

神経網羅解析法で迫る全身ストレス応答の実態解明

東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室

佐々木 拓哉

1. 目的と背景

動物はストレス応答を経験すると、身体各所に様々な不調が発現する。特に、現代の人間社会におけるストレス応答の大半は、精神的すなわち心因性由来の生体反応である。この場合、身体各所に発現する機能不調は、局所的な現象として現象として捉えるだけでなく、脳を出発点とした信号伝達の結果として考える必要がある（図1）。このような観点から、本研究では、精神的ストレス応答を生じた際に、全身神経がどのような情報伝達を行い、また、それらがどのように時間変化するのか解明することを目的とした。まずは、1つの動物個体において、ストレス応答を司る複数脳領域の神経活動、および自律神経活性の両方を慢性的に計測できる技術「神経網羅解析法」の構築を試みた。さらにこの方法を用いて、ストレス応答が引き起こされた際に、脳ではその経験がどのように処理されるか、また、それがどのように身体反応と関連するか調べた。



2. 方法

私は、2014年9月までカリフォルニア大学サンディエゴ校に留学しており、ここでは、ラットにおいて、60本程度の電極を用いて海馬の神経活動を大規模計測するマルチユニット計測法を習得した。本研究では本法を拡張し、海馬のみならず大脳新皮質など複数の脳領域に合計100本程度の電極を埋め込む方法の確立を目指した。具体的には、3Dプリンターを用いてラットの頭部に設置する電極ホルダー（マイクロドライブ）の自作造形を行い、試行錯誤を重ねて最適な形状を模索した。この電極群は、各自に微小ネジが取り付けられているため、1つ1つ独立に電極の深さを調節することができる。通常は脳波を参照しながら、一日数十マイクロメートル程度ずつ電極を降下させ、数週間て目的位置に到達する。ここまでは、世界的にも複数の研究室では実現できている実験技術である。本研究ではさらに、末梢活動を同時に組み合わせて計測するために、心電図計測用の電極を腹部皮下に、筋電図計測用の電極を頸背部皮下に埋入した。さらに呼吸リズムを同時計測するために、鼻上の嗅覚神経内にも電極を埋入した。これらの電極を、先述の脳波測定用の装置にハンダ付けすることで、脳波、心電図、筋電図、呼吸リズムといった全身の生体電気信号を1つの記録装置に集約させて効率的に計測する方法を確立した（図2）。この新しい方法論を学術論文としてまとめ発表した（Okada et al., 2016）。心電図のフーリエ変換解析から、各周波数領域のパワーを算出し、交感神経、副交感神経活性を推定できる。以上にて、ストレス応答に関与する数百個の中枢神経細胞の活動パターンと、末梢自律神経活性を網羅的に計測するという実験系が構築された。



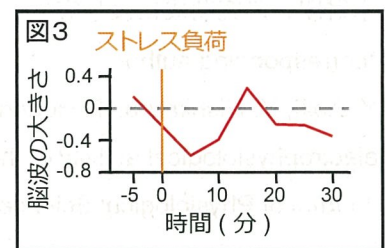
ストレス応答による機能破綻を誘発するため、社会的敗北ストレスモデルを用いた。このストレス応答モデルは、一方の身体が小さいラットが、もう一方の身体大きいラットから攻撃を受けるというものである。攻撃されたラットには、10分間のストレス環境を経験するだけでも、全身に様々な反応が生じることがわかっている。こうした中枢・末梢の応答を神経網羅解析法により記録した。ここでは末梢に発現するストレ

ス応答の程度には差があるが、こうした個々の要素もすべて変数として扱い、解析指標とした

3. 研究成果

ラットでは数分間のストレス負荷（この場合、他個体からの攻撃）を受けただけでも、その後、様々な身体不調が発現する。この原因として、休息時などオフライン期にも、脳が記憶想起を過剰に繰り返す、必要のない情報伝達が生体内で発生することが挙げられる。つまり、脳の記憶メカニズムが、余分な生体反応を引き起こす可能性がある。重要な点は、同じ負荷を受けても、反応を強く生じる個体とそうでない個体が見られることである。

多くのラットにおいて、社会的敗北ストレスを負荷した直後から、脳（特に海馬）の神経活動が減弱することを見出した。これは従来知られているような脳波の状態変化（シータ波など）といったレベルのものではなく、神経活動量が限りなくゼロになってしまうような著しい減弱であった。従来の脳波の分類に当てはめれば、slow irregular activity という波形に分類されるが、これはその極端な形であり、ほとんど前例の報告がない生理現象である。ここでは、個体行動の freezing（無動）と相関して生じる現象であることから、Brain freezing（脳の無動）と命名した。末梢の心電図や呼吸リズムは、ストレス負荷前と比較して、大きな差は見られなかった。おそらくこの期間は、中枢から末梢への信号がほとんど送られていない状態にあり、中枢とは独立に、ストレス負荷前と同等の末梢臓器活動が保持されている時期と考えられる。この神経活動の減弱は、ストレス負荷後およそ5分から10分間程度継続し、徐々に回復した（図3）。



次に、この神経活動の回復期が始まると、末梢側の心電図に大きな変動が観察された。すなわち、心拍数が500回/分から400回/分程度にまで減少し、さらに個々の心拍間隔が一定ではなくなり、いわゆる不整脈となった。この生理現象はストレス応答直後ではなく、ストレス応答後、数分から数十分の時間差をもって発生するものであり、従来考えられていたストレス研究の理論とは異なる。詳細な生理機構は不明であるが、1つの可能性として、中枢の神経活動が停止状態から回復し、末梢へ再び信号を送り始めたが、その信号が未だ不安定であるため、末梢臓器の活動の不安定性に繋がっているのではないかと考えられる。

より詳細な神経活動との相関の検証も進めている。大脳新皮質や海馬は、複合した情動や環境情報を処理する脳領域であり、精神活動を推定するために最適な部位の1つである。予備検討では、こうした細胞は、その後の休憩中に再活性化されやすいことを明らかにしている。この活動再生が記憶固定の基になると考えられるが、いっぽうで、中枢から末梢に不要な信号を流し、不安や身体不調の発現を助長している可能性がある。このアイデアを検証するため、個々の神経活動の再生が生じた際に、心電図や呼吸リズムに異常が生じるか解析する予定である。

また、上記の研究は急性的に（一回のみで）生じるストレス応答であったが、同様のストレス応答を何度も繰り返した際の慢性的な応答変化の解析も進めている。これまでには、体性感覚皮質、海馬CA1野、歯状回、視床などに電極を刺入して脳領域の活動の大きさ（脳波のパワー）を網羅的に解析した。ストレスを付加していない動物個体と比べると、海馬の歯状回においてのみ、神経活動が顕著に減弱していることが明らかになった（Aoki et al., 2016）。今後は、同様の方法を用いて、心電図や呼吸リズムの慢性的な変化の解析も進めていく予定である。

4. 考察 まとめ

精神的ストレス応答を論じる場合、分子機序と個体行動を繋ぐ核心的な神経動態は、ブラックボックスとして扱われることが多い。これは、「ストレス反応の出発点が脳である」という自明の事実を認識しつつも、有用な研究アプローチを考案できなかったという理由が大きいためである。一方で、神経生理学の最先端では、高度な計測技術を用いて複雑な現象の解明が進んでいるが、ストレス研究への応用はされていない。ストレス経験の脳情報処理と、末梢臓器の反応の同調変化を調べることは、中枢と末梢の同時記録によって初

めて検証可能である。さらに検証を進めていけば、ストレス経験後の不安や心的外傷など、心因性由来の身体不調の発症機序を直接的に考察できる可能性を秘めている。

また、動物個体にストレス反応を誘発するために最も頻繁に用いられる方法は、動物を拘束したり、強制的に水泳させたりする方法である。本研究では、より自然環境で生じるような精神的ストレス応答を模倣するために、他の動物からの攻撃を用いた社会的敗北ストレスモデルを利用している。個体差が生じやすい実験系であるが、逆にこの特性を生かし、対応する神経細胞の活動が如何に異なるかなど、神経相関を詳細に検証するモデルとして役立てることができる。分子・細胞レベルで研究が進んでいるストレス研究において、本研究では新たに、多細胞から構成される神経システムの動態を理解することで、従来の知見との比較・照合の機会を提供できるものと期待している。

5. 発表論文

本財団の研究助成により実施した研究成果

*corresponding author

Y. Aoki, Y. Nishimura, T. Hondrich, R. Nakayama, H. Igata, T. Sasaki*, Y. Ikegaya. Selective attenuation of electrophysiological activity of the dentate gyrus in a social defeat mouse model

Journal of Physiological Sciences, in press, 2016.

S. Okada, H. Igata, T. Sakaguchi, T. Sasaki*, Y. Ikegaya. A new device for the simultaneous recording of cerebral, cardiac, and muscular electrical activity in freely moving rodents.

Journal of Pharmacological Sciences, 132, 105-108, 2016.