

ラットのストレスレジリエンスの個体差に関する行動学的研究

平成 30 年度

上野 将玄

筑波大学大学院 人間総合科学研究科 感性認知脳科学専攻

強いストレスやトラウマイベントへの暴露は、後の不適応や病的状態を引き起こしうる。しかしながら、トラウマに暴露された人々のすべてが精神障害の発症や長期的な不適応を示すわけではない。これは、ストレスに対する回復力や抵抗性、すなわちレジリエンスに個人差が存在するためである。レジリエンスとは、もともと物理学で「跳ね返る、跳ね返す」という意味で使用されてきた用語であり、精神医学や心理学では、「病気に陥らせる困難な状況において病気の発症を跳ね返す復元力、回復力」を指し、主にストレスに暴露された人々に対して用いられる。動物研究においてもストレス反応の個体差は確認されており、近年では、実験動物を用いてレジリエンスのメカニズムを探る検討がなされている。

本論文では、レジリエンスの個体内要因に注目し、恐怖条件づけの消去をレジリエンスの行動学的指標として用いることで、ラットにおいてレジリエンスに関わる個体行動特性を検討している。ラットにおける恐怖条件づけとその消去には個体差が存在することが先行研究により示されており、条件性恐怖反応の大きさと消去の速さは、それぞれ抵抗性と回復力という異なるレジリエンス特性を反映すると推測されている。本研究では、消去の個体差に基づいてラットを分類し、消去の速いレジリエント群、消去の遅い脆弱群という二群に注目して、再認記憶、嗜癖、不安、うつ、加齢、強迫性といった要因について多面的に検討した。

本論文ではまず、恐怖条件づけの消去の個体差が再現できるかどうかの基礎的検討を実施した。個体差を検出するために、Bush et al. (2007)で用いられた、消去時のフリージング率に基づく分類法に加えて、非階層クラスター分析を実施した。実験1では成体 Wistar-Imamichi 系雄ラットを用いて条件づけ1試行（音（条件刺激：CS）とフットショック（無条件刺激：US）の対提示を7回）、消去1試行（5回のCS単独提示）のスケジュールで恐怖条件づけの消去を実施した。条件性恐怖反応の指標としてCS提示中のフリージング率を計測した。フリージングは呼吸以外の無動が5秒以上持続する状態と定義した。2回のCS提示中のフリージング率における中央値を基準に、消去の速いレジリエント群、消

去の遅い脆弱群という二群にラットを分類した。結果として、3回目と4回目のCS提示中フリージング率に基づく分類法が最も明確に群間差が検出された。分析の結果、初回を除くすべてのCS中フリージング率において群間に有意差がみられ、レジリエント群は脆弱群よりも有意に低いフリージング率を示した。これらの結果は、1日の消去試行においても個体差が検出できることを示している。しかしながら、1試行の消去では条件性恐怖反応が十分に消去されていない可能性があり、より長い消去試行を用いる必要があると考えられた。そこで実験2では1日1試行の消去試行を3日間連続して実施した。また先行研究を参考にして、群の分類基準を上位下位30%と改めた。消去試行1日目、2日目、3日目、それぞれを基準とした分類と非階層クラスター分析による分類を行った。結果として、2日目を基準とした分類と3日目を基準とした分類で消去の個体差を検出できたと判断した。先行研究を参考に、今後の実験では、試行最後の成績から分類する手法として試行3日目の分類を採用することとした。3日目の平均フリージング率を基準として下位30%をレジリエント群、上位30%を脆弱群、残りの40%を中間群として分類した結果、消去の速いレジリエント群、消去の遅い脆弱群、中間的な消去を示す中間群と、消去の推移に異なる傾向が存在し、本実験の手続きがそれを検出できたことが示された。また、試行1日目でレジリエント群は他2群よりもフリージング率が有意に低かった。これは消去の差を示唆するとともに、レジリエント群では条件性恐怖反応の発現程度が相対的に低いことを示唆している。

恐怖条件づけには情動記憶の評価手法という側面があり、その行動学的個体差がレジリエンス特性にのみ基づいているとは限らない。学習機能や記憶能力もまた恐怖条件づけの成績に影響していると考えられる。よって実験3で、実験1と2で確認された消去の個体差が、学習・記憶の能力と関連しているかどうか検討した。自発的位置再認課題と自発的物体再認課題を用いてレジリエント群、中間群、脆弱群の成績を比較したところ、位置再認課題、物体再認課題ともに、レジリエント群は新奇な位置または物体を、既知のものと弁別できていることが示された。中間群および脆弱群においては、課題遂行が確認できなかった。レ

レジリエント群と脆弱群の結果は恐怖条件づけに関する個体差が、学習記憶能力に影響を受けている可能性を裏付ける。中間的な消去を示す中間群が再認課題を遂行できないという結果は、消去試行の成績にみられる個体差が、純粋な再認記憶能力の他に新奇環境暴露に対する反応性や不安特性などに影響されていることを示唆している。実験3の結果から、恐怖条件づけの消去の個体差、すなわちストレスレジリエンスの個体差は、学習記憶能力に影響は受けるものの、依存するわけではないことが示された。

実験4においては、不安をはじめとする一般的な疾患モデルで扱われるような行動特徴との関連を調べた。実験4では恐怖条件づけにおいてレジリエントな（消去の速い）ラットが他の行動的表現型（薬物依存、うつ、不安、活動性）においてもレジリエンスと解釈される行動を示すかどうか検討することを目的とした。オープンフィールドテスト、覚せい剤による条件性場所選好テスト、強制水泳テストを用いた。結果として、オープンフィールドテストと強制水泳テストに関してレジリエント群、中間群、脆弱群に差はみられなかった。これは、不安とうつに関してレジリエンスの個体差が関連しないことを示唆しており、先行研究を支持する結果であった。一方で、条件性場所選好テストにおける消去率について、脆弱群よりもレジリエント群の方が高い傾向がみられた。これはストレスに対するレジリエンスと薬物依存に対するレジリエンスが関連する可能性を示す初めての成果である。

実験5では、さらにレジリエンスとうつ様行動との関連を調べるために、代表的なうつ様行動測定試験である強制水泳テストおよびスクロース選好テストと恐怖条件づけを実施した。結果として、レジリエント群、中間群、脆弱群について、うつ様行動における群間差はみられなかった。実験5で測定されたうつ様行動は個体が持つベースレベルの行動特性を反映していると考えられる。今後の課題として、うつ病動物モデルを用いた検討をすることで、うつ病とレジリエンスの関係についてさらなる知見が得られるだろう。

実験6においては、実験4で検討された不安関連行動について高架式十字迷路を用いることでさらなる検討を加え、かつ強迫性障害の行動モデルとされる

ビー玉覆い隠しテストを用いて強迫様行動とレジリエンスとの関連を検討した。実験6では、レジリエンスに影響する要因として、若齢ラット（9週齢）と成体ラット（24-25週齢）を用いて週齢の影響（加齢要因）の検討も行なった。結果として、若齢群でも成体群においても消去は観察されたが、成体群は消去を観察するためにより多くの日数が必要であり、若齢群よりも消去の速度が遅いことが示唆された。また分類後、脆弱成体群では3日間の消去試行を経てもフリージング率の有意な低下が確認されなかった。この結果は、脆弱な個体では加齢によって消去能力が損なわれる、すなわち回復力が低下することを示唆する。試行1日目の分析結果として、レジリエント成体群のみ、初期2回のCS提示に対する条件性恐怖反応が有意に低かった。この結果は、レジリエントな個体では、加齢によって恐怖発現が低下する、すなわちストレスへの抵抗性が高まる可能性が示している。これらの結果から、加齢は2つのレジリエンス機能について異なる影響を及ぼし、またその影響には個体差が存在することが示唆された。高架式十字迷路における不安関連行動は恐怖消去の個体差との関連がみられず、また加齢の要因も関与しないことが示された。ビー玉覆い隠しテストにおける強迫様行動について、脆弱成体群はレジリエント成体群および脆弱若齢群よりもビー玉を覆い隠した数が有意に少なかった、すなわち強迫性が低いことが示された。実験6では、強迫性とレジリエンスの関係は若齢群ではみられず、成体群でのみ観察された。この結果は、レジリエンスと強迫性の個体差についての関係が加齢を媒介して生じることを示唆している。

結果をまとめると、レジリエンス行動表現型とは次のような性質があることを推測させる。個体のレジリエンスは、ベースレベルの活動性や不安やうつとの程度とは関係なく、薬物依存の回復力、位置や物体に対する再認記憶機能と関連している。また加齢はレジリエンスの二側面に対して個体ごとに異なる影響をもたらす。そしてレジリエンスの低い個体のみ、加齢によって強迫性が低下する。本研究の結果、特定の状況におけるラットのストレスレジリエンスの個体行動特性が明らかとなった。本研究において、不安関連行動に関する結果は先行研究を支持するものであり、さらに学習・記憶、薬物依存、加齢と強迫性といういく

つかの分野で新規な知見を示すことができた。本研究は動物におけるストレス反応性, 脆弱性, レジリエンスに関する研究の中でも数少ない行動学的個体差について幅広く扱った研究として位置づけられる。今後, 個体のレジリエンスに関する脳内基盤を探るにあたり, 本研究はその基礎として貢献するだろう。