

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10290

研究課題名(和文) 異性間の絆の神経基盤に基づいたPTSDの治療・予防戦略の構築

研究課題名(英文) A strategy of the treatment and prevention of PTSD constructed on the neuronal basis of pair bonding

研究代表者

三井 真一 (Mitsui, Shinichi)

群馬大学・大学院保健学研究科・教授

研究者番号：20295661

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：配偶者などとの異性間の絆(pair bond)が健康上に良い作用を与える事が知られている。今回、一夫一婦制を示すプレーリーハタネズミを用いて、メスとpair bondしたオスでは恐怖記憶の減弱作用が生じることを明らかにした。Pair bondしたオスでは室傍核のオキシトシン免疫染色性が増大し、恐怖学習時での扁桃体中心核のcFos陽性細胞数が対照群より有意に増加していた。更に、オキシトシンアンタゴニストの脳室内投与はこの効果を抑制したことから、オキシトシンシグナルの重要性が示唆された。これらの結果は、PTSDなど恐怖記憶の増強に起因する精神疾患の治療・予防法開発への基盤的な知見を与えるものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PTSDなどの精神疾患の治療法や予防法の基盤となる知見を与える。また、パートナーが存在していなくても異性間の絆による恐怖記憶の減弱効果が得られたことは、社会的距離を取りながらの生活を余儀なくされている現在を克服するための基礎的知見を与える。

研究成果の概要(英文)：Pair bonding between socio-sexual partners gives beneficial effects on human well-being. Prairie vole is a monogamous rodent. In the current study, we showed that pair bonding between mates blunted the fear responses in male prairie voles. Immunohistological analyses revealed the increase of oxytocin immunoreactivity in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. The number of cFos positive cells was increased in the central amygdala of bonded male voles during a fear memory test. The intracerebroventricular administration of an oxytocin antagonist reversed such effects, suggesting a crucial role of the oxytocin signal in pair bonding-dependent social buffering.

Our results provide basic knowledge for developing cure and treatment of psychiatric disorders caused by impaired fear learning such as PTSD.

研究分野：神経科学

キーワード：pair bond prairie vole Microtus ochrogaster social buffering

1. 研究開始当初の背景

健康な生活を営む上で良好な人間関係は重要であるが、特に精神疾患からの回復には夫婦を始めとする家族の関係は最も重要である。例えば、配偶者らとの良好な関係は自殺リスクを抑制すること(1)や家族を含む社会的な支援は梗塞後うつを発症を抑制する(2)。一方、生命の危機に瀕するような出来事(トラウマ)に遭遇すると心的外傷後ストレス障害(PTSD)を発症するが、PTSD患者は配偶者などのパートナーに対して敵意を抱く頻度が高まり、受容やユーモアの表現が少なくなるといった対人関係障害が生じると報告されている(3)。また、PTSDの重症度は人間関係を避ける度合いと相関するといった報告もなされている(4)。トラウマが異性間の絆形成に関わる神経回路に与える影響を理解することで、配偶者をはじめとする家族との良好な関係の維持を通じたPTSDに対する治療・予防戦略が構築できる。

申請者はトラウマ体験が雌雄の絆に及ぼす影響についてプレリーハタネズミを用いて検討を行ってきた。プレリーハタネズミは一夫一婦(pair bond)制を示し、オスや兄弟姉妹も育児行動を示すなど極めて社会性の高いげっ歯類である。Pair bondの脳内機構は米国の研究者らにより明らかにされ、側座核へのオキシトシン、ドパミンの放出や、中隔野へのバソプレッシンニューロンの作用等が必要とされている(図1)。重要なことはその脳内機構はヒトにおける男女の絆形成にも共通性が認められている点にある。また、異性間の絆形成に関わる神経回路の一部はPTSDによって変化を生じる脳領域と一致している(図1)。そこで、プレリーハタネズミにげっ歯類のPTSDモデル作製に使用されるsingle prolonged stress (SPS)処置を施したところ、同居していたパートナーへの嗜好性を示さず、pair bondが妨げられた。興味深いことにSPS処置後に選択的セロトニン再取り込み阻害剤であるパロキセチンを経口投与するとpair bondは回復した(5)。

PTSD患者では恐怖記憶の消去が減弱していることから、SPS処理が恐怖記憶に与える影響についてcontextual fear conditioningによる検討を行った。非常に意外なことにオス同士飼育した対照群では電気ショックによる恐怖条件付け後に恐怖記憶が成立したが、あらかじめメスとpair bondした群は恐怖記憶を獲得しない傾向が認められた。こうした他個体の存在によるストレスへの抵抗性の向上はsocial bufferingと呼ばれ、恐怖記憶の異常に起因する精神疾患、PTSDや恐怖症等、に対する新たな治療法の開発につながる現象であると考えられている。

2. 研究の目的

これまでの我々の研究結果から、SPS処置はセロトニン系を乱すことで異性間の絆を破綻させる。一方で異性間の絆はSPS処置による恐怖記憶の獲得を抑制することが示唆された。

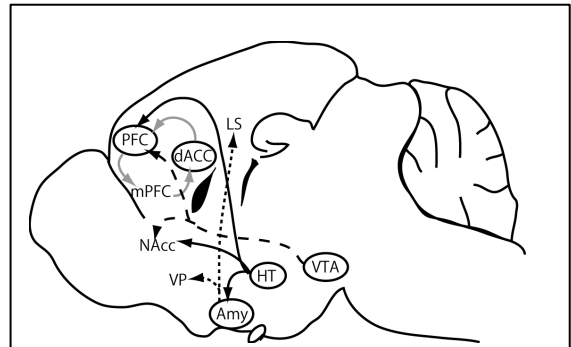


図1) 一夫一婦形成にかかわる神経回路
Pair bondingに重要な経路は1) 扁桃体(Amy)中心核から腹側淡蒼球(VP)や外側中隔(LS)へのAVPの作用(点線)、2) 視床下部(HT)から扁桃体(Amy)、側坐核(NAcc)、前頭前野(PFC)へのOXTの作用(実線)、3) 腹側被蓋野(VTA)から側坐核(NAcc)、前頭前野(PFC)へのドパミンニューロン(波線)である。これらのうちでPTSDによって変化が生じる脳領域を丸で囲む。さらに前頭前野(PFC)と背側前帯状回(dACC)は腹側前頭前野(mPFC)を介して社会性情動系ループを形成している(グレーの矢印)。

この分子・神経機構を明らかにすることで、トラウマ体験後の異性間の絆を良好に保つことを通じて PTSD に対する予防法や治療法戦略の構築に資するための基盤的知見を得る。

3. 研究の方法

実験 1) 4 日間の同居によってメスと pair bond を形成したプレリーハタネズミのオス (以後、pair bond 群) とオス同士を飼育した群 (以後、cage mate 群) とを作成した。これらをさらに SPS 処置を行った群とハンドリングのみを行った群に分け、以降は単独で飼育した。SPS 処置の 9 日後から文脈的恐怖条件付け試験を行った。

実験 2) Pair bond による文脈的恐怖条件付けの減弱効果を検討した。実験 1) と同様に pair bond 群と cage mate 群に SPS 処置を行い、以降は単独で飼育した。7 日後に partner preference test を、8 日目以降に文脈的恐怖条件付け試験を行った。文脈的恐怖条件付け試験の 90 分後に灌流固定して脳を摘出した。凍結切片を作製し、抗 cFos 抗体および抗 oxytocin 抗体を用いた免疫染色を行った。

実験 3) Pair bond による恐怖記憶の減弱効果を受動的回避試験によって更に検討した。5 日間同性、あるいは異性と同居した pair bond 群と cage mate 群に SPS 処置は行わず、6 日目以降に受動的回避試験を行った。さらに 9 日目から 3 日間にわたって恐怖記憶の消去試験を行った。

実験 4) Pair bond による恐怖記憶の減弱効果におけるオキシトシンの重要性を明らかにするために脳室内にオキシトシンアンタゴニストを投与して、その効果を検証した。5 日間メスと同居させて pair bond を形成したオス個体の側脳室にカニューレを装着した。5 日間の回復期間の後に受動的回避試験を行った。条件付けの 30 分前にオキシトシンアンタゴニスト (以後 OTA、desGly-NH₂, d(CH₂)₅[Tyr (Me)₂, Thr₄] OVT) 0.5 μg/2 μl を側脳室に投与した。対照群には溶媒とした人口脳脊髄液 (aCSF) 2 μl を投与した。翌日に記憶試験を行い、恐怖学習の成立について検討した。また、オス個体同士で 5 日間同居した個体の側脳室にオキシトシン 0.6 μg/2 μl または aCSF 2 μl を投与した後、同様に受動的回避試験を行った。

4. 研究成果

結果

実験 1) の結果、cage mate 群ではすくみ行動の時間が有意に増加したことから、プレリーハタネズミにおいても SPS 処置によって恐怖学習が増強することが明らかになった。一方で pair bond 群では SPS 処置群・未処置群とも条件付け後に有意なすくみ行動時間の延長が見られなかったことから、pair bond による恐怖記憶の減弱効果が示唆された。

実験 2) の結果、実験 1) と同様に、cage mate 群では条件付け後に有意なすくみ行動時間の延長が見られたが、pair bond 群ではそのよ

うな延長は認められず、pair bond による恐怖学習の減弱効果の再現性が確認された。また、partner preference test の結果、一度 pair bond を形成した後に SPS 処置を施してもパー

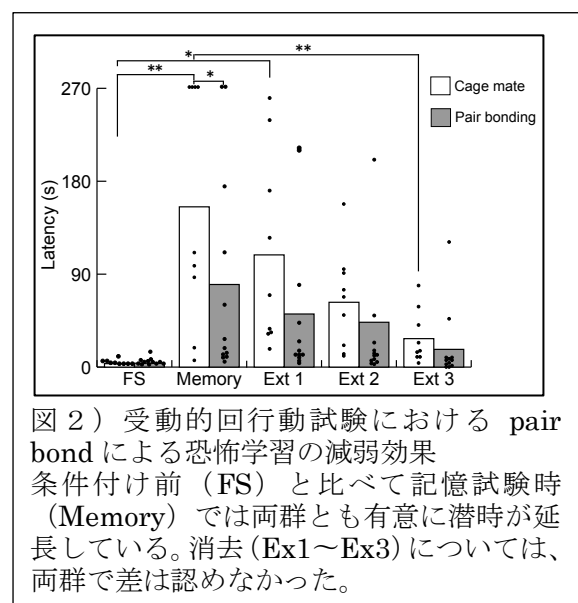


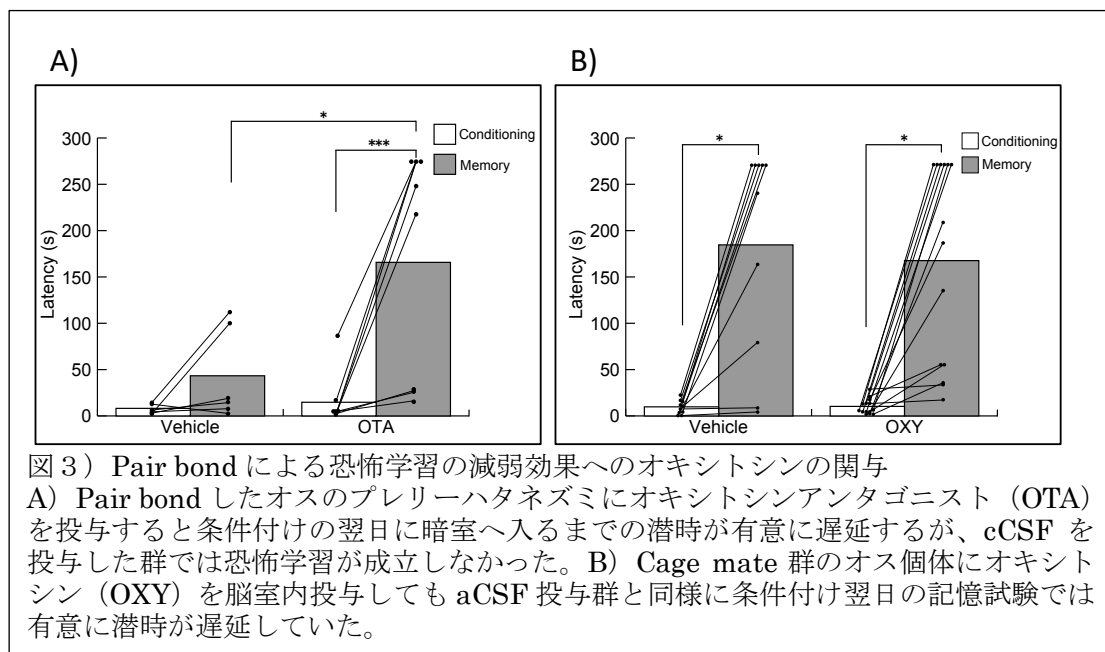
図 2) 受動的回避試験における pair bond による恐怖学習の減弱効果
条件付け前 (FS) と比べて記憶試験時 (Memory) では両群とも有意に潜時が延長している。消去 (Ex1~Ex3) については、両群で差は認めなかった。

トナーに対する嗜好性は消失しないことが明らかになった。免疫染色の結果、pair bond 群は cage mate 群より、室傍核でのオキシトシン免疫染色性が有意に高いこと、記憶試験後の扁桃体中心核における cFos 陽性細胞数が有意に増加すること、が明らかになった。

実験3) Pair bond 群も cage mate 群も条件付けによって暗室に入るまでの潜時が有意に増加し、両群とも恐怖学習が成立していた。しかし、記憶試験時の潜時について、pair bond 群の方が cage mate 群よりも有意に短縮しており、pair bond による恐怖学習の減弱効果が受動的回避試験によっても再現された結果となった(図2)。一方で、恐怖記憶の消去の過程においては両群に差は認められず、pair bond による恐怖学習の減弱効果は、記憶の形成が弱められると結論づけた。

実験4) OTA 投与群では条件付け前に比べて条件付け後には暗室に入るまでの潜時が有意に延長したが、aCSF 投与群では条件付け前と比較して有意な変化は認められなかった(図3)。また、条件付け後の暗室に入るまでの潜時は OTA 投与群の方が aCSF 投与群より有意に増大していた。

一方、cage mate 群にオキシトシンを投与して受動的回避試験を行った場合には、暗室に入る前の潜時は aCSF 投与群と同様に条件付け前に比べて有意に増加し、その効果は認められなかった。



結論

上記のいずれの実験結果からも pair bond には恐怖学習を減弱させる効果があることが示唆される。従来報告されている social buffering ではストレス付与時あるいはストレスからの回復時に同種他個体の存在が必要であるが(6)、我々の結果は pair bond のみで恐怖記憶の形成・惹起時にパートナーの存在を必要としない新たなタイプの social buffering であると考えられる。その神経機構については不明な点が多いが、オキシトシニングナルが必須であることを今回示唆することができた。一方で、脳室内へのオキシトシンの投与に効果が認められなかったことから、局所的に高い濃度のオキシトシンが必要であるか、pair bond によって恐怖学習に関わる神経回路に可塑的な変化が生じた可能性が示唆された。今後、pair bond 依存的 social buffering の神経機構についてあきらかにしていく必要がある。

<引用文献>

- 1) Kazan D., Calear A.L, Batterham P.J., The impact of intimate partner relationships on suicidal thoughts and behaviors: A systematic review. *J Affect Disord* 190, 585–598, 2016
- 2) Northcott S., Moss B., Harrison K., Hilari K., A systematic review of the impact of stroke on social support and social networks: associated factors and patterns of change. *Clin Rehabil* 30, 811–831, 2016
- 3) Miller M.W., Wolf E.J., Reardon A. F., Harrington K. M., Ryabchenko K.R., Castillo D., Freund R., Heyman R. E. PTSD and conflict behavior between veterans and their intimate partners. *J Anxiety Disorders* 27, 240–251, 2013
- 4) Clark A.A., Owens G.P., Attachment, personality characteristics, and posttraumatic stress disorder in U.S. veterans of Iraq and Afganistan. *J Traumatic Stress* 25, 657, 2012
- 5) Arai A., Hirota Y., Miyase N., Miyata S., Young L.J., Osako Y., Yuri K., Mitsui S., A single prolonged stress paradigm produces enduring impairments in social bonding in monogamous prairie voles. *Behav Brain Res* 315, 83–93, 2016
- 6) Lieberwirth C., Wang Z. The neurobiology of pair bond formation, bond disruption, and social buffering. *Curr Opin Neurobiol* 40, 8–13, 2016

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hirota Yu, Arai Aki, Young Larry J., Osako Yoji, Yuri Kazunari, Mitsui Shinichi	4. 巻 120
2. 論文標題 Oxytocin receptor antagonist reverses the blunting effect of pair bonding on fear learning in monogamous prairie voles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hormones and Behavior	6. 最初と最後の頁 104685 ~ 104685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104685	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 該当する
1. 著者名 Arai, A., Hirota, Y., Mitsui, S.	4. 巻 69
2. 論文標題 Pair bond formation by monogamous prairie voles in novel environments.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kitakanto Medical Journal	6. 最初と最後の頁 129-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2974/kmj.69.129	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 Hidaka, C., Kashio, T., Uchigaki, D., Mitsui, S.	4. 巻 14
2. 論文標題 Vulnerability or resilience of motopsin knockout mice to maternal separation stress depending on adulthood behaviors.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuropsychiatric Diseases and Treatment	6. 最初と最後の頁 2255-2268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2147/NDT.S170281	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Osako Yoji, Nobuhara Reiko, Arai Young-Chang P., Tanaka Kenjiro, Young Larry J., Nishihara Makoto, Mitsui Shinichi, Yuri Kazunari	4. 巻 80
2. 論文標題 Partner Loss in Monogamous Rodents: Modulation of pain and emotional behavior in male prairie voles.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Psychosomatic Medicine	6. 最初と最後の頁 62-68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PSY.0000000000000524	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 該当する

1. 著者名 Tsuchiya Kenji, Mitsui Shinichi, Fukuyama Ryuji, Yamaya Noriki, Fujita Takaaki, Shimoda Kaori, Tozato Fusae	4. 巻 Volume 14
2. 論文標題 An acute bout of housework activities has beneficial effects on executive function.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuropsychiatric Disease and Treatment	6. 最初と最後の頁 61-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2147/NDT.S153813	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Hirota Y., Young L.J., Mitsui S.
2. 発表標題 Pair bonding attenuates fear memory acquisition through oxytocin receptor signaling in monogamous prairie voles
3. 学会等名 Neuroscience2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三井 真一、田中 侑奈、小林 未紗、松平 ひなの
2. 発表標題 一夫一婦制を呈するプレーリーハタネズミの脳卒中後うつモデル作製の試み
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田 湧、三井 真一
2. 発表標題 一夫一婦制のプレーリーハタネズミにおけるつがい形成依存的な恐怖学習減弱にはオキシトシンが介在する
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮田 菜、櫻尾 泰樹、三井 真一
2. 発表標題 酸化ストレスの増加とモトプシンの欠損はパルプアルブミン介在ニューロンを減少させる
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田 湧, 新井 亜紀, 三井 真一
2. 発表標題 Pair bonding attenuates freezing behavior coupled with general and contextual fear in monogamous prairie voles.
3. 学会等名 Neuroscience2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日高千晴、櫻尾泰樹、内垣大樹、三井真一
2. 発表標題 母子分離ストレスの影響はmotopsin欠損マウスと野生型マウスとは異なる
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 蒲生啓司、三井真一
2. 発表標題 Motopsin欠損マウスの血清アミノ酸分析
3. 学会等名 第65回質量分析討論会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

群馬大学大学院保健学研究科 リハビリテーション学講座 三井研究室
<https://mitsuilab.health.gunma-u.ac.jp>
群馬大学大学院リハビリテーション学講座三井研究室
<http://mitsuilab.health.gunma-u.ac.jp>

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
研究分担者	高橋 麻衣子 (池澤麻衣子) (Takahashi-Ikezawa Maiko) (50701322)	群馬大学・大学院保健学研究科・助教 (12301)	