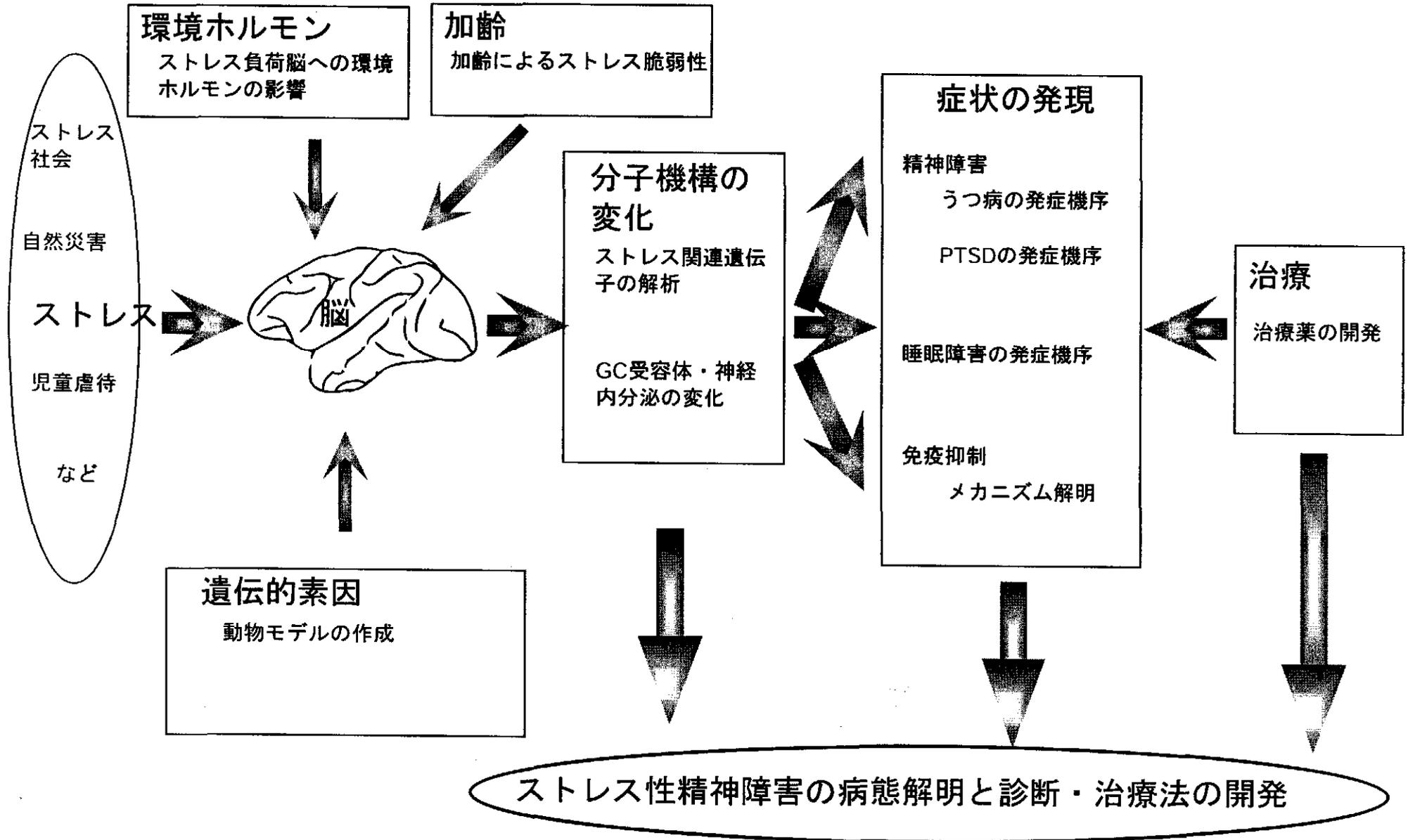


「課題名」 ストレス性脳機能障害とその修復過程の分子機構解明および治療法の開発

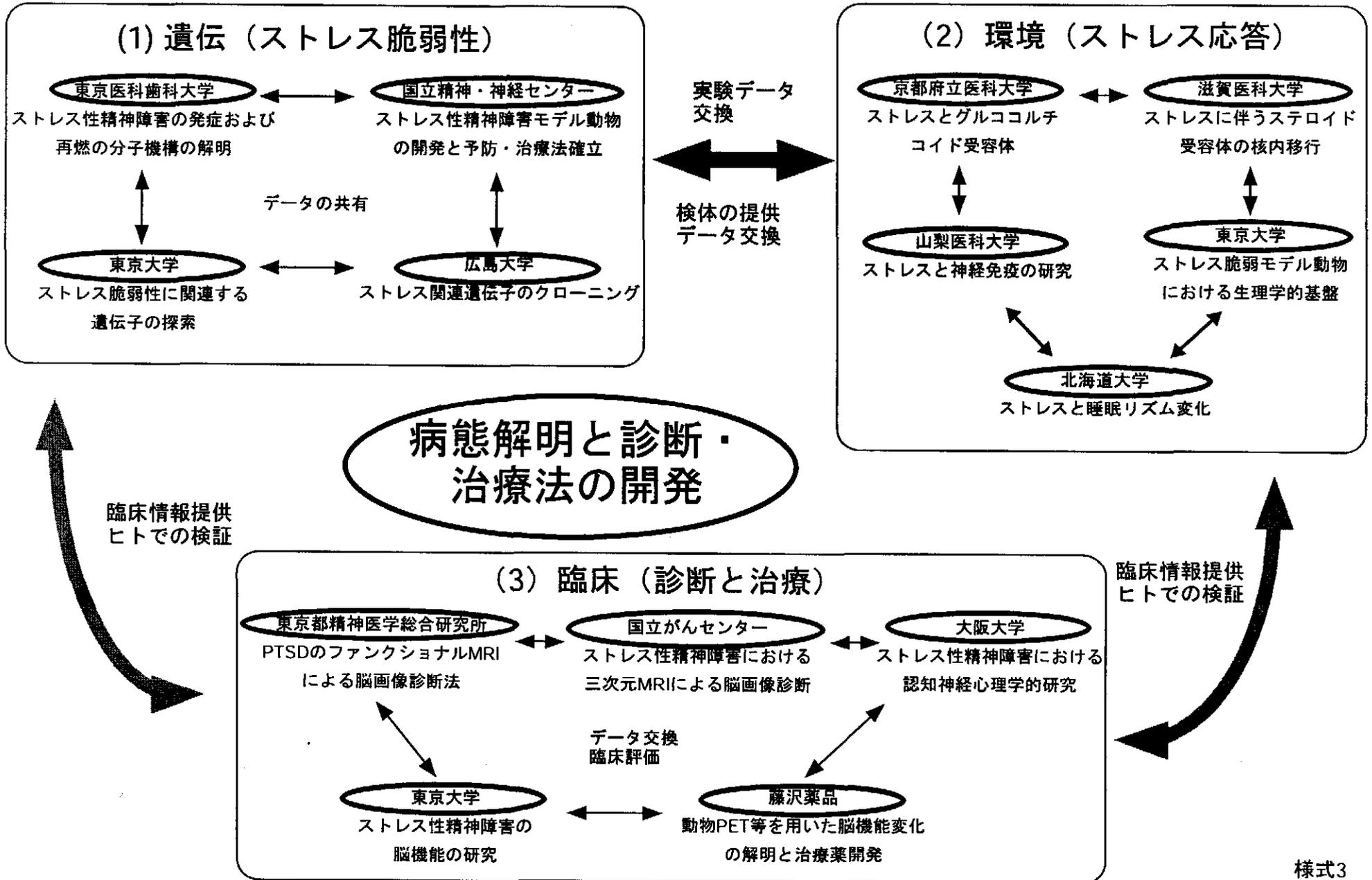
(H12年度・H16年度) 平成12年度予算額：2.0億円 研究代表者：加藤進昌(東京大学医学部)他12機関

研究の概要、目標	諸外国の現状	研究進展成果がもたらす利点
<p>1. 何を目標している</p> <p>ストレス性精神障害(注)の病態解明を突破口として、<u>精神力動的解釈に終始していた神経症圏の疾患に対して神経科学的な実証</u>を与え、その生物学的な治療・予防法を開発すること。</p> <p>3年後の目標：●<u>ストレス性精神障害の脳生理学的診断法</u>の確立●<u>ストレス性神経内分泌免疫系反応の分子病態の解析</u>●<u>ストレス脆弱性・ストレス反応関連遺伝子群の同定</u>●<u>ストレス脆弱動物モデル</u>の作成●<u>治療薬候補の合成と前臨床試験</u></p> <p>5年後の目標：●PTSDに関する総合的な生物学的アプローチの確立●<u>ストレス脆弱性を規定する環境因子の同定</u>●<u>新規治療薬の導入</u></p> <p>2. 何を研究している</p> <p>●<u>DNAチップ</u>等の先端技術による<u>ストレス脆弱性及びストレス応答関連遺伝子群の同定</u></p> <p>●<u>脳機能画像(注2)</u>による<u>ストレス性精神障害の発症メカニズムと生理学的診断法の検討</u></p> <p>●<u>大規模疫学研究によるストレス脆弱性を規定する環境因子の同定</u></p> <p>●<u>更なるストレス研究推進のためのストレス脆弱モデル動物の作成</u></p> <p>3. 何が新しいのか</p> <p>「ストレス」という曖昧な概念に最先端の神経科学の光をあて、<u>遺伝子と環境、発達と老化などを含めた包括的理解への確固たる基盤をあたえること。</u></p>	<p>1. 現状</p> <p>PTSDの臨床的研究については、症例の多さから、残念ながらアメリカが群を抜いている。しかし、そこで提示されつつある生物学的背景を<u>遺伝子レベル</u>にもちこむのはこれから。ストレスの神経科学的基礎的研究は、世界的には<u>ロックフェラー大学神経内分泌研究室(BS. McEwen教授)</u>の一門の独壇場であったが、<u>今まさに他の神経科学者が雷崩をうって参加しつつある状況。</u></p> <p>2. わが国の水準</p> <p>臨床面の遅れはチームによる組織的サーベイで十分取り戻せよう。</p> <p>基礎的な神経諸科学の水準は第一級のものがあ、また、<u>ステロイドホルモン受容体の研究</u>は長い伝統をもっている。本研究チームは、前述のMcEwen教授との共同研究などによって、この分野において海外の第1線研究者と肩を並べている。</p> <p>注1： ストレス性精神障害には、外傷後ストレス障害(PTSD)の他、急性ストレス障害、反応性うつ状態などさまざまなものがある</p>	<p>1. 世界との水準の関係</p> <p>画像診断は、ハード面では世界最高水準にあるが、ソフトウェア面で不備があった。これは今回のチーム構成により5年以内に十分比肩できる。</p> <p>治療薬の候補としているFK-506、FK-960はいずれもわが国が世界に誇る開発品であり、前者はすでに世界の移植医療のゴールドスタンダードとなっている。なお、この誘導体の一部は既にアメリカのベンチャー(JohnsHopkins大学関連)によって特許申請に持ち込まれつつあり、研究の早期進展により、我が国でも知的所有権を確保する予定である。</p> <p>2. 波及効果</p> <p>神経症圏の病気は、これまでまったく生物学的、神経科学的視野に入っておらず、科学的根拠の乏しい民間療法の入り込む余地があり、社会問題化する要因の一つにもなっていた。PTSDにしても、従来の抗不安薬が無効であるにもかかわらず、新たな発想の治療薬は全く考慮されていなかった。</p> <p>この研究の成功は多年にわたる常識を打ち破り、神経科学の成果を福祉に寄与するものと期待され、また、精神現象の解明という21世紀の最大の課題に大きな進歩をもたらすものと考えられる。</p> <p>注2：使用する予定の脳機能画像には、PET(陽電子断層画像)、fMRI(機能的磁気共鳴画像)、MRSI(磁気共鳴スペクトロミー)、NIRS(近赤外線分光法)などがある。</p>

「ストレス性精神障害の病態解明と診断・治療法の開発」の研究テーマ



「ストレス性精神障害の病態解明と診断・治療法の開発」の研究体制



第Ⅰ期研究における所用経費

「ストレス性脳機能障害とその修復過程の分子機構解明及び治療法の開発」

研究項目	担当機関等	研究 担当者	所要経費 (単位:千円)			
			H12	H13	H14	第Ⅰ期計
ストレス性脳機能障害とその修復過程の分子機構解明及び治療法の開発			179,973	193,415	240,737	614,125
1 ストレス脆弱性および ストレス応答関連遺伝子の研究グループ			45,811	45,383	48,503	139,697
(1) ストレス性精神障害の発症および 再燃の分子機構の解明	東京医科歯科大学 大学院 歯学総合研究科	西川 徹	15,239	15,263	16,000	46,502
(2) ストレス脆弱性に関連する遺伝子の探索 に関する研究	東京大学医学部 (保健センター)	佐々木司	10,232	9,005	9,003	28,240
(3) ストレス関連遺伝子のクローニング	広島大学医学部	森信 繁	5,040	5,615	8,000	18,655
(4) ストレス性精神障害モデル動物の開発と 新たな予防・治療法確立に関する研究	厚生労働省 国立精神・神経センタ	和田圭司	15,300	15,500	15,500	46,300
2 環境(ストレス応答)グループ			81,602	60,400	103,730	245,732
(1) ストレスに伴うステロイド受容体の 核内移行と神経機能調節に関する研究	京都府立医科大学	河田光博	13,000	13,966	18,000	44,966
(2) Cre/loxP法を用いた外傷後ストレス障害の 分子病態の研究	滋賀医科大学 医学部	増井 晃	12,040	10,028	9,079	31,147
(3) 精神神経免疫学的アプローチによる情動ストレス と関係する海馬細胞内分子カスケードおよび 神経細胞の死と再生のメカニズムの研究	山梨医科大学医学部	神庭重信	10,706	11,143	15,000	36,849
(4) ストレス脆弱モデル動物におけるストレス反応変化 の生理学的基盤に関する研究	東京大学医学部	綱島浩一	36,855	15,994	49,632	102,481
(5) 体内時計の内的脱同調による睡眠覚醒リズム障 害の発生機序と動物モデルを用いた睡眠覚醒リ ズム障害の発現機序に関する研究	北海道大学 医学研究科	本間研一	9,001	9,269	12,019	30,289
3 臨床(診断と治療)に関する研究グループ			46,425	79,636	79,104	205,165
(1) 外傷後ストレス障害のfMRIによる脳画像診断 法の研究	財 東 京 都 精神医学総合研究所	飛鳥井望	5,093	5,157	7,018	17,268
(2) ストレス性脳機能障害とその修復過程の分子 機構解明および治療法の開発	厚生労働省 国立がんセンター 研究所支所	内富庸介	5,173	6,069	9,000	20,242
(3) 非侵襲的脳計測法による ストレス性精神障害の脳機能の研究	東京大学医学部	笠井清登 (岩波)	10,745	37,201	20,505	68,451
(4) ストレス性精神障害における認知神経心理学 的研究	大阪大学医学部	武田雅俊	8,344	7,624	8,015	23,983
(5) 動物 PET 等を用いたストレス性精神障害にお ける脳機能障害の解明と治療薬開発	藤沢薬品工業(株) 開発本部	吉田啓造	17,070	18,085	24,566	59,721
(6) ストレス性精神障害におけるヒト脳の組織病 理学的研究	信州大学医学部	天野直二	0	5,500	10,000	15,500
4 研究課題の推進	東京大学医学部	加藤進昌	6,135	7,996	9,400	23,531

成果の概要

課題名（研究代表者）：ストレス性脳機能障害とその修復過程の分子機構解明
および治療法の開発（研究代表者：加藤進昌）

【研究成果の概要】

1. 遺伝（ストレス脆弱性）グループ

遺伝グループの目標は、ストレス脆弱性遺伝子を、1) ストレス脆弱性動物の海馬等での発現変化と、2) ヒトを対象に脆弱性指標や症状との関連から、探索・発見することである。また3) ストレス性障害モデル動物確立を目標に、神経ペプチド受容体遺伝子欠損マウス等の有用性についても検討した。

ストレス脆弱性動物モデルのうち FG7142 による急性ストレスモデルとメタンフェタミン（MAP）逆耐性によるストレス脆弱性モデルでは、まず成熟期と幼弱期（＝ストレス低反応期）の FG7142 負荷後 c-fos 発現の違いから大脳新皮質のストレス応答での重要性を示した。その上で、大脳新皮質での発現が加齢性に変化する遺伝子を探索した。FG7142 投与では3つの遺伝子を検出、機能解析とヒトでの相同遺伝子解析を行った。MAP 投与では、逆耐性が成立し始める3週齢以後に発現変化する新規遺伝子 *mrt1* を発見、D1 拮抗薬の拮抗作用などから逆耐性現象、ひいてはストレス脆弱性と関連する遺伝子と考えられた。

母子分離ラットでは、成熟期急性拘束ストレスにより海馬で JNK-2 (c-Jun N-terminal kinase-2), GRP94 等の発現低下、vimentin, ribosomal protein 発現の亢進が観察された。JNK-2 系の発現低下は蛋白レベルでも確認された。過密ストレスでは、体重変化からストレス脆弱（⇔抵抗性）ラットを選び、海馬での発現が脆弱性と関連する遺伝子を探索、PEBP-2 の α -subunit, heat shock 90-kDa protein, cellular glutathione peroxidase1 が有力候補として見出された。

ヒト・ゲノムでの研究では、健常者 330 例を収集、neuroticism, trait-anxietyなどをストレス脆弱性の指標にモノアミン、CCK、CRH など数十の候補遺伝子多型を検討した。多因子を考慮した多変量解析で、MAOA の promoter 領域と DRD4 の VNTR (いずれも高機能性多型) が一貫して関連を示した。モノアミン阻害薬やドーパミン D4 特異的薬剤のストレス性障害への利用可能性と開発意義を示唆する結果だが、現在収集中の健常第2群で確認予定である。なお MAOA 多型は虐待と非行との関連への影響が指摘される重要な遺伝子多型である。症状との関連では、地下鉄サリン事件被害者で、PTSD とコリンエステラーゼ長期低下との関連が示唆された。現在統計処理に必要な対象数確保を目指すとともに社会的意義も視点に、在日日系ブラジル人、少年鑑別所入所者の調査を開始している。

神経ペプチド受容体欠損マウスのうち、ガストリン放出受容体欠損マウスとニューロメジン B 受容体欠損マウスではストレス負荷でパニック様行動変化と育児放棄（軽度負荷でも出現）が観察され、ポンペシン関連ペプチド（&受容体）系のストレス反応性制御・脆弱性との関連が示唆された。ニューロテンシン受容体欠損マウスではストレス負荷で自発活動性低下が観察された。ガストリン放出ペプチドによるストレス性記憶障害改善効果、ニューロメジン B 受容体・ニューロテンシン受容体によるセロトニン・ドーパミン系制御の可能性が認められ、これらの受容体の新規創薬の標的としての可能性が示唆された。

2. 環境（ストレス応答）グループ

このグループの研究では、様々な環境変化に対する生体のストレス応答を中心に、ストレスが生体に及ぼす変化を科学的に実証してその分子メカニズムを明らかにし、その知見を基盤としてストレス性脳機能障害に対する治療薬候補の発見を目的としている。

ストレスによる海馬グルココルチコイド受容体の動態について、GFP と蛍光標識タンパク遺伝子の導入に

よるリアルタイムイメージングの手法によって、核への移行には微小官による輸送は関与していないことと、核内輸送には HSP90 が関わっていることが明らかとなった。また、グルココルチコイド受容体 (GR) とミネラルコルチコイド受容体 (MR) の核内移行はリガンドに対する親和性の差によって変化し、生理的状态では MR が先に核に移行することが発見された。核内で GR/MR が転写を行う際のメカニズムについては、クロマチンのリモデリングに参与する Brg1 分子の存在が必須であることも明らかとなった。さらに興味ある所見として、コルチコステロイドの量的変動に対応して海馬各領域の樹状突起の形態が変化することも見いだされ、原因として GR/MR の核内動態の差によることが示された。これらの結果は既に J. Biol. Chem や J. Neurosci などの一流雑誌上に掲載されている。

環境刺激による生体反応については、footshock を用いた不快刺激によって、海馬 CA1 領域の pCREB 陽性細胞と歯状回の BrdU 陽性細胞は増加し、強い刺激のストレスによって海馬神経細胞の可塑性が変化することが分かった。神経細胞新生と養育環境については、ハンドリングによっても有意に神経細胞新生が増加することが認められ、養育環境によって神経細胞新生に差がある可能性が示された。これらは今後のストレス性障害、特に PTSD の機序を検討する上で価値のある所見と言える。扁桃体ではこれまでの可塑性マーカーでは変化が見られないため、拘束ストレス後のラットについて DNA マイクロアレイを用いて解析を行い、新たに grp78、MAL、EAR-3 の三つの遺伝子の増加を見いだした。

慢性ストレスによる睡眠覚醒リズム障害の機序の解明について、ヒトを対象に閉鎖環境実験を行い、生体リズムの内的脱同調を誘発する低照度環境や主観的夜の高照度光が抽出された。動物モデルでは、MAP 慢性投与ラットで睡眠脳波の分断化や HPA-axis の活性低下など PTSD との類似性が認められ、これらが PTSD のモデル動物となりうることが示された。一方、近年話題となっている時計遺伝子に関して、幼弱ラットのストレス反応に海馬で発現する時計遺伝子 (Per1、Per2) が関与することを示したが、さらに海馬 CA1 領域に特異的に発現する新規時計遺伝子 (DEC1) が発見され、ストレスによる生体リズムの脱同調の分子機構解明に重要な知見を提供した。この新たな時計遺伝子の発見については、現在 Nature に受理され発表を待っている状況である。

海馬傷害のメカニズムについて、TMT を用いた海馬傷害モデルでは、HPA-axis の変化によるグルココルチコイド受容体刺激によって細胞傷害発現の程度が変化し、そのサイトカインの活性化による免疫反応の亢進が傷害の発現には重要であることが見いだされた。さらに TMT の海馬傷害メカニズムでは、新たな神経幹細胞マーカーである MDPY-19 を用いることで、神経幹細胞の分裂または progenitor 細胞が可逆的に幹細胞に変化する可能性を示した。また、ストレスモデルでは生理学的手法を用い、CA1 領域の LTP と LTD の測定によって、ストレスに対する反応としては新たな知見であるシナプス可塑性の二相性変化が認められた。

以上の知見を基とした治療薬についての検討は、生薬である Ginseng と免疫抑制剤の FK506 を用いて行われた。抗ストレス作用が有ると言われる Ginseng は、増殖した神経細胞の生存率を上昇させる作用が判明した。免疫抑制剤の FK506 の投与では、海馬傷害モデルにおけるアポトーシスの減少やストレスモデルにおける LTP の回復が見られた。これらの結果は Ginseng や FK506 が今後ストレスによる精神神経障害の新たな治療薬のひとつとなりうる可能性を示しており、特に Ginseng については現在ストレス性精神障害治療薬としての特許申請準備中である。FK506 ではマイクロアレイを用いてその作用機序の解析を行っている。

3. 臨床 (診断と治療) グループ

この研究グループでは、これまで科学的指標の乏しかったストレス性精神障害に対する脳病態の解明と客観的な脳機能検査法を確立し、治療に対する新たなアプローチを見いだすことを目標としている。

MRI によるストレス精神障害の脳形態の研究では、地下鉄サリン事件の被害者を対象とした研究で、全脳や前部帯状回での体積減少を認めた。また、ガン患者を対象とした研究で、ガンに対する侵襲的な想起の強

い患者群では左の海馬体積、扁桃体体積が有意に減少していた。術後三年群では神経症的な傾向の強まるほど海馬体積が小さくなる傾向が認められた。これら脳形態の変化が後天的な変化であるか否かについては、現在患者群のフォローアップを続けているところである。

脳機能画像では、非侵襲的脳計測システムである NIRS による研究が行われ、地下鉄サリン事件の被害者を対象としたトラウマに関する映像の提示で、PTSD 患者群では前頭葉の血流増加が認められた。これと同様に、他の地下鉄サリン事件の被害者を対象にした fMRI の研究では、トラウマ関連画像刺激によって PTSD 群では両側内側面の補助運動野と小脳で賦活が認められた。小脳は認知感情の高次脳機能にも関与していることが最近明らかにされつつあり、小脳と補助運動野を結ぶ神経ネットワークが PTSD 症状の出現に一定の役割を果たしている可能性が指摘された。

PET を用いた研究では、解離性記憶障害の患者群において外傷体験を想起させる視覚刺激を与えることで、帯状回脳梁膨大後方領域と右前頭前野の血流低下が認められた。解離性記憶障害患者では、情動やエピソード想起に関わる領域の機能抑制があり、それが健忘症状につながる可能性が示された。また、PTSD 患者では、逆に帯状回脳梁膨大後方領域が賦活されたが、その後の刺激の反復によってその部分の賦活が消失した代わりに、視覚情報の概念化を担うとされる視覚連合野の賦活が認められた。

以上の所見はストレス性精神障害の脳構造・脳機能の異常を初めて明らかにした所見であり、今後の客観的診断法の開発に道を開く可能性がある。

ヒト脳の組織病理学的研究では、過大なストレスに暴露されたと推察される症例における法医剖検脳を対象として行い、アストロサイトの増生は特に CA4 で高度であり、電顕画像では変性したミトコンドリアや錐体細胞周囲の神経終末部の膨張が観察され、ストレス暴露がこの領域の神経線維に形態学的変化を生じさせるという従来の動物実験の報告との類似性が認められた。

ストレス性障害の診断には今後極めて重要になると考えられるグルココルチコイド受容体の PET 画像のために、¹⁸F-dexamethasone の合成の検討を行い、フッ素化に用いる前駆体 3 化合物を合成した。さらに基礎的なデータを収集するための動物を用いた PET 研究を進める目的で、ラット脳 ex vivo オートラジオグラフィ法で、解剖学的に十分な解像度を得ることができた。サルにおいても、3DSSP ソフトを新たに開発し、脳画像の定量的測定が可能となっている。

現在の新たな治療に関するアプローチについては、脳機能画像から得られた知見を基に、出来事の想起や情動に関連する脳領域に対する抑制的および刺激的な経頭蓋磁気刺激法 (TMS) について、健常者において検討を行っているところである。また、経験的に有効性が示されている眼球運動による脱感作と再処理法 (EMDR) について、その機序に関する NIRS、fMRI などの脳機能画像を検討も合わせて行っており、その結果によって新たな治療法の発見への道筋を開く可能性が期待される。

研究成果公表等の状況

課題名（研究代表者）：ストレス性脳機能障害とその修復過程の分子機構解明及び治療法の開発（加藤進昌）

【研究成果発表等】

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	10 件 (1)	111 件 (6)	296 件	417 件 (7)
国外	130 件 (29)	11 件	79 件	220 件 (29)
合計	140 件 (30)	122 件 (6)	375 件	637 件 (36)

（注：既発表論文について記載し、投稿中の論文については括弧書きで記載のこと）

【特許出願等】 3件 （国内 3件、国外 件）

1) 特許番号：特願2002-189547

発明の名称：流体移送装置

発明者：西村伸太郎 矢嶋一賀

出願人：藤沢薬品工業株式会社

出願年月日：平成14年6月28日

2) 申請中

発明の名称：機能的MRIによるPTSDの客観的診断法

発明者：坂本英史・福田倫明・奥秋知幸

3) 申請中

発明の名称：朝鮮人参の神経保護作用

発明者：神庭重信、工藤耕太郎

【受賞等】 2件 （国内 1件、国外1件）

国際Human Brain Mapping学会Travel Award（平成14年6月） 東京大 坂本英史

更井賞（平成13年12月）国立がんセンター 内富庸介

【主要雑誌への研究成果発表】

Impact factor 15以上の雑誌

Journal	Impact Factor	(1) 遺伝	(2) 環境	(3) 臨床	論文数 合計	Impact Factor 合計
Nature	29.49		1		1	29.49
小合計			1		1	29.49

Impact factor 7-15の雑誌

Journal	Impact Factor	(1) 遺伝	(2) 環境	(3) 臨床	論文数 合計	Impact Factor 合計
J Neurosci	8.96		2		2	17.92
Nature Neurosci	8.86		1		1	8.86
J Clin Oncol	8.77			2	2	17.54
Mol Psychiatry	7.94	3	1		4	31.76
J Biol Chem	7.67		1		1	7.67
Mol Endocrinol	7.57		2		2	15.14
小合計		3	7	2	12	98.89

Impact factor 3-7の雑誌

Journal	Impact Factor	(1) 遺伝	(2) 環境	(3) 臨床	論文数 合計	Impact Factor 合計
Am J Psychiatry	6.34			3	3	19.02
Mol Pharmacol	5.65	1			1	5.65
J Neurochem	4.91	1			1	4.91
Biol Psychiatry	4.27	1		1	2	8.54
Neuroscience	3.92		3		3	11.76
Eur J Neurosci	3.90		7		7	27.3

FEBS Lett	3.72	1			1	3.72
J Biol Rhythm	3.70		1		1	3.70
Cancer	3.63			5	5	18.15
Exp Neurol	3.26		2		2	6.52
Synapse	3.25	3	1		4	13.0
Biochem Biophysiol Res Com	3.16	2	1		3	9.48
Prostate	3.07		1		1	3.07
Psychophysiology	3.01			1	1	3.01
小合計		9	16	10	35	137.83

雑誌のImpact factorの総計

Journal	(1) 遺伝	(2) 環境	(3) 臨床	論文数 合計	Impact Factor 合計
Impact factor 15以上		1		1	29.49
Impact factor 7-15	3	7	2	12	98.89
Impact factor 3-7	9	16	10	35	137.83
Impact factor 3以下	18	36	28	82	138.11
合計	30	60	40	130	404.32