

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10218

研究課題名(和文) 自閉症モデルマウスを用いて解明する聴覚性情動反応の調節機構

研究課題名(英文) Neural substrate for regulation of sound-evoked emotional responses in mice

研究代表者

竹本 誠 (Takemoto, Makoto)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・講師

研究者番号：20543408

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、音に対する情動反応調節の脳内機構を解明することであった。そのためにまず、二音弁別学習の実験系を構築し、音刺激の違いによって恐怖反応と安心行動という相反する情動反応のいずれかが誘発されることを明らかにした。この知見は、情動制御メカニズムの研究を進展させていく上で広く利用できる行動モデルとなり得るため、最終年度(2019年度)に論文発表を行った(Takemoto & Song, 2019, Lern Mem)。この実験系を用いて、自閉症スペクトラムのマウスモデルであるBTBR T+tf/Jマウスにおける弁別情動反応の異常を発見し学会発表を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築した実験系は、音に対する恐怖反応と安心行動という相反する情動反応を観察できる系であり、この行動モデルを利用した情動制御の脳内メカニズムの研究の進展が期待できる。本実験系を用いた恐怖/安心的情動制御機構の研究は、自閉症スペクトラム障害や統合失調症、うつ病、心的外傷後ストレス障害などの神経精神疾患に共通して見られる不安障害の病態解明および治療法の開発に重要な示唆を与え得る。

研究成果の概要(英文)：We aimed to reveal neural circuit mechanisms underlying regulation of sound-evoked emotional responses. We first established a paradigm of auditory discriminative fear conditioning in which mice learn to display either fear responses or safety responses, depending on the sound stimuli. This study provides a useful experimental system with a behavioral model for emotion regulation. We published a research article on this issue (Takemoto & Song, 2019, Lern Mem). Additionally, using this conditioning paradigm we found a fear generalization (i.e. an abnormal safety responses) in BTBR T+tf/J mice, a mouse model of autism spectrum disorders. We made a poster presentation on this finding in the 40th annual meeting of the Japan Neuroscience Society (2017).

研究分野：神経科学

キーワード：弁別恐怖学習

1. 研究開始当初の背景

自閉症スペクトラム障害(自閉症)は、言語・感情・社会性など多様な脳機能障害を示す発達障害の一つであり、障害を持つ割合は世界人口の約 0.1-0.2%を占めているため世界的に注目されている。過剰な聴覚性恐怖反応は、よく見られる症例の一つであり、健常者では一時的な不快または低度の不快しか感じないような音(運動会でのピストルの音や掃除機の音など)に対して、過度の恐怖反応(または驚愕反応)を示すことが知られている。このことは、自閉症の脳において、音に対する情動反応の調節機構が損なわれている可能性を示唆している。

このような観点から、申請者は、聴覚性情動反応の調節に関わる神経機構を解明するために、自閉症モデルが有用であると考え、本計画において、自閉症モデルマウスとして広く知られている BTBR T+tf/J マウス(BTBR マウス)を用いて研究を行うこととした。BTBR マウスの聴覚神経系に関してはまだ先行研究が少なく未知な部分が多く残されているが、近年の Gogolla らの報告によると、大脳皮質聴覚野の垂領野の一つである島皮質聴覚領域(島聴覚野)が、音刺激に対して過剰な応答を示すことが明らかになっている(Gogolla et al., *Neuron* 2014)。したがって、この島聴覚野に特有の神経回路の活動亢進が聴覚性情動反応の異常を引き起こす可能性が考えられる。しかし、Gogolla の研究では麻酔下のマウスで実験を行っているため、島聴覚野の活動亢進によって覚醒下でどのような情動反応異常が生じるかについては不明であった。

我々はこれまでに、島聴覚野の神経回路に関する研究を行ってきた。これまでの研究で、島聴覚野が一次聴覚野など他の聴覚皮質領野と並列的に、聴覚系視床核からの独立入力経路を有することを明らかにした(Takemoto et al., *J Comp Neurol*, 2014)。このことは、島聴覚野が、音の高さや音源の位置の知覚に携わる一次聴覚野などとは異なる聴覚情報を処理していることを示唆している。さらに、島聴覚野からの出力経路として、島聴覚野の腹側に隣接する不全顆粒島皮質を介して扁桃体中心核へ連絡する神経回路の存在を明らかにした(日本神経科学大会、2015年7月)。この島聴覚野-扁桃体中心核回路は、これまでに恐怖学習との関連が報告されている聴覚視床および聴覚皮質から扁桃体外側核への聴覚経路とは異なる新奇のものである。扁桃体中心核は、外側核からの学習情報をもとに恐怖情動反応の大きさを決定する領域であると考えられる。そこで我々は、「島聴覚野-扁桃体中心核回路は、学習した音に対する恐怖情動反応の調節に寄与する」という仮説を立て、自閉症モデル BTBR マウスを用いてこれを検証しようと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、音に対する情動反応調節の脳内機構を解明することであった。そのために、上記の自閉症モデル BTBR マウスを用いて、BTBR マウスにおける聴覚性情動反応の障害を明らかにした上で、島聴覚野-扁桃体中心核回路の選択的な活動操作による BTBR マウスの聴覚性障害の克服、および C57BL/6J マウスでの障害の再現を行うことにより、この神経回路の聴覚性情動反応調節への寄与を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

まずマウスを用いて、音に対する情動反応を観察する行動実験系を構築し、その系を用いて BTBR マウスにおいて聴覚性情動反応の異常が見られるかどうかを調べることにした。

4. 研究成果

まず、音刺激の種類によって恐怖反応と安心行動という相反する情動反応のどちらかが誘発される学習課題(二音弁別恐怖学習)の行動実験系を構築した。2つの音刺激のランダム提示による恐怖 vs 安心の弁別行動はこれまで報告がなかった。12-kHz 純音とノイズ音を音刺激として、一方の音刺激(10秒間)の提示の終わり2秒間に軽度の電気ショックを足場の格子からマウス(C57BL/6)に与えた。3日間の訓練の結果、音刺激の無い時間帯における恐怖反応(フリーズング)の出現頻度の上昇とともに、電気ショックを伴う音刺激の提示によって恐怖反応の出現頻度がさらに上昇したのに対し、ショックの無いもう一方の音刺激の提示では恐怖反応の頻度が無音時間よりも低くなる安心行動が見られた(Takemoto & Song, 2019, *Learn Mem*)。さらにこの行動実験系を用いて、自閉症スペクトラムのマウスモデルである BTBR マウスの情動反応異常を発見し学会発表を行ったが、研究期間内での論文発表には至らなかった。

本研究で構築した行動実験系は、音に対する恐怖反応と安心行動という相反する情動反応を観察できる系であり、この行動モデルを利用した情動制御の脳内メカニズムの研究の進展が期待できる。本実験系を用いた恐怖/安心の情動制御機構の研究は、自閉症スペクトラム障害や統合失調症、うつ病、心的外傷後ストレス障害などの神経精神疾患に共通して見

られる不安障害の病態解明および治療法の開発に重要な示唆を与え得る。

<引用文献>

Gogolla N, Takesian AE, Feng G, Fagiolini M, Hensch TK (2014). Sensory integration in mouse insular cortex reflects GABA circuit maturation. *Neuron* 83: 894-905.

Takemoto M, Hasegawa K, Nishimura M, Song WJ (2014). The insular auditory field receives input from the lemniscal subdivision of the auditory thalamus in mice. *J Comp Neurol* 522(6): 1373–1389.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Meikui Wu, Makoto Takemoto, Huan Luo, Jian-Jun Xu, Mei-Hong Lu, Masaki Kameyama, Toru Takumi, Wen-Jie Song | 4. 巻 824 |
| 2. 論文標題 A novel role of the antitumor agent tricyclodecan-9-yl-xanthogenate as an open channel blocker of KCNQ1/KCNE1 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology | 6. 最初と最後の頁 99-107 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2018.02.013 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Masataka Nishimura, Makoto Takemoto, Wen-Jie Song | 4. 巻 223(4) |
| 2. 論文標題 Organization of auditory areas in the superior temporal gyrus of marmoset monkeys revealed by real-time optical imaging | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Brain Structure and Function | 6. 最初と最後の頁 1599-1614 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00429-017-1574-0 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Cue-dependent safety and fear learning in a discriminative auditory fear conditioning paradigm in the mouse | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Learning & Memory | 6. 最初と最後の頁 284 ~ 290 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/lm.049577.119 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song |
| 2. 発表標題 Anatomical organization and laminar distribution of subcortical projection neurons in the mouse insular cortex |
| 3. 学会等名 第41回日本神経科学学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song |
| 2. 発表標題 Layer-specific subcortical circuits of the mouse insular cortex |
| 3. 学会等名 第5回生物音響学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song |
| 2. 発表標題 Anatomically-distinct neuronal subpopulations in layer 5 of insular cortex projecting to the extended amygdala in mice |
| 3. 学会等名 Gordon Research Conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song |
| 2. 発表標題 Laminar distribution of anatomically distinct subpopulations of the mouse insular cortex neurons projecting to the central nucleus of the amygdala |
| 3. 学会等名 第41回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shiro Nakata, Makoto Takemoto, Wen-Jie Song |
| 2. 発表標題 Distinct projections from the primary and anterior auditory fields to motor and associative regions of the mouse neocortex |
| 3. 学会等名 第4回生物音響学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song |
| 2. 発表標題 The BTBR T+ tf/J mouse displays impaired safety and enhanced fear learning in an auditory discriminative fear conditioning paradigm |
| 3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
| | | | |