

機関番号：33916

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21730609

研究課題名（和文） 加齢によるストレス脆弱性に基づく情動の調節機構解明

研究課題名（英文） Study of the mechanisms underlying stress vulnerability and emotional response in aging

研究代表者

昌子 浩孝（SHOJI HIROTAKA）

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・CREST 研究員

研究者番号：00466278

研究成果の概要（和文）：

老齢ネズミを用いて加齢によるストレス脆弱性と情動の変化に関わる脳内機構について検討した。老齢個体は不安様行動が多く、記憶機能の低下等を示した。さらに、慢性ストレス負荷によって老齢個体の不安様行動はより増加し、ストレスホルモンも増加した。しかし、若齢個体ではそのような変化が観察されなかった。老齢個体の行動特性およびストレス刺激に対する脳神経活動分布から前頭前野や扁桃体、縫線核などの関与が推測され、加齢による神経伝達物質濃度の増減が認められた。これらの結果は、加齢によるストレス脆弱性の亢進に基づいて生じる情動の発現調節機構の一端を示している。

研究成果の概要（英文）：

The present study examined the brain mechanisms underlying stress vulnerability and emotional response in aging. Behavioral analysis indicated that aged rats and mice showed increased anxiety-like behavior and deficits in cognitive functions compared to young animals. Chronic stress induced further increase in anxiety-like behavior and stress hormone response in aged animals but not in young ones. Histochemical and neurochemical analyses indicated that aged rats might have neurotransmission dysfunction in the brain circuit involved in the stress and emotional responses. These results suggest that aging induces the vulnerability to stress with accompanying high anxiety and is associated with the changes in the underlying brain mechanisms.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：社会科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：加齢、ストレス、行動、情動、前頭前野、扁桃体、縫線核

1. 研究開始当初の背景

現在、我が国は超高齢社会に突入し、高齢者を取り巻くストレス環境を背景に様々な

精神症状を訴える高齢者の増加が予想される。我々は日常生活を送る上で様々なストレス刺激にさらされているが、通常それらに対

して行動的・生理的な適応反応により対処することが可能である。しかしながら、高齢者はストレスに対して脆弱な側面を持つことが知られており、ストレス刺激に対して適応的に対処することが困難であり、情動の発現亢進を引き起こす可能性がある。高齢者に認められる不安やうつといった情動状態についてその発現調節機構を解明することは学術的・社会的観点から重要である。

ストレス刺激に対する脳内応答部位には、視床下部、前頭前野、海馬、扁桃体などが知られ、特に扁桃体は情動の発現に、前頭前野はその調節(抑制)に関わることが指摘されている。しかしながら、加齢によるストレス脆弱性の亢進を反映する脳内機構についてはよくわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、老齢・若齢ラットあるいは老齢・若齢マウスを用いて、新奇環境場面や拘束ストレス負荷あるいは電気ショック負荷といったストレス事態における情動行動や内分泌反応を解析した。さらに、ストレス刺激に対する脳内応答部位を特定し、ストレス反応や情動に関与していると考えられる脳部位における神経伝達物質濃度の測定を行い、加齢によるストレス脆弱性に基づいて生じる情動の発現調節機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)被験体

F344/N 系統の雄の老齢ラット(24-25 ヶ月齢)と若齢ラット(3-4 ヶ月齢)、および C57BL/6J 系統の老齢マウス(20 ヶ月齢以上)と若齢マウス(3 ヶ月齢以上)を被験体として用いた。なお、本研究は、所属機関の動物実験委員会から承認を受け、動物実験指針に従った上で行われた。

(2)行動解析

老齢ラットについては、オープンフィールドテスト、高架式十字迷路テスト、新奇環境下社会相互作用テスト、恐怖条件付けテストによって情動行動を解析した。また、C57BL/6J 系統の老齢マウスについては、上記の情動行動に関するテストの他に運動機能、社会的新奇性選好、痛覚感受性、プレパルス抑制、学習・記憶等を測定する行動テストを行い、様々な場面における行動に及ぼす加齢の影響について網羅的に解析した。

(3)ストレス負荷

被験体へのストレス負荷方法として、新奇環境へ暴露すること、金網製ケージに1時間拘束すること、電気ショックを与えること、のいずれかの方法を使用した。なお、これらの

ストレス負荷方法は、先行研究で頻繁に用いられてきた方法であり、実験動物に与えるストレスが比較的軽度なものになるよう配慮した。

(4)ストレスホルモン測定

ストレス負荷による内分泌的なストレス反応の指標としてコルチコステロンの血中濃度を測定した。老齢ラットおよび若齢ラットに対してストレス負荷後すぐに、尾静脈から採血した。血液サンプルは血清の状態で保存した後、EIA 法によりコルチコステロン濃度を測定した。

(5)脳内神経活動分布の解析

ストレス負荷による脳内神経活動分布の加齢による違いを検討するため、拘束ストレス負荷後、深麻酔下で灌流固定し、脳を摘出・凍結保存した。脳は切片にし、免疫組織化学的手法により c-Fos 蛋白を染色した。各脳部位における c-Fos 陽性細胞数を計測し、神経活動の指標とした。

(6)神経伝達物質濃度の測定

老齢・若齢ラットの脳内神経活動分布の加齢による違いを検討するため、拘束ストレス負荷後、深麻酔下で灌流固定し、脳を摘出・凍結保存した。脳は切片にし、免疫組織化学的手法により c-Fos 蛋白を染色した。各脳部位における c-Fos 陽性細胞数を計測し、神経活動の指標とした。

(7)前頭前野セロトニン神経毒投与

老齢ラットの脳内神経活動分布の加齢による違いを検討するため、拘束ストレス負荷後、深麻酔下で灌流固定し、脳を摘出・凍結保存した。脳は切片にし、免疫組織化学的手法により c-Fos 蛋白を染色した。各脳部位における c-Fos 陽性細胞数を計測し、神経活動の指標とした。

4. 研究成果

(1)加齢によるストレス脆弱性の亢進

老齢ラットおよび若齢ラットの新奇環境下における行動を解析した結果、老齢個体の活動量および社会的行動は少なく、不安様行動は多いことを確認した。さらに、慢性拘束ストレス負荷によって老齢個体の不安様行動がより多くなったが、若齢個体ではそのような変化が見られなかった。また、ストレスホルモンとして知られるコルチコステロンについて、急性・慢性ストレス負

荷による血中濃度の変化を解析し、慢性ストレスを負荷した老齢個体は若齢個体よりもコルチコステロン濃度が高いことを見出した。これらの結果は、老齢個体がストレスに脆弱であり、ストレスを受けることによって情動行動や内分泌的なストレス反応の亢進が生じることを示唆している。

(2)加齢によるストレス刺激に関する情報処理能力の変化

老齢・若齢ラットのストレス刺激に対する反応過程の違いを検討するため、条件刺激として音刺激を、無条件刺激として電気ショックを用いて恐怖条件づけテストを行った。老齢ラットは若齢ラットと比較して初発の音刺激に対してすくみ反応をより多く示したが、その後は同様に恐怖記憶が形成され、記憶を保持していた。しかし、その消去過程に差が認められ、加齢によってストレス刺激に対する認知的機能が低下している可能性が示唆された。

(3)加齢による行動変化の種差

老齢マウスについて網羅的行動解析を行った結果、ラットと同様に加齢による活動量の低下や不安様行動の亢進が確認され、加齢による情動行動への影響が種を超えて認められた。さらに、加齢によって運動機能、プレパルス抑制、作業記憶が低下していることも明らかになった。

(4)加齢による脳内ストレス応答部位の変化

拘束ストレス負荷による脳内 c-Fos 発現量を解析した結果、老齢ラットは若齢ラットに比べて内側前頭前野や側座核、分界条床核、扁桃体内側核での発現量が少なく、縫線核や視床下部室傍核で多かった。ストレス刺激に対する脳内反応性が加齢によって減弱ないし増強する部位が特定された。

(5)加齢による神経伝達物質濃度の変化

不安や恐怖反応との関連が深い脳部位である扁桃体において、モノアミンおよびグルタミン酸濃度をマイクロダイアリシス法により測定したところ、老齢ラットは若齢ラットに比べてセロトニン濃度が高く、かつグルタミン酸濃度が少ないことを見出した。

(6)前頭前野セロトニン神経系の役割

老齢個体においてストレス刺激に対する縫線核の活性化から、その部位を起始核とするセロトニン神経系の関与が想定された。また、老齢個体の前頭前野ではセロトニン神経伝達機能の低下が示唆されていた。そこで、若齢ラットに対して前頭前野にセロトニン神経毒を投与し、老齢ラットと同様に

前頭前野のセロトニン神経機能を減弱させた。その結果、情動行動の増加や記憶機能の変化ならびに扁桃体におけるグルタミン酸濃度の低下が認められた。なお、急性ストレスによる血中コルチコステロン濃度には神経毒注入による影響はなかった。前頭前野セロトニン神経系は、扁桃体における神経伝達の調節を介して情動・記憶機能の調節に関与している可能性が示唆された。これらの行動的・内分泌的・神経化学的变化は老齢ラットの特徴と似ていた。

(7)まとめ

老齢個体のストレス事態における情動行動および内分泌反応を指標として、加齢によってストレス脆弱性が形成されている可能性が示唆された。ストレス刺激に対する脳内神経活動分布や神経伝達物質濃度の解析から、加齢によるストレス脆弱性を反映する脳内機構として、セロトニン神経の起始核である縫線核の興奮やその投射先である扁桃体および前頭前野などにおける神経伝達機能の変化が基盤にある可能性が示唆された。

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2件)

① Hiroataka Shoji and Kazushige Mizoguchi. Aging-related changes in the effects of social isolation on social behavior in rats. *Physiology & Behavior*, 査読有, 102, 2011, 58-62.

② Hiroataka Shoji and Kazushige Mizoguchi. Acute and repeated stress differentially regulates behavioral, endocrine, neural parameters relevant to emotional and stress response in young and aged rats. *Behavioural Brain Research*, 査読有, 211, 2010, 169-177.

[学会発表] (計2件)

① 昌子浩孝・高雄啓三・服部聡子・遠山桂子・中西和男・宮川剛・遺伝子改変マウスの行動表現型データベースを用いた行動に及ぼす実験時刻・加齢要因の影響の検討、日本動物心理学会、2010年8月29日、帝京大学

② 昌子浩孝・溝口和臣、情動行動と内分泌反応を指標とした老齢ラットのストレス脆弱性とその脳内機構の検討、日本動物心理学会、2009年9月26日、岐阜大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

昌子浩孝 (SHOJI HIROTAKA)
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・
CREST 研究員
研究者番号：00466278

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし