

第 103 回日本精神神経学会総会

シンポジウム

ストレス反応性とうつ病発症感受性

森 信 繁 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科精神神経医科学)

I. これまでの疫学研究及び動物実験からみた
幼少期の不遇な養育環境に伴う成長後の
うつ病発症脆弱性

うつ病発症に前駆して身体的・心理的ストレス状況の存在することは、よく知られた事実である。しかしながら同一のストレス環境下に置かれても、うつ病などの精神障害を発症するヒトと適応するヒトにわかれ、ストレス抵抗性はヒトによって大きく異なる。このようなストレス脆弱性あるいは抵抗性の形成機序について、幼少期の養育環境の密接な関与が提唱されている¹⁴⁾。

これまでに行われた後方視的な疫学研究から^{1,8,13)}、幼少期の虐待・無視などの不遇な養育環境は、成長後のうつ病罹患率あるいは抑うつ・不安状態の発生率を有意に増大させることが報告されている。このような後方視的研究に対して Widom ら¹⁹⁾ は、不遇な養育環境が及ぼす成長後のうつ病発症率について長期の観察を行っている。その結果では生涯有病率がオッズ比で多様な被虐待群で 1.75 倍、時点有病率 (調査時) で虐待あるいは無視を受けた群で 1.51 倍と亢進し、有意に幼少期の不遇な環境がうつ病発症脆弱性を亢進させることを報告している。

このような疫学的研究の成果が提唱する、不遇な養育に由来するストレス脆弱性の形成機序については、ほとんど解明されていないのが現状である。僅かに Francis ら³⁾ により、低養育環境がラット成長後のストレス負荷に伴う副腎皮質ホルモン (corticosterone) 分泌過剰に対する negative feedback の減弱を惹起し、そのメカニズムには

海馬 glucocorticoid 受容体遺伝子のプロモーター領域のメチル化の亢進が関与していることを報告しているのみである¹⁸⁾。このような副腎皮質ホルモン分泌機能の変化は、うつ病の病態機序に副腎皮質ホルモン分泌亢進の関与が指摘されており、幼少期の不遇な体験が成長後のうつ病発症脆弱性を亢進させる機序に関与していると思われる。しかしながらこの他にもまだ多くの、幼少期ストレスに伴う成長後のうつ病発症脆弱性を引き起こす脳内機序があると予想される。

II. げっ歯類を対象としたうつ病や
養育環境モデルの妥当性

うつ病動物モデルとして臨床的うつ病状態を綿密に反映したモデルはなく、これまでも拘束ストレス・慢性多様性ストレス・強制水泳・学習性無力 (learned helplessness; LH)・social defeat などによるモデルが提唱されてきた。我々はこのような複数あるうつ病モデルの中から、表面妥当性 (face validity)・構成概念妥当性 (construct validity)・予測妥当性 (predict validity) という観点にたって、学習性無力 (LH) あるいは social defeat を用いたモデルが比較的適したうつ病モデルであると考えている。本研究で使用した LH パラダイムは表 1 に示すとおりであり、実験第 1 日目とは異なり逃避可能な状況である第 2 日目にみられる無力状態やこの無力状態が抗うつ薬の連続投与によって消滅していく現象から、うつ病に類似性のあるモデルとみなしている。行動学的変化のみでなく近年の分子生物学

表1 学習性無力 (LH) テストのパラダイム

第1日目: Inescapable shock session 40分間のセッションで回避不能環境下にて、0.8 mA, 60 sec の footshock を合計 20 分間与える。
第2日目: Test session レバーを押すことでショックを回避できる環境下で、0.8 mA の footshock を 60 sec の長さで与え、この時間内に回避できた回数を数える。全体で 15 回を、24 sec 間隔で施行する。
行動評価: 回避失敗回数 0~5/15 → non-LH, 6~10/15 → intermediate 11~15/15 → LH

的解析から、血清副腎皮質ホルモン値の亢進¹¹⁾・大脳皮質前頭部や海馬での脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor ; BDNF) の発現減少¹⁰⁾なども報告され、LH のうつ病モデルとしての類似性が異なった観点からも提唱されている。

幼少期の不遇な体験の動物モデルとしては、これまで主に neonatal isolation (NI) ・ maternal separation (MS) ・ low maternal care という処置が用いられてきた。なお一般的に母子分離と表現すると、NI と MS の二つの処置が含まれる。実際には NI とは仔ラットを母親のみでなく同胞とも分離して孤立した状況に置く操作であり、MS とは単に母親を仔ラットの集団から引き離すだけの操作を意味している。これらすべての幼少

期ストレスモデルを用いた研究の結果は、いずれの処置によっても成長後の拘束ストレス負荷に対して、血清 corticosterone 値の過剰な亢進を示している^{2,15,17)}。

その一方で不遇な環境に対して、特に離乳後に適応されている場合が一般的であるが、environmental enrichment (EE) という豊かな飼育環境によるストレス脆弱性修復の効果も報告されてきている。歴史的には 1940 年代から 50 年代に行われた Hebb と彼の大学院生による一連の研究⁷⁾が有名であり、彼らは自由に動ける環境やその中に設置した playthings (斜面・袋小路など) のある豊かな環境によって、ラットの学習機能が亢進することを証明している^{5,9)}。最近の研究では Kempermann ら¹²⁾の報告にみられるように、豊かな環境での飼育によってマウスの学習機能が促進され海馬のニューロンの生存率の亢進を介した神経新生も増大することなどが示されている。不遇な養育環境に由来する HPA 系のストレス感受性亢進に対する豊かな環境の影響についても、母子分離ラットの離乳後に 3 週間の豊かな環境を提供することによって、拘束ストレス負荷に伴うコルチコステロンの過剰分泌が抑制されることが報告されている⁴⁾。

このような動物モデルの行動学的・神経内分泌的検討から、我々は図1に示すような実験パラダ

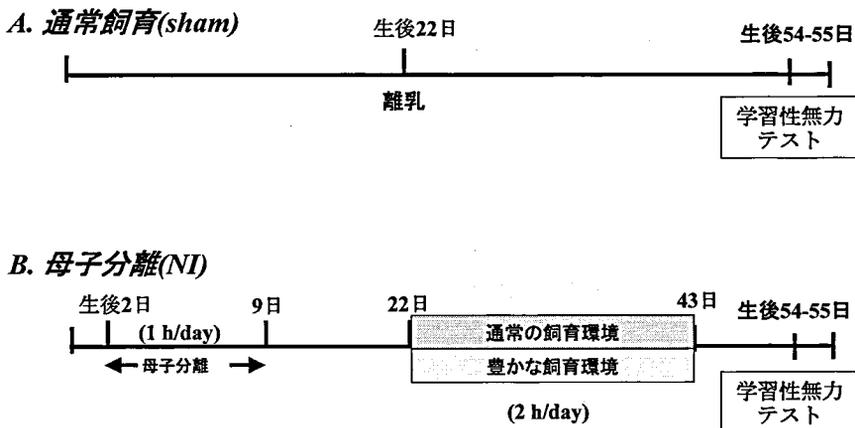


図1 養育環境のパラダイム

イムで、幼少期の不遇な体験がストレス脆弱性を導き成長後のストレス再曝露によって容易にうつ病を発症させるか否かを解析した。同時に幼少期の不遇な環境後に、豊かな環境を提供することによって、うつ病モデル出現率がどのように変わるかについても検討を行った。

III. 行動実験による幼少期の養育環境と うつ病発症脆弱性の関連性

まず NI による成長後のうつ病モデル出現頻度を、対照 (非母子分離; sham) 群との間で LH テストを用いて行った実験の結果から示す。我々の用いた生後 2~9 日目までの短時間 NI によって、成長後の LH 出現頻度は有意に増大しており、NI によって成長後にうつ病モデル状態になり易いことがわかった。なお我々の用いている NI パラダイムでは、特に神経発達の遅延や体重増加不良などの身体的発達の遅れは出ていない。次に我々は NI を受けて育った仔ラットを対象に、サイズの大きなケージで多様なオモチャを配備した EE での飼育を離乳後から 3 週間 1 日 2 時間だけ行った。その上で NI 実験と同様に LH テストを用いて、うつ病モデル状態となる頻度を計測した。その結果、NI 後に EE で飼育された群では NI 群と比較して有意に LH 出現率は低下していた。このような結果は幼少期の不遇な環境に曝露されても、その後に適切な支援を受けることによって、不遇な環境によって形成されたうつ病発症脆弱性が修復されることを示唆している。

IV. 分子生物学的検討による幼少期の養育環境と うつ病発症脆弱性の脳内メカニズム

このような NI と LH テストを用いたラットの行動実験結果は、不遇な養育環境がうつ病発症脆弱性の亢進を導く可能性を支持している。従って我々は、NI に曝露され LH になったラット群と Sham 群で非学習性無力状態 (Non-LH) であったラットの海馬での遺伝子発現の違いを、cDNA マイクロアレイを用いて検索した。その結果、Sham+Non-LH 群に比べて NI+LH 群で顕著

に発現の低下する遺伝子が 21 個検出され、その中に LIMK-1 という遺伝子が含まれていることがわかった。この LIMK-1 という遺伝子はリン酸化酵素の一つでありアクチンの脱重合に密接に関与し、シナプス形成に重要な樹状突起スパインの形成に関与していることが報告されている¹⁶⁾。うつ病の病態仮説の一つにシナプス形成の障害が提唱されているため、LIMK-1 に焦点を当てて real-time quantitative PCR 法にてこの 2 群での発現の差を検証したところ、アレイの結果と同様に有意に NI+LH ラットの LIMK-1 mRNA 発現は Sham+Non-LH ラットに比べて減少していた。この mRNA レベルでの LIMK-1 発現の減少は、抗 LIMK-1 抗体を用いた Western blot 法や免疫組織化学法を用いた蛋白レベルでの解析でも有意にみられ、翻訳レベルの変化まで伴っていることがわかった。

この NI+LH ラット海馬で見られた LIMK-1 発現の減少が、NI による結果か LH テストによる結果かを検討する目的で、Sham 群・NI 群・Sham+Non-LH 群・NI+LH 群で LIMK-1 mRNA 発現を検討したところ、NI+LH 群のみならず NI 群でも有意な発現の減少がみられていた。このような結果は NI という幼少期ストレスによって、うつ病モデル試験である LH テストを負荷される以前に、LIMK-1 発現が減少することを示している。幼少期からの LIMK-1 発現の障害は、ノックアウトマウスを用いた研究結果から推測すると、海馬神経細胞の樹状突起スパインの形成に影響をおよぼすことが予想される¹⁶⁾。本実験で示されたような LIMK-1 を介した機序による海馬での構造・機能変化がストレスに前駆して形成されていると、ストレスに伴う情報伝達の障害が容易に引き起こされ、その結果としてうつ病発症頻度が亢進すると推察される。

V. ストレス脆弱性や resilience の形成に 関わる養育環境の役割

今回の講演では幼少期の不遇あるいは豊かな養育環境のおよぼす、成長後のうつ病発症感受性

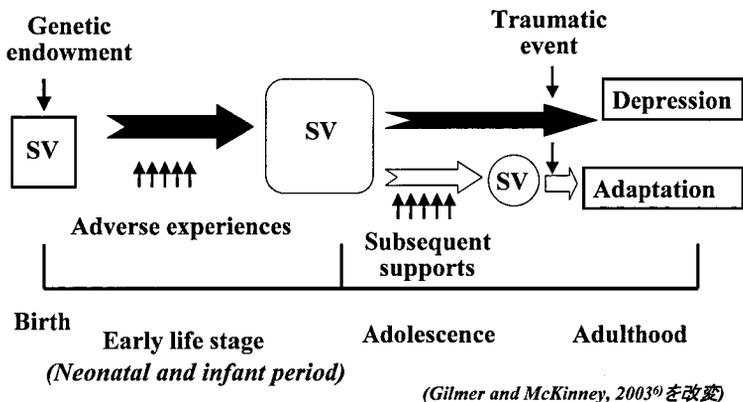


図2 うつ病発症脆弱性形成機序に関する仮説
SV：Stress vulnerability

亢進とその resilience の脳内機序について，行動実験と分子生物学的実験から紹介させていただいた。本講演で紹介した研究成果も含めこれまでの基礎的・臨床的研究の蓄積から，うつ病発症脆弱性と resilience の形成には，nature からの要因と nurture からの要因が複雑に関連していると考えられる（図2）。うつ病発症脆弱性の亢進には，まず遺伝的要因の影響が，少なからず関与している⁶⁾。その一方で，幼少期の不遇な環境は遺伝的要因に伴う発症脆弱性を促進し，本来備わっていた脆弱性をストレス曝露時に顕現化してしまう可能性がある⁶⁾。しかしながらうつ病発症脆弱性の形成後でも，豊かな環境の提供によって亢進していた脆弱性は再び小さくなることも予想される。このようなストレス脆弱性の養育環境に伴うダイナミックな変化は，亢進した脆弱性を保持した個体では成長後のストレス曝露に対して容易にうつ病状態を呈し，脆弱性の修復された個体では適応的な行動が可能になるのではないかと思われる。

謝 辞

本研究にご参加・ご協力いただきました皆様に，厚く御礼を申し上げます。

(敬称略)

広島大学大学院医歯薬学総合研究科精神神経医学：高橋輝道，岩本泰行，撰 香織，川野樹一郎，辻 誠一，山脇成人

東京大学大学院医学系研究科神経生化学：奥野浩行，尾藤晴彦

文 献

- 1) Bifulco, A., Brown, G. W., Harris, T.: Early sexual abuse as a precursor to depression in adult life. *British Journal of Psychiatry*, 159; 115-122, 1991
- 2) Erabi, K., Morinobu, S., Kawano, K.I., et al.: Neonatal isolation changes the expression of IGF-IR and IGFBP-2 in the hippocampus in response to adulthood restraint stress. *Int J Neuropsychopharmacol*, 10; 369-381, 2007
- 3) Francis, D.D., Diorio, J., Liu, D., et al.: Non-genomic transmission across generations of maternal behavior and stress response in the rat. *Science*, 286; 1155-1158, 1999
- 4) Francis, D.D., Diorio, J., Plotsky, P. M., et al.: Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *J Neurosci*, 22; 7840-7843, 2002
- 5) Forgas, D.G., Forgas, J.W.: The nature of the effect of free-environmental experience in the rat. *J Comprehensive Physiol and Psychol*, 45; 322-328, 1952
- 6) Gilmer, W.S., McKinney, W.T.: Early experience and depressive disorders: human and non-human primate studies. *Journal of Affective Disorder*, 75; 97-113, 2003
- 7) Hebb, D.O.: The effects of early experience on

problem-solving at maturity. *Am Psychologist*, 2; 306-307, 1947

8) Holmes, S.J., Robins, L.N.: The role of parental disciplinary practices in the development of depression and alcoholism. *Psychiatry*, 51; 24-36, 1988

9) Hymovitch, B.: The effects of experimental variations on problem solving in the rat. *Journal of Comprehensive Physiology and Psychology*, 45; 313-321, 1952

10) Itoh, T., Tokumura, M., Abe, K.: Effects of rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor, in combination with imipramine on depressive behavior, CRE-binding activity and BDNF level in learned helplessness rats. *Eur J Pharmacol*, 498; 135-142, 2004

11) Kademian, S.M., Biquante, A.E., Lardone, P., et al.: Biphasic effects of adrenal steroids on learned helplessness behavior induced by inescapable shock. *Neuropsychopharmacol*, 30; 58-66, 2005

12) Kempermann, G., Kuhn, H., Gage, F.H.: More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 386; 493-495, 1997

13) Kendler, K.S., Neale, M.C., Kessler, R.C., et al.: Childhood parental loss and adult psychopathology in women. A twin study perspective. *Arch Genl Psychia-*

try, 49; 109-116, 1992

14) Luthar, S.S.: Resilience and vulnerability: Adaptation in the context of childhood adversities. Cambridge University Press, New York, 2003

15) Meaney, M. J.: Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generation. *Annual Review of Neuroscience*, 24; 1161-1192, 2001

16) Meng, Y., Zhang, Y., Tregoubov, V., et al.: Abnormal spine morphology and enhanced LTP in LIMK-1 knockout mice. *Neuron*, 35; 121-133, 2002

17) Plotsky, P. M., Meaney, M. J.: Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular Brain Research*, 18; 195-200, 1993

18) Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., et al.: Epigenetic programming by maternal care. *Nat Neurosci*, 7; 847-854, 2004

19) Widom C.S., DuMont, K., Czaja, S.J. et al.: A prospective investigation of major depressive disorder and comorbidity in abused and neglected children grown up. *Arch Gen Psychiatry*, 64; 49-56, 2007