生物学、OMICS技術、すなわちゲノミクス、プロテオミクス、リポミクス、グライコミクス、メタボロミクスの発展はめざましいものがあり、これらを駆使したストレスに対する生体応答の解明の進展が期待される。

今回のセミナーでは、生活とストレスについて上記の観点からの講演とポスター発表があり、また活発な質疑がなされて有意義であった。日常生活におけるストレスの重要性は大きく、このセミナーがストレスの科学的解明と克服、利用ための一助となれば幸いである。

最後に、講演をしていただいた先生方、このセミナーの成功に尽力された方々に心からのお礼と感謝の意を表したい。

目次

●ストレスと脳

ストレス反応とその脳内機構	尾仲 達史	2
ストレス応答のかなめ CRH 遺伝子	井樋 慶一	6
ストレスが変える視床下部の遺伝子	上田 陽一	11
ストレス反応の身体表出における大脳辺縁系—視床下部の役割	西条 寿夫 他	16
精神疾患モデルマウスはストレスに弱いか？	宮川 剛 他	21
ストレスを感じる前頭前野—ストレス適応破綻の脳内機構—	岡本 泰昌 他	26

●ストレスと疾患

ストレスから精神疾患に迫る：海馬神経新生と精神機能	神庭 重信	32
幼若期ストレスと不安障害	吉岡 充弘	37
脳の発達障害 ADHD はどこまでわかったか？	曾良 一郎 他	42
脳の発達障害としての統合失調症	西川 徹	47
ストレスがどうしてうつ病を起こすのか—うつ病の発症脆弱性の病態生理—	三國 雅彦	53
遺伝子から探る新規抗うつ薬の開発	山田 光彦 他	57

●ストレスと生活

良いストレスと悪いストレス	二木 鋭雄	62
唾液マーカーでストレスを測る	山口 昌樹	66
遺伝子で応える細胞のストレス応答	野口 範子	71
ASKファミリーによるストレス応答～細胞がストレスを感じる仕組みと疾患～	一條 秀憲	75
疲労の分子神経メカニズムと疲労克服	渡辺 恭良	80
涙とストレス緩和	有田 秀穂	85

●企業研究紹介

げっ歯類を用いた物体認識試験及び位置認識試験の行動学的・薬理学的特徴	奥田 尚紀 他	92
------------------------------------	---------	----

ストレスと脳

—そのとき脳はどう動くか?—

2004年 第7回若手研究者のための生命科学セミナー



左から、宮川 剛(京都大学)、尾仲達史(自治医科大学)、井樋慶一(東北大学)、西條寿夫(富山大学)、上田陽一(産業医科大学)、鈴木国夫(元万有財団)、岡本泰昌(広島大学)

ストレス反応とその脳内機構	尾仲 達史	2
ストレス応答のかなめCRH 遺伝子	井樋 慶一	6
ストレスが変える視床下部の遺伝子	上田 陽一	11
ストレス反応の身体表出における大脳辺縁系 —視床下部の役割	西条 寿夫 他	16
精神疾患モデルマウスはストレスに弱いか?	宮川 剛 他	21
ストレスを感じる前頭前野 —ストレス適応破綻の脳内機構—	岡本 泰昌 他	26

ストレス反応とその脳内機構

尾仲 達史

要約：キャノンとセリエにより医学の世界にストレスという言葉が持ちこまれた。キャノンは、ストレス刺激に対応した多様な反応が生体におきることとこの反応に交感神経系 - 副腎髄質ホルモン分泌が必須であることを示した。セリエは、刺激によらず非特異的な反応が生体におきることとこの反応に視床下部 - 下垂体前葉 ACTH- 副腎皮質ホルモンが必須であることを示した。近年になり、「ストレス」が多くの疾患の少なくとも増悪因子となることが様々な疫学的な調査により示されるようになった。さらに、ストレス刺激によりある程度共通した神経系が活性化されることが明らかになりつつある。このストレス時に活性化される神経系の代表が、延髄ノルアドレナリン / PrRP ニューロン系である。この延髄ノルアドレナリン / PrRP ニューロン系は恐怖刺激、痛み刺激による反応に重要であることが示されている。一方、新奇環境曝露によるストレス反応、あるいは、モルヒネ禁断のような刺激は、延髄ノルアドレナリンニューロンに依存しないことも示されている。今後、どのストレス神経系を活性化させるかによりストレスの分類分けが行われていくと思われる。

2005 年も自殺者が 3 万人を超えた。2003 年は 10 万人当たりの自殺者数も 25.2 人と過去最高であった。戦後から現在までの日本の自殺者総数の時間経過を示したグラフには 3 つのピークがある。1950 年代後半、1980 年代半ば、そして 1998 年から現在までに至るものである。戦後の復興が一段落した時期、高度成長期が続きバブル経済発生の直前、そして現在である。いづれも、社会変革が迫られた時代といえる。世界的に見ても、自殺率の高い国は、ロシア、東欧など社会変

革が急激に起こった国々である。このように社会的に大きなストレスが加わると自殺者が増える。

自殺という劇的な事象だけに、ストレスが影響するわけではない。ストレスが加わると数多くの疾患の少なくとも増悪因子となることが示されている。例えば、急性のストレスの例として、阪神淡路大震災の時に循環器疾患が増加したことが示されている(1)。ロサンゼルス大地震、湾岸戦争でも同様のことが示されている。また、より長期にわたるストレスも循環器疾患の増悪因子となることが示されている(2)。即ち、職場のストレスの多さと動脈硬化の指標が比例することが示されている。心血管系の疾患のみならず、糖尿病などの生活習慣病とストレスの関連が疫学的に示されている。また、ストレス刺激が生体の老化を促進することにより、様々な疾患に繋がるという証拠も出されている。慢性疾患に罹患した子供を世話する母親、特にストレスの自己申告が高かった母親は、細胞老化の指標であるテロメアの短縮があり、酸化ストレスのマーカーが高値を示すことが報告された(3)。

疾患だけでなく、ストレスが加わると我々の認知、判断が変容することも示されている。即ち、ストレスが加わるとより賭的な選択肢を選ぶようになることが示されている。このように、ストレスは我々の日常の判断行動から、生命を脅かす疾患に至るまで様々なレベルで影響を及ぼす。

1. ストレスの歴史

ウォルター・キャノン (Walter Bradford Cannon) は、既に、19 世紀初頭に、今日使われているのとはほぼ同じような意味でストレスという言葉を使用している。キャノンは、寒冷、運動、出血、低酸素、低血糖のよ

うなストレスがホメオスタシス（生体恒常性）homeostasisを乱し、生体に歪み strainを生じさせることを指摘した(4)。このストレスという概念は、そもそも物理工学の概念である。Stressは「応力」と訳され、「物体の内部に考えた任意の単位面積を通してその両側が互いに相手に及ぼす力」と定義されている。即ち、物体に外から力を加えると、応力が生じ、歪 strain（形状、体積の変化）が出来る。キャノン（ Cannon ）は生体がストレス刺激に応じてそれぞれ個別の適切な反応を示すことにより生体の内部環境を一定に保つことが出来ることを強調した(4)。この反応の中心として、キャノンは交感神経 - 副腎髄質系の活性化に注目した。例えば、イヌにほえられたネコは、胃腸運動がとまり、消化液分泌が減少し、心拍数と血圧が上昇し、血糖値が上がり瞳孔が開く。これらの反応は、闘争あるいは逃走に有利な反応であり、緊急反応、あるいは、危急反応と呼ばれている。

これに対し、ハンズ・セリエ（Hans Selye）は、ストレス刺激の種類によらず非特異的に全身性に起こる反応があると指摘した(5)。セリエは、このストレス反応の中心が ACTH - 副腎皮質ホルモンであることを示した。さらに、この非特異的な反応が、環境変化に対する生体の防衛反応として少なくとも短期的には適応的に働いていることを見出した。セリエはこれを汎適応症候群（general adaptation syndrome）と名付けた。これがストレスである。セリエは、刺激が加わった時に生体が示す反応をストレスと呼び、この反応を誘発する刺激のことを新たに造語しストレッサー（stressor）と名付けた(6)。

セリエは、ストレス刺激の種類によらず出現する反応をストレスと呼んだ。勿論、実際には、加わる刺激が異なれば、それに依りて生体に生じる反応は異なる。セリエは、この現象を、共通する非特異的ストレス反応が存在し、これに刺激特異的な反応が重なっていると説明した。しかし、刺激に応じた特異的反応と、どの刺激にも共通したストレス反応があるとしても、この足し算の法則は不明であり、ストレス反応として非特異的の反応が存在することを定量的に証明することは困難である(7)。従って、ストレスという曖昧な言葉は科学の言葉として適さないという主張もある。

それにもかかわらず、ストレスという語が世界的に日常会話だけで無く科学の社会でも使われ続けている。この理由のひとつは、「ストレス」が多くの疾患の少なくとも増悪因子となることが様々な疫学的な調査により示されてきていることにある。ストレスの指標とメタボリック症候群の指標を組み合わせると老年者の

余命の指標となることが示されている(8)。従って、ストレスに共通する何らかのメカニズムがあり、これが様々な疾患の発症と増悪をもたらしていると思定したくなる。近年、ストレス刺激によりある程度共通した神経系が活性化されることが明らかになりつつある(9)。また、Ganongが述べている通り、何よりストレスという語ほど端的で情感に訴える便利な言葉はない(10)。

2. ストレスの定義

ストレスが外から加わるストレス刺激を指すのか、その結果として生じる生体の反応（ストレス反応）を指すのかという混乱を除いても、ストレス刺激、ストレス反応の定義は不明瞭である。誰しもが納得する「ストレス」の定義はない。Chrousosは、ホメオスタシスを乱すかも知れないような内因性あるいは外因性の力をストレッサー、ホメオスタシスを乱すおそれがある状態のことをストレスと定義している(11)。一方、多くの生理学者にとって、ストレス刺激は、ストレスホルモン、例えば、視床下部（CRH・バズプレシン）- 下垂体前葉（ACTH）- 副腎皮質系の活性化(10)、あるいは交感神経・副腎髄質系の賦活化（ノルアドレナリン・アドレナリンの放出）(12, 13)を誘発する刺激と殆ど同義である。

ストレス刺激を、大きく2つに分けて考えることも多い。即ち、ホメオスタシスを直接乱す刺激である肉体的（physicalまたはsystemic）ストレス刺激と、乱すおそれがあると生体が判断した刺激のことである精神的（psychological, emotional, またはprocessive）ストレス刺激の2つである。前者には脱血、感染が入り、後者の例としては捕食動物を思わせるような刺激（匂い、姿）、条件恐怖刺激、優位動物との対面が入る。

3. ストレス反応を修飾する因子

ストレス反応は様々な因子により修飾される。即ち、環境因子と遺伝的因子が共にストレス反応を大きく修飾している(14)。ストレス反応を制御する上でこの環境によるストレス反応の影響の機構は重要である。しかし、多くの不明な点があり今後の研究成果が望まれる。

1) 時間経過：セリエはストレス刺激が加わってからの持続時間によりストレス反応が変わっていくことを示した。即ち、まず、急性反応が生じる警告期がある。ストレス刺激が持続すると初期に比べ生体に適応性が出来た抵抗期となる。さらに長くストレス刺激が続くと生体の抵抗力が落ち、疲弊期へと変化する。実

際、動物実験でストレス刺激をある程度繰返し与えるとその刺激に対する ACTH 放出が、多くの場合、次第に減弱していくことが示されている。ただし、このような状況においても新たなストレス刺激を加えた場合 ACTH 放出はむしろ増強している (15)。

2) 発達と妊娠分娩：神経内分泌系のストレス反応が個体の発達に従い変化していくことが示されている。幼若期に、ストレス刺激に対する副腎皮質ホルモン分泌における反応性が減弱している時期 (stress hyporesponsive period) がある。この時期も行動上のストレス反応は抑えられていない。従って、stress hyporesponsive period の生理的意義としては、保護者による助けを求めることで副腎皮質ホルモンの血中レベルを低値に保つ働きがあるといわれている。

また、妊娠、分娩、授乳期にもストレス反応が減弱していることが示されている (16)。この原因はまだ完全には解明されていない。下垂体レベルでは CRH に対する反応性の低下が、視床下部レベルではオピオイドによる抑制が一因と考えられている。その他、オキシトシン、プロラクチン、上行性カテコラミンニューロンの関与も示唆されている。

3) 幼若期体験：幼若期体験は、その後のストレス反応を長期間にわたり変容させることが知られている。幼若期に虐待を受けると、大人になってからのストレス反応が増強する。このメカニズムも不明な点が多い。グルココルチコイド受容体、GABA 受容体の変化が記載されている (17)。

4) 環境：どのような状況でストレス刺激が加わるかでもストレス反応が変容することが知られている。たとえば、ある種の香り刺激がある環境下では、ストレス反応が減弱することが報告されている。

5) 摂食状況：ストレス反応は、その個体の栄養代謝状況でも変容する。たとえば、飢餓状態においては、ストレス反応は増強している。飢餓時に減少するレプチンを外来性に投与して補うと、ストレス刺激に対する視床下部のノルアドレナリン放出が減弱し、ACTH 反応が減弱する。逆に、飢餓時に増えるグレリンを投与すると、ノルアドレナリン放出が増強し、ACTH 反応も増強する。従って、飢餓時のストレス反応の増強に、レプチンとグレリンが関与していると思われる。

また、摂食すると一時的に体液の浸透圧が上昇する。この体液浸透圧の上昇もストレス反応の減弱に貢献しているかも知れない。高張食塩水を投与して体液浸透圧を上昇させると神経内分泌系のストレス反応は減弱する (18)。

6) 遺伝的要因：遺伝的素因によりストレス反応が

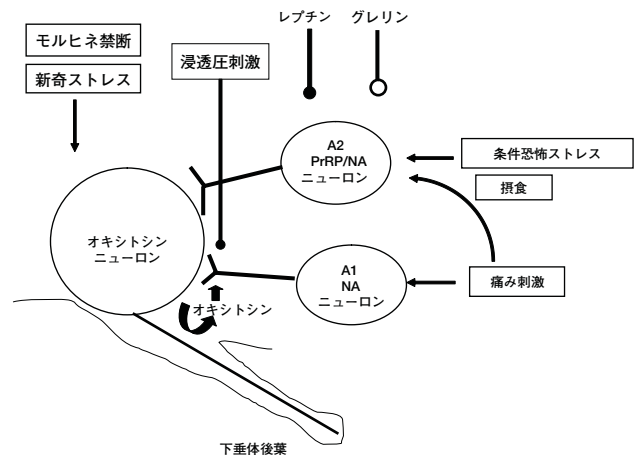


図1 神経内分泌細胞におけるストレス反応を伝達する機構

A2 PrRP/ノルアドレナリン (NA) ニューロンは恐怖ストレス反応を、A1 NA ニューロンは痛み刺激に対する反応を担う。新奇ストレス、モルヒネ禁断ストレスはノルアドレナリン非依存性にオキシトシンのストレス反応を誘発する。(文献 27 から改変)

異なることは古くから知られている。動物の系統によりストレス反応が異なることが示されている。最近、この原因因子の一つが、バゾプレシンではないかという報告が出た (19)。

系統によるストレス反応の差異のような多因子遺伝子によるものだけでなく、単遺伝子の欠損によりストレス反応が変容することも多数知られている (20, 21, 22)。

4. ストレス反応を伝達する神経回路

神経内分泌系のストレス反応は、脳幹部にあるノルアドレナリンニューロンが少なくとも一部を担っている (23)。様々なストレス刺激は、橋の青斑核 A6 ノルアドレナリンニューロンと延髄背内側部 A2 ノルアドレナリンニューロンと延髄腹外側部にある A1 ノルアドレナリンニューロンを活性化させる (24)。逆行性トレーサーを用いて、神経内分泌ニューロンに投射すると考えられるノルアドレナリンニューロンを同定した上で、ニューロン活動の指標である Fos タンパク質の発現を検討したところ、恐怖刺激は神経内分泌ニューロンに投射すると考えられる延髄 A2 ノルアドレナリンニューロンを活性化させることが明らかとなった。このノルアドレナリン性神経伝達をアドレナリン受容体アンタゴニストあるいはノルアドレナリン投射線維の破壊により障害すると、恐怖刺激に対するオキシトシン反応が減弱する。従って、視床下部へ投射する延髄 A2 ノルアドレナリンニューロンが恐怖刺激による神経内分泌反応に必須の働きをしていると考えられる。

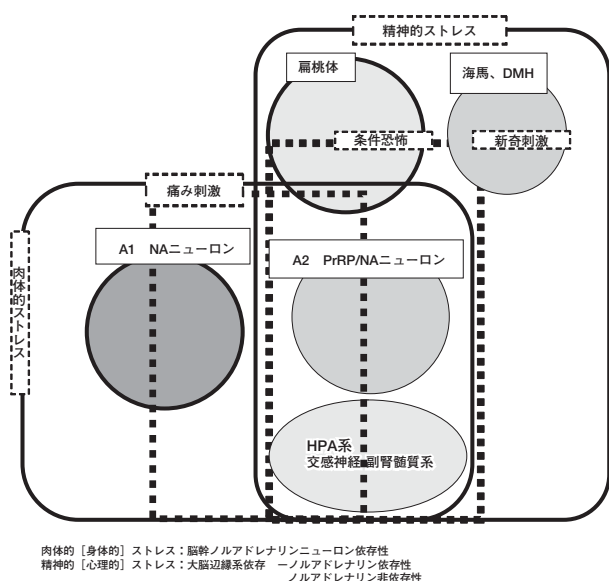


図2 ストレス反応の分類分け

ストレス反応には、ノルアドレナリン依存性の反応とノルアドレナリンに依存しない系がある。

さらに、痛み刺激による反応には延髄腹外側部A1ノルアドレナリンニューロンが重要な働きをしていることが、逆行性トレーサーあるいはマイクロダイアリシス法を用いた実験で示唆されている(23)。

このように、ノルアドレナリンニューロンはA1, A2領域といった部位により異なるストレス刺激に対する反応を伝達している。さらに、同じA2ノルアドレナリンニューロンのなかでも機能分担があることが最近示されている。即ち、より尾側に存在し、PrRPペプチドを共存させているA2ノルアドレナリン領域のニューロンが恐怖ストレスの神経内分泌反応に重要な働きをしている(25)。しかし、全てのストレス反応にノルアドレナリン/PrRPニューロンが関与しているわけではない。モルヒネ禁断刺激は神経内分泌系のストレス反応を強く誘発する。しかし、延髄のノルアドレナリンニューロンはそれほど活性化しない。ノルアドレナリンニューロンを破壊しても、アドレナリン

受容体アンタゴニストを前投与しておいてもモルヒネ禁断刺激によるオキシトシンニューロンの活性化は阻害されない(26)。新奇刺激に対する神経内分泌反応も脳内のノルアドレナリンを枯渇させても、アドレナリン受容体アンタゴニストを投与しても阻害されないことが示されており、新奇刺激に対する反応もノルアドレナリンニューロン非依存性と考えられる(23)。また、拘束ストレスのときのACTH放出はノルアドレナリン線維の破壊では阻害されないと報告されている。これは、精神的ストレスといっても、ノルアドレナリンに依存する恐怖に関連したストレスと、ノルアドレナリン非依存性の新奇性に関連したストレスに分けられることを意味する。

このように、どの脳部位が活性化させるかにより、そのストレスが分類わけされてくる可能性がある。

文 献

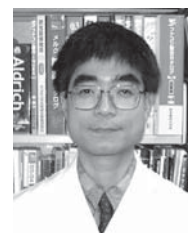
- 1) Kario K, et al. Hypertens Res. 2003;26:355-367.
- 2) 築山久一郎ら, 他. ストレス症候群. メディカルレビュー社. 2000.
- 3) Epel ES, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101:17312-17315.
- 4) Cannon WB. Am J Med Sci. 1935;189:1-14.
- 5) Selye HA. Nature. 1936;138:32.
- 6) Selye H. The Stress of Life. McGraw-Hills Book;1976. (セリエ現代社会とストレス. 法政大学出版局;1988)
- 7) Pacak K, et al. Am J Physiol. 1998;275:R1247-1255.
- 8) Seeman T, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:4770-4775.
- 9) Pacak K, et al. Endocrine Reviews. 2001;22:502-548.
- 10) Ganong WF. ギャング生理学. 丸善;2004. p. 384.
- 11) Chrousos GP. Ann NY Acad Sci USA. 1998;851:315-335.
- 12) Natelson BH, et al. Physiol Behav. 1987;39:117-125.
- 13) McCarty R, et al. Psychosom Med. 1996;58:590-597.
- 14) 尾仲達史. 運動とストレス科学. 杏林書院; 2003. p.67-84.
- 15) Dallman MF, et al. Handbook of Physiology. Section 7. 2001. p.179-210.
- 16) Douglas A. Stress. 2005;8:5-18.
- 17) Szyf M, et al. Front Neuroendocrinol. 2005;26:139-162.
- 18) Takayanagi Y, et al. Neurosci Lett. 2005;391:22-27.
- 19) Wigger A, et al. Neuropsychopharmacology. 2004;29:1-14.
- 20) Ikeda K, et al. J Neurosci. 2003;23:4667-4676.
- 21) Takayanagi Y, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2005;102:16096-16101.
- 22) Jacqueline N, et al. What's Wrong With My Mouse? Wiley-Liss Pub;2000.
- 23) Onaka T. J Neuroendocrinol. 2004;16:308-312.
- 24) Zhu LL, et al. Eur J Neurosci. 2002;16:2186-2198.
- 25) Zhu LL, et al. Neuroscience. 2003;118:1045-1053.
- 26) Russell JA, et al. Front Neuroendocrinol. 2003;24:27-61.
- 27) 尾仲達史. 化学と生物. 2005;43:127-132.

尾仲 達史 (おなか たつし)

自治医科大学 医学部 生理学講座 神経脳生理学部門, 教授, 医学博士.

◇ 1985年 東京大学医学部医学科卒, 同年 自治医科大学医学部助手, '92-'94年 英国 Babraham Institute (British Council Fellow), '95年 自治医科大学医学部助教授, '06年 自治医科大学教授.

◇ 研究テーマ: ストレスの脳機構, 下垂体後葉ホルモン放出の中枢制御機構, 下垂体後葉ホルモンの中枢機能, ストレスと拒食の相互作用



ストレス応答のかなめ CRH 遺伝子

井樋 慶一

要約：ストレスから自らを防御するためには糖質コルチコイド (GC) が不可欠であるが、中枢性に糖質コルチコイド合成・分泌を制御するのが視床下部のコルチコトロピン放出ホルモン (CRH) ニューロンである。ヒトでもげっ歯類でも CRH は視床下部室傍核 (PVN) の小型神経細胞で産生される。CRH ニューロンにはバゾプレッシン (AVP) が共存し、両者が下垂体からの副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 分泌を調節する。CRH ニューロンの活動性は GC などの液性因子および入力神経終末から放出される神経伝達物質によって調節されている。たとえば実験動物 PVN 内に代表的神経伝達物質の一つであるノルエピネフリン (NE) を注入すると CRH 遺伝子発現が増加することから脳内 NE 神経は CRH ニューロン刺激系と考えられる。CRH と AVP は共に小型神経細胞に存在するにもかかわらずストレス時これらの遺伝子発現は必ずしも平行しない。この現象を説明する細胞内メカニズムとして両遺伝子転写機構の違いがあげられるが、CRH と AVP による二重支配はストレス防御という視点からは生体応答の多様性の一つとして理解される。ストレスは様々な病態と深く関わっており、脳内ストレス情報処理機構の解明がストレス関連疾患の治療・予防に寄与するものと期待される。

1. はじめに

生体の恒常性を脅かすストレス情報は様々な脳内神経路を経たのち視床下部に伝達される。視床下部では室傍核 (PVN) のコルチコトロピン放出ホルモン (CRH) ニューロンにおいて全てのストレス情報が統合され、末梢への出力レベルとして下垂体門脈血中へ

の CRH ペプチド放出量が規定される (1)。CRH は下垂体前葉 corticotroph [副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 産生細胞] を刺激し最終的に副腎皮質における糖質コルチコイド (GC) 分泌レベルが調節される。このようにストレス時の内分泌応答調節において CRH ニューロンは中心的な位置を占めるが、このニューロンに共存するもう一つのペプチド、バゾプレッシン (AVP) もまた CRH と並び重要なストレス応答ホルモンである (2) (後述参照)。GC は様々な生理作用を発揮しストレスから生体を防御するが、同時に corticotroph、PVN 内 CRH ニューロンなどへの負のフィードバック制御作用を有する (3)。

CRH は 1981 年 Vale らによってヒツジ視床下部から精製された 41 個のアミノ酸残基からなるポリペプチドである (4)。ヒト CRH も 41 個のアミノ酸残基からなるが (5)、7 個のアミノ酸がヒツジと異なっている。ヒト、ラット (6)、マウス CRH (7) は遺伝子レベルでは塩基配列が幾分異なるがアミノ酸配列は同一である。CRH 遺伝子は 2 つのエクソンと 1 つのイントロンからなるが、CRH の前駆体 (prepro-CRH) は第 2 エクソンにコードされており、この前駆体から CRH ペプチドが生成される。

CRH 受容体には CRH-R1 と CRH-R2 があり、さらに CRH-R2 にはスプライス異形が存在する (8)。下垂体前葉における ACTH 分泌には CRH-R1 が関与するが、脳内では CRH-R1、CRH-R2 が異なった分布を示しており、それぞれの機能的意義を解明するため現在多くの研究がなされている。CRH および類縁ペプチドを含めた CRH ペプチドファミリーの中で、CRH は CRH-R1 への親和性が高く、ウロコルチンは CRH-R1、

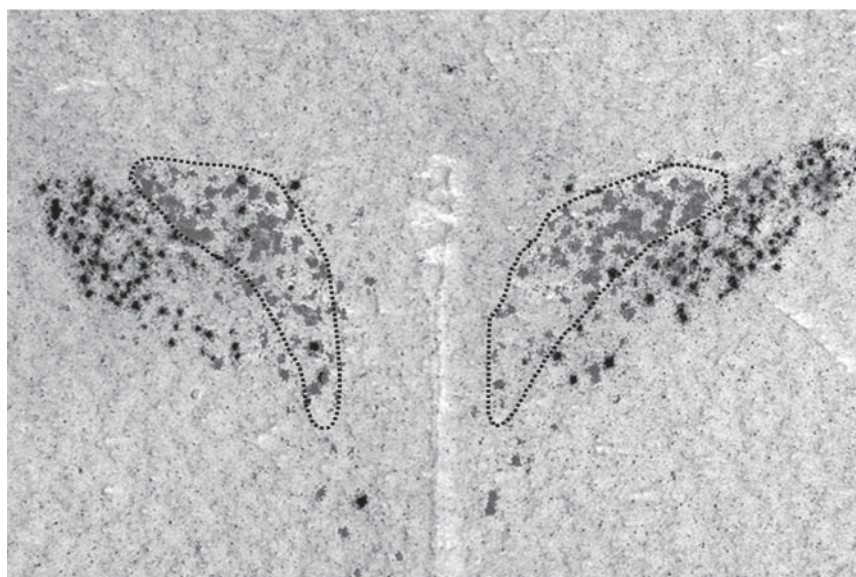


図1 ラットPVN内のCRH mRNA（グレー；破線で囲まれた領域）およびAVP mRNA（黒）発現ニューロンの分布
連続切片を用い in situ ハイブリダイゼーションによりそれぞれ CRH mRNA, AVP mRNA を検出し両者の画像を重ね合わせた。CRH は内側の小細胞領域に、AVP は主として外側の大細胞領域に発現する。（自検例）

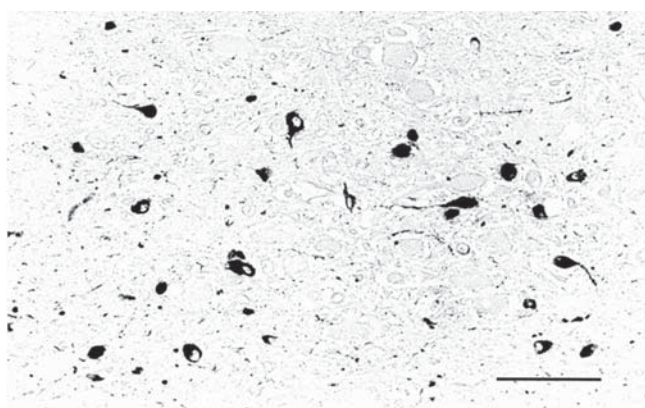


図2 ヒトPVN内のCRH発現ニューロンの分布（免疫組織化学）
CRH免疫染色性は小型の神経細胞に局限して認められる。Bar = 100 μ m.（自検例）

CRH-R2 両者に同程度の、ウロコルチン II, ウロコルチン III は CRH-R2 に強い親和性を有する(8)。

ストレス応答は健常な個体の生理的反応の一部であるが、ストレスはうつ病などの精神疾患の発症とも深く関わっている。実際、うつ病患者では視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 系の異常亢進 (GC 分泌亢進や GC による負のフィードバック不全など) が知られており(9)、時にクッシング症候群との鑑別を要する場合もある。現在のところ、HPA 系異常がうつ病の成り立ちに関係するのか、うつ病の結果として出現するのかは明らかでないが、臨床症状の改善に伴い HPA 系も改善することが知られる(9)。この病態では末梢血中 ACTH, コルチゾール高値にもかかわらず脳脊髄

液中 CRH 抑制が認められないことから(10)、CRH ニューロンの活動性亢進（あるいは負のフィードバック不全）が示唆される。中枢神経系において CRH は食欲抑制作用、睡眠抑制作用、血圧上昇作用などの薬理作用を有するが、病態との関連性は明らかでない。

2. PVNにおけるCRHニューロンの分布とCRHニューロン内AVP発現

ラットなどげっ歯類では PVN は大細胞領域 (magnocellular division) および小細胞領域 (parvocellular division) に分かれており、CRH は主として小細胞領域に存在する (図 1)。

PVN の CRH ニューロンには AVP が共存し、正中隆起の神経終末において CRH と AVP が分泌顆粒内に共存することから(11)、ストレスの種類あるいは強さによっては CRH と AVP が同時に分泌されるものと考えられている。げっ歯類と異なりヒト PVN は大細胞、小細胞がコンパートメントに分かれず混在しているが CRH が小細胞に存在する点は同様である(12) (図 2)。

CRH と AVP は共に下垂体前葉からの ACTH 分泌を刺激するが、両者の作用は相乗的であることが知られている(13)。したがって、強力な ACTH 分泌が必要な局面においては2つのペプチドが共に分泌されることは好都合なことと考えられるが、両ペプチド共存の生理的意義は未だ明確ではない。最近の研究から、AVP は慢性ストレス応答においてより重要な意義を有する可能性が示唆されている (後述参照)。CRH ニ

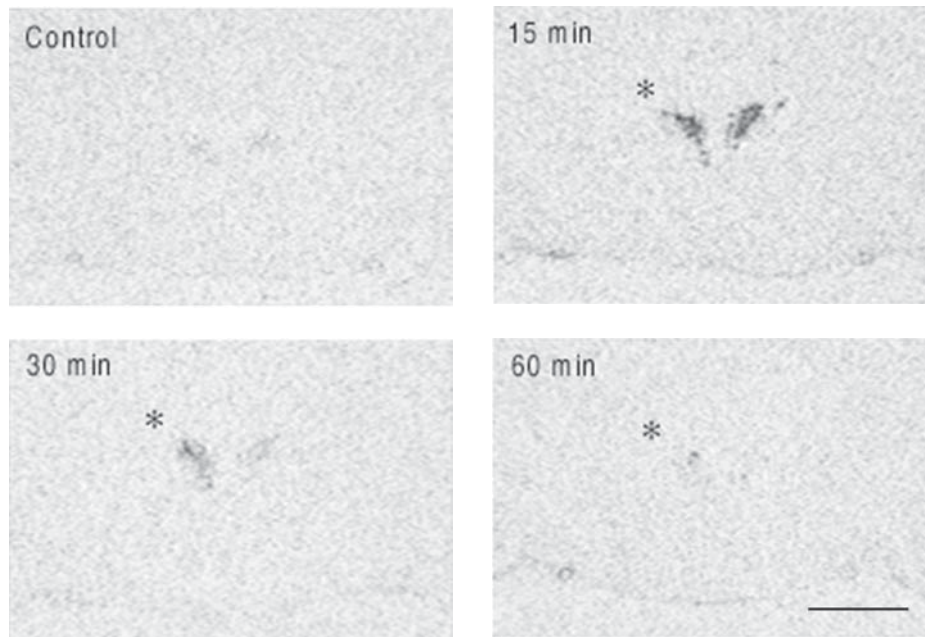


図3 無麻酔ラットPVN内にノルエピネフリン (NE) 注入後のCRH hnRNAの時間経過

片側性にNEを注入したところ15分後に対照(control)と比較しCRH hnRNAが著明な両側性増加を呈し、1時間以内に完全に消退した。
* : NE注入側, Bar = 100 μ m. (Itói K, et al. J Neurosci. 1999;19:5464-5472 より改変)

ニューロン内のAVP遺伝子は血中のGCにより強く抑制されており通常は発現量が少ないが、ラット両側副腎摘出による実験的副腎不全状態下では著しいAVP発現増加が認められる(3)。PVNにおける最大のAVP産生部位は大細胞ニューロンであり、ここで産生されたAVPは下垂体後葉から循環血中に分泌され体液量と浸透圧調節に関与している。生理的条件下では大細胞ニューロンにはGC受容体が発現しておらず(14)、GCによる負のフィードバック調節を受けない。

3. PVNへのストレス情報入力系

ストレス情報は、大脳皮質や辺縁系などが深く関与する情動性のもの、血圧、体液量、消化管などの情報が内臓神経求心路を介し延髄に入力されるもの、末梢における炎症反応がサイトカインなど体液性因子を介して中枢に伝達されるものなどに大別される。これらのストレス情報は脳内で様々な神経路を介してPVNに伝達される。ストレスの種類によってそれぞれ異なる神経路および神経伝達物質が関与していると考えられるが、その詳細は未だ明らかでない。

1) ノルエピネフリン神経路によるCRHニューロン調節機構

CRHニューロンへの求心路の中で我々の研究を含めこれまで最も良く研究されているのはノルエピネフリン(NE)含有神経路である(1,2)。脳幹部のA1(延

髄腹外側部)、A2(孤束核)、A6(青斑核)は視床下部へ投射する代表的なNE細胞群であるが、CRHニューロンへの直接投射は主としてA2からといわれる(15)。

NEがCRHニューロンを抑制するとする説もあるが、げっ歯類を用いた最近の研究では、NEはCRHニューロンを刺激する代表的な神経伝達物質の一つであると考えられている(1)。たとえば、NEを無麻酔ラットPVN内に直接投与するとCRH遺伝子発現が増加した(16)。遺伝子発現の変動は通常mRNA量によって検討されるが、①細胞質内に常時存在するmRNAプールが新たに産生されたmRNA増加をマスクしてしまい変動が検出できないことがある、②細胞質内mRNA量は転写によって新たに合成される量と代謝される量のバランスで決まるため必ずしも転写レベルを正確に反映しない、③最初期遺伝子を除く大部分の遺伝子では転写開始からmRNA合成まで長時間(1時間半以上)を要するなど不都合な点がある。そこで、イントロン配列に相補的なプローブを用い核内に存在する一次転写産物(ヘテロ核RNA, hnRNA)を検出することによりこれらの問題の解決を試みた。CRHイントロン配列を認識するプローブを用いて検討した結果、CRH一次転写産物(CRH hnRNA)は対照群ではほとんど検出できないがNE注入後速やかに著しい増加を認め、15分以内に頂値をとりほぼ1時間で基礎値に復した(17)(図3)。NEによるHPA系活性化作

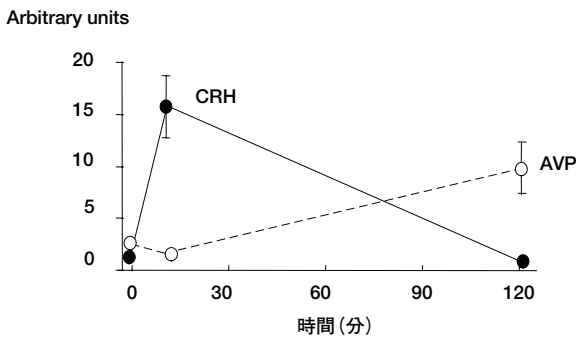


図4 温水中遊泳ストレス負荷後のラットPVN内CRH hnRNA (黒丸・実線) および AVP hnRNA (白丸・破線) の時間経過
 CRH hnRNA は迅速に増加し2時間以内に消退したが、AVP hnRNA は2時間後にはじめて増加した。(Jiang Y-Q, et al. Neurosci Lett. 2004;358:201-204 より改変)

用は主として視床下部内の α_1 受容体を介するものと考えられている (16)。

2) CRHとAVP遺伝子発現調節の違い

小細胞領域のCRHニューロンにAVPが共存し、共にACTH分泌にあずかっていることは上述したが、果たしてNEによりCRH遺伝子と平行してAVP遺伝子の転写もまた増加するであろうか。PVNに存在するAVPの大部分は大細胞領域に存在するためPVN全体を定量したのでは小細胞領域の変化は大細胞領域の大きなプールにマスクされてしまうであろう。そこで小細胞領域のみでAVP転写レベルを特異的に定量するために次のような方法を用いた。まずin situハイブリダイゼーション法によりAVP hnRNAを検出し、次に隣接切片を用いてCRH mRNAを検出した。CRH mRNA陽性領域の輪郭をトレースし、これをコンピューター上でAVP hnRNAのデジタル画像上に重ね合わせるによりCRH mRNA発現領域(ほぼ小細胞領域に一致する)のみでAVP hnRNAの変化を定量した。この方法を用いた結果AVP hnRNAはCRH hnRNAと異なった動態を示すことが明らかとなった(17, 18)。すなわち、PVN内NE注入後CRH hnRNAは極めて迅速に著増したが、AVP hnRNAはこれと平行した増加が認められなかった。また、AVP hnRNAはNE注入2時間後にはじめて軽度増加が認められた。このような時間経過の不一致からCRHとAVPの遺伝子転写調節には異なる細胞内メカニズムが想定され、おそらく早い応答は転写因子タンパクのリン酸化を、遅い応答は新たな転写因子タンパク合成を介すると考えられている(後述参照)。

次に、種々のストレスに対してPVN小細胞領域のCRHとAVP遺伝子がどのように応答するかを検討し

た。温水中遊泳ストレス負荷後、CRH hnRNAは速やかな立ち上がりと消退を示したのに対し、AVP hnRNAはストレス負荷後2時間して増加が認められた(19)(図4)。ここで両遺伝子発現が上述のNE注入実験と類似の時間経過を示したことは、遊泳ストレス応答におけるNE系の関与を示唆するもので注目値する。また、脱血ショックストレスや、代表的なサイトカインの一つであるインターロイキン1(IL1)末梢投与後も小細胞領域のAVP遺伝子転写が増加し、しかもこの増加はCRH遺伝子転写より遅れて立ち上がる傾向が認められた。CRH遺伝子転写が消退した後もAVP遺伝子転写が持続するということは、ストレス応答における生体の多様性として理解されるが、緩慢な、あるいは持続的なAVP遺伝子の振舞いからAVPはHPA系の持続的な活性化に重要な役割を演ずるのかもしれない。実際、繰り返しストレスによりCRH遺伝子発現が抑制されると対照的にAVP遺伝子発現は増強されるという報告があり(20)、慢性ストレス時のAVPのはたらきに示唆を与えるものである。

4. CRHニューロンにおける細胞内情報伝達系

CRH遺伝子上流域にはcAMP反応性エレメント(CRE)が存在するが、このCREの機能がin vivoの実験系で明らかにされた。まず、8-Br-cAMPを直接無麻酔ラットPVNに注入した結果CRH mRNAが増加したことからcAMPの関与が示唆された(21)。次に、CRE結合タンパク(CREB) mRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドをPVNに前投与することによりストレス時のCRH mRNA増加が抑制された(21)。したがって、cAMP依存性タンパクキナーゼA系を介したCREBのリン酸化がCRH遺伝子転写に関与することが示されたが、これらの結果はin vitro培養細胞系で報告された成果とよく一致する(22)。

CRH遺伝子5'上流域には複数のTPA response element (TRE)が存在するがCRH遺伝子発現への関与は未だ明らかでない。CRH合成、分泌能を有するヒト神経芽細胞腫BE(2)-M17細胞系においてTPAがCRH mRNA発現を増加させることからCRH遺伝子発現へのCカイネース系の関与の可能性が示唆される(Itoi & Seasholtz 未発表)。最近、BE(2)-C培養細胞系を用いカルシウム/カルモジュリン・キナーゼが(おそらくCREBを介して)CRH遺伝子発現を刺激することが証明された(23)。

5. まとめ

ストレス応答を制御するCRHニューロンは数多く

の神経性、液性の因子による調節を受けており、ストレスの種類、強さ、持続時間などにより多様な応答を示すものと考えられる。様々なストレスに応じてこれらの神経路がどのように特異的あるいは協調的に働くかは今後検討すべき課題である。臨床的には、ストレスと病因論的な関連性が示唆される疾患としてうつ病があげられる。また、直接的な因果関係は明らかでないものの、いわゆる生活習慣病のほとんど全てがストレスと何らかの関連性を有することからストレスは現代医学・医療上の最重要課題の一つといえることができる。最近開発された神経内分泌ペプチドやそれら受容体ノックアウトマウスがHPA系やストレス応答異常の動物モデルとして実験に供されるようになり、今後はホルモンとしてばかりでなく脳内神経伝達物質としての神経内分泌ペプチドの役割が明確にされるものと考えられる。これらの研究成果がストレス関連疾患の治療および予防に貢献していくことが期待される。

文 献

- 1) Itoi K, et al. *Endocr J*. 1998;45:13-33.
- 2) Itoi K, et al. *J Neuroendocrinol*. 2004;16:348-355.
- 3) Itoi K, et al. *Neurosci Lett*. 1987;73:231-236.
- 4) Vale W, et al. *Science*. 1981;213:1394-1397.
- 5) Shibahara S, et al. *EMBO J*. 1983;2:775-779.
- 6) Thompson RC, et al. *Mol Endocrinol*. 1987;1:363-370.
- 7) Seasholtz AF, et al. *Mol Cell Neurosci*. 1991;2:266-273.
- 8) Reul JM, et al. *Curr Opin Pharmacol*. 2002;2:23-33.
- 9) Holsboer, et al. *Endocr Rev*. 1996;17:187-205.
- 10) Wong M-L, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:325-330.
- 11) Whitnall MH, et al. *Nature*. 1985;317:248-250.
- 12) Mouri T, et al. *Neuroendocrinology*. 1993;57:34-39.
- 13) Gillies GE, et al. *Nature*. 1982;299:355-357.
- 14) Berghorn KA, et al. *Endocrinology*. 1995;136:804-807.
- 15) Cunningham ET Jr, et al. *J Comp Neurol*. 1988;274:60-76.
- 16) Itoi K, et al. *Endocrinology*. 1994;135:2177-2182.
- 17) Itoi K, et al. *J Neurosci*. 1999;19:5464-5472.
- 18) Helmreich DL, et al. *Mol Brain Res*. 2001;88:62-73.
- 19) Jiang Y-Q, et al. *Neurosci Lett*. 2004;358:201-204.
- 20) Ma X-M, et al. *J Physiol*. 1998;510:605-614.
- 21) Itoi K, et al. *Endocrinology*. 1996;137:2389-2396.
- 22) Seasholtz AF, et al. *Mol Endocrinol*. 1988;2:1311-1319.
- 23) Yamamori E, et al. *J Mol Endocrinol*. 2004;33:639-649.

著者プロフィール

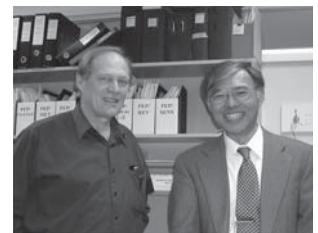
井樋 慶一 (いとい けいち)

東北大学大学院情報科学研究科情報生物学，東北大学大学院医学系研究科神経内分泌学，東北大学学際科学国際高等研究センター，医学博士。

◇ 1980年東北大学医学部卒。東大院医学系研究科で生理学を学んだのち臨床に転じ東北大第二内科入局。'87年ハイデルベルク大薬理学教室留学，翌年助手に採用される。'90年帰国後，東北大医学部附属病院助手，講師，同院医学系研究科助教授を経て，'01年東北大院情報科学研究科教授。この間，'96-'98年ミシガン大MHRI研究員。'01年東北大院医学系研究科教授（兼任），'04年同学際科学国際高等研究センタープロジェクト・リーダー（兼任）。

◇研究テーマ：中枢神経系による生体機能調節メカニズム，特に視床下部のはたらき。

◇趣味：水泳，音楽鑑賞。



Dr. Furness と 著者

ストレスが変える視床下部の遺伝子

上田 陽一

要約：生体がストレスを受けると、脳を介して血圧・心拍の変化や気分・行動の変容など様々な生体反応が引き起こされる。生体のストレス反応のうち、自律神経系を介した生体反応や内分泌系の生体反応は、自律神経系と内分泌系の統合中枢である視床下部を介して引き起こされていることはよく知られている。視床下部ニューロンの神経活動の指標として前初期遺伝子群の発現が汎用されている。我々は、定量化の容易な浸透圧ストレスを用いて、ストレス研究への前初期遺伝子群の有用性について検討したところ、前初期遺伝子群の中でも *c-fos* 遺伝子の発現動態がよい指標となることを見出した。また、ストレスが食欲低下や過食を引き起こすことは経験的によく知られていることである。最近、視床下部の摂食関連ペプチドであるオレキシンとニューロメジンUのストレス反応との関与が注目されており、摂食に対してはオレキシンは促進作用、ニューロメジンUは抑制作用とまったく逆の作用を有する。ところが、脳内のオレキシン・ニューロメジンUは共にストレスに対する内分泌反応の中軸である視床下部 - 下垂体 - 副腎軸に対して賦活作用を有する。ストレス反応と視床下部に存在する神経ペプチドの生理作用との関連を調べることにより、ストレス反応の分子基盤の一端を解明できるかもしれない。

1. はじめに

生体にストレス（正確にはストレッサー）がかかると、様々な生体反応が生じる。ストレッサーが引き起こす生体反応を大別すると、1) 血圧・心拍数の増加、消化管運動の低下・亢進などの自律神経系を介した生体反応、2) 視床下部 - 下垂体 - 副腎 (HPA) 軸の賦活化による血中副腎皮質ホルモンの増加を代表とする

内分泌反応、3) 自律神経系や内分泌系の変化と相関する免疫系の変動、4) 不安感などの感情の変化や拒食・過食などの行動の変容となる。

ストレッサーが引き起こすこれらの生体反応は、脳内での神経回路網を介して引き起こされるが、その物質基盤となると脳内で変動する神経伝達物質・神経修飾物質およびその受容体を介していると言えよう。その代表的なものはノルアドレナリン、セロトニンなどの古典的神経伝達物質、および CRF を代表とするストレスホルモン（神経ペプチド）である。

視床下部は脳底部に位置する小さな部位であるが、生理機能の異なった多くの神経核が密集しており、ストレスによる様々な生体反応を引き起こす大変重要な部位である。その中でも、特に室傍核 (paraventricular nucleus: PVN) は、神経内分泌系と自律神経系の高次統合中枢として大切である。PVN は、解剖学的に見ると大細胞群と小細胞群から構成されており、大細胞群では、バゾプレッシン (arginine vasopressin: AVP) およびオキシトシン (oxytocin: OXT) を産生し、その軸索を下垂体後葉に投射し、血中にそれらを分泌する。一方、PVN の小細胞群では、CRF および AVP が産生されており、正中隆起に投射した軸索終末からそれらが分泌され、下垂体前葉からの ACTH 分泌を引き起こす(1)。また、PVN の小細胞群には、脊髄中間質外側核の交感神経節前ニューロンに軸索を投射している自律神経ニューロンが存在する。

ストレスと視床下部 - 下垂体系を主軸とする神経内分泌系について我々の最近の知見をもとに概説したい。

2. ストレスと前初期遺伝子群

中枢神経系において、前初期遺伝子群 (immediate

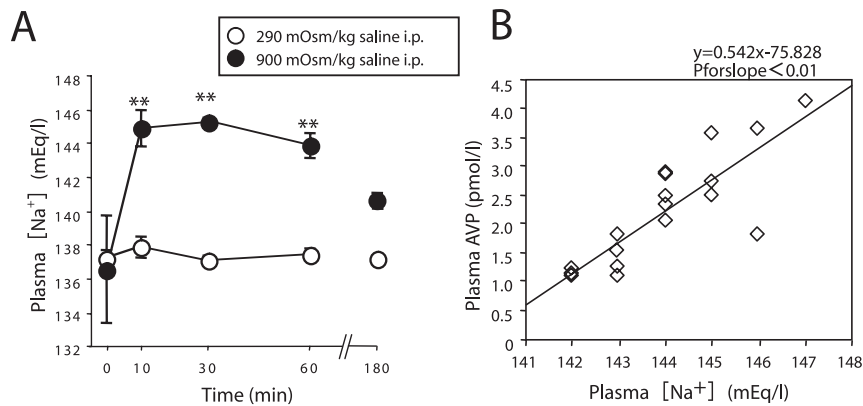


図1 ラットの浸透圧ストレスモデル

A: ラット腹腔内に高張食塩水を投与したときの血中ナトリウム濃度の推移, B: ラット血中ナトリウム濃度と血中バゾプレッシン (AVP) 濃度の相関. ** $P < 0.01$ vs 生理食塩水投与群 (文献 15 より一部抜粋)

early genes: IEGs) の発現が神経活動の指標として汎用されている。ストレス研究においても、種々のストレスラー (例えば拘束, 疼痛, 炎症, 高張食塩水負荷など) に対する脳内 IEGs の発現動態についての比較研究が行われてきた (2-9)。

IEGs を大別すると fos ファミリー遺伝子群 (c-fos, fos-B, fra-1, fra-2) (10), jun ファミリー遺伝子群 (c-jun, jun B, jun D) (11), zinc finger ファミリー遺伝子群 (NGFI-A (zif/268, egr-1, Krox-24), NGFI-C, Krox-20) (12) およびステロイドホルモン受容体と相同性が高い遺伝子群 (NGFI-B (nur/77)) (13) である。ストレスと神経内分泌系の研究では, c-fos 遺伝子発現を指標とした研究がもっとも多い。

視床下部室傍核に局在する AVP および CRF 産生ニューロンは種々のストレスラーに反応して下垂体前葉からの ACTH 分泌を引き起こす。一般にストレスラー (例えば拘束, 疼痛) が個々の生体にどれほど影響を与えたか客観的に定量化するのは困難である。そこで, 高張食塩水投与による急性浸透圧刺激により, 血中浸透圧もしくはナトリウム濃度を測定することで, 個々のストレス度を定量化することができることに着目した (図 1)。抗利尿ホルモンである AVP の合成・分泌動態は浸透圧変化に敏感に反応することはよく知られている (14)。

実験では, 急性浸透圧刺激後の神経内分泌系における IEGs の発現動態について, 上記の IEGs (c-fos, jun B, NGFI-A, NGFI-B) を用いて比較検討した。動物は, ウイスター系成熟雄ラットを用いた。急性浸透圧刺激に, 高張食塩水 (450, 600, 900 mOsm/kg) を 2% 体重当たり腹腔内投与した。コントロー

ルには等張食塩水 (290 mOsm/kg) を投与した。それぞれの溶液を投与し, 10, 30, 60 および 180 分後に断頭した。脳を取り出し, 凍結脳切片を作成し, *in situ* ハイブリダイゼーション法により PVN における IEGs (c-fos, jun B, NGFI-A, NGFI-B) の mRNA 量を定量化した。さらに, AVP 遺伝子の転写活性の指標として AVP hnRNA の発現変化を調べ, 比較した。また, 体幹血を採取し, 血中浸透圧, ナトリウム濃度および AVP を測定した。その結果, PVN におけるすべての IEGs 発現は, 高張食塩水投与後 10 分で上昇し, 30 分でピークに達した。血漿ナトリウムと IEGs mRNA, AVP hnRNA および AVP 分泌は, 回帰分析においてすべて有意な正の相関を示した。また, IEGs のうち c-fos mRNA の上昇率が AVP hnRNA の上昇率と最も近似していた (図 2)。したがって, 神経内分泌系において浸透圧ストレスに対する c-fos 遺伝子発現が最も AVP 遺伝子発現を反映していると思われる (15)。

3. ストレス反応と摂食関連ペプチド

ストレスが一過性の食欲低下・食欲亢進と慢性的な拒食・過食の原因もしくは誘因となることは経験的にもよく知られていることである。しかしながら, その脳内メカニズムの詳細は明らかではない。

これまで脂肪細胞が産生するレプチンを起点とする摂食抑制系と視床下部で産生されるニューロペプチド Y (NPY) を中心とする摂食促進系を軸とした研究が盛んに行われてきた。この摂食調節系に関与する生理活性物質として, 新規の摂食関連ペプチドが続々と登場してきた。例えば, オレキシン/ヒポクレチン, プ

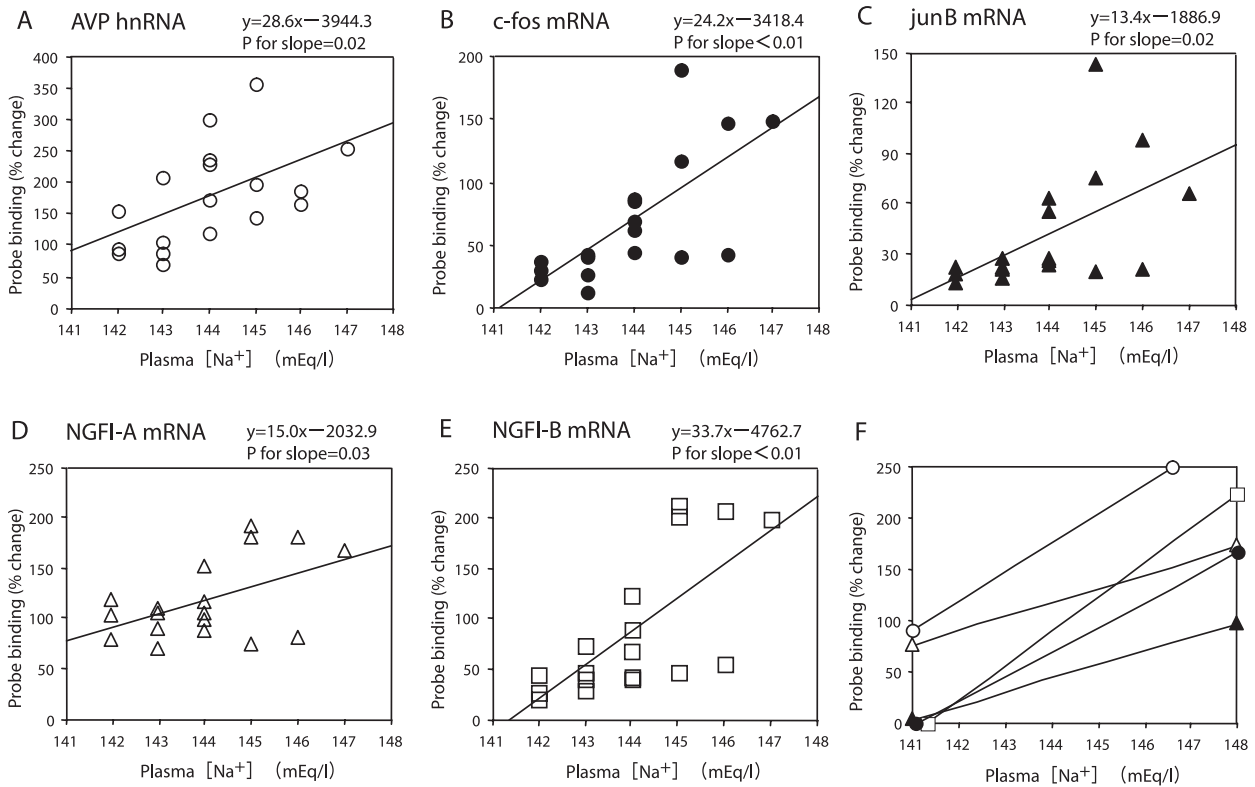


図2 ラット室傍核におけるバゾプレッシン合成と前初期遺伝子群の血中ナトリウム濃度との相関

A: ラット血中ナトリウム濃度とバゾプレッシン (AVP) heteronuclear (hn) RNA との相関. B~F: ラット血中ナトリウム濃度と IEGs mRNAs との相関. (文献 15 より一部抜粋)

ロラクチン放出ペプチド, グレリン, ニューロメジン U などである. これらのペプチドは G タンパク質共役型受容体のうち, リガンドの不明なオーファン受容体の内因性リガンドとして同定された. 最近, これらのペプチドが生体のストレス反応と深く関わっていることが明らかになりつつある (16,17).

1) ストレス反応とオレキシン

オレキシン-A, -B はオーファン受容体 (HFGAN72 (OX1R), OX2R) の内因性リガンドとして発見された (18). オレキシンの脳内分布を探索したところ, 摂食中枢として知られる視床下部外側野とその周辺部にオレキシン産生ニューロンが限局していることが明らかとなり, 摂食に関与することが考えられた. 実際にラットやマウスの脳室内にオレキシンを投与すると摂食を誘起することから, ギリシャ語の "orexis" (食欲の意) を語源として命名された. のちに, オレキシンもしくはオレキシン受容体異常がナルコレプシーの原因となることが明らかとなり, 睡眠・覚醒とも関わりのある神経ペプチドとしても注目されるに至った.

視床下部のオレキシン産生ニューロンの軸索は脳の広範な部位に投射しており, 特に PVN 小細胞群, 脳

内ノルアドレナリン系の起始核である青斑核や脳内セロトニン系の起始核である縫線核などに密な投射が見られる (19-21). また, これらの投射部位にはオレキシン受容体の豊富な発現が見られることも明らかとなっている (22, 23).

これまでに, 種々のストレスラーによりオレキシン産生ニューロンに Fos タンパクが発現すること, および prepro-orexin mRNA が増加することが報告されている (24-31). オレキシンを覚醒ラットの脳室内に投与すると PVN の小細胞群に c-fos 遺伝子および Fos タンパクが発現する. この Fos タンパクの発現はほとんどの CRF 産生ニューロンに見られる (30). また, 同時に血中 ACTH およびコルチコステロン濃度の増加が見られたり (32), 血圧の上昇 (33-35), 胃酸の分泌 (36, 37) などが引き起こされる. また, 行動上の変化としては, 顔洗い行動, 毛づくろい行動および探索行動が増加し, CRF 拮抗薬の前投与で有意に抑制される (29).

したがって, 種々のストレスラー→オレキシン産生ニューロンの活性化→オレキシン分泌による CRF ニューロンの活性化→CRF の分泌→生体のストレス反

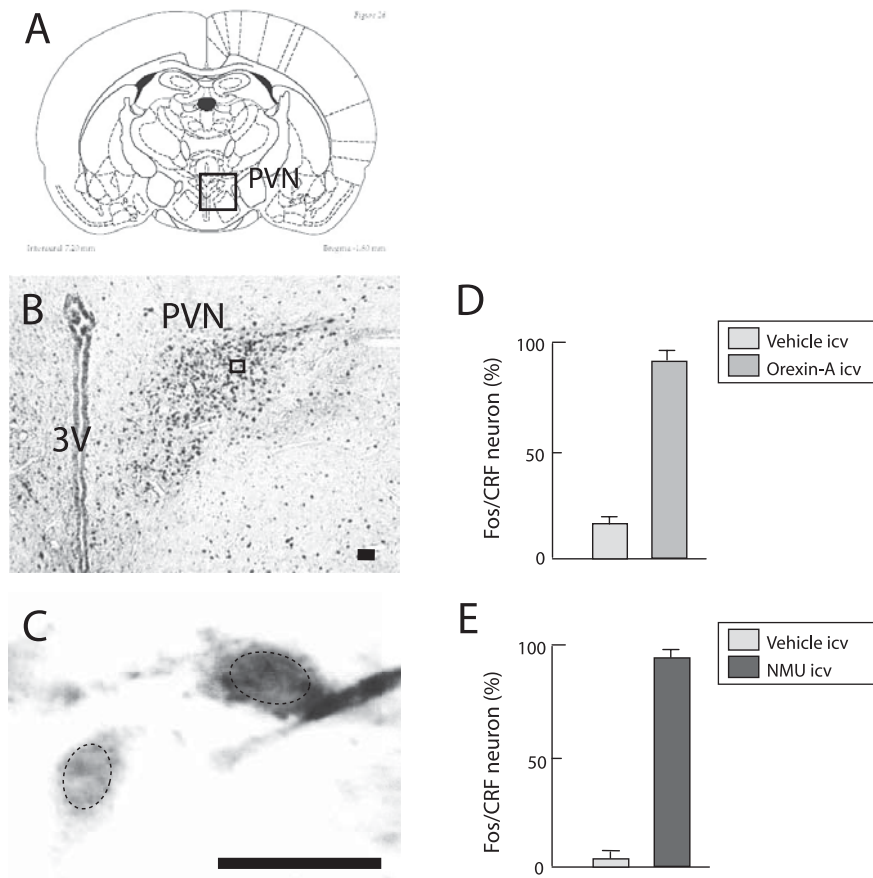


図3 ラット脳室内投与したオレキシン、ニューロメジンUのCRFニューロンへの作用

A: ラット脳における室傍核 (PVN) の位置. B: PVN の CRF 抗体と Fos 抗体を用いた免疫組織化学的二重染色. C: B の□の拡大, 細胞質の灰色は CRF 抗体による染色像, 点線内の黒色の核は Fos 抗体による染色像. D: オレキシン-A をラット脳室内投与したときの PVN における Fos/CRF ニューロンの比率. E: ニューロメジンU をラット脳室内投与したときの PVN における Fos/CRF ニューロンの比率.

応という神経回路が想定される。視床下部オレキシン系は脳内 CRF ニューロンの活性化を介して生体のストレス反応と深く関わっているようである。

一方、オレキシン産生ニューロンが CRF ニューロンによっても制御されていることが報告されている (38)。オレキシン産生ニューロンに CRF を含有する神経終末がシナプスしており、*in vitro* の実験でオレキシン産生ニューロンは CRF の投与により脱分極する。したがって、種々のストレス→CRF ニューロンの活性化→CRF の分泌→オレキシン産生ニューロンの活性化という神経回路の存在も明らかとなった。

また、ストレス反応として知られている“fight-or-flight” response (防御反応) にオレキシンが関与しているという興味深い報告もなされた (39)。オレキシンノックアウトマウスでは、防御反応が減弱していた。ストレス反応のメディエーターとしてのオレキシンの役割の重要性が今後さらに明らかになってくるものと思われる。

2) ストレス反応とニューロメジンU

ニューロメジンU (NMU) はブタ脊髄から平滑筋を収縮させるペプチドとして1985年に同定された (40)。その生理作用は十数年にわたり不明であったが、オーファン受容体 (FM3, 4) の内因性リガンドとして同定されるに至り、近年注目されている (41-45)。受容体は NMU1R および NMU2R と呼ばれている。NMU1R は末梢組織に、NMU2R は主に中枢神経系に存在する。脳内では NMU2R が視床下部 PVN や海馬 CA1 領域に多く分布している。NMU をラット脳室内に投与すると摂食抑制、胃酸分泌抑制、活動量増加、酸素消費量の増加、血圧・心拍数上昇、体温上昇、内分泌系のストレス反応である血中 ACTH とコルチコステロンが増加する。CRH ノックアウトマウスでは、NMU 投与による活動量の増加が見られないことから、CRH もしくは HPA 軸を介した行動の制御に関与していることが示唆された (46)。

我々は、オレキシンの場合と同様の実験により、覚醒ラット脳室内に NMU を投与すると PVN に c-fos

遺伝子の発現が見られること、ACTH 分泌と同時に AVP および OXT の分泌も促進することを見出した (47)。ただし、AVP の分泌反応に比べて OXT 分泌に対する効果の方が大きかった。さらに、NMU をラット脳室内に投与後、CRF と Fos タンパクに対する抗体を用いて免疫組織化学的二重染色を行ったところ、PVN 小細胞群に存在する CRF 陽性ニューロンのうち約 97% に Fos タンパクが見られ、コントロールでは約 1% であった (図 3)。以上より、ラット脳室内に投与した NMU は HPA 軸と下垂体後葉系を賦活化することを明らかにした (47, 48)。また、NMU ノックアウトマウスでは室傍核小細胞群において CRF 遺伝子の発現が減少していること、および NMU の脳室内投与により CRF mRNA が増加することも証明された (49)。

NMU は、主に視床下部に存在し、絶食により減少し、NMU 投与により摂食が抑制される“摂食抑制ペプチド”である。“摂食促進ペプチド”であるオレキシンと同様に“摂食抑制ペプチド”である NMU が HPA 軸を賦活することは興味深い。

4. おわりに

ストレスに対する生体反応が生じる背景に、視床下部の遺伝子群の発現変化が起こっている。これらの変化は、生体がストレスに対して適応するための巧妙な仕組みなのかもしれない。今後、益々ストレス研究はおもしろい領域となることが期待される。

文 献

- 1) Sawchenko PE, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1984;81:1883-1887.
- 2) Bullitt E. J Comp Neurol. 1990;296:517-530.
- 3) Chan RK, et al. J Neurosci. 1993;13:5126-5138.
- 4) Imaki T, et al. Endocr J. 1996;43:629-638.

- 5) Luckman SM, et al. Neuroscience. 1996;73:473-485.
- 6) Senba E, et al. Brain Res Bull. 1993;31:329-344.
- 7) Sharp FR, et al. J Neurosci. 1991;11:2321-2331.
- 8) Honkaniemi J, et al. Brain Res Mol Brain Res. 1994;25:234-241.
- 9) Larsen PJ, et al. J Neurosci. 1995;15:2609-2627.
- 10) Zerial M, et al. EMBO J. 1989;8:805-813.
- 11) Ryder K, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1988;85:1487-1491.
- 12) Milbrandt J. Science. 1987;238:797-799.
- 13) Milbrandt J. Neuron. 1988;1:183-188.
- 14) Arima H, et al. J Neuroendocrinol. 1999;11:337-341.
- 15) Kawasaki M, et al. J Neuroendocrinol. 2005;17:227-237.
- 16) 上田陽一, 他. 脳の科学. 2002;24:239-246.
- 17) 藤原広明, 他. クリニカルニューロサイエンス. 2003;21:990-992.
- 18) Sakurai T, et al. Cell. 1998;92:573-585.
- 19) Date Y, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96:748-753.
- 20) Peyron C, et al. J Neurosci. 1998;18:9996-10015.
- 21) Nambu T, et al. Brain Res. 1999;827:243-260.
- 22) Marcus JN, et al. J Comp Neurol. 2001;435:6-25.
- 23) Trivedi P, et al. FEBS Lett. 1998;438:71-75.
- 24) Moriguchi T, et al. Neurosci Lett. 1999;264:101-104.
- 25) Kurose T, et al. Regul Pept. 2002;104:145-151.
- 26) Briski KP, et al. Neuroreport. 2001;12:531-534.
- 27) Cai XJ, et al. Diabetes. 2001;50:105-112.
- 28) Zhu L, et al. Neuroreport. 2002;13:1351-1353.
- 29) Ida T, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2000;270: 318-323.
- 30) Sakamoto F, et al. Regul Pept. 2004;118:183-191.
- 31) Estabrooke IV, et al. J Neurosci. 2001;21:1656-1662.
- 32) Kuru M, et al. Neuroreport. 2000;11:1977-1980.
- 33) Ferguson AV, et al. Front Neuroendocrinol. 2003;24:141-150.
- 34) Shirasaka T, et al. Am J Physiol. 1999;277:R1780-1785.
- 35) Samson WK, et al. Brain Res. 1999;831:248-253.
- 36) Takahashi N, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 254:623-627.
- 37) Okumura T, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2001;280: 976-981.
- 38) Winsky-Sommerer R, et al. J Neurosci. 2004;24:11439-11448.
- 39) Kayaba Y, et al. Am J Physiol. 2003;285:R581-593.
- 40) Minamino N, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1985;3: 1078-1085.
- 41) Howard AD, et al. Nature. 2000;406:70-74.
- 42) Fujii R, et al. J Biol Chem. 2000;275:21068-21074.
- 43) Szekeres PG, et al. J Biol Chem. 2000;275:20247-20250.
- 44) Kojima M, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2000;276: 435-438.
- 45) Raddatz R, et al. J Biol Chem. 2000;275:32452-32459.
- 46) Hanada T, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2003;311: 954-958.
- 47) Ozaki Y, et al. Endocrinology. 2002;143:4320-4329.
- 48) Yokota M, et al. Stress. 2004;7:109-112.
- 49) Hanada R, et al. Nat Med. 2004;10:1067-1073.

著者プロフィール

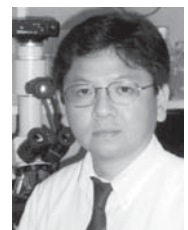
上田 陽一 (うえた よういち)

産業医科大学医学部第1生理学教授, 医学博士。

◇ 1987年 産業医科大学医学部卒業, '91年 同大学大学院医学研究科博士課程修了, '92年 同大学医学部第1生理学助手, '95年 同大学医学部第1生理学講師, '00年 同大学医学部第1生理学教授, 現在に至る。'91年 英国 Babraham 研究所 (Cambridge) 研究員, '93-'95年 英国 Bristol 大学医学部内科学教室 研究員。

◇ 専門分野: 神経生理学, 神経内分泌学

◇ 趣味: 映画



ストレス反応の身体表出における大脳辺縁系— 視床下部の役割

西条 寿夫^{1,2)}, 堀 悦郎^{1,2)}, 小野 武年^{1,2)}

要約：脳は、生体の恒常性を維持するため、視床下部を介して生体の内部環境を常に調節している。一方、ストレス（ストレス）は生体の恒常性（内部環境の恒常性）を乱す外乱であり、ストレスが生体に負荷されると最終的にその情報が視床下部に伝達され、視床下部は恒常性を回復するため自律神経系、内分泌系、および体性神経系を介してストレス反応を形成する。これらストレスのうち、空気中の酸素分圧低下や出血による血圧低下など、生体の内部環境に直接影響を与えるストレス（身体的ストレス）は、下位脳幹を介して直接視床下部に情報が伝達される。一方、それ自体は内部環境に直接的な影響を与えないが将来的には影響があることを予告するストレス（高次処理依存的ストレス：猛獣の姿などの感覚情報）は、まず大脳皮質や視床で処理され、さらにその情報が大脳辺縁系に伝達される。大脳辺縁系、とくに扁桃体は、これら感覚情報が自己の生存（恒常性維持）にとって有益か有害かを評価する生物学的価値評価に中心的な役割を果たし、その結果を視床下部に送っている。有益および有害な価値評価はそれぞれ快および不快情動を発現することから、情動は生物学的価値評価とほぼ同義であり、生存のための適応システムであると考えられる。視床下部には、ストレス反応を含めて生存のための様々な情動ならびに本能行動表出プログラムが存在し、視床下部に大脳辺縁系から指令が伝達されると生存のための特定のプログラムが遂行されると考えられる。本稿では、サル扁桃体における生物学的価値評価ニューロンの高次処理依存的ストレスに対する応答性やラット視床下部における本能行動表出ニューロンの身体的ストレスに対する応

答性について紹介する。

1. はじめに

生理学的には、個体生存の基本原則はホメオスタシス（個体を構成する各細胞を取り巻く内部環境の恒常性）にある。視床下部は、下垂体を介して内分泌系を、下位脳幹を介して自律神経系や体性神経系を制御しており、とくに自律神経系では head ganglion として全内臓の調節に関与して、生体のホメオスタシス維持に重要な役割を果たしている。一方、様々なストレスは、ホメオスタシスを乱す外乱として位置づけることが可能であり、視床下部は、ストレスに対する生体の反応（ストレス反応）形成に中心的な役割を果たしている。

それでは、様々なストレスに生体はどのように反応するのであろうか。最終的にはホメオスタシス維持に重要な視床下部がストレス反応形成に関与するが、ストレスの種類により視床下部への情報伝達経路が異なることが示唆されている（図1）。一つは身体的ストレスであり、空気中の酸素分圧低下や出血による血圧低下など、呼吸循環系の異常を中心として生体のホメオスタシスに直接影響を与えるストレスである。このようなストレスは、下位脳幹を介して直接視床下部に情報が伝達される。

他方は、高次処理依存的ストレスと呼ばれ、それ自体はホメオスタシスに直接的な影響を与えないが将来的に影響があることを予告するストレスである。例えば、猛獣の姿を見ただけで、血圧上昇やホルモン分泌が起こり、ストレス反応が惹起される。これは、その視覚情報自体はホメオスタシスに影響を与え

キーワード：扁桃体、情動発現、視床下部、ホメオスタシス、ストレス

¹⁾富山大学 大学院 医学薬学研究部 システム情動科学（〒930-0194 富山県富山市杉谷 2630）

²⁾科学技術振興機構

e-mail: nishijo@med.u-toyama.ac.jp

Title: A role of the limbico-hypothalamic system in physiological manifestation of stress

Author: Hisao Nishijo, Etsuro Hori, Tatetoshi Ono

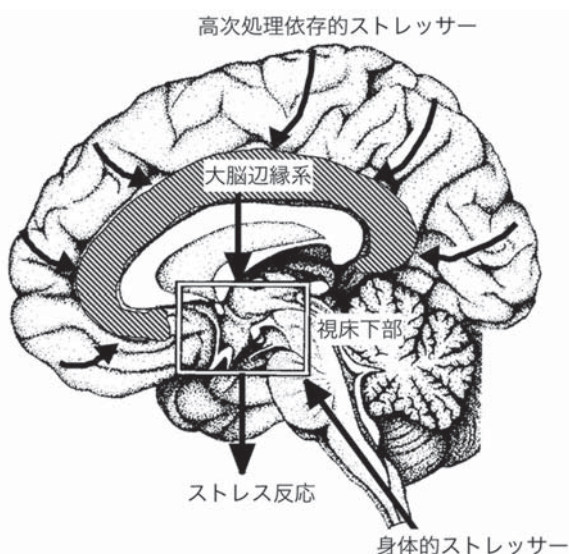


図1 ストレス反応の形成経路

ないが、将来的には猛獣に襲われて傷害を受ける可能性があるからである。このため、感覚情報自体だけでなく、認知や記憶など刺激に付随した様々な情報も合わせて連合的に処理する、より高度な情報処理が必要とされ、まず大脳皮質や大脳辺縁系で処理され、ついでその処理結果が視床下部に伝達されると考えられている。

2. 高次処理依存的ストレスラーと情動発現

大脳辺縁系、とくに扁桃体は、感覚情報の生物学的価値評価に関与し、高次処理依存的ストレスラーに対するストレス反応形成に重要な役割を果たしている。サルの扁桃体を含む両側の側頭葉を破壊すると、a) 精神盲（食物と非食物の区別など周囲にある物体の意味認知ができなくなる）、b) 口唇傾向（周囲にあるものを手あたりしだいに口にもっていき、舐めたり、噛んだりする）、c) 性行動の亢進（手術後しばらくして出現する症状で、雄、雌ともに性行動の異常な亢進が起こり、雄は同性や異種の動物に対しても交尾行動を行う）、d) 情動反応の低下（手術前には強い恐れ反応を示したヘビなどを見せても、まったく恐れ反応を示さなくなり、敵に対しても何の反応もなく近づいていき、攻撃され傷つけられる）などの症状を呈する Klüver-Bucy 症候群が起こる(1)。これら Klüver-Bucy 症候群では、物体や顔（個人）の識別など基本的な知覚・認知や運動機能は障害されない。しかし、扁桃体を損傷された動物およびヒトは、生物学的価値評価に基づいた情動発現が障害され、過去の記憶に基

づき、自己に利益をもたらす可能性のあるものに対しては快情動を、逆に、不利益をもたらす可能性のあるものに対しては不快情動を発動することができない。このような生物学的価値評価に基づく行動は、ハエからヒトまで多くの動物に共通に認められる。これらのことから、情動発現は生物が進化の過程で獲得した生存のための適応反応であり、実際の身体的ストレスラーが来る前に、前もってストレス反応を導くシステムとして捉えることができる。

扁桃体の電気刺激により視床下部性情動反応によく似た情動反応を起こすことができる。これらのことから Klüver-Bucy 症候群は、扁桃体-視床下部を中心とした感覚情報処理経路における離断症候群として捉えることができる(2)。すなわち、Klüver-Bucy 症候群は、扁桃体への各種感覚入力、あるいは扁桃体から視床下部-脳幹系への出力のいずれかが遮断されたときに起こる。たとえば、扁桃体への特定の感覚経路を破壊(遮断)すれば、感覚刺激の生物学的価値評価の障害はその感覚種だけに限定され、破壊が扁桃体を含めてそれ以後の出力経路に及ぶとすべての感覚種に対する生物学的価値評価に基づく情動行動（反応）の障害が現れる。

3. ストレス反応発現の神経機構：扁桃体の役割

われわれは、以上の扁桃体の機能をニューロンレベルで調べるため、報酬獲得行動や嫌悪刺激回避行動を行っているサルやラットの脳から扁桃体ニューロンを記録し、食物やヘビなど、あるいは食物やジュースと連合した（意味する）種々の物体や音などの感覚刺激に対する応答性を解析している(3,4)。その結果、サル扁桃体では、記録したニューロンの約 1/4 が生物学的価値を有する様々な物体に識別的に応答することが明らかになった。図 2A には、サルにとって嫌悪性の意味を有するヒトがサルに近づいたときのニューロン活動の変化を示してある。このニューロンは、実験者がサルに向かって前進すると活動が上昇し、後退すると減少した。また、このニューロンの活動は、実験者の向きがサルに向かって前向きの場合だけでなく、サルに背中を向けて後ろ向きで後ずさりしながら接近した場合にも同様に活動が上昇した。しかし、無意味物体であるテープをサルに接近させてもニューロン活動は変化しなかった。したがってこのニューロンは、生物学的に意味のある対象物（ヒト）が接近あるいは後退することによる対象物の価値評価の変化に基づいて活動が変化したと考えられる。これらのことから Klüver-Bucy 症候群のサルが危険な敵に容易に近づい

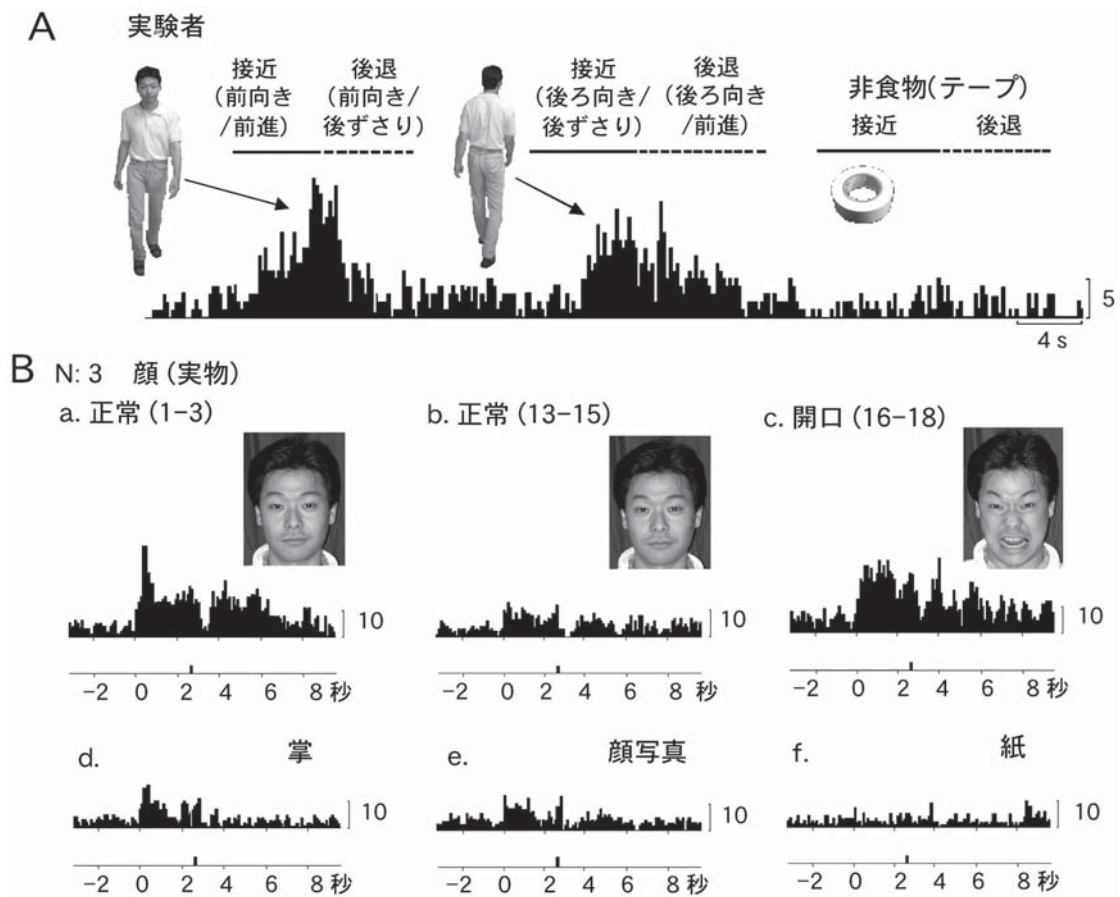


図2 実験者の接近(A)および顔(B)に反応したサル扁桃体ニューロン(B).

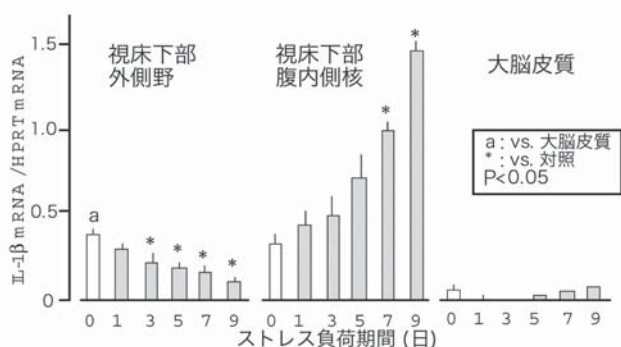
括弧内の数字、試行回数；ヒストグラム上、ニューロンの応答の加算ヒストグラム（ビン幅、100 ms）；縦軸、インパルス放電数/ビン；ヒストグラム下、シャッター閉鎖信号の加算ヒストグラム（ビン幅、100 ms）；縦軸、信号数/ビン；横軸、時間（秒）；0、刺激呈示（シャッター開放）時点；-、刺激呈示前；+、刺激呈示後；N、加算回数。（Bは文献8より転載）

ていく、あるいは扁桃体損傷を有する患者が、健常人であれば回避行動をとる危険人物に対して逆に好意や信頼性を抱くのは、このような価値評価ニューロンが扁桃体損傷により消失したからであると考えられる。一方、図2Bには、ヒトの顔に比較的選択的に応答した扁桃体ニューロンの例を示してある。この扁桃体ニューロンは、ヒトの顔の実物に顕著に反応し（a）、掌（d）や顔写真（e）にはあまり反応しない。また、写真プリント用の白い紙にはまったく反応せず（f）、図には示していないがその他の報酬性および嫌悪性物体にもまったく反応しない。このような扁桃体ニューロンに顔を繰り返し呈示すると、ニューロン応答が次第に減弱する（b：13-15回目）。次に、怒り、あるいは威嚇の表情となる、開口して歯のある顔を呈示すると再び活動が上昇している（c）。これらのことからこれら顔表情選択反応ニューロンも、顔表情からその人物に対する“近づき易さ”を評定している（生物学的価値評価）可能性が示唆される。最近、これら扁桃体ニ

ューロン応答と自律神経反応として瞳孔径との相関を解析しているが、ニューロンの応答強度と瞳孔径がかなりよく相関することが明らかになりつつある。

近年、機能的磁気共鳴画像法（fMRI）や陽電子断層撮影法（PET）により健常人の脳血流を測定し、不快な写真（損傷した顔写真など）を見せたり、悲しい出来事を回想させて実際に情動を誘発させると、扁桃体で脳血流が増加することが報告されている。さらに、これら不快感や悲しみをもたらす刺激に対して、心的外傷後ストレス障害（PTSD）の患者では扁桃体の脳血流の増加が健常人より著しく、逆に分裂病患者では健常人より血流増加が少ないことも報告されている。これらのことから、生物学的価値評価に関しては、ヒトも動物も扁桃体は共通の機能を担っており、これら扁桃体における不快情動系の異常な活動により、様々な精神身体的障害が現われると推測されている。

A. IL-1β mRNA産生



B. 自発放電頻度の比較

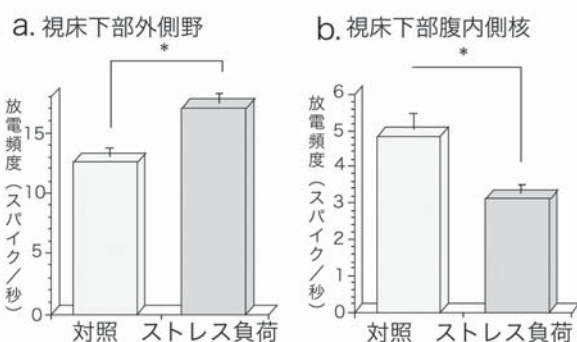


図3 反復寒冷ストレス負荷による視床下部機能の変化
 Aの縦軸、IL-1β mRNA 発現量の HPRT mRNA 発現量に対する相対的变化；HPRT, hypoxanthine phosphoribosyl transferase；横軸、ストレス負荷期間。

4. ストレス反応発現の神経機構：視床下部の役割

キャノン (1927, 1929) やヘス (1936) らは、情動と視床下部との対応関係を初めて明らかにしている。キャノンらは、1) 視床下部 - 脳幹と大脳皮質、大脳基底核、および視床との間で離断した犬は、非常に怒りやすくなり、些細な刺激でも怒り反応を誘発することができるが、2) 視床下部とそれ以下の脳幹との間で離断すると怒り反応を誘発できないこと、および3) 視床下部を電気刺激すると、怒り反応時に観察される交感神経系の興奮状態と同等の状態を誘発することができることから、視床下部が情動表出の中核であることを明らかにしている。この怒り反応は、怒り誘発の閾値が低く、相手構わず起こるので“見せかけの怒り”と呼ばれた。一方、ヘスもネコの視床下部の電気刺激により、それぞれ怒りおよび恐れを表出を伴う攻撃行動や防御行動が誘発されることを明らかにしている。これらのことから、視床下部には、ストレス反応を含めて生存（恒常性維持）のための様々な情動表出プ

グラムが存在し、視床下部に大脳辺縁系から指令が伝達されると生存のための特定のプログラムが遂行されると考えられる。

一方、近年視床下部は、感染時において末梢血の免疫物質（サイトカイン）が直接作用して発熱の制御に中心的な役割を果たしているなど、脳-免疫関連の座として注目されている。最近われわれは、身体的ストレスラーをラットに負荷すると、免疫サイトカインが視床下部に最も高濃度に産生され、これら免疫サイトカインが中枢神経系でストレスメディエーターとして様々なストレス反応の形成に重要な役割を果たしていることを報告している。身体的ストレスラーとして、ラットをタイマーによる自動温度管理が可能な特殊インキュベーター内で飼育し、環境温を明期は24℃から-3℃に周期的（1周期、2時間；合計4サイクル）に変化させ、暗期は-3℃に維持した（反復寒冷ストレス）。このようなストレス負荷により、1) ラットの摂食量は増加するが、体重増加率は低下する(5)、2) 通常は飲まない苦い味のヒスチジン溶液を摂取するようになる(5)、3) 無排卵など雌ラットの性周期が乱れる(6)などのストレス反応が現われることが明らかになっている。

図3Aには、ストレス負荷後直ちにラットの脳を摘出し、視床下部内の各領域、とくに視床下部外側野と視床下部腹内側核、ならびに大脳皮質を切り出して、サイトカインの1種であるIL-1βの mRNA 発現量をRT-PCR法を用いて測定した結果を示してある(6)。IL-1β mRNA の発現は、大脳皮質に比較して視床下部で高レベルに認められ、さらに、ストレスにより視床下部腹内側核ではIL-1β mRNA の産生が増加しているが、視床下部外側野では逆に減少した。図3Bには、同様のストレスを2週間以上負荷したときのラット視床下部外側野および腹内側核ニューロンの自発放電活動を示してある(7)。IL-1β mRNA の発現とは対称的に、自発放電頻度が視床下部外側野および腹内側核でそれぞれ増加および低下している。この結果は、ストレスにより摂食中枢である視床下部外側野の活動が増加し、逆に満腹中枢である腹内側核の活動が低下したことを意味しており、ストレスによる摂食量の増加はこの視床下部における摂食調節機構の異常によるものであることが強く示唆される。さらに、近年、IL-1βは抑制的な神経調節物質であることが報告されており、抑制物質であるIL-1βが視床下部外側野で減少した結果、視床下部外側野の自発放電頻度が上昇し、視床下部内側核ではこの抑制物質が増加した結果自発放電頻度が減少したと考えられる。これらのことから、反復寒冷

ストレスによる摂食異常は、視床下部におけるサイトカイン産生の変化によるものであることが強く示唆される。

さらに、1) 反復寒冷ストレス負荷において、内側視索前野における IL-1 β 産生が、性周期形成に中心的な役割を果たしている内側視索前野における性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の産生と負の相関関係にある(6)、2) 視床下部内側部における IL-1 β 産生が、バソプレッシンや副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) の産生と関連していることなどが明らかにされている。これらの結果より、身体的ストレス負荷では、下位脳幹からの入力だけでなく、末梢血からの直接入力や視床下部における免疫サイトカイン産生もストレス反応形成に重要な役割を果たしていることが示唆される。

5. まとめ

大脳辺縁系は、大脳の内側に位置し、間脳（視床、視床下部）の外側を取り巻いている。間脳の下には、下位脳幹（中脳、橋、および延髄）および脊髄が位置

している。間脳のとくに視床下部には、情動表出時の行動（逃避行動や防御行動など）、自律神経反応、および内分泌反応を統合的に制御する様々な情動表出（ストレス反応形成）プログラムが存在する。高次処理依存的ストレス負荷時には、大脳新皮質からの情報を受けて大脳辺縁系から指令が出され、視床下部ではその指令に基づいて特定の情動表出プログラムが選択され遂行される。一方、身体的ストレス負荷時にも、視床下部は、下位脳幹や末梢血から直接入力を受け、ストレス反応形成に中心的な役割を果たしている。その際に、免疫サイトカインが視床下部におけるストレスメディエーターとして様々なストレス反応形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

文 献

- 1) Klüver H, et al. Arch Neurol Psychiatr. 1939;42:979-1000.
- 2) Downer JDC. Nature Lond. 1961;191:50-51.
- 3) Nishijo H, et al. J Neurosci. 1988a;8:3556-3569.
- 4) Nishijo H, et al. J Neurosci. 1988b;8:3570-3583.
- 5) Kondoh T, et al. Behav Neurosci. 1996;110:1187-1192.
- 6) Tanebe K, et al. J Neuroendocrinol. 2000;12:13-21.
- 7) Nishijo H, et al. J Nutrition. 2000;130:954S-959S.
- 8) 西条寿夫, 他, 日薬理誌. 2005;125:68-70.

著者プロフィール

西条 寿夫 (にしじょう ひさお)

富山大学大学院 医学薬学研究部(医学) システム情動科学 教授, 医学博士.

◇1982年富山医科薬科大学医学部卒業, '82-'85年富山医科薬科大学大学院で扁桃体のニューロン活動を解析, '86-'97年富山医科薬科大学医学部第二生理学助手・助教授, '87-'89年米国ペンシルバニア州立大学医学部行動科学教室 Visiting assistant professorにて味覚の中樞神経機構を研究, '98-現在 同大学第一生理学教授を経て富山大学・システム情動科学教授.

◇研究テーマ:情動とストレスの仕組みの解明, 脳発達における情動の役割, NIRSによる脳機能マッピングなど.

◇趣味:サッカー, ラクビー.

◇主な著書(分担執筆):情動発現の神経機構:扁桃体の役割, 実験医学増刊号(羊土社), 東京(2006). 情動発現と社会的認知機能の神経機構, 神経科学の進歩(医学書院), 東京(2006).



精神疾患モデルマウスはストレスに弱いのか？

宮川 剛, 山崎 信幸

要約：著者は、遺伝子改変マウスに対して網羅的行動テストバッテリーを行うことで、脳に発現する遺伝子の行動レベルでの機能についての研究を行ってきた。近年、マサチューセッツ工科大学の利根川らとの共同研究によって、前脳特異的カルシニューリン (CN) ノックアウトマウスが統合失調症様の表現型異常を示すこと、また統合失調症患者のDNAを用いた関連解析からカルシニューリンAの γ サブユニットの遺伝子、*PPP3CC*の特定のハプロタイプが統合失調症と関連を示すことから、脱リン酸化酵素のカルシニューリンが統合失調症の感受性遺伝子であろうことを報告した。この知見に基づき著者らは、統合失調症の発症にCNが関与するシグナル伝達経路の異常が関わっているとする「統合失調症のカルシニューリン仮説」を提唱している。ここでは、宮川らが報告した前脳特異的CNノックアウト (CN-KO) マウスの統合失調症様の表現型異常を中心に統合失調症とCNとの関連について解説する。このマウスでは、不安様行動も顕著に亢進しており、環境の変化に弱いなど、ストレスに対する感受性も亢進していると考えられるが、精神疾患のストレス脆弱性仮説との関連についても議論する。

1. 前脳特異的カルシニューリンノックアウトマウスは統合失調症様の行動異常を示す

カルシニューリン (CN または PP2B : protein phosphatase 2B) は、カルシウム・カルモジュリンに依存性を持つ、唯一のセリン/スレオニン脱リン酸化酵素で、脱リン酸化活性を持つ触媒サブユニット (CNA) とカルシウム結合部位を持つ調節サブユニット (CNB) からなるヘテロダイマーである(1)。CNAは3種類 ($A\alpha$, $A\beta$, $A\gamma$)、CNBは2種類 (B1, B2)

のアイソフォームが知られている。様々な組織で発現しているが、特に中枢神経系において強く発現しており、脳の全タンパク質の1%をも占めているといわれている(2)。CNは免疫抑制剤であるシクロスポリンAやFK506により活性が阻害され、心筋肥大とも関係が深い。CNの生理的な機能については、細胞内 Ca^{2+} 放出、転写因子の機能調節、シナプスの可塑性、神経伝達物質の放出などに関係していると考えられている(3-6)。

CNはシナプス可塑性に関係していることから、学習や記憶などの高次脳機能に重要な役割を担っているのではないかと予想されていた。しかしCNBを完全に欠損させた場合、発生の段階で致死となってしまうため行動レベルでの機能を解析することはできなかった。そこで利根川らのグループでは、Cre-loxPシステムを用いて前脳特異的にCNBを欠損させたマウスを作ることによってCNB欠損マウスの高次脳機能の解析を可能とした(7)。

CN-KOマウスはホームケージでの飼育時に、実験者から素早く逃げ回り捕まえるのが難しく、実験者に噛みつくなどの行動が頻繁にみられた。このマウスの行動異常の全体像を実験的に明らかにする目的で、宮川らはマウスの網羅的な行動テストバッテリーを行った(8,9) (表1 : <http://behav.hmro.med.kyoto-u.ac.jp/>参照)。参照記憶を調べるモリス水迷路や、恐怖条件付けテストではCN-KOマウスは障害を示さなかった。一方、作業記憶 (ワーキングメモリー) を調べる八方向放射状迷路テストを行ったところ、CN-KOマウスで著しい障害が見られた (図1-A1, A2)。更に、作業記憶を調べるタイプのモリス水迷路 (遅延場所合

表1 行動テストバッテリー一覧

カテゴリー	代表的テスト
学習・記憶	モリス水迷路 8方向放射状迷路 バーズ円形迷路 明暗・左右弁別テスト (T字迷路) 自発的交替テスト 受動的回避 恐怖条件付け (フリージング)
不安・恐怖	高架式十字型迷路 明暗選択テスト オープンフィールドテスト
アルコール感受性・嗜好性	正立反射の消失 2ボトル選択 活動量変化 運動機能低下
攻撃行動	レジデント・イントルーダーテスト 母性攻撃行動テスト
統合失調症	プレパルス抑制テスト 潜在抑制テスト オープンフィールドテスト 社会的交互作用テスト 8方向放射状迷路 モリス水迷路 (作業記憶バージョン)
うつ様行動	ポーソルト強制水泳テスト テールサスペンションテスト
痙攣感受性	薬剤誘発性痙攣 聴覚刺激誘発性痙攣 扁桃核キンドリング
運動・運動学習	ローターロッドテスト ワイアーハンダテスト フットプリントテスト ビームテスト 前庭動眼反射 瞬膜条件付け

せ課題)でも, CN-KO マウスで著しい障害が認められた。これらの結果は, CN の欠損は参照記憶には影響を与えず, 選択的に作業記憶に障害を与えることを示している。またオープンフィールドテストでは, 活動量が顕著に亢進していることが分かった。統合失調症の症状の一つに注意の障害があり, プレパルス抑制テスト, 潜在抑制テスト等の課題で注意力が低下していることが統合失調症患者で示されている(10, 11)。同様の実験をマウスでも行うことができ, CN-KO マウスでもこれらのテストで障害が認められた。新奇場面下においての社会的交互作用テストでは, マウス同士が接触している時間が短くなっていった。野生型のマウスは明期に互いに寄り添って眠るのが普通であったが, CN-KO マウスでは1匹ごとに離れて眠る傾向が強いことが, 宮川によって考案・開発されたホームケージ内社会的交互作用モニターシステムによって観察された(図1-C1, C2)。また巣作り行動も CN-KO マ

ウスでは障害されていた(図1-B1, B2)。NMDA 受容体の阻害作用を持つフェンサイクリジンやケタミンを投与すると統合失調症患者の症状が悪化することが知られている(12)。そこで CN-KO マウスで NMDA 受容体阻害薬の MK-801 を投与した時の活動を見たところ, CN-KO マウスは対照群に比べて活動量が著しく亢進することが明らかになった。

以上をまとめると, CN-KO マウスで見られる行動異常は, 作業記憶の障害, 活動量の亢進, 注意障害, 社会的行動低下, NMDA 受容体阻害薬に対する感受性の亢進などであり, これらの所見は統合失調症患者の症状に大変よく一致していた(10-15)。また統合失調症モデル動物とされるアンフェタミン投与ラット(16), NMDA 受容体阻害薬投与マウス(17), 幼若期海馬破壊ラット(18), ドパミントランスポーター遺伝子ノックアウトマウス(19), Dvl1 遺伝子ノックアウトマウス(20), NMDAR1 ノックダウンマウス(21)などが示す行動異常のパターンにもよく似ていた。

2. カルシニューリンと統合失調症

遺伝統計学的解析により統合失調症の感受性遺伝子の検索が行われており, 連鎖解析によりその候補と考えられる連鎖部位がいくつか報告されている。その中に, CNB サブユニットの遺伝子がある 2p の部位や, CN が結合するタンパク質である FKBP の遺伝子がある 6p, CNA γ サブユニットの遺伝子がある 8p など, CN に関係する遺伝子がある部位がいくつも存在している。ハプロタイプ解析を用いて各 CN 関連遺伝子について行ったところ, 8p21.3 にある CNA γ サブユニットの遺伝子 PPP3CC が統合失調症の患者に強い関連をもつことが分かった(22)。

統合失調症が CN の関与する信号伝達経路の異常と関係しているという考え方は従来のさまざまな統合失調症の仮説とも整合性が高い。dopamine-and cAMP-regulated phosphoprotein (DARPP-32)/Inhibitor-1 は, 各種受容体などの脱リン酸化に広く機能している Protein phosphatase-1 (PP-1) の活性を制御する酵素である(4)。DARPP-32 は D1/D5 受容体から cAMP を介した経路で活性化され, CN により不活性化される。即ちこの経路では, CN がドパミン受容体からのシグナル伝達経路に“ブレーキ”のような役割を果たしていると考えられる。また CN は NMDA 受容体から流入した Ca^{2+} によって活性化されるので, グルタミン酸仮説とも整合性を持つ。その他, 神経成長因子である brain-derived neurotrophic factor (BDNF) や Neu-

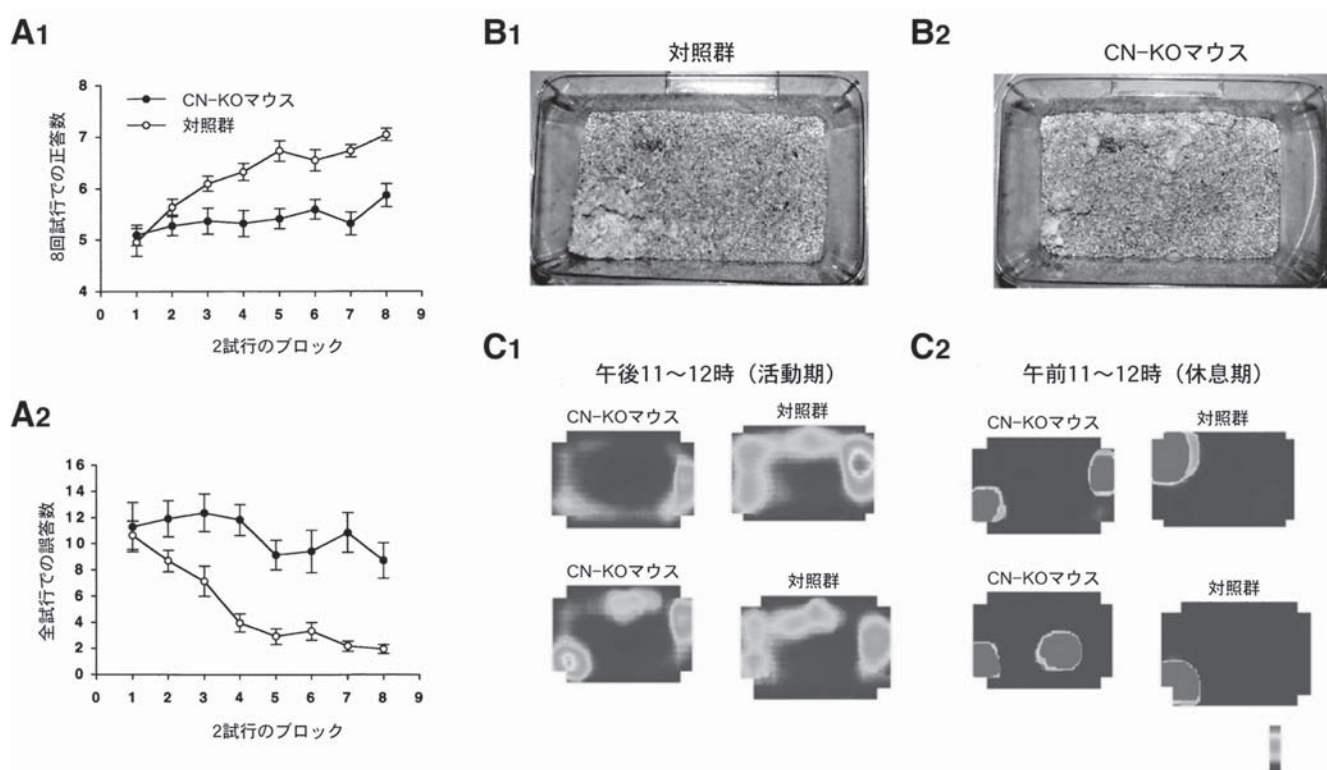


図1 CN-KOマウスの行動異常

A: 放射状迷路テスト。(A1)最初の8回の試行でどれだけ異なるアームへ行けたか、(A2)すべてのえさをとり終えるまでに何回間違えて一度行ったことのあるアームへ行けたか、を2日間の試行成績の平均をとって継続的にみた。CN-KOマウスで有意に成績が悪く、作業記憶障害を呈した。B: 巣作り行動テスト。対照群ではケージにきれいに巣を作るのに対し(B1)、CN-KOマウスはきちんとした巣を作らない傾向があった(B2)。C: 社会的交互作用テスト。同一遺伝子型のマウスを2匹新しいケージへ移し、その行動を3日間にわたって記録した。マウスは活動期にはケージの中を動き回り(C1)、休息期では動かずに1カ所にいる(C2)。休息期では対照群のマウスは2匹寄り添って寝ているが、CN-KOマウスは2匹別々の場所で寝ていることがわかった。(A: 文献7, B,C: 文献9より抜粋)

rotrophin-3が軸索の伸張に与える効果は、CNおよび転写因子である nuclear factor of activated T cell (NFAT) を介しており、またNFATのノックアウトマウスでは軸索の伸張が障害されていたという報告もあり(23-25)、神経発達障害仮説とも整合性を有する。また最近になって、ドパミンは双極性感情障害の治療薬リチウムのターゲットであるGSK3 β を活性化させ、このAkt-GSK3 β の信号伝達異常が統合失調症と関連していると報告されたが(26,27)、CNはNFATを介してGSK3 β を抑制することが報告されている(28)。

さらにCN仮説には今までの仮説では説明できないような事象とも整合性がある。統合失調症の患者は糖尿病を併発する率が高いことが知られているが(29)、CNはNFAT系を介してインスリンの遺伝子転写促進に関与しており(30)、CN阻害作用をもつ免疫抑制剤の副作用の一つとして糖尿病が挙げられている。また、統合失調症の患者は突然死することも多く、心疾患によるものが自殺に次ぐ原因だと言われているが(31)、CNが心筋の生理的・病的肥大に関わっていることは良く知られており(32)、またFK506が心毒性をもつことも知られている。リウマチの治療薬としてCN

の阻害作用を持つシクロスポリンAが使用されているが、統合失調症の患者では慢性関節リウマチの罹患率が低いというよく知られた事実(33)と一致している。また、CNはNFATを脱リン酸化してinterleukin-2(IL-2)の転写を促進させることが知られており、統合失調症患者はIL-2の発現量が減少しているなど免疫能に異常があるという知見との整合性がある。これらの事実は、CNの活性低下と統合失調症の関係を強く示唆するものと考えられる。

統合失調症の患者の死後脳でDNAマイクロアレイを用いた解析にて発現量の変化が見られた遺伝子群の中に、CNのサブユニットや基質、内在性抑制因子など少なくとも10のCN関連分子の遺伝子が含まれていたとの報告がある(34)。最近、Harrisonらのグループによって、統合失調症患者の死後脳で、3種類あるCNAすべてについて(CNA-alpha, CNA-beta, CNA-gamma)その発現量が低下していることも報告された(35)。また、非定型向精神薬であるクロザピンをラットに投与して、DNAマイクロアレイを用いて前頭前野における遺伝子の発現を調べたところ、最も発現が増加していた遺伝子はCNAであったという報

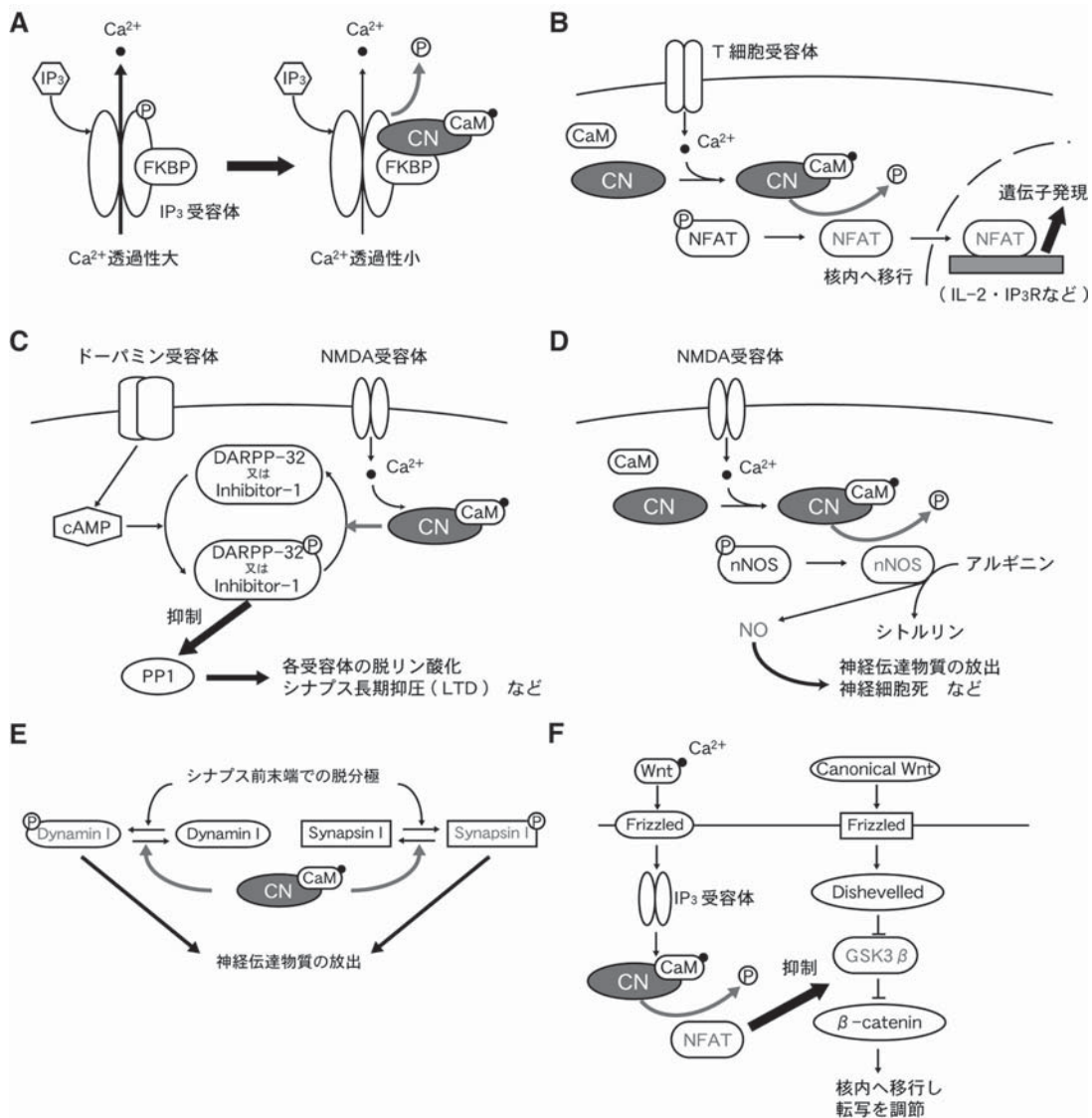


図2 CNが関与する主なシグナル伝達経路

A: IP₃/リアノジン受容体系。両受容体に結合するFKBPというタンパクにCNが結合し、受容体を脱リン酸化することでそのCa²⁺透過性を制御する。B: NFAT系。NFATはCNにより脱リン酸化されることで活性型となり、核内へ移行できるようになる。核内では様々な遺伝子の転写因子として機能する。C: DARPP-32/Inhibitor-1系。CNは、多彩な生理機能を持つprotein phosphatase-1 (PP-1)に抑制的に働くDARPP-32/Inhibitor-1の活性調節を、ドーパミン受容体の下流にあるprotein kinase Aと拮抗して行っている。D: nNOS系。神経伝達物質の放出や神経細胞死などに関係しているnNOSをCNが活性化する働きをもっている。E: シナプス前タンパク系。シナプス前末端で神経伝達物質の放出に関係するタンパク、ダイナミン-1やシナプシン-1の活性制御にもCNが関係していることが知られている。F: Wntシグナル系。CNにより脱リン酸化されるNFATを通じて、Wntシグナル経路の中のGSK3βが制御される。(A, D, E: 文献40, B: 文献41, C: 文献4, F: 文献28より一部改変)

告もあり(36)、薬理作用の一部がCNシグナル伝達経路を介して発揮されている可能性も考えられる。

以上のようなことから、宮川らはCNが関与するシグナル伝達経路の異常が統合失調症の発症に関係しているのではないかと「統合失調症のカルシニューリン仮説 (CN仮説)」を提唱している。

宮川らの報告(9)を受け、CNを介したシグナル伝達経路の異常が統合失調症の発症に関連しているとする説が目立ってきている(36, 38)。CNのシグナル

伝達経路は多岐にわたり(図2に主なものを示す)、どのシグナル伝達経路が統合失調症様の行動異常に関与しているのかは未だ不明である。その疑問を解くために、著者らの研究室では現在、CNと関連が深い分子についての遺伝子改変マウスを用いて、自動化された網羅的な行動テストバッテリーを行うことで、統合失調症様症状とシグナル伝達経路の関連について研究を進めている。このような研究を通じて統合失調症の病態が解明され、新たな治療法の確立につながる事が期待される。

3. CN-KOマウスはストレスに弱いのか？

さて、CN-KO マウスのストレスに対する感受性はどうか？まず、CN-KO マウスでは、Light/Dark transition テストなどの結果から、不安様行動が顕著に亢進していることがわかっている(9)。また、CN-KO マウスは突然死を示すことが多く、6 ヶ月齢の時点までに約半数が死亡する(9)。この突然死の原因はまだよくわかっていないが、ホームケージをある飼育室から別のビルディングの飼育室へ移したり、比較的ストレスが強いような行動実験を行った次の日などに急に元気がなくなり、2~3日すると死亡するというパターンが多いようである。また、ラックの一番上の棚に置いておくと死亡する率が高くなるようでもある(未発表)。統合失調症を始めとする精神疾患にはストレス脆弱性仮説という仮説がある(39)。これは、遺伝的素質や後天的な能力・対応力によってきまる発病の脆弱性(発病のしやすさ)があり、これに心理・社会的な要因によるストレスやライフイベント(引っ越し、進学、就職など)が重なって、これらの相互作用により病気が引き起こされる、というものである。CN-KO マウスでは、不安様行動が亢進していることや、環境の変化によって死亡率が高くなることなどを考慮すると、このマウスに見られる多様な精神疾患様の行動異常の一部は、各種のストレスに対する感受性の亢進に起因しているものもあるかもしれない。

文 献

- 1) Klee CB, et al. J Biol Chem. 1998;273:13367-13370.
- 2) Guerini D. Biochem Biophys Res Commun. 1997;235:271-275.

- 3) Crabtree GR. J Biol Chem. 2001;276:2313-2316.
- 4) Greengard P, et al. Neuron. 1999;23:435-447.
- 5) Snyder SH, et al. Neuron. 1998;21:283-294.
- 6) Winder DG, et al. Nat Rev Neurosci. 2001;2:461-474.
- 7) Zeng H, et al. Cell. 2001;107:617-629.
- 8) 宮川 剛, 他. 遺伝子と行動. 脳神経科学イラストレイテッド. 羊土社;2000. p. 258-264.
- 9) Miyakawa T, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100:8987-8992.
- 10) Braff DL, et al. Arch Gen Psychiatry. 1990;47:181-188.
- 11) Weiner I. Psychopharmacology (Berl). 2003;169:257-297.
- 12) Tsai G, et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2002;42:165-179.
- 13) American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. DSM-IV-TR. Am Psychiatr Press, Washington DC;2000.
- 14) Elvevag B, et al. Crit Rev Neurobiol. 2000;14:1-21.
- 15) Goldman-Rakic PS. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 1994;6:348-357.
- 16) Seiden LS, et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1993;33:639-677.
- 17) Carlsson A, et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2001;41:237-260.
- 18) Lipska BK, et al. Neuropsychopharmacology. 2000;23:223-239.
- 19) Gainetdinov RR, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:11047-11054.
- 20) Lijam N, et al. Cell. 1997;90:895-905.
- 21) Mohn AR, et al. Cell. 1999;98:427-436.
- 22) Gerber DJ, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100:8993-8998.
- 23) Bechstein WO. Transpl Int. 2000;13:313-326.
- 24) Graef IA, et al. Cell. 2003;113:657-670.
- 25) Groth RD, et al. J Neurosci. 2003;23:8125-8134.
- 26) Beaulieu JM, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101:5099-5104.
- 27) Emamian ES, et al. Nat Genet. 2004;36:131-137.
- 28) Saneyoshi T, et al. Nature. 2002;417:295-299.
- 29) Henderson DC, et al. Int Rev Neurobiol. 2002;51:481-501.
- 30) Lawrence MC, et al. Diabetes. 2002;51:691-698.
- 31) Davidson M. J Clin Psychiatry. 2002;63 Suppl 9:5-11.
- 32) Vega RB, et al. J Biol Chem. 2003;278:36981-36984.
- 33) Torrey EF, et al. Brain Behav Immun. 2001;15:401-410.
- 34) Hakak Y, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:4746-4751.
- 35) Eastwood SL, et al. Biol Psychiatry. 2005;57(7):702-710.
- 36) Kontkanen O, et al. J Neurochem. 2002;83:1043-1053.
- 37) Adler E. Science. 2003;301:737.
- 38) Manji HK, et al. Science's STKE. 2003;207:49.
- 39) Zubin J, et al. J Abnorm Psychol. 1977;86(2):103-124.
- 40) Snyder SH, et al. Trends Pharmacol Sci. 1998;19:21-26.
- 41) Crabtree GR. Cell. 1999;96:611-614.

著者プロフィール

宮川 剛 (みやかわ つよし)

京都大学医学研究科 先端領域融合医学研究機構, 助教授, 生体遺伝子機能解析グループ, グループリーダー。

◇1997年東京大学大学院人文社会系研究科博士課程修了。博士(心理学)。理研 BSI 研究員, NIH 研究員, バンダービルト大学医学センター助教授(研究), MIT 主任研究員を経て, '03年より現職。日本でマウスの表現型解析コンソーシアムを立ち上げる必要があるのでは, と思っております。◇趣味: 散歩。◇主な著書:「概論・脳神経科学の large-scale 化とマウスを用いた精神疾患の研究」実験医学(特集 -ポストゲノム時代のブラックボックス- 行動を司る脳機能の分子メカニズム; 企画 宮川 剛) Vol.23 No.8 (羊土社, 2005), p1152-1158。



山崎 信幸 (やまさき のぶゆき)

◇京都大学大学院医学研究科脳病態生理学講座精神医学教室。現在, 京都大学大学院医学研究科生体遺伝子機能解析グループ(宮川グループリーダー)にて, 遺伝子改変マウスを用いた統合失調症の発症機序の研究に従事している。



ストレスを感じる前頭前野 —ストレス適応破綻の脳内機構—

岡本 泰昌, 小野田 慶一

要約: われわれはストレスの適応破綻の脳内メカニズムを明らかにするために、脳機能画像解析法を用いた検討を行っている。本稿ではその研究成果を中心に報告したい。まずストレス事象がどこで認知されるかを明らかにするために対人関係ストレスに関連する単語の認知の機能局在に関する検討を行った。次にストレスが脳内機構に与える影響について明らかにするために急性ストレスの感覚入力系に及ぼす影響について検討した。最後に予測がストレスへの適応破綻の防止に有効であると考え、ストレス事象の予測に関する脳科学的検討を行った。その結果、ストレス事象は脳内において認知されること、急性ストレスにより脳内機構の一部に変化が生じること、予測がストレス事象の入力を抑制する可能性が考えられた。さらに、これらの機能において前頭葉が重要な役割を果たしていることが推定された。

はじめに

人や動物が環境との相互作用の中で、過剰な環境の要求や苦痛な刺激にさらされたときに引き起こされるストレスの反応過程は、生理的反応とともに心理的過程を伴っている。特に人のストレスの反応過程を考える上では心理的な要因を抜きにしては考えにくい。人のストレス反応は心理社会的ストレスラーからもたらされることが非常に多いが、心理社会的ストレスラーは、それ自体が直接的にストレス反応を引き起こすのではなく、それがストレスラーとなるには、個人の認知的な処理過程が必要である。この認知処理過程は脳において行われているが、その中でも前頭前野が果たす役割は大きいと考えられる。一方、生体がストレスに暴露されると、ストレス反応が生じるが、これはス

トレスがなくなると反応もおこらなくなる一時的な性質のものである。しかしストレスが慢性的あるいは、頻繁に繰り返される場合や、さらにストレスにさらされるのが一度の体験であっても、その記憶が意識に繰り返し侵入してくる場合など、ストレスへの適応が困難な状態が引き起こされる。この脳での適応破綻の表現型が精神機能の障害であり、精神医学的見地からみると外傷後ストレス障害や大うつ病がこれに該当すると考えられる。従ってストレスに対する適応破綻の脳内メカニズムを解明することは、ストレス関連性精神障害の発症機序・治療過程の解明にもつながり、現在の有病率の増大が懸念されているうつ病の治療法の改革にも寄与する重要な課題と思われる。

このような観点から、われわれはストレスの適応破綻の脳内メカニズムを明らかにするために、機能的磁気共鳴画像法 (functional Magnetic Resonance Imaging: fMRI) と脳磁場計測法 (Magnetoencephalography: MEG) といった脳機能画像解析手法を用いていくつかの検討を行っている。まず、ストレス事象がいかなる脳部位において認知されるか、そしてストレス事象が脳内機構にどのような影響を与えるかについて検討を行った。さらにストレスへの適応破綻の防止に有効な心理機制として、予期と将来の報酬予測に着目し、その脳機能局在について検討を行った。本発表ではこれらの研究成果を中心に紹介したい。

1. ストレス事象の認知に関する脳機能局在 (1-3)

ストレスは一般的に物理的ストレスと心理的ストレスの2種類に分けることができる。物理的ストレスとしては熱、寒さ、密集 (過密)、騒音などが知られ、

キーワード: ストレス, 前頭前野, 認知, fMRI, MEG

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 精神神経医科学 (〒734-8551 広島市南区霞 1-2-3)

e-mail: oy@hiroshima-u.ac.jp

Title: Perception of stressful stimulus in the prefrontal cortex -the brain mechanism of a failure in adaptation to stress

Author: Yasumasa Okamoto, Keiichi Onoda

心理的ストレスとしては対人関係上の葛藤、孤立（別離）などが知られている。心理的ストレスは精神疾患の発症の誘因となることが多く報告され、とりわけ対人関係に関連したストレスは大きな割合を占め、言語や表情を介して伝わっているものと考えられる。

対人関係に関連した刺激の認知に関する研究としては、表情の認知を用いた研究が多く行われている。これらの研究からは、扁桃核、尾状核や視床を含む基底核領域の活性化が知られている。しかしながら対人関係ストレスに関連する単語を刺激として用いた研究はなされておらず、情動的ストレスとなる言語がいかなる場所で認知されるかを明らかにすることは重要である。

健常者13例を対象に、1.5TのMRI装置（島津Marconi社製）を用い、emotional decision課題遂行時のfMRIを撮像した。課題は、3語1組の対人関係ストレスに関連する負の情動価をもつ単語の中から最も不快な単語を選ぶ条件と、3語1組の情動的負荷を持たない中性の単語の中から最も中性な単語を選ぶ条件を交互に3回ずつ、計6ブロック繰り返した。1ブロック=30秒間に5組の単語セットを呈示する。被験者は各単語セットに対してボタン押しにて解答した。解析はSPM99を用い、対人関係ストレスに関連した単語呈示時と中性の単語呈示時の脳活動領域を比較検討した。課題終了後、各被験者は課題に使用した単語の主観的な不快さを点数評価した。

中性の単語呈示時と比較して、対人関係ストレスに関連した単語呈示時には左右尾状核、左視床、左海馬傍回が賦活された。さらに、左右尾状核、左視床の活動はストレスフルな単語の快適さの評価と逆相関をしていた。

この結果から、不快な単語刺激の認知における左右尾状核、左視床の役割が示唆された。また、この領域の活動の強さは刺激の主観的な不快さの程度と関連しているものと考えられた。これまでの研究からは尾状核や視床は失望した表情の認知に関連していることが判っている。また、これらの部位の活動がストレスフルな単語を不快と評価した被験者ほど強かったことから、ストレスフルな言語の入力を調節する役割をもつ可能性が推定された。

2. 急性ストレスのSensory gating systemに及ぼす影響 (4-5)

ストレス事象が脳内情報処理機構に与える影響を検討することは、ストレスへの適応を理解する上で極めて重要と考えられる。今回は、ストレスの認知する際

の脳内情報処理機構の内、最初のコンポーネントにあたる感覚入力系（sensory gating system）に焦点をあてて検討を行った。

Sensory gating systemとは生体にとってあまり重要でない感覚刺激に対しては反応を小さくし（gating out）、重要な刺激に対しては反応を大きくする（gating in）脳の前注意的な情報処理過程である。この情報処理過程は電気生理学的には、複数の事象関連電位によって構成されており、ストレスに対する適応機構として重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では、ストレスに対する適応機構としてのP50 suppression（gating outに対応）に着目し、様々な急性ストレス負荷の影響について検討した。健常者を対象としてストレス負荷前後にP50 suppressionの変化を306チャンネル脳磁計を用いて測定した。P50 suppressionは500ms間隔で呈示される一対のクリック音（1st, 2nd）を8秒間隔で提示し、クリック音に対する反応の強度の比（2nd/1st: t/c ratio）で評価した（t/c ratioが小さいほどgating outの能力が高い）。ストレスとしては、4℃の氷水に1分間右手をつけるという物理的ストレス（cold pressor test）さらには情動的ストレスとしてpositive, neutral, negativeな情動価を持つ情動スライド（international affective picture system: IAPS）を提示した（図1）。

健常者8例においてcold pressor test実施前には、t/c ratioの減衰を認めしたが、実施後には減衰を認めなかった。健常者15例においてpositiveおよびneutralな情動スライド提示中にはt/c ratioの減衰は認められたが、negativeな情動スライド提示中には認められなかった（図1）。すなわち、物理的ストレスだけでなく情動的ストレスもgating outを減弱させた。

今回の得られた所見は、ストレス負荷時には感覚入力システムの変更がおり、より多くの外界からの情報にさらされることを意味している。このことは急性のストレス状況下では危機を事前に察知するための合目的な変化と考えられる。しかしながら、ストレス状況が遷延した場合あるいは断続的に繰り返し曝された場合などでは、本来は抑圧してもよいような感覚に曝され続けることになるかもしれない。したがってこのsensory gating system上の変化がストレスに対する適応破綻を起こす引き金の一つになると考えることもできる。今後、この仮説を検証するために更なる検討を行っていく必要がある。

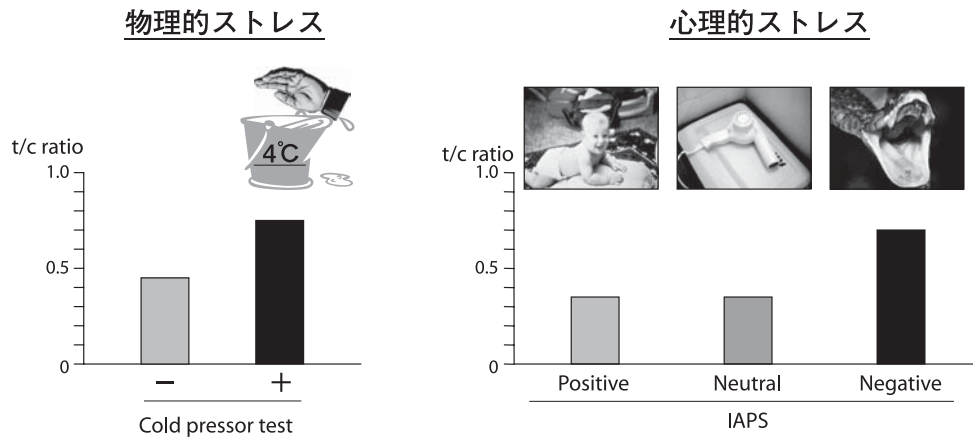


図1 各種ストレス負荷のP50m habituation への影響

身体的ストレスのみならず情動的ストレス負荷においても感覚入力システムの慣れが生じにくくなる。さらに触覚（冷覚）や視覚が聴覚の感覚入力システムに影響を与える。

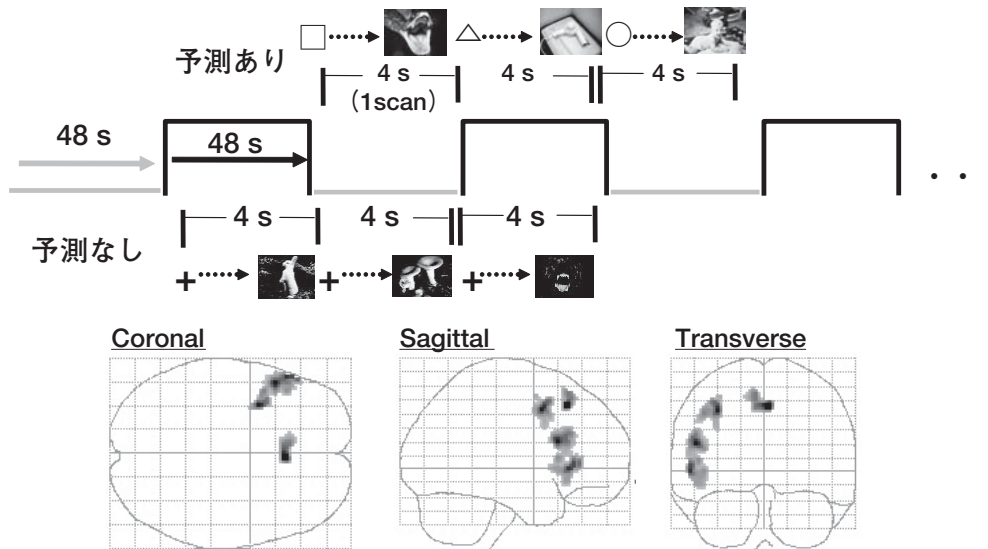


図2 ストレス事象の予測に関連した情報処理過程

将来に生じる情動的事象の予測においては、前頭前野（背外側前頭前野、内側前頭前野、下前頭前野）が重要な役割。

3. ストレス事象の予測に関する脳科学的検討 (6-8)

ストレスに対する心理的負荷を軽減するために、われわれはしばしば心理的な構えを準備する。例えば、結果が思わしくない場合に、結果発表の前に結果を予測し、これから受けるストレスを軽減するといったことを行うことがある。これらの心理的現象をふまえて、ストレス事象の予測がストレスの認知情報処理過程に大きな影響を与えていると考え、ストレス事象の予測に関する脳科学的検討をfMRIおよびMEGを用いて行った。

FMRIによる検討は、健常者15例を対象に、1.5T

のMRI装置（島津 Marconi 社製）を用い、予測的反応時間課題遂行時のfMRIを撮像した。課題は、2つ1組の刺激（警告刺激S1と標的刺激S2）を一定の刺激間隔（4秒）でモニターに呈示し、S2後にボタン押し反応をさせた。S1刺激として、○、△、□の幾何学図形を呈示した（100ms）。S2刺激として、異なる情動価（快/不快/中性；各30枚）を持つスライドを呈示した（2秒）。被験者は、○-快、□-不快、△-中性のようにS1-S2の組み合わせを固定した条件（予期可能条件）と、S1-S2の組み合わせがランダムな条件（予期不可能条件）を交互に行った。解析はSPM99を用い、予測可能条件と予測不可能条件の時の脳活動領域を比較検討した（図2）。

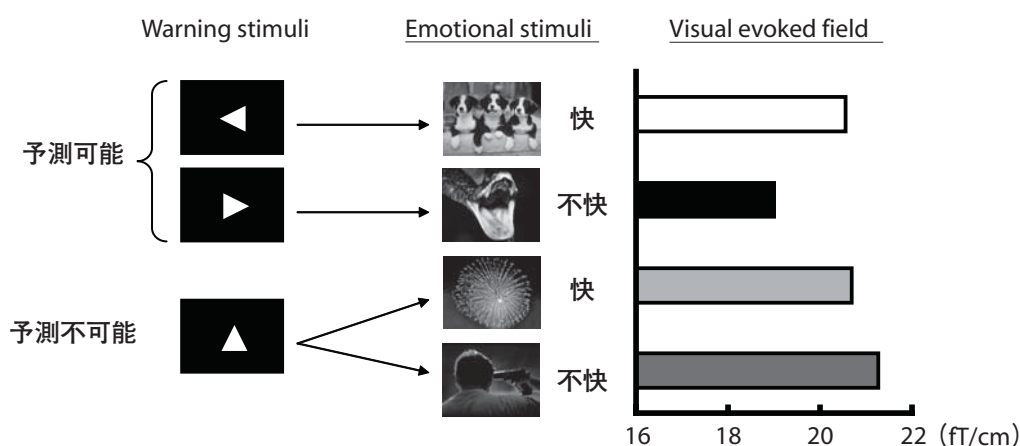


図3 ストレス事象の予測に関連した視覚誘発反応 (MEG study)
 予測することで不快な刺激に関する感覚入力を抑制することができる。

予測可能条件では予測不可能条件と比較して、前頭前野の領域（内側前頭前野，下前頭前野，背外側前頭前野）で有意な活動上昇を認めた（図2）。特に、快刺激を予測している時には、左背外側前頭前野，左内側前頭前野，右小脳の活動が認められたのに対し，不快刺激を予測している時には，右下前頭前野，右内側前頭前野，右扁桃体，左前帯状回，および両側の視覚野（左右後頭葉，右嗅部，左舌状回）の活動がみられた。

さらに同様のパラダイムを用いて，情動スライドの予測が視覚誘発反応に及ぼす影響をMEGにより検討した。健常者13例を対象に，全頭型306チャンネル脳磁図システム（Neuromag社製）を用い，情動スライド予測課題遂行時の脳磁図を記録した。予告刺激における三角形が左向きときは快画像が，右のとき不快画像が必ず呈示され，上向きの場合は，快不快のどちらが出るかはランダムであった。情動画像に対する脳磁場データを条件毎に加算平均し，visual evoked field (VEF) の振幅を算出し比較した（図3）。どの条件においても，後頭視覚野において明瞭なVEFがピーク潜時120msに認められ，頭皮上分布に差異はなかった。このVEFの振幅は，不快刺激が予測された条件において他の条件より小さかった。

これらの結果から，将来の情動ストレス事象の予測における前頭前野の役割，特に左前頭前野の活動と快刺激の予測および右前頭前野の活動と不快刺激の予測との関連が示唆された。また予測が視覚野におけるネガティブな情報の入力を調節に関与していることが予想された。すなわち，ストレス事象を予測することにより，前頭前野を含む脳内ネットワークを介して，感覚野におけるストレスフルな入力を減弱させることが

推測された。

4. 将来の報酬予測に関連した脳機能局在(9, 10)

われわれは，周囲の状況や現在の行動から，即座に得られる結果と長期的な結果の双方の予測をもとに行動を選択している。例えば受験勉強においては，今は大変だけど，将来の何らかの報酬（志望校合格）を期待して日々の努力を行っている。すなわち，希望を持つこと（将来の報酬を予測）で，様々なストレス事象を乗り越えることができる。そこで，われわれは将来の報酬予測に関する脳科学的検討をfMRIを用いて行った。

対象は健常ボランティア20例で，ATRおよび広島大学医学部倫理委員会の承認をうけたプロトコルに従い，被験者には書面によって研究の目的と内容を説明して，文書による同意を得た。1.5Tの島津Marconi社製のMRI装置を用い，課題を遂行中のfMRIを撮像した。この課題では，被験者は画面上に提示される3種類の図形に対して左右2つのボタンのどちらを押すかを試行錯誤により学習する。図形ごとのボタンの選択に応じて+20円，+100円など報酬金額が画面に表示されるとともに，次に表示される図形が図1のようなルールで決定される。短期報酬予測条件では，被験者は単純に各図形に対して，より多くの報酬金額を与えるボタンを押すことを学習する。一方，長期報酬予測条件において大きな正の報酬が得られる図形を呼び出すには，まず小さな負の報酬を受けるボタンを選ばねばならない。つまり，目先の報酬にとらわれていては，長い目で見て最適な行動を取ることができない。この2つの条件で被験者に交互に学習を行ってもらい，

その脳活動を比較した。

その結果、短期報酬予測条件では前頭葉の下部や大脳基底核の一部に、長期報酬予測条件では前頭葉の外側部や頭頂葉、大脳基底核、小脳、また脳幹でセロトニンを伝達する細胞を多く含む縫線核に活動の増加が見られた。この結果から、短期と長期の報酬予測時には脳の異なる部位が活動すること、前頭葉側部、島皮質、線条体といった活動部位において、短期報酬予測条件は下部、長期報酬予測条件は上部といった位置的な関係が存在することが明らかになった。

おわりに

以上の健常人を対象としたfMRIおよびMEGを用いた検討から、ストレス事象は脳内において認知されること、急性のストレスにより脳内機構の一部に変化が生じること、予測がストレス事象の入力を抑制する

可能性などが考えられた。さらに、これらの機能において前頭葉が重要な役割を果たしていることが推定された。今後、これらの研究結果をふまえて、ストレス事象に対する適応や破綻の脳内機構を理解し、ストレスへの適応を強化するための方策を検討していくことが重要となる。

文 献

- 1) Shirao N, et al. Neuropsychobiology. 2003;48:136-142.
- 2) 白尾直子, 他. 脳と精神の医学 2003;14:141-147.
- 3) Shirao N, et al. Br J Psychiatry. 2005;186:48-53.
- 4) Yamashita H, et al. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2005;255:99-103.
- 5) 岡本泰昌, 他. 心身医学. 2004;44:185-192.
- 6) Ueda K, et al. NeuroReport. 2003;14:51-55.
- 7) 岡本泰昌, 他. 医学のあゆみ. 2005;212:1115-1119.
- 8) Onoda K, et al. Exp Brain Res. In press
- 9) 山脇成人, 他. 医学のあゆみ. 2002;202:193-196.
- 10) Tanaka S, et al. Nature Neurosci. 2004;7:887-893.

著者プロフィール

岡本 泰昌 (おかもと やすまさ)

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 精神神経医科学 講師, 医学博士。

◇ 1989年大分医科大学医学部卒業, '89-'91年広島大学病院などで精神科研修, '91-'95年広島大学大学院にて, 気分障害の病態および治療薬に関する薬理・生化学的研究, '95-'99年国立呉病院精神科医師, '99年広島大学病院精神科助手, '01年現在に至る。

◇ 研究テーマ: どうして人はうつ病(気分障害)になるのか, 気分障害になったらどうしたらよく治るのか。

◇ 趣味: マリンスポーツ, 落語鑑賞。

◇ 主な著書(分担執筆): 気分障害の薬物治療アルゴリズム, 精神科薬物療法研究会編, じほう, 東京(2003)。全国精神科講座担当者会議治療ガイドライン気分障害, 上島国利編, 医学書院, 東京(2004)。



ストレスと疾患

—ストレスから精神疾患に迫る
ストレスが脳を変える—

2005年 第8回若手研究者のための生命科学セミナー



後列左から、山本 慧（元万有財団）、二木鋭雄（産業技術総合研究所）、唐木英明（日本学会会議会員）、山田光彦（国立精神・神経センター）、尾仲達史（自治医科大学）
前列左から、曾良一郎（東北大学）、吉岡充弘（北海道大学）、神庭重信（九州大学）、三國雅彦（群馬大学）、西川 徹（東京医科歯科大学）、井樋慶一（東北大学）

ストレスから精神疾患に迫る：海馬神経新生と精神機能	神庭 重信	32
幼若期ストレスと不安障害	吉岡 充弘	37
脳の発達障害 ADHD はどこまでわかったか？	曾良 一郎 他	42
脳の発達障害としての統合失調症	西川 徹	47
ストレスがどうしてうつ病を起こすのか —うつ病の発症脆弱性の病態生理—	三國 雅彦	53
遺伝子から探る新規抗うつ薬の開発	山田 光彦 他	57

ストレスから精神疾患に迫る： 海馬神経新生と精神機能

神庭 重信

要約：あらゆる疾患の原因は、遺伝子と環境とで説明できる。たとえば、交通外傷は環境が、血友病のような遺伝疾患は単一遺伝子が原因である。そしてがん・糖尿病・高血圧などの生活習慣病の発症には遺伝子と環境による同程度の寄与が推定されている。精神疾患の多くは、これら生活習慣病に類似しており、遺伝子の影響と環境の寄与がほぼ同程度であると考えられている。環境が精神疾患の発症に関与するとして、それには大きく二つの関わり方がある。一つは、精神疾患の発症脆弱性を作る環境ストレスであり、他は精神疾患の発症の誘因としてのそれである。発症脆弱性の形成に関わるストレスとして問題になるのは、幼弱期の環境である。胎児期から幼少時期、脳が発生・発達しつつあるとき、脳は環境への感受性が高く、かつ好ましい環境を強く必要とする。たとえば胎児期であれば、妊娠中の母親の受けるストレスが脳発達に影響することが知られている。また幼少時期であれば、親子関係を中心とする家庭環境の影響は極めて大きい。同じ遺伝子を共有する一卵性双生児でも、形質に違いが見られ、統合失調症や双極性障害で不一致例がみられる。これは一卵性双生児のおかれたおなじ生活環境でも、個々人のユニークな体験が重要であることを意味する。さらに言えば、発症に予防的に作用する環境もあれば、促進的に作用する環境もあるだろう。本稿前半では、環境と遺伝子が精神疾患にどのように関わっているのか、その最新の知見を説明し、後半では、心理的ストレスが脳の微細構造、なかでも海馬の錐体細胞の萎縮あるいは神経新生に影響を与えることの実験的証拠を紹介する。

はじめに

全精神疾患の生涯有病率は50%弱であり、その頻度は予想外に高いといえる。「脳と心の世紀」と謳われ、世界中で精力的に脳の研究が進められる時勢とはなったが、精神疾患の原因は未だ多くの謎に満ちている。本稿では今後の病因研究の大きな発展へとつながることを願って、精神疾患の原因を“遺伝と環境”あるいは“脆弱性と誘因”という視座から眺め、これまでの研究を整理し直してみたい。そしてここでいう環境および誘因とは、“脳機能に歪みをもたらすもの”という意味で、今回のセミナーのテーマであるストレスと言い換えることができる。すなわち、ストレスは環境あるいは誘因となって精神疾患の発症に関わるという側面を持ち、このことに焦点を当てることで、ストレスのあらたな理解が深まると思われるのである。

1. 精神疾患の発症を説明するストレス・脆弱性仮説

1) 精神疾患の生物学的構造：遺伝か環境か

疾患の成り立ちに遺伝と環境がどの程度関与しているのかの目安をつけるためによく用いられるのが双生児研究法である。この方法を用いたところ、双極性障害（躁うつ病）や統合失調症には遺伝の影響が強く及ぶことがわかった。しかし一方で、急性ストレス障害のような環境の影響の強い疾患もある。

精神疾患は、静的な要因である発症脆弱性に動的な要因である誘因が加わって発症に至ると考えることができる。疾患により脆弱性の関与が大きいものと、誘因の関与が大きいものがある。統合失調症や双極性障害、内因性うつ病（メランコリー）は、素因と環境

による静的な脆弱性が脳に刻まれていると思われるが、ストレス性の不安障害、反応性うつ病、不眠症などは、ストレスの強度が問題で、一過性であり、ストレスの存在に大きく依存することから、静的な脆弱性の量的・質的偏差は大きくないと推定される。なお、精神疾患によっては病前性格と呼ばれる、疾患に特異的な行動が指摘されているが、これらは深層において脆弱性と深く関連する行動なのだろうと思う。たとえば、メラニコリーになりやすいとされる執着性格、統合失調症のシゾイド性格、双極性障害の気分循環性格などがある。

遺伝子環境相関 (gene-environment interaction : γ GE) の視点を持ち込むと、脆弱性と誘因とは必ずしも完全に独立した因子ではない、といえる。「発症誘因も発症脆弱性が作り出すことがある」といえることになる (図1)。不安や責任感の強い気質に生まれついた人は、昇格や引っ越しのような、通常ではさほどのストレスとならない環境の変化の中で、極端におびえ、緊張し、過剰に適応しようとする。過剰な精神的エネルギーを必要とするこの適応は、破綻の危機を含んでおり、やがては環境をうつ病を導く発症誘因へと転化する、と考えることもできる。したがって、実際には脆弱性と誘因は、相互に浸透的な性質をもつ。

遺伝寄与率の高い統合失調症や双極性障害では、原因遺伝子が同定できる可能性がある。分子生物学の発展と数理解析手段の進歩により、初めて、常染色体優性遺伝形式をもつハンチントン病の原因遺伝子が同定された。その後同様の手段を用いて、統合失調症や双極性障害などで数多くの研究が進められたが、単一の遺伝子の変異として原因遺伝子が特定された精神疾患は一つもない。これまでの研究は、数多くの遺伝子(疾患関連遺伝子)が複合的に相互に作用して、しかもそれは環境の影響とも作用しながら、疾患を導くのではないかと考えられるに至った。

疾患関連遺伝子と環境との相互作用は、脳の発達の初期から起こる。次節にて、脳の発達を、遺伝と環境の視点からながめ、疾患脆弱性の形成をもう少し探してみよう。

2) 脳の発達と環境(1,2)

(1) 環境が子の行動・脳内モノアミン・HPA系に与える影響

アカゲザルを出生早期に母親から引き離し育児室で育てると、生涯にわたって新奇なものに対する探索行動を回避し、また同一年齢のアカゲザルに対してびくびくした態度をとるようになる。この不安行動の強さに加え、極めて攻撃的、衝動的な行動が強くなり、生

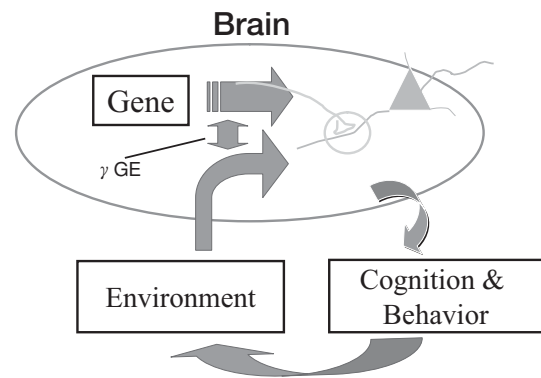


図1 遺伝子—環境相関と脳

脳の遺伝子は、環境の情報入力を受けて、脳を作り上げていく。脳は情報を出力し、その出力は環境に作用する。その結果は、ふたたび入力となって脳を変えていく。

殖行動や養育行動に障害が生じることもある。げっ歯目では、母子分離を行うと不安行動が強くなり、かつ学習能力が劣る。

部分的に母子分離して育てられたサルは、発達後にも脳脊髄液 (cerebrospinal fluid : CSF) のノルアドレナリン・レベルが低下している。この低下と自傷的な常同行動に関連があることが示唆されている。ワーキングメモリー、行動制御に関わる前頭前野のドーパミン神経の発達が障害される。神経内分泌系のストレス応答として、CRH と ACTH の脳内での増加と、それによるコルチコステロンの血中濃度の増加が起こることはよく知られた事実である。初期の有害状況への長時間の暴露によりコルチゾール反応が亢進すると、前頭前野皮質のドーパミン神経の発達が障害されるが、このことと前頭前野に関連する認知・行動の障害が関係しているのかもしれない。

一般に出生直後は「ストレス反応減少期」といい、通常はストレスによるコルチコステロンの上昇が起きにくい時期として知られているが、母子分離ストレスによりコルチコステロンの上昇を引き起こすことができる。高グルココルチコイド血症の持続は、神経細胞の脱落、易感染性などさまざまな負の効果を個体に及ぼし、海馬では CA3 の神経細胞の死を引き起こすことが知られている。またその影響を受けて、脳内でプロラクチン、成長ホルモン、インスリンといった代表的なホルモンに対する細胞の反応性の低下が起こる。

個体のもつ特定の遺伝子の特徴 (多型性) と人工的に与える環境操作とが交互作用する結果、どのような神経科学的形質を現すのかが、実験動物で詳細に調べられつつある。ここでは人で明らかになった貴重な事

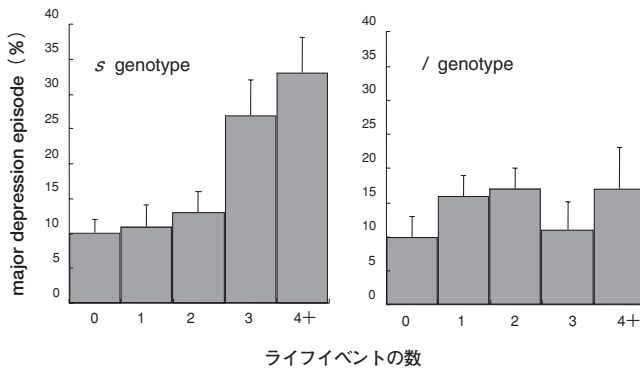


図2 セロトニン・トランスポーター遺伝子の多型とうつ病の発症

セロトニン・トランスポーター遺伝子の多型にはs型とl型とがある。s型を持つものは、ライフイベントの数とうつ病の発症との間に相関がみられるが、l型ではない。ライフイベントがうつ病の誘因となるかどうか、この遺伝子の多型の特徴で決定されていることを示唆する。(Caspi A, et al. Science. 2003より改変の上引用)

実を以下に紹介する。

(2) 遺伝と環境の交互作用：ニュージーランド研究

古くから、うつ病関連遺伝子と環境との間に交互作用が起こることが知られている。つまり、近親者にうつ病をもつものは、ライフイベントの影響を強く受け、うつ病を発症しやすい(3)。同じ環境下にあっても、脆弱性につながる遺伝子群をもっているかいないかにより、個体におよぶ影響に違いが生じるのである。近年の研究ではさらに、環境(ライフイベント)の影響を受ける遺伝子が同定されている。すなわち、セロトニン・トランスポーター遺伝子(5-HTT)の多型とストレス状況因との交互作用がうつ病の発症に関与している可能性が、誕生後から26歳までの経過を観察したCaspiら(4)により報告されたのである。つまり、5-HTTのS遺伝子型をもつ個人は、ライフイベントの数に応じて大うつ病の罹患率が高くなるが、L遺伝子の個人では、ライフイベントとうつ病罹患との関係がなかったのである(図2)。つまりライフイベントは特定の5-HTT型をもつ個人に限って、誘因として作用するのである。この追跡研究では、さらに、養育時の虐待により形成されるうつ病の脆弱性との間にも、5-HTT遺伝子が介在することが報告されている。5-HTT多型がどのような病態と結びついているのかは定かではない。

(3) 適切な養育環境が脆弱性を改善する

生得的に脆弱な動物であっても、適切な養育環境を与えることによって脆弱性を改善できる可能性も示唆されている(2,5)。例えば、アカゲザルの群れを観察

すると不安行動が特に強い個体がいる。この不安行動の強いアカゲザルは成熟する以前の出生後2~3カ月において新奇環境に対する探索行動が少なく、そして新奇環境に対するACTHの分泌量が多いといわれている。また、これらのアカゲザルの雄は、一般的なアカゲザルよりも成熟後に群れを離れる時期が遅いことから、母子分離が遅れていると考えられている。この不安行動が強いアカゲザルと普通の行動を示すアカゲザルを相互に養子に出すと、両者の間の行動の変化がなくなり、どちらも普通の行動を示すようになる。すなわち、不安傾向が強いという脆弱性を有している個体であっても、不安の強くない親へと養育者を変えることによってその脆弱性をレスキューすることができる。一方で脆弱性を持たない個体であれば、不安の強い養育者の影響をさほど受けずに発育していくことができる。この発見は、精神疾患の発症にあてはめて考えれば、疾患関連遺伝子を有していても適切な環境で育てられるならば、脆弱性の形成を押さえることができる可能性を示唆する貴重なものである。

脳の発達を遺伝と環境の相互作用の臨界期の観点から研究することの意義は大きい。よく知られた例を挙げよう。フェニルケトン尿症と診断されても、生後2週以内に適切な食事療法を行えば、知的障害をレスキューできる。しかし、その時期をはずれると十分な発達を期待することはできない(periodicity)。この場合は、食事に含まれるフェニルアラニンという栄養素が問題であったが、類似のことが心理的栄養についても言えるのである。かつてチャウシェスク政権下に孤児となり、極悪の養育環境で育てられたルーマニアの子供達が大勢いた。彼らは政権崩壊後に発見され、英国や北米に養子としてもらわれていった。ところが、養子にもられた年齢が6カ月以前であれば、英国の子供達に比べて遜色ない身体的発育、知的発達、愛着行動を見せたのに対し、6カ月を越えてルーマニアの孤児院に育った子供達は、身体的発育のみならず知的発達、愛着行動の異常が観察されたのである(6)。この事実を報告したラター、Mら(6)は、移民時の体重とその後の発達との間に有意な関連が見られなかったことから、影響を与えたのは、物質的な栄養ではなく、精神的な栄養だったのだろう、と推測している。適切な養育環境がそれも適切な時期(臨界期)に脳に与えられなければ、発達は損なわれ、またそれをレスキューすることも困難なことを意味している。この教訓を我々が生かそうとするならば、「如何にしたら失われた過去をよりよくレスキューできるのか」という課題への挑戦が求められるのだろう。

3. ストレスは器質的な障害を起こす：神経新生を中心に

強度の心理的ストレスが加わると、海馬神経細胞の脱落あるいは萎縮が起こることが報告されている(1,2)。これらの変化はおそらく、HPA系の過剰反応によるグルココルチコイドの上昇が一因であろうと推定されている。

脳の可塑性と関係する神経現象に神経新生 (neurogenesis) がある(7)。神経新生が起こる可能性を最初に報告したのは、Altmanら(8)であった。新生した細胞をラベルすることができる $[^3\text{H}]$ thymidine オートラジオグラフィにより、成体ラット海馬の歯状回と嗅球に分化能をもつ前駆細胞が存在することを報告した。それまでは、哺乳類の脳では神経細胞の産生は胎生期に限られる、と長い間考えられてきた。したがって、外傷や加齢による細胞あるいは組織の損失は永久的であり、残った細胞が新たな神経連絡をかくろうじて作成することで修復しているものと考えられていたのである。Altmanらの報告から30年以上たった近年に至り、神経新生を見る簡便な方法が開発され、鳥類、げっ歯類、サル、ヒトなどの霊長類の成熟脳でも同様に神経新生が起こること、それが成熟神経にまで成長し、記憶の神経基盤に機能していることが明らかにされている(1)。最近では、海馬のみならず、サル、ヒトなど霊長類の新皮質でも神経新生が起きていることが報告されている(9)。

実はストレスは、この神経新生にも強い抑制をもたらす(1,2)。天敵の臭いがかがされたラットや拘束ストレスあるいはフットショック・ストレスを与えたラットの海馬で、神経新生が抑制されることが報告されている(10)。

4. インターフェロンによるうつ病脆弱性の機序

うつ病を惹起することがよく知られているサイトカインに interferon (IFN) がある。我々は、IFNが海馬神経新生に及ぼす影響を調べ、その機序についても検討を加えたので紹介したい(11)。

図3のように、IFNは用量依存性に海馬神経新生を抑制した。さらに、IFNの作用が他のサイトカインを介して起きている可能性を調べるために、IFN投与後の海馬 interleukin-1 および TNF の変化を調べた。その結果、IFN投与時に、海馬 interleukin-1 β が増加することが免疫組織化学的および免疫定量的に明らかとなった (data not shown)。また、interleukin-1受容体拮抗物質を前処理した動物ではIFNによる海馬神

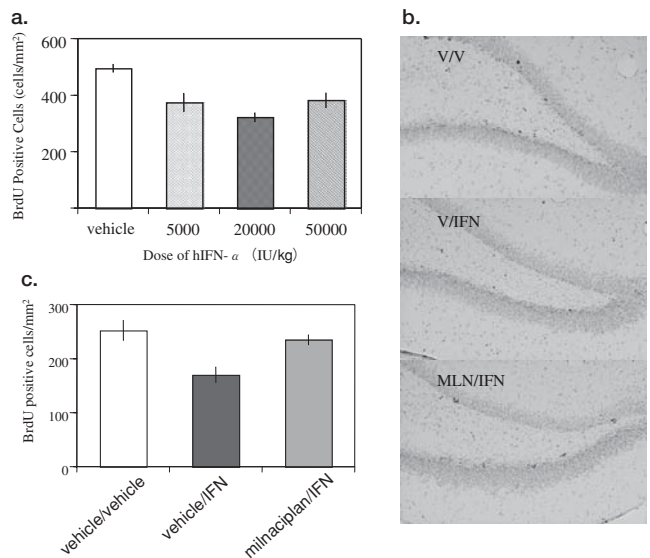


図3 インターフェロンによる海馬神経新生の抑制と抗うつ薬の効果
インターフェロン α は、用量依存的に海馬神経新生を抑制する。この抑制は、抗うつ薬 milnacipran の前処置により見られなくなる。(文献11より改変)

経新生の抑制が起こらなくなることから、IFNによる神経新生の抑制は仲介物質として interleukin-1 β が関与していることが明らかとなった。従来ストレスが脳内 interleukin-1 β を増加させることが知られている。ストレスが招く interleukin-1 β の増加により海馬神経新生が抑制されることがうつ病の発症につながるのかも知れない。

まとめ

ストレスは、脳の発生から発達、あるいは老化という、生涯に亘る時間軸の上に、脆弱性(遺伝子)との交互作用をもって精神疾患の発症に関わると考えられている。また極度に強いストレスが脳に器質的な傷害を与えることが明らかになってきた。そのターゲットとして海馬の神経新生が注目されている。うつ病の脆弱性を作り出す物質としてインターフェロンが知られている。私たちは、このサイトカインが海馬神経新生を抑制し、その結果としてうつ病脆弱性が作られる可能性を示した。

精神疾患の多くは未だに難治である。精神疾患の発症につながる要素としてのストレスの研究から、精神疾患の病因解明が進むことを期待したい。

文 献

- 1) 田 亮介, 他. 分子精神医学. 2003;3:32-37.
- 2) 平野羊嗣, 他. 分子精神医学. 2004;4:22-31.
- 3) Kendler KS, et al. Am J Psychiatry. 1995;152:833-842.
- 4) Caspi A, et al. Science. 2003;301:386-389.
- 5) 井口博登, 他. 臨床精神医学. 2002;31:489-499.
- 6) Rutter M, et al. J Child Psychiat. 1998;39:465-476.
- 7) 石龍徳. 神経進歩. 2002;46:221-236.
- 8) Altman J, et al. J Comp Neurol. 1965;124:319-335.
- 9) Gould E, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:10910-10917.
- 10) 橋岡慎征, 他. 129 回日本医学会シンポジウム記録集, 日本医学会編; 2005.p.24-31.
- 11) Kaneko N, et al. Neuropsychopharmacology. In press.

著者プロフィール

神庭 重信 (かんば しげのぶ)

九州大学医学研究院 精神病態医学分野, 教授.

◇ 1980年, 慶應義塾大学医学部を卒業し, 同精神神経科に入局. '82年, 米国メイヨ・クリニックへ留学, 2年間, 精神薬理学の研究に従事. その後メイヨ・クリニックの精神科レジデントとなる. レジデント・トレーニング終了後, 精神科アシスタント・プロフェッサーを経て帰国し, 慶應大学医学部精神神経科にて勤務. 同大学講師を経て, '96年より山梨大学精神神経医学講座教授. '03年7月より, 九州大学大学院精神病態医学分野 教授を併任, '04年4月より現職の九州大学医学研究院精神病態医学分野教授.

◇ 専門領域: 気分障害, ストレスの脳科学, 行動遺伝学.

◇ 著書: [学術書] 気分障害の診療学 (中山書店), 精神科診察診断学 (医学書院), 精神医学文献事典 (弘文堂). [一般書] 心と体の対話—精神免疫学の世界— (文芸春秋社).



幼若期ストレスと不安障害

吉岡 充弘

1. はじめに

ストレスは侵襲的刺激に対する生体機構の「ゆがみ」と捉えられる。生体はこの「ゆがみ」を矯正し、恒常性を維持するため、さまざまなストレス応答機構を有している。過度の、あるいは長期間にわたるストレス曝露はストレスに対する適応反応の破綻や機能不全を招来し、抑うつ、不安、心的外傷後ストレス障害 (posttraumatic stress disorder: PTSD) などのストレス関連性精神疾患の誘因となる可能性が指摘されている (1,2)。 (図 1)

ストレスにより生じた内分泌および免疫系を介する適応反応は、脳によって統合・処理され、自律神経機能や情動変化として表出される。視床下部-下垂体-副腎系 (hypothalamic pituitary adrenal axis: HPA 系) は、最も重要なストレス応答機構であり、その活性化に伴い遊離される副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (corticotropin releasing factor: CRF) やグルココルチコイドは、ストレスに対処する重要な生体防御因子と考えられる。脳内においては、神経成長因子、神経ステロイド、生理活性アミンのセロトニン (5-HT) やノルアドレナリン (NE) が重要な役割を果たしている。またストレスによって生じる海馬神経の細胞形態変化 (3) は、ステロイド合成阻害薬 (4) あるいは抗うつ薬である 5-HT 再取り込み阻害薬 (Selective 5-HT reuptake inhibitor: SSRI) 反復投与によって回復する (5,6)。この機構は、神経栄養因子である brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 発現変化を伴う核内遺伝子の関与が推察される。

ストレス応答に関わる脳内システムは、発達過程に

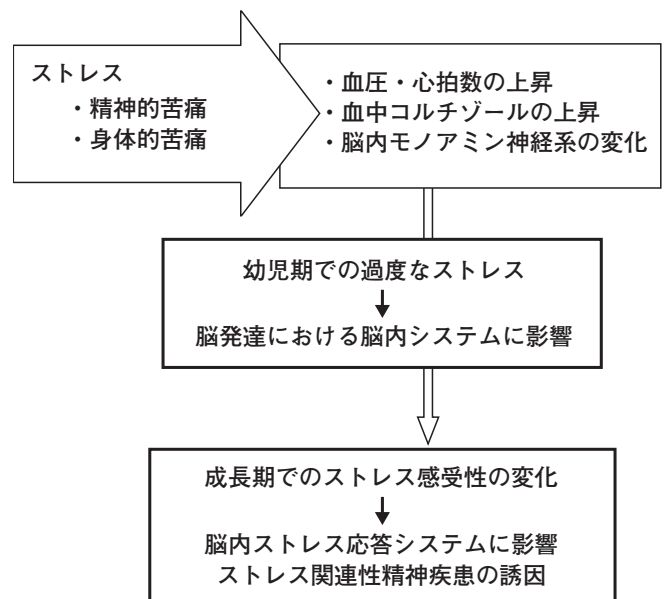


図 1 幼若期ストレスと成長後のストレス応答性

ストレスを受けると神経-内分泌および免疫系を介する適応反応は、自律神経機能や情動の変化として表出される。幼若期に受けた過度のストレスは、神経回路網の形成過程に影響を与え、成長後のストレス感受性を変化させ、情動ストレスに対する脆弱性あるいは応答性の変化が生じる可能性が考えられる。

応じて動的に形成される (7,8)。したがって、胎生期あるいは幼若期におけるストレス曝露は、神経回路網の形成過程に影響を与え、成長後のストレス応答性や認知機能などの脳機能に様々な変化が生じると推察される。幼若期のストレスが、海馬の体積を減少させ (9)、成熟後の情動表出や認知機能に影響を及ぼすことが示されている (10)。またストレスの持続時間や強度、あるいはストレスの種類によって、海馬の形態や機能発達が異なることが報告されている (11,12)。これら

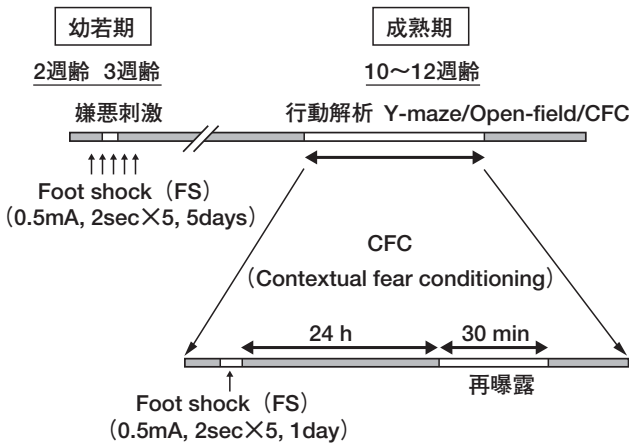


図2 実験プロトコル

生後2週齢(14日齢)および3週齢(21日齢)時に、足蹠にFS(刺激強度:0.5mA,刺激時間:2秒間,刺激間隔:30秒)を、1日5回5日間負荷した。対照群として、FS-boxに入れる処置のみを負荷した同腹のFS非負荷(FS(-)群)ラットを用いる。成熟後(10~12週齢時)の行動学的評価は、Open field試験および文脈的恐怖条件付け(Contextual fear conditioning: CFC)試験を用いた。

の事実、ストレス応答に関わる脳内システムの発達形成過程には、ストレスの影響を受けやすい時期、すなわち“臨界期”が存在することを示唆している。

本研究は、幼児期の一定期間に過度のストレスを負荷すると、脳内神経回路に機能的異常が生じるとの仮説に基づき、幼若期におけるストレス負荷と脳機能発達および障害との関連性を、臨界期という視点から追究した。また脳内ストレス応答機構に参与する内因性物質としての5-HTに着目し、脳機能形成過程における5-HT神経の調節的役割を探索した。生後2~3週間の時期に皮質における5-HT受容体の機能に劇的な変化が生じ、5-HTによる応答が脱分極から過分極へ変容することが報告されている(28)ことから、この時期に焦点を当てた。

2. 幼若期ストレス負荷と行動学的応答性

ラット幼若期の異なった時期に負荷した嫌悪刺激、足蹠電撃ショック(Footshock: FS)が、成熟後の情動表出にどのように影響を与えるか、行動学的応答性を指標とし追究した。実験には自家繁殖したWistar系雄性ラットを用いた。本研究で用いた行動学的評価のプロトコルの概要を図2に示す。幼若期ストレスは、生後2週齢(14日齢)および3週齢(21日齢)時に、足蹠にFSを負荷した(以下、2WFS群、3WFS群とする)。FS負荷5分前にFS-boxにラットを入れ、自由に探索させた後(pre-FS)、FS(刺激強度;0.5mA,刺激時間;2秒間,刺激間隔;30秒毎)を1日5回、各

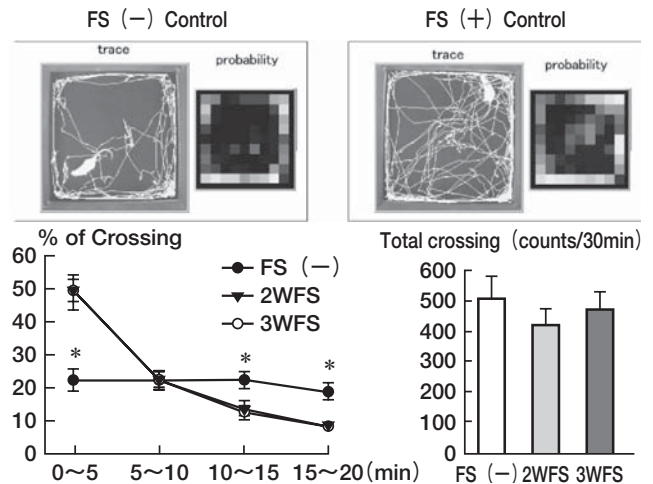


図3 新奇環境ストレスに対する幼若期ストレスの影響: Open fieldを用いた検討

縦横90cm、壁40cmからなる正方形の装置の中央に置いたラットの行動を、装置上に設置したCCDカメラにて30分間記録した。縦横10cm毎に区切られたマス目をラットが横切った回数を水平運動量(crossing)として、行動解析システムで水平運動量として解析した。3WFS群はFS(-)群に比べ明らかな行動パターンの違いがみられた。

週齢時に5日間負荷した。ラットはFS負荷後5分間、FS-boxに放置し(post-FS)、その間の行動を観察した。対照群として、FS-boxに入れる処置のみを負荷した同腹のFS非負荷(FS(-)群)ラットを用いた。成熟後(10~12週齢時)の行動学的評価は、Open field試験あるいは文脈的恐怖条件付け(Contextual fear conditioning: CFC)試験を用いた。

(1) 新奇環境ストレスに対する応答性: Open field試験による検討

自発運動量解析に最も広く用いられているOpen field試験は、広い空間にラットを置いた後の行動パターンを解析することにより、新奇環境下における情動的側面を同時に解析できる評価系である。この試験により、2WFS群はFS(-)群と同様の行動パターンを示した。すなわち、Open field環境に曝露した直後の探索期では、Open fieldの壁際から中央までを頻繁に移動するが、時間の経過とともに行動量は減少し、20~30分後にはopen fieldの隅に滞在するという行動パターンを示す。これに対して、3WFS群では探索期の運動量がFS(-)群の約半分と有意に低く、その後の順応期でも運動量が低下することなく推移し、後半における運動量はFS(-)群を逆に上回っていた。この結果から幼若期にストレスを負荷したラットでは、ストレス負荷時期によって、新奇環境ストレスに対する行動パターンに違いが生じることが明らかになった(図3)。

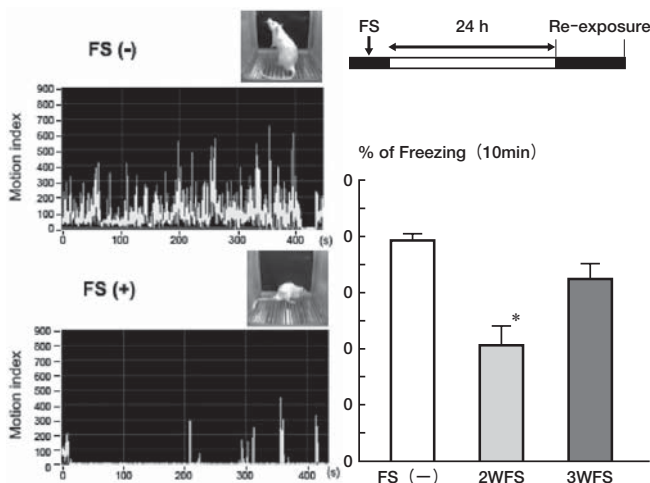


図4 恐怖条件付けストレスに対する幼若期ストレスの影響：CFCを用いた検討

FS (0.5mA, 2秒間) を30秒毎に5回負荷し、24時間後、ラットをFS-boxに再曝露 (re-exposure) し、すくみ行動 (freezing) の有無を5秒毎に30分間観察し、発現率 (freezing %) として評価する。呼吸に関する骨格筋とひげの動き以外が認められない状態をfreezing、それ以外を活動と判定する。FSを負荷しないラットは探索行動により行動量が増加する。一方、FS負荷ラットはfreezingを誘発し、行動量は極端に低下する。また2WFS群は、FS (-) 群に比較し、freezing回数が有意に減少した。3WFS群はFS (-) と有意差は見られなかった。* $P < 0.05$ vs. FS (-) 群

(2) 恐怖条件付けストレスに対する応答性：CFC試験による検討

恐怖条件付けストレスとは、あらかじめ嫌悪刺激 (foot shock; FS 刺激など) を負荷した動物を一定時間後に、同様の刺激環境下に再曝露し (この時は嫌悪刺激を与えない)、その際生じるすくみ行動 (freezing) を不安の指標とする、妥当性の高い不安評価系である。図4にCFCにおけるすくみ行動の典型的な例を示す。これは環境と嫌悪刺激が条件付けられた文脈的記憶を背景とする不安に基づく情動行動であり、抗不安薬により抑制される (16,17)。2WFS群では、再曝露時のすくみ行動がFS (-) 群に比較して有意に減少していた。一方3WFS群はFS (-) 群と同様の行動応答性を示した (図4)。

一種の新奇環境への曝露と考えられるFS負荷前 (pre-FS)、およびFS感受性あるいは短期記憶を反映すると考えられているFS負荷後 (post-FS) のすくみ行動については、FS (+) 群とFS (-) 群との間に差は認められなかった。したがって、2WFS群における再曝露時の行動変化は、FSに対する痛覚閾値の変化や短期記憶障害に起因するものではなく、条件恐怖に対する不安水準が低下していたことを示すものと考えられた。

以上のストレスに対する行動学的応答性を指標とし

て検討した結果、生後2週齢あるいは3週齢時に嫌悪刺激を受けたラットは、新奇環境ならびに条件恐怖に対するストレス応答性が異なること、また成熟後のストレスに対する応答性には臨界期が存在することが推察された。

3. セロトニンと情動ストレス応答機構

中枢神経系の発達に関する神経解剖学的研究が進められ、神経回路網形成に関わる種々の分子機構が明らかにされつつある。5-HTは情動表出を制御する最も重要な神経伝達物質である。5-HT作動性神経は主に背側縫線核と正中縫線核を起始核とし、脳内広範囲にわたって上行性投射線維を送っている。特に情動回路を形成している海馬、扁桃体および皮質前頭前野に高密度に分布しており、恐怖・不安といった情動記憶に関わっていると推察されている。しかし、ストレス応答機構における5-HTの調節的役割については未だ一致した見解は得られていない。例えば、ラットに条件付けストレスであるCFCを負荷すると、皮質前頭前野の5-HT遊離量が増加する、すなわち5-HT神経活動はストレスにより亢進する (図5A) (18)。一方、選択的5-HT再取り込み阻害薬 (SSRI) は、5-HTトランスポーターに作用し、内因性5-HTを増加させることにより、抗不安作用あるいは抗うつ作用を示す。従って、ストレス関連性精神疾患の背景には、5-HT神経活動低下の可能性も考えられる。

(1) 恐怖条件付けストレスと5-HT神経調節：CFC試験による検討

ストレスによって生じた海馬の神経細胞萎縮 (5,6) や cAMP response element binding protein (CREB) および BDNF の発現減少が、SSRI 反復投与によって回復することが明らかにされている (19,20,21)。これは、SSRI 投与により生じた5-HT神経活動亢進が、結果的に後シナプスにおけるシグナル伝達機構を賦活し、遺伝子レベルでの可塑的变化を引き起こしていると推察される。換言すればストレス関連性精神疾患の病態には、神経細胞形態の可塑的变化が生じていると広義に解釈することも可能である。

この神経可塑的变化は、シナプス伝達機構にも影響をおよぼすと考えられる。例えば記憶、学習の電気生理学現象である海馬シナプス可塑性—長期増強 (long-term potentiation; LTP) 形成は、CFCを含む様々な情動ストレスにより阻害される (22-24) (図5B)。このシナプス可塑性はSSRIあるいは5-HT系抗不安薬

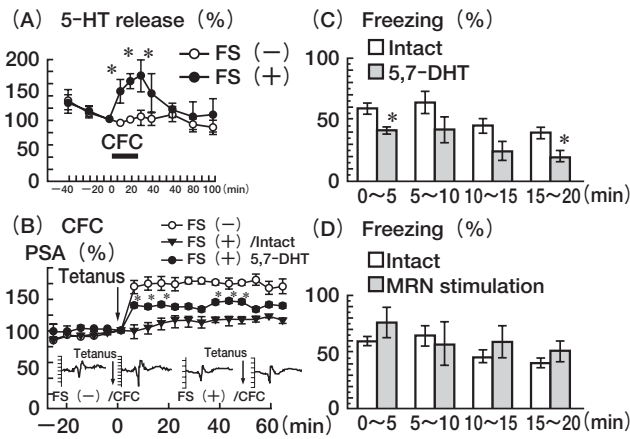


図5 恐怖条件付けストレスと5-HT神経調節：CFC試験を用いた検討

(A) CFCにおけるラット皮質前頭野 (PFC) の5-HT遊離量の変化:FS負荷24時間後に再曝露 (re-exposure) すると、PFCの5-HT遊離量はFS (-) 群に比べ有意に増加した (文献18を参照)。* $P < 0.05$ vs. FS (-)

(B) 5-HT神経破壊ラットにおけるシナプス可塑性の変化: CFCにより海馬CA1領域の長期増強 (LTP) 形成は抑制された。このLTP抑制反応は5-HT神経毒である5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) 前投与ラットにおいて、減弱した (文献24を参照)。* $P < 0.05$ vs. FS (+) / Intact

(C) 5-HT神経破壊ラットにおけるfreezing behaviorの変化: CFCにより生じたfreezingは、5,7-DHT前投与ラットにおいて減少した (文献24を参照)。* $P < 0.05$ vs. Intact

(D) 正中縫線核 (MRN) 電気刺激によるfreezing behaviorの変化: 麻酔下にてMRNに双極電極を埋め込み、4日後FSを負荷した。24時間後、覚醒下で電気刺激 (0.1 mA, 5分間) を行い、20分後に再曝露した。すくみ行動はMRN刺激により増加する傾向がみられた。

投与によっても修飾される (19,23,25,26)。最近、我々は、CFCにより抑制されたLTP形成が、5-HT/NE再取り込み阻害薬 (SNRI) 反復投与により回復することを明らかにした (27)。これらの結果から、ストレス応答システムにおける5-HT神経調節機構と海馬シナプス可塑性との間には密接な関連性があると考えられる。

図5 (B,C) は、5-HT神経に対する神経毒である5,7-DHT (5,7-dihydroxytryptamine) を側脳室内に投与し5-HT神経を化学的に破壊した場合のシナプス可塑性および行動応答性を評価したものである。5-HT神経破壊により、CFCでみられたLTP抑制は減弱し、すくみ行動も低下する。すなわち脳内5-HTが、ストレスにより生じる神経可塑性に影響を与えることにより、その応答性を変化させている可能性が推察される。一方、海馬5HT神経の起始核である正中縫線核 (MRN) を電気刺激すると、すくみ行動は増加する傾向がみられた (図5D)。このように強制的に5-HT神経を擾乱させた場合の情動行動は、幼若期ストレス負荷による行動応答性と類似点が見出される。すなわち2週齢FS群と5-HT神経破壊ラットでは、不安水準の

低下という共通した行動学的応答性を示すことが明らかになった。

2) 脳発達と5-HT受容体

皮質神経回路が急速に発達するラットの幼若期 (生後2~3週齢) は、5-HT受容体機能に変容することが最近明らかにされた (28-30)。例えばPFCにおける神経細胞は、2週齢時では5-HTによって脱分極が生じるが、3週齢では過分極に転じる。これは2週齢時では5-HT_{2A}、5-HT₄あるいは5-HT₇受容体を介し神経細胞が興奮し、3週齢時になると5-HT_{1A}受容体による反応が主になると解釈されている。この反応は受容体数の変化によるものか、あるいは細胞内情報伝達系による機能変化によるかは明らかでない。また海馬CA1の5-HT_{1A}受容体を介した過分極反応は母子分離ストレスにより、減弱する (31)。さらに遺伝子改変動物を用いた実験により、成長後の“正常な”ストレス応答反応には、脳発達における海馬や皮質5-HT_{1A}受容体機能が重要な役割を果たすことを示唆している (32)。幼若期の一定期間に過度のストレスを負荷すると、このような5-HT受容体を含む情動回路の機能不全や神経回路網の形成不全が生じ、成長後のストレス応答性に影響を与えていると推察される。その結果、ストレス感受性を変化させ、抑うつ、不安障害、PTSDなどの疾患の背景となっている可能性は十分考えられる。

4. おわりに

幼若期ストレス負荷により、成長後のストレス応答性が変化すると仮説に基づき、行動学的応答性を指標として得られた結果を考察した。幼若期のFSストレスは、生後2週齢、3週齢という負荷時期のわずかな違いで、成熟後のストレス応答性に違いがみられた。特に、条件恐怖に対する応答性は、幼若期ストレス負荷時期によって明らかに異なっていた。このストレス負荷時期と情動表出の違いに関する脳内メカニズムは現在不明である。しかし、2週齢時にストレスを負荷したラットが示す不安水準の低下は、5-HT神経破壊ラットでみられた低不安ときわめて類似していたこと、この時期には5-HT受容体機能が劇的な変容を示すこと (28-30) から、脳機能発達における、5-HT神経による調節機構が重要な役割を担っていることは想像に難くない。

昨今の精神神経疾患の増加の背景には、幼児虐待の増加があると指摘されている。また、虐待を受けた子

供は、PTSD や不安障害、抑うつなどの精神疾患発症頻度が対照群と比較して有意に高いという疫学的・臨床的事実が集積されつつある。本研究は、このような社会的問題の背景をなす精神神経疾患と幼児期のストレスとの関係を解明する上で、意義あるものと考えら

れる。また脳機能発達の臨界期における 5-HT 神経による調節機構が明らかになれば、発達過程でのストレス修復時期にも臨界期が存在することが推察され、より適切な時期に、より妥当性の高い薬物治療の可能性も考えられ、今後の研究に期待したい。

文 献

- 1) McAllister-Williams RH, et al. Psychol Med. 1998; 28:573-584.
- 2) Heim C and Nemeroff CB. Biol Psychiatry 23001;49: 1023-10391.
- 3) Magarinos AM, et al. Proc Natl Acad Sci. 1997;94:14002-14008.
- 4) Magarinos AM, et al. Neuroscience. 1995;69:89-98.
- 5) Malberg JE, et al. J Neurosci. 2000;20:9104-9110.
- 6) Malberg JE, et al. Neuropsychopharmacol. 2003;28:1562-1571.
- 7) Helmeke C, et al. Cereb Cortex. 2001;11:717-727.
- 8) Schmidt M, et al. Int J Dev Neurosci. 2003;21:125-132.
- 9) Huot RL, et al. Brain Res. 2002;950: 52-63.
- 10) Huot RL, et al. Psychopharmacology(Berl). 2001;158: 366-373.
- 11) Caldjji C, et al. Biol Psychiatry. 2000;48:1164-1174.
- 12) Mirescu C, et al. Nat Neurosci. 2004;7:841-846.
- 13) Sarter M, et al. Psychopharmacology(Berl).1988;94: 491-495.
- 14) Parada-Turska J, et al. Neuropharmacol. 1990;29: 1111-1116.
- 15) Katz RJ, et al. Prog Neuropsychopharmacol. 1980;4: 585-590.
- 16) Graeff FG, et al. Pharmacol Biochem Behav.1996;54: 129-141.
- 17) Mori K, et al. Pharmacol Biochem Behav. 2000;69:367-372.
- 18) Yoshioka M, et al. Pharmacol Biochem Behav. 1995;51: 515-519.
- 19) Nibuya M, et al. J Neurosci. 1996;16:2365-2372.
- 20) Duman RS, et al. Arch Gen Psychiatry. 1997;54:597-606.
- 21) Thome J, et al. J Neurosci. 2000;20: 4030- 4036.
- 22) Xu L, et al. Eur J Pharmacol. 1997;323:59- 68.
- 23) Shakesby AC, et al. J Neurosci. 2002;22:3638-3644.
- 24) Matsumoto M, et al. Brain Res. 2004;1022:221-225.
- 25) Kojima T, et al. Brain Res. 2003;959:165-168.
- 26) Tachibana K, et al. Neurosci Lett. 2004;357:91-94.
- 27) Matsumoto M, et al. Psychopharmacol. 2005;179:606-612.
- 28) Béique J-C, et al. J Neurosci. 2004;20:4807-4817.
- 29) Zhang Z-W J. Neurosci. 2003;23:3373- 3384.
- 30) Béique J-C, et al. J. Physiol. 2004;556:739-754.
- 31) van Riel, E, et al. Synapse 2004;53:11-19.
- 32) Gross C, et al. 2002;Nature 416:396-400.

著者プロフィール

吉岡 充弘 (よしおか みつひろ)

北海道大学大学院 医学研究科 情報薬理学講座 神経薬理学分野, 教授。

1984 年北海道大学医学部卒業, 1985 年北海道大学医学部薬理学第一講座助手, 1990 年同講師, 同年米国ミシガン大学医学部薬理学教室留学, 1997 年北海道大学医学部薬理学第一講座教授, 1998 年～現職。

◇趣味: フルートおよびフラウトラヴェルソ演奏, 現在北海道交響楽団フルート奏者。



脳の発達障害 ADHD はどこまでわかったか？

曾良 一郎, 福島 攝

要約：注意欠陥・多動性障害（AD/HD：Attention Deficit/Hyperactivity Disorder）における治療薬として使用されているアンフェタミンなどの覚せい剤の作用メカニズムについては十分に解明されていないが、覚せい剤がドパミン（DA）やノルエピネフリン（NE）などの中枢性カテコールアミンを増やすことから、ADHD への治療効果が中枢神経系におけるカテコールアミン神経伝達を介していることは明らかである。モノアミントランスポーターは主に神経終末の細胞膜上に位置し、細胞外に放出されたモノアミンを再取り込みすることによって細胞外濃度を調節している。ドパミントランスポーター（DAT）は覚せい剤の標的分子であり、ADHD との関連が注目されている。野生型マウスに覚せい剤類似薬であるメチルフェニデートを投与すると運動量が増加するが、多動性を有し ADHD の動物モデルと考えられている DAT 欠損マウスでは、メチルフェニデート投与により運動量が低下する。野生型マウスではメチルフェニデート投与後に線条体で細胞外 DA 量が顕著に増加するのに対して、DAT 欠損マウスでは変化がなく、これに対して前頭前野皮質では、野生型マウスでも DAT 欠損マウスでもメチルフェニデートによる細胞外 DA 量の顕著な上昇が起こった。前頭前野皮質では DA 神経終末上の DAT が少ないために DA の再取り込みの役割を NET が肩代わりしていると考えられており、メチルフェニデートは前頭前野皮質の NET に作用して再取り込みを阻害するために DA が上昇したと考えられた。筆者らは、この前頭前野皮質における DA の動態が、メチルフェニデートによる DAT 欠損マウスの運動量低下作用に関与しているのではないかと考えている。

1937年に米国の Charles Bradley 医師が多動を示す小児にアンフェタミンが鎮静効果を持つことを観察して以来、注意欠陥・多動性障害（AD/HD：Attention Deficit/Hyperactivity Disorder）におけるアンフェタミンなどの覚せい剤の中枢神経系への作用メカニズムについて数多くの研究がなされてきたが、未だ十分に解明されていない。覚せい剤がドパミン（DA）やノルエピネフリン（NE）などの中枢性カテコールアミンを増やすことから、ADHD への治療効果が中枢神経系におけるカテコールアミン神経伝達を介していることは明らかである。健常人への覚せい剤の投与は興奮や過活動を引き起こすにもかかわらず ADHD 患者へは鎮静作用があることから、覚せい剤の ADHD への効果は「逆説的」と考えられている。本稿では覚せい剤の標的分子の一つである DA トランスポーター（DAT）に関する最近の知見を解説するとともに、我々が作製した DAT 欠損マウスを ADHD の動物モデルとして紹介し、ADHD の病態メカニズム解明に関する近年の進展について述べる。

1. ADHDの臨床症状

ADHD と呼ばれる病気は 1902 年にロンドンの George Still 医師によって初めて報告された。ADHD は多動、衝動性、注意力の欠如が主症状であり、現在の病名は行動上の特徴をそのまま列挙したものである。DSM-IV では 3 主症状の優勢度により混合型、不注意優勢型、多動性・衝動性優勢型に分類されている。小児における ADHD の有病率は 3～9% で(1)、女児より男児に多いとされているが、女児は不注意優勢型が多く、気づかれにくいという指摘がある。子供の病気という認識があるが、実際は成人期にわたって症状が

キーワード：ADHD, ドパミン, トランスポーター, ノックアウトマウス
東北大学大学院医学系研究科 神経・感覚器病態学講座 精神神経生物学分野 (〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町 1 番 1 号)
E-mail: isora@mail.tains.tohoku.ac.jp, fsetsu@mail.tains.tohoku.ac.jp
Title: An update on animal model studies of attention-deficit/hyperactivity disorder
Author: Ichiro Sora, Setsu Fukushima

持続する例も少なくない(2)。ADHD 児はその症状の特徴から家庭や集団生活の場などでさまざまな問題を生じ、親を含めた周囲の大人から叱責を受けるなかで自尊心が低下していく。併存障害として高率に認められる反抗挑戦性障害や行為障害、不安障害などの発現には環境要因が深く関与している場合もある(3)。このため治療にあたっては、薬物療法に加えて患者のみならず親、教師らを含めた環境・状況・心理的支援が不可欠となる(4)。現在、ADHD 薬物治療の第一選択は中枢刺激薬（覚せい剤）であり、日本では主にメチルフェニデート（商品名：リタリン）が使用されている。メチルフェニデートは約70%の患者で治療効果が認められる(5)。 α_2 アゴニストや三環系抗うつ剤のいくつかは中枢刺激薬ほどではないものの ADHD の中心症状を軽減する効果があることが知られている。近年、米英で選択的ノルエピネフリン再取り込み阻害薬であるアトモキセチンが承認され、治療効果を挙げている。

ADHD は行動上の特徴を捉えた症候群であり、感染や外傷などによる器質的変化や、虐待などの環境要因により二次的に ADHD にみられる多動性や衝動性が出現することもある。その病態は未だ不明であるが、根底には何らかの生物学的異常が存在すると考えられている。治療薬である覚せい剤が主としてカテコールアミン神経伝達を増強することから、ADHD の病態仮説としてカテコールアミン神経伝達の異常が推察されてきた。遺伝子解析においても、DAT, NET, ドパミン D1, D4, D5 レセプター、 α_2 アドレナリンレセプターなどの多型との関連が報告されている(6-9)。脳形態学的異常や機能画像検査での異常の報告は、前頭葉皮質—大脳基底核を結ぶ神経回路にほぼ集中しており(10, 11)、この領域でのカテコールアミン神経伝達の異常が ADHD の病態に関連しているのではないかと考えられている。

2. トランスポーターによるモノアミン神経伝達制御

モノアミントランスポーターは抗うつ剤や覚せい剤の標的分子であるため、ADHD の病態との関連が注目されている。DAT はコカイン、アンフェタミン、メチルフェニデート等の覚せい剤の標的分子、あるいは MPP⁺, 6-OHDA 等の神経毒の侵入経路である(12)。アミノ酸トランスポーターは神経細胞にもグリアにも見出されるが、DAT は DA 神経にのみ存在するため、DA 神経の最も良い指標となる。ノルノルエピネフリントランスポーター (NET)、セロトニントランスポ

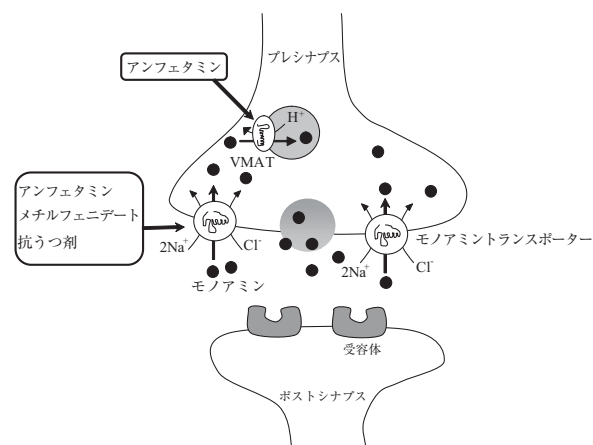


図1 抗うつ薬や覚せい剤の標的としてのモノアミントランスポーター
VMAT2: Vesicular Monoamine Transporter 2 (小胞膜モノアミントランスポーター2)

ーター (SERT) は抗うつ剤の標的分子であることから、躁うつ病、不安などの病態に関与していると考えられている。モノアミントランスポーターは古くから依存性薬物の標的分子として薬理的な解析が詳細に行われてきた(13, 14)。

モノアミン神経の多くは DA 神経のように中脳に位置する細胞体から基底核や大脳皮質に投射される。モノアミン受容体は多数のサブタイプが存在するのに対し、細胞膜モノアミントランスポーターは各モノアミンに1種類しかなく、さらにシナプス小胞膜モノアミントランスポーター2はすべてのモノアミンを基質としている(15)。このことから、モノアミントランスポーターはモノアミン神経伝達の制御に極めて重要な役割を果たすと考えられている。細胞膜モノアミントランスポーターは Na^+/Cl^- 依存性にモノアミンを神経終末内に取り込む膜タンパク質であり、アミノ酸トランスポーターなどとともに大きな遺伝子ファミリーを形成している。細胞膜を12回貫通し、N, C末端はともに細胞内に存在する構造をとる。細胞膜モノアミントランスポーターは DA, NE, 5-HT それぞれの基質に対応して3種類に分かれ、DAT は DA 作動性ニューロンの、NET, SERT はそれぞれの作動性ニューロンの主に前シナプス神経終末の細胞膜に位置している。神経終末から放出されたモノアミンは細胞膜モノアミントランスポーターにより素早く神経終末に再取り込みされ、神経伝達は終了する。細胞膜モノアミントランスポーターはこれまで再取り込みによる細胞外モノアミン濃度の調整が主な機能であると考えられていたが、DAT の機能には局在性があり、線条体では

再取り込みを行うだけだが、DA 細胞体がある黒質では、低濃度の基質が DAT に作用することにより興奮性電流が発生し、DA 放出を促進することが明らかになった(16)。

3. ADHD動物モデルとしてのDAT欠損マウス

マウスを新しい環境下に置き、移所運動量を測定すると、野生型マウスは探索行動を行うので運動量が増加する。この活動量は馴化により徐々に低下していくが、DAT 欠損マウスの活動量は低下しない(17)。また、野生型マウスにメチルフェニデートを投与すると活動量が顕著に増加するのに対して、DAT 欠損マウスに投与すると活動量は逆に劇的に低下する。これは健康人への覚せい剤の投与は興奮や過活動を引き起こすにもかかわらず ADHD 患者へは鎮静作用があることと一致している。これらのことから DAT 欠損マウスは ADHD の動物モデルの一つと考えられている(17, 18)。ADHD の患者群では、被殻、尾状核で DAT 発現が増加していたという報告(19, 20) と、変化がないという報告(21)、中脳では減少していた(22) という報告があり、一定の見解は得られていない。DAT が増加していたという結果に対しては、DAT の過剰発現により DA 神経伝達が抑制されており、これが覚せい剤投与により改善するのではないかと推察されている(23)。ところで ADHD の動物モデルの一つである高血圧自然発症ラットでは、生後1カ月の時期は中脳の DAT が減少しているが、成体では増加に転じる(24, 25)。成体での DAT 増加は、過剰である DA 神経伝達を抑制するための代償的な発現変化、もしくは DAT 自体が機能不全であるための代償的な増加ではないかと推察されており(23)、臨床例においてもこのような代償的な DAT の発現量変化の可能性も考えられるだろう。ADHD では DA 神経伝達が過剰であるのか減少しているのか、いまだ不明であるが、実験動物ではどちらのモデルでも表現型として運動量は増加している。DAT 欠損マウスは、DA 神経伝達過剰状態、DAT 機能不全状態での表現型を検討する上で有効なモデルであるといえる。

脳内微量透析法によって細胞外 DA 量を測定すると、DAT 欠損マウスでは大脳基底核における細胞外 DA 量が野生型の約 10 倍に増加しているが、前頭前野皮質では野生型と同等の DA 濃度を示した(26)。野生型マウスではメチルフェニデート投与後に線条体で細胞外 DA 量が顕著に増加するのに対して、DAT 欠損マウスでは変化がなかった。これに対して前頭前野皮質では、野生型マウスでも DAT 欠損マウスでもメチル

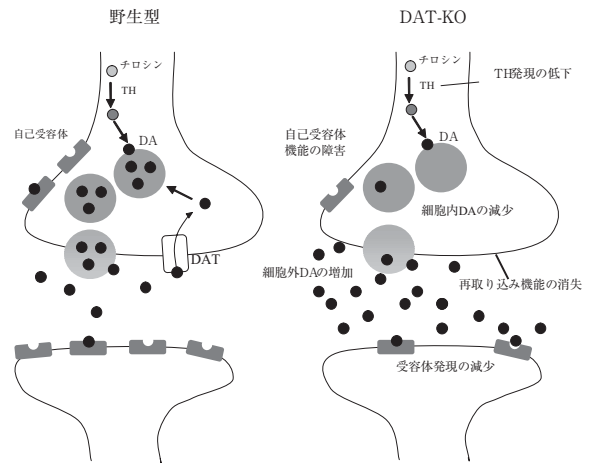


図2 DAT欠損 (DAT-KO) マウスにおける細胞外ドパミン (DA) の上昇

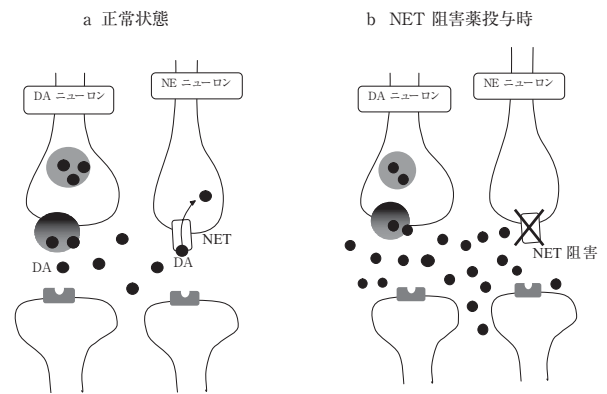


図3 前頭前野皮質におけるノルエピネフリントランスポーター (NET) における細胞外 DA 濃度の制御
a. 前頭前野皮質では DAT の発現が極めて少なく、細胞外 DA は NET に再取り込みされていると考えられる。
b. NET 阻害により、細胞外 DA が増加する。

表1 モノアミン取り込み阻害薬のトランスポーターに対する親和性

	DAT	SERT	NET
cocaine	+++	+++	+
methylphenidate	+++	-	++
fluoxetine	-	+++	±
nisoxetine	-	±	+++

fluoxetine: 選択的セロトニン取り込み阻害薬 (SSRI)
nisoxetine: 選択的ノルエピネフリン取り込み阻害薬
DAT: dopamine transporter, SERT: serotonin transporter, NET: norepinephrine transporter

フェニデートによる細胞外 DA 量の顕著な上昇が起こった。この違いは、大脳基底核と前頭前野皮質の DA 神経の制御機構が異なることに起因すると考えられる。

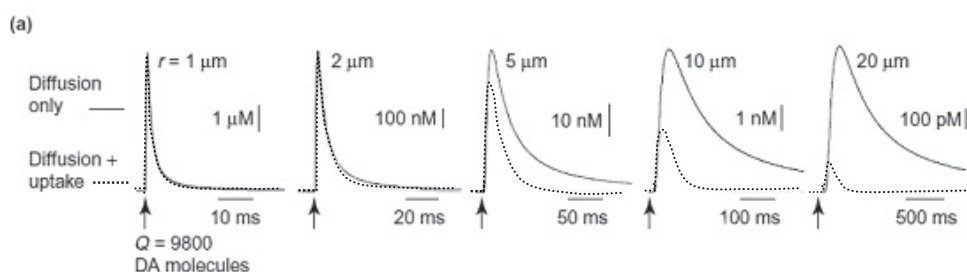
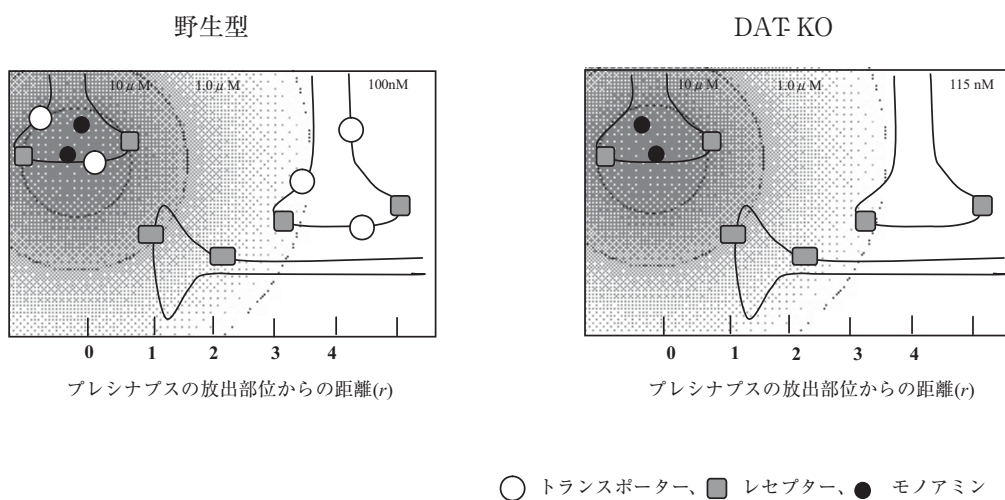


図4 細胞外 DA 濃度の再取り込みと拡散による制御

(Cragg, S.J. TRENDS in Neurosciences Vol.27 No.5 (2004) より, 一部改変)

(a) は 9800 個の DA が取り込まれた小胞がプレシナプスから放出されたときの DA 濃度の推移を放出部位からの距離 (r) 別に近似式で算出したグラフである。r = 1, 2 μm では拡散のみで濃度が推移し, r = 5 μm から DAT の再取り込みが行われる。DAT-KO におけるシナプスのモデル図では, r = 5 μm 付近で DA 濃度が野生型よりも高くなっている。

黒質から線条体を含む大脳基底核に投射する DA 神経線維には DAT が多数存在するので、線条体では DA の再取り込みは DAT のみによって行われているが、前頭前野皮質では DA 神経終末上の DAT が少ないために(27)、DA の再取り込みの役割を NET が肩代わりしていると考えられている(28,29)。表1に示すようにメチルフェニデートは非特異的なモノアミントランスポーターの阻害薬である。DAT 欠損マウスにはセロトニントランスポーター (SERT) とノルエピネフrintransポーター (NET) が残存するが、メチルフェニデートの SERT に対する親和性は低いことから(30)、メチルフェニデートは前頭前野皮質の NET に作用し、NET による再取り込みを阻害するために NE とともに DA が上昇すると考えられる。筆者らは、この前頭前野皮質における DA の上昇が、メチルフェニデートによる DAT 欠損マウスの運動量低下作用に関与しているのではないかと考えている。近年、英米で承認された NET 阻害薬であるアトモキセチン

も線条体では DA を上昇させないが、前頭前野皮質では DA を上昇させることが動物実験で確認されている(31)。

4. 細胞外DA濃度の制御機構：再取り込みと拡散

神経終末から放出された DA はシナプス内において後シナプスへ情報を伝達するとともに、シナプス間隙に残存する DA は前シナプスにある DAT により再取り込みされると考えるのが教科書的なモデルである。しかし、シナプス間隙での DA のクリアランスは、再取り込み分子である DAT に加えて三次元方向への拡散も重要な役割を果たしている(32)。シナプスの数 μm 近傍においては DA のクリアランスは主として拡散であり DAT による再取り込みの貢献度は少なく、シナプスより 10 μm 遠位になって初めて DAT による再取り込みが拡散を上回る。つまり、DA がシナプス間隙へ放出された後、その神経終末の DAT によって全てが回収されるわけではなくシナプス外へ拡散し、

隣のシナプスにもシグナルを伝える。DAは放出された部位から遠いほどDATによる再取り込みの役割が相対的に大きくなる。前頭前野皮質においてはDATの発現数が少ないので、DA神経終末に隣接するノルアドレナリン神経上のNETが細胞外DA濃度の制御を行うと考えられる。

現在、メチルフェニデートなどの覚せい剤類縁の薬物がADHDの主要な治療薬として使われているが、覚せい剤類縁の薬物を小児に長期間、投与することの安全性については議論のあるところである。DAT欠損マウスのADHD動物モデルで示したNETを介する鎮静効果は、既に英米ではNETの選択的取り込み阻害薬の使用として臨床現場への応用が始まっている。モノアミン神経伝達の機序を明らかにすることにより、ADHDの新たな治療薬の開発が期待される。

文 献

- 1) Spencer TJ, et al. J Clin Psychiatry. 2002;63 Suppl 12:3-9.
- 2) Weiss MD, et al. J Clin Psychiatry. 2004;65 Suppl 3:27-37.
- 3) 齊藤万比古. 薬の知識. 2003;54:62-64.
- 4) 田中康雄. 薬の知識. 2003;54:72-74.
- 5) Cantwell DP. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 1996;35:978-987.
- 6) Bobb AJ, et al. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2005;134:67-72.
- 7) Bobb AJ, et al. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2005;132:109-125.
- 8) Cook EH, Jr, et al. Am J Hum Genet. 1995;56:993-998.
- 9) Yang L, et al. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2004;43:1154-1158.
- 10) Durston S. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2003;9:184-195.
- 11) Sowell ER, et al. Lancet. 2003;362:1699-1707.
- 12) 曾良一郎, 他. 自律神経 (0288-9250). 2003;40:238-243.
- 13) Uhl GR, et al. Mol Psychiatry. 2002;7:21-26.
- 14) 曾良一郎, 他. 実験医学 (0288-5514). 2005;23:1159-1163.
- 15) Uhl GR, et al. Faseb J. 2000;14:2459-2465.
- 16) Ingram SL, et al. Nat Neurosci. 2002;5:971-978.
- 17) Sora I, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:7699-7704.
- 18) Caine SB. Nat Neurosci. 1998;1:90-92.
- 19) Cheon KA, et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003;30:306-311.
- 20) Dougherty DD, et al. Lancet. 1999;354:2132-2133.
- 21) van Dyck CH, et al. Am J Psychiatry. 2002;159:309-312.
- 22) Jucaite A, et al. Biol Psychiatry. 2005;57:229-238.
- 23) Russell VA, et al. Behav Brain Funct. 2005;1:9.
- 24) Leo D, et al. Neurosci Biobehav Rev. 2003;27:661-669.
- 25) Watanabe Y, et al. J Nucl Med. 1997;38:470-474.
- 26) Shen HW, et al. Neuropsychopharmacology. 2004;29:1790-1799.
- 27) Sesack SR, et al. Adv Pharmacol. 1998;42:171-174.
- 28) Carboni E, et al. J Neurochem. 1990;55:1067-1070.
- 29) Moron JA, et al. J Neurosci. 2002;22:389-395.
- 30) Gatley SJ, et al. Life Sci. 1996;58:231-239.
- 31) Bymaster FP, et al. Neuropsychopharmacology. 2002;27:699-711.
- 32) Cragg SJ, et al. Trends Neurosci. 2004;27:270-277.

著者プロフィール

曾良 一郎 (そら いちろう)

東北大学大学院医学系研究科 神経科学講座 精神神経生物学分野, 教授, 医学博士.

◇1986年 岡山大学大学院医学研究科(神経精神医学専攻)博士課程修了, '96年 米国立衛生研究所(NIH)附属薬物依存研究所分子遺伝学研究室長, '02年 東北大学大学院医学系研究科 神経科学講座 精神神経生物学分野教授.

◇研究テーマ:薬物依存や機能的な精神疾患の遺伝子改変動物モデルを用いた分子遺伝学的研究. ◇趣味:映画鑑賞, 旅行.



福島 攝 (ふくしま せつ)

東北大学大学院医学系研究科 神経・感覚器病態学講座 精神・神経生物学分野, 大学院生.

◇1993年 東北大学医学部卒業. ◇研究テーマ:モノアミン神経伝達遺伝子改変マウスの行動解析. ◇趣味:旅行, 温泉

脳の変達障害としての統合失調症

西川 徹

要約：統合失調症の発症に、遺伝的要因や胎生期や周産期の環境的要因によって、神経細胞や神経回路網の変達障害が生ずることが関与している可能性が注目され、ニューロン、グリアおよび神経回路・シナプス形成等の発達に重要な役割を果たす因子の変化と統合失調症の関連が検討されているが、未だ不明な点が多い。一方、統合失調症は神経変性疾患とは異なり、脳細胞の明らかな変性・脱落、炎症等を伴わないことから、未知の作動原理に従う脳内システムや病的過程の存在を念頭においた病因・病態へのアプローチが必要な可能性がある。そこで筆者らは、1) 統合失調症は思春期以降に発症するが、ドパミン作動薬、NMDA型グルタミン酸受容体遮断薬等の統合失調症様異常発現薬が精神機能に及ぼす影響も発達に伴って変化し、小児期までは精神病状態を誘発しにくい、2) 実験動物では、陽性症状の再燃モデルと言われる覚せい剤その他のドパミン作動薬が誘導する逆耐性現象が、一定の発達段階以降に成立し、フェンサイクリジン (PCP) をはじめとする NMDA 受容体遮断薬投与後に出現する異常行動も幼若期と成熟期では明らかな差異が認められる、等の発達依存的現象に着目し、統合失調症の分子機構へのアプローチを試みている。すなわち、統合失調症の発症や再燃に関与する新たな候補遺伝子として、覚せい剤または PCP を投与した各発達段階のラットにおいて生後発達に伴って反応性が著しく変化する脳部位で、一定の発達段階以降にこれら薬物によって発現異常が生じる遺伝子群を探索した。幼若期と成熟期を比較すると、少なくとも大脳新皮質で双方の統合失調症様異常発現薬に対する反応性に著明な差が認められることを見出した。さらに、大脳新皮質から、それぞれの薬物に発達依存的応答性を示す複数の遺伝子を検

出し、構造、局在、薬理学的特性、コードタンパク等を解析することにより、統合失調症モデルにおける意義を検討した。

はじめに

統合失調症は、およそ 0.8% の高い発病危険率を示し、大部分が 15～35 才頃の人生の早期に発症する。しかも、治療薬 (抗精神病薬) に抵抗する症状のために容易に慢性化し、十分な社会復帰を果たせない患者が多く、わが国だけでも 20 万人以上が入院生活を余儀なくされている重大な疾患である。特徴的な症状は、幻覚・妄想に代表される陽性症状 (発症後に産出されるように見える) と、感情の平板化、思考や会話の貧困、意欲の減退等を中心とする陰性症状 (正常な精神機能が減弱したり欠失したように見える) に分類するのが一般的である。抗精神病薬は陽性症状に対する有効性が高いが、陰性症状はほとんど改善しない。

統合失調症では、遺伝的要因や胎生期や周産期の環境的要因によって、神経細胞や神経回路網の変達障害が引き起こされ、多彩な症状の基盤となる情報処理障害が生ずる可能性が注目されている (1)。すなわち、疫学的研究においては、胎生期、周産期または生後発達期の栄養障害、薬物使用、ウイルス感染、放射線障害、神経発生過程の障害等と統合失調症の関連性が疑われている。神経発達障害を反映する所見として、当初、統合失調症患者死後脳における、ニューロンの配列、サイズ、樹状突起分枝等の変化が注目を集めたが、その後の研究では本症に対する特異性が確認されていない。最近では、1) 分子遺伝学的解析から統合失調症との関連が示唆されている候補遺伝子群が、発達期を通じてシナプスの構造や機能に影響する点や、2) 統

合失調症患者の死後脳における, bcl-2, GSK3 β , Reelin, NCAM, Oct-6, BDNF, EGF, GAP43, Netrin-G1 and -G2, オリゴデンドロサイトまたはミエリン形成関連遺伝子などの神経発達に関与する遺伝子・タンパクの変化が重要視されている。

このような神経発達障害の観点から統合失調症の病因・病態にアプローチするため, 種々の動物モデルも考案されてきた(2,3)。このうち, a) 生後まもなく腹側海馬のニューロンを神経興奮毒で破壊またはNa⁺チャンネル遮断薬により神経伝導を一過性に阻害したラット, およびb) 新生児期にEGF (epidermal growth factor) を皮下投与したラットでは, prepulse inhibitionの異常, あるいは統合失調症様異常発現薬への感受性亢進等の, 統合失調症患者でも観察される変化が思春期以降に認められるようになり, 統合失調症の発達障害モデルとしての有用性が示唆されている。

しかし, 統合失調症は神経変性疾患とは異なり, 脳細胞の明らかな変性・脱落, 炎症等を伴わないことや, 死後脳の所見は長期にわたる抗精神病薬服用の影響を除外できないことなどから, 未知の作動原理に従う脳内システムや病的過程の存在を考慮した, 本症の病因・病態への新たなアプローチも必要な可能性がある(4,5)。そこで筆者ら(4,5)は, i) 統合失調症は一般に思春期以降に発症する, ii) NMDA型グルタミン酸受容体遮断薬(PCP (phencyclidine), ケタミンなど), ドパミン作動薬(amphetamine, MAP (methamphetamine))をはじめとする覚せい剤, コカインなど)などの統合失調症様異常発現薬が精神機能に及ぼす影響も発達に伴って変化し, 小児期までは成人に比べて精神病状態を誘発しにくい, iii) 統合失調症の発症や再燃のモデルである, ドパミン作動薬誘発性の逆耐性現象は一定の発達期から形成され始め, NMDA受容体遮断薬による行動異常も幼若期と成熟期では差異がある, 等の生後発達における特徴に着目して, 新しい発達神経科学的仮説を提唱し, 薬理学的モデルを活用した統合失調症に関連する脳部位や候補分子の検索を進めている。本稿では, このような試みを紹介するとともに, 統合失調症を含む精神疾患の発症および再発に密接に関与するストレスに対する応答の分子機構の発達についても触れてみたい。

1. 統合失調症の新しい発達神経科学的仮説

これまで, 薬物性の統合失調症様異常が生じ始める年齢については十分に理解されていなかったが, 発達の視点から臨床報告を見直してみると, 統合失調症と同様に思春期以降に生じ易くなることがわかる。たと

えば, PCPと同様にNMDA受容体遮断作用をもつケタミンは, 成人に比べて小児には精神異常を起こしにくい(6,7)。また, amphetamineを投与したときの反応は, 小児と成人では異なる(8,9)。中枢刺激薬が発達障害による小児の多動の治療に用いられる場合には, 幻覚・妄想等の精神症状や依存の出現は成人期に比べはるかに少ないが, 思春期以降は頻度が高まる(10)。このように, 統合失調症や薬物性の統合失調症様異常が発達依存的に発症する現象は, 統合失調症で特異的に障害される情報処理システムが, (1) 思春期頃に機能的成熟を遂げ, (2) それまでは構造的にも未成熟か, 個体の精神機能の制御に主要な役割を果たしていないが, (3) 機能的成熟後には精神機能の調節に不可欠な役割を果たすこと, 等を示唆している(図1)(4,5)。

すなわち, このシステムの発達過程や成熟時期を規定する因子に異常があっても, 思春期までは精神機能に重要な関与をしていないため, 精神症状として顕在化しないと推測される(図1)(4,5)。ところが, 統合失調症特異的システムにおいて, 機能的に成熟すべき思春期以降に異常が生ずると精神機能の発現と調節に重大な障害をもたらされ, 独特な精神症状を伴う統合失調症が発症することが予想される(図1)(4,5)。ただし, 統合失調症患者では, 発症以前からはっきりとした症状ではないが, 神経学的ソフトサインや特有の行動パターン(いわゆる病前性格)のように, 健常者とのわずかな脳機能の差異がしばしば認められることが指摘されており, 統合失調症特異的システムの発達過程の変化を反映している可能性がある(4,5)。

ドパミン作動薬, NMDA受容体遮断薬等の統合失調症様異常発現薬は, 上記のような統合失調症で障害される情報処理システムの変調を引き起こすと考えられる。したがって, そのシステムが完成していない思春期以前には, 統合失調症類似の精神病状態を誘発することができないことになる(図1)(4,5)。この仮説に従えば, 統合失調症で障害される脳内分子は, 思春期以降に統合失調症様異常発現薬の影響を受けるようになるはずであるが, ヒトでの探索は不可能である。このため, 統合失調症モデルとして認められている, 統合失調症様異常発現薬によって成熟期の動物に誘起される異常行動が, ヒトの精神病状態と同様に一定の発達期以降に出現する点(図1)に注目して研究を進めた(4,5)。

統合失調症様異常発現薬のうちドパミン作動薬は, 主として幻覚・妄想等の陽性症状を惹起する(2,5)。これらの薬物を単回または反復投与した実験動物では, その後休業しても, 長期持続的にドパミン作動薬やス

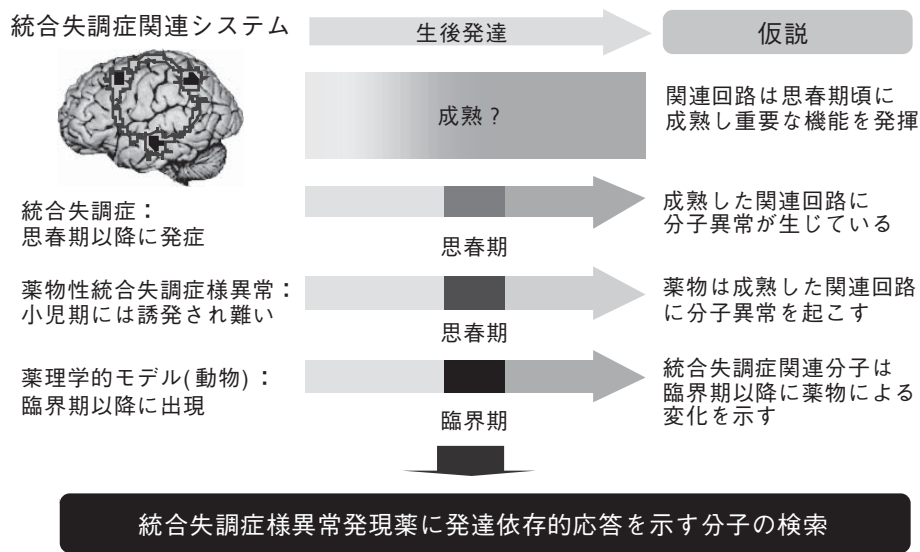


図1 統合失調症で障害される情報処理システムの発達による変化(仮説)

トレスに対する感受性が高まって異常な行動が発現し易くなり、逆耐性現象、感受性亢進または行動感作と呼ばれる(2, 11, 12)。ヒトの覚せい剤等の乱用後にも、統合失調症との区別が難しい幻覚・妄想状態が生じやすくなる現象が見られ、一群の統合失調症患者の寛解状態では、健常者には精神異常を惹起しない程度の少量のドーパミン作動薬により陽性症状が再発することから、逆耐性現象は統合失調症や覚せい剤精神病の発症や再燃のモデルとして捉えられている。この現象は、ラットやマウスでは生後3週以降にならないと成立しない(2, 11, 12)。

一方、NMDA受容体遮断薬を使用したヒトには、統合失調症様の陽性症状だけでなく陰性症状も出現する(2, 5)。陰性症状は陽性症状と異なり、統合失調症治療薬(抗精神病薬)が無効なため、NMDA受容体遮断薬投与動物に見られる抗精神病薬抵抗性の異常行動は、難治性の陰性症状のモデルとして研究されている(2, 5)。PCP, dizocilpine (MK-801)等のNMDA受容体遮断薬投与ラットの異常行動も、生後発達時期に伴って変化することが報告されている(13, 14)。

成熟した動物では、統合失調症様異常発現薬を投与すると、ヒトで見られる統合失調症症状と同様の薬理学的反応をもつ異常行動が認められ、統合失調症治療薬のスクリーニングに用いられてきたことから、動物の脳にも、ある種の統合失調症で異常を呈する情報処理システムと基本的に類似したシステムの存在が推測される(2, 5)。上記の異常行動も特定の発達期(臨界期)以降に出現することと考え合わせると、実験動物にお

いて、臨界期以降に統合失調症様異常発現薬に反応して発現または機能の変化を示すようになる遺伝子を見出せば、統合失調症で障害される分子カスケードに関連することを期待できる(図1)(4, 5)。

2. 統合失調症様異常発現薬による脳の情報処理障害の発達変化

特定の脳内情報処理システムの発達に依存した分子異常を想定する発達神経科学的仮説が成立するためには、少なくとも、実験動物の脳において、統合失調症様異常発現薬投与時の脳の活動性変化が、臨界期をはさんだ幼若期と成熟期で明らかな差異を示す脳部位が認められなければならない(4, 5)。この点を検証するため、各発達段階のラットに統合失調症様異常発現薬である、MAPまたはPCPを急性投与し、c-fos遺伝子産物c-Fosの発現を指標として、脳の活動性変化を調べた。c-fos遺伝子は基礎的発現がきわめて少なく様々な刺激に反応して一過性に発現するため脳の活動性のマッピングに広く応用されている(12, 15, 16)。

成熟期のラットにおいて、MAPとPCPの急性投与後に発現するc-Fosの脳内分布は異なる(12, 15, 16)。これは、MAPを含むドーパミン作動薬が統合失調症様の陽性症状を引き起こすのに対して、PCPその他のNMDA受容体遮断薬が陽性症状に加えて陰性症状類似の精神障害を誘発することから、両群の薬物が影響する情報処理システムに差があることを反映していると考えられる。

MAP急性投与後に発現が誘導されるc-Fosの分布

パターンは、逆耐性現象（前節参照）が成立しない幼若期と確実に形成される成熟期の間で、大脳新皮質や線条体において著しく異なり、梨状葉皮質、嗅結節、中隔などでは目立たないことがわかった(12, 15)。さらに、この発現パターンは、逆耐性が成立し始める生後 21～25 日頃からはほぼ一定となり、成熟期と同じパターンを示した(5, 12, 15)。

PCP による c-Fos 発現のパターンも、統合失調症モデルとして応用されている異常行動が出現する成熟期と、それとは異なる行動変化が見られる幼若期では、少なくとも大脳新皮質では著明な差異が認められ、行動変化の臨界期頃に成熟期のパターンに移行した(図 2)(5, 16)。これに対して、梨状葉皮質、嗅結節、中隔などでは発達に伴う変化が目立たなかった(図 2)(5, 16)。

以上の結果は、ラットの脳において、統合失調症で障害される情報処理システムと類似の神経システムが、生後発達とともに変化して臨界期頃に成熟することを支持している。また、これらのシステムは c-Fos 発現の変化が著明な大脳新皮質あるいは線条体に存在する可能性が高いことが示唆される(4, 5)。

3. 統合失調症様異常発現薬に発達依存的応答変化を示す遺伝子

c-Fos の実験結果をもとに、RAP-PCR 法を取り入れた differential cloning を行い、統合失調症関連候補遺伝子として、ラット大脳新皮質で逆耐性現象の臨界期以降に MAP への応答を示す遺伝子を探索し、新規遺伝子 *mrt1* (MAP-responsive transcript 1) および *mrt3* を検出した。*mrt1* の解析を進めたところ(17, 18)、(1) PDZ および PX ドメインをひとつずつもった 2 種類のタンパク Mrt1a および Mrt1b をコードする、(2) 成熟ラットの大脳新皮質において MAP 投与後に発現が増加するのは、脳のシナプトゾームに豊富な Mrt1b に対応する *mrt1b* mRNA であり、末梢組織優位に発現する Mrt1a に対する *mrt1a* mRNA は有意な変化が生じない、(3) *mrt1b* の MAP 応答性は、逆耐性現象が形成され始める生後 3 週以前には見られない、(4) 成熟期において、*mrt1b* mRNA はコカイン投与後にも増加するが、逆耐性を形成しないペンタバルビタールや逆耐性の成立を阻害する D1 型 DA 受容体遮断薬投与後には変化しない、(5) MAP 急性投与時に D1 受容体遮断薬を前処置しておくとも *mrt1b* mRNA レベルの増加が認められなくなる、(6) MAP を反復投与し逆耐性が形成された成熟ラットでは、*mrt1b* mRNA の基礎的発現が上昇し、MAP またはコカインをチャ

レンジしても、*mrt1b* mRNA の発現は変化しない、(7) MAP 反復投与時に毎回 D1 受容体遮断薬を前処置すると、逆耐性が形成されなくなるとともに、*mrt1b* mRNA の基礎的発現の上昇も認められなくなる、等の特徴をもつことがわかった。これらの結果から、*mrt1b* mRNA は、逆耐性現象と類似した薬理的応答性を持ち、既に逆耐性が成立した動物の脳では、逆耐性が未形成の動物のような MAP やコカインに対する応答が認められないことが明らかになった(17, 18)。したがって、*mrt1b* および Mrt1b タンパクは逆耐性の形成と維持に関与する分子カスケードの構成因子であり、統合失調症の陽性症状の病態に関係している可能性があることが示唆された(5, 17, 18)。

大脳新皮質で PCP に発達依存的応答を示す遺伝子としては、RAP-PCR 法や DNA マイクロアレイ法を用いた differential cloning により、*prt1* (PCP-responsive transcript 1)、*prt4* 等が検出された(未発表データ)。*prt1*(5, 19) は、(1) 複数の PDZ ドメインを含むシナプスタンパクをコードし、(2) 成熟期大脳新皮質の *prt1* mRNA は他の NMDA 遮断薬によって増加するが、ドパミン作動薬による有意な変化は生じない、などの特徴があり、統合失調症の陰性症状への関与が推察される。

このように、仮説上の分子であった、統合失調症様異常発現薬に対する応答が発達に伴って変化する分子が脳に存在することがわかった(5)。これらの分子は、薬理的に統合失調症状と関連することが示唆されており、統合失調症がなぜ思春期以降に発症するのか、生後発達期において統合失調症に関連する情報処理システムにどのような障害が生じているのかなどの課題を解く手がかりになると考えられる。現在さらに、検出された遺伝子の生理的機能とその病態を検討するため、神経解剖学的解析や遺伝子改変動物の作製を行うとともに、ヒト相同遺伝子について、統合失調症および他の精神疾患患者のゲノム解析を進めている。

4. ストレス応答の分子機構の発達と統合失調症

他の精神疾患と同様に、統合失調症の発症や再発にはストレスが重要な役割を果たすと考えられている。しかし、統合失調症のストレス脆弱性の分子メカニズムについては不明な部分が多い。筆者らは、逆耐性現象では統合失調症様異常発現薬だけでなくストレスへの感受性が亢進することや、逆耐性形成の発達とはパターンが異なるが、ストレス反応でも生後発達期と成熟期の間で大きな差が見られることに着目し、年齢によってストレス応答が変わる脳部位や分子についても検

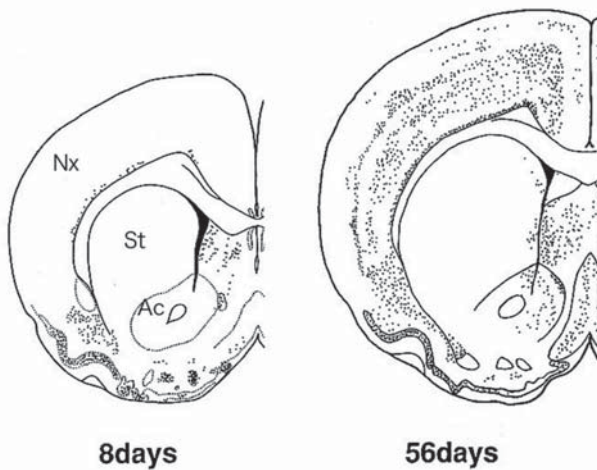


図2 生後8日と56日におけるPCP投与後のc-Fos発現の分布(模式図)
 黒点はc-Fos陽性細胞核を示す。図の脳切片は、線条体(St)、大脳新皮質(Nx)、側坐核(Ac)を含む前脳部の前額断

討を行っている。すなわち、全身的ストレス負荷後の副腎皮質ステロイドの上昇は、ラットにおいて生後2日から14日頃まで極めて低く、この期間は「ストレス低反応期(stress hyporesponsive period)」と呼ばれている(20)。

実験では、ストレスラーとして不安惹起性のベンゾジアゼピン受容体逆アゴニストFG-7142(N-methyl- β -carboline-3-carboxamide)を使用した(20)。その理由は、FG-7142が、1) コルチコステロンの血中濃度を増加させる、2) 前頭葉皮質選択的にドパミン代謝を亢進させる、3) 脳内ノルアドレナリン遊離を促進する等の、全身的ストレスと共通の効果を引き起こし、拘束をはじめとする物理的ストレスと比較して、投与量を変えることによってストレス強度をより正確に調節できる点が優れているからである(20)。FG-7142投与ラットの脳内各部位におけるc-fos遺伝子産物c-Fosの発現を調べたところ(20, 21)、ストレス低反応期中の生後8日齢と成熟期の生後56日齢の間で、その分布パターンが、大脳旧皮質、視床室傍核、扁桃体中心核等をはじめとして両時期間で差が目立たない部位と、大脳新皮質、中隔外側部、外側手綱核、扁桃体内側核等のほか、著明に変化する部位があることがわかった。特に、大脳新皮質(isocortex)のc-Fos様免疫反応は、成熟ラットにおいてII~IV層の広い範囲で強く認められたのに比し、幼若ラットではきわめて少なくVI層にほぼ局限している特徴があった(21)。これらの結果は、ストレス応答に関する情報処理システムが、統合失調症様異常発現薬に反応

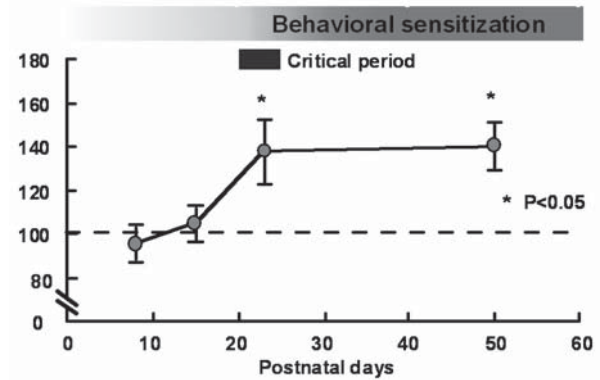


図3 生後発達にともなうMAP投与後のmrt1 mRNAの発現の変化
 逆耐性現象(behavioral sensitization)の臨界期(critical period)との関係を示す

する情報処理システムのように年齢に伴って変化し、成熟する臨界期をもつことを示唆している(20, 21)。また、ストレスと統合失調症様異常発現薬の発達期による影響の差異が、共通して大脳新皮質で最も大きいことから、双方のシステムが大脳新皮質において相互作用をもつ可能性がある。

さらに、大脳新皮質より、FG-7142による発現誘導が生後8日には見られないのに対し、生後56日に著明に認められる遺伝子群が検出され、その中には成熟期に拘束ストレス、yohimbine等のストレスラーにも応答するものが見出された。これらの遺伝子は、上述した大脳新皮質のストレス関連情報処理システム内の分子カスケードを構築すると推測され、mrt1, prt1を初めとする統合失調症様異常発現薬に年齢依存的応答を示す遺伝子との関連性に興味を持たれる。

おわりに

統合失調症様異常発現薬やストレスに対して、一定の発達期(臨界期)以降に成熟期型の応答を獲得する脳部位と遺伝子が存在することは、筆者が提唱した統合失調症の新しい発達神経科学的仮説を支持していると考えられる(図1)。今後は、これら遺伝子のゲノム構造的および神経解剖学的特徴、発達依存的発現制御機構、相互作用等を検討することにより、統合失調症の病因・病態と年齢依存的発症やストレス脆弱性の神経回路・分子メカニズムへのアプローチを試みたい。

謝辞：本稿で紹介した筆者らの研究は、国立精神・神経センター神経研究所および東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野において、次の方々と共同で行ったものです(所

属は共同研究当時)：国立精神・神経センター，海野*，柏*，山本*，梶井*，平岡，戸田，佐藤，藤山，村岡*，黒田*；東京医科歯科大学 (*を含む)，石井，櫻井，伊藤，金子，竹林。PCP 塩酸塩をご供与下さった住友製薬研究所および山之内製薬研究所に深謝致します。

文 献

- 1) Rapoport JL, et al. Mol Psychiatry. 2005;10:434-449.
- 2) 西川 徹. Mol Medicine. 2003;40:270-278.
- 3) Futamura T, et al. Mol Psychiatry. 2003;8:19-29. Erratum in: Mol Psychiatry. 2003;8:565.
- 4) 西川 徹, 他. 精神科治療学. 1997;12:617-623.
- 5) 西川 徹. Schizophrenia の分子病態—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 星和書店; 2004. p. 48.
- 6) Reich DL, et al. Can J Anaesth. 1989;36:186-197.
- 7) White PF, et al. Anesthesiology. 1982;56:119-136.
- 8) Rapoport JL, et al. Arch Gen Psychiatry. 1980;37:966-943.
- 9) Rapoport JL, et al. Science. 1978;199:560-562.
- 10) Griffith JD. Drug addiction II. Springer-Verlag, Berlin; 1977. p. 277-291.
- 11) Fujiwara Y, et al. Psychopharmacol. 1987;91:316-319.
- 12) Nishikawa T, et al. In neurotransmitters in neuronal plasticity and psychiatric disorders. Excerpta Medica, Ltd; 1993. p. 53-62.
- 13) Scalzo FM, et al. Neurotoxicology. 1994;15:191-200.
- 14) Scalzo FM, et al. Neurotoxicol Teratol. 1992;14:7-14.
- 15) Umino A, et al. Neurochem Int. 1995;26:85-90.
- 16) Sato D, et al. Neurosci Lett. 1997;239:21-24.
- 17) Kajii Y, et al. Mol Psychiatry. 2003;8:434-444.
- 18) Fujiyama K, et al. Synapse. 2003;49:143-149.
- 19) 平岡秀一, 他. 精神薬療研究年報. 2000;3217-3221.
- 20) Nishikawa T, et al. PTSD: Brain mechanisms and clinical implications. Springer-Verlag Tokyo, Inc; 2006. p. 3-11.
- 21) Kurumaji A, et al. J Neural Transm. 2003;110:1161-1168.

著者プロフィール

西川 徹 (にしかわ とおる)

東京医科歯科大学大学院 精神行動医学分野, 教授.

◇ 1985年東京医科歯科大学大学院医学研究科修了, 医学博士. 同大学医学部附属病院精神科研修医, Synthelabo-L.E.R.S. 研究所 (フランス) ポストドクトラルフェロー, 国立精神・神経センター神経研究所, 室長および部長等を経て, '99年より現職. 統合失調症を中心に精神疾患の病因・病態の分子機構に関する研究を行っている. 最近の著書としては, 「Schizophrenia の分子病態—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 東京, 星和書店, 2004, p48.」がある.



ストレスがどうしてうつ病を起こすのか —うつ病の発症脆弱性の病態生理—

三國 雅彦

1. はじめに

うつ病は辛いことが続いて、ストレスとなり発症するという仮説、あるいはセロトニン選択的再取り込み阻害剤 SSRI が効くことからうつ病はセロトニンが足りなくて発症するという仮説はとても理解しやすいし、ほぼ常識とさえなっている。しかし、最初のうつ病や躁うつ病の発症にはストレス性の刺激が関与していることが多い(報告によって45%から90%とばらつくが、70%くらい)が、うつや躁の病相を繰り返しているうちに、ストレス性の刺激のある場合の再発が明らかに減少し(10%から50%とばらつくが、30%くらい)、自然にうつ病相や躁病相を起こす、いわゆる「自生性」があることが臨床的には明らかである(表1)。しかも、そのストレス性の出来事は親族や友人の死、過労や仕事の失敗ばかりでなく、本来よるこぼしいはずの昇進や結婚などのこともあることが明らかにされている。セロトニンの欠乏に関しても、セロトニン前駆体によるうつ病治療の効果が必ずしも確認されておらず、また、低トリプトファン飲食料などの負荷で、血中の遊離トリプトファン濃度を低下させ、脳内のセロトニンの合成低下を引き起こしても、未治療のうつ病で増悪するのは25%程度であり、半数は不変、残りは軽快するという報告がなされている(1)。トリプトファン水酸化酵素タイプ2の遺伝子多型でセロトニン合成低下に関連する一塩基多型(SNP)をもつうつ病は全体の10%程度であることが最近報告され、セロトニンの合成低下で説明できるうつ病はごく一部である可能性が高いことになる(2)。

このように、常識であると捉えられていることであってもそう単純ではないとすると、いったいうつ病に

表1 躁うつ病や単極性うつ病の初発と二回目以降の症状出現直前のライフ・イベントの頻度

著者	対象疾患	初発	二回目以降
Perris	単極性うつ病	62%	19%
Ambelas	躁病	58%	24%
Dolan	単極性うつ病	62%	29%
Ghaziuddin	単極性うつ病	91%	50%
Cassano	単極性うつ病	66%	49%
Okuma	双極性感情障害	45%	13%
Angst	単極性うつ病	60%	38%
Matussek	単極性うつ病	44%	19%

ついてどこまでが確実なことといえるのであろうか? がんや心筋梗塞などの重篤身体疾患の罹患というストレスに曝されてうつ病を起こす症例は大体5~10%、不安や軽うつを伴う適応障害が20%くらいであり、残りの大部分の方々はその生命の危機に直面しても次第に適応して闘病されるようになるので、ストレスに曝されてうつ病を発症するのは一部の方であり、うつ病の発症脆弱性をもつ個人にストレスが作用するためではないかと考えられる。

では、その初発の発症脆弱性についてはどのようなことが明らかになっているのであろうか? 平成5年の厚生省研究班の共同研究による調査データの解析では、全国の大学病院や総合病院精神科に入院した感情障害約300症例は双極性感情障害が約100症例、単極性反復型約100症例、大うつ病シングルエピソード約100症例であったが、初発年齢の分布をみると、双極性感情障害が20歳代にピーク、単極性反復型は20歳代と40歳代にピーク、シングルエピソードは50歳代にピークがあることが明らかにされている。したがっ

キーワード: うつ病発症脆弱性, 視床下部-下垂体-副腎皮質系, 脳機能画像, 精神腫瘍学
群馬大学 大学院医学系研究科 脳神経発達統御学講座(脳神経精神行動学)
(〒371-8511 群馬県前橋市昭和町三丁目 39-22)

E-mail: mikuni@med.gunma-u.ac.jp

Title: Pathophysiological mechanisms of various vulnerabilities involved in stress-induced depression.

Author: Masahiko Mikuni

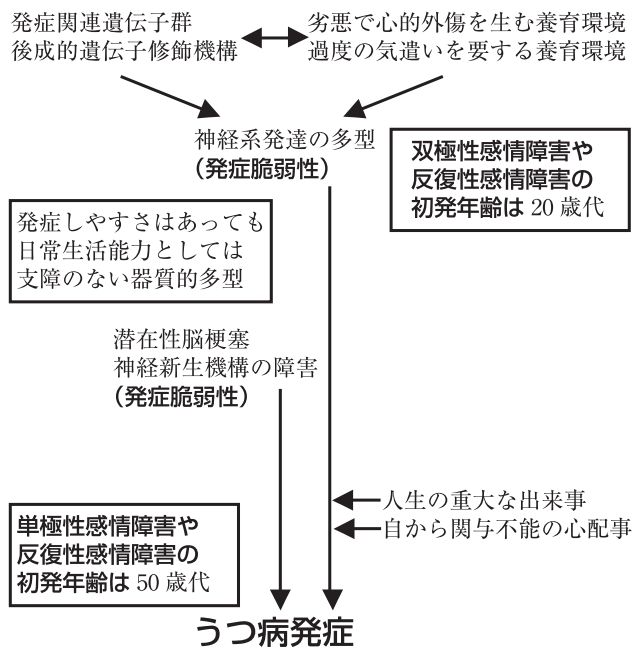


図 1 うつ病発症脆弱性とストレス状況因仮説

て図 1 に示したように、遺伝的な要因や養育環境因など神経系の発達に関連する発症脆弱性の形成や、加齢に伴う神経系の退行に関連する発症脆弱性の形成が仮説として考えられる。ここではこのうつ病発症脆弱性についてわれわれが関わってきた研究を中心に概説してみたい。

2. うつ病における視床下部-下垂体-副腎皮質系機能調節障害

種々のストレス性の刺激に対する共通の生体反応としての視床下部-下垂体-副腎皮質系 (hypothalamo-pituitary-adrenal axis: HPA 系) が Selye によって注目されるようになったが、この系はグルココルチコイド受容体を介したフィードバック機能による閉鎖系となっており、ストレス性の刺激に対する HPA 系の反応が過剰とならないようになっている。ところが、うつ病ではこの HPA 系の反応に対するフィードバック機能が減弱していることがわかってきている。健常者に長時間作用する合成ステロイドのデキサメサゾン (DEX) を前夜に投与してグルココルチコイド受容体を刺激しておく、翌朝、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の分泌抑制が起こるので、コルチゾール濃度が低下し、午後副腎皮質刺激ホルモン遊離促進ホルモン (CRH) を注射しても (DEX/CRH 試験)、ACTH やコルチゾール分泌反応はほとんど起こらない。しかし、約 75% のうつ病症例では DEX/CRH 試験でコルチゾール濃度が著明に増加し、フィードバック機能の低下が明らかである。抗うつ薬療法が奏功すると、

コルチゾールの過剰反応はほぼ正常化する (3)。これらの結果は国内の多施設共同研究によっても確認されている (4)。また、抗うつ薬では奏功しなかったうつ病患者ではコルチゾール濃度の著明な増加が持続し、電気刺激療法を施行して、うつ症状が軽快すると、HPA 系の過剰に対するフィードバック機能低下も同様に正常化する (5)。したがって、この感情障害における HPA 系の過剰に対するフィードバック機能低下はうつ症状の改善とともに正常化する状態依存的な性質をもつうつ病の生物学的マーカーと考えられている。また、抗うつ薬が海馬におけるグルココルチコイド受容体を増加させる作用を有し、HPA 系を抑制して、室傍核の CRH 合成を抑制することが知られており、この状態依存性は抗うつ薬の作用に基づくことが明らかにされている。しかし一方、この HPA 系の制御機能低下は非発症のうつ病家族にも軽度ながら認められることが報告されているので (6)、うつ状態非依存的な素因のマーカーである可能性があり、ストレスに誘発されるうつ病の発症脆弱性のひとつであると考えられている。前述のわれわれの報告の中でも、抗うつ治療前の HPA 系の非抑制群は抑制群に比較して内側前頭前野 (プロードマン 10 野, Diorio ら (7) により HPA 系の調節に関与する前頭前野の脳部位として報告されている) の低活動がより著明であるが、抗うつ療法でうつ症状が軽快し、HPA 系が抑制へと正常化しても、この BA10 野の低活動は持続することを明らかにしており、状態非依存的異常を呈する脳部位のひとつである可能性を示した (3)。

このフィードバック機能の低下という脆弱性を持った個体がストレスに曝されて、HPA 系の機能亢進が持続し、高コルチゾール血症となると、通常の中レベルのコルチゾールでは部分的にしか占拠されていないグルココルチコイド受容体が刺激され続けることになり、摂食行動の抑制、意欲的行動の抑制、悲哀感の増加を引き起こすと同時に、嫌悪体験の記憶の促進、嫌悪刺激に対する過剰反応を引き起こすことになると考えられる。

一方、グルココルチコイド受容体が刺激され続けると、種々の遺伝子発現が調節されることになる。例えばアミン受容体や細胞内情報伝達系ならびに核内転写制御に影響し、アミン神経伝達が変化し、その結果脳由来神経栄養因子 (BDNF) の遺伝子発現も変化し、神経の樹状突起のスパインの数やシナプス数に影響することになって、前頭前野背外側部-内側前頭葉-扁桃核-海馬などの神経ネットワーク機能が変化し、感情障害を発症すると推測されている (8)。われわれの

検討では ACTH の反復投与によりラット前頭皮質のセロトニン-2A (5-HT-2A) 受容体密度の増加が起こり (9), 副腎摘出でその効果は阻止され, また, コルチコステロンの反復投与でも 5-HT-2A 受容体密度の増加が起こる. C6 グリオーマ細胞は 5-HT-2A 受容体-フォスファチジル・イノシトール代謝-カルシウム動員系を有しており, 培養メEDIUMにデキサメサゾン数を数時間添加すると, セロトニン刺激性の細胞内カルシウム増加反応が亢進することも明らかにされている (10). 一方, ラット海馬の 5-HT-1A 受容体密度は副腎摘除で増加し, コルチコステロンの補充で低下することが明らかにされている (11). さらに, 背側海馬の 5-HT-1A 受容体刺激はうつ病モデルとして注目される学習性無力の成立を阻害することが明らかにされるとともに (12), 大うつ病性障害の海馬での 5-HT-1A 受容体発現が低下していることが PET 画像解析で明らかにされている (13). このようにセロトニン神経伝達は副腎皮質ホルモンの調節を受けており, 興味深いことに, 5-HT-1A 受容体と 5-HT-2A 受容体とがちょうど逆の調節を受けていることが明らかにされてきている.

また, 抗うつ薬の分子作用機序として, 前述したように海馬におけるグルココルチコイド受容体発現を増加させ, HPA 機能亢進を抑制することが動物実験で知られている他, プロテインキナーゼ C の活性化と CREB のリン酸化の亢進に基づく BDNF mRNA の発現増加が知られており, 神経細胞の生存維持や神経の可塑性を促進させるが, 海馬の 5-HT-2A 受容体刺激は BDNF mRNA の発現を抑制することが明らかにされている. 実際, 感情障害のための高コルチゾール濃度暴露により感情障害患者の海馬の細胞構築が変化し, 海馬容積が低下していることを示す証拠が累積しつつあり, 特に, 初発年齢が低いほど, 反復する病相回数が多いほど, 未治療の期間が長いほど, 幼児虐待の既往のあるものほど海馬容積の低下が著明であることが報告されている (14).

3. がん罹患ストレスとうつ病や適応障害の発症予測

平成 16 年に閣議決定された健康寿命延長 10 年計画の達成の有力な戦略の一つがうつ病の早期発見と根治的治療, できれば発症予防である. 多くの中高年者ががんや心筋梗塞, 糖尿病などに罹患後にうつ病や不安・抑うつを伴う適応障害を併存すると, QOL や ADL の低下を起こし, まさしく健康寿命を損なうことになるので, うつ病の早期発見と根治的治療法の確立が最も

求められている. 実際, 早期がんの患者でも, 進行がん患者や終末期がん患者でも大うつ病や不安・抑うつを伴う適応障害を 20~30%が発症することが報告されている (15).

そこで, 最近われわれが取り組んできた, がん患者の精神症状発現に関する前方視的な研究を紹介したい. 精神科受診を意図したり希望したりしていないがん患者の同意と協力により行った研究であるので, できるだけがん患者に負担をかけないことを前提にこの前方視的研究を計画した. したがって, 間接的にしか精神症状を評価できず, また, うつ病をおこしやすい可能性の高い群の方々がこの研究への参加に同意せず, 追跡調査に含まれていない可能性が大きいという研究上の制約があることは否めない.

精神的既往の無いがん患者が転移病巣検索や治療効果判定のために全身 FDG-PET 検査を受ける際に, 研究協力を依頼し, 117 名の患者から同意が得られた. そのがん患者に「Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)」という自記式の不安や抑うつのアンケートに答えてもらうとともに, 精神科医による面接を行ってその時点では精神症状を呈していないがん患者を 1 年間追跡調査した. 初回の HADS 得点が 14 点以下で, うつ病や適応障害がその時点で否定され, 脳転移もない患者 (HADS 平均 8 点) で, 3ヵ月後, 6ヵ月, 12ヵ月後の HADS 得点が 14 点以上に悪化したか, 大うつ病や適応障害のうつ状態を発症し精神科を受診した 12 症例と, 初回, 3ヵ月後, 6ヵ月, 12ヵ月後の HADS 得点がいずれも 13 点以下であった症例から無作為に抽出した 12 症例につき, 再度同意を得なおした後に, 悪化群 10 症例と未変化群 9 症例に半構造化面接を行うことができた. 悪化群では大うつ病が 3 症例, 適応障害が 7 症例であり, 未変化群では精神的診断はつかなかった. その悪化群 10 症例と未変化群 9 症例とでの初回時の PET 画像の差異を SPM 解析した.

悪化群では悪化前から右上前頭回 (BA6 野) の一部で FDG-PET でのグルコースの取り込みが低下していた. また, 両側前部帯状回 (BA25 野) と右後部帯状回では取り込みが悪化群ですでに増加していた. 従来からうつ病患者の FDG-PET でのグルコース取り込み能が低下していると報告されることの多い両側中心前回のうち, 右側での低下が悪化群では大うつ病や適応障害の精神症状の出現前からすでに認められていたことになる. しかし, 内側前頭前野の BA10 野での低下は認められなかった. 一方, 同じ前頭葉内側面でもうつ病でグルコース取り込み能が増加していると報告

されることの多い右帯状回での増加が悪化群では精神症状の出現前から認められていたことになる (16). これらの脳部位の変化は発症前から存在し、発症脆弱性と関連する部位である可能性が示唆されるので、死後脳での細胞構築学的な解析が待たれる。これらの発症脆弱性を有するがん罹患者の多くが、中高年であることからおそらく微小脳血管障害がその基盤にある可能性が高いと推測される (17).

4. まとめ

図1のように脳の発達期に形成される発症脆弱性と中高年以降の脳の退行期に形成される発症脆弱性とは全く別のものである可能性があるが、ストレスが作用してうつ病が発症する時には、その脆弱性が形成された部位ならびにそれとリンクする別の脳部位の機能が広範に変動し、うつ病の病態が脳内に形成されると考えられる。このストレスの作用にはHPA系のフィードバック機能の軽微な低下という脆弱性も関与している可能性がある。これらの研究がもっと発展すると、種々の検査で、うつ病にかかりやすいかどうかが前もってわかるようになり、うつ病の発症を予防することができるようになると期待される。

なお、以上の研究は松田博史 (埼玉医科大学放射線

診断部); 遠藤啓吾, 織内昇 (群馬大学大学院医学系研究科画像核医学); 福田正人, 上原徹, 米村公江, 大嶋明彦, 間島竹彦, 相原雅子, 伊藤誠, 須藤友博, 亀山正樹, 野崎裕介, 結城直也, 熊野大志, 熊野澄江, 山岸裕, 高橋啓介, 武井雄一, 酒井努, 佐藤大仁 (群馬大学大学院医学系研究科脳神経精神行動学); 井田逸朗 (国立病院機構高崎病院精神科) の諸先生との共同研究であり、ここに謝意を表する次第である。

文 献

- 1) Delgado PL, et al. *Psychopharmacol Bull.* 1991;27:321-330.
- 2) Zhang X, et al. *Neuron.* 2005;45:11-16.
- 3) Aihara M, et al. *Psychiatry Res. Neuroimaging* (in press) .
- 4) Kunugi H, et al. *Neuropsychopharmacol.* 2006;31:212-220.
- 5) Yuuki N, et al. *Acta Pyschiatrica Scand.* 2005;112:257-265.
- 6) Holsboer F, et al. *Neuroendocrinol.* 1995;62:340-347.
- 7) Diorio D, et al. *J Neurosci.* 1993;13:3839-3847.
- 8) Manji HK, et al. *Nature Med.* 2001;7:541-547.
- 9) Kuroda Y, et al. *Psychopharmacol.* 1992;108:27-32.
- 10) Muraoka S, et al. *Neuroendocrinol.* 1993;57:322-329.
- 11) Chalmers DT, et al. *J Neurosci.* 1993;13:914-923.
- 12) Joca SR, et al. *Brain Res.* 2003;978:177-184.
- 13) Drevets WC. *Ann NY Acad Sci.* 1999;877:614-637.
- 14) Neumeister A, et al. *Biol Psychiat.* 2005;57:935-937.
- 15) Uchitomi Y, et al. *Cancer* 2000;89:1172-1179.
- 16) Kumano H, et al. *J Psychiat Res* (in press) .
- 17) Fujikawa T, et al. *Stroke.* 1993;24:1631-1634.

著者プロフィール

三國 雅彦 (みくに まさひこ)

群馬大学大学院 医学系研究科 脳神経精神行動学分野, 教授。

◇北海道大学医学部医学科昭和48年卒業。北大精神科講師, 国立精神・神経センター神経研究所室長を経て, 平成10年から群馬大学精神科教授。昭和56年から2年間米国シカゴ大学精神科 (HY Meltzer 教授) に留学。感情障害や統合失調症の薬理生化学的, 精神内分泌学的, 脳機能画像学的, 分子遺伝学的, 組織病理学的の研究に従事。日本精神神経学会, 生物学的精神医学会, 精神科診断学会の理事。



遺伝子から探る新規抗うつ薬の開発

山田 光彦, 山田 美佐, 高橋 弘, 丸山 良亮, 志田 美子

要約: ストレス社会と言われて久しい現代において、うつ病のもたらす社会的影響は大きく、画期的な治療薬が存在しないためうつ病治療は長期化し、低経済成長社会、高齢化社会の到来とともに大きな問題となっている。うつ病の治療には適切な薬物療法が必須である。新規抗うつ薬の開発は神経伝達物質の薬理学に基づいて行われており、これまでに一定の成果を上げている。しかし、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) やセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) を含めて我々が日常臨床で用いている抗うつ薬は50年前に偶然発見された「モノアミン仮説」の範囲を超えるものではない。また、現在臨床で利用されている抗うつ薬の有効性は実は60~70%にすぎず、新しい治療薬の開発が強く求められている。実際、抗うつ薬の臨床効果は長期間の服薬継続によって初めて生じるのであり、抗うつ薬の真の作用機序を理解するためにはこれまでの作業仮説にとらわれない新しい創薬戦略が用いられなければならない。近年、抗うつ薬長期投与により間接的に引き起こされた神経化学的变化を遺伝子転写機構の調節を伴う量的変化・タンパク質の発現変化として捉えることが可能となってきている。我々は、「真の抗うつ薬作用機序とは機能タンパク質の発現を介した脳システムの神経可塑性変化・神経回路の再構築である」という新しい作業仮説の検証を進めている。偶然の発見に頼ることのない「抗うつ薬新規ターゲット分子の探索」は我々に画期的な作業仮説を提言するものであり、将来は新しい作用機序を持つ医薬品の開発という具体的成果につながるものであると考えられる。

1. はじめに

これまで大好きだったナイター中継とビールが楽しめなくなった会社員Aさん。得意だったお料理をする気力がなくなってしまった主婦B子さん。興味や関心の低下、意欲の低下は、抑うつ気分に加えてうつ病の特徴的な症状である。

一方、我が国では年間に3万人を超える人々が自ら命を絶つことによって亡くなっている。自殺の背景には、経済苦、病苦、社会的孤立など様々な要因があるが、その大半は過度のストレスに伴う抑うつ状態や衝動性の亢進が直接のきっかけと考えられる。不思議なことに、本来よろこばしいはずの昇進や結婚なども、時に大きなストレスとなることが知られている。このように、ストレス社会といわれて久しい現代においてうつ病のもたらす社会的影響は大きく、画期的な治療薬が存在しないためうつ病治療は長期化し、低経済成長社会、高齢化社会の到来とともに大きな問題となっている。また、うつ病の罹患率は想像以上に高いものであり、調査により大きなばらつきがあるものの、米国での生涯罹患率は女性で21.3%、男性で12.7%にもなることが報告されている(1)。そのため、確実な治療効果を有する新規抗うつ薬の開発は急務の課題である。

うつ病の治療には適切な薬物療法が必須である。しかし、現在臨床で利用されている抗うつ薬の有効性は実は60~70%にすぎず、新しい治療薬の開発が強く求められている。これまで、新規抗うつ薬の開発は神経伝達物質の薬理学に基づいて行われており一定の成果を上げてきたが、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) やセロトニン・ノルアドレナリン再取り

込み阻害薬 (SNRI) を含めて我々臨床家が治療に用いている薬物は 50 年前に偶然発見された「モノアミン仮説」に基づく抗うつ薬の範囲を超えるものではない。そのため、うつ病の新規治療法の確立のためには、これまでの作業仮説にとらわれない新しい創薬戦略を用いる必要がある。近年、抗うつ薬長期投与により間接的に引き起こされた神経化学的变化を、遺伝子転写機構の調節を伴う量的変化・タンパク質の発現変化として網羅的に捉えることが可能となってきた。本稿では、抗うつ薬の作用機序における遺伝子発現変化と神経可塑性変化について特に注目し、最近の知見を交えながら「遺伝子から探る新規抗うつ薬の開発」について総説する。

2. モノアミン仮説の限界

感情障害の薬物治療は 1949 年のリチウムの抗躁作用の報告、1951 年のモノアミン酸化酵素阻害作用を有するイプロニアジドのうつ病治療への導入に始まり、三環系抗うつ薬として現在でも用いられているイミプラミンが登場したのは実に 1957 年のことである。後に、三環系抗うつ薬がモノアミン再取り込み阻害作用を有することが発見された。近年では、表 1 に示したように、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI)、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI)、可逆的 A 型モノアミン酸化酵素阻害薬 (RIMA) などの新規抗うつ薬開発が活発に行われている (2)。

これらの薬物はいずれもセロトニンあるいはノルアドレナリン神経系シナプス間隙におけるモノアミン濃度を増加させる方向に働く。こうした神経化学的变化は急性薬理作用として比較的短時間に引き起こされるが、実際の臨床場面においては抗うつ効果発現までに 10 日から数週間はかかることが経験されている。そのため、抗うつ薬の臨床効果と急性薬理作用とは区別して考える必要があり、 β 受容体のダウンレギュレーションなどの抗うつ薬の長期投与後にみられる神経化学的变化と治療効果とを結びつけた作業仮説が生まれしてきた。しかし、最近になって SSRI の長期投与後にこれらの変化が必ずしもみられないことも判明してきており、いわゆる「モノアミン仮説」の見直しが必須の状況である。それでは、この数週間に「脳」ではいったいどんな変化が起きているのであろうか。我々は、この脳内変化こそが抗うつ薬の真の治癒機転であり、新規抗うつ薬創薬のためのターゲット分子システムであると考えている。Hyman と Nestler は長期の抗うつ薬投与に伴う神経可塑性変化を脳の適応反応として捉え “initiation and adaptation model” を提唱してい

表 1 抗うつ薬開発の歴史

(1) 1950 年代～	・偶然によるリード化合物の発見の時代 ・治療ターゲットは神経伝達機構 ・モノアミン仮説の提言 ・モノアミン酸化酵素阻害薬 (MAOI) ・三環系抗うつ薬 (TCA)
(2) 1970 年代～1980 年代	・リード化合物の最適化の時代 ・新世代抗うつ薬 (SSRI, SNRI, RIMA, など)
(3) 2000 年代～	・戦略的抗うつ薬開発と理論に基づいた薬剤設計 ・ファーマコジェノミクスとバイオインフォマティクス

るが、その実態は未だ明らかにされていない (3)。

3. 病態仮説から独立した抗うつ薬の開発戦略

次に、新規抗うつ薬開発にふさわしい創薬戦略を考えてみたい。一般には、疾患の発症メカニズムが明らかとなって初めてその治療薬が開発できると誤解されがちである。しかし、生活習慣病などの他の内科疾患治療薬の薬理作用を考えてみても明らかのように「創薬ターゲット」は必ずしも病態に関わる機能分子そのものであるとは限らない。例えば、本態性高血圧の治療に、アンジオテンシン 2 受容体拮抗薬、ACE 阻害薬、カルシウム拮抗薬、 β 遮断薬などの薬物が用いられている。しかし、本態性高血圧は多因子性の複雑な病態によるものであり、これら治療薬の直接ターゲットである、アンジオテンシンを介する情報伝達系、カルシウム・チャンネル、 β 受容体などに明らかな異常がみられる訳ではない。我々が用いている高血圧治療薬は、血圧調節に関わる正常な生理機構を利用して血圧コントロールを実現しているのである。つまり、病態メカニズムそのものが不明確であっても、血管収縮制御といった「治癒機転に関与する分子システム」さえ薬物ターゲットとして明らかにすることができたならば、正常に保たれている生理機構を有効利用する形で症状を緩和する薬物を開発していくことは可能であり、より現実的な創薬戦略となるのである。同様に、新規抗うつ薬の開発においてもまず「治癒機転に関与する因子」を「発症脆弱性因子」や「病態仮説」から独立して探索することが必要である (図 1)。

4. 遺伝子から探る新規抗うつ薬の開発

これまでの抗うつ薬研究は主に神経伝達機構のレベルで行われており、セロトニン受容体サブタイプやトランスポーターなどといった特定の分子種を詳細に調べるといった方法がなされてきた。しかし、この方法

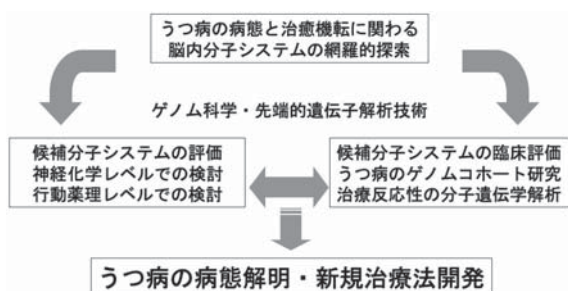


図1 ゲノム薬理学とうつ病研究

では「既存の作業仮説に当てはまる」分子種のみについてしか研究を進めることができない。

そこで、今後の抗うつ薬研究においては「未知の分子種」を含めた研究をスタートさせ「脳システム機構の変化」を解明していく必要がある。つまり、伝統的な薬理学的方法論とは逆方向の「リバース・ファーマコロジー」を取り入れた戦略が有効となる。具体的には、遺伝子やタンパク質発現の量的変化を目印にしたディファレンシャル・クローニング法を用いることにより、生体の機能や治療機転に重要な未知のタンパク質・遺伝子群を病態仮説などの予備知識なしに直接単離することが可能となるのである。

そもそも、ヒトの高次精神機能の障害である「うつ病」や「抗うつ薬」の研究を動物モデルを用いて進めるのには初めからかなりの無理があり、なかなか正攻法で生物学的研究を進めることができない。しかし、我々は実験動物を用いて抗うつ薬の作用機序に関わる候補遺伝子・タンパク質を探索しそれらのヒトホモログを単離していくことでこの限界を乗り越えることが可能であると考えている。我々は、抗うつ薬の奏効機転に関連する遺伝子・ESTの探索するプロジェクトを進めており、コントロール群および様々な処置群(向精神薬投与、電気けいれん負荷、ストレス負荷など)のラット脳サンプルより mRNA を抽出し遺伝子発現プロファイルの解析を進めている。

実際、抗うつ薬投与後に様々な直早期遺伝子(immediate early gene)や転写因子の発現が変化することが報告されている(4)。これら分子群の発現変化は、他の機能分子の発現変化を調節することにより、抗うつ薬長期投与に伴う神経可塑性変化の誘導機序として重要であろう。

5. 新しい仮説の提言

現在、抗うつ薬の新規作用機序として、神経突起の

表2 抗うつ薬長期投与後に想定される神経可塑性変化

- (1) 機能的神経可塑性変化
 - ・神経終末小胞 docking/fusion/exocytotic machinery
 - ・神経伝達物質の放出メカニズム
 - ・シナプス後部におけるシグナル伝達系
- (2) 形態学的神経可塑性変化
 - ・神経突起の進展と退縮
 - ・軸索ガイダンス
 - ・神経細胞死と生存
 - ・神経新生
 - ・神経回路網の再構築

伸展・退縮機構や神経伝達物質の開口放出機構が重要なターゲットである可能性を示唆する知見が集積されつつある。

我々は、これまでに複数の候補遺伝子をラット前頭葉皮質および海馬から同定し、antidepressant related genes (ADRGs) と名付けて cDNA 全長の塩基配列を得、詳細に検討を進めている(4,5)。さらに、得られた候補遺伝子について、クローンごとに RT-PCR 法、Northern blotting 法を用いて再現性の確認および定量をこれまで行ってきたが、この過程は膨大な労力と時間を要する作業であった。そこで我々は、この過程のさらなる効率化と迅速化を図るため、ADRG 遺伝子をスポットした独自の cDNA microarray を開発した(6)。

興味深いことに、我々のプロジェクトで得られた候補遺伝子群について GeneBank/EMBL のデータベースに登録されている塩基配列と相同性解析を行った結果、神経情報伝達・細胞内情報伝達系に関するクローン、タンパク質折り畳み・細胞内輸送に関するクローン、細胞障害・酸化還元系に関するクローン、kf-1 遺伝子(6)などの既知遺伝子群とともに、既知の分子と相同性の低い未知の機能的分子クローンが多数含まれていた。さらに、これらの候補分子群の中には VAMP2(7) や CSP(8) などの神経突起・軸索の伸展や退縮、神経伝達物質の開口放出機構といった神経可塑性変化に機能的に関わるものが複数存在していた(表2)。そこで、(1) 神経突起の伸展・退縮機構、(2) 神経伝達物質の開口放出機構、における ADRG 遺伝子産物の役割についての検討をそれぞれアッセイ系の構築として進めている。現在我々は「抗うつ薬奏効機転の分子機構とは機能タンパク質の発現を介した脳システムの神経可塑性変化である」という作業仮説の検証を進めている。つまり、抗うつ薬の作用機序として「神経回路網の構造的・機能的リモデリング」を想定して研究を進めているのである(5)。

今後は、得られた候補ターゲット分子が真のターゲットとなり得るかを選別するために評価系の構築が必要である。我々は抗うつ薬作用機序として、機能的神経可塑性変化および形態変化を伴った神経可塑性変化という2つの分子機構におけるターゲット候補の役割に注目し評価を進めていくことを計画している。神経突起の伸展・退縮機構、神経伝達物質の開口放出機構、神経新生機構の検討は、抗うつ薬創薬研究において益々重要なテーマとなると予想される。こうした研究プロセスを繰り返し行うことにより、創薬のためのターゲット分子を可能な限り絞り込んで探索することが可能となる。さらに、将来的には得られたターゲット分子に結合し機能を修飾する有機化合物をリード化合物（創薬シーズ）として探索・最適化し、医薬品開発への第一歩を踏み出さねばならない。

6. おわりに

うつ病の新しい治療法開発を目指す研究は、これまで極めて困難なものと考えられてきた。しかし、ゲノム医学を牽引力とした急速な生物学的研究技術の進歩

により、もはや具体的成果が期待できる課題となりつつある。先端的な分子遺伝学的・薬理・生化学的研究技術をより積極的に利用することで、うつ病の病態の解明および新しい治療法開発がますます進展すると予想される。偶然の発見に頼ることのない標的分子システムの探索は我々に画期的な作業仮説を提言するものであり、将来は新しい作用機序を持つ抗うつ薬の開発につながるものであると考えている。我々は、「真の抗うつ薬作用機序とは機能タンパク質の発現を介した脳システムの神経可塑性変化である」という新しい作業仮説の検証を進めている。脳科学の時代といわれる現在、必ずや新規ターゲットタンパク質の発見を通してうつ病が克服されることを信じて疑わない。

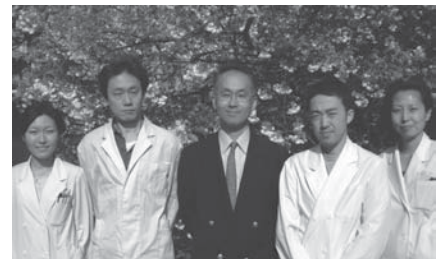
文 献

- 1) Blazer DG, et al. Am J Psychiatry. 1994;151:979-986.
- 2) 山田光彦. 臨床精神薬理. 1998;1:355-363.
- 3) Hyman SE, et al. Am J Psychiatry. 1996;153:151-162.
- 4) Yamada M, et al. Eur Neuropsychopharmacol. 2002;12:235-244.
- 5) 山田美佐, 他. 分子精神医学. 2003;3:7-12.
- 6) Yamada M, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2000;278:150-157.
- 7) Yamada M, et al. Pharmacogenomics J. 2002;2:377-382.
- 8) Yamada M, et al. Neurosci Lett. 2001;301:183-186.

著者プロフィール

山田 光彦 (やまだ みつひこ)

国立精神・神経センター 精神保健研究所 老人精神保健部, 部長, 医学博士。
 ◇学生時代はアイスホッケー部に所属。1991年昭和大学大学院医学研究科博士課程修了(第二薬理学教室)。その後、慶應義塾大学にて父や兄と同様に精神科医師としての道を歩む。米国 Mayo Clinic, 仏国 INSERM 研究員, 昭和大学医学部精神医学教室, 附属烏山病院, 横浜市北部病院を経て現職。◇研究テーマ: 精神薬理学研究, 感情障害研究。◇趣味: ヨット。◇1996年ラファエルソン賞(国際精神神経薬理学会議: CINP)



満開の八重桜の下で。右より、山田(美), 丸山, 山田(光), 高橋, 志田。

山田 美佐 (やまだ みさ)

国立精神・神経センター 精神保健研究所 老人精神保健部, 流動研究員, 薬学博士。
 昭和大学薬学部卒業後、慶應義塾大学医学部薬理学教室研究生, 米国 Mayo Clinic および仏国 INSERM 研究員, 昭和大学薬学部助手を経て現在に至る。◇研究テーマ: 感情障害の病態解明と新規治療薬開発。◇趣味: 食べ歩き, 散歩。

高橋 弘 (たかはし こう)

国立精神・神経センター 精神保健研究所 老人精神保健部, 流動研究員, 薬学博士。
 ◇2005年昭和大学大学院薬学研究科博士課程修了(薬理学教室)。同年より現職。◇研究テーマ: グリア細胞と精神疾患に関する研究。◇趣味: テニス。

丸山 良亮 (まるやま よしあき)

国立精神・神経センター 精神保健研究所老人精神保健部, リサーチレジデント, 薬学博士。
 ◇学生時代はアメリカンフットボール部に所属。2001年昭和大学大学院薬学研究科博士課程修了(薬理学教室)。同年よりカルガリー大学医学部薬理学教室にてポスドク生活を開始。電気生理を中心にイオンチャネル研究に取り組む。'05年秋帰国し、現在に至る。◇研究テーマ: 精神薬理学研究。◇趣味: ハイキング, スノーボード。

志田 美子 (しだ よしこ)

昭和大学大学院薬学研究科 修士課程 在籍(医薬情報科学教室)。
 国立精神・神経センター 精神保健研究所 老人精神保健部 研究生。◇研究テーマ: 新規抗うつ薬創薬ターゲットの探索。◇趣味: 音楽鑑賞, 料理。

ストレスと生活

—ストレスマーカーと計測・解析
“ストレスを楽しもう”—

2006年 第9回若手研究者のための生命科学セミナー



後列左から、太田 尚（万有製薬）、一條秀憲（東京大学）、鈴木国夫（元万有財団）、尾仲達史（自治医科大学）、有田秀穂（東邦大学）

前列左から、山口昌樹（富山大学）、野口範子（同志社大学、東京大学）、二木鋭雄（産業技術総合研究所）、稲垣千代子（関西医科大学）

良いストレスと悪いストレス	二木 鋭雄	62
唾液マーカーでストレスを測る	山口 昌樹	66
遺伝子で応える細胞のストレス応答	野口 範子	71
ASKファミリーによるストレス応答 ～細胞がストレスを感じる仕組みと疾患～	一條 秀憲	75
疲労の分子神経メカニズムと疲労克服	渡辺 恭良	80
涙とストレス緩和	有田 秀穂	85

良いストレスと悪いストレス

二木 鋭雄

要約：「ストレス」という言葉は、日常生活で身近によく使われている。一般にストレスという言葉はネガティブな意味が強く、生活にとって好ましくないものという響きがある。確かに、われわれの身の回りにある多種のストレスにより、からだやこころの健康が脅かされ、その結果、身体の不調、疾患へとつながっていくことが少なくない。しかし、近年の分子生物学の進展に伴い、われわれの生体には極めて精巧な防御システムが構築されており、ホメオスタシスを維持するためのシステム、仕組みができてきていることも分かってきた。ストレス、すなわち外からのシグナルを受けて、生体は巧みに応答する。場合によってはストレスをうまく利用して、生体を常に良い状態に保つようになっている。多くのストレスが、時によっては良いシグナル、良いストレスとなることもある。言い換えると、ストレスがないこと、ストレスフリーの生活が本当にこころや身体にとって良いことなのかどうか、むしろ疑問である。もちろん、あるレベルを超えたストレスに対しては防御力、適応能力が対応できず破綻し、QOLの低下を招くと考えられる。如何にして、少々のストレスにはうまく適応できるような状態に保つようになっているかが肝要であるといえよう。

1. 「ストレス」について

「ストレス」という言葉は日常生活で多くの人にしかも頻繁に使われている。ストレスを感じる、ストレスがたまる、ストレス状態にある、ストレスで気分が落ち込む、ストレスを発散できない、などである。また、育児ストレス、看護・介護ストレス、テクノストレス、環境ストレス、酸化ストレス、などの言葉もある。しかし「ストレス」という言葉には曖昧さがあり、明確な定義はない。元来、物理学の分野での概念であ

ったストレスという言葉を生理学、医学の分野で始めて用いたのはキャノン (Walter Cannon, 1871-1945) で、1914年のことであった(1)。次いでセリエ (Hans Selye, 1907-1982) は多種のストレスに対してラットは同じように反応することを見出し(2)、ストレスというものが「生体に作用する外からの刺激 (ストレッサー) に対して生じる生体の非特異的反応の総称である」と定義した(3)。そして生体の反応には、警告反応期、抵抗期、疲憊期の3つの時間的段階に分けられると考えた。すなわち、ストレスとは何かというと、ストレス刺激 (ストレッサー) により誘発される反応と定義され、一方、ストレッサーとはストレス反応を誘発する刺激と定義される。これは循環定義である。現在では、ストレス刺激、ストレス反応を区別することも少ない。「ストレス」という言葉は曖昧であり、科学の言葉としては適さないという指摘もある(4)。しかし、「ストレス」という言葉は極めて身近に使われ、また状況を端的に現す便利な言葉でもある。ここでは、「ストレス」というものを、外界からの生体への刺激、シグナル、および、それに対する生体の応答、反応、影響をすべてひっくるめたものとして考えたい。

生活でのストレスとして、心理・社会的因子、人間関係に関わるものを考えることが多い。人との出会いや別離、職場でのトラブル、不況、失業、借金、災害、戦争などである。これらに加えて、化学的ストレス(ホルムアルデヒドやアスベストなどの化学物質、環境ホルモンなど)、生物的ストレス(病原菌、花粉など)、および、物理的ストレス(騒音、振動、気象変化など)もある。実際、セリエがラットを用いて行った実験で最初見出したことは、からだの種々の臓器からの抽出液、ホルマリン、X線、低温、高温、出血、機械的外傷、痛み、飢餓、運動など、互いに関連しないと考

られる多種多様なストレスに対して認められた反応が、副腎皮質の肥大、胸腺とリンパ節の萎縮、および胃内壁の出血という共通した3つの徴候であることであった。すなわち、ストレスの質が変わっても、生体は非特異的に、共通のメカニズムで応答することを示している。視床下部-脳下垂体-副腎皮質系、視床下部-副腎髄質系、さらに、下垂体後葉を介した脳の応答メカニズムに関する研究は多くなされている(4,5)。

2. ストレスの影響と疾患

ストレスが多くの疾患の発症に直接結びつくこと、あるいは増悪因子となることは広く認められている。ストレスの種類が多様であるように、関連する疾患も多様である。その例の一部を表1にまとめた(6)。心理社会的要因のストレスにより、いわゆる心身症から、呼吸器系、循環器系、消化器系、内分泌・代謝系、神経・筋肉系、および皮膚科、小児科、眼科、耳鼻科、歯科、泌尿器すべての領域に関連する疾患に関わってくる。放射線や紫外線のように化学的に強いストレスは、生体分子と直接反応し、身体的な変化、傷害から疾患の発症へとつながることがある。

3. 悪いストレスと良いストレス

ストレスは一般にこころや身体に不快な状況をもたらし、上に述べたように多くの疾患にも関わるもので、われわれにとって好ましいものではないと考えられている。しかし、ストレスに対するヒトの応答はその人により大きく変わりうる。セリエが報告したように、ヒトはストレスを受けると、まずはじめは機能低下を

表1 ストレスと疾患

ストレス	疾患
不安, 恐怖	不眠, 疲労, 頭痛, 肩こり
死別, 離別	うつ, 心身症
失業, 退職	自律神経失調症
不況, 借金	循環器疾患(高血圧, 糖尿病)
災害, 戦争	潰瘍, 過敏性腸症候群
化学物質	パニック障害
ウイルス	摂食障害(過食, 拒食)
騒音, 振動	薬物, アルコール依存症
紫外線, 放射線	インポテンツ

もたらずが(ショック相)、その後反転して機能を増大させることによってストレスに対処しようとする(反ショック相)。この防御反応は生体を活性化し、ある場合には結果的にストレスがプラスの効果をもたらすことにもなる。このように、ストレスは常に悪いものとは限らず、場合によっては良い刺激、シグナルにもなる。セリエは、同じストレス刺激でもその程度、強さの差、さらには受け手側の生体条件の差によって、良いストレス(eustress)にも悪いストレス(distress)にもなりうると思った。ストレスの質によって、常に良いもの、常に悪いものもあるが、どちらにもなり得るものも少なくない。例を表2に示した。

1つの例は仕事、課題、ノルマである。たいへんな仕事で、ある人にとってはこころの大きな負担となり、それで落ち込むことになることがあっても、別の人にとっては逆にそれが良い目標になり、はげみになることもある。前者のケースではdistress、後者の場合はeustressとなる。もちろん、前者の人にとっても、状況によってはeustressとなる事もあり得る。

4. ホルミシス効果

毒性物質の影響に関する用量依存性のモデルとして、線形閾値なしモデル、閾値モデル、およびホルミシスモデルの3種がある。(図1)線形モデルは、毒性が用量濃度依存的に現れるというものであり、閾値モデルは、あるレベルまでは毒性が出ず、ある閾値(threshold)以上になってはじめて毒性が現れるというものである。一方、ホルミシスモデルは、あるレベルまでは逆に有益な影響が現れ、レベルが大きくなってはじめて毒性が現れるというものである。ホルミシス(hormesis)という言葉はギリシャ語の“horme”すなわち“to excite”に由来している。その概念は古くから有り、生物の持つ普遍的な適応応答(adaptive response)と考えられる。これに関しては特に放射線の影響について多くの研究がなされている(7-9)。これまでの研究から、1~20センチグレイという低線量の放射線照射により細胞、個体レベルでの防御機能が昂進されること、あらかじめ低線量の放射線を照射してから高線量の放射線を照射すると、前処理をしな

表2 良いストレス(Eustress)と悪いストレス(Distress)

良いストレス	悪いストレス	どちらにもなり得るストレス
入浴, シャワー	厳寒酷暑	運動
熟睡, 快眠	不眠	仕事, ノルマ
いい食事, 軽い飲酒	過食, 飢餓	放射線, 紫外線
成功, 達成感, 充足感	失敗, 不況, 破産	酸素, 脂質酸化物

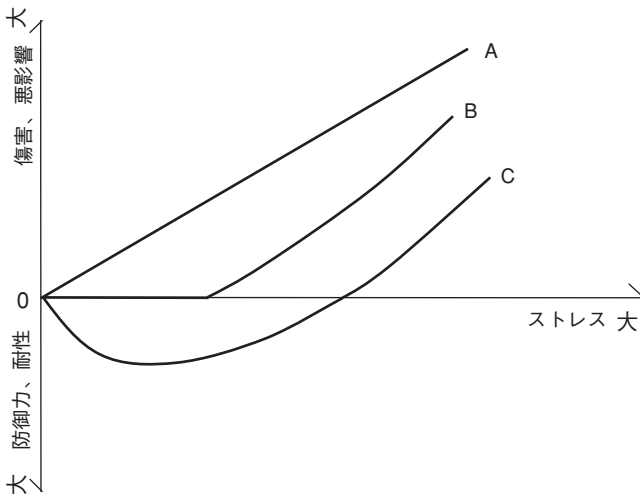


図1 ストレスの影響：3つのモデル

A：線形閾値なしモデル B：閾値モデル C：ホルミシスモデル

い群と比較して傷害が有意に少なくなる，ということが認められている。防御機能の昂進は，スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）および第2相解毒酵素の誘導，グルタチオンの産生，DNA修復酵素の活性化などによることが認められている。この場合，低線量の放射線は良いストレスとして作用するといえる。

5. 酸素と酸化ストレス

この地球上にはじめて現れた生物は嫌気性生物であった。そのときの地球上の酸素濃度は現在の濃度の千分の一程度であった。その後，光合成によって，何億年という時間経過とともに地球上の酸素濃度は増加し，そのために嫌気性生物は減びていった。酸素は毒であった。それに代わって現れた好気性生物は，進化の過程で酸素の毒性に対する防御機能を構築していくことにより生きていくことが可能となった。しかし，酸素が生体にとって元来毒性を持つことには変わらない。実際，生体内でも発生する活性酸素が生体の脂質，タンパク質，核酸を攻撃して酸化変性を誘発し，これが組織傷害を経ていろいろな疾患の発症，発ガン，老化の促進につながる事が多くの基礎研究，臨床研究，疫学データから認められている。一酸化窒素（NO）をはじめとする活性窒素種によっても同様のことが認められている。これらを総称して酸化ストレスといわれている。酸化ストレスが種々の神経疾患をはじめ，自閉症，注意欠陥多動性障害（ADHD）などにも関わることが明らかになりつつあり，注目されている（10，11）。

酸素はわれわれにとってももちろんなくてはならないものである。しかし高濃度の酸素が毒にもなることは，

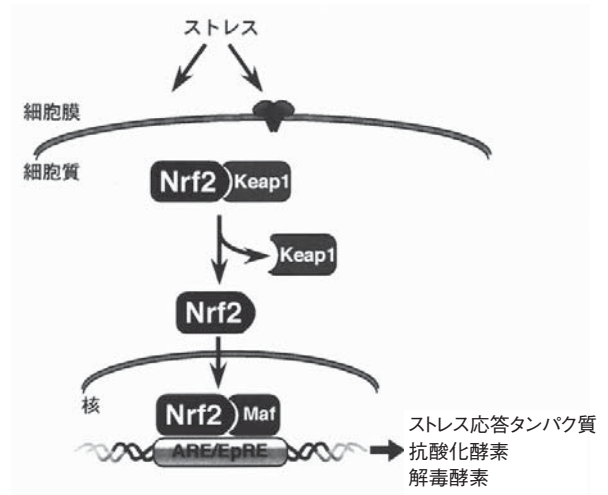


図2 Nrf2を介した適応応答

たとえば潜水夫に見られる肺気腫，未熟児網膜症などで知られてきた。生命活動に伴い必然的にミトコンドリアで産生するスーパーオキシド，過酸化水素などの活性酸素は，疾患の発症，発ガンにつながる酸化ストレスの元凶として受け取られている。不安によって生じる胃潰瘍などでも，活性酸素種が関与することが実験的に認められている。しかし，酸素は治療にも使われてきた。また，生体は活性酸素種を積極的に，かつ合目的に産生させて生体の防御反応にも利用している。また近年の研究により，細胞内情報伝達など，活性酸素種は生命の発生から死に至るまで重要な働きをしていることも明らかになってきた。酸素，活性酸素種ともに良悪どちらのストレスにもなる。

不飽和結合を2個以上持つ高度不飽和脂肪酸は容易に酸素で酸化されヒドロペルオキシドなど過酸化物をはじめ多種の脂質酸化物となる（12）。これらは食品の酸敗，あるいは細胞毒性など，負の効果を持つものとして知られてきた。特に4-ヒドロキシ-2-ノネナル（4-HNE）などの α ， β -不飽和アルデヒドは毒性が大きいことが分かっている。それはこれらが速やかにグルタチオンやタンパク質と反応することによる（13）。しかし最近，これら反応性アルデヒドばかりでなく，多くの脂質酸化物が細胞の防御機能を昂進させ，適応応答を誘起して細胞の活性を昂進させることが見出された。

6-ヒドロキシドパミン（6-OHDA）は神経毒性物質であり，パーキンソン病のモデル動物発生のためにも利用される。6-OHDAは培養神経細胞死を誘発することがよく知られている。しかし，あらかじめ低濃度の4-HNE，15d-PGJ2，リン脂質酸化物，ヒドロキシ

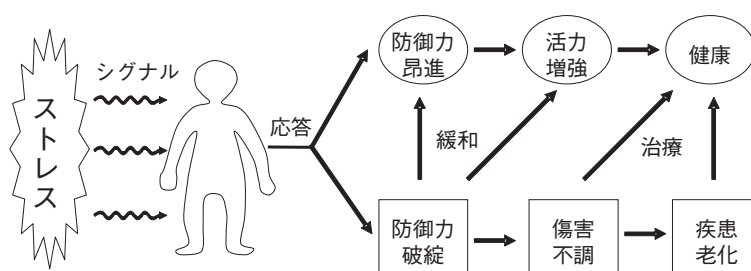


図3 ストレスに対するヒトの応答と影響

コレステロールなどの脂質酸化物で神経細胞を前処理してから6-OHDAを培養細胞に添加すると、その毒性は顕著に抑制される(14)。そのメカニズムを詳細に検討した結果、抗酸化酵素や解毒酵素の発現を制御する転写因子Nrf2 (Nuclear factor, erythroid 2 related factor)を脂質酸化物が活性化するルート(図2)と、Nrf2に依存しないメカニズムで細胞の抵抗性、防御力を増加させていることによることが分かった(15, 16)。すなわち、本来細胞毒性を有する脂質酸化物が細胞に刺激を与えて防御力を昂進させ、結果的に良いストレスとなっていると考えられる。Nrf2は環境ストレスに対する防御などにも関連していることが明らかにされている(17)。

6. まとめ

上に述べたように、われわれは常にストレスにさらされている。突然予期しないストレスにおそわれることもある。これらストレスはヒトにとっては外からの刺激、シグナルであり、生体はそれに対して応答する。ストレスは多様であるが、生体の応答には共通のものも多い。しかし、応答のパターンには個人差が大きく、また、その個人の状況によっても応答、そして影響が変わることが多い。ストレスを良い刺激として受け止

め、こころ、身体を活性化することもできる。この場合、こころ、身体ともに恒常性の維持、健康を実現できる。逆に、同じストレスでも負荷が大きく、悪い影響がでることもある。その場合にはストレス状態の緩和、治療も必要となろう(図3)。常に良いライフスタイルを保ち、ストレスをうまく利用していくことが肝要と考えられる。

文 献

- 1) Cannon WB. Am J Psychol. 1914;25:256-282.
- 2) Selye HA. Nature. 1938;138:32.
- 3) Selye HA. J Clin Endocrinol. 1946;6:117-230.
- 4) 尾仲達史. 日薬理誌. 2005;126:170-173.
- 5) 平野鉄雄, 他. 脳とストレス. 共立出版; 1995.
- 6) 河野友信, 他. ストレスの事典. 朝倉書店; 2005.
- 7) Luckey TD. Hormesis with Ionizing Radiation. CRC Press; 1980.
- 8) Miura YJ. Radiat Res. 2004;45(3):357-372.
- 9) Calabrese EJ, et al. Toxicol Appl Pharmacol. 2005;202:289-301.
- 10) Helliwell B. J Neurochem. 2006;97:1634-1658.
- 11) Chauhan A, et al. Pathophysiol. 2006;13:171-181.
- 12) Niki E, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2005;338:668-676.
- 13) 柴田貴広, 他. 生化学. 2005;77:1189-1192.
- 14) Chen ZH. FEBS Lett. 2006;580:479-483.
- 15) Chen ZH. J Biol Chem. 2005;280:41921-41927.
- 16) Chen ZH. J Biol Chem. 2006;281:14440-14445.
- 17) 鈴木隆史, 他. 実験医学. 2006;24:1737-1743.

著者プロフィール

二木 鋭雄 (にき えつお)

(独)産業技術総合研究所 ヒューマンストレスシグナル研究センター長, 工学博士。

◇1963年 東京大学工学部卒業, '68年 東京大学大学院工学系研究科修了。'68年 東京大学工学部助手, 講師, 助教授を経て, '86年 同教授, '90年 東京大学先端科学技術研究センター教授, '00年 同退官, 宇都宮大学工学部教授, '01年より現職。◇専門分野: 生命反応化学, 特に酸化ストレス。



唾液マーカーでストレスを測る

山口 昌樹

要約：厚生労働省の人口動態統計資料によると、1977年から1997年までは年間20,000-25,000人で推移していた自殺者数は、1998年に一気に年間3万人を越え、それ以降3万人前後で推移している。このことから、自殺に至る一因であるストレスが原因の神経精神疾患は、既に深刻な社会問題となったことが窺われる。さらに、ストレスは、神経精神疾患以外にも生活習慣病など様々な疾患の引き金の1つと考えられている。そこで、ストレスの状態を遺伝子レベルで診断し、疾患の予防や治療につなげようとする試みが始まっている(1)。これは、慢性ストレスの検査と言い換えることができよう。一方で、疾患の前段階、すなわち人が日常生活で感じているストレスの大きさを客観的に把握する試みもなされている。その目的の1つは、自らのストレス耐性やストレスの状態をある程度知ることによって、うつ病や慢性疲労症候群などの発症を水際で食い止めようという予防医療である。もう1つは、五感センシングが挙げられる。独自の価値観で快適性を積極的に追求する人が増えてきており、それと呼応するように、快適さを新しい付加価値とした製品やサービスが、あらゆる産業分野で創出されている(2)。消費者と生産者の何れもが、味覚や嗅覚を定量的に知ることよりも、それらの刺激で人にどのような感情が引き起こされるかということ(五感センシング)に興味がある。これを可能にするためのアプローチの1つが、唾液に含まれるバイオマーカーを用いた定量的なストレス検査である。これらは、急性ストレスの検査が中心的なターゲットといえよう。ストレスとは、その用語が意味する範囲が広く、研究者によっても様々な捉われ方、使われ方がなされていることが、かえって混乱を招いているようだ。代表的な肉体的ストレスである運動とバイオマーカーの関係については、これまで

に様々な報告がなされている(3)。筆者が注目しているのは、主として精神的ストレスであり、人の快・不快の感情に伴って変動し、かつ急性(一過性)もしくは慢性的に生体に現れるストレス反応である。ここでは、唾液で分析できるバイオマーカーを中心に、このようなストレス検査の可能性について述べてみたい。

1. バイオマーカー

人体に加えられた様々な刺激は、感覚器で検知され、末梢神経を介して脳(中枢神経系)に伝達される。脳では、それらの刺激が認知され統合される。刺激に対応するために脳から発せられた指令は、交感神経系や内分泌系を介して全身に伝達され、各器官の亢進(活性化)や抑制(沈静)などの生体反応として現れる。

バイオマーカーとは、このような人が発する生体情報を、血液、間質液、唾液、尿などの生体サンプルに含まれる化学物質の濃度から読み取り、数値化・定量化した指標を意味している。交感神経系や内分泌系に直接・間接的に関与するバイオマーカーでは、ストレスラーの強度に応じて濃度が顕著に変化するものがあり、ストレスマーカーとも呼ばれる。脳波(EEG)、脳血流量、血圧、心拍数や心電図(ECG)などの物理計測だけでは押さえ込めなかったストレスを定量評価するには、バイオマーカー(化学計測)は必要不可欠なものとなりつつあり、その技術開発には大きな社会的ニーズがある。

ストレスマーカーは、血液に含まれるものが多く、その一部は唾液でも分析可能である(表1)(4)。唾液から分析できるストレスマーカーは、非侵襲で、随時性、簡便性に優れ、血液のようにサンプルの採取がストレスラーにならないというメリットがある。ただ、今のところ急性ストレス検査が中心で、慢性ストレス

キーワード：ストレス、バイオマーカー、唾液、アミラーゼ、交感神経
富山大学 大学院理工学研究部 (〒930-8555 富山市五福 3190)
e-mail: yamag@eng.u-toyama.ac.jp

Title: Stress evaluation using a biomarker in saliva. Author: Masaki Yamaguchi

表 1 ストレスマーカーとしての可能性が指摘されている生化学物質

指 標	生化学物質	体液	特 徴
交感神経系 内分泌系	コルチゾール (CORT)	血液 唾液	ストレス指標として古典的に用いられてきた。
	エピネフリン (EP)	血液	副腎髄質から分泌されるカテコールアミンの 80% はエピネフリン。
	ノルエピネフリン (NE)	血液	古典的なストレス指標。ホルモンであると同時に神経伝達物質。血中濃度が低く唾液での分析は困難。
	ドーパミン (DA)	血液	ノルエピネフリンとともに、神経伝達物質。
	クロモグラニン A (CgA)	唾液	副腎髄質クロム親和性細胞や交感神経から分泌されるタンパク質の一種で、精神的ストレスを反映。
	アミラーゼ (AMY)	唾液	唾液アミラーゼは、交感神経系の直接神経作用と、ノルエピネフリン作用の両作用で分泌される。
	セロトニン (EDTA)	血液 髄液	生理的活性アミンの一種で、脳のセロトニンは神経伝達物質である。睡眠、体温、情緒・気分、食欲の調節に関係する。
	5-ハイドロキシインドール酢酸 (5-HIAA)	尿	セロトニンの代謝物を測る中枢神経ホルモン検査で測定される。
	黄体刺激ホルモン (LTH)	血液	別名プロラクチン。生理作用は、乳腺の発育や乳汁分泌の開始など。ストレスに伴って変化。
	成長ホルモン (GH)	血液	別名ソマトトロピン。ストレスや運動で分泌が増加することが知られる。
	β -エンドルフィン	血液	内因性モルヒネ様ペプチドの一種。鎮痛活性が高く、快楽物質ともいわれる。
副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)	血液	視床下部の刺激で分泌され、副腎皮質のステロイド合成を促す下垂体前葉ホルモンで、朝高く夜低いという明瞭な日内変動がある。	
免 疫 系	免疫グロブリン	血液	B 細胞によって作られる抗体の一種で、IgA を測定することが多い。精神的ストレスと関係。
	ナチュラルキラー (NK) 細胞活性	血液	ガン細胞やウイルス感染細胞などから生体を防御する免疫活性の指標となる。
	インターロイキン (IL)	血液	サイトカインの一種で、脳内ストレス応答機構に関与している。

検査の可能性は十分に検証されているとはいえ、今後の課題であろう。

ストレス研究において、コルチゾールやノルエピネフリンは、ゴールド・スタンダードとして多用されてきた。特に、内分泌系の指標であるコルチゾールは、血液中の基準値が 10-15 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と比較的高いので、免疫測定法 (ELISA) など高感度な分析法を用いれば唾液から分析できる (5, 6)。最近では、マイクロ電気泳動などによる分析時間の短縮化も検討されている (7)。クロモグラニン A というホルモンの一種も、ELISA を用いて唾液から分析でき、そのストレスマーカーとしての可能性が指摘されている (8, 9)。一方、交感神経系の指標であるノルエピネフリンでは、その基準値は 24 時間蓄尿でも 10-90 $\mu\text{g}/\text{日}$ ほどしかなく、血液検体による検査が行われており、唾液による分析はまだ不可能である。これらのホルモンは、刺激から分泌まで通常 20-30 分の時間遅れがあることも、ストレス検査における扱いにくさの 1 つである。

免疫系は、生体の 2 大情報伝達制御機構である神経

系と内分泌系の影響を強く受けることから、免疫グロブリンやナチュラルキラー (NK) 細胞活性などのバイオマーカーについて、ストレスとの関係が研究されている。IgA は唾液からも分析でき (S-IgA)、タバコ・飲酒頻度 (10) や、細菌や感染症などの生物的ストレス (11) との関係が検討されている。NK 細胞活性では、筆記試験による低下が報告されている (12)。しかし、これらの免疫系の指標と精神的ストレスに関する報告はまだそれほど多くない。

2. 唾液アミラーゼとストレス

筆者は、交感神経系の新しい指標として、唾液腺における α -アミラーゼ分泌 (唾液アミラーゼ) に着目している。唾液アミラーゼは、交感神経-副腎髄質系 (Sympathetic nervous-adrenal medullary system, SAM system)、すなわちノルエピネフリンの制御を受けていることが判っている (13, 14)。さらに、唾液アミラーゼ分泌は、SAM system だけでなく直接神経作用による制御システムも存在する (図 1)。この直接神経作用

により唾液アミラーゼ分泌が亢進される場合には、応答時間が1～数分と短く、ホルモン作用に比べて格段にレスポンスが早い。すなわち、唾液アミラーゼを用いれば、唾液腺が低濃度のノルエピネフリンの増幅器の役割を果たすだけでなく、コルチゾールよりも迅速に反応する優れた指標となり得ると期待できる。

さらに、不快な刺激では唾液アミラーゼ活性が上昇し、快適な刺激では逆に低下することを見出し、唾液アミラーゼによって快適と不快を判別できる可能性があることを示した(15, 16)。

3. 交感神経モニタと生体情報収集システム

使用環境に左右されず、迅速に交感神経の興奮／沈静を検査するために、唾液アミラーゼ活性による携帯式の交感神経モニタを試作した(図2(a), (b))(17, 18)。本モニタは、使い捨て式のテストストリップと本体(110 × 100 × 40 mm³, 350 g)で構成されており、共同研究パートナーである医療機器メーカーから、2005年末より市販されている(図2(c))。

この交感神経モニタでは、唾液アミラーゼの基質としてクロモゲン(Gal-G2-CNP)を用い、それを試験紙に含浸した。Gal-G2-CNPは、 α -アミラーゼで加水分解されると、時間とともに黄色に発色する。本反応は、基質がなくなるまで続くので、酵素活性を定量するには、反応時間を規定できるような機構が必要である。そこで、唾液採取紙とアミラーゼ試験紙の2つを用意し、それらを使い捨て式のテストストリップに組み込み、本体に設けた唾液転写機構で唾液を定量してから、所定時間内に唾液アミラーゼ活性を分析する

方法を考案した。本モニタは、30 μ l 程の唾液を採取するのに30秒、転写と分析に30秒が必要であり、計1分ほどで唾液アミラーゼ活性を分析できる。

唾液アミラーゼは、他のストレスマーカーと比べて下記の利点があると考えている。

- 1) 非侵襲性：唾液由来であり、採血が不要でサンプルの採取による精神的・肉体的苦痛が少なく、また医療従事者でなくともサンプルを採取できる。
- 2) 随時性：100 μ l 程のサンプル量ならば、1分程で

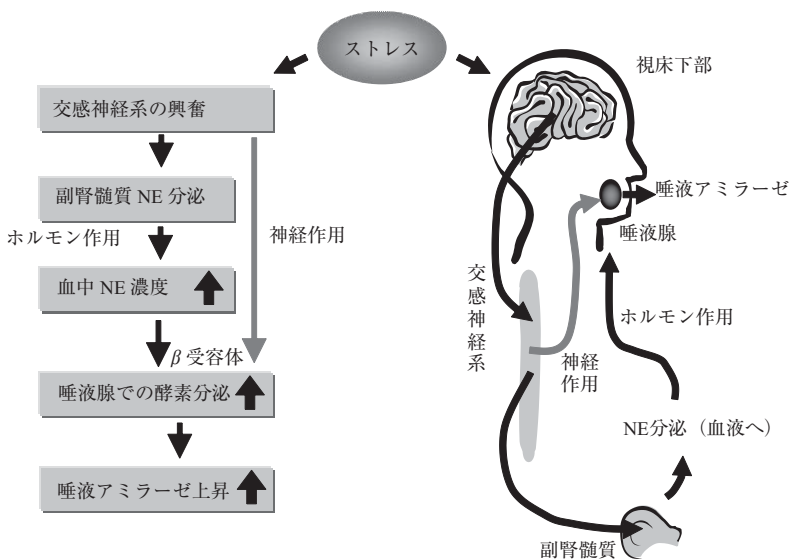


図1 ストレスによる唾液アミラーゼ分泌の機序
NE：ノルエピネフリン



(a) 本体に装着した使い捨て式のテストストリップ
(110 × 100 × 40 mm³, 350 g)



(b) テストストリップを口腔に挿入すると約30秒で唾液が採取できる



(c) 市販されたストレス測定器
(ニプロ株, COCORO METER, 130 × 87 × 40 mm³)

図2 唾液アミラーゼ活性を分析して交感神経活性を評価する携帯式交感神経モニタ

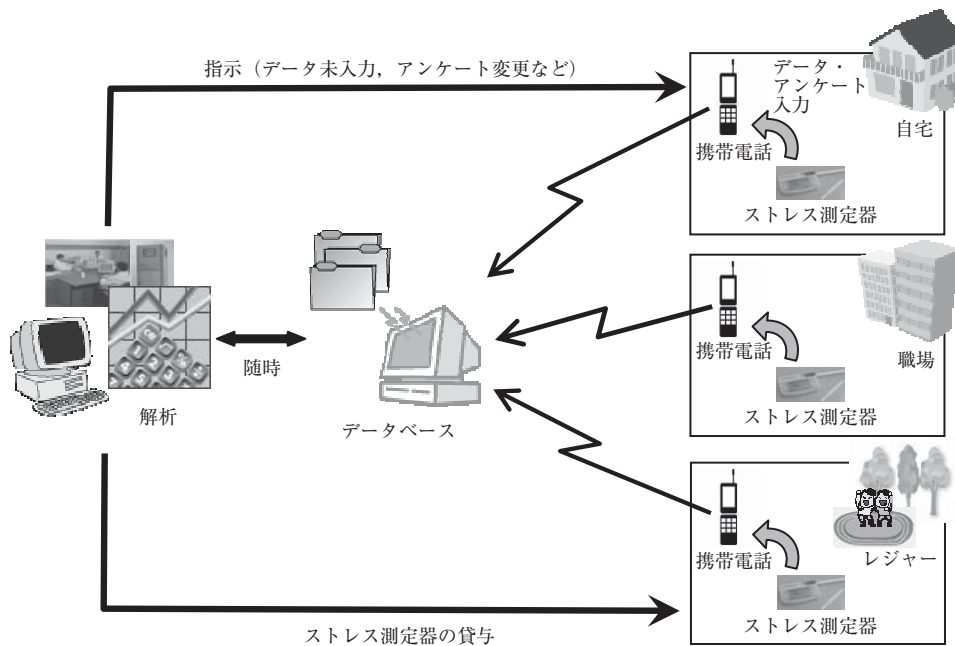


図3 携帯電話を介したストレス/快適性情報のリアルタイム収集システム

採取できる。

- 3) 即時性：唾液アミラーゼ活性が高く，酵素法で分析できるので，分析時間が1分以内。
- 4) 簡便性・携帯性：ドライケミストリー・システム（試験紙）を用いれば，分析方法をシンプルにでき，測定器の携帯化が可能。
- 5) 経済性：酵素法で分析できるので，ELISAなどの免疫法に比べ，分析コストが1/100。

もし，ストレス検査が研究室内だけでなくフィールド (*in use*) でも定量的に実施できるようになれば，個人の日常の生活空間（環境）におけるストレスの度合いを知るための有用な手段となる。図3は，そのようなストレス/快適性評価を行うために構築した，携帯電話を介した生体情報のリアルタイム収集システムである。人を測定対象とした研究では，標準的な検査プロトコルというのは決めがたく，むしろ状況や環境に応じて適切な検査プロトコルを考えていくことが大変重要である。このシステムを用いれば，ほぼリアルタイムでデータを収集・解析できるので，早い段階で検査の成果を確認し，検査プロトコルの問題解決を図ることができる。また，各被検者の動向を常時把握することが可能なので，データ未入力（欠損値）やアンケート変更などにも迅速に対応できる。このシステムは，健康・福祉機器，医薬品や工業製品の有用性を評価する手法としても利用できるであろう。

4. 五感センシング

人の持つ五感を模擬したセンサーは，五感センサーなどと呼ばれ，ロボット，バーチャルリアリティーや人工臓器への応用が考えられている。脳は，五感から入力された膨大な情報をリアルタイムに処理して外界を認識しており，その仕組みの解明については，医学的，心理学的，分子生物学的側面から，多くの研究者が独自に研究を進めている。筆者は，視覚，聴覚，味覚や嗅覚などの刺激によって，人にどのような感情が引き起こされるかということに興味を持ち，刺激の検出から感情の動きに伴って起こる身体的・生理的变化に至る過程（情動）までを含めて，五感センシングと呼んでいる。この場合，五感刺激（人への入力）を定量することよりも，感情（人からの出力）を数値化することに，より大きな意義がある。

五感センシングへのアプローチの1つとして，快・不快の感性に深く関わる生体反応を，バイオマーカーで計測することを目指している（図4）。従来のストレス検査では，交感神経系のみ，もしくは内分泌系のみを計測するものが中心であった。また，体の状態は時々刻々と変化するのに，被検者が健常であるかどうかは主観的に判断されており，疾患などの影響を定量的に考慮していなかった。五感センシングでは，神経系，内分泌系の情報伝達制御機構だけでなく，これらの影響を強く受ける免疫系も重要な指標となろう。すなわち，これら3つの系に関わる複数のストレスマー

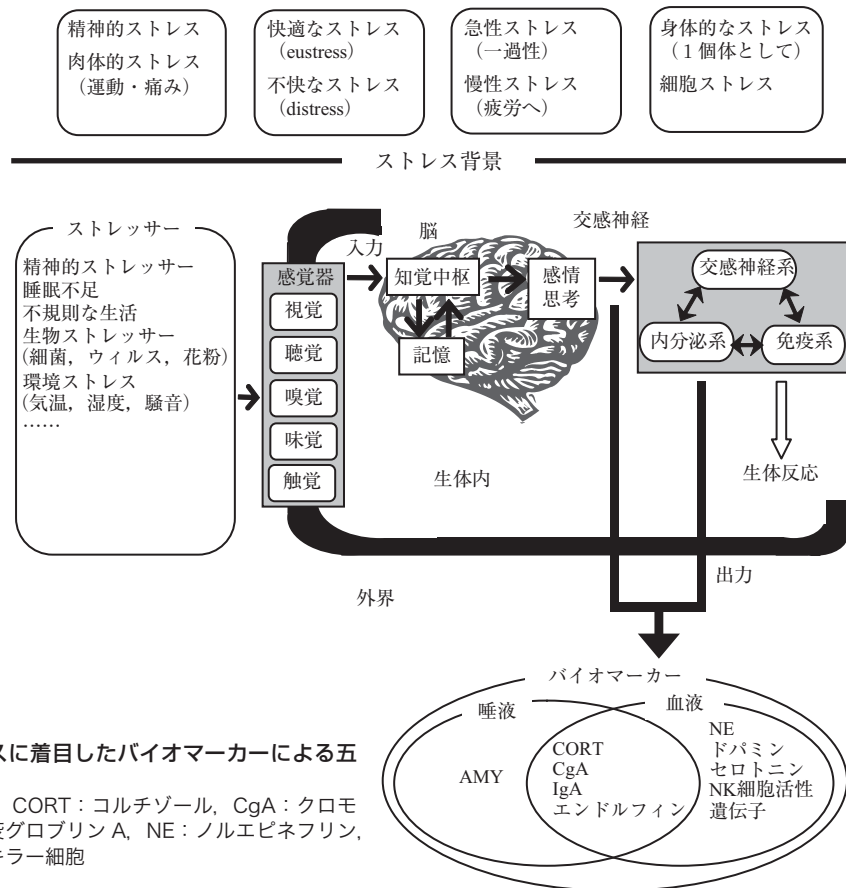


図4 精神的ストレスに着目したバイオマーカーによる五感センシング
 AMY: α -アミラーゼ, CORT: コルチゾール, CgA: クロモグラニン A, IgA: 免疫グロブリン A, NE: ノルエピネフリン, NK細胞: ナチュラルキラー細胞

カーを同時に分析することが、五感センシングを実現するキーテクノロジーの1つとなる可能性がある。

5. おわりに

ストレスマーカーは、疾患の診断や予防医療などの医学的利用のみでなく、視点を変えれば日常生活から産業製品まで、私達のQOLの向上に役立てることができる。唾液は血液由来なので、濃度差こそあるが血液とほとんど同じ化学成分が含まれており、新規のストレスマーカーの発見も期待されている。

謝辞：本研究の一部は、(独)科学技術振興機構 (JST) の研究資金によって行われている。

文 献

- 1) Rokutan K, et al. Bio Industry. 2002;19:19-24.
- 2) マーチン・リンストローム. 五感刺激のブランド戦略. ダイアモンド社; 2005. p. 323.
- 3) Pedersen BK, et al. Physiol Rev. 2000;80:1055-1081.
- 4) 山口昌樹, 他. 生命計測工学. コロナ社; 2004. p. 137-155.
- 5) Vining RF, et al. Ann Clin Biochem. 1983;20:329-335.
- 6) Kirschbaum C, et al. Neuropsychobiology. 1989;22:150-169.
- 7) 田中喜秀. 産総研 TODAY. 2006;24-25.
- 8) Simon JP, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1988;85:1712-1716.
- 9) Nakane H, et al. Int J Psychophysiol. 2002;46:85-89.
- 10) McMillan SA, et al. J Clin Pathol. 1997;50:819-822.
- 11) Gleeson M. Pediatr Res. 1993;33:554-556.
- 12) Glaser R, et al. Psychiatry Res. 1985;16:233-239.
- 13) Groza P, et al. Rev Roum Physiol. 1971;8:307-312.
- 14) Speirs RL, et al. Arch Oral Biol. 1974;19:747-752.
- 15) 山口昌樹, 他. 医用電子と生体工学. 2001;39:234-239.
- 16) Takai N, et al. Arch Oral Biol. 2004;49:963-968.
- 17) Yamaguchi M, et al. Biosens Bioelectron. 2004;20:491-497.
- 18) Yamaguchi M, et al. Biosens Bioelectron. 2006;21:1007-1014.

著者プロフィール

山口 昌樹 (やまぐち まさき)

富山大学理工学研究部 生命・情報・システム学域, 助教授, 工学博士.

◇ 1987年信州大学大学院修士課程修了, 同年ブラザー工業(株)入社. '94年信州大学大学院博士後期課程修了(博士). '95年東京農工大学助手, '99年富山大学助教授, 現在に至る. '01年日経BP技術賞受賞, '04年(有)バイオ情報研究所を創業(兼業). ◇研究テーマ: 専門領域は生体医学で, 生命計測工学, 健康・福祉工学, ストレス研究に従事. ◇趣味: スキー, 旅行. ◇主な著書: 唾液は語る(工業調査会), 生命計測工学(コロナ社), 健康・福祉工学ガイドブック(工業調査会).



遺伝子で応える細胞のストレス応答

野口 範子

要約：われわれヒトを含め地球上の生物は、常に活性酸素やフリーラジカルによる酸化傷害の危険にさらされてきた。それにもかかわらず、発展することができたのは、酸化ストレスに対する防御機構を獲得したためと考えられる。防御機構の構築およびその維持は、細胞の遺伝子発現の調節によってなされてきた部分が多い。生物が酸素を使って生命を維持するうえで、活性酸素やフリーラジカルの生成は避けることができない。これらの活性種は、細胞を構成する脂質、タンパク質、核酸などを酸化し、様々な酸化生成物を与える。酸化生成物による遺伝子誘導を解析することによって、これまで細胞毒性の強い物質として報告されていたものが、様々な細胞防御遺伝子の発現誘導能をもつことがわかってきた。また、放射線は生体に傷害を与えることが知られているが、高線量で暴露する前に低線量で処理しておくことで、傷害が抑制されることが報告されている。これはホルミシス現象と呼ばれるものであるが、同じことが脂質酸化物による細胞傷害の防御能充進に適用できることが証明されてきた。つまり、低濃度の細胞毒性の強い脂質酸化生成物で細胞を前処理しておくことで、それに続いて高濃度でひきおこされる細胞傷害を軽減することができる。そのメカニズムは脂質酸化生成物の種類によって異なるが、一部は転写因子 Nrf2 で制御される細胞防御酵素の発現誘導によることが証明されている。また、詳細は明らかではないが、Nrf2 非依存的に細胞防御系が充進するメカニズムが存在することも示唆されている。

1. 酸化ストレスとの疾患

われわれヒトを含め地球上の生物は、酸素を利用して効率よくエネルギーを得ることに成功し発展してき

た。その一方で、生物は常に活性酸素やフリーラジカルによる酸化傷害の危険にさらされてきた。生物が酸化ストレスに倒れることなく、これまで発展することができたのは、酸化ストレスに対する防御機構を獲得したためと考えられる。近年、様々な異常気象に象徴されるようにわれわれの住む地球環境は大きく変わってきており、紫外線や有害な化学物質に曝される割合がまた増えてきている。外環境だけではなく生活習慣の変化にともない、癌や動脈硬化、糖尿病といった、いわゆる生活習慣病は増加の一途を辿っている。これらのいずれの疾患の発症にも酸化傷害は関係しているといってもよい(図1)。

2. 酸化ストレスに対する防御機構

われわれのように常に酸化ストレスに曝される危険性をもつ生物は、優れた防御システムを構築して酸化ストレスに対抗、言い換えれば適応してきたことができる。酸化ストレスに対する防御システムは機能別に4つに分けることができる。1) 活性酸素、フリーラジカルの生成を抑えること、2) 生成した活性

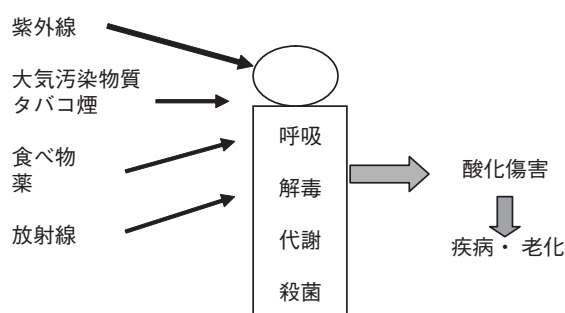


図1 生体の内外で生じる活性酸素・フリーラジカルによる酸化ストレスと傷害

キーワード：酸化ストレス、適応応答、防御機構、遺伝子発現、DNA マイクロアレイ
 同志社大学工学部環境システム学科 (〒610-0321 京田辺市多々羅都谷 1-3)
 東京大学先端科学技術研究センター (〒153-8904 東京都目黒区駒場 4-6-1)
 e-mail: nnoguchi@mail.doshisha.ac.jp

Title: Stress responses of cells via gene expression. Author: Noriko Noguchi

表 1 酸化ストレスに対する生体の防御システム

1) 予防型抗酸化物	ラジカルの生成を抑制	カタラーゼ、スーパーオキシドデismターゼ (SOD)、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオンSトランスフェラーゼ、トランスフェリン など
2) ラジカル捕捉型抗酸化物	連鎖開始反応を抑制 連鎖成長反応を抑制	ビタミンC、ビタミンE、尿酸、ビリルビン、アルブミン、カロテノイド、ユビキノール、フラボノイド など
3) 修復、再生型抗酸化物	酸化変性物質の修復と再生	リパーゼ、プロテアーゼ、DNA修復酵素、アシルトランスフェラーゼ など

酸素、フリーラジカルを速やかに消去、捕捉、安定化すること、そして、3) 生じた損傷を修復し、失ったものを再生すること。4) 必要に応じてこの防御機能を誘導すること。このような作用をもつものを広く抗酸化物 (antioxidant) といい、それぞれ機能ごとに、1) 予防型抗酸化物 (preventive antioxidant), 2) ラジカル捕捉型抗酸化物 (radical-scavenging antioxidant), 3) 修復、再生型抗酸化物 (repair, *de novo* antioxidant), 4) 適応機能 (adaptation) と呼ぶ。表 1 に 1) から 3) の機能別抗酸化物に属する物質を示している。1) と 3) は主に酵素 (タンパク質) がその役割を担うが、2) のラジカル捕捉型抗酸化物の多くは、一般の人にも馴染み深いビタミン (ビタミンC, ビタミンE) やポリフェノール、コエンザイムQなどの低分子化合物である。これらの抗酸化物は活性酸素やフリーラジカルを捕捉するか安定化させて、細胞を攻撃するのを防いだり、酸化傷害が広がることを防ぐ役割を担っている。これらの化合物の多くは食物から摂取され、生体内の

酵素によって代謝を受ける。1) と 3) に属する物質はタンパク質であるため、これらの機能は遺伝子の発現レベルによっても影響を受ける。

3. 酸化ストレスへの適応

生体がもつ抗酸化防御システムの4つ目に、必要に応じて1) から3) の防御機能を誘導して「適応機能」をはたす系が分類されている。抗酸化システムの機能別分類はかなり以前からなされていたが、適応機能のメカニズムの詳細については最近急速に明らかにされてきている。本研究のねらいの中心は、酸化ストレスに対する生体の適応のメカニズムを、細胞の遺伝子発現制御に注目して明らかにすることである。

4. 遺伝子発現解析の方法

従来の Differential Display 法や cDNA subtraction 法に代わり、より包括的な遺伝子発現解析法として DNA マイクロアレイ法が開発された。DNA マイクロ

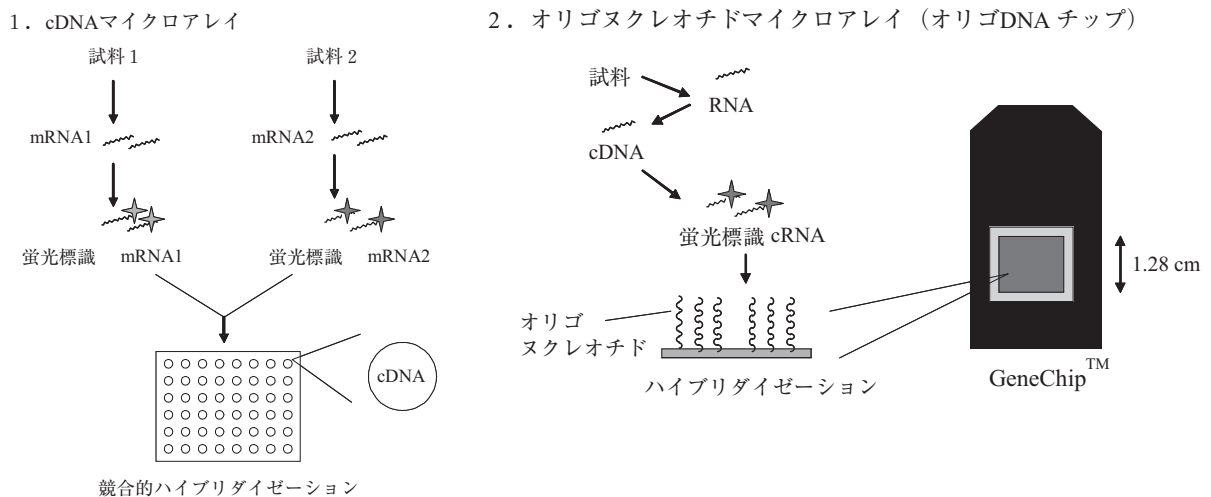


図 2 DNA マイクロアレイの種類と原理

アレイとは、数千種以上の DNA またはオリゴヌクレオチド（これらをプローブと呼ぶ）を数センチ四方の基盤上に固定したもので、蛍光標識した試料 RNA（サンプルプローブまたはターゲット）とハイブリダイゼーションさせて遺伝子の発現量を検出するものである。現在では多種の DNA マイクロアレイが製品化されており、その精度、感度ともに向上する一方、価格が低下してきたこともあり、DNA マイクロアレイを用いた遺伝子解析の報告が増えてきている。

1) DNA マイクロアレイの種類

DNA マイクロアレイはプローブの種類と作成方法の違いにより大きく2つに分類される（図2）。cDNA の断片をガラスなどの基盤上に固定する方式と、オリゴヌクレオチドを基盤上で合成（オリゴ DNA チップまたはオリゴヌクレオチドマイクロアレイ；Affymetrix 社の GeneChip™），もしくは合成したオリゴヌクレオチドを基盤上に固定する方式である。

① cDNA マイクロアレイ

PCR で増幅した cDNA 断片を基盤上に固定した cDNA マイクロアレイは、異なる蛍光物質を用いて標識した2つの検体を競合的ハイブリダイゼーションさせ、両者の蛍光強度の量比を算出することにより発現量を求める。研究目的にあわせて必要なプローブを並べるカスタムアレイを作成することが容易である一方で、データを共有する場合に標準化が困難であるという問題がある。

②オリゴ DNA チップ

GeneChip™ は、mRNA に対する相補的な 25 mer（塩基長）のオリゴヌクレオチドプローブを1つの遺伝子あたり 11～20 デザインし、基盤上で光照射化学合成技術を用いて作成する。フォトリソグラフィックマスクにより特定のセルのみ光照射して活性化し、ヌクレオチドの化学的カップリング反応を行わせる。あらかじめデザインしたマスクを順次用いることにより、アレイ上の決められた位置に各種のオリゴヌクレオチドプローブを合成して高密度アレイを構築する。現在、市販されているアレイは 11 ミクロン四方のプローブセルが約 1000 × 1000 並び 100 万個以上のオリゴヌクレオチドが 1.28 センチ四方の基盤上に合成されている。発現解析用チップの種類はヒト、マウス、ラット、酵母を中心に作成されていたが、近年種類が急速に増え、牛、犬、カエル、ゼブラフィッシュ、線虫、その他多岐に渡っている。ヒト用チップは、現在明らかにされているヒト遺伝子のほぼすべてを網羅しているといつてよい。

2) オリゴ DNA チップの実際

試料（培養細胞、組織）から RNA を抽出し、T7 プロモーターを有するプライマーを用いて cDNA を合成し、さらに T7RNA ポリメラーゼにより cRNA を合成するが、その際に Biotin-11-CTP と Biotin-16-UTP によって標識を行う。RNA は全 RNA, Poly (A)-RNA いずれも使用可能である。全 RNA の場合 10 μg あればハイブリダイゼーションを行うのに十分である。プローブに結合したビオチン化 cRNA にアビジン-フィコエリスリンを結合させ、共焦点アルゴンレーザー スキャナーを用いて蛍光分子を励起させ、その蛍光量を測定する。

発現強度の数値化（スコアリング）は、オリゴヌクレオチドプローブをデザインする際に、配列が完全に一致する「perfect match」の他に、配列の中央付近に 1 塩基異なる「miss match」を対にして用意する。この対のシグナル強度の差の平均値（average difference）を遺伝子の発現強度とする。これにより、類似の配列をもつターゲットからのクロスハイブリダイゼーションを補正することができ、絶対量としての精度、再現性も良好になる。バックグラウンドの補正も必要であるが、スコアリングと合わせてソフトの改良により解析結果の信頼性は向上させるように工夫されている。これらの詳細については他の成書を参照されたい（1）。

5. 酸化ストレスに対する遺伝子発現応答

酸化ストレスが主な原因となると考えられる疾病は数多くあるが、動脈硬化はその代表ともいえる病態である。このことは、動脈硬化の発症や進展に、酸化変性を受けた低比重リポタンパク（low density lipopro-

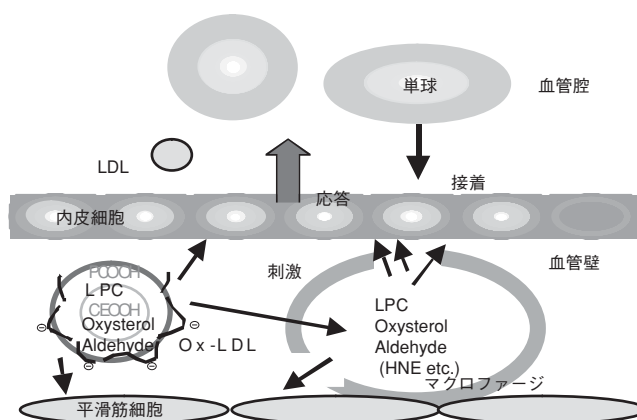


図3 動脈硬化の酸化 LDL 仮説と酸化生成物

LDL は酸化されるとさまざまな脂質酸化生成物をもつ酸化 LDL になり、血管の細胞を刺激する。また、マクロファージは酸化 LDL 取り込み、泡沫化細胞となって集積するが、破裂した細胞内から放出された脂質酸化生成物もまた血管の細胞を刺激し、様々な応答を導く。

tein, LDL) が重要な役割を担うという、「酸化 LDL 仮説」が提唱されていることから伺える(2)。実際に動脈硬化巣から酸化 LDL や種々の脂質酸化生成物が検出されており、これらが血管細胞を刺激して様々な応答を誘導する。図3に示すように、酸化 LDL は受容体を介して細胞内に取り込まれ、酸化 LDL に含まれる脂質酸化生成物は細胞内で分散して細胞に作用する。また、一旦酸化 LDL を取り込んだマクロファージが崩壊し、血管内膜中に飛散した酸化物が細胞の外から作用する場合も考えられる。脂質酸化生成物は各々に特徴のある生物活性をもち、動脈硬化の進展に寄与していることが報告されている(3)。

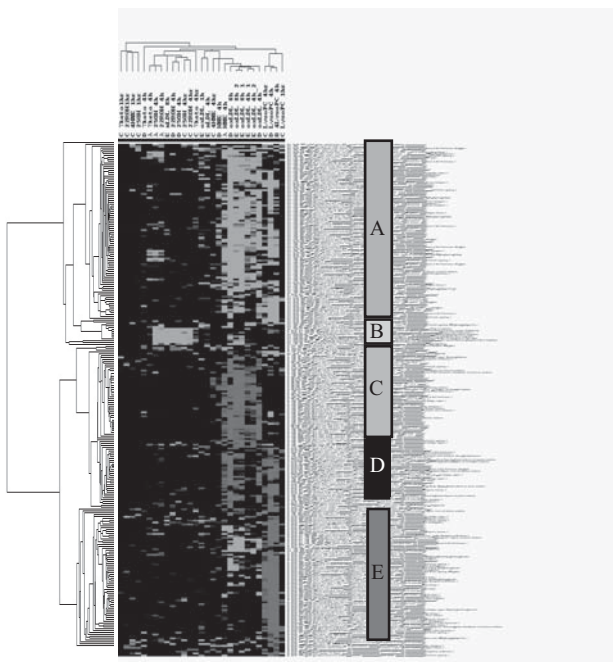


図4 酸化 LDL と脂質酸化生成物に対する内皮細胞の遺伝子発現応答

HUVEC に酸化 LDL および LPC, HNE, oxysterol を添加し, 1, 4 時間後の遺伝子発現を DNA マイクロアレイを用いて分析した結果をクラスター解析した。

著者の研究室では、未酸化 LDL (nLDL, 200 μ g/ml) と酸化 LDL (oxLDL, 200 μ g/ml) および酸化 LDL に含まれる主要な脂質酸化生成物である LPC (30 μ M), HNE (5 μ M), 3 種類のオキシステロール (22-OH-ch, 25-OH-ch, 7-keto-ch 各 10 μ M) に対する, ヒトの臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) の遺伝子発現応答を, オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて解析している。

クラスター解析結果を図4に示したが, 発現パターンは大きく分けて A ~ E の5つのクラスターに分類された。

- A: OxLDL, LPC によって発現が低下する遺伝子
- B: OxLDL, オキシステロールで低下し, LPC によって上昇する遺伝子
- C: OxLDL, HNE によって発現が上昇する遺伝子
- D: OxLDL によって発現が上昇する遺伝子
- E: LPC によって上昇する遺伝子

6. 酸化ストレスへの遺伝子発現による適応反応

酸化生成物による遺伝子誘導を解析することによって, これまで細胞毒性の強い物質として報告されていたものが, 様々な細胞防御遺伝子の発現誘導能をもつことに気づく。ホルミシス現象として捕らえられる酸化生成物の細胞防御作用は(二木原稿参照)これらの遺伝子を誘導することにより行なわれていることが理解され, 実験的にも確認されている(4-6)。

文 献

- 1) Kohane S, et al. 統合ゲノミクスのためのマイクロアレイデータアナリシス. シュプリンガーフェアラーク東京; 2003.
- 2) Steinberg D, et al. N Engl J Med. 1989;320:915-924.
- 3) 野口範子. J Vasc Med. 2006;2:33-39.
- 4) Chen Z-H, et al. J Biol Chem. 2005;280:41921-41927.
- 5) Chen Z-H, et al. FEBS Lett. 2006;580:479-483.
- 6) Chen Z-H, et al. J Biol Chem. 2006;281:14440-14445.

著者プロフィール

野口 範子 (のぐち のりこ)

同志社大学工学部環境システム学科, 教授。

東京大学先端科学技術研究センター, 特任教授. 医学博士。

◇ 1977年3月 京都市立堀川高等学校卒業, '81年3月 筑波大学第二学群生物学類卒業, '87年3月 筑波大学大学院医学研究科博士課程修了, 同年4月 帝京大学医学部 助手, '90年2月 National Institute of Standards and Technology (U.S.A.) 客員研究員, '91年2月 東京大学工学部 助手, '93年11月 東京大学先端科学技術研究センター 助手, '05年4月 東京大学先端科学技術研究センター 特任教授, 同志社大学工学部 教授。◇研究テーマ: 活性酸素フリーラジカルによる LDL の酸化と抗酸化物によるその抑制メカニズム, 酸化ストレスと細胞内情報伝達機構, 酸化と抗酸化による遺伝子発現。◇趣味: 犬のシャンプー&ブロー。◇著書: 酸化ストレスマーカー, 二木鋭雄, 野口範子, 内田浩二 編。学会出版センター。



ASK ファミリーによるストレス応答 ～細胞がストレスを感じる仕組みと疾患～

一條 秀憲

要約：ストレス応答機構の破綻は様々な疾患の発症原因となるが、多様な環境ストレスに対するセンサーの実体ならびにシグナル伝達機構については不明な点が多い。我々は、ストレス応答性 MAP キナーゼタンパク質群の解析を通じて、ストレスの受容・認識ならびにシグナル伝達機構を解明しようとしている。特に ASK ファミリーの解析を軸として、他の MAP3K ファミリー分子群についてもその結合タンパク質解析を行い、酸化ストレス、浸透圧ストレス、小胞体ストレス、細菌感染等に対する新たなストレス応答機構が徐々に解明されつつある。またこれらのシグナル系が、炎症、がん、神経変性などの発症に深く関与することも明らかになり、ストレス応答研究の成果が全く新しい創薬基盤の開発へと発展しつつある。

1. はじめに

近年、地球規模での環境の劣化が深刻化している。オゾン層破壊による紫外線量の増加や二酸化炭素増加による地球温暖化をはじめ、排気ガスや工場廃液などの有害化学物質による汚染、さらには薬剤耐性菌や新型インフルエンザの出現等々、地球環境を劣化させる環境ストレスの種類ならびに量が激増しつつある。環境ストレスの解消は社会的要請度の極めて高い問題であるが、生物学的観点からはヒトや動植物がどのようにして環境ストレスに対処・適応するかを明らかにすることが未解明の重要な問題である。次々と出現してくる新たな環境ストレスに対する細胞生物学的反応(=ストレス応答)の分子機構を明らかにすることは、疾患・創薬研究にとって極めて重要な研究課題である。細胞におけるストレス応答機構の破綻は、様々な疾患の発症原因となるが、多様な環境ストレスに対するセ

ンサーの実体ならびにシグナル伝達機構については明らかにすべきことが多く残されている。私たちは、「細胞がストレスを感知し、ストレスに適切に応答する仕組み」を明らかにするために、物理化学的ストレスによる MAP キナーゼファミリーの活性化機構とその病態生理学的意義を中心に解析している。本稿では、ASK-MAP キナーゼファミリーの解析を軸にストレス応答の分子機構から創薬基盤の創出を目指す私たちのアプローチの一端を紹介する。

2. 研究のねらい

紫外線、熱、放射線などの物理的ストレス、ホルムアルデヒド、環境ホルモンなどの化学的ストレス、あるいはウイルス、細菌などの生物的ストレス等に代表される環境ストレスに対し、細胞は多種多様なストレス応答機構をもって対処・適応することが明らかになりつつある。一方で、ストレス応答機構の破綻が、神経変性、癌、アレルギー、糖尿病など、多様な疾患の原因となることが分子レベルで明らかになりつつあり、にわかに注目を集めている。我々は、「細胞がストレスを感知し、ストレスに適切に応答する仕組み」を明らかにするために、環境ストレスによる MAP3K ファミリー活性化機構について解析している(図1)。

ストレス応答機構の破綻は様々な疾患の発症原因となるが、多様な環境ストレスに対するセンサーの実体ならびにシグナル伝達機構については不明な点が多い。そのため、われわれは特に ASK1-MAP キナーゼ系ならびに ASK ファミリー分子群の解析を軸に据え、two-hybrid スクリーニングならびにプルダウン法による結合タンパク質解析とノックアウトマウス解析を主な手法として MAP3K ファミリー結合タンパク質の

キーワード：ストレス応答、環境ストレス、MAP キナーゼ、ASK ファミリー、アポトーシス

東京大学 大学院薬学系研究科 細胞情報学教室

JST・戦略的創造研究推進事業・CREST (〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1)

e-mail: ichijo@mol.f.u-tokyo.ac.jp

Title: ASK family proteins in stress and disease-“How cells sense stress”. Author: Hidenori Ichijo

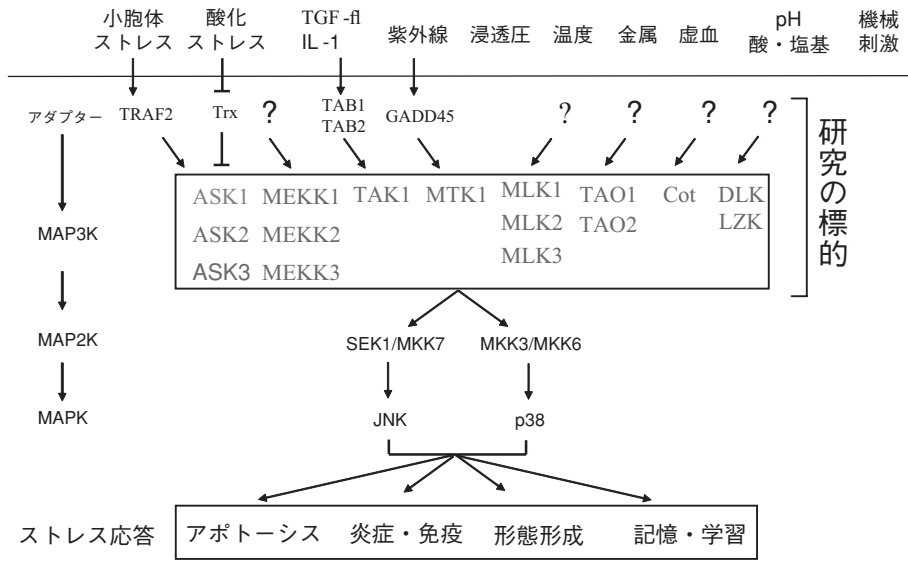


図1 ストレスの受容・認識・変換点 (分子スイッチ) としてのMAP3K

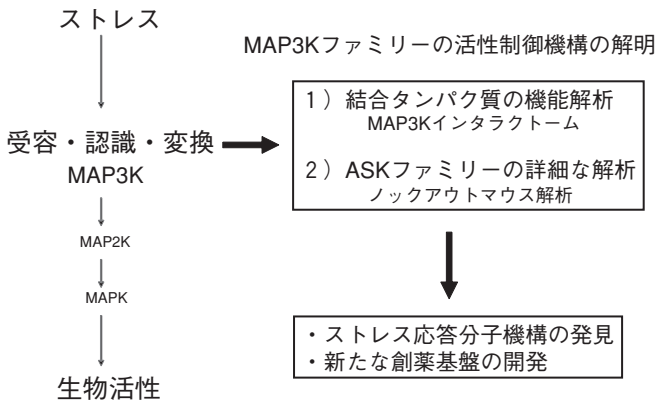


図2 研究のねらい

機能解析を行い、細胞のストレス応答分子機構の解明と創薬基盤の創出を目指している (図2)。

3. 研究成果

これまでの研究により、ASK1は様々な環境ストレスに応答して細胞の生死や分化をコントロールするためのシグナル伝達系として機能していることが明らかになってきた(1)。ASK1ノックアウトマウスの解析により、ASK1が酸化ストレスや小胞体ストレスによるアポトーシスに必要なシグナル分子であることも明らかになり、またASK1がポリグルタミン病やアルツハイマー病において認められる神経細胞死のメディエーターとしてこれらの疾患に深く関わっていることも

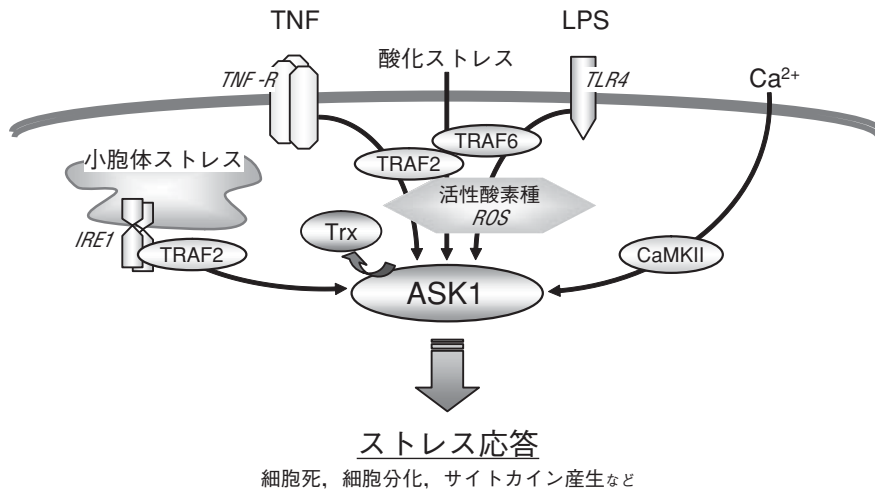


図3 Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 (ASK1) の活性化機構

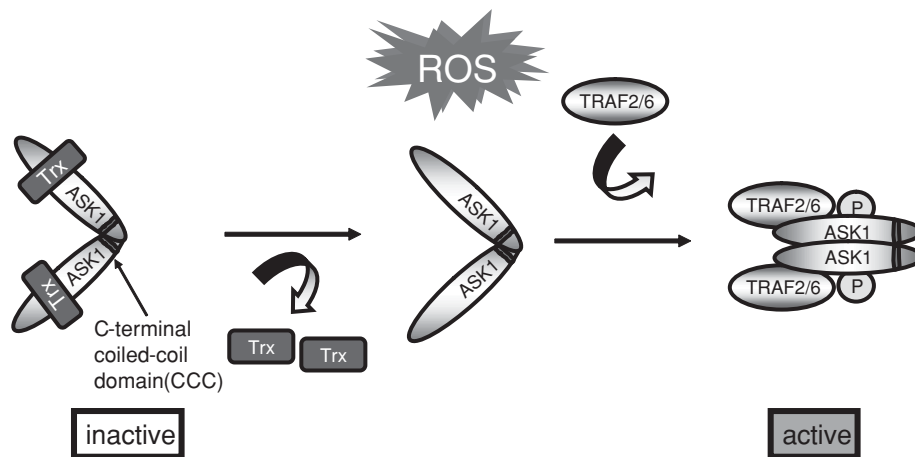


図4 ASK1 シグナルソームと活性化機構

示唆されている(2-4)。一方、ASK1は一部の Toll-like receptor の下流で主に p38 の活性化を選択的に担うことによって自然免疫応答に必須の働きをすることも明らかになってきた(図3)(5)。すなわち ASK1 は、様々な環境変化に応じて、JNK ならびに p38 MAP キナーゼ経路を刺激の種類や細胞の種類特異的に活性化する MAP3K として機能する分子である。これまでにわれわれは ASK1 と高い相同性をもつ分子として ASK2 を同定しているが、最近、もう一つの ASK1 相同分子として ASK3 を見出したことから、哺乳類 ASK ファミリーが3つの分子から構成されることも明らかとなった。多種多様なストレスに応答するために、ある時はこれら3つの分子が協調的に、またある時はそれぞれが独自の活性化機構に基づいて互いに独立してストレス応答のシグナル伝達に寄与しているものと考えられ、それぞれの分子の活性化機構について解析を進めている。以下、酸化ストレス、酸性化ストレス、浸透圧ストレスならびに UV ストレス等に関する具体的な研究成果について簡潔に記す。

1) ASK ファミリー結合タンパク質の同定によるストレス応答機構の解明

培養細胞からの結合タンパク質プルダウン法ならびに酵母 two-hybrid スクリーニングによる ASK ファミリー活性制御分子の探索ならびに機能解析を行い、様々なストレスが ASK ファミリーの活性化に至るメカニズムについて解析した。特に ASK1 に関しては、(1) ASK1 は定常状態で C 末端のコイルドコイル領域を介して静的オリゴマーを形成しているが、ROS (活性酸素)により ASK1 活性阻害因子である Thioredoxin (Trx) が解離し、(2) 相反して ASK1 活性化因子である TNF receptor-associated factor 2 (TRAF2) およ

び TRAF6 が ASK1 へリクルートされることで ASK1 が活性化されるという、レドックスシグナルの分子スイッチとして機能する ASK1 複合体 (ASK1 signalosome) の役割を明らかにした(図4)(6)。さらに、これまで機能未知であった ASK1 の N 末端側に存在するコイルドコイル領域 (NCC) が酸化ストレス依存的な自身の分子間相互作用 (ホモオリゴマー化) と活性化に必要であることも明らかになった。すなわち、Trx は ASK1 の N 末端領域を介したホモオリゴマー形成を阻害することでその活性を負に制御し、逆に TRAF2 および TRAF6 は N 末端領域を介したホモオリゴマー化を促進させることで ASK1 の活性化に関与することが示唆されている。

一方、新たな ASK1 結合タンパク質として同定・命名した PGLM (phosphoglycerate mutase-like membrane protein) は、N 末端に膜貫通ドメイン、C 末端に phosphoglycerate mutase (PGAM) ドメインを有し、そのアミノ酸配列が線虫から哺乳類まで高度に保存されたタンパク質である。PGLM は、PGAM ファミリーに属するものの PGAM 活性は示さず、His105 を活性中心とする全く新しい構造をもったセリン・スレオニン特異的プロテインホスファターゼとして機能することが判明した。PGLM は、定常状態でリン酸化されている ASK1 の C 末端領域を脱リン酸化することから、ASK1 の C 末端に存在する「活性を負に制御するリン酸基」を脱リン酸化することによって ASK1 を活性化するだろうと考えられる。また、PGLM のホスファターゼ活性の至適 pH がこれまで知られている他のプロテインホスファターゼより酸性領域であることから、細胞内の酸性化に伴ってその活性が亢進することが示唆され、実際に細胞に酸を処置すると ASK1

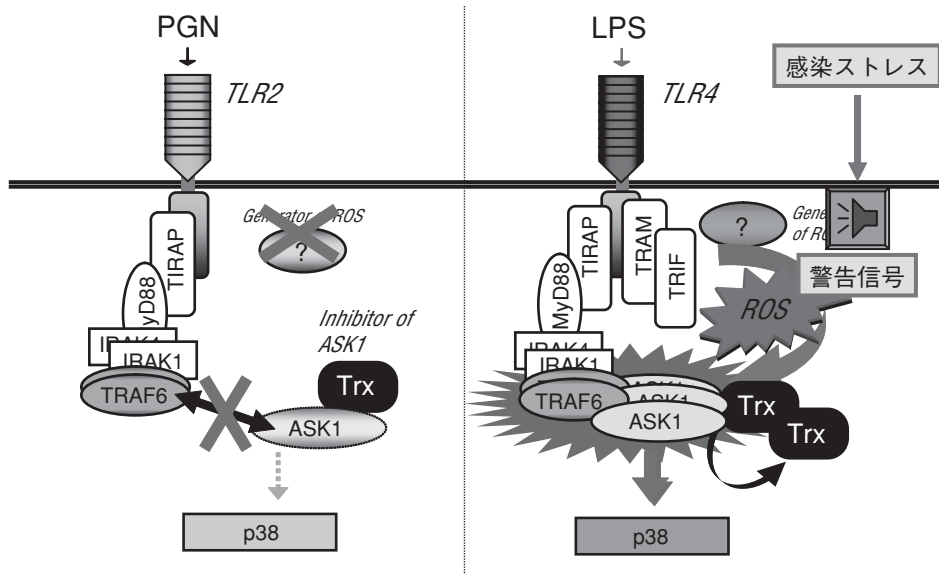


図5 LPS-TLR4 下流シグナルに特異的な ASK1-p38 経路の活性化メカニズム

は活性化されるが、PGLM をノックダウンした細胞ではその活性化は顕著に減弱していた。このことから、PGLM は酸化ストレスを認識して細胞内シグナル伝達へと変換する上で重要な分子であることが示唆されている。

一方、ASK1-p38 経路は自然免疫応答に重要な働きを持つことも明らかになった。TLR4 リガンド刺激特異的な ASK1-p38 経路の活性化メカニズムを検討したところ、ASK1 および p38 の活性化ならびに TRAF6 と ASK1 との結合は、活性酸素種を介してされることが明らかになった (図5)。

さらに、ASK3 に関する結合タンパク質解析の結果から、ASK3 は浸透圧ストレスに対して活性が両方向に変化する新規のリン酸化酵素であることが明らかになった。ASK3 は浸透圧依存的に WNK-SPAK 経路のシグナル伝達を制御することにより細胞のイオン輸送を調節し浸透圧ストレス時の細胞体積調節などに関与している可能性が考えられる。

2) ノックアウトマウスを用いたストレスシグナルの分子特異性解析

ASK ファミリーノックアウトマウスの作成・解析からもストレス応答シグナルに関する新たな知見が得られつつある。最近、ASK2 ノックアウト (KO) マウスを作成し、その皮膚腫瘍の形成について検討した。ASK2KO マウスは、ASK1KO マウスと同様、ほぼ正常に産まれ、非ストレス条件下では普通に生育する。ASK2KO マウスおよび野生型マウスの背部にイニシエーターとして DMBA を塗布後、プロモーターとし

て TPA を継続塗布して経過を比較したところ、ASK2KO マウスにおいては、野生型マウスに比べて形成された腫瘍数が明らかに多く、また発生時期も比較的早いことが明らかとなった。DMBA 処理後の皮膚におけるアポトーシスを TUNEL 法によって検出したところ、ASK2KO マウスにおいて DMBA 処理によって生じる TUNEL 陽性細胞が減少している傾向が認められた。また、ASK2KO マウス由来の初代培養ケラチノサイトにおいては、DMBA 刺激による下流 MAP キナーゼの活性化が野生型由来細胞より減弱していることを確認した。これらの結果より、ASK2 は DNA 障害ストレス (DMBA) によるアポトーシスの誘導に関与し、二段階皮膚発癌モデルにおける腫瘍形成に対して抑制的に機能することが示唆され、新たながん抑制遺伝子としての ASK2 の機能が注目されている。

3) MAP3K ファミリーの活性制御分子機構解析

MAP3K ファミリー活性化の分子機構として結合タンパク質による制御機構の存在を想定し、ASK ファミリー以外の MAP3K ファミリーをベイトとする酵母 two-hybrid スクリーニングならびに結合タンパク質プルダウン法によって解析を行ってきた。その過程で、MAP3K ファミリーのうち、これまでに MEKK2, MEKK3, TAO1, TAO2, Tpl-2, DLK についてスクリーニングを行い、それぞれの分子につき極めて興味深い結合分子を複数同定した。紙面の都合もあり、ここではその代表例として DLK 結合タンパク質について紹介する。DLK のキナーゼアッセイ系を指標としてさまざまな変異体解析を行った結果、DLK の活性

化が DLK 自身のキナーゼ領域の活性化ループ内に存在するセリン残基 (Ser269) のリン酸化によって制御されることを見出し、そのリン酸化を特異的に認識する抗体を作製した。以前より、強い紫外線 (UV) 刺激によって DLK が多量体化することが報告されていることから、DLK 発現細胞に UV 照射したところ、実際に Ser269 のリン酸化の亢進が認められた。また、HEK293 細胞において内在性 DLK の発現を RNAi にてノックダウンすると、UV による JNK の活性化が減弱することから、DLK が UV による JNK の活性化を担う分子であることが強く示唆された。さらに我々は、DLK の活性制御分子を同定することを目的に結合分子の探索を試みた。その結果、機能未知の新規分子を同定し、DICC1 (DLK inhibitory coiled-coil domain containing protein 1) と命名した。DICC1 は MAPK-KK ファミリー分子の中では DLK に対して高い結合特異性を示し、DLK の定常状態でのキナーゼ活性と UV による活性化の両者を阻害した。また、内在性 DICC1 のノックダウンによって UV による JNK の活性化が増強したことから、UV ストレスによる JNK 経路の活性化への DLK とその抑制因子 DICC1 の寄与が明らかとなりつつある。

4. 今後の展望

私たちは、ストレス応答シグナル伝達機構のプロトタイプとしての ASK1-MAP キナーゼ系ならびにストレスセンサーとしての MAP3K ファミリーについて構造機能相関に基づく分子機能の比較解析を行い、ストレス応答機構の解明とその創薬基盤開発を全体目標として研究を行ってきた。その結果、現在までにこれらのストレス応答シグナル系が、炎症、がん、神経変性などの発症に深く関与することが徐々に明らかになるとともに、これらの研究成果が新しい創薬基盤の開発へと発展しつつあり、MAP3K ファミリー分子群の結合タンパク質解析は、当初の予想通り新たなストレス応答分子機構の解明に大きく寄与している。今後もさらなる結合タンパク質スクリーニングを継続しながらこれらの分子の機能解析を行うことにより、「ストレス応答シグナルの破綻と疾患発症メカニズム」の解明を目指したい。

文 献

- 1) 武田弘資, 他. ストレスキナーゼによる細胞死制御 (MAP キナーゼ: JNK,p38), 細胞死・アポトーシス集中マスター. 羊土社; 2006. p. 51-59.
- 2) 門脇寿枝, 他. 実験医学. 2006;24(10):1553-1560.
- 3) Sekine Y, et al. Curr Mol Med. 2006;6:87-97.
- 4) Hayakawa T, et al. Microbes Infect. 2006;8:1098-1107.
- 5) Matsuzawa A, et al. Nat Immunol. 2005;6:587-592.
- 6) Noguchi T, et al. J Biol Chem. 2005;280:37033-37040.

著者プロフィール

一條 秀憲 (いちじょう ひでのり)

東京大学 大学院薬学系研究科 細胞情報学教室, 教授, 歯学博士.

◇1990年 東京医科歯科大学大学院歯学研究科博士課程修了, '90年 Ludwig 癌研究所 Uppsala Branch 留学, '92年 東京医科歯科大学 歯学部 口腔病理学講座・助手, '95年(財)癌研究会 癌研究所 生化学部・研究員, '98年 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学分野・教授, '02年 東京大学 大学院薬学系研究科 細胞情報学教室・教授, 現在に至る. ◇研究テーマ: 大学院生から癌研時代まで, ずっと宮園浩平先生(現東大医学部分子病理・教授)に師事し, 一貫して TGF- β のシグナル伝達. '98年に独立する頃から, ASK ファミリーの解析を中心にストレス応答のシグナル伝達. ◇趣味: キャンプで飲み食い.



涙とストレス緩和

有田 秀穂

要約：ストレス状態は視床下部・下垂体・副腎皮質軸および交感神経アドレナリン系の亢進に特徴づけられる。ストレスを緩和させるには、これらの制御系の働きを逆転させる必要がある。ストレス回避や安静・睡眠は消極的な方法である。一方、積極的な制御系の逆転は、涙を流すことである。流涙は、脳幹の上唾液核にある副交感神経の過剰な興奮によって誘発される。ドラマを見たり、心理療法を受けて、涙が溢れるとき、共感に関与する内側前頭前野において、特徴的な血流変化が認められる。予兆としての緩やかな血流増加と、それに続く一過性の急峻な血流増加がある。後者が出現すると、激しい涙と泣きが継続し、一時的に自己制御できなくなる。自律神経のバランスは、覚醒状態にありながら、極端な副交感神経の興奮状態にシフトする。この時、POMS心理テストでは混乱の尺度が著明に改善し、すっきり爽快の気分が現れる。すなわち、ストレス緩和の神経回路の存在が予想される。このデータを笑いのデータと比較し、涙の効用を議論する。

1. はじめに

涙はストレスによって誘発されるが、涙を流す行動はストレス緩和にもなる。すなわち、ストレスにはわるいストレスとよいストレスがあるとすると、激しく涙を流す行為である号泣は、その後に気分がスッキリすることから分かるように、よいストレスとして機能する可能性がある。この点について脳神経科学的なデータを紹介する。

2. 涙の生後発達と共感脳

私たちは泣き声を上げながら生まれてくる。ただし、新生児は泣き声を出しても、涙を流さないとされる。1歳位になると、涙を流して泣くようになるが、その

時の誘因は間違いなくストレスである。お腹が空いたり、おむつが濡れたりという不快感であったり、転んで痛みを感じる場合もある。この泣きは、ストレス緩和というより、親に対する非言語コミュニケーションとしての役割を担っている。

このような赤ん坊のストレス泣きは、生後発達に伴って社会的に抑制されるようになる。「男は泣かない」とか、「そのぐらいのことで泣くな」と親や大人に諭され、泣く行為が抑制される。しかし、それでも子どもから青年期にかけて号泣する場合がある。その理由は、自尊心が傷つけられたり、勝負に負けたりした場合で、いわゆる悔し涙である。この場合には自己（自我）を認識する脳が関与すると推測される。

ところが、大人になると、悔し涙さえも社会的に抑制されてしまう。代わって現れる涙が、感動の涙である。オリンピックで表彰台に上がった選手とともに泣いたり、感動的なドラマを見て号泣したりする涙である。他者に対する共感がベースになった涙である。この共感に関する脳領域は、内側前頭前野であり、「心の理論」として心理的相互交流に寄与する。本研究では、号泣時に共感脳である内側前脳前野の活動がどのように変動するか焦点をあてて、光トポグラフィ解析を行った。

3. 流涙の生理学とストレス

流涙は自律神経性に調節される。涙腺は、脳幹の上唾液核から顔面神経を介して、副交感神経性の制御を受ける。

ところで、涙には3種類あり、基礎分泌としての涙は持続的で微量であり、ドライアイなどとの関連がある。もう1つは、反応性の涙であり、目にゴミが入ったり、タマネギを切ったりして刺激を受けると流れ、

キーワード：涙、前頭前野、共感、帯状回、副交感神経
東邦大学医学部統合生理学（〒143-8540 東京都大田区大森西 5-21-16）
e-mail: aritah@med.toho-u.ac.jp

Title: Emotional tears are induced by activation of medial prefrontal cortex. Author: Hideho Arita

一種の防御反射である。その求心路は三叉神経で、遠心路が副交感神経（顔面神経）である。

第三の涙が情動性の涙であり、ここで取り上げる涙である。心を揺り動かされる体験で、共感脳が激しく興奮したときに、その信号が下行性の司令となって、脳幹の上唾液核に入力されると考えられる。その副交感神経の活動亢進が、涙腺から大量の涙を分泌させ、それが目から溢れることになる。

このように、感動の涙の状態が副交感神経優位であることは、ストレス状態との絡みで、注目に値する。一般にストレス状態は、交感神経の緊張が非常に亢進した状態である。短期的には、交感神経アドレナリン系の活動亢進であり、長期的には視床下部・下垂体・副腎皮質軸（HPA 軸）の賦活が認められる。他方、号泣状態では、自律神経のバランスが一時的に副交感神経優位の状態にシフトしていることになる。すなわち、号泣は、ストレス状態にある脳（交感神経緊張状態）を一時的にリセットさせる効果が期待される。

ストレス緩和の通常の方法は、安静や睡眠などによってリラックス状態を発現させ、その結果として交感神経緊張状態を緩めることである。これは、いわば消極的なストレス緩和であろう。号泣はむしろ激しい情動行動であり、リラックスとは逆である。にもかかわらず、号泣後にはスッキリ爽快の気分が現れる。号泣は、覚醒状態にありながら、積極的に副交感神経優位の状態を発現させて、ストレス緩和に寄与するものと考察される。その起点となる脳構造は、前頭前野の共感脳である。

4. 前頭前野

号泣時の前頭前野の活動変動を見る前に、前頭前野の働きを概観しておこう。

前頭前野はヒトで最も発達した脳領域である。前頭前野を事故で限局性に破壊された場合、その人は、一見何の異常もないように振る舞う。普通に歩き、会話も正常で、食事もとれ、もちろん生命活動にも支障がない。ところが、人格が変わったと表現がされる行動変化が現れる。集中力がなくなり、計画的に行動できなくなり、衝動的で、相手の心が読めなくなる。このような変化に対応して、前頭前野には次の3つの機能が同定されている。

1つは、ワーキング・メモリーの機能であり、外部から時々刻々入力される感覚情報を認知的に判定して、ゴール（目標）となる情報と照合し、即座に適切な行動を選択し出力する働きである。それは集中力や注意と密接に関係する機能であり、前頭前野の背外側領域

に限局すると考えられている。第2には、共感に関係する脳機能で、心の理論とも表現される働きである。私たちがコミュニケーションするときには、言語が重要な手段であることは間違いないが、非言語的にもコミュニケーションする能力を備えている。相手の表情や声の変化によって、心の状態を読みとる能力（共感能）である。この共感脳は前頭前野の内側部に局在する。第3番目は、意欲に関係した機能があり、中脳腹側被蓋野ドパミン神経からの投射を受ける前頭前野領域であり、快の情動回路とも関与する。涙との関係では、共感脳の活動変動が注目ポイントである。

5. 号泣時の前頭前野の活動変動

そこで、号泣時にこれら前頭前野の各領域がどのように活動変動するかを、多チャンネル型近赤外線分光法（NIRS）を用いて非侵襲的に測定した（光トポグラフィ解析法とも呼ばれる）。すなわち、近赤外イメージング装置 OMN-300（島津製作所）を使用し、走光プローブと受光プローブを3つずつ前頭部に装着して、前頭前野の内側部、右側部、左側部の各領域で神経活動の賦活（血流変動）を定量評価した。

1) 泣きのビデオ実験

泣きの課題としては、泣けるビデオを約30分間見せた。図1に示すように、号泣状態において、前頭前野の内側領域を中心に著明な Oxy-Hb および Deoxy-Hb の増加が認められ、同部位の血流増加と活動亢進が推定された。

このときの時間経過を詳細に観察すると、前兆期、号泣トリガー期、号泣継続期の3つの相に区別された（図2）。激しいスパイク状の増加に先行して、緩徐な増加が1分ぐらい前から認められている。NIRSの測定に並行して、脳波、眼電図、顔面表情のビデオモニター、および被験者からのスイッチ信号が同時に記録され、被験者の心理的な変化は、スイッチ信号に対応させて、事後に回想記録された。その結果、予兆期に共感脳領域の Oxy-Hb（血流に対応）が緩やかに上昇するのに対応して、被験者は心理的な変化として、胸が詰まるような「来たな」という感覚を体験していることが判明した。将に感動で胸が震える予兆としての身体感覚である。

1分位の予兆期の後、Oxy-Hb および Deoxy-Hb の著明な増加が認められ、これを契機に、肩を振るわせて号泣状態に突入する。それは、眼電図とビデオ映像で確認できる。このスパイク状の変化は10秒前後であるが、号泣状態はもっと長く1-2分持続し、徐々におさまっていく。そこで前者を号泣トリガー期、後者

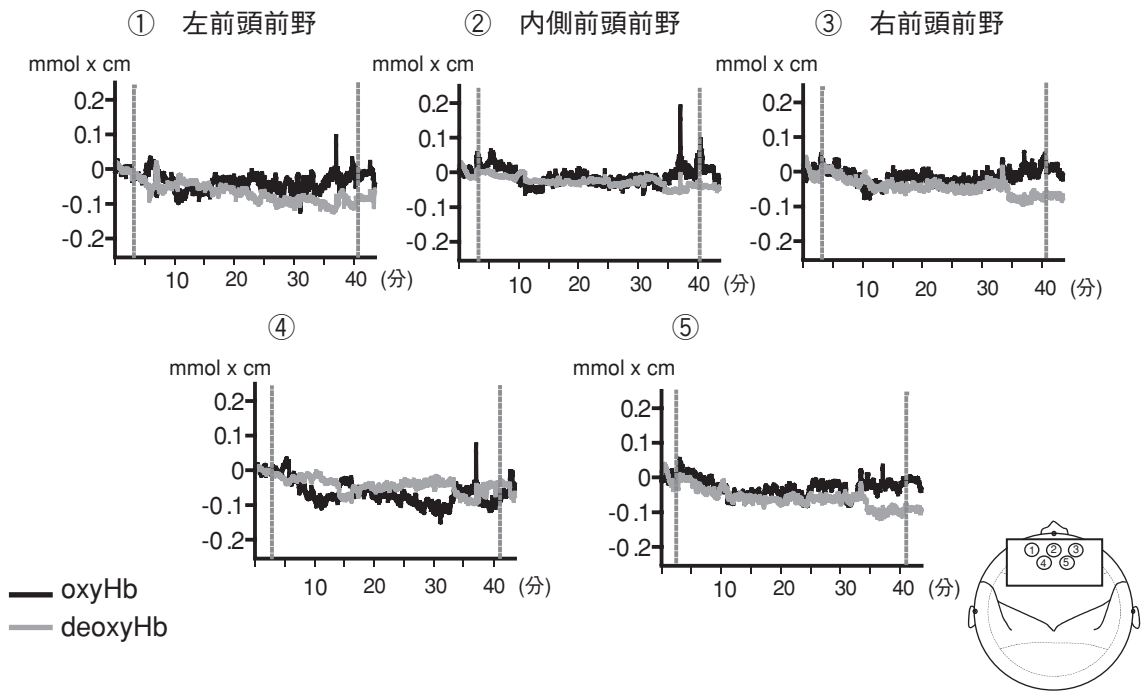


図1 泣きのビデオを見ている時の光トポグラフィ解析

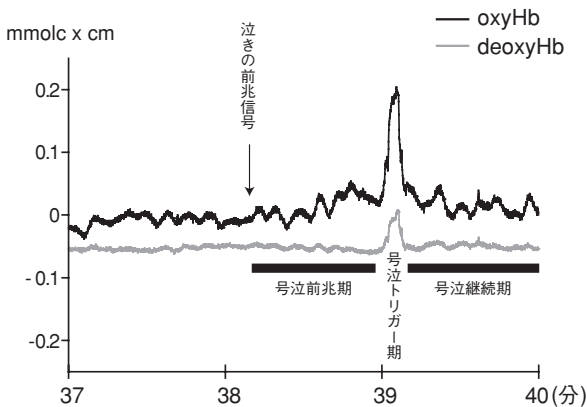


図2 図1の号泣時のデータを時間軸を拡大して表示したもの
号泣前兆期、号泣トリガー期、号泣継続期が区別される

を号泣継続期と区別して考察した。号泣継続期はNIRSにおいて緩徐な回復過程が観察された。

なお、予兆期だけで、涙が目に溜まる程度で、号泣に至らないときには、スパイク状の変化が観察されず、脳全体の状態をスイッチするトリガー信号の機能が考えられた。

泣きのビデオの前後で、POMS心理テストを実施すると、混乱および緊張・不安の尺度が改善した。これは、自覚的には「スッキリした」という気分によく対応するものと解釈された。

泣きの比較実験として、笑いのビデオと恐怖のビデオをそれぞれ約30分ずつ見せて、前頭前野の活動変

動を検討した。恐怖のビデオでは、その場面になると、前頭前野の血流が全体的に減少し、血流低下は場面が終了しても継続しても認められた。この場合、事後の心理テストでは、疲労感が極端に増加（混乱、抑うつ、緊張・不安、怒り・敵意も増え、活力は低下）していた。恐ろしい体験のことを、「血の気が引く」と表現されることがあるが、前頭前野からは実際に血液が減少することが確認された。

一方、笑いのビデオを見ているときの前頭前野の活動変動は、泣きの場合と比べて、Oxy-HbおよびDeoxy-Hbの増加の程度が弱くかつ短時間という違いが認められた（図3, 4）。笑いは泣きに比べて、突発性に出現し、直ぐに止むという特徴を備えている。この現象に対応する前頭前野の活動変動と考えられた。心理テストでは混乱の減少よりも活力の増加が明確に認められた。笑いは、スッキリよりは、元気にするという、ストレス緩和に対する質的な違いが推測された。

以上より、号泣トリガー期の激しい活動亢進は脳全体をリセットさせる効果があると考えられた。なお、泣きのビデオ実験は、5人の被験者で検討したが、号泣時の変動パターン、心理変化は共通したものが観察された。ただし、泣きのビデオを見ているときには、胸に迫る想い（涙の予兆）があっても、号泣に至らずに、涙が目に溜まる程度で終わる場合も頻回に観察され、その際の前頭前野の血流変動は緩徐な弱いものだ

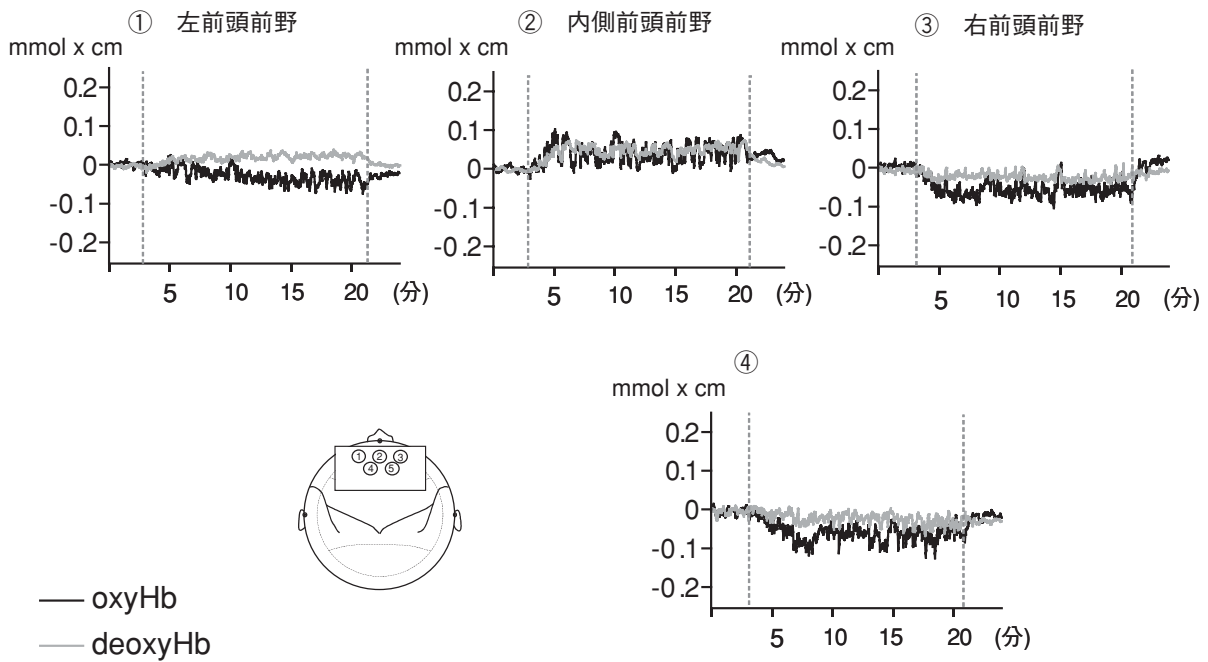


図3 笑いのビデオを見ているときの光トポグラフィ解析

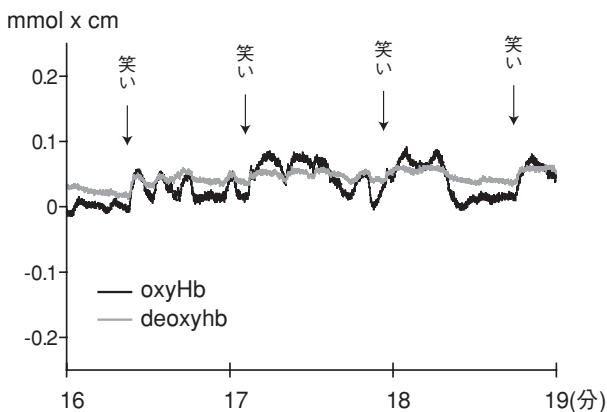


図4 図3の内側前頭前野のデータを時間軸を拡大して表示したもの
笑いに対応して小さな変動が繰り返された

けであり、号泣トリガー期のようなスパイク状の変化は認められなかった。

2) 心理療法中における号泣

心理療法をしている最中にクライアントが号泣することがよくある。泣きのビデオを見ている時との状況の違いは、セラピストとクライアントが心理療法を介して、相互にコミュニケーションを行うことである(ビデオの場合には、双方向性のコミュニケーションは基本的に存在しない)。このような違いはあっても、号泣する場面において、共感脳に相当する内側前頭前野の領域を中心に、Oxy-Hb および Deoxy-Hb の大きな

増加が現れ、号泣のエピソードに対応して、スパイク状の変化も弱いながら観察された。心理テストでは、混乱や緊張・不安が減少する点では同じであったが、活力の尺度が改善する点で、若干の違いが認められた。このような結果から、心理療法でクライアントが号泣するという現象も、ストレス緩和としての側面を備えているものと推測された。

6. 「役者の涙」の実験

上記の2種類の課題は、自然に誘発される涙の実験である。一方、役者は演技で涙を流す訓練をし、それを実際に演じることができる。その場合には、役者は、自己の悲しい体験をドラマの内容とは無関係に想起して涙を流す場合と、ドラマの状況に自己を置いて泣く場合がある、とされる。前者の場合には、泣きのドラマを見ての号泣や、心理療法の涙と基本的に同じ反応が得られた。ところが、役に成りきった涙では、むしろ笑いのときの反応パターンに近かった。号泣というよりは、前頭前野の活動が反復して増減した。我を忘れて泣くという状況ではなく、あくまでも泣く状況を意識的にコントロールしているものと考えられた。この演技の後に実施した心理テストは、全く違う結果が得られた。混乱は増加し、疲労、緊張・不安、抑うつも増強した。役者の涙は逆にストレスを増強させる場合もあるものと考えられた。

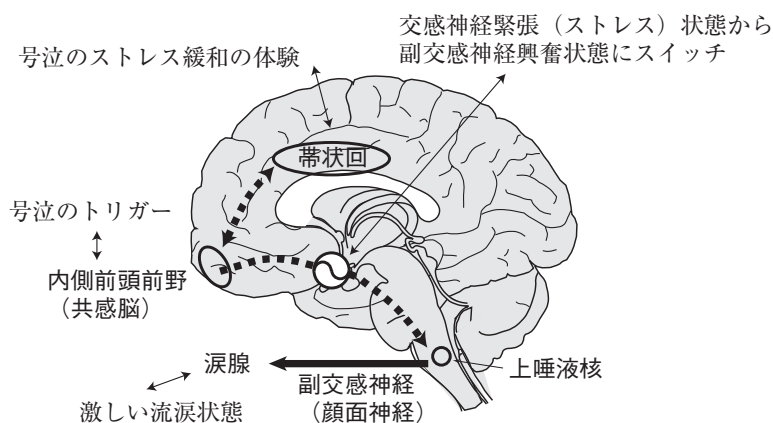


図5 号泣の神経経路 (仮説)

7. まとめ

自然に誘発される号泣状態においては、涙が溢れる神経経路として、内側前頭前野の共感脳が起点となって激しく興奮して、その下行性の情動信号が脳全体を副交感神経緊張状態にリセットし、それが脳幹の上唾液核に伝達され、激しい流涙を発現させるものと考え

られた。そして、この号泣状態は、心理的には混乱の低下・消失をもたらし、スッキリ感を体験させる。この情動体験を発現させる脳領域は途中の帯状回であると推測されるが、今後の検討課題である (図5)。いずれにせよ、感動時の号泣は、積極的なストレス緩和作用を発揮する可能性が予測される結果が得られた。

著者プロフィール

有田 秀穂 (ありた ひでほ)

東邦大学医学部統合生理学, 教授, 医学博士.

◇東京大学医学部卒. 東海大学医学部内科で臨床, 筑波大学基礎医学系で脳神経系の基礎研究に従事. その間, ニューヨーク州立大学に留学. 東邦大学医学部第一生理学助教授を経て1998年より現職. ◇研究テーマ: 坐禅の神経科学, 泣きと笑いの脳内機構, あくび, シャッキリ. ◇趣味: ダイビング, 鮎釣り, ラケットボール, ジャズ. ◇主な著書: 「セロトニン欠乏脳」(NHK出版), 「人体の構造と機能」(朝倉書店), 「禅と脳」(大和書房), 「呼吸の事典」(編集)(朝倉書店), 「脳内物質のシステム神経生理学: 精神精気のニューロサイエンス」(中外医学社)



企業研究紹介

げっ歯類を用いた物体認識試験及び
位置認識試験の行動学的・薬理学的特徴

万有製薬株式会社 つくば研究所

げっ歯類を用いた物体認識試験及び位置認識試験の行動学的・薬理学的特徴

奥田尚紀、村井建之、太田尚

緒言

認知機能障害の治療薬を開発する上で、最も難しい課題の1つは実験動物の結果からどのようにヒトでの作用を予測するかということである。実験動物（げっ歯類）を用いて学習・記憶機能に対する薬物や遺伝子操作の影響を評価する系として、数多くの試験系がこれまで構築されているが、その多くは、報酬（餌）や罰（嫌悪刺激）といった要素を学習の強化因子として用いている。それゆえ、これらの試験系においては、記憶に影響を与える要因として強化因子に関連したストレスを無視することが出来ない。すなわち少なくとも形成される学習行動、記憶の一部には情動変化に伴う記憶が反映していると考えられる。しかしながら、動物には過度の情動・ストレスを伴わずに獲得する記憶も存在する。さらに、臨床試験において、ヒトの認知機能を測定する際に、強化因子を必要とする認知試験は通常用いられない。これらの事から、医薬品開発において望まれる動物認知試験系とは、1) 低い情動レベルの条件下で記憶が形成されること（強化因子を用いない）、2) 認知機能変化に対し、高い反応性を示すこと、3) シンプルかつ簡便な方法であること、といった条件を満たすものであると我々は考えている。本稿では、我々が実際に用いている物体認識試験、位置認識試験という二種の認知機能試験を紹介し、その行動薬理学的特徴について概説したい。

物体認識試験及び位置認識試験とは

物体認識試験（object recognition test, ORT）及び位置認識試験（object location test, OLT）は新奇性を好むというげっ歯類の特性を利用した試験系（1, 2）で、馴化、獲得、テストの三試行から成る（図1）。

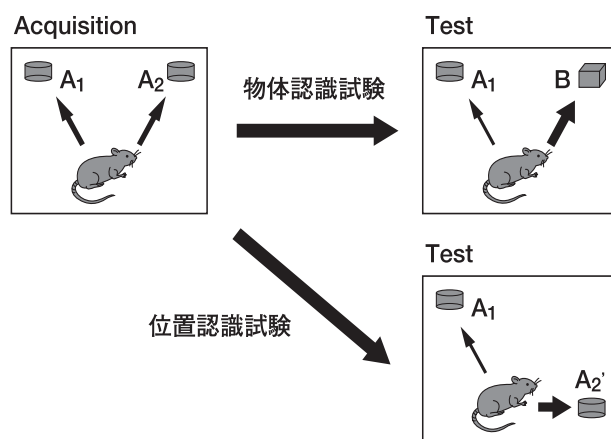


図1

予め観察箱に馴化させておいた動物を、その翌日同一の観察箱に入れ、2個の同一物体を自由に探索させる（獲得試行）。一定時間経過後、ORTの場合は片方の物体を新規の物体に、OLTの場合は片方の物体の位置を新規の位置に変え、再度動物を観察箱に入れ、物体の探索時間を測定する（テスト試行）。動物は、獲得試行とテスト試行の間隔が短いとき、新奇性のある物体（新奇の形状、あるいは新奇の位置）により長い時間探索行動を示し、その嗜好性は間隔を広げていくことで消失していく。このことから、この新奇性に対する行動変化は「獲得試行時の物体の形状または位置の記憶」を反映していると考えられる。本試験系では、獲得試行において報酬や罰といった強化因子を用いないことから、情動レベルの低い条件下で形成される記憶を検出できると考えられる。基礎検討の結果及びこれまでの報告から C57BL, Swiss, ddY, Lister, Wistar など、種々のマウス、ラット種を用いての検討が可能であるが、我々は、主として ICR 雄性マウス及び Sprague-Dawley 雄性ラットを用いて検討を行っている（3-7）。

キーワード：非空間記憶、空間記憶、ストレス、コルチコステロン
 万有製薬株式会社つくば研究所 薬理研究部（〒300-2611 茨城県つくば市大久保3）
 e-mail: shoki_okuda@merck.com

Title: Behavioral and pharmacological characterization of object recognition and location tests in rodents.

Author: Shoki Okuda, Takeshi Murai, Hisashi Ohta

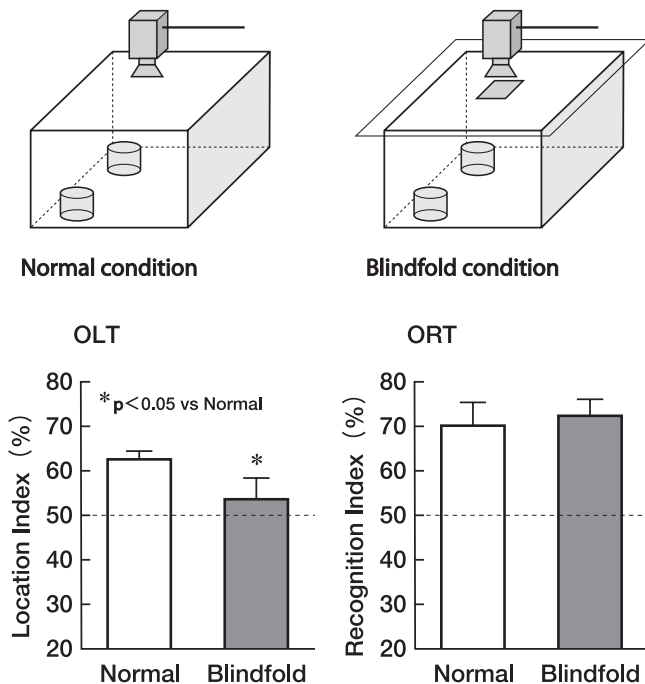


図2

物体認識試験及び位置認識試験の行動学的特徴

ORT および OLT は、その試験方法の性質上、それぞれ非空間記憶および空間記憶を評価する試験系と考えられている。さらにラットを用いた破壊実験の結果から ORT では鼻周囲皮質 (perirhinal cortex) が、OLT では海馬がそれぞれ重要な役割を果たしていると考えられており、この結果も上記の仮説を支持している。我々は、マウスを用い両実験系の特性を行動学的に解析した (3, 4)。まず、ORT において、マウスが物体の特徴として何を認識するのかを調べるため、呈示する物体を色、形状ともに異なるペアから、形状のみ異なるペア、あるいは色のみ異なるペアに変えて検討を行った。その結果、マウスはどの物体のペアであっても新奇物体を認識できることが明らかとなった。さらに、観察箱外部の空間情報から断絶された条件下においても、この記憶は保持されていた (図2)。これらの結果から、マウスは物体固有の非空間情報 (形状及び色・コントラスト) を利用して物体を認識していると考えられた。一方、OLT において、マウスの記憶は物体の配置やマウスのエントリー位置の変化によって影響を受けないのに対し、観察箱外部の遮断によって有意に障害された (図2)。すなわち、OLT において、マウスは外部空間情報を利用して物体の相対的位置関係を把握し、物体の新奇の位置を認識していると考えられた。これらの結果は、ORT, OLT が類

似した試験方法でありながら、それぞれ非空間、空間認知機能という異なる記憶を評価する試験系であることを強く示唆するものである。

物体認識試験及び位置認識試験の薬理学的特徴

次に、ORT および OLT 両試験において、薬理的解析を試みた。我々のマウス試験系では、各試行の時間を5分に設定した結果、獲得試行とテスト試行の間隔が短い場合 (1~2時間) ではマウスは強い記憶を保持しており、その後試行間隔依存的に忘却していくことが認められている。それゆえ、試行間隔を変化させることで対照群の記憶保持状態を調節することにより、薬物誘発の記憶障害作用及び記憶亢進作用の両側面を捕らえることが可能である。臨床的に健忘作用を有する抗コリン薬であるスコポラミンあるいはベンゾジアゼピン系抗不安薬であるジアゼパムは学習記憶障害作用を示した。興味深いことに、本試験系ではジアゼパムと異なる機構を持つ抗不安物質 8-OH-DPAT は学習障害を誘発しない。一方、アルツハイマー治療薬として臨床適用されているコリンエステラーゼ阻害薬ドネペジルは学習記憶亢進作用を示した。また老齢マウスは若齢マウスに比べ記憶能力が低下している事も明らかとなった。これらの結果から、ORT および OLT は薬物および加齢変化による学習・記憶機能変化に対して感受性の高い試験系である事が明らかとなった (3, 4)。

物体認識試験とストレス

情動 (喜怒哀楽) を伴う記憶が形成される場合、重要な役割を果たすが、副腎から放出されるストレスホルモン (グルココルチコイド及びアドレナリン) 及び扁桃体の活性化である。また、近年の臨床試験報告から、ストレスホルモンの記憶調節作用は情動記憶のみに選択的であることが示唆されている。げっ歯類を用いた研究において、ストレスホルモンは情動記憶に影響を与えることが明らかとなっている (5) が、情動レベルの低い認知試験と考えられる ORT において、ストレスホルモンはどのように作用するのであろうか? 我々はマウス、ラットの ORT を用い、検討を試みた (4, 6, 7)。我々のマウス試験系においては、コルチコステロン (獲得試行直後に投与) は、24 時間後のマウスの記憶保持能力にまったく影響を与えなかった。さらに、より詳細な検討を加えるため、観察箱に十分に馴化されたラット (通常条件) と馴化されていないラット (新奇ストレスが高い条件) の二種のストレスレベルが異なるグループを用いてコルチコステロンの作用

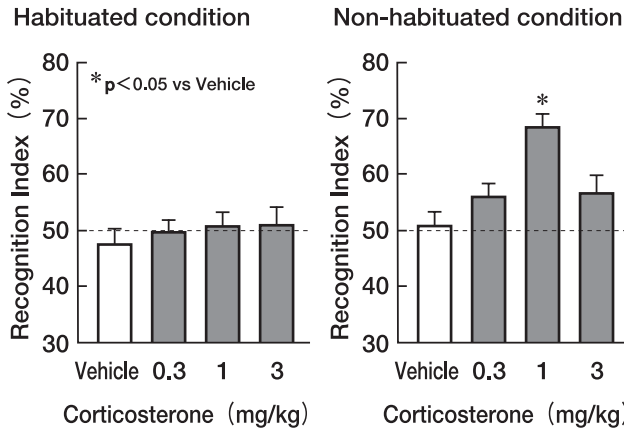


図3

を検討した。その結果、コルチコステロンは非馴化ラットの記憶を亢進したのに対し、馴化ラットの記憶を変化させなかった(図3)。また、非馴化条件におけるこの記憶亢進作用は扁桃体外側基底核に局所投与されたプロプラノロールによって完全に抑制された。これらの結果は、ストレスホルモンが情動を伴う記憶を選択的に調節しているという臨床結果と一致するものであり、ORTが情動レベルの低い状態で形成された記憶を評価する試験系として有効であることを示している。しかしながら、我々のこの結果は、本試験系を用いてストレスレベルを変動させる被験薬物やターゲット遺伝子変化を評価する場合、試験方法によって結果が相違する可能性を示唆しており、試験条件の設定には注意が必要である。

総括

我々の研究結果は、ORTおよびOLTが情動レベルの低い条件下での薬剤や遺伝子変化による認知機能

著者プロフィール

奥田 尚紀 (おくだ しょうき)

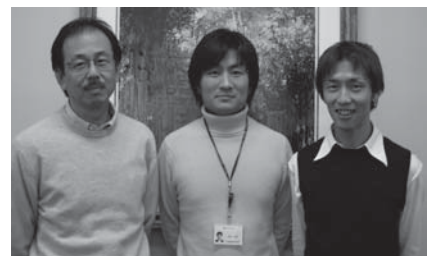
万有製薬株式会社つくば研究所 薬理研究部, 薬学博士
 ◇1997年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了, 同年万有製薬入社. 1998-1999年名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学分野(鍋島俊隆教授)派遣研究員, 2003-2004年米国カリフォルニア大学アーバイン校学習記憶神経生物学センター(McGaugh教授)博士研究員.
 ◇専門分野: 神経薬理学, 行動薬理学 ◇趣味: 読書, 映画鑑賞

村井 建之 (むらい たけし)

万有製薬株式会社つくば研究所 薬理研究部
 ◇1999年名古屋市立大学大学院薬学系研究科修士課程修了, 同年万有製薬入社. ◇専門分野: 電気生理学, 行動薬理学
 ◇趣味: テニス, 料理

太田 尚 (おおた ひさし)

万有製薬株式会社つくば研究所 薬理研究部長, 薬学博士
 ◇1984年九州大学大学院薬学研究科博士課程修了, 同年, 長崎大学医学部薬理学II講座助手, 1986-1989年, 米国アイオワ大学医学部薬理学講座(Brody教授)博士研究員, 1989-1995年, 同神経内科学講座(Talman教授)アソシエートリサーチサイエンティスト, 1995年, 万有製薬入社. ◇専門分野: 神経薬理学, 行動薬理学 ◇趣味: 木工



左より, 太田, 奥田, 村井。

変化を捉える事が出来る簡便な試験系であり, 医薬品開発における新規薬物や遺伝子改変動物の評価系として有用であることを示している. ORTは近年, 遺伝子改変マウスの認知試験として汎用されるようになってきたが, OLTの認知度はまだまだ低いのが現状である. ORT, OLTは同一獲得プロセスを用いるという特徴を持つことから, 両試験系を組み合わせることで, 同一環境における空間・非空間記憶に対する薬物の作用を比較することを可能にするという利点が生まれる. また, ストレス研究の分野においても, ORTは情動記憶, 非情動記憶のメカニズムを研究するツールとして非常に魅力的な評価法であると思われる. 最近では, これまで人に頼らざるを得なかったげっ歯類の探索行動の解析を自動的に行えるソフトウェアも開発されてきており, 今後ますます本試験系の発展が期待される.

謝辞: 本研究の遂行にご協力いただきました薬理研究部 古閑一実、田中岳、網のぞみ研究員に感謝いたします。また、本研究の一部は海外出向として派遣されたアメリカ留学で得た知見の成果です。懇切丁寧なご指導・ご助言をいただきましたカリフォルニア大学アーバイン校・学習記憶神経生物学センター、James L. McGaugh教授、Benno Roozendaal博士に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Ennaceur A, et al. Behav Brain Res 1998;31:47-59.
- 2) Dodart JC, et al. Neuroreport 1997;8:1173-1178.
- 3) Murai T, et al. Physiol Behav 2007;90:116-124.
- 4) Okuda S, et al. in preparation
- 5) McGaugh JL, et al. In PTSD Brain mechanisms and clinical implications. (Kato N, Kawata M, Pitman RK, ed) pp88-103, Springer (2006).
- 6) Okuda S, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:853-858.
- 7) Roozendaal B, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:6741-6746.

編集後記

この本の出版のもとになりました「若手研究者のための生命科学セミナー／ストレスシリーズ」は2004年から2006年にかけて3回開催されました。大成功を取めた「イオンシグナルシリーズ」、「脳シリーズ」に続き、現代社会において避けて通ることのできない「ストレス」をテーマに、どのようなセミナーが展開されるのだろうか、期待を胸に準備を開始した頃のこと懐かしく思い起こされます。

このセミナーは、唐木先生が冒頭で紹介下さいましたように、「生命科学を志す若い研究者に、最先端でありながら分かりやすい講演を聴く機会を提供し、研究の楽しさを伝える」ことを目指して開催されました。「ストレスシリーズ」においても、この趣旨に沿って、毎回のセミナーを迎えるまでに組織委員、講師の先生方、事務局で度重なる打合せを行い、時に講師の先生方にはスライドの修正やご自身の専門以外の解説など、多々のご無理をお願いしてきました。そんな無理なお願いを快く（かなり「ストレス」を感じられた先生もおられたと存じますが……）引き受けて下さったのは、先生方が若い研究者の教育に熱心であり、このセミナーの趣旨にご賛同下さっていたからと思います。1回の講演を引き受けていただいただけなのに、結局この本の出版まで長い方では3年にわたり、大変な労力とお時間を頂戴いたしました。改めてご執筆頂きました先生方に深く感謝申し上げます。

また、この本の出版にあたっては、生命科学セミナーをもとに特集記事を組んで下さった日本薬理学会学会誌「くすりとからだ」のご協力も頂いており、日本薬理学会関係者の皆様にも厚く御礼申し上げます。

この本の出版をもって生命科学セミナー関連プログラムは終了いたしますが、長年にわたり素晴らしいセミナーを企画して下さいました組織委員の先生方、そして毎回のセミナーを担当して下さいましたモデレーターの先生方に厚く御礼申し上げます。

9年間にわたる生命科学セミナーは延べ2000人を越える若い研究者の方々にご参加頂きました。研究者の若芽が若木になり枝葉を伸ばして実を結ぶ過程の中で、このセミナーが多少なりとも成長の後押しを担ったものと自負しております。この本を多くの若い研究者が手に取り、研究の面白さを感じてくれること、そして日本の生命科学の発展に繋がることを祈念します。

(財) 万有生命科学振興国際交流財団

ストレスの科学

2007年3月30日発行

監 修 若手研究者のための生命科学セミナー組織委員会
唐木英明 玉置憲一 尾仲達史 太田 尚

編 集 尾仲達史 井樋慶一 神庭重信 二木鋭雄

発 行 (財)万有生命科学振興国際交流財団
〒102-8667 東京都千代田区九段北1-13-12 北の丸スクエア
Tel 03-6272-1098 Fax 03-6238-9128
<http://www.banyu-zaidan.or.jp/>

出 版 ライフサイエンス出版(株)
〒103-0024 東京都中央区日本橋小舟町11-7
Tel 03-3664-7900 Fax 03-3664-7736

印 刷 (株)八紘美術

©日本薬理学会 2007
ISBN978-4-89775-237-2