

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 11 月 11 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591690

研究課題名(和文) ストレスに対する細胞応答

研究課題名(英文) Neuronal Cellular Response to Behavioral Stress

研究代表者

丹生谷 正史(Nibuya, Masashi)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・その他部局等・講師)

研究者番号：00228256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：1) ストレス負荷による胃粘膜損傷はよく知られている事象であるが、長期SSRI投与によるストレス耐性形成により胃粘膜損傷が部分的に阻止できることを報告した。2) ストレス負荷による海馬領域でのアポトーシス信号の亢進と、オートファジー信号には変化のないことを報告し、さらに電気けいれん療法によって海馬領域でのオートファジー信号は亢進するものの、アポトーシス信号には変化のないことを報告した。3) ストレス負荷を伴う自衛隊訓練においては、BDNFとVEGFの血中濃度は有意に低下することを報告した。4) 良環境飼育によって、海馬領域でのオートファジー信号が増強されることを報告した。

研究成果の概要(英文)：Three years research period resulted in four publications. 1) We reported the protective profile of paroxetine belonging to SSRIs on the gastromucosal epithelium. 2) We reported the enhanced autophagy signaling in the rat hippocampus by the electroconvulsive seizure treatment. 3) We reported the significantly decreased plasma BDNF and VEGF concentration after the stressful ranger training in the Japan Self Defense Force. 4) We reported the enhanced autophagy signaling in the rat hippocampus by environmentally enriched housing conditions.

研究分野：精神医学

キーワード：stress antidepressant autophagy depression neurotrophic factor PTSD

1. 研究開始当初の背景

(1) 選択的セロトニン再取り込み阻害薬、SSRI (selective serotonin reuptake inhibitor) はセロトニン再取り込み阻害から血小板の凝固能を下げるため、出血傾向が増強され胃粘膜損傷傾向を、急性投与では惹起する物質である。また胃領域のセロトニン受容体刺激は胃酸分泌を亢進し、やはりSSRIの急性投与は胃粘膜損傷傾向をここからも惹起する。SSRIが本来中枢神経細胞に対して有する抗ストレス作用による胃粘膜保護作用と、末梢性の副作用である胃粘膜損傷作用のいずれが強いかは従来不明であった。

(2) ストレス負荷、逆に抗うつ効果を有する電気けいれん治療や良環境飼育による脳内海馬オートファジー信号の変化は不明であった。オートファジーは細胞のストレス状況において、老朽細胞内小器官、老朽蛋白を分解して、エネルギー源、新規構成物質へと変換させる機構である。

(3) 自衛隊レンジャー訓練における運動、睡眠時間短縮、ストレスといった複合因子が血中神経栄養因子濃度に与える影響は不明であった。心理的ストレスは脳由来神経栄養因子発現を全般的に低下させるが、逆に睡眠時間の制限、運動はこれを増加させる。

2. 研究の目的

上記1-3の内容を調査することを目的とし、ストレス、精神科治療が細胞応答に与える影響に関して、研究した。

3. 研究の方法

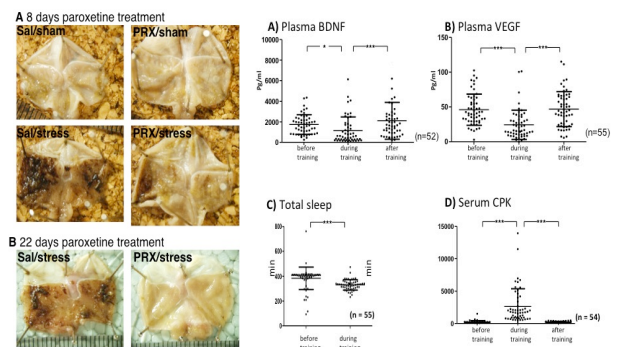
胃粘膜の顕微鏡での解析、蛋白定量にはウエスタンブロット、ELISA法を用いた。睡眠時間の調査には時計式の運動量、生体機能センサーを用い、筋肉活動の指標としては血中CPK濃度を用いた。

具体的には(1)の研究ではストレスとしてマウスに対する水浸ストレスを用いた。胃粘膜の損傷は胃粘膜の顕微鏡下での観察を含めて評価し、SSRIによる抗ストレス効果については、複数の行動学的試験によって評価した。以上研究1とする。(2)の研究ではラットに10日間の電気けいれん療法で、強直間代性けいれんを毎日一回誘導するか(研究2)、良環境飼育に4週間暴露するか(研究3)の環境変化を与えた。その上でオートファジー信号の変化をLC3-II

(microtubule associated protein, light chain 3-II)の定量により解析した。(3)の調査では、運動指標、ストレス指標と、血中神経栄養因子濃度の相関を解析した。栄養因子としては、BDNF (brain derived neurotrophic factor) と VEGF (vascular endothelial growth factor) を対象とした。以上研究4とする。

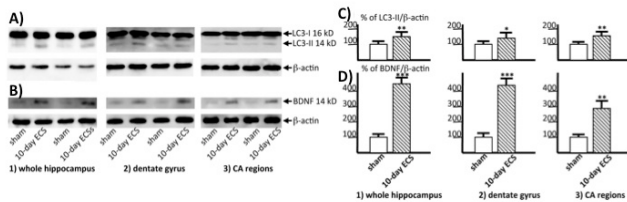
4. 研究成果

(1) 下記の図は研究1の胃粘膜のストレス反応と、研究4の訓練ストレスによる血中神経栄養因子の減少の研究報告で示した図表である。



要約すると、研究1では、SSRIであるパロキセチン長期投与によって、胃粘膜保護作用が観察され、これは同薬物の中枢神経に対する抗ストレス作用によるものであると考えられた。研究4では訓練期間後では血中BDNF、VEGF両者は有意に低下しており、これはストレス負荷による結果と考えられた。本来これら栄養因子の発現を亢進させる作用を有する、睡眠時間の短縮、運動量の増加は、訓練参加者のなかで有意に観察されているものの、それを上回る作用が、ストレスによってもたらされたと考察された。

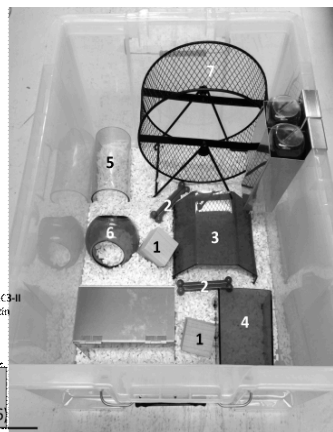
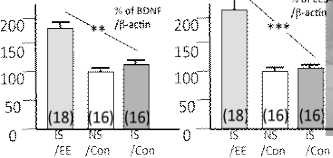
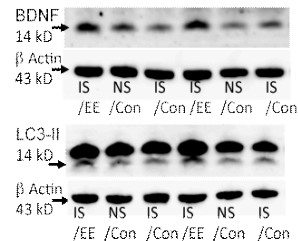
(3) ストレス負荷による海馬領域でのアポトーシス信号の亢進と、同負荷によるオートファジー信号には変化のないことを報告し、さらに電気けいれん療法によって海馬領域でのオートファジー信号は亢進するものの、アポトーシス信号には変化のないことを報告した。下記にそこで示した図



要約すると、研究2では、抗うつ効果を有する10日間の電気けいれん療法によって、脳内海馬領域のBDNF発現が亢進する一方で、オートファジー信号の増強を意味するLC3-IIの発現の亢進していることが発見された。

(3) 良環境飼育による海馬オートファジー信号の増強を観察した。以下にその研究の結果の図と良環境飼育の実際の飼育箱を示す。

両環境飼育によるラット海馬栄養因子、オートファジー信号の亢進



Takahashi T, Shimizu K, Shimazaki K, Toda H, Nibuya M: Environmental enrichment enhances autophagy signaling in the rat hippocampus. Brain Res 1592, 113-123, 2014

BDNF: brain derived neurotrophic factor, IS: inescapable stress, NS: not stressed, EE: environmental enrichment, Con: control, LC3: autophagy marker light chain 3

要約すると、研究3では、良環境飼育によって、脳内海馬領域のBDNF発現が亢進する一方で、オートファジー信号の増強を意味するLC3-IIの発現の亢進していることが発見された。以上が研究3の成果である。

(4) 総括

ストレス負荷による胃粘膜損傷はよく知られている事象であるが、長期SSRI投与によるストレス耐性形成により胃粘膜損傷が部分的に阻止できることを報告した。ストレス負荷による海馬領域でのアポトーシス信号の亢進と、オートファジー信号には変化のないことを報告し、さらに電気けいれん療法によって海馬領域でのオートファジー信号は亢進するものの、アポトーシス信号には変化のないことを報告した。ストレス負荷を伴う自衛隊訓練においては、BDNFとVEGFの血中濃度は有意に低下することを報告した。4) 良環境飼育によって、海馬領域でのオートファジー信号が増強されることを報告した。

以上を総合すると、ストレス耐性を形成する生物学的背景の研究に従事しているが、そのひとつとして、脳内オートファジー機構のつくる神経可塑性が関与しているのではないかとする結果が得られつつある。ストレス耐性の研究をすることは、よりしなやかで安定した精神生活を送るための一助となりうると考えている。

5. 主な発表論文等

雑誌論文計6件

1: Takahashi T, Shimizu K, Shimazaki K, Toda H, Nibuya M*: Environmental enrichment enhances autophagy signaling in the rat hippocampus. Brain Res 1592, 113-123, 2014 (*corresponding author)

IF=2.879

2: Suzuki G, Tokuno S, Nibuya M*, Ishida T, Yamamoto T, Mukai Y, Tsumatori G, Scott D, Shimizu K: Decreased plasma brain-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor concentrations during military training. PLoS One 9, 2014, e89455 (*corresponding author), IF=3.534

3: Toda H, Boku S, Nakagawa S, Inoue T, Kato A, Takamura N, Song N, Nibuya M, Koyama T, Kusumi I: Maternal separation enhances conditioned fear and decreased the mRNA levels of the neurotensin receptor 1 gene with hypermethylation of this gene in the rat amygdala. PLoS One 9, 2014, e89455, IF=3.534

4: Otabe H, Nibuya M*, Shimazaki K, Toda H, Suzuki G, Nomura S, Shimizu K. Electroconvulsive seizures enhance autophagy signaling in rat hippocampus. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2014 50:37-43. (*corresponding author), IF= IF=4.025

5: Takahashi T, Suzuki G, Nibuya M*, Tanaka T, Nozawa H, Hatano B, Takahashi Y, Shimizu K, Yamamoto T, Tachibana S, Nomura S. Therapeutic effect of paroxetine on stress-induced gastric lesions in mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2012 Jan 10;36(1):39-43. (*corresponding author), IF=4.025

6. Nakayama H, Umeda S, Nibuya M*, Terao T, Nishijima K, Nomura S: Two cases of mild serotonin toxicity via 5-hydroxytryptamine 1A receptor stimulation. Neuropsychiatr Dis Treat 10, 2014, 283-287 (*corresponding author) IF=2.154

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丹生谷正史 (NIBUYA Masashi)

防衛医科大学校・病院、精神科講師

研究者番号：00228256

(2) 研究分担者

戸田裕之 (TODA Hiroyuki)

防衛医科大学校、その他の部局等・助教

研究者番号：00610677

野村総一郎 (NOMURA Soichiro)

防衛医科大学校、その他の部局等・教授

研究者番号：80113091