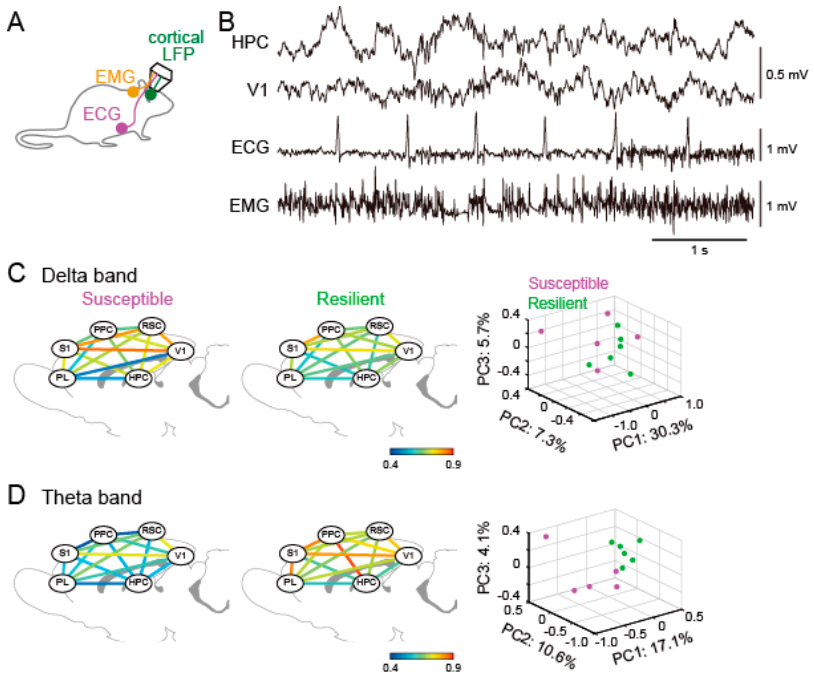
195　生体信号ビックデータによる全身ストレス応答の理解	佐々木　拓哉

【目的】動物は強いストレスを受けると、脳や末梢臓器の機能不調が生じる。本研究では、分子や細胞レベルの知見と、個体レベルの知見を繋ぐような各臓器の生理学変化に着目した。また、ストレス応答においては、個体に同じようなストレスが与えられても、強い反応を示す個体（ストレス感受性群）と、ほとんど反応を示さない個体（ストレス耐性群）に分類される。こうしたストレス応答の個体差は、脳の情報処理（情動反応やストレス記憶など）の個体差に起因すると考えられる。本研究では、ラットを用いて、社会的敗北ストレス負荷によって全身の臓器に生じる生理学的な変化を定量し、その個体差を多数の脳波パターンから説明できるか調べた。近年、ビックデータ解析の必要性が高まる中、複数の要素を含む同時記録データに対して、機械学習や多変量解析を適用した前例がほとんどないストレス研究である。

【方法】ラットにおいて、大脳新皮質の 6 つの脳領域（PL（前頭前皮質）、S1（第一次体性感覚皮質）、HPC（海馬）、PPC （頭頂皮質）、RSC（脳梁膨大後部皮質）、V1（第一次視覚皮質））に脳波測定用電極を刺入し、さらに、ECG（心電図）、EMG（筋電図）、呼吸リズムを同時に測定した。

【結果】ラットに社会的敗北ストレスを負荷するために、対象ラットと攻撃用ラットを同じテスト箱に入れ、10 分間の社会的敗北ストレスを与えた。ストレス負荷後にストレス負荷前よりも不整脈の発生頻度が上昇した 7 匹のラットをストレス感受性群、変化しなかった 12 匹のラットをストレス耐性群と分類した。こうしたストレス誘発性の心拍動変化が、大脳皮質脳波と関連するか調べるために、ストレス負荷前の各脳領域の脳波パワー（デルタ帯（1〜4 Hz）、シータ帯（6〜10 Hz）、ガンマ帯（40〜100 Hz））の相関を算出した。描いた相関マップについて、ストレス感受性群と抵抗性群の差を比較したところ、デルタ帯とシータ帯の脳波パワーにおいて有意な差が検出された。これらの結果は、ストレス負荷前に、デルタ帯の相関が低く、シータ帯の相関が強いラットほど、ストレスに対して抵抗性を示すことを証明している。さらに、同様のデータセットに主成分分析と、判別分析であるサポートベクターマシーンを連鎖的に適用し、二つの動物群が脳波パターンから分類可能であることを確認した。本研究は、ストレス経験に関連する脳情報処理と、末梢臓器反応の同調変化の関連の一端を明らかにした一例であり、今後、多くの精神疾患研究において、同様の研究パラダイムを適用することが可能である。

ラット大脳皮質脳波の大規模データに基づいたストレス感受性の予測



195. 生体信号ビックデータによる全身ストレス応答の理解

佐々木　拓哉

東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室

Key words：社会ストレス，脳波，心電図，中枢末梢連環

緒　言

動物は強いストレスを受けると、脳や末梢臓器の機能不調が生じる。これまでの研究では、分子や細胞メカニズムに焦点を当てて、ストレス応答の実態が調べられてきた。一方で、個体の行動観察の結果から、ストレス応答による不安様行動やうつ様行動の誘発が調べられてきた。しかし、その間を繋ぐような生理学的研究として、分子や細胞の総体である臓器そのものがどのように働き、個体レベルの応答に結びつくか、という課題はほとんど調べられてこなかった。

もう 1 点、ストレス応答を考察する上で重要なのは個体差である。すなわち、個体に同じようなストレスが与えられても、強い反応を示す個体（ストレス感受性群）と、ほとんど反応を示さない個体（ストレス耐性群）に分類される。特に精神的なストレス応答を扱う上では、脳の情報処理（情動反応やストレス記憶など）の個体差を考える必要があるといえる。このような考え方をサポートする知見として、近年、脳の基底活動状態が、ストレス誘発性の行動異常と関連があることが報告されている［1，2］。特に、マウスを用いた研究では、複数脳領域の脳波パターンを解析することで、ストレス応答の個体差を予測できることが示されている。こういった先行研究を踏まえて、本研究では、ラットを用いて、社会的敗北ストレス負荷によってラットの様々な末梢臓器に生じる生理学的な変化を定量し、その変化の個体差を多数の脳波パターンから説明できるか調べた。近年、ビックデータ解析の必要性が高まる中、複数の要素を含む同時記録データに対して、機械学習や多変量解析を適用した前例がほとんどない研究である。

方　法

1.　脳および末梢臓器活動を反映した生体電気信号の計測

ラット（Long Evans、10～12 週齢、300～400 g）において、大脳新皮質の 6 つの脳領域（PL （前頭前皮質）、S1（第一次体性感覚皮質）、HPC（海馬）、PPC（頭頂皮質）、RSC（脳梁膨大後部皮質）、V1（第一次視覚皮質））に脳波測定用電極を刺入した。さらに、ECG（心電図）計測用の電極を腹部皮下に、EMG（筋電図）計測用の電極を頸背部皮下に、呼吸リズム測定用の電極を嗅球に埋入し、各臓器由来の電気生理信号を同時計測した（図 1A～C）［3］。電極を埋め込む手術を行った後、1 週間以上経過してから以下のストレス負荷を行った。

2.　社会的敗北ストレスの負荷

電極を埋め込んだラットに社会的敗北ストレスを負荷するために、あらかじめ攻撃性が高く、対象ラットより体格の大きい攻撃用ラットを用意した。ラットを最初に 30 分間休憩箱に置いた後、あらかじめ攻撃用ラットを入れたテスト箱に入れ、10 分間の社会的敗北ストレスを与えた。この間は、実験者は動物に何も刺激等を与えず、2 匹のラットに自由に相互作用させたが、想定通りすべての個体において、攻撃行動が観察された。その後再び休憩箱に戻し、2 時間生理信号の記録を行った。

結　果

1. 社会的敗北ストレス負荷により末梢臓器の不調は二群に分類される

1 匹のラットから脳波と末梢臓器の生体信号を記録し、社会的敗北ストレスを負荷した。本研究では、ストレス負荷の効果を検証する末梢生理信号の指標として、ECG と EMG の変化に特に着目した。従来の研究では、データのばらつきが大きい行動試験（社会相互作用試験や高架式十字迷路試験など）が用いられてきたが、本研究では、より頑強性の高い生理信号そのものに基づいてストレス応答を評価することできる点が特徴である。ECG においては、不整脈の発生頻度と心拍数変動を指標とした（図 1D～）。ラットでは、不整脈の中でも特に心室性期外収縮や房室ブロックがストレス経験後に生じることが知られている。そこで、ストレス後の休息中にストレス前の休息中よりも不整脈の発生頻度が上昇した 7 匹のラットをストレス感受性群、変化しなかった 12 匹のラットをストレス耐性群と分類した。本ストレスモデルのポイントは、このように同じストレス負荷を与えても、個体によってストレス感受性の違いが生み出される点にある。

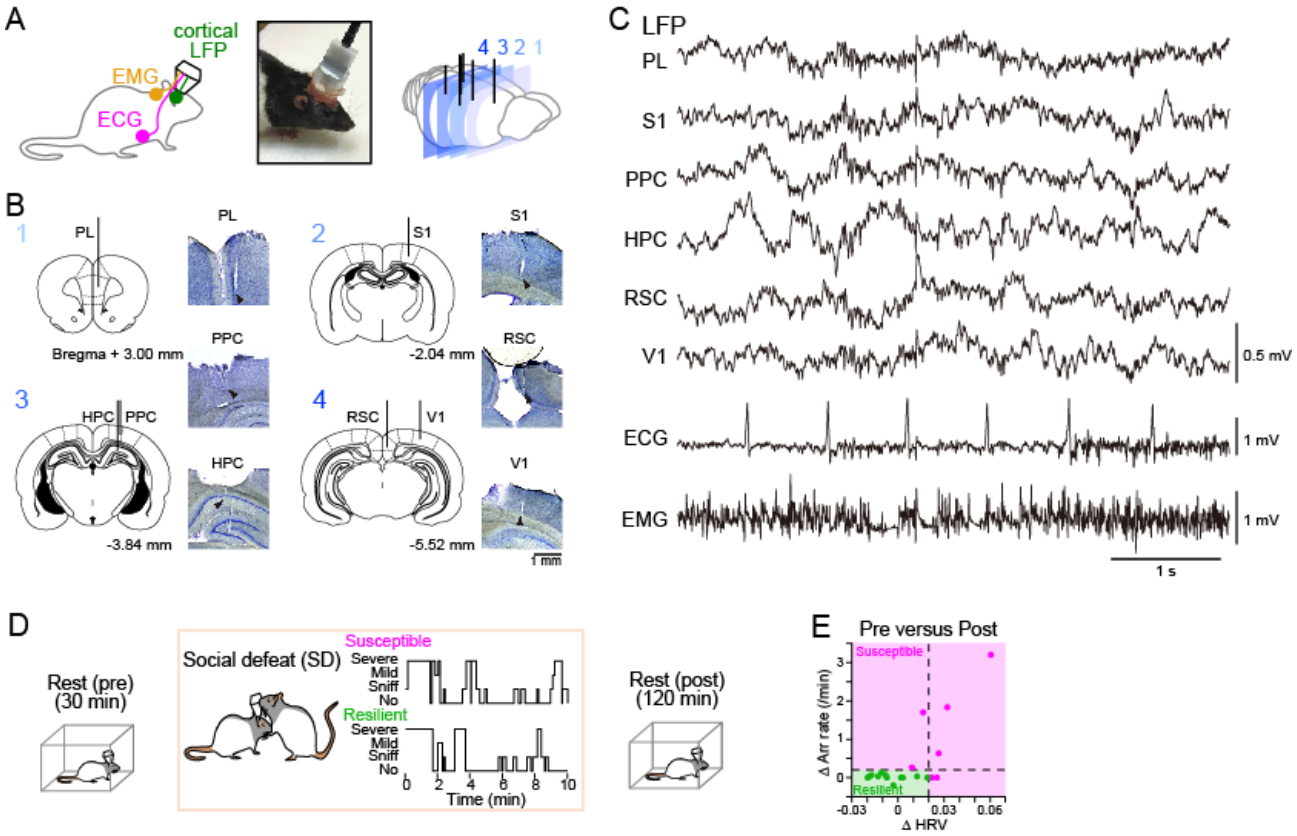


図 1. 実験の概要図

A) 1 匹のラットから ECG、EMG、脳波 LFP を同時計測した。右図は、脳の切片化の概要図。

B) 各脳スライス断面における計測脳領域の位置。それぞれ右のパネルが組織染色の写真であり、矢印で電極跡が確認できる。

C) 記録された生体電気信号の一例。

D) 実験パラダイム。社会的敗北ストレス（social defeat）の前後の生理活動を記録した。

E) ストレス負荷前後での心拍数変動（横軸）と不整脈頻度（縦軸）の変化。一定以上変化が見られた動物をストレス感受性群（susceptible）と分類し、その他を抵抗性群（resilient）と分類した。

2. ストレス感受性による脳波パターンの違い

こうしたストレス誘発性の心拍動変化が、大脳皮質脳波と関連するか調べるために、ストレス負荷前の各脳領域の脳波パワー（デルタ帯（1～4 Hz）、シータ帯（6～10 Hz）、ガンマ帯（40～100 Hz））の相関を算出した（全部で 15 ペア）（図 3）。こうして描いた相関マップについて、ストレス感受性群と抵抗性群の差を比較し、デルタ帯とシータ帯の脳波パワーにおいて有意な差が検出された。これらの結果は、ストレス負荷前に、デルタ帯の相関が低く、シータ帯の相関が強いラットほど、ストレスに対して抵抗性を示すことを証明している。さらに、同様のデータセットに主成分分析と、判別分析であるサポートベクターマシーンを連鎖的に適用した。誤った分類率は、各周波数帯で 9.1%、18.2%、18.2%であった。これは、ランダムレベルの 50%より非常に低い確率であり、脳波によるストレス感受性の分類が高い精度で可能であることを示している。

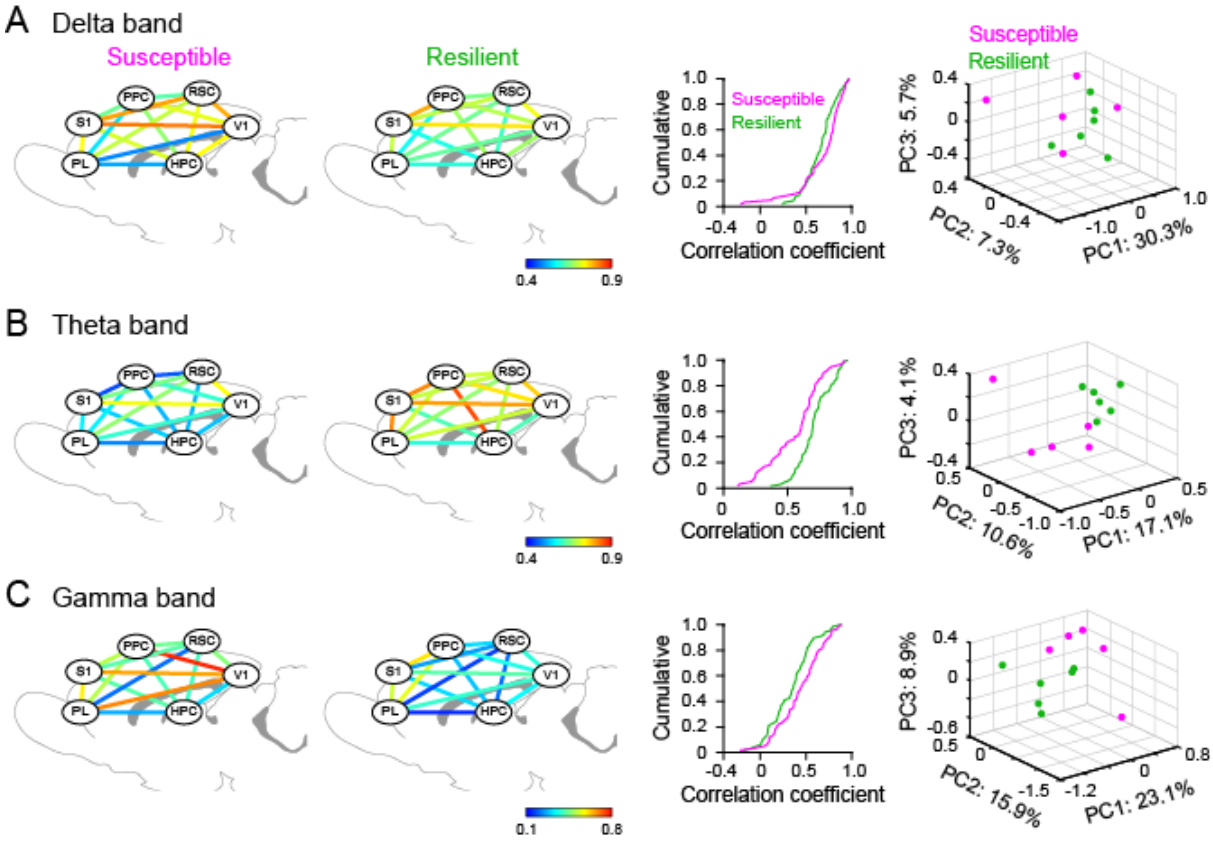


図 2. 脳領域間の脳波パワーの相関図に基づき、動物のストレス応答を予測

A) （左から右へ）ストレス感受性と抵抗性群について、デルタ周波数帯における脳領域間の相関（赤色ほど高い相関を表す）。すべての相関値の累積度数分布（コルモゴロフースミルノフ検定、p=0.019）。同データに主成分分析を適用し、第一から第三主成分までの値をプロットした。これをサポートベクターマシーンで分類し、cross-validation 法で分類制度を予測したところ、9.1%の欠損率であった。

B) 同解析をシータ周波数帯で行った。累積度数検定、p=0.0017。18.2%の欠損率であった。

C) 同解析をガンマ周波数帯で行った。累積度数検定、p=0.052。18.2%の欠損率であった。

考　察

以上、本研究では、ストレス負荷前の大脳皮質領域の神経活動から、社会的敗北ストレス負荷後の末梢臓器変調の度合いを予測できる可能性を示した。従来の研究では、精神的ストレス応答を論じる場合、分子機序と行動を繋ぐような神経生理動態は、ほとんど注目されてこなかった。本研究の意義は、こうした研究の間のギャップを埋めることにより、ストレス経験に関連する脳情報処理と、末梢臓器反応の同調変化の関連の一端を明らかにした点であると考える。今後、多くの精神疾患研究において、同様の研究パラダイムを適用することが可能であり、心因性由来の身体不調の発症機序と治療標的を検証するための１つの研究ツールになると期待される。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり、助成金を賜りました上原記念生命科学財団にお礼申し上げます。

文　献

1）　Hultman R et al. Brain-wide Electrical Spatiotemporal Dynamics Encode Depression Vulnerability. Cell. 2018 Mar 22;173(1):166-180. PMID: 29502969 DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.012

2）　Kumar S, Hultman R, Hughes D, Michel N, Katz BM, Dzirasa K. Prefrontal cortex reactivity underlies trait vulnerability to chronic social defeat stress. Nat. Commun. 2014 Jul 29;5:4537. PMID: 25072279 DOI: 10.1038/ncomms5537

3）　Sasaki T, Nishimura Y, Ikegaya Y. Simultaneous Recordings of Central and Peripheral Bioelectrical Signals in a Freely Moving Rodent. Biol. Pharm. Bull. 2017;40(5):711-715. PMID: 28458358 DOI: 10.1248/bpb.b17-00070.