

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H03540

研究課題名（和文）負の情動下の意思決定行動変容の神経基盤：拡張扁桃体-大脳基底核回路の探求

研究課題名（英文）The neural basis of modulation in decision-making under negative emotions:
Exploring the extended amygdala-basal ganglia circuit.

研究代表者

中村 加枝（NAKAMURA, Kae）

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：40454607

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、マカクサルとラットを用いて、ストレス下の認知・行動変容のメカニズムを扁桃体-大脳基底核相互関係とそれらに投射するセロトニン細胞が多く存在する背側縫線核(DRN)による制御の変化として明らかにすることを目的とした。ラットにおいては古典的条件づけ課題中に視床下部外側野-扁桃体基底外側核への経路の光遺伝学的操作を行った。マカクサルにおいては、異なる情動下で意思決定を行う課題を開発し、DRNからの単一神経細胞記録と、DRN-黒質や腹側被蓋野への投射の光遺伝学的操作により、扁桃体-大脳基底核回路へのDRNからの投射が異なる情動特にストレス下の行動制御の要であることを明らかにできた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレスの神経機構は前頭葉・扁桃体を中心に知見が多い。一方、ストレス等の情動が意思決定や運動出現を変化させるメカニズムは未解明である。ストレス反応の場である扁桃体から意思決定の場である大脳基底核には複数の解剖学的結合が存在する。その中で本申請は、霊長類で解剖学的に強力な投射が確認されているものの機能が解明されていない扁桃体-黒質網様部・緻密部の情報の流れに焦点をあてた。さらに、この経路に対する背側縫線核を中心としたセロトニン系作用をサルにおいてはじめて光遺伝学的操作によって解明した。これまでの意思決定研究はneutralな情動下を前提としたが、本研究はより現実的な意思決定理論の構築に寄与する。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the neuronal mechanisms of cognitive and behavioral changes under stress as alterations in control by the dorsal raphe nucleus (DRN), which abundantly contains serotonin neurons projecting to the amygdala-basal ganglia circuitry. In rats, optogenetic manipulation of the pathway from the lateral hypothalamus to the basolateral nucleus of the amygdala was performed during classical conditioning tasks. In macaques, tasks were developed for decision-making under different emotional states. Through single-neuron recordings from the DRN and optogenetic manipulation of projections from the DRN to the substantia nigra and ventral striatum, we revealed that projections from the DRN to the amygdala-basal ganglia circuitry are particularly crucial for emotional, especially stress-related, behavioral control.

研究分野：神経生理学

キーワード：serotonin stress decision making amygdala optogenetic stimulation primate basal ganglia substantia nigra

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々の認知や行動は、その時の情動、特にストレスによって影響を受ける。ストレス入力の情報処理については、前頭葉や扁桃体の解剖・機能的変化、それに伴う自律神経変化の知見がある。しかし、ストレスが認知・行動を変化させるメカニズムやその修飾過程は不明な点が多い。大脳皮質 基底核回路は抑制・脱抑制機構による意思決定機構である。情動処理機構である扁桃体から、拡張扁桃体を介して、大脳基底核特に黒質網様部・緻密部やドパミン細胞への解剖学的投射が存在する。また、この扁桃体 拡張扁桃体 大脳基底核系にはセロトニンの強い投射がある。そこで本申請は、扁桃体 大脳基底核回路とそのセロトニンによる修飾が、負の情動が認知や行動を変容させ、環境適応としての行動制御を実現するメカニズムであるという仮説を検証する。

2. 研究の目的

(1)異なる情動コンテキスト下において意思決定行動を行う霊長類モデルを構築し(2)セロトニン細胞が多く存在する背側縫線核の細胞の発火が、異なる情動コンテキスト下の行動の変化を表現するかを明らかにする。(3)背側縫線核 大脳基底核黒質緻密部・網様部と腹側被蓋野投射が、嫌悪コンテキストにおける行動制御のメカニズムの一つであることを光遺伝学的に明らかにする。(4)霊長類モデルと同様のげっ歯類(ラット)モデルを構築する。

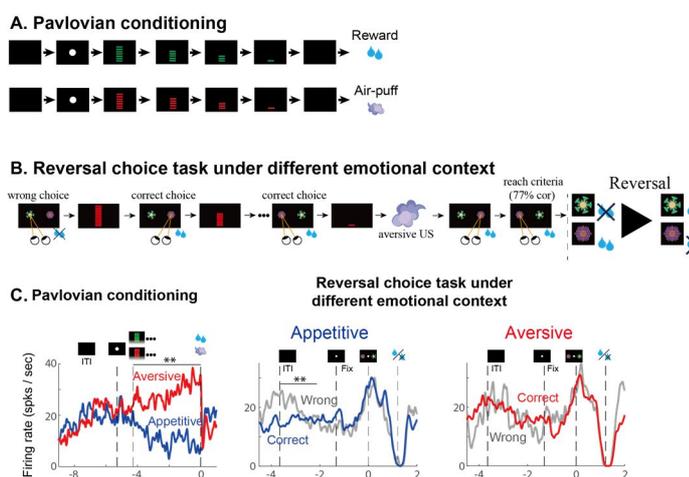
3. 研究の方法

(1)サルが報酬または嫌悪刺激を予測しつつ選択を行う眼球運動課題を開発した。Pavlovian Conditioning with continuously changing CSでは継続的に徐々に変化する条件刺激CSを用い、報酬・エアパフ(嫌悪刺激)と関連付けさせた(図1A)。Reversal Choice Task(RCT)では2つの視覚刺激(A,B)のうち一つ(例えばA)が報酬と関連付けられた正解(Correct Target)で、これを眼球運動により選択するが、一定回数繰り返すと正解が予告なくスイッチする(Correct Target = B)ため、柔軟に選択を変える必要がある。このTaskの試行間にPavlovian Conditioningで用いたCSをPavlovian Conditioningと同様徐々に変化させつつ呈示することにより、特定の情動下でReversal Choice Taskを行う状態を作成した(図1B)。(2)ストレスレベルを反映する自律神経反応と選択行動や衝動的行動を計測しつつ、背側縫線核細胞の課題関連発火との関連を解析した。(3)京都大学 永安一 樹氏(研究分担者)が独自に開発したセロトニン細胞選択的にチャンネルロドプシンを発現するウイルスベクター-AAV-macaqueTPH-2kb-ChETA-EYFPを2頭のカニクイ

サルの背側縫線核両側に注入した。サルが左右に眼球運動を行う際、一方向(例えば右)のみ報酬が得られ、他方(左)は報酬を得られないが試行を行う必要がある biased reward saccade taskを行うと、報酬期待のあるなしという異なるコンテキストを作成できる。ここで背側縫線核細胞・さらに 投射先の黒質網様部と緻密部、腹側被蓋野の光操作を行い、行動変化を解析し

た。その後組織的解析としてTPH2 GFP共染色の確認をウイルスベクター注入部位(背側縫線

図1



核) およびその投射先(黒質網様部・緻密部、腹側被蓋野)について解析した。さらに非特異的染色の可能性をさらに除外するため、ベクターを用いていないコントロールとしてのカニクイサル脳の染色も行った。(4) 同一のウイルスベクターをラットにおいても用い、視床下部扁桃体BLA回路について光操作による効果を解析した。

4. 研究成果

(1) 嫌悪条件下 RCT では、行動開始や反応時間が極端に短縮する頻度が増加した。一方で、選択行動は一定した変化がみられなかった。自律神経反応については、嫌悪刺激が提示された場合の瞳孔径増大・心拍数増大が認められた。この異なる情動下 RCT モデルを用いて(2) 背側縫線核ニューロンの単一神経細胞記録を行ったところ、Pavlovian Conditioning では報酬または嫌悪条件により強く発火するもの、差がないものの3種類があった。このうち嫌悪条件により発火する細胞群は、嫌悪コンテキスト下 RCT において正しい選択をする試行に強く反応するものが多かった(図1C)。すなわち不利な状況でも正しい行動を起こすレジリエンスに関与していると考えられた。視覚刺激呈示時だけでなく、試行開始前であっても観察される点が特記すべきである。すなわち、試行開始前からその試行の行動を予測可能である。

(3) サル2頭について、背側縫線核両側にウイルスベクターを注入した。光刺激に対して、背側縫線核のみならず、投射先の黒質毛様体・緻密部・腹側被蓋野でも刺激と良好な同期、強さ依存性を持って反応を確認できた。後に組

織学的解析でチャネルの発現を確認した(図2A)。様々な刺激強度・タイミングを試したところ、サルが報酬を期待できない嫌悪状況において、サックード後に刺激を行うと、反応時間の短縮がみられた。報酬を期待している試行や異なるタイミング、報酬の差がない状態ではこの効果は観察で

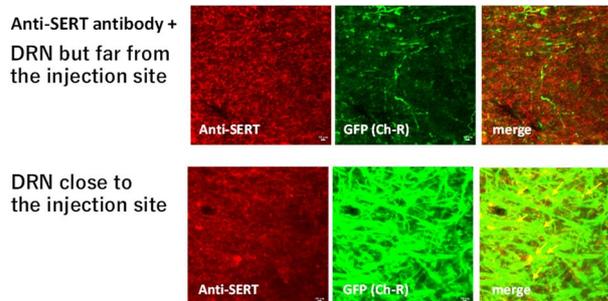


図2A

きなかつた(図2B)効果は背側縫線核刺激が最も強く、黒質緻密部や腹側被蓋野については弱い効果が認められた。ウイルスベクターのセロトニン特異性は50%前後と十分とは言えなかつたが、少なくとも背側縫線核-黒質投射が嫌悪状況におけるレジリエンスに重要であることを明らかにできた。

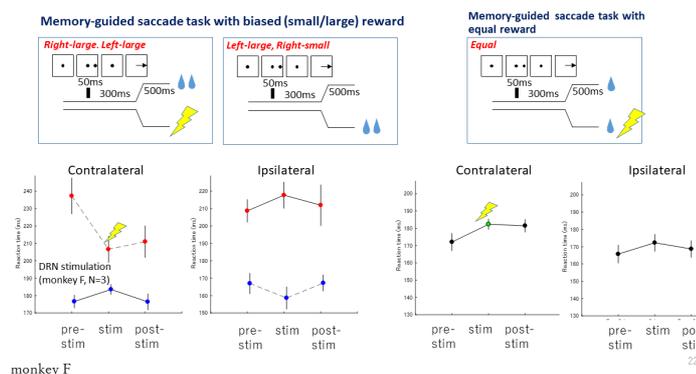


図2B

(4) ラットにおいて、山中(研究分担者)は頭部固定下ラットモデルを用いて報酬または罰(エアパフ)刺激を予測させる古典的条件づけ課題を行わせ、無条件刺激(US)である報酬を予測する条件刺激(CS)に対する予測的に血圧が顕著な上昇応答を示すこと、またその報酬予測的血圧上昇に扁桃体が関与していることを報告した(Yamanaka and Waki, Front. Physiol., 2022)。次に、この報酬予測的な昇圧応答の獲得における神経回路メカニズムを探るため、自律神経応答調節および情動学習に重要な役割を担うことが知られている視床下部外側野(LH)および扁桃体基底外側核(BLA)に着目した。報酬(5%砂糖水)CS、無報酬CS、嫌悪(エアパフ)CSの3つのCS-US連合を各刺激1日40試行(3つのCSで合計120試行/日)、7日間で各刺激合

計 280 試行を学習させる課題を遂行中のラットの LH-BLA 投射を光遺伝学的手法を用いて選択的に活性化させた (図 3 - 1、図 3 - 2)。その結果、報酬予測 CS に対する血圧応答は、活性型光受容体を発現させていない群 (Control 群) に比べ、活性型光受容体を発現させた群 (CheRiff 群) において有意に高い昇圧応答が観察された (図 3 - 3)。

図 3 - 1

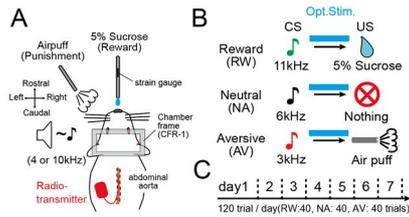


図 3 - 2

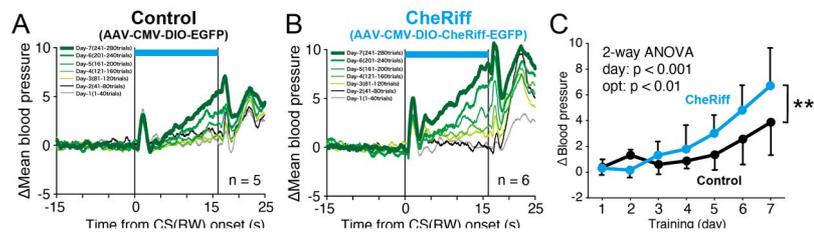
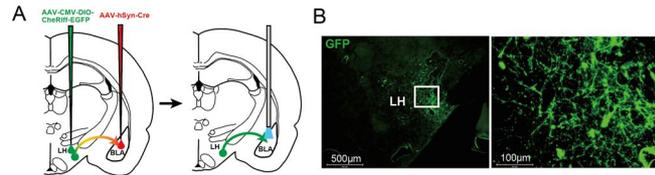


図 3 - 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 中村加枝, 石井宏憲, 安田正治	4. 巻 41(4)
2. 論文標題 様々な視点から意思決定を考察する 薬理学的な視点から	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 精神科	6. 最初と最後の頁 500-507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Kawai H, Bouchekioua Y, Nishitani N, Niitani K, Izumi S, Morishita H, Andoh C, Nagai Y, Koda M, Hagiwara M, Toda K, Shirakawa H, Nagayasu K, Ohmura Y, Kondo M, Kaneda K, Yoshioka M, Kaneko S	4. 巻 13
2. 論文標題 Median raphe serotonergic neurons projecting to the interpeduncular nucleus control preference and aversion.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nat Communications	6. 最初と最後の頁 7708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-35346-7	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 該当する

1. 著者名 Nagai Y, Kisaka Y, Nomura K, Nishitani N, Andoh C, Koda M, Kawai H, Seiriki K, Nagayasu K, Kasai A, Shirakawa H, Nakazawa T, Hashimoto H, Kaneko S	4. 巻 42
2. 論文標題 Dorsal raphe serotonergic neurons preferentially reactivate dorsal dentate gyrus cell ensembles associated with positive experience.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 112149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112149	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 Yamanaka K, Waki H	4. 巻 13
2. 論文標題 Conditional Regulation of Blood Pressure in Response to Emotional Stimuli by the Central Nucleus of the Amygdala in Rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Physiol	6. 最初と最後の頁 820112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.820112	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 該当する

1. 著者名 Kuraoka Koji, Nakamura Kae	4. 巻 175
2. 論文標題 Facial temperature and pupil size as indicators of internal state in primates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 25 ~ 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.01.002	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 永安一樹, 金子周司	4. 巻 39(6)
2. 論文標題 社会的敗北ストレスによるセロトニンニューロンの変化とその役割について	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 727-730
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 中村加枝 石井宏憲 安田正治	4. 巻 32
2. 論文標題 セロトニンと意思決定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 979-983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Nagai Y, Takayama K, Nishitani N, Andoh C, Koda M, Shirakawa H, Nakagawa T, Nagayasu K, Yamanaka A, Kaneko S.	4. 巻 21(6)
2. 論文標題 The Role of Dorsal Raphe Serotonin Neurons in the Balance between Reward and Aversion.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 2160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21062160.	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 Nagai Yuma, Nishitani Naoya, Yasuda Masaharu, Ueda Yasumasa, Fukui Yuto, Andoh Chihiro, Shirakawa Hisashi, Nakagawa Takayuki, Inoue Ken-ichi, Nagayasu Kazuki, Kasparov Sergey, Nakamura Kae, Kaneko Shuji	4. 巻 518
2. 論文標題 Identification of neuron-type specific promoters in monkey genome and their functional validation in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 619 ~ 624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.08.101	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 Noritake Atsushi, Nakamura Kae	4. 巻 121
2. 論文標題 Encoding prediction signals during appetitive and aversive Pavlovian conditioning in the primate lateral hypothalamus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurophysiology	6. 最初と最後の頁 396 ~ 417
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jn.00247.2018	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17件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Kae Nakamura, Masaharu Yasuda
2. 発表標題 The primate model of decision making under stress
3. 学会等名 NEURO2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山中航、中川暁博、和気秀文
2. 発表標題 報酬および嫌悪刺激に対する予測的な血圧応答の獲得
3. 学会等名 第75回日本自律神経学会総会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kae Nakamura
2. 発表標題 Serotonin Brain and beyond
3. 学会等名 神経科学先端セミナー(筑波大学) (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koji Kuraoka, Kae Nakamura.
2. 発表標題 Dominant processing of social, rather than reward information in the lateral nucleus of primate amygdala.
3. 学会等名 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaharu Yasuda, Yasumasa Ueda, Kae Nakamura
2. 発表標題 Dynamic interaction between emotional and cognitive signal in primate dorsal raphe nucleus.
3. 学会等名 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nakamura, K.
2. 発表標題 The role of primate striatum for decision making under different emotional context.
3. 学会等名 The 38th annual meeting, the Japan Neuroscience Society (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

関西医科大学 生理学教室
<http://www.kmu.ac.jp/faculty/medical/category2/unit4.html>

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	永安 一樹 (NAGAYASU Kazuki) (00717902)	京都大学・薬学研究科・助教 (14301)	
研究分担者	石井 宏憲 (ISHII Hironori) (30636676)	関西医科大学・医学部・助教 (34417)	
研究分担者	山中 航 (YAMANAKA Ko) (40551479)	順天堂大学・スポーツ健康科学部・准教授 (32620)	
研究分担者	安田 正治 (YASUDA Masaharu) (90744110)	関西医科大学・医学部・講師 (34417)	
研究分担者	上田 康雅 (UEDA Yasumasa) (60332954)	関西医科大学・医学部・講師 (34417)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------