

平成 21 年 6 月 17 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18590663
 研究課題名（和文） 高齢者におけるストレス脆弱性の生体内基盤要因の解明とうつ病の発症機構
 研究課題名（英文） Common factor(s) involving vulnerability to stress and pathophysiology of depression in the elderly
 研究代表者
 溝口和臣（MIZOGUCHI KAZUSHIGE）
 国立長寿医療センター（研究所）・老年病研究部・室長
 研究者番号：20416176

研究成果の概要：実験動物（ラット）を用いた基礎研究において、老化の脳機能へ及ぼす影響を解析した。その結果、老化により、前頭前野のグルココルチコイド受容体（GR）が減少して、GR を介した反応が弱まると、前頭前野のドーパミンおよびセロトニンが減少することを見出した。そしてその結果、前頭前野そのものの機能低下としてワーキングメモリ障害や思考の柔軟性の低下が発生し、また一方で、このような前頭前野の機能低下がストレス脆弱性を形成すると考えられた。このように前頭前野の GR が、高齢者のうつ病やストレス脆弱性の発生機構に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	2,400,000	0	2,400,000
2007 年度	600,000	180,000	780,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	360,000	3,960,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：老化、ストレス、前頭前野、うつ病、ドーパミン、セロトニン、グルココルチコイド受容体、ラット

1. 研究開始当初の背景

人口の 20%以上が 65 歳以上の高齢者という世界でも類を見ない超高齢社会を迎えている日本にとって、多くの高齢者疾患に対する予防法や治療法を確立することは、極めて重要なことである。

高齢者は一般的にストレスに対して脆弱性を示すといわれている。高齢者人口の増加に加えストレスの増大が、ストレスが関与す

る精神神経疾患の増加に関与していると指摘されており、その例は高齢者うつ病である。この疾患は、高齢者の意欲の低下や引きこもり、自殺の原因となっており、生活の質（QOL）を著しく引き下げる要因の一つである。また、高齢者がうつ病を一旦発症すると難治遷延化する例が多い。しかし、高齢者うつ病の発症機構の解明や、その効果的な予防・治療法の確立はなされていない。

2. 研究の目的

高齢者は一人で幾つもの疾患を抱える多病という特徴を示すが、多くの疾患の背景には、老化に基づくある共通した基盤的要因が存在するという老年病学的概念がある。本研究ではこの概念を参考にし、老化により、ストレスに対して脆弱性を表現する何らかの基盤的な要因が脳内に形成され、そこにストレスが加わることにより脳機能が低下しやすくなり、うつ病が易発する可能性を想定した。つまり本研究では、高齢者における、ストレスに対する脆弱性を規定する基盤的要因の明確化を試み、それを高齢者うつ病の発症機構の解明に応用することを目的とした。具体的には、脳内基盤要因として、老化に基づくグルココルチコイド受容体 (GR) の減少によるグルココルチコイド作用の低下を想定し、その様な状態にストレスが加わると、特に前頭前野のドーパミンやセロトニン神経系に機能障害が易発し、うつ状態や認知機能障害が発生するとの仮説を立てた。本研究ではこの仮説を、動物を用いた基礎研究から検証した。

3. 研究の方法

(1) 動物

実験には、国立長寿医療センターのエイジングファームで加齢育成されている正常老齢ラット (24 月齢以上の F344 ラット) と日本 SLC(株)より購入した若齢 F344 ラット (3~5 月齢) を用いた。

(2) GR 解析

前頭前野、海馬、および視床下部における GR 量の変化は Western immunoblot 法および免疫染色法にて解析した。各部位における GR の機能は、それぞれの部位に直接 dexamethasone を投与し、その後の GR の、細胞質から核内への移行反応と、血中 corticosterone レベルに対するネガティブフィードバック反応を指標にして解析した。

(3) 神経伝達物質濃度の測定

前頭前野における細胞外ドーパミンおよびセロトニン濃度は、高感度 HPLC システム (HTEC-500, Eicom) を用いたマイクロダイアリス法にて測定した。測定は、それぞれの基礎濃度と、KCl (100mM) で刺激時の濃度について行った。

(4) 行動解析

抑うつ状態は強制水泳法と回転棒法にて解析した。また、抗うつ薬である desipramine を全身投与し、あるいは前頭前野内にドーパミン 1 型受容体アゴニストである SKF 81297 を直接投与し、老化による回転棒行動障害に対する改善効果を検討した。

認知機能は、T 型迷路装置を用いた遅延見本合わせ課題におけるワーキングメモリを

指標として解析した。また、前頭前野内に SKF 81297 を直接投与し、老化によるワーキングメモリ障害に対する改善効果を検討した。なお、思考の柔軟性を解析するために、ワーキングメモリの解析終了後、遅延見本合わせ課題における報酬獲得のルール (左右の情報提示と餌の位置との関連) を変更し、新たなルールに対する適応期間を測定した。

不安状態は、高架式十字迷路法にて解析した。

(5) ストレス負荷

若齢および老齢ラットに 1 日 1 時間の拘束ストレスを 2 週間連続に負荷することにより、ストレス脆弱性を解析した。なお、ストレス反応の指標には行動学的な不安状態を用いた。

4. 研究成果

(1) 脳内 GR

正常老齢ラットでは、前頭前野、海馬、および視床下部における GR 量の減少が認められた。また、それぞれの部位に dexamethasone を投与すると、若齢ラットでは GR の核内移行反応が観察されたが、老齢ラットでは観察されず、さらに、若齢ラットで観察された血中 corticosterone 濃度の減少 (フィードバック反応) も老齢ラットでは観察されなかった (Mizoguchi K. et al., *Neuroscience*, 2009)。

(2) ドーパミンおよびセロトニン濃度

老齢ラットの前頭前野では、若齢ラットに比べ、ドーパミンとセロトニンの基礎濃度の減少が観察された。さらに、KCl 刺激に対する反応性を解析した結果、若齢ラットにおいて観察されたドーパミンおよびセロトニン濃度の上昇反応は、老齢ラットにおいて低下した (Mizoguchi K. et al., *Neuroscience, in press*)。

(3) 行動薬理的解析

老齢ラットでは、若齢ラットに比べ、強制水泳試験における無動時間が短縮し、抑うつ状態を検出できなかった。しかし回転棒試験では、回転棒に乗っている時間の著しい減少が観察され、この減少は、抗うつ薬である desipramine 投与により、あるいは SKF 81297 の前頭前野内投与により部分的に改善されたことから、前頭前野のドーパミン放出量の低下に基づく抑うつ状態を一部反映していると考えられた。

老齢ラットのワーキングメモリは障害を受けていた。この障害は SKF 81297 の前頭前野内投与により改善され、SKF 81297 による改善効果は、D1 受容体アンタゴニストである SCH 23390 により消失したことから、老化によるワーキングメモリ障害は、前頭前野のドーパミン放出量の低下による D1 受容体刺激の減少が原因であると結論された (Mizoguchi K. et al., *Neuroscience, in press*)。

また、ワーキングメモリ解析後に、報酬獲得のルールを変更したところ、若齢ラットは、試行回数に依存して新しいルールに対応できるようになっていったが、老齢ラットではそうならず、古いルールに固執していた。このように、老齢ラットでは状況の変化に適応する能力が欠けていることが明らかとなった。

なお、人為的に前頭前野の GR の機能を低下させた若齢ラットにおいて、老齢ラットと類似したフェノタイプが現われることが確認されたことから、老齢ラットの前頭前野で観察されたグルココルチコイド作用の低下が老化による認知機能障害の発生に関連することが示唆された。

ここまでの結果から、正常老化のみで前頭前野の著しい機能低下が発生していることが明らかとなったため、当初の仮説として想定した、老化した前頭前野に対するストレスによる易障害性を解析することは困難となった。そこで、以下に述べるように、不安という情動を新たな指標にして、ストレス脆弱性を解析した。

(4) ストレス脆弱性

若齢ラットと老齢ラットにおける不安の発現に対するストレス反応を解析した結果、若齢ラットにストレスを負荷しても不安発現の程度に変化は観察されなかったが、老齢ラットでは不安の程度が強まることが明らかとなり、老齢ラットはストレス脆弱性を示すことが判明した。

(5) まとめ

以上の研究成果より、老化により、脳内で GR の機能低下が発生するが、特に前頭前野においては、ドーパミンおよびセロトニン神経系の機能低下を介して前頭前野そのものの機能が低下する一方で、情動異常が易発するようなストレス脆弱性が形成されることが示唆された(図1)。このように、脳内における GR の量的および機能的変化が、老化による様々な脳機能低下に基盤的要因として関与し、ストレス脆弱性を表現するという当初の仮説を支持する結果が得られた。今後は、本研究成果の、高齢者うつ病を含めた多くの高齢者精神神経疾患に対する効果的な予防・治療法開発への応用が期待される。

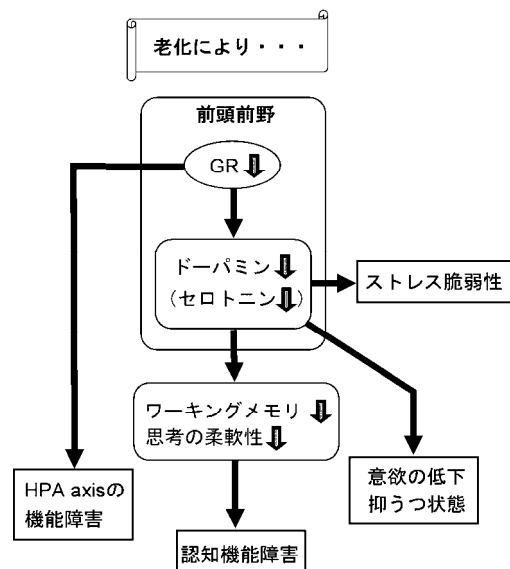


図1 老化による抑うつ状態や認知機能障害、ストレス脆弱性の発生機構 (GR、グルココルチコイド受容体; HPA axis、視床下部 - 下垂体 - 副腎軸)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計10件)

Mizoguchi K, Ikeda R, Shoji H, Tanaka Y, Maruyama W, Tabira T. Age-related spatial working memory impairment is caused by prefrontal cortical dopaminergic dysfunction in rats. *Neuroscience*, in press. 査読有り

Ikeda R, Imai Y, Maruyama W, Mizoguchi K. Systemic disorders of calcium dynamics in rats with adenine-induced renal failure: implication for chronic kidney disease-related complications. *Nephrology*, in press. 査読有り

Ikeda R, Mizoguchi K. *Hachimijiogan* (Ba-Wei-Di-Huang-Wan), a herbal medicine, improves unbalance of calcium metabolism in aged rats. *J. Ethnopharmacol.*, in press. 査読有り

Mizoguchi K, Ikeda R, Shoji H, Tanaka Y, Maruyama W, Tabira T. Aging attenuates glucocorticoid negative feedback in rat brain. *Neuroscience*, 159,259-270, 査読有り

Mizoguchi K, Ikeda R, Shoji H, Tanaka Y, Jin XL, Kase Y, Takeda S, Maruyama W, Tabira T. *Saikokaryukotsuboreito*, a herbal medicine, prevents chronic stress-induced anxiety in rats: comparison with diazepam. *Nat. Med. (Tokyo)*, 63, 69-74, 2009, 査読有り

Mizoguchi K, Shoji H, Ikeda R, Tanaka Y, Tabira T. Persistent depressive state after chronic stress in rats is accompanied by HPA axis dysregulation and reduced prefrontal dopaminergic neurotransmission. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 91, 170-175, 2008, 査読有り

Mizoguchi K, Ikeda R, Shoji H, Tanaka Y, Tabira T. Suppression of glucocorticoid secretion induces a behaviorally depressive state in rotarod performance in rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 90, 730-734, 2008, 査読有り

Mizoguchi K, Shoji H, Ikeda R, Tanaka Y, Maruyama W, Tabira T. Suppression of glucocorticoid secretion enhances cholinergic transmission in rat hippocampus. *Brain Res. Bull.*, 76, 612-615, 2008, 査読有り

Jin XL, Jing W, Yan F, Zhang Z, Lü F, Jing S, Sun N, Mizoguchi K. Effect of intracranial hypertension on cerebral hemorrhage induced autonomic nerve imbalance. *Neural. Regen. Res.*, 2, 175-178, 2007, 査読有り

Mizoguchi K, Sun N, Jin XL, Kase Y, Takeda S, Maruyama W, Tabira T. *Saikokaryukotsuboreito*, a herbal medicine, prevents chronic stress-induced dysfunction of glucocorticoid negative feedback system in rat brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 86, 55-61, 2007, 査読有り

[学会発表](計1件)

溝口和臣、池田龍史、昌子浩孝、田中弥生、丸山和佳子、田平武. 加齢による前頭前野の機能低下と漢方薬による改善作用(基礎). 第8回抗加齢医学会総会(シンポジウム), 2008年6月7日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

溝口 和臣 (MIZOGUCHI KAZUSHIGE)
国立長寿医療センター(研究所)・老年病研究部・室長
研究者番号: 20416176

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

池田 龍史 (IKEDA RYUJI)
国立長寿医療センター(研究所)・老年病研究部・流動研究員
研究者番号: 80463199
昌子 浩孝 (SHOJI HIROTAKA)
国立長寿医療センター(研究所)・老年病研究部・流動研究員
研究者番号: 00466278
孫 楠 (SUN NAN)

国立長寿医療センター(研究所)・老年病研究部・流動研究員
研究者番号: 60419900