

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07557

研究課題名(和文) 幼少期ストレス負荷ラットの衝動的攻撃性への前頭前野を標的とした根治療法開発

研究課題名(英文) Development of radical therapy targeting prefrontal cortex for impulsive aggression in childhood stressed rats

研究代表者

一坂 史志 (ICHISAKA, Satoshi)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：50359874

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：戦争、凶悪犯罪、いじめ、児童虐待など不適切な攻撃性の問題解決のため、独自の児童虐待モデル動物として、幼少期にストレスを短期間負荷したオスのラットが発達後に示す不適切な衝動的攻撃性増加のメカニズム解明と治療法開発を試みた。メカニズムとして、不安、抑うつ、ストレスホルモン増加、脳萎縮、神経活動異常、眼窩前頭皮質の大きさの性差が原因である可能性は低いことが明らかとなった(神経回路異常の可能性は残る)。成熟後のストレス負荷では、PTSD症状は示したが、有意な攻撃性増加はみられず、幼少期の経験の重要性が示された。治療としてはセロトニン作用を強める豊環境での長期飼育により改善することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人への不適切な攻撃性は、戦争、凶悪犯罪、いじめ、児童虐待、DV、ストーカー、ハラスメント、危険運転等の問題を生じる。児童虐待が原因となり、不適切な攻撃性を示し、男性に多い精神疾患である反社会性・自己愛性パーソナリティ障害(サイコパスやソシオパスを含む)の妥当性の高いモデル動物と治療法の開発は精神医学や脳科学をはじめ社会的にも意義がある。社会的に成功しているCEOや政治家に多いサクセッフル・サイコパスでは脳萎縮がみられないことから、脳萎縮を示さず、オスで攻撃性の高い独自の児童虐待モデルがその動物モデルである可能性があり、メカニズムの解明や根治療法の検討に有用で研究を進めることができる意義は高い。

研究成果の概要(英文)：In order to solve the problem of inappropriate aggression such as war, violent crime, bullying, and child abuse, male rats exposed to short-term stress during childhood exhibited inappropriate impulsive aggression after development as a unique model animal for child abuse. We attempted to elucidate the mechanism of increased aggression and develop a radical treatment. As for the mechanism, it is unlikely that anxiety, depression, stress hormones, brain atrophy, neural activity abnormalities, and gender differences in orbitofrontal cortex size are the causes (the possibility of neural circuit abnormalities remains). Post-mature stress load showed PTSD symptoms but no significant increase in aggression, suggesting the importance of childhood experiences. As a treatment, it was clarified that long-term breeding in enriched environment that strengthens serotonin action improves the aggression.

研究分野：脳科学

キーワード：児童虐待 攻撃 眼窩前頭皮質 根治療法 ストレス 発達 前頭前野 戦争

1. 研究開始当初の背景

人への攻撃性は戦争につながり、その改善は世界平和につながる。戦争、凶悪犯罪、いじめ、ハラスメント、DV、ストーキング、危険運転、児童虐待などの社会問題の基盤には不適切な攻撃性が関わっている。児童虐待相談件数は過去最多を更新中であり、児童虐待が原因となる攻撃性の高い精神疾患である反社会性パーソナリティ障害(サイコパスやソシオパスを含む)や自己愛性パーソナリティ障害が上記社会問題と密接に関係しており、サイコパスの中でも社会的に成功しているサクセスフル・サイコパスが CEO や政治家等に多く(アンサクセスフル・サイコパスは刑務所に多い)、人類のリーダーである主要国の大統領(プーチン大統領、トランプ前大統領等)にも専門家から疑いが指摘されている。一方で脳科学では研究が進み、近年、ヒトの脳の特徴としてチンパンジーに比べ脳の前部の前頭前野が大きく進化していること、前頭前野は IQ と関係なく、こころの機能を担っていることが明らかとなっている。特に前頭前野の下部に位置する眼窩前頭皮質はパーソナリティ(人格)、攻撃性制御、社会性、相手の感情を理解する能力をもち、人格の完成を目的とする教育においても重要な領域となっている。さらに全ての感覚情報を受け取ったり、無意識に関わる自律神経制御にも関わる。眼窩前頭皮質の内側部は喜び、楽しみ、報酬、自分に関する良い思い出の想起に関わり、外側部は逆に罰、自分に関する嫌な思い出の想起に関わり、うまくいかない時に行動を柔軟に変化させること等に関わることも明らかとなっている。男性ホルモンであるテストステロンは思春期に増加し、攻撃性を高めるが、眼窩前頭皮質の内側部の活動を低下させること、外側部の活動を高めることが報告されている。本来の攻撃性はパートナーや子どもを守るためのもので、小さい子をもつ親は子の鳴き声でイライラすることで子を外敵から守ってきた。しかし、人類が猛獣などの敵の問題を解決してきたことで、そのイライラが守るべき子どもやパートナーに向かうという新たな問題を人類は抱えることになり、前頭前野が大きく進化することで出産で産道を通ることが難しくなり、未熟に生まれることで育児が難しくなるという問題も抱えている。今後さらなる進化に伴い、この問題は大きくなることが予想される。サイコパスや多重人格(解離性同一症)では眼窩前頭皮質が原因に関わるということが提唱されるようになったが攻撃性増加のメカニズム解明はまだまだ遅れており、前頭前野を標的とした児童虐待を原因とする精神障害の攻撃性を改善する治療法の研究は未だ進んでいない。さらに反社会性パーソナリティ障害や自己愛性パーソナリティ障害では自分が病んでいるという病識がなく、自分から精神科を受診することがないため診断されないという問題があり、攻撃による問題は解決されにくい一方で、いじめ等その攻撃の被害者となる境界性パーソナリティ障害やうつ病は病識があるものの、自殺が多く、近年大きな教育問題となっている。いじめ加害の家庭要因として近年指摘されている養育者による子どもへの過干渉は児童虐待の一種であり、自己愛の問題として他害行為(ストーカー等)につながっている。これらの問題の解決にはさらなるメカニズムの解明と治療法の開発、政治家など人類のリーダーの動画による AI 診断、児童虐待の予防の必要性が増すことが推測される。

2. 研究の目的

上記社会問題の解決のため、児童虐待による攻撃性増加のメカニズム解明と治療法開発を目的とした研究を進めるためには動物モデルが必要である。児童虐待の研究ではそのモデルとして幼少期ストレス負荷モデルがよく用いられている。これまでにラットを用いて母子分離モデルを試したが先行研究の再現性が得られず、次に離乳後隔離飼育モデル(1匹のみでの飼育)を試すだけでなく、さらに静電気のような身体的ストレス負荷を追加した独自のモデルも試した。その結果、短期間の離乳後社会低隔離ストレスとショックストレスを幼少期に負荷したモデルのオスで攻撃性の有意な増加、メスで社会性の有意な減少、両方でショックストレスを受けた状況での恐怖記憶が成熟後も残っていることが明らかとなった。この独自モデルではストレス負荷が短期間で比較的弱いためか、他の児童虐待モデルでみられているうつ様行動、不安様行動、ストレスホルモンのストレス負荷時の増加、海馬や前頭前野の萎縮や神経細胞密度の減少などはみられないという特徴がある。本研究では、オスでの攻撃性増加のメカニズム解明として、(1)脳萎縮に関してまだ調べていなかった扁桃体(前頭前野とつながり恐怖記憶や攻撃性に関与)の神経細胞密度が変化していないか調べ、(2)攻撃時などの前頭前野各領域と扁桃体の神経活動に異常がみられないかを調べ、(3)ヒトで眼窩前頭皮質の大きさに男女差があり、男性で小さいことが知られていることから、ラットでも雌雄比較をすると共に、(4)難しいもののチャレンジとして根治療法の開発を目指すため、抗うつ薬同様にセロトニンを増加させることが知られる豊環境飼育と眼窩前頭皮質に神経回路を安定化する分子シグナル経路の阻害剤等の混合液を投与し、幼少期の様に神経回路が柔軟な状況をつくることを想定した治療法を試みた。この治療法は、ヒトでは現在の精神科の治療に脳外科の治療を追加することで幼少期ストレスにより形成された有害な神経回路を消去することを想定している。

3. 研究の方法

SD ラットを用いて離乳後に 20 日間、隔離飼育を行い、フットショック (1 回 / 日) をあたえることでストレスを負荷した。その後、成熟した後に行動解析により攻撃性や恐怖記憶について調べた (ストレス負荷終了後すぐでは攻撃性の増加はまだみられないため成熟後でおこなった)。行動解析の攻撃性試験ではショック誘発闘争試験 (ショックストレス負荷時に悪くもない相手を攻撃) を行い、恐怖記憶が残存しているかを調べるため幼少期にショックストレス負荷した装置に成熟後に入れてすみ行動を調べる試験を行った。一部のラットは攻撃性試験後に灌流固定を行い、脳を凍結し、ミクロトームで冠状断切片を作製し、免疫組織化学染色を行った。免疫組織化学染色では萎縮の原因である神経細胞死による細胞密度の減少があるかを確認するため、神経細胞マーカー NeuN の抗体を用いて、神経細胞密度を比較し、神経活動マーカー c-Fos の抗体を用いることで攻撃時の前頭前野各領域や扁桃体の神経活動の異常がみられないか確かめた。前頭前野各領域の大きさの雌雄比較では、ニッスル染色後に、眼窩前頭皮質では脳梁の小鉗子の下から、皮質の切込みまでを測り、それを眼窩前頭皮質の厚さとして測定し、オスで攻撃性が高い原因が攻撃性を制御する脳領域の大きさによるものかを調べた。一部の動物では治療として、豊環境飼育を行った (短期間の 2 週間では治療効果がみられないことは我々の先行研究により判明していたため、さらに長期間の飼育の効果を調べた)。現在、攻撃性の対症治療で用いられている抗うつ薬 SSRI はセロトニン作用を強めることで改善効果を示すがこの豊環境もセロトニン作用をつよめることが知られている。なお、前頭前野の機能にセロトニンが重要な働きをしていることが知られている。また、ヒトでは抗うつ薬の効果がでるのに約 2 週間を要する。従って、このモデルでの薬理的な妥当性を豊環境により調べることでモデル動物として適切かを調べることができる。さらに、一部の動物には、眼窩前頭皮質腹外側部に浸透圧ミニポンプを用いて慢性的に 2 週間、神経回路を不安定化するために神経細胞同士の結合部位であるシナプスの安定化に関わる分子シグナル経路の阻害剤混合液を投与しながら豊環境で飼育した。豊環境ケージは自作でステンレス製の大型のイヌ用ケージに網を張り、3 階までフロアを設置して、各フロアを階段でつなげ、一階にはトンネル、ランニングホイール、おもちゃを設置し、8 匹以上で飼育した。浸透圧ミニポンプの移植は麻酔下で脳定位固定装置を用いて眼窩前頭皮質腹外側部に浸透圧ミニポンプにつながった針の先がくるように固定し、手術後に麻酔から覚めてから豊環境ケージで飼育した。

4. 研究成果

(1) < 扁桃体と前頭前野の神経細胞密度 >

独自の児童虐待モデル動物で有意な神経細胞密度の減少等の変化はまったくみられなかった (図 1 の左側は扁桃体の基底外側核での結果の例)。この結果は我々の先行研究の脳萎縮の原因と考えられているストレスホルモンの増加がみられず、うつ様行動もみられないという結果と合致する。攻撃性増加のメカニズムとして、ストレスホルモンによる扁桃体の神経細胞死などによる萎縮等が原因ではないことを示唆しており、これまでの雌雄両方での児童虐待モデルでの海馬や前頭前野各領域の体積に変化がみられない結果と合わせて考えても、攻撃性増加がヒトで報告のある脳萎縮等によるものではない可能性が高いことを示している。なお、前頭前野各領域の神経細胞密度の変化がないことが本研究でも再確認されている (独立した実験で 3 回目)。以上の研究結果から、攻撃性の増加が、エピジェネティックなストレスホルモン発現増加や脳萎縮によるものでないことが明らかとなった。この結果はストレスがさらに強い場合には、ストレスホルモンの増加や萎縮が起きる可能性を否定するものではなく、あくまで攻撃性増加に必要な原因ではないと考えている。この成果から、治療法開発において、iPS 細胞から分化させるなどした神経細胞を移植するという方法を選択する理由はなくなった。

(2) < 攻撃時などの前頭前野各領域と扁桃体の神経活動 >

児童虐待モデルラットのオスの前頭前野と扁桃体の攻撃時の神経活動マーカー c-Fos 発現に有意な変化はみられなかった (図 1 の右側は扁桃体基底外側核での結果の例)。この結果は、児童虐待による攻撃性の増加が前頭前野や扁桃体の神経活動の異常によるものではないことを示唆している。先行研究でヒトや既存のモデル動物で神経活動異常が報告されているが、負荷したストレスが強いことで起きたと考えられ、本研究結果から攻撃性の増加に神経活動の異常が必須ではないと考えられる。治療法開発において、脳の神経活

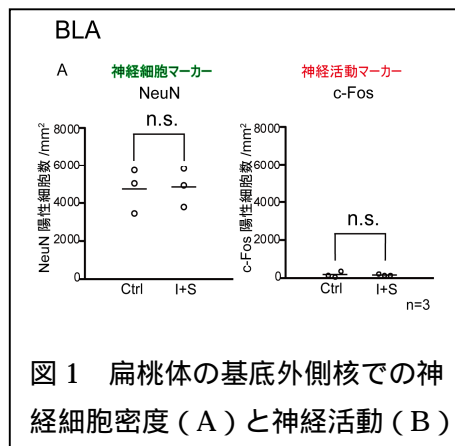


図 1 扁桃体の基底外側核での神経細胞密度 (A) と神経活動 (B)

動を変化させる磁気刺激や光遺伝学的手法を用いた治療法を選択する必要がないことが明らかとなった。

(3) < 攻撃制御に関わる眼窩前頭皮質の大きさがヒト同様にラットのオスはメスに比べて小さいか? >

前頭前野各領域の大きさを複数切片の脳領域の特定の部位の長さを測定することで調べた結果、どの領域でも統計学的に有意な変化はみられなかった(図2は眼窩前頭皮質の例であるが左のオスで小さいということはない)。この結果は身体的な攻撃性が男性で高い原因が、攻撃性を抑性することが知られる眼窩前頭皮質の大きさが小さいためではないことを示唆しており、雌雄差は男性ホルモンが眼窩前頭皮質の内側部活動を低下させ、外側部活動を増加させるためであると考えられる。この研究結果と我々の先行研究による前頭前野各領域の児童虐待モデルでの大きさが変わらないという結果を考え合わせると、治療として脳の大きさを変化させる必要はないと考えられ、それよりも性差が男性ホルモン(精巣だけでなく副腎でも合成されるため女性にもある)によるものである可能性が高まり、この研究成果として、治療法として男性ホルモンを減少させる方法が考えられる。実際去勢により攻撃性が低下することが知られているが、倫理的問題があり、モデルで幼少期ストレスにより男性ホルモンが増えていることは未確認ではあるものの、この方法を優先的に選択する理由はないと考えている。

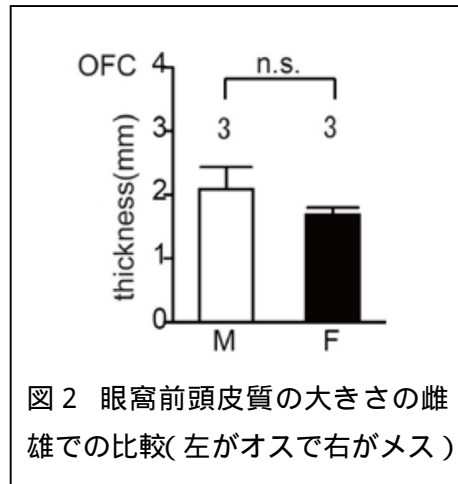


図2 眼窩前頭皮質の大きさの雌雄での比較(左がオスで右がメス)

(4) < 治療法開発 >

まず、抗うつ薬 SSRI 同様にセロトニン作用を強めることが知られる豊環境による治療に関して、本研究中で別の目的の実験でたまたま約1年の超長期間の豊環境飼育が攻撃性を低下させることが見つかった。我々の先行研究では2週間の短期間豊環境では有意な治療効果はみられておらず、この結果は驚きであった。本研究では約2カ月の長期の豊環境で幼少期ストレス負荷による攻撃性増加がほぼ完全に改善されることが初めて明らかとなった。この効果はヒトで抗うつ薬による治療効果が得るのに2週間以上かかることと似ており、この独自の児童虐待モデル動物の妥当性として薬物の効果がヒトと類似していることから、ヒトの疾患モデルとしての妥当性が高いことが示された。さらに、ヒトでは治療を停止すると治療効果が得られなくなるため、このモデルでも確認したところ、豊環境治療停止(通常飼育にもどす)により1日で治療効果がなくなることも初めて明らかとなった。この結果は、現在のヒトで用いられている治療法が動物でも対症療法であることを示唆しており、このモデルが根治療法開発に有用であることを示している。そこで、さらに根治療法開発に、困難であるものの、チャレンジした。眼窩前頭皮質への試薬の投与のため数日間毎日数匹の浸透圧ミニポンプのインプラント手術を行い、成功したものの、行動解析(ショック誘発攻撃性試験)の結果、Vehicle 投与群のコントロール群に比べて、残念ながら期待した攻撃性への治療効果は得られなかった(なぜか一時的に両群で攻撃性が低下したが、両群とも豊環境治療停止後に元に戻り、改善効果はみられなかった)。

この治療法の難しい点として、投与する試薬が脳内で広がると濃度が低下することがある。そのため高濃度で投与しているが、培養細胞とは異なり、一定の濃度の試薬を目的の領域全体に作用させるのが難しい。また、阻害する分子としてもドレブリンAという成熟後に多く、アクチン安定化に直接関わる分子(アルツハイマー病で低下)を眼窩前頭皮質外側部で一時的に阻害したいもののその阻害剤は未だなく、その上流の Rho kinase や LIMK (ウィリアムズ症候群の原因遺伝子のひとつ)の阻害剤を使用するほかなかった。今後の阻害剤開発に期待したい。また投与する脳領域に関しては、ヒトでは言語野の横に位置し、結合もある眼窩前頭皮質(ヒトでは特に右脳: 解離との関係が報告されている)を想定しているが、ネズミでは前頭前野の機能領域がヒトとは大きく異なるという問題がある。例えばヒトでは背外側前頭前野が担う作業記憶がネズミでは内側前頭前野背側部が担うことや扁桃体との結合がヒトでは眼窩前頭皮質(特に外側部)に多いが、ネズミでは内側前頭前野に多いことなどが知られている。本研究での治療標的である眼窩前頭皮質腹外側部はヒトでもネズミでも状況変化への適応(専門用語では逆転学習)に関与していることから治療標的としたが、ヒトの眼窩前頭皮質の機能はネズミでは前頭前野全体に分散している可能性が高く、幼少期ストレスによる攻撃性増加にネズミのどの前頭前野領域がどの程度関わるのかは不明であり、今後検討する必要がある。

【まとめ・展望】

ヒトでの児童虐待による思春期後の攻撃性増加のメカニズムとして、脳萎縮や神経活動異常が必須の原因である可能性が低いことが本研究の成果として初めて明らかとなった。現在、そのメカニズムとして、ヒトでは幼少期に養育者の真似により形成される神経回路が原因である可能性を考えている。しかし、神経回路が原因であることを証明することは困難であり、消去法で残っている可能性として神経回路があるというのが現状である。遺伝に関しては、モデル動物の遺伝子は同じであり、このモデルでの攻撃性増加の原因とは考えにくい。眼窩前頭皮質外側部は嫌な事に反応する領域であり、その時に行動の適切性を判断するだけでなく、行動を変化させる機能（逆転学習）も持っており、人格（パーソナリティ）機能でも重要な領域と考えられる。その領域の横に言語野（話す機能をもつ：聞く機能は前頭前野以外の領域にある）があり、結合があることから、類似点が存在する可能性が高い。日本語を話すようになるのは、遺伝要因としては遺伝子で脳の言語野がつくられるため多少関係はあると考えられるが、通常は養育者の真似をすることで日本語を話すようになり、英語圏で育てば遺伝子は同じでも日本語は話せなくなることから、環境要因が主であると考えられる。人格は幼少期に養育者の真似をすることで形成されることから、眼窩前頭皮質外側部の神経回路も養育者の真似をすることで形成される可能性があり、愛する養育者を真似て愛するようになり、いじめる養育者を真似ていじめるようになり、力で支配する養育者を真似て力で支配できる職に就き、力で支配するようになり、戦争をおこしている可能性がある。この可能性は核を所有する人類の存続に関わることから、検証する必要がある。もしその可能性が当たっているのであれば、根治療法の開発は、成熟後に別の言語を学ばせるだけの治療では不十分で、幼少期に学んだ日本語を忘れさせるような治療が必要になる（非常に困難）。「三つ子の魂百まで」と言われるように幼少期に形成された人格の問題をおこす神経回路を消すことは難しく、成熟後でも人格は高められるが、それは成熟後に英語を学習することに近く、現在の精神療法のように効果はあるものの、根治を目指すには、なぜ幼少期に学んだ言語に関わる神経回路を消去することが難しいのかを認知症等を参考に調べる必要があるように思う。

戦争はなぜ起こるのかに関して児童虐待が原因と考える人はいないのが現状である。悪との戦いにおいて、悪の正体が悪性の精神疾患であるのであれば、戦うのに必要なのは、殺人兵器ではなく、診断・治療・予防ではないだろうか。医学は人類愛そのものであり、悪人の命も救うが、悪人の悪をなくし、人にする科学技術は未だ存在しない。その開発は困難であり、業績や研究費を得るのが難しい現状があるが、それでも人類の存続のため進める必要のある研究であると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------