

200500762 A

厚生労働科学研究研究費補助金  
こころの健康科学研究事業

ストレス性精神障害の成因解明と  
予防法開発に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山 脇 成 人

平成18年(2006年)3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
ストレス性精神障害の成因解明と予防法開発に関する研究……………1	
山脇 成人	
II. 分担研究報告	
1. ストレス脆弱性形成の分子機構の解明に関する研究……………21	
森信 繁	
2. ストレス性精神障害の病態形成と治療に関する脳機能画像解析研究……………25	
岡本 泰昌	
3. 情動の発達からみた前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系ネットワークの 構築に関する研究……………・29	
神庭 重信	
3. ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究……………32	
尾藤 晴彦	
4. 生後脳の神経新生から見た精神疾患発症機序に関する研究……………35	
井ノ口馨	
5. 乳幼児の発達に及ぼす母子相互作用の影響に関する神経心理学的研究……………38	
利島 保	
6. 幼児期の家族支援体制作りを目指して- 3歳児健診事業を活用して-(3) ……42	
田中康雄	
(資料) 図1, 表1~6	
7. 平成17年度3歳児健診制度を用いたストレス性精神障害高リスク児の早期スクリー ニングと母親の養育ストレス度調査……………・54	
森信 繁, 田中康雄	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表……………57	
IV. 研究成果の刊行物・別刷……………61	

# I. 総括研究報告

総括研究報告書

ストレス性精神障害の成因解明と予防法開発に関する研究

主任研究者 山脇成人 広島大学大学院医歯薬学総合研究科（精神神経医科学） 教授

**研究要旨：**ストレス性精神障害の成因の基盤となるストレス脆弱性形成の分子メカニズムを解明し、児童精神医学の観点も含めた予防法の開発を行う目的で、初・2年度に引き続き最終年度である平成17年度は以下の研究を行った。

ストレス脆弱性形成の分子機構の解明に関する研究：母子分離ストレスを受けた成熟期ラットでは、拘束ストレスへの耐性の低下・海馬依存性記憶の低下、などのストレス脆弱性が形成される。本年度も引き続き母子分離ラット海馬を対象に脆弱性の分子機序を検討した結果、海馬CA1-CA3錐体細胞や歯状回顆粒細胞でのinsuline-like growth factor (IGF)-1受容体発現の減少が、密接に関与していることが明らかになった。また母子分離ラットに対してPTSDラットモデルであるsingle prolonged stress負荷を行ったところ、不安恐怖行動やanalgesiaなどのPTSD-like behaviorが有意に亢進することが示された。同じくPTSD-like behaviorの一つである恐怖記憶に関して、恐怖記憶形成後に前脳特異的にアクチビン機能を抑制することで、強固に形成された恐怖条件付け記憶を消去することができることを示した。ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究：ストレス曝露時の興奮性神経細胞の樹状突起スパイン形態変化に関与する分子機構について探索し、本年度は薬理学的ストレスとしてのNMDA刺激に伴うアクチン機能の障害をBDNF/trkB情報系の活性化によって防ぐことができることを示した。ストレス性精神障害の病態に関する脳機能画像解析研究：ストレスへの脳内認知機構の解明として、身体イメージに関する不快な情報（ストレス）を処理する神経基盤が男女で異なる可能性を想定し、その神経基盤の性差について検討した。さらにストレスへの適応強化のための心理機制として、将来の報酬予測に着目し、セロトニンの影響について検討を行った。その結果、若年の健常成人において、身体イメージに関する不快な情報を処理する神経基盤が男女で明らかに異なる可能性が考えられた。脳内の「報酬への予測」機能が、線条体を中心として分化した情報システムによってなされていること、この機能はうつ病との関連が示唆されるセロトニンによって調節を受けることなどが明らかになった。ストレス性精神障害の発症予防に関する児童精神医学的検討：乳幼児の生育環境で与えられる視覚的情動刺激や痛覚的情動刺激が、乳幼児の脳機能活動に反映される状態を検討するため、本年度は以下の2つの研究を実施した。研究1では、乳児院や一般家庭で哺育されている1年未満の乳幼児を対象に、3, 6, 9ヶ月ごと縦断的に血行動態の発達的变化を検討した。研究2では、極低体重出生児に対し定期的実施される抗生剤注射後の痛覚の影響を検討した。その結果前者では、物理的生育環境に関係なく表情情報に対して早期から前頭領域の活性化が認められたが、生後半年以後になると無表情情報に対しても活性化が認められた。後者では、極低体重出生児の痛覚刺激に対する前頭部の反応が注射直後から漸次活性化するだけでなく、活性化が注射体側に比べて対側半球で著しかった。ストレス脆弱高リスク児の早期スクリーニングの開発について、本年度も昨年度に引き続き3歳児健診事業を活用して、母親の養育に関わるストレス度の調査を行った。その結果、母親の年齢が若く、子供の行動面での問題（機嫌・困らせる度合・規制）が高いと、養育に対するストレス度の大きくなることがわかった。

**A. 研究目的**

**A-1. ストレスによる遺伝子発現機構研究**

幼少時期のストレス体験、特に不遇な養育環境は成人期においてストレス関連精神障害の発症リスクを高めることが示唆され

ている。同様に母子分離負荷を受けて成長したラットは、成熟期にストレスの影響を受けやすくストレス脆弱性の形成されていることが行動学的・神経内分泌学的に明らかにされ、ヒト成人期ストレス脆弱性のモ

デルとみなされている。これまでに本研究者らは母子分離によって、1) 成熟期ラットが拘束ストレスに曝露されると自発運動の顕著な減少を伴ったストレス脆弱性を示し、c-Jun N-terminal kinase-2, 94 kDa glucose-regulated protein, insulin-like growth factor (IGF)-1 受容体、IGF binding protein<sup>2</sup> の発現が海馬で減少する、2) 不安行動や自発運動とは無関係に、成熟期の海馬を介した記憶・学習機能が低下し、良好な飼育環境 (EE) の供与によって機能低下が緩和される、3) 母子分離によって形成された記憶・学習機能の低下の機序には、海馬での Integrin  $\beta 3$  (CD61) 発現の低下の関与している、ことを明らかにしてきた。初・昨年度に引き続き本年度も、以下の研究を継続して行った。A-1) 母子分離による成長後の拘束ストレス脆弱性形成の分子機序の解明、A-2) 母子分離のおよぼす成長後の PTSD 症状形成への影響の検討。

#### **A-2. ストレス性精神障害の病態形成と治療に関する脳機能画像解析研究**

多くの精神障害の発症、症状形成や持続にストレスが関与している。特にストレス関連障害においては脳内のストレス適応機構の破綻した状態と考えられ、適応の脳内機構に関する検討は、精神障害の発症機序・治癒過程の解明につながると思われる。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検討を行ってきた。昨年度はストレスへの適応強化のための心理機制として、予期と心像生成 (Imagery) に着目し、その脳機能局在について検討を行った。その結果、健常者では快刺激の予期と左前頭前野の活動、不快刺激の予期と右前頭前野の活動が関連していることが示唆されたが、これに対してうつ病患者では左前頭前野の活動低下、右前頭前野・帯状回前部腹側領域を含む活動亢進が示唆された。また、アレキシサイミアでは未来の楽しい心像を生成する際に後帯状回の活動低下しており、感情を伴うエピソード

記憶の利用が乏しい可能性を指摘した。

引き続き今年度は、身体イメージに関する不快な情報 (ストレス) を処理する神経基盤が男女で異なる可能性を想定し、その神経基盤の性差について検討した。さらにストレスへの適応強化のための心理機制として、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。

#### **A-3. 情動の発達からみた前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系ネットワークの構築に関する研究**

本研究は、情動発達の神経生物学的基盤を解明するとともに、その障害をもたらすストレス脆弱性のメカニズムについて明らかにし、予防法開発に結びつけることを目的としている。今年度の研究では、中枢の主要なストレス反応系である前頭前野カテコールアミン系とグルタミン酸系の機能的連関について予備的な検討を行った。このニューロン回路は、側坐核や扁桃など、皮質下の辺縁系諸部位において情動ストレスに関連した過剰なニューロン活動を制御しており、抗うつ薬、気分安定化薬や非定型抗精神薬によって選択的に賦活されることで知られている。今回の研究では、従来、ほとんど検討されていない AMPA/kainate 型グルタミン酸受容体による前頭前野カテコールアミン系活動の調節機構について非定型抗精神薬のドーパミンおよびノルエピネフリン遊離作用を指標に調べた。

#### **A-4. ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究**

ストレス暴露時の過剰神経活動後には、スパイン形態や樹状突起形態に著明な異変が起こることがすでに示されている。そこで、本研究では、ストレス暴露様シナプス活動後のスパイン形態変化の解明と、その変化に関与しうるシグナル経路の同定に焦点を絞り、以下の点について研究を進める。

A-4-1. 海馬興奮性神経細胞における活動依存的アクチン再編成の分子機構を解明する。

A-4-2. 興奮性神経細胞における新規アクチン制御機構の探索を行う。

#### **A-5. 生後脳の神経新生から見た精神疾患発症機序に関する研究**

いったん強固に形成された恐怖記憶を人為的に消去する方策をさぐり、PTSD 治療への展開を探る。

#### A-6. 乳幼児の発達に及ぼす母子相互作用の影響に関する神経心理学的研究

本研究は、ストレス脆弱性の形成される神経心理学的基盤が、出生早期の生育環境の質により大きく影響するとされている点に注目し、乳幼児の心身発達に極めて影響の大きい生育環境にあって、乳幼児に与える大人の表情情報や入院時の注射による痛覚的不快情報の処理が、未発達な脳過程でどのように処理され、情動機能の発達にどのように反映されるかについて考察する目的で、これら乳幼児の情動と関係する刺激情報が、情動発達の最終段階と深く関わっているとされている眼窩前頭領域の脳血流動態に反映される状態について、近赤外線分光法 (NIRS) を用いた脳イメージング法により検討した。そのために、本年度は以下の2つの研究を実施した。まず、第1研究は「乳児の表情認知に関する前頭部領域における血行動態反応に関する研究」で、母子相互作用事態で与えられる顔の表情刺激の視覚情報が、乳幼児の脳活動に影響する発達過程を検討するため、乳児院在籍並びに一般家庭哺育の1歳未満児を対象として3, 6, 9ヶ月ごとに縦断的追跡を行い、乳幼児の視覚的認知と情動との関係について検討することを目的とした。すなわち、表情の豊かな顔(笑顔)と表情の乏しい顔(無表情)を乳児が見たときの前頭部位における脳血流中の酸素化ヘモグロビンの状態の測定を、生後3ヶ月と6ヶ月の縦断的な変化について観察した。第2研究は「極低出生体重児における痛み刺激前後の脳血流の変化に関する研究」で、乳幼児にストレス刺激を人為的に与えることができないため、自然的状態でストレス刺激と考えられる痛覚刺激が与えられる事態として、NICUで哺育管理されている極低出生体重児に対して、定期的に与えられる注射の痛覚刺激が、これらの検児の脳血行動態に及ぼす影響を検討することにより、従来痛みに対する感覚が無いとされていた新生児期の乳児の痛覚反応の評価可能性を探るとともに、痛覚刺激の情動機能への影響を間接

的に検討することを目的とした。各研究について、方法・結果・考察をそれぞれ以下に述べる。

#### A-7. 幼児期の家族支援体制作りを目指して—3歳児健診事業を活用して—(3)

われわれは、子どもの育ちを見守り、支援するうえで重要な意義をもっている3歳児健診事業に対して、子育て支援と親支援としての活用可能性を検討し、親の心労との関連をつかみながら、子どもの育ちを簡便に点検できるチェックリストの開発と、親支援のポイントの抽出を行うことを目的とした。

#### A-8. 平成17年度3歳児健診制度を用いたストレス性精神障害高リスク児の早期スクリーニングと母親の養育ストレス度調査

本研究では、平成17年度に実施された3歳児健診をフィールドに、ストレス性精神障害高リスク児のスクリーニングのための3歳児健診用チェックリストと母親の養育に伴うストレスを日本語版PSI(Parenting Stress Index)により調査し、ストレス性精神障害高リスク児の早期スクリーニングと養育上のストレスと発症高リスクとの関連を検討した。具体的には、1)母親の属性(年齢、学歴、出産経験)と養育ストレスとの関連、2)母親の属性及び子どもの行動特徴と養育ストレスとの関連、3)過去12ヶ月間に経験した母親のストレスイベント及び子どもに関するストレスが、母親の養育ストレスを予測するかについて検討した。

## B. 研究方法

### B-1. ストレスによる遺伝子発現機構研究

実験には、全て雄性Sprague-Dawleyラットを用い、12時間毎に明暗期を保ち飼育した。

#### B-1-1. 母子分離による成長後の拘束ストレス脆弱性形成の分子機序の解明

ストレスパラダイム：妊娠ラットを購入し、出産後の雄性仔ラットを用いた。誕生後2-9日目までの8日間、毎日午前中1時間母子分離を行ったものを母子分離群とした。誕生後通常的环境下で飼育したものを正常飼育群とした。それぞれのラットが成

長した後(生後6週と生後90日)、拘束ストレス2時間を施行し、直後に断頭、海馬を摘出した。

Western blot法:生後90日で摘出したラットの海馬を用いた。海馬をhomogenization buffer中でホモジェナイズし、10000Gで10分間遠心後、上清を回収した。60 $\mu$ gのタンパクを12.5%SDSゲルを用いて電気泳動し、タンパクをニトロセルロースメンブレンに転写した。IGFBP2の1次抗体および2次抗体でインキュベーション後に、Enhanced ChemiLuminescence法によりバンドを検出し、デンシトメーターを用いてシグナルの定量を行った。正常飼育+母子分離群、母子分離+急性拘束ストレス群で比較検討を行った。

免疫組織染色法:ラット海馬内IGF1Rタンパク発現の部位的変動を検討する目的で、免疫組織染色を行った。海馬スライス(15 $\mu$ m)を作成し、IGF1Rの1次抗体および2次抗体でインキュベーション後、陽性細胞を検出し、デジタルビデオイメージ解析装置にて画像を得た。正常飼育+急性拘束ストレス群、母子分離+急性拘束ストレス群で比較検討を行った。

B-1-2. 母子分離のおよぼす成長後のPTSD症状形成への影響の検討

動物処置:妊娠ラットを購入し、出産後の雄性仔ラットを用いた。生後2日から9日目までの8日間、毎日午前中1時間母子分離を行ったものを母子分離群、誕生後通常的环境下で養育したものをSham群とし、両群ともに生後22日目で離乳を行った。8週齢でSPSストレス負荷を行い、1週間のundisturbed periodを経て9週目で、以下の行動実験を行った。a) Open field locomotor test(角型のオープンフィールドにラットを入れ、5分間の自発運動量を計測した)・b) 高架式十字迷路(5分間、オープンアームへの進入回数、滞在時間などを計測した)・c) 恐怖条件づけ試験・d) Flinch jump test(ラットをスキナーケージに入れ、3分間の馴化期間を置いた後、電気刺激(0.05~1.0mA:0.05mA ずつ電流を増加)を加え、ラットの刺激に対する反応の閾値(尻込み、泣き声、ジャンプ)を計測した)・e) Hot plate test(ラットを52.5 $^{\circ}$ Cに保ったhot plateの中に置き、後ろ肢をなめるまでの潜伏時間を計測した)。EE処置群は離乳後4週間(3週目から6週の終わりまで)、ケージに輪回

しやトンネルを配備した環境で飼育し、同様に行動解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は広島大学動物実験倫理委員会に動物実験計画書を提出し、同委員会の許可を受けて実験を行った。

## B-2. ストレス性精神障害の病態形成と治療に関する脳機能画像解析研究

B-2-1. 健常者を対象とした自己身体イメージ認知の機能局在の性差に関するfMRIを用いた検討

方法は広島大学医学部倫理委員会の承認を受けたプロトコルに従い、被験者に研究の目的と内容を書面により説明し、文書による同意を得た上で行われた。対象は右利きの健常女性11例(平均年齢 $\pm$ SD=24.5 $\pm$ 3.4歳)、右利きの健常男性11例(平均年齢 $\pm$ SD=24.8 $\pm$ 3.1歳)である。身長や体重を測定し、また摂食障害調査表(Eating Disorder Inventory-2: EDI-2)による食行動・身体イメージ障害や心理学的特徴の評価を行なった。男女の2群間で、Body Mass Index、EDI-2総得点に有意差はなかった。課題(body image task)は被験者自身の服装・姿勢(立位)を統一し撮像した全身デジタル画像を取り込み、デジタル操作で-25~+25%まで5%毎に拡大縮小して、やせイメージ、肥満イメージを作成し、真の身体イメージの組み合わせで構成した、やせ課題、肥満課題、対照課題を用いた。これらの課題を30秒ごとに交互に3回ずつ繰り返すブロックデザインで行い、この間の脳活動をfMRIで測定した。肥満課題とやせ課題では、変形身体イメージと真の身体イメージを比較して、どちらがより不快かを選択し、ボタンを押して行い、対照課題では、赤い印がついているイメージを選択し、ボタンを押して行うよう教示した。測定された画像は解析ソフトSPM99を用いて統計解析を行い、各被験者群で変形身体課題遂行中に対照課題遂行中と比較して有意に活動が上昇した領域を同定した。

B-2-2. 健常者を対象とした将来の報酬予測の機能局在に対するセロトニンの影響に関する検討

対象は健常ボランティア15例で、ATR及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。課題は、白色・黄色の、黒いモザイクに覆われた四角形を提示し、ボタンを押しにより選択し色の四角形を覆うモザイクの量を減らしていき、すべてのモザイクが消えたときに報酬が獲得できる（白色では少額の、黄色では高額の報酬）。各試行の初めに提示されるモザイクの量により、少額・高額それぞれの報酬が得られるまでの遅延時間が異なる。制限時間内に獲得できる合計金額が最多になるような選択を学習させる。さらに、われわれは、セロトニン神経系の時間的スケールを加味した報酬予測機能に与える影響を明らかにするために、セロトニンの前駆物質であるトリプトファンの過剰負荷、正常、欠乏した3条件のアミノ酸飲料を服用した後、1.5Tの島津 Marconi 社製の MRI 装置を用い、脳機能測定を行った。脳の各部位がどのような時間スケールにおける報酬予測に関わるかを調べるために、被験者の脳活動データを強化学習の理論モデルに基づいて解析した。具体的には、各被験者が実際に経験した行動と報酬の時系列を、強化学習のプログラムに疑似体験させ、報酬予測の学習を行わせた。この際、予測の時間スケールを決める値を6通りに変えて学習を行わせた。このようにして学習プログラムが推定した各被験者にとっての報酬の「予測値」信号と、各被験者の脳活動データとの相関を調べた。

（倫理面への配慮）

被験者に対しては研究内容について十分な説明を行い文章にて同意を得た。本研究は広島大学倫理委員会にて承認を受けている研究計画に基づいて実施した。

### **B-3. 情動の発達からみた前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系ネットワークの構築に関する研究**

Wistar 系成熟雄性ラットを用いて、麻酔下に前頭前野に脳内微小透析用プローブを装着した翌日、脳内微小透析実験を行った。各薬物は人工脳脊髄液に溶解しプローブを介して前頭前野に局所還流した。採取した試料中のドパミンとノルエピネフリンをオンライン接続した HPLC-ECD により測定した。以上により、前頭前野細胞外カテコールア

ミンレベルをリアルタイムにモニタリングすることを可能とした。

（倫理面への配慮）

以上の研究方法は、九州大学医学部動物実験倫理委員会により承認された。

### **B-4. ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究**

#### **B-4-1. 活動依存的アクチン再編成の分子機構の解明**

本年度は、アクチン動態と他の情報伝達蛋白のダイナミクスを共可視化する手法を開発し、ストレス性シグナルとしての NMDA 過剰投与に拮抗する BDNF 活性の役割について明らかにする。

#### **B-4-2. 興奮性神経細胞におけるアクチン制御分子の探索**

興奮性神経細胞のアクチン細胞骨格制御機構を明らかにするため、引き続き、1) スパインに局在化するアクチン制御機構の探索し、2) さらに、アクチン細胞骨格動態を活性化するカルシウム依存性経路の制御機構について明らかにする。

（倫理面への配慮）

DNA 組換え実験ならびに動物実験に関しては、東京大学医学部の該当の委員会に申請を行い、認められたプロトコールに基づいて実験を行った。

### **B-5. 生後脳の神経新生から見た精神疾患発症機序に関する研究**

脳海馬の長期増強 (LTP) の持続に必須であるアクチビンの機能を、tet OFF システムで前脳特異的に ON/OFF できるトランスジェニックマウスを作製した。任意の時期にエサに DOX を混ぜることにより、アクチビンの特異的阻害タンパク質フォリスタチンの発現を前脳特異的に抑制、あるいは DOX を抜くことにより高発現させることができるマウスの系統を得た。このマウス (BIF) の恐怖条件付け学習を解析した。

### **B-6. 乳幼児の発達に及ぼす母子相互作用の影響に関する神経心理学的研究**

B-6-1. 乳児の表情認知に関する前頭部領域における血行動態反応に関する研究方法



**対象児** 一般家庭および乳児院在籍の0歳児4名（男児1名，女児3名）

**課題** 見知らぬ女性（20代）が「いないいないばあ」を5秒に1回のペースで計6回（30秒）行い、手を開いた時の顔が笑顔の条件と無表情の条件をビデオテープで撮影し、刺激画像としてPCディスプレイに呈示した。

**装置** NIRO200（浜松ホトニクス），パーソナルコンピュータ（SONY）

**手続き** 乳児を実験協力者が抱きPCの前に座る。刺激呈示の前後30秒ずつ反転するチェッカーボードを呈示した。

**測定部位** 左右前頭部領域

（倫理面への配慮）本研究は，広島大学大学院教育学研究科の倫理審査委員会，広島大学附属病院研究倫理審査委員会の了承下で実施された。

**B-6-2. 極低出生体重児における痛み刺激前後の脳血流の変化に関する研究**

**方法**

**対象児** 2004年5月から10月までに当院NICUに入院した1500g未満児で，外表奇形，心疾患，その他の基礎疾患なく，修正36週以降，安定して経口哺乳ができていた時期に，未熟児貧血に対してrEPO投与を受けているもののうち，保護者の同意を得られた9名（在胎24週1日～31週0日・出生時体重664～1342g）を対象とした。

**装置** 脳血流測定には，浜松ホトニクス社製NIRO200を使用した。

**手続き** 哺乳後1～2時間の安静睡眠時，右または左大腿部にrEPO皮下注射を施行する前後の脳血流をのべ17回（修正36週1日～46週0日）測定した。前額の左右2箇所計測部を設置し，皮下注射前2分および，注射から約10分間の脳血流を測定し，酸素化ヘモグロビン（以下[Hb O<sub>2</sub>]）値を検討した。同時に体動・表情をビデオ撮影し，心拍数，SpO<sub>2</sub>の変化を記録した。

**測定部位** 左右前頭部領域。

（倫理面への配慮）

本研究は，広島県立病院研究倫理審査委員会並びに広島大学大学院教育学研究科研究倫理審査委員会の了承の下で実施した。

**B-7. 幼児期の家族支援体制作りを目指して  
—3歳児健診事業を活用して—（3）**

3歳児健診事業において，軽度発達障害あるいは育てにくい子どもへの子育て支援として，自己記入式の発達スクリーニングと，母親のストレス尺度を活用して分析を行い，相関関係を検討した。同時に17年度から市川宏伸主任のもとで「発達障害に係わる実態把握と効果的な発達支援手法の開発に関する研究」（厚生科研）の分担研究として，発達障害の診断あるいは強く疑われる子どもの通う子育て支援センターを対象に行った自己記入式の発達スクリーニングと，母親のストレス尺度の比較検討を行った。

（倫理面の配慮）

常にプライバシーの保護に心がけた。特にアンケートによる調査では，主旨の説明と，質問の受付場所を明確にした。および調査終了後，統計処理の後には，すべての調査用紙を裁断し破棄することで個人が特定されないことに配慮した。

**B-8. 平成17年度3歳児健診制度を用いた  
ストレス性精神障害高リスク児の早期スクリーニングと母親の養育ストレス度調査**

平成17年度の調査には，3歳児健診スクリーニングチェックリストと日本語版PSI（Parenting Stress Index）を用いた。3歳児健診スクリーニングチェックリストは，3歳児健診でストレス脆弱性高リスク児をスクリーニングするための尺度であり（田中，2003），項目は，4項目（育てやすさ・育てにくさ，1歳半健診の思い，子どもの気質，様子：言葉・行動・運動面，対人面，作業や学習，感覚）からなっていた。回答は，それぞれの項目についてあてはまるものすべてを選択するものであった。日本語版PSI（Parenting Stress Index）は，養育者の養育ストレスを測定するための自己記入式の評価尺度（Abidin，1986）であり，3つの下位尺度（親のストレスとしての子どもの特徴，親のパーソナリティと状況の要因，ストレスイベント）からなっていた。親のストレスとしての子どもの特徴は6因子（落ち着きのなさ/多動，親を喜ばせること，欲求の強さ，適応力，ムード，受容性），親のパーソナリティと状況の要因は7因子（能力，アタッチメント，うつ，役割，配偶者，健康，孤独感）であった（全101項目）。スト

レスイベントは、過去 12 ヶ月間に経験したストレスイベントについて回答するものであった。

平成 17 年度に実施された 3 歳児健診の会場にて、臨床心理士が母親に本調査の趣旨を口頭で簡単に述べ、説明をする了解をとり、了解を得られた場合にのみ、調査の内容を説明した。調査用紙と返信用封筒を同封した調査用紙一式を配布し、配布の際に、回答した調査用紙を返信用封筒に記述している所定の住所に郵送していただくよう依頼した。

(倫理面への配慮)

本調査は、広島大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会にて、実施を承諾されている。平成 17 年度の 3 歳児健診で用いた 3 歳児健診スクリーニングチェックリストには、「この調査は、子育ての過程における、母親の精神保健をよりよく理解し、必要であれば子育て相談に活用するために行われるものです。この調査におけるあなたのプライバシーについては、特定される形で外部に漏らさないよう守らせていただきます。また、調査の開始および開始中いつでも参加をやめることができますし、この調査結果についても請求することができます。この調査に関して質問がありましたら、健診会場に出張しております臨床心理士にお問い合わせください。」といった内容を掲げ、あくまでも自由参加であること、不参加による影響のなさを伝え、守秘義務についても強調した。また、平成 17 年度の 3 歳児健診に用いたスクリーニングチェックリストは、健診事業の一環として、担当する保健士・機関からの同意を得て実施した。

## C. 研究成果

### C-1. ストレスによる遺伝子発現機構研究

#### C-1-1. 母子分離による成長後の拘束ストレス脆弱性形成の分子機序の解明

初年度に行った cDNA アレイによるスクリーニングから、海馬での正常飼育+急性拘束ストレス群における発現が母子分離+急性拘束ストレス群における発現の 2 倍以上である遺伝子に多くの IGF シグナル関連遺伝子 (IGF1、IGF2、IGF1R、IGF2R、IGFBP2) が挙げられた。これらの遺伝子発現の差の検証を real-time quantitative PCR 法を用

いて行い、その結果有意な発現の差をみた遺伝子については Western blot 法や免疫組織染色法にてタンパク発現の差を検討してきた。

本年度はこれまで解析を行っていなかった、IGF1、IGF2 mRNA の発現を上記 2 群で解析したが、特に有意な差はみられなかった。昨年度までの研究により IGF1R mRNA、タンパクレベルは母子分離+急性拘束ストレス群において、正常飼育+急性拘束ストレス群と比較して有意に低下していた。今年度はラット海馬内 IGF1R タンパク発現の部位的変動を検討する目的で、免疫組織染色を行った。CA1 および CA3 錐体細胞層、歯状回顆粒細胞層において母子分離+急性拘束ストレス群では正常飼育+急性拘束ストレス群と比較して IGF1R の発現が低下していた。C-1-2. 母子分離のおよぼす成長後の PTSD 症状形成への影響の検討

Open field locomotor test では各群で自発運動量に差を認めなかった。高架式十字迷路試験では SPS を行った sham 群で有意に %open arm time, %open arm entries が減少し、母子分離 (NI) 群でも減少傾向を認め、不安、回避行動が増加していた。さらに、NI + SPS 群でより不安、回避傾向が強いことが示された。恐怖条件づけ試験では、Sham+SPS 群が sham 群に比べ有意に freezing time が増加しており、母子分離 (NI) 群と SPS を行った stress 群で freezing time に交互作用を認め、母子分離と SPS の相乗作用が示された。嫌悪刺激場面への再暴露に対して NI+SPS 群で文脈的恐怖条件づけが増強し、不安、恐怖がより著しく惹起されることが示された。Flinch jump test や Hot plate test などの痛覚鈍麻 (analgesia) 試験では、SPS を行った stress 群でより痛みを感じる閾値が有意に上昇していた。また、Flinch jump test の jump の指標では母子分離と SPS の相乗作用が示され、NI + SPS 群で analgesia 傾向がより顕著であることが示された。離乳後豊かな環境に暴露すると高架式十字迷路試験で EE 群では %open arm entries が増加したが、NI + EE + SPS 群では増加しなかった。恐怖条件づけ試験では、EE 群で有意に freezing time が減少し、母子分離や SPS ストレスの影響が改善された。しかし NI + EE + SPS

群は NI+SPS 群に比べ、freezing time は減少したものの、有意な改善ではなく、依然長い傾向であった。Flinch jump test での jump の指標では、EE に暴露した Sham + EE + SPS 群、NI+EE+SPS 群ともに sham + SPS 群、NI + SPS 群に比べ痛みを感じる閾値の有意な低下は認めなかった。

## C-2. ストレス性精神障害の病態形成と治療に関する脳機能画像解析研究

C-2-1. 行動指標として、女性は肥満イメージをより不快と選択する傾向が認められた。脳活動に関して、女性は対照課題遂行中と比較して肥満課題遂行中に、両側前頭前野と扁桃体を含む左大脳辺縁系で有意に活動が上昇し、対照課題遂行中と比較してやせ課題遂行中に、左前頭前野と帯状回を含む左大脳辺縁系や島を含む左傍辺縁系で有意に活動が上昇した。また男性は対照課題遂行中と比較して肥満課題遂行中に、一次、二次視覚野を含む右後頭葉と右側頭葉、右頭頂葉で有意に活動が上昇し、対照課題遂行中と比較してやせ課題遂行中に、一次、二次視覚野を含む左後頭葉と両側紡錘状回を含む側頭葉、右頭頂葉で有意に活動が上昇した。すなわち、心理行動学的データより女性は今回の刺激をストレスと評価しており、ストレスの認知と前頭前野の関連が示唆された。

C-2-2. 強化学習の理論モデルに基づいて解析した結果、被殻で腹側から背側にかけて報酬予測の時間的スケールマップ（短期は腹側部、長期は背側部）を認めたこと、トリプトファン欠乏条件では被殻腹側部で短期時間スケールとの相関およびトリプトファン過負荷条件で被殻背側部と長期時間スケールとの相関が認められた。すなわち、セロトニン機能が低下した状況では短期の報酬予測が中心となり、セロトニン機能が亢進した状況では長期の報酬予測が中心となる可能性を示唆している。

## C-3. 情動の発達からみた前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系ネットワークの構築に関する研究

C-3-1. AMPA を含む人工脳脊髄液を前頭前野に還流すると細胞外ドパミンレベルは有意に上昇したが、ノルエピネフリンレベル

には変化がなかった。

C-3-2. AMPA と非定型抗精神病薬（クロザピン、オランザピン）の同時還流は後者によるドパミン、およびノルエピネフリン遊離作用の双方を増強した。一方、AMPA とハロペリドールの同時還流は細胞外ドパミン、およびノルエピネフリンレベルをむしろ低下させた。

C-3-3. 非競合的 AMPA 受容体アンタゴニスト SYM2206 を還流したところ、非定型抗精神病薬によるカテコールアミン遊離作用に対する AMPA の増強効果が消失したが、同様の SYM2206 の拮抗作用はハロペリドールについては認められなかった。

## C-4. ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究

本年度の実験により、以下のような成果が得られた。

1. スパインに局在化するシナプス後肥厚部（PSD）分子である PSD-95 のスパイン形態制御能が synGAP 分子を介していることを解明した。また、このスパイン形態制御能は、PSD-95 のスパイン内集積の誘導活性と強い相関を有していた。すなわち、スパイン形態の制御は、スパイン内分子複合体の集積・分散機構と密接な連関があることが証明された (Nonaka et al., J. Neurosci. et al., in press)。

2. 海馬初代培養系を用い、NMDA 受容体過剰刺激の際に、tyrosine リン酸化活性依存的にアクチン制御分子 cortactin がスパインから排除されてしまうことを見出し、さらにこの排除が BDNF/trkB 経路により拮抗されることを明らかにした (Iki et al., 2005)。

3. 膜結合型新規 CaM キナーゼ CLICK-III が、一部のシナプスにも認められるラフト膜画分に局在することを見出し、さらに、この局在が樹状突起形態形成に不可欠であることが示唆された。(Takemoto-Kimura et al., in preparation)

## C-5. 生後脳の神経新生から見た精神疾患発症機序に関する研究

フォリスタチン cDNA を tet プロモーターの制御下においたトランスジーンを作製した。トランスジーンが染色体に組み込まれ

たトランスジェニックマウスを30系統以上確立した(Tg系統)。一方、前脳特異的なalpha CaMKIIプロモーター制御下で転写因子iTAが発現するトランスジェニックマウス(iTA)をJackson labより購入した。Tg系統のマウス群をiTAマウスに交配し得られた産仔の中で、DOX投与で前脳のフォリスタチン発現がOFFになりDOX非投与でフォリスタチン発現がONになる系統をスクリーニングした。その結果、3日間のDOX投与あるいは3日間のDOX非投与により前脳におけるトランスジーン由来のフォリスタチン量がそれぞれOFFあるいはONになるマウス系統を1系統(BIF)得た。

文脈と電気ショックの組み合わせによる恐怖条件付け課題をこれらのマウスに与え、記憶の保持を解析した。実験中DOXを連続投与してフォリスタチン発現をOFFにしたBIFは、コントロール動物と同様に1週間の長期記憶が成立した。これに対して、恐怖条件付けを行う前の3日間だけDOX投与して条件付けの時だけフォリスタチンが発現しているBIFは、24時間の記憶は正常だったが、1週間の記憶は有意に低下した。

## C-6. 乳幼児の発達に及ぼす母子相互作用の影響に関する神経心理学的研究

### C-6-1. 乳児の表情認知に関する前頭部領域における血行動態反応に関する研究

刺激30秒中の顔が見えている時間帯(「いないいないばあ」の「ばあ」と手を開いて顔が乳児に見えているとき)の18秒間の測定値平均から刺激呈示前30秒間の測定値平均を減算した値を血流量の変化値とした。算出した変化値を用いて、月齢(2:3ヶ月・6ヶ月)×条件(2:笑顔・無表情)×部位(2:右前頭・左前頭)の分散分析を行った結果、月齢と条件の交互作用が $F(1,6)=16.09$ ,  $p<.01$ で有意であった。

### C-6-2. 極低出生体重児における痛み刺激前後の脳血流の変化に関する研究

痛み刺激で顔面表情が変化し、体動が加わるために[Hb O2]の実測数値は比較できないため、皮下注射前の[Hb O2]変化パターン(以下前[Hb O2])と、皮下注射後、痛み表情、体動、心拍数、SpO2が刺激前の安静時に回復したと考えられた時点以降の[Hb O2]変化パターン(以下後[Hb O2])を検討した。前

[Hb O2]は左右パラレルに変化し、17例中11例で増減の変動なしであった。このうち10例の後[Hb O2]は左右とも上昇で1例は左のみ上昇であった。前[Hb O2]の低下は2例で、1例は後[Hb O2]が左右とも上昇し、1例は右のみ上昇していた。2例は前[Hb O2]が上昇、後[Hb O2]が変動なしであった。前後[Hb O2]がともに変動なしであったものは2例のみであった。また、注射体側と反対側半球での脳血流が同側に比べ高まる非対称傾向が認められた。

## C-7. 幼児期の家族支援体制作りを目指してー3歳児健診事業を活用してー(3)

(図、表については分担報告書資料欄に掲載)

1) 研究対象：石狩支庁の保健センターにおける3歳児健診受診対象者および上富良野の3歳児健診受診対象者

調査協力者：総数124名(男児69名、女児55名)

2) 結果：表1に示したように、3歳児健診受診対象者では、発達指標として抽出した育てやすさ、育てにくさ、子どもの気質(Temperament)、言語面、行動面、運動面、対人面、感覚面の各位相の91項目において、ほとんどが「当てはまらない」と答えている。

そのうち、約半数以上「あてはまる」と回答した項目は、10項目(表2)であり、これを「通常3歳児でよく認められる発達指標」と表現する。

一方で、われわれは17年度から市川宏伸主任のもとで「発達障害に係わる実態把握と効果的な発達支援手法の開発に関する研究」(厚生科研)の分担研究として、発達障害の診断のある、あるいは強く疑われる子どもの通う子育て支援センターを利用して家族のうち、87名の自己記入式の発達スクリーニングと、母親のストレス尺度を検討した。調査用紙は本研究と同じものを活用した、結果を因子分析したところ、いわゆる「注意欠陥多動性障害(以下ADHD)的傾向」を示す6項目と、「広汎性発達障害(以下PDD)傾向」を示す4項目(表3)という二つの主成分が明確になり、図1に示したように4つのクラスターに分類できた。

次に、「心身障害幼児をもつ母親のストレス尺度(植村)」(別紙資料の調査票を参照)

を用いて、母親の生活全般にわたるストレスの測定を行った。尺度は 25 の下位尺度、115 項目からなるが、今回は下位尺度 14 の「しんせきの子どもが、この子をバカあつかいするので困る」という項目を削除し、健診対象者では、下位項目のうち、4（この子の発達についての現状把握）、15（仲間・友人関係）、16（近隣・地域社会でのひきめ）、17（近隣・地域社会の理解）、18（近隣・地域社会での子どもの交友関係）、19（行政機関）、20（治療機関）の障害に強く関与している項目を削除して施行した。

3 歳児健診受診対象者のうち、ADHD 傾向を示す因子が 6 項目のうち 4 項目以上、PDD 傾向を示す因子 4 項目のうち 3 項目以上を満たす群をそれぞれ ADHD 傾向のある健診対象者（ADHD 群、n=10）、PDD 傾向のある健診対象者（PDD 群、n=11）として、この二つを除外した健診対象者、non-ADHD、PDD 群（n=103）の 3 つの群について母親のストレス尺度の比較を行った。

表 4 に示したように、植村らの基準値と比較すると。

1) ADHD 群では、14 の下位項目中 10 項目で基準値以上の高値を示していた。さらに子育て支援センターで得た値以上を示したのが、やはり 10 項目である。

2) PDD 群について検討すると、基準値をわずかに超えた項目は祖父母とこの子の関わりと保育園・通園施設への不満の二項目であり、子育て支援センターとの比較では、母親自身の自由の制限、老親と夫婦との関わり、保育園・通園施設への不満の三項目で若干の高値を示していた。

3) non-ADHD、PDD 群と比べてこの子の育てかた、この子の家庭内、外の問題行動という三項目で極端に低い数値が認められた。

4) non-ADHD、PDD 群では、全項目で、基準値、子育て支援センターの値を下回る値であった。

### C-8. 平成 17 年度 3 歳児健診制度を用いたストレス性精神障害高リスク児の早期スクリーニングと母親の養育ストレス度調査

1) 母親の属性（年齢、学歴、出産経験）と養育ストレスとの関連を検討した結果、短大・専門学校卒以上である母親は、養育ス

トレスが高かった。

2) 母親の属性と子どもの行動特徴から養育ストレスを検討した結果、年齢が若く、かつ、行動問題が多い子どもをもつ母親は、養育ストレスが高かった。

3) 母親が過去 12 ヶ月間に経験したストレスイベントの多さと子どもの行動特徴に関するストレスの高さから母親自身に関するストレスの高さを予測した結果、過去 12 ヶ月間に経験したストレスイベントの多さと、かつ、「子どもの機嫌がいつも悪い」、「期待通りにいかない」という子どもに関するストレスの高さは、子どもへの愛着がもてないことや抑うつ感、孤独感という母親のストレスを予測した。

## D. 考察

### D-1. ストレスによる遺伝子発現機構研究

#### D-1-1. 母子分離による成長後の拘束ストレス脆弱性形成の分子機序の解明

昨年度までの研究で、ラット海馬において生後早期の母子分離負荷により成熟期のストレス負荷に伴う IGF1R mRNA およびタンパク、IGFBP2 mRNA 発現が障害されることが明らかとなった。本年度の実験結果からは、母子分離負荷により成熟期拘束ストレス負荷後の海馬での IGF1R タンパク発現は CA1 および CA3 錐体細胞層、歯状回顆粒細胞層において影響を受けることが明らかとなった。また、タンパクレベルで母子分離負荷の有無による成熟期拘束ストレス後の IGFBP2 発現の変化を認めなかったが、この理由として、拘束ストレスに対する IGFBP2 タンパクの誘導は緩徐であることが考えられた。

IGF シグナルは中枢神経系を含む、さまざまな組織の発達に関与している。特に、IGF1 は海馬の neurogenesis や synaptogenesis に関与しており、IGF1R は IGF1 の最も重要メディエーターである。母子分離ラットにおける IGF1R の低下は、IGF1 シグナル伝達の減弱を通して海馬機能の障害に関与している可能性がある。また、IGFBP2 は中枢神経系の障害時に誘導され、神経保護作用を有していると考えられる。母子分離負荷ラットでは急性拘束ストレス負荷後に IGFBP2 誘導がなく、ストレスからの保護が減弱している可能性がある。抗うつ薬投与により

海馬での IGF1 レベルが上昇するという報告や、IGF1 投与は抗うつ薬様の効果を示すという報告があり、本研究成果は、IGF 情報系の障害から由来する海馬機能の低下から個体のストレス脆弱性が導かれる可能性を示している。母子分離やその後の成熟期ストレスが、IGF の細胞内シグナル伝達の活性に影響をあたえているかどうかを検証するさらなる研究が必要とされる。

#### D-1-2. 母子分離のおよぼす成長後の PTSD 症状形成への影響の検討

昨年度までの結果に加え、本年度我々は SPS 負荷ラット (Sham + SPS 群) での高架式十字迷路における不安行動の亢進、恐怖条件づけ試験における海馬依存性記憶である文脈的恐怖条件づけの亢進、flinch jump test, hot plate test における痛覚鈍麻という PTSD 患者での不安、回避、再体験、麻痺の亢進に類似した所見を得ることができた。これらの所見より、PTSD モデルラットとしての SPS 負荷ラットの妥当性や蓋然性を示すことができた。

幼少期の不遇な体験の与える PTSD 症状への影響を検討する目的で、新生時期に母子分離を体験し成獣後 SPS ストレスに暴露されたラット (NI + SPS 群) の行動を観察した結果、各試験で不安行動、恐怖条件づけ、麻痺が相乗的に亢進した。すなわち、母子分離がその後の PTSD 発症におけるストレス脆弱性および感受性を増強することが示された。母子分離に引き続き離乳後に豊かな環境 (EE) に暴露したところ、SPS ストレスのみを受けたラット (Sham + EE + SPS 群) は高架式十字迷路や恐怖条件づけ試験において、有意なパラメーターの改善を認めた。しかし、母子分離と SPS ストレスを受けたラット (NI + EE + SPS 群) では、恐怖条件づけ試験での freezing time のみの改善を認めた。Pitman et al. (1990) は PTSD 患者における  $\mu$ -オピオイドを介した stress-induced analgesia の報告を行っており、今回の研究結果である EE が母子分離による PTSD にみられる stress-induced analgesia の亢進を修復しないことは、この機序に関連した痛覚鈍麻の改善には EE の効果が乏しいことを示している。これらの結果は、幼少時期に不遇な体験をし、PTSD を発症する患者には、早期の適切な介入により、扁桃体依存性よ

りむしろ海馬依存性の機能不全に効果があることを示していると考えられる。

#### D-2. ストレス性精神障害の病態形成と治療に関する脳機能画像解析研究

D-2-1. 女性は変形身体イメージの認知には前頭前野、大脳辺縁系、傍辺縁系の活動が認められたことより、若年女性はこの刺激により、恐怖や自己についての注意を喚起され、情動制御するなど複雑な情緒的な認知処理を行っている可能性が示唆された。一方男性は変形身体イメージの認知には一次、二次視覚野、および側頭葉、頭頂葉の視覚経路の活動が認められたことより、若年男性はこの刺激の処理に際し、腹側経路を介した、色、形、顔つきなどの物体視や背側経路を介した、動き、回転などの空間視を行っている可能性が示唆された。

D-2-2. 脳内の「報酬への見通し」機能が、線条体を中心とした分化した情報システムによってなされていること、この機能はうつ病との関連が示唆されるセロトニンによって調節を受ける可能性が想定された。

#### D-3. 情動の発達からみた前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系ネットワークの構築に関する研究

今回の所見は、AMPA 受容体の脱分極が NMDA 受容体の活性化を促して前頭前野カテコールアミン系を賦活することを示唆するが、刺激を受けた AMPA 受容体は速やかに脱感作 (desensitization) されることから、非定型抗精神病薬が脱感作を抑制して、AMPA 受容体の脱分極を延長する可能性が推測される。この仮説は、AMPA 受容体の脱感作の速度を抑制するサイクロチアザイドの阻害薬である SYM2206 が AMPA による非定型抗精神病薬誘発性カテコールアミン遊離作の増強効果を消失させたことから、支持される。今回の結果は、前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系機能連関における AMPA 受容体の役割について新たな知見を与えるとともに、AMPA 受容体の脱感作阻害を標的とした新しい抗ストレス薬開発の可能性が示唆された。同様の薬理作用が気分安定化薬 (バルプロ酸やカルバマゼピン) にもみられるかを現在検討中であるが、今後は、グルタミン酸-カテコールアミン系を介する前頭

前野一辺縁系の機能的連関において、ストレス反応系がどのように発達してゆくかを解明してゆきたい。

#### D-4. ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究

本研究は、ストレス脆弱の分子機構の一端を担う、シナプス近傍のアクチン細胞骨格再編成の分子基盤を明らかにすることを目標とした。

近年の研究により、ストレス脆弱性の最も高い脳部位である海馬において、ストレス暴露時において樹状突起スパインの著しい形態変化が生じることが報告されてきた。先行研究において我々自身は、培養初代神経細胞を用い、この過程の一部を再現し、刺激中のアクチン動態を可視化できる *in vitro* 実験系を確立した。

本研究において、一昨年来の実験系に種々の改良を加えた結果、シナプス近傍の PSD-95 を中心とする分子集合体の組成が、直接的にスパイン形態制御と密接な関連を有していることを明らかにすることができた。また、このスパイン内分子集合体の一つであり、重要なアクチン制御分子である cortactin が、ストレス様の過剰な NMDA 受容体活動によりスパインから消失すること、また、逆に BDNF に cortactin をスパインに集積させる活性があることを発見した。これまで、BDNF の抗ストレス作用については、神経栄養因子としての作用以外に、抗アポトーシス活性などが注目されていたが、アクチン動態制御活性についても今後さらなる探索が待たれるところである。

また今年度は、シナプス近傍アクチンを動員する候補分子として、前年に引き続き、我々が初年度に単離したカルシウム依存的キナーゼ CLICK-III/CaMKI $\gamma$  による特異的な神経樹状突起形態変化誘導機構を探索した。その結果、本キナーゼは、老化やアルツハイマー病でシグナル伝達異常をきたすと考えられているラフト膜画分に強く集積することを発見し、ラフト膜からアクチン細胞骨格へシグナルを伝達する経路を制御していることを明らかにした。今後、本キナーゼのストレス時のみならず、老化等における役割を明らかにも着目していく必要があると考えられた。

#### D-5. 生後脳の神経新生から見た精神疾患発症機序に関する研究

前脳のアクチビン機能が、恐怖条件付け記憶の長期間にわたる保持に必要であることが明らかになった。

#### D-6. 乳幼児の発達に及ぼす母子相互作用の影響に関する神経心理学的研究

##### D-6-1. 乳児の表情認知に関する前頭部領域における血行動態反応に関する研究

3ヶ月齢では、乳児は笑顔の「いないいないばあ」に対して活性化し、反対に6ヶ月齢では無表情の顔に対してより活性化していることがわかった。このことは、発達するにつれて表情を認知する機能が分化した結果と考えられる。すなわち、本結果がいわゆる3ヶ月微笑や6ヶ月不安といった、これまで行動指標をもとに語られてきた乳児の発達を脳科学的に支持する結果となったと考えられる。なお、乳児院在籍児については、現在のところ3名の追跡観察を行っているが、本研究では1名のデータを込みに結果の整理を行った。本研究の対象児の気質は、触覚的、視覚的機敏さ、見知らぬ場所への恐れ、味覚的鋭敏さ、注意の持続的、フラストレーション事態での反応等に関する観察に基づく気質性調査の結果では、かなりおとなしい気質の乳児であったが、この気質と脳活動の関連性は、今後のデータの蓄積からでないと明確にならないと考えられる。

##### D-6-2. 極低出生体重児における痛み刺激前後の脳血流の変化に関する研究

痛み刺激後、刺激前の安静時に回復したと考えられる時点において、前後[Hb O2]とも変化なしは2例のみで、他の15例では、前後[Hb O2]は変化し、13例で後[Hb O2]が上昇していた。後[Hb O2]が上昇した原因が、痛みの遷延によるものか、体動の影響であるかは、今回の検討では判明しなかった。今後、実験方法を工夫して症例を重ね、痛み刺激に対する脳血流の変化パターンと刺激後安定するまでの指標を得られれば、痛みを緩和させる手段の評価を客観的に行う可能性のあることが予想される。

#### D-7. 幼児期の家族支援体制作りを目指して

### －3 歳児健診事業を活用して－ (3)

発達の躰きを検討する指標として、育てやすさ、育てにくさ、子どもの気質 (Temperament)、言語面、行動面、運動面、対人面、感覚面の各位相それぞれの項目として91項目を抽出したが、最終的には、表5に示したように ADHD 因子、PDD 因子、健康な子ども因子の20項目を点検することで、おおよその傾向を認めることができよう。これは、ひじょうに簡便であり、しかも健康な子ども因子も測定することで、躰きを検出するだけでなく、ある程度よい方向の見通しをつけることもできることが可能となる。

さらに、PDD 因子は、母親のストレスを検出しにくく、健診場面で相談を受けるという体制を構築しにくいことも想像できる。これも、貴重な結果であり、調査票で PDD 因子が強く認められた場合、保健師は気にかけて対応することが求められる。

一方で、ADHD 因子は、その行動上の特徴から、非常にストレスフルな環境を母親に提示することが改めて明確になったと思われる。PDD 以上にこの因子を強く認めた場合の関与は必須といってもよいだろう。

また、「発達障害に係わる実態把握と効果的な発達支援手法の開発に関する研究」(厚生科研)の分担研究との融合で明確になったことであるが、母親のメンタルヘルスに関する下位項目(母親自身の健康、母親自身の不安や悩む、母親自身の自由の制限)と、祖父母と子どもの関わりや老親との関わりにおいては、ADHD 群と PDD 群のほうが、子育て支援センターの数値よりも高い値を示しており、ここに子育て支援センターの大きな役割があるといえよう。

#### D-8. 平成 17 年度 3 歳児健診制度を用いたストレス性精神障害高リスク児の早期スクリーニングと母親の養育ストレス度調査

本研究では、養育上のストレスに関連する要因について検討した。その結果、子ども側の要因として、行動問題の多い子どもが養育上のストレスと関連することが示唆された。また、母親の要因として、高学歴であること、年齢が若いこと、過去12ヶ月間にストレスイベントを多く経験していることが示された。特に、過去12ヶ月間に母

親が経験しているストレスイベントと子どもに関するストレスは、母親の養育ストレスを予測したことから、これらの特徴は、3歳児健診において、母親の養育ストレスを検討する際のポイントとなることが示唆された。

## E. 結論

### E-1. ストレスによる遺伝子発現機構研究

母子分離により形成される成長後の拘束ストレス脆弱モデルラットの海馬では、成熟期においてストレス負荷時に IGF1R mRNA、タンパク、IGFBP2 mRNA レベルが正常飼育ラットに比べ低下しており、IGF 情報系の機能低下が予想された。IGF 情報系の機能低下は、海馬機能の障害に伴うストレス脆弱性の発現機序に関与している可能性がある。

Sham + SPS 群は Sham 群に比べ、有意に不安、回避、恐怖、嫌悪刺激場面への条件づけ、麻痺の亢進を認め、SPS による PTSD モデル動物としての妥当性を示すことができた。SPS ストレスのみを受けたラット (Sham + SPS 群) に比べ、母子分離と SPS ストレスを受けたラット (NI + SPS 群) は、行動学的により重篤な症状が出現することが示された。母子分離と SPS を受けたラット (NI + EE + SPS 群) は EE を行っても、高架式十字迷路試験や痛覚閾値試験でのパラメーターの改善は認めなかった。これは、幼児期に持続的に不遇な体験をし、その後 PTSD を発症するものは、病態や病理が重篤でより難治性であることを示唆しているのかもしれないと思われる。

### E-2. ストレス性精神障害の病態形成と治療に関する脳機能画像解析研究

摂食障害は、体型や体重への強いこだわりがみられ、拒食や過食・自己誘発性嘔吐などの症状をみとめるストレス関連の精神疾患であるが、その発症率は男性よりも女性のほうが約10倍高いといわれる。今回の検討から、発症率にこれほど大きな性差がみられる要因のひとつとして、身体イメージに関する不快な情報を処理する神経基盤が男女で異なる可能性が考えられた。

さらに、将来の報酬の予測は希望につながり、重要なストレス適応強化の方策として考えられるが、今回の検討から、脳内の



「報酬への見通し」機能が、線条体を中心とした分化した情報システムによってなされていること、この機能はうつ病との関連が示唆されるセロトニンによって調節を受ける可能性が推定された。

以上のように、今回、得られた所見は、ストレス事象に対する適応を理解し、ストレス適応を強化するための方策を検討していく上で、基礎となるものと考えられた。

### **E-3. 情動の発達からみた前頭前野グルタミン酸-カテコールアミン系ネットワークの構築に関する研究**

情動の発達に関連深いストレス反応系のうち、前頭前野のカテコールアミン系活動の AMPA/kainate 受容体による調節機構を、脳内微小透析法を用いて検討した結果、刺激を受けた AMPA 受容体の脱感作を非定型抗精神病薬が抑制する可能性が示唆された。本研究は、AMPA 受容体を標的とした新しい抗ストレス薬開発の可能性を示した。

### **E-4. ストレス暴露による神経形態変化の分子機構に関する研究**

活動依存的アクチン集積のストレス暴露時における役割を明らかにするため、神経細胞内アクチン動態の可視化を行い、シナプス後肥厚部内における PSD-95/ synGAP 結合のスパイン形態制御における役割を同定した。また、NMDA 受容体活性と BDNF とが、シナプス内アクチンの制御を行う分子 corlactin 局在を拮抗的に決定していることを見出した。さらに、カルシウム・カルモジュリン依存性キナーゼ CLICK-III/ CaMKI $\gamma$ による樹状突起形態制御がラフト膜内シグナル伝達を介していることを解明した。

### **E-5. 生後脳の神経新生から見た精神疾患発症機序に関する研究**

記憶形成後に前脳特異的にアクチビン機能を抑制することで、いったん強固に形成された恐怖条件付け記憶を消去することができることを示した。この成果は PTSD の治療法開発に展開できる可能性がある。

### **E-6. 乳幼児の発達に及ぼす母子相互作用の影響に関する神経心理学的研究**

以上 2 つの研究結果からは、ストレス脆弱性の神経心理学的基盤の発達の要因を直接探ることはできなかったが、研究 1 からは、他者の表情の視覚情報に対する反応が脳過程に反映される時期が、人見知りが始まる時期とほぼ重なる 6 ヶ月以後であることから、乳幼児が視覚的に表情情報を読み取ることのできる時期に前頭眼窩領域が情動機能の発達と深く関わるものが推測された。また、不快なストレス状態を与えられない乳幼児の脳機能活動を観察するために行った研究 2 では、極低出生体重児の痛み刺激前後に脳血流を測定した。その結果、痛み刺激後、痛み消失と判断される時点においても脳血流は上昇しており、これは痛み刺激による変化が前頭眼窩領域に反映されていると推測される。従って、痛覚を引き起こす不快情報は、視覚的情動情報よりも早い時期に情動刺激として脳活動に反映されると考えられる。ただ、刺激に対する影響を受ける部位の局在性についての神経心理学的意味を説明するためには、症例を重ね、さらなる検討が必要である。

### **E-7. 幼児期の家族支援体制作りを目指して - 3 歳児健診事業を活用して - (3)**

今回、母親のストレス尺度を中心に解析を行い、発達スクリーニングとの関与を見いだしたことで迅速な関与、あるいは特定のストレス要因に対応することができる因子を抽出することができた。実際にわずか 20 項目を点検することで、関与、支援に役立つのであれば、ひじょうに有益なものである。

健診事業における簡便リストと対応のヒントを表 6 に示し、これを元にして大規模調査を行う予定としたい。

### **E-8. 平成 17 年度 3 歳児健診制度を用いたストレス性精神障害高リスク児の早期スクリーニングと母親の養育ストレス度調査**

本研究では、平成 17 年度の 3 歳児健診に参加した母親の養育ストレスの要因を、母親と子どもの特徴から明らかにした。3 歳児健診において、過去 12 ヶ月間に母親が経験したストレスイベントの多さと子どもの行動特徴に関するストレスの高さを検討することは、養育ストレスの高い母親を識別す

る1つの手段となりうるということが明らかにされた。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

- 1) Morinobu S., Tsuji S., Takahashi M., Russell DS., Takahashi J., Tanaka K., Fujimaki K., Yamawaki S., Endoh S., Endoh M. : Stress Vulnerability induced by neonatal isolation and the disturbance between the phosphorylation and dephosphorylation of CREB. In: PTSD -Brain mechanisms and clinical implications-. Eds., Kato N, Kawata M, Pitman RK. Springer, Tokyo, pp. 37-46,2005.
- 2) Shirao N., Okamoto Y., Mantani T., Okamoto Y., Yamawaki S. : Gender differences in brain activity toward unpleasant word stimuli concerning body image: an fMRI study. *British Journal of Psychiatry* 186:48-53, 2005.
- 3) Yamashita H., Okamoto Y., Morinobu S., Yamawaki S., Kahkonen S. : Visual emotional stimuli modulate auditory sensory gating studied by magnetic P50 suppression. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 255:99-103, 2005.
- 4) Mantani T., Okamoto Y., Okada G., Shirao N., Yamawaki S. : Reduced activation of posterior cingulate cortex during imagery in subjects with high degrees of alexithymia: a functional magnetic resonance imaging study.. *Biological Psychiatry* 57: 982-90, 2005.
- 5) Yamashita H., Mori K., Nagao M., Okamoto Y., Morinobu S., Yamawaki S. : Influence of aging on the improvement of subjective sleep quality by atypical antipsychotic drugs in patients with schizophrenia: comparison of middle-aged and older adults. *Am J Geriatr Psychiatry*. 13: 377-84. 2005
- 6) Kudo K., Wati H., Qiao C., et al. : Age-related disturbance of memory and CREB phosphorylation in CA1 area of hippocampus of rats. *Brain Research* 1054: 30 – 37, 2005
- 7) Furukawa TA., Streiner DL., Azuma H., et al. : Cross-cultural equivalence in depression assessment: Japan-Europe-North American study. *Acta Psychiatr Scand* 112: 279-285, 2005.
- 8) Maekawa T., Goto Y., Kinukawa N., et al. : Functional characterization of mismatch negativity to a visual stimulus. *Clin Neurophysiol* 116: 2393-2402, 2005.
- 9) Hashioka S., Monji A., Ueda T., et al. : Amyloid-beta fibril formation is not necessarily required for microglial activation by the peptides. *Neurochem Int* 47:369-376, 2005.
- 10) Nakao T., Nakagawa A., Yoshiura T., et al.: Brain activation of patients with obsessive-compulsive disorder during neuropsychological and symptom provocation tasks before and after symptom improvement: A functional magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 57: 901-910, 2005.
- 11) Uemura T., Kudoh J., Noda S., et al. : Characterization of human and mouse TRPM2 genes: identification of a novel N-terminal truncated protein specifically expressed in human striatum. *Biochem Biophys Res Comm* 328:1232-43, 2005.
- 12) Qiao C-X, Den R., Kudo K, et al.: Ginseng enhances contextual fear conditioning and neurogenesis in rats. *Neurosci Res* 51: 31-38, 2005.
- 13) Tamaoki T., Tezuka H., Okada Y., et al. : Avoiding the effect of linked genes is crucial to elucidate the role of Apcs in autoimmunity. *Nature Med* 11: 11-12, 2005.
- 14) Sakamoto R., Minoura K., Usui A., et al.: Effectiveness of aroma on work efficiency: lavender aroma during recesses prevents deterioration of work performance. *Chem. Senses* 30:1-9, 2005.
- 15) Iki J., Inoue A., Bito H., Okabe S. :

- Bidirectional regulation of postsynaptic cortactin distribution by BDNF and NMDA receptor activity. Eur. J. Neurosci., 22: 2985-2994, 2005.
- 16) Matsuoka Y., Furuyashiki T., Yamada K., Nagai T., Bito H., Tanaka Y., Kitaoka S., Ushikubi F., Nabeshima T., Narumiya S. : Prostaglandin E receptor EP1 controls impulsive behavior under stress. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102: 16066-16071, 2005.
- 17) Hoshino M., Nakamura S., Mori K., Kawauchi T., Terao M., Nishimura YV., Fukuda A., Fuse T., Matsuo N., Sone M., Watanabe M., Bito H., Terashima T., Wright CVE., Kawaguchi Y., Nakao K., Nabeshima Y. : *Ptfla*, a bHLH transcriptional gene, defines GABAergic neuronal fates in cerebellum. Neuron, 47: 201-213, 2005.
- 18) Inoue, K., Fukazawa, Y., Ogura, A. and Inokuchi, K. : Two-dimensional neural activity mapping of the entire population of hippocampal CA1 pyramidal cells responding to fear conditioning. Neurosci. Res., 51, 417-425, 2005.
- 19) Sakagami, Y., Yamamoto, K., Sugiura, S., Inokuchi, K., Hayashi, T., Kato, N. : Roles of Homer-1a in homeostatic regulation of pyramidal cell excitability: a possible link to clinical benefits of electroconvulsive shock. Eur. J. Neurosci., 21, 3229-3239, 2005.
- 20) Yamamoto, K., Sakagami, Y., Sugiura, S., Inokuchi, K., Shimohama, S. and Kato, N. : Homer-1a enhances spike-induced calcium influx via l-type calcium channels in neocortex pyramidal cells. Eur. J. Neurosci., 22, 1338-1348, 2005.
- 21) Maekawa, M., Takashima, N., Arai, Y., Nomura, T., Inokuchi, K., Yuasa, S., Osumi, N. : Pax6 is required for maintenance and differentiation of progenitor cells in postnatal hippocampal neurogenesis. Genes to Cell, 10, 1001-1014, 2005.
- 22) Hashimoto, Y., Toshima, T. : Learning performance in the discrimination-shift task in patients with cortical and subcortical lesions. Applied Neuropsychology, 12, 158-168, 2005.
- 23) Kondo, T., Aoyama, S., Fukumoto, R., Saito, Y., Toshima, T. : Cue availability alters odor intensity processing in orbitofrontal cortex: a near-infrared spectroscopy study. Japanese Journal of Psychoeconomic Science, The Japanese Journal of Psychonomic Science, 24, 119-120, 2005.
- 24) Nonaka M., Doi T., Fujiyoshi Y., Takemoto-Kimura S., Bito H. : Essential contribution of the ligand-binding  $\beta$ B- $\beta$ C loop of PDZ1 and PDZ2 in the regulation of postsynaptic clustering, scaffolding and localization of PSD-95. J. Neurosci., (in press, 2006).
- 25) Yokoyama H., Morinobu S., Ueda Y. : EPR imaging to estimate the in vivo intracerebral reducing ability in adolescent rats subjected to neonatal isolation. J Magn Reson Imaging (in press).
- 26) Shirao N., Okamoto Y., Okada G., Ueda K., Yamawaki S. : Gender differences in brain activity toward unpleasant linguistic stimuli concerning interpersonal relationships: an fMRI study European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience (in press).
- 27) Kurosaki M., Shirao N., Yamashita H., Okamoto Y., Yamawaki S. : Distorted. Images of One's Own Body Activates the Prefrontal Cortex and Limbic/Paralimbic System in Young Women: A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. Biol Psychiatry. (in press).
- 28) Toshima T. : Can the Near Infrared Spectroscopy (NIRS) method develop the neuropsychological research ? Zeitschrift für Institute für Psychologie in Karl-Franzens-Universität Graz. (in press 2005).
- 29) 岡本泰昌, 岡田 剛, 上田一貴, 旭 修司, 志々田一宏, 木下垂紀子, 萬谷智之, 山下英尚, 山脇成人, 田中沙織, 銅谷賢治 : 情動・行動の脳内機構に関する fMRI 研究-うつ病の病態解明に向

- けて-, 心身医学 45:439-447, 2005.
- 30) 岡本泰昌、上田一貴：ストレス事象の予測に関する脳機能画像解析、医学のあゆみ 212：1115-1119,2005.
  - 31) 岡本泰昌、山脇成人：うつ病と前頭前野、Clin Neurosciences 23 679-681,2005.
  - 32) 岡本泰昌：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-, 日本薬理学雑誌 126：194-198, 2005.
  - 33) 岡本泰昌、山脇成人：うつ病研究の現状紹介 うつ病の病態解明に向けた脳機能画像研究、Depression Frontier3, 92-98, 2005.
  - 34) 井ノ口馨：シナプス可塑性におけるスパインアクチン動態の重要性、遺伝子制御による「選択的シナプス強化・除去」機構の解明、狩野方伸編、p13-22、(株)クバプロ、東京 2005.
  - 35) 笠井陽子、井ノ口馨：アクチビンによるシナプス形態およびシナプス可塑性の制御、遺伝子制御による「選択的シナプス強化・除去」機構の解明、狩野方伸編、p23-38、(株)クバプロ、東京 2005.
  - 36) 田中康雄：発達障害の支援の向こう側 - 発達障害支援論序説- . 教育と医学, 630 ; 1137-1145, 2005.
  - 37) 田中康雄：発達障害と児童虐待 (maltreatment). 子どもの虐待とネグレクト. 7:304-312, 2005.
  - 38) 齊藤由里・利島 保：非言語的コミュニケーションにおける表出と認識の神経心理学的過程 広島大学大学院教育学研究科紀要第三部 (教育人間科学関連領域) , (印刷中 2005)
  - 39) 森信 繁：PTSD 動物モデル - Single prolonged stress を中心に- . 精神科 (印刷中) .
- G-2. 学会発表**
- 1) 土岐茂,森信繁,今中章弘,山脇成人 : Early Adversity Enhanced the Single Prolonged Stress (SPS)-induced Contextual Freezing and Analgesia in the Rats,第 27 回日本生物学的精神医学学会,2005/7(大阪)
  - 2) 土岐茂,森信繁,今中章弘,山脇成人 : Neonatal Isolation and Environmental Enrichment in an Animal model of PTSD: Effects on Conditioned and Unconditioned Fear after Stress 第 48 回,神経化学大会 (福岡)
  - 3) Hashioka S., Youn-Hee H., Kato T., et al.: Phosphatidylserine-liposomes inhibits microglial production of neurotoxic molecules. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 9 月 28~30 日, 2005.
  - 4) Kajihata T., Nakahara T., Nagao N., et al. : Effects of AMPA on clozapine-induced dopamine and norepinephrine release in rat medial prefrontal cortex: implications for neurocognitive effects of atypical antipsychotic drugs. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 9 月 28~30 日, 2005.
  - 5) Kaneko N., Kudo K., Mabuchi .T., et al. : Human interferon-alpha suppressed cell proliferation through interleukin-1 production in adult rat dentate gyrus. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 9 月 28~30 日, 2005.
  - 6) Kudo K., Kanba S. : Ginseng enhances contextual fear conditioning and neurogenesis in rats. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 9 月 28~30 日, 2005.
  - 7) Monji A., Yoshida I., Tashiro K., et al. : Depletion of intracellular Ca<sup>2+</sup> store itself may be a major factor in thapsigargin-induced ER stress and apoptosis in PC12 cells. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 9 月 28~30 日, 2005.
  - 8) Nagao N., Nakahara T., Kuroki T., et al. : Potent blockade of dopamine D2 receptors inhibits clozapine-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 9 月 28~30 日, 2005.
  - 9) Fuse T. Bito H. : Actin dynamics in cultured cerebellar Purkinje cells visualized using EGFP-actin. Neurosci. Res., in press, 2005. 第 28 回日本神経科学学会、2005. 7. 26-28, 横浜. ポスター発表.
  - 10) Bito H., Fujii H., Ishihara N., Fuse T., Nonaka M., Takemoto-Kimura S., Okuno H. : Synaptic activity-driven changes in