

令和元年5月17日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14935

研究課題名(和文) ストレスによる持続性ドーパミン変化における外側手綱核の役割

研究課題名(英文) The role of lateral habenula in the dopamine change involved in stress

研究代表者

中野 高志 (Nakano, Takashi)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・特任准教授

研究者番号：70579953

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではストレスに関連する神経回路機構を調べるために、外側手綱核や他の神経核の光刺激を行い、そのときの側坐核におけるドーパミン変化を電気化学的手法を用いて測定した。その結果、ドーパミン変化は刺激周波数に依存し、低頻度刺激ではドーパミン濃度の増加が見られ、高頻度刺激ではドーパミン濃度の低下が見られた。また、外側手綱核によるドーパミン制御の神経ネットワーク機構を調べるために計算機シミュレーションを行った結果、実験と同じ結果がシミュレーションでも得ることができた。本研究によってストレスのかかわる外側手綱核のドーパミン制御の神経回路機構の一端を解明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でストレスに関連する外側手綱核がドーパミンを制御する神経回路機構の一端を解明した。今後ストレス耐性の強い個体と弱い個体で、ストレスを処理する神経回路やストレスに反応するドーパミン変化の違いを比較することで、ストレスにおけるドーパミン変化の役割がより詳細にわかると期待される。ストレスに対応するための神経機構が分かることで、ストレスやうつ状態の診断の発展およびうつ病の予防につながり、人間が精神的に健康に生きるために役立つと考えている。

研究成果の概要(英文)：To understand the neural circuit mechanisms involved in the stress, we applied optical stimulations of the lateral habenula or other nuclei of the mouse brain and measured the dopamine release in the nucleus accumbens using electrochemical methods. As results, we found that the dopamine response depends on the stimulation frequency. Low-frequency stimulation caused an increase in dopamine while high-frequency stimulation decreased dopamine. We then constructed a neural network model consisting of simple neuron models. We obtained consistent results. In summary, our results suggest the neural circuit mechanisms processing stress.

研究分野：神経科学

キーワード：ドーパミン 外側手綱核 ストレス 電気化学 シミュレーション

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中脳ドーパミン細胞は報酬や意欲・ストレスに応じてドーパミンという神経伝達物質を放出する。このときのドーパミン変化は一過性(～数100ミリ秒)のものと同様に持続性(数十秒から数分)のものに分けられる。ドーパミンは思いがけず良いことがあるとドーパミンが一過性に投射され報酬に基づく行動獲得を可能にする。一方持続性のドーパミン変化は意欲やストレスに反応すると考えられており、ドーパミンの神経活動への作用を理解するためにはドーパミンを直接測定する必要があるが、ドーパミン計測技術の問題からストレス対処行動や意欲における持続性ドーパミンの動態は分かっていない。またストレスは間脳・外側手綱核を活性化させる。外側手綱核はドーパミン細胞を制御しており、ストレスや意欲に関連する持続性ドーパミン変化にも深く関係していることが予想される。

2. 研究の目的

本研究では高い時間解像度で長時間定量的にドーパミン濃度を測定できる新しいドーパミン測定法を用いて、ストレスや意欲に関連した行動と持続性ドーパミン変化の関係、およびそのときの外側手綱核の役割を明らかにする。

また外側手綱核などの神経核からなる神経ネットワークがどのようにドーパミン放出を制御しているのかを明らかにし、それによってストレスやストレス対処行動の神経機構を理解することで、ストレスやうつ状態の診断の発展やその治療への応用を目指す。

3. 研究の方法

本研究では長時間定量的にドーパミンを放出する方法として電気化学的手法を用いた。高速電位走査サイクリックボルタンメトリー(FSCV)を改良して長時間定量的にドーパミン濃度を測定できる高速電位走査吸着走査ボルタンメトリー(FSCAV)と電荷バランス多波形FSCV(CBM)を用いた。またそれらの電気化学的測定の定量性を評価するためにマイクロダイアリシスを用いて同時にドーパミンを計測した。

また外側手綱核などの神経核からなる神経回路がドーパミン細胞をどのように制御しているのかを調べるために、外側手綱核を刺激した際の側坐核でのドーパミン放出を測定した。刺激にはアデノ随伴ウイルスを用いてチャンネルロドプシンを発現させ、光ファイバを用いて光刺激を行った。ドーパミン測定にはFSCVを用いて側坐核におけるドーパミン放出を測定した。また外側手綱核からドーパミン細胞を有する腹側被蓋野までの経路であると考えられる反屈束および吻側内側被蓋核も同様に光刺激を行い、そのドーパミン応答をFSCVを用いて計測した。また計算機シミュレーションを用いてそのネットワーク機構を調べた。シミュレーションには神経回路シミュレーションに特化したNEST simulatorを用いてintegrate-and-fireニューロンにより外側手綱核、吻側内側被蓋核、腹側被蓋野ドーパミン細胞をモデル化した。

4. 研究成果

持続性ドーパミン変化を測定するために、FSCAVおよびCBMの測定能力を検証した。まずマウス生体内でドーパミン濃度を増やしていったときのドーパミンを測定した。その結果FSCAVもCBMもそれぞれ定量的にドーパミンを長時間測定できることができ、マイクロダイアリシスよりも高いサンプリング周波数でのドーパミン測定を行うことができた(図1)。しかし麻酔下マウスではin vitroとは異なり、FSCAVおよびCBMでのドーパミン観測結果はマイクロダイアリシスとは異なり、定量的な測定がうまくできなかった。

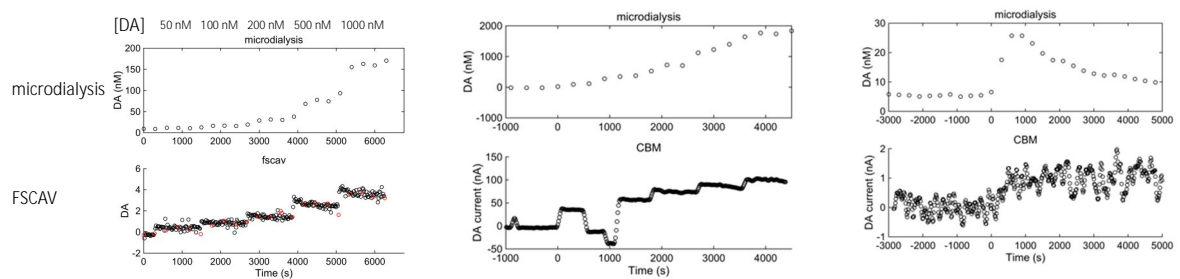


図1. FSCAVとCBMによる持続性ドーパミン変化の定量的測定。

(左図) FSCAVによるin vitroでの持続性ドーパミン変化の定量的測定。上図はマイクロダイアリシス、下図はFSCAVによる測定。(中図) CBMによるin vitroでの持続性ドーパミン変化の定量的測定。上図はマイクロダイアリシス、下図はCBMによる測定。(右図) CBMによる麻酔下マウスの側坐核における持続性ドーパミン変化の定量的測定。それぞれ上図はマイクロダイアリシス、下図はCBMによる測定。時刻0においてノミフェンシンを腹腔内投与を行った。

次にストレスに応答するドーパミン変化を制御する神経ネットワーク機構を調べるために、外側手綱核の光刺激を行い、そのときの側坐核におけるドーパミン変化を FSCV を用いて測定した。その結果、刺激周波数によってドーパミン変化が変化した。10 Hz での低頻度刺激では側坐核ドーパミン濃度は増加するが、40 Hz での高頻度刺激ではドーパミン濃度は減少した。外側手綱核からドーパミン細胞を有する腹側被蓋野などへの伝達経路である反屈束や、外側手綱核からの興奮性投射を受ける吻側内側被蓋核でも同様に光刺激を行ったところ、低頻度刺激ではドーパミン濃度の増加が見られ、高頻度刺激ではドーパミン濃度の低下が見られた。

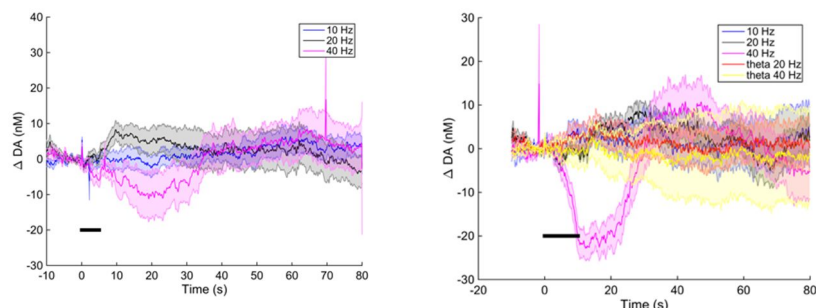


図 2 . 光刺激による側坐核ドーパミン応答。

(左図) 外側手綱核の光刺激に対する側坐核におけるドーパミン変化。黒線は 10 Hz、青線は 20 Hz、赤線は 40 Hz での刺激。網掛け部分は標準誤差。

(右図) 反屈束の光刺激に対する側坐核におけるドーパミン変化。黒線は 10 Hz、青線は 20 Hz、赤線は 40 Hz での刺激。網掛けは標準誤差。

最後に、外側手綱核によるドーパミン制御の神経ネットワーク機構を調べるために計算機シミュレーションを行った。その結果外側手綱核への強い入力ではドーパミン細胞の活動が高まったが、外側手綱核への弱い入力ではドーパミン細胞の活動が弱まり、実験と同じ結果がシミュレーションでも得ることができた。

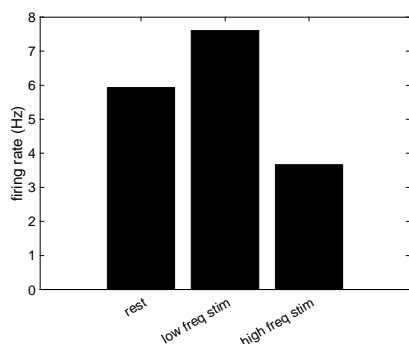


図 3 . 計算機シミュレーションによる外側手綱核刺激に応答する腹側被蓋野ドーパミン細胞の活動。弱い刺激ではドーパミン細胞の発火頻度が上がったが、強い入力では発火頻度が下がった。

以上のように、本研究によってストレスのかかわる外側手綱核のドーパミン制御の神経回路機構の一端を解明することができた。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6．研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。