4. ストレスと学習：母体ストレスの仔に対する可塑的变化

三 国 雅 彦

群馬大学医学部 神経精神医学講座

Prenatal Stress Altered Adrenocortical Response to Conditioned Fear Stress in Adult Offspring

Masahiko MIKUNI

Department of Neuropsychiatry, Gunma University School of Medicine

Summary

To more precisely understand the predisposition factors for depressive illness and post-traumatic stress disorder, it is necessary to make an animal model revealing the dysregulation of Hypothalamo-Pituitary-Adrenal (HPA) axis, which is frequently seen in depressive illness and stress-related disorder. In the present study, we have investigated the effects of prenatal stress on the adrenocortical response and behavioral alterations to stressful stimuli in adult offspring, since the decreased or the enhanced suppression of HPA response are frequently observed in depressive illness and post-traumatic stress disorder, respectively. Our results are summarized as follows:

1. Prenatal saline injection stress produced the disinhibition of HPA response to conditioned fear stress in adult male offspring. In addition, the prolonged immobility duration in the forced swimming stress was observed in the prenatally stressed groups compared with controls. Taken together, the prenatal saline injection stress model may have a face validity as an animal model of depression.

2. In contrast, prenatal saline injection stress produced the enhanced suppression of HPA response to conditioned fear stress in adult female offspring, suggesting that the prenatal saline injection stress model modified by some sex steroids may provide a good tool to investigate the pathophysiology of post-traumatic stress disorder.

はじめに

うつ病では視床下部-下垂体-副腎皮質系機能の脱抑制が示唆されている^{1,2)}。すなわち、高コルチゾール血症やデキサメサゾン非抑制が高頻度に観察され、髄液中のコルチコトロピン遊離促進ホルモン (CRH) やコルチゾール濃度の高値が報告されている。また、うつ病を含む自殺者死後脳研究でも CRH 受容体密度の低値³⁾、下垂体におけるコルチコトロピン前駆体ペプチドの mRNA 量の高値⁴⁾が報告されている。したがって、この視床下部-下垂体-副腎皮質系の機能亢進の機構の解明が躁うつ病の生物学的成因を明らかにするために是非とも必要であり、グルココルチコイド受容体を介する抑制機能低下を示す動物モデルをどのように作製するかに関心が集まっていると言える。最近、遺伝子工学の技法により、脳内のグルココルチコイド受

容体の発現を抑制したトランスジェニックマウスは、高コルチコトロピン血症や高コルチコステロン血症を呈することが報告されているが⁵⁾、このトランスジェニックマウスはモリス水迷路試験での学習能の低下が示唆されており、うつ病態モデルとはなっていない。一方、胎生期や新生児期の神経伝達物質の変化が神経突起進展や受容体機能を変動させ、その効果が成熟後にも維持されることが発達薬理学の発展により明らかにされつつある。われわれは、新生児期のストレス負荷やセロトニン神経伝達の変動が及ぼす成熟後のストレス反応性への影響について報告してきた⁶⁻⁸⁾。本研究では妊娠母体に生理的食塩水を反復皮下投与した仔ラットが、成熟後のストレス負荷に対するコルチコステロンの分泌反応の異常や行動学的異常を呈するか否かを検討し、さらに、この胎生期処置の効果の性差に

図 1 生後 28 週に施行した恐怖条件付けストレス負荷による血中コルチコステロン分泌—妊娠母体 (GD14~GD20) への生理的食塩水注射反復処置の効果—

図 2 生後 8 週に施行した強制水泳ストレス負荷時の行動変化—妊娠母体 (GD14~GD20) への生理的食塩水注射反復処置の影響—

についても検討した。

方 法

妊娠 14 日から 20 日までの 7 日間, SD 系の妊娠ラットに生理的食塩水 1 ml/kg を毎日皮下注射し, 仔ラットを以下の実験に供した。恐怖条件付けストレスを負荷するため, 生後 8 と 28 週齢の雄性仔ラットにストレスボックスの床のグリッドより 1.5 mA の電撃を 4 秒ごとに 1 秒間負荷し, これを毎日 20 分間ずつ, 3 日間繰り返す。4 日目には電撃を加えず, ストレスボックス内に 20 分間放置した。ストレスボックスからの解放直後, 解放後 30, 60, 120 分に断尾採血し血中コルチコステロン濃度の変動を測定した。負荷前値はストレスボックスへ移す前にホームケージ内で採血した。また, 拘束ストレスとして, 金属製の網で 2 時間拘束し, 拘束後 20, 60, 120 分, 解放後 30, 60, 120 分に断尾採血し血中コルチコステロン濃度の変動を測

図 3 雌性仔ラット (36 週齢) における恐怖条件付けストレス負荷後の血中コルチコステロン濃度の推移 —妊娠母体への生理的食塩水注射反復処置の効果—

定した。次に, 1 m の高さに設置した高架式プラス迷路や水深 40 cm, 水温 25°C の水槽に別の群の 8 と 21 週齢の雄性ラットを入れ, ストレス下の行動変化を測定した。また, 生後 14 と 36 週齢の同腹の雌性仔ラットに恐怖条件付けストレスを負荷し, 断尾採血して, 血中コルチコステロン濃度の変動を測定し, 性差を検討した。

結 果

胎生期の注射ストレス負荷は成熟後の恐怖条件付けストレスによる血中コルチコステロン分泌を有意に亢進させ, 視床下部-下垂体機能亢進に対する抑制能の減弱を引き起こした (図 1)。しかし, 成熟後の拘束ストレス負荷は胎生期の注射ストレス群と対照群の血中コルチコステロン濃度変動に有意な影響を与えなかった。雄性仔ラットは高架式プラス迷路試験の前半の時間での迷路への進入頻度の低下を示し, しかも, 強制水泳ストレス負荷時の無動時間の有意な延長を示した (図 2)。一方, 同腹の雌性仔ラットは, 恐怖条件付けストレス負荷から解放後のコルチコステロン分泌の基礎レベルへの戻りが対照群より早く, 遷延を示す雄性仔ラットとは逆の結果となり, 胎生期注射ストレスの効果には性差があることが明らかとなった (図 3)。

考 察

強制水泳ストレス負荷時の無動時間は抗うつ薬で短縮することがよく知られているが, 胎生期の注射ストレス負荷処置はこの無動時間を有意に延長させ, 高架式プラス迷路試験での迷路への進入頻度を低下させることから, 無力感を学習しやすく, 不安を懐きやすい

モデル動物であると推測される。しかも、成熟後の恐怖条件付けストレス負荷に対するコルチコステロンの過剰分泌という成績とを併せて考えると、この胎生期ストレス負荷雄性ラットはうつ病態モデルとなる可能性が強く示唆された。この発達に伴う可塑的变化を担う神経回路網の解明が次の課題となる。最近 Gray⁹⁾ は、分界条床核を破壊しても拘束ストレス負荷による ACTH 分泌は観察されたが、恐怖条件付けストレス負荷による ACTH 分泌は阻止されたという成績を報告しているので、本研究で明らかとなったこの可塑的变化を担う神経回路網には分界条床核が含まれている回路であると考えられる。

最近、Yahuda¹⁰⁾ は心的外傷後ストレス障害がデキサメサゾン抑制試験で過抑制を呈することを報告しており、うつ病における脱抑制とは逆の結果となっている。本研究で明らかのように胎生期ストレスモデルには性差が存在し、ストレスに対する下垂体-副腎皮質系のフィードバック機能が逆になることから、胎生期や新生児期の性腺ホルモンがこの差の形成に重要な役割を果たしていると考えられる¹¹⁾。しかも、興味深いことに、心的外傷後ストレス障害はうつ病と同様に大脳皮質の CRH 受容体密度が低下しており、脳内の CRH は過剰である可能性が考えられている。感情障害やストレス関連疾患の病態の解明にこの胎生期ストレスモデルは有力な糸口となると期待される。

本研究の主要な部分は国立精神・神経センターで小川、宗岡、斉藤、木寺、高橋各先生らと共同研究した

成果であり、本報告はその後の成績を含めて著者が代表してまとめたものである。

文 献

- 1) Carroll, B.J. and Mendels, J. : In *Hormones, Behavior, and Psychopathology* (Sachar, E.J. ed.), Raven Press, New York, pp. 193-224 (1976)
- 2) Nemeroff, C.B. and Krishnan, R.R. : In *Neuroendocrinology* (Nemeroff, C.B. ed.), CRC Press, Inc., Boca Raton, pp. 413-441 (1992)
- 3) Nemeroff, C.B., Owens, M.J., Bissette, G. et al. : *Arch. Gen. Psychiatry*, **45**, 577 (1984)
- 4) Lopez, J.F., Palkovits, M., Arato, M. et al. : *Neuroendocrinology*, **56**, 491 (1992)
- 5) Pepin, M.-C., Pothier, F. and Barden, N. : *Nature*, **355**, 725 (1992)
- 6) Ogawa, T., Mikuni, M., Kuroda, Y. et al. : *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **49**, 961 (1994)
- 7) Muneoka, K., Mikuni, M., Ogawa, T. et al. : *Neurosci. Lett.*, **168**, 89 (1994)
- 8) Ogawa, T., Mikuni, M., Kuroda, Y. et al. : *J. Neural. Transmission*, **96**, 113 (1994)
- 9) Gray, T.S., Piechowski, R.A., Yracheta, J.M. et al. : *Neuroendocrinology*, **57**, 517 (1993)
- 10) Yahuda, R., Southwick, S.M., Krystal, J.H. et al. : *Am. J. Psychiatry*, **150**, 83 (1993)
- 11) Pakarinen, P., Proshlyakova, E. and Huh-taniemi, I. : *Neuroendocrinology*, **60**, 42 (1994)