

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07293

研究課題名（和文）感覚経験がげっ歯類視覚誘導性の恐怖反応に与える影響の神経基盤

研究課題名（英文）Experience-dependent plasticity of defensive behaviors to the visual threat and its neural basis

研究代表者

鳴島 円（Narushima, Madoka）

生理学研究所・基盤神経科学研究領域・准教授

研究者番号：30596177

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）：げっ歯類は侵害的な視覚刺激に対して、上丘パルプアルブミン陽性（PV）ニューロンによりトリガーされる逃避またはフリージングという恐怖反応を示す。本研究では、逃避かフリージングかのパターン選択に対する感覚経験の影響とその神経基盤の解明を目指した。これまで恐怖反応はげっ歯類の生得的な反応であると考えられていたが、本研究により、発達期の視覚経験により逃避反応が獲得され、視覚遮断によりパターン選択が変化することが明らかとなった。また光遺伝学的手法により、上丘PVニューロンが大脳皮質由来興奮性入力を受けを示し、経験依存的なパターン選択の変化における大脳皮質由来入力の寄与の解明につながる成果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物が発達期の環境から得られた情報をもとに、成熟後の行動選択を行うことは一般的に知られている。本研究はその神経基盤を解明することを目的とし、げっ歯類の侵害的な視覚刺激に対する恐怖反応とそれをトリガーする上丘の神経回路に着目した。本研究の成果により、侵害的な視覚刺激に対する恐怖反応が視覚経験の操作により変化することが明らかとなり、行動選択機構とその発達過程を解明するための最適の実験系であることが示された。

研究成果の概要（英文）：Rodents demonstrate defensive behaviors such as fleeing or freezing upon recognizing a looming shadow above them. We aimed to describe the developmental process of defensive behaviors in response to visual threats and the effects of visual deprivation to understand how sensory experience affects behavior selection. We found that the development of defensive behaviors in response to looming stimuli was affected by an individual's sensory experience and pattern selection changed depending on their sensory experience. We developed in vitro preparation to stimulate cortical inputs independently by using optogenetics to analyze the contribution of cortical inputs to the experience-dependent plasticity in defensive behaviors. Our results lead to understanding the mechanisms of behavioral selection that directly affect the survival rate of organisms.

研究分野：神経生理学

キーワード：恐怖反応 上丘 視覚 経験依存的可塑性

1. 研究開始当初の背景

げっ歯類は頭上から迫りくる視覚刺激に対して、上丘パルブアルブミン陽性 (PV) ニューロンによりトリガーされる素早い逃避、あるいはフリージング行動という恐怖反応を示す (Shang et al., 2015)。本研究では、恐怖反応のパターンの選択 (逃走かフリージングか) に感覚経験による重みづけをする機構として、視覚経験依存的に刈り込みを受ける大脳皮質 V1 から上丘への入力に着目した。大脳皮質 V1 から上丘への入力があることは知られているが、個々の細胞レベルでどのような入力があるかはわかっていなかった。また、恐怖反応がどのように発達し、感覚経験によってその発達過程が修飾を受けるのか、さらに大脳皮質入力が恐怖反応の発現にどのように影響するかもわかっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、上丘 PV ニューロンの同定と大脳皮質入力の入力様式、恐怖反応の発達過程の解明と経験依存的可塑性の有無、大脳皮質入力の操作が恐怖反応に与える影響を解明することを目的として研究を開始した。

3. 研究の方法

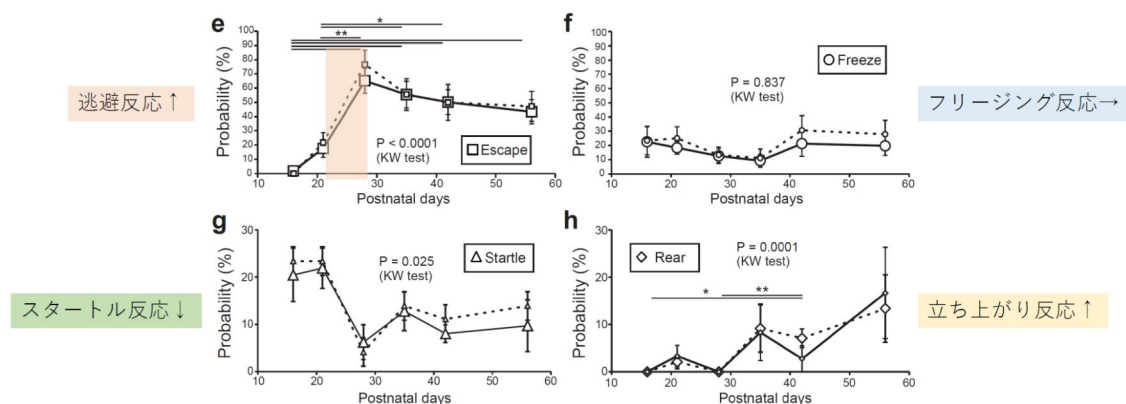
上丘 PV ニューロンの同定と大脳皮質入力の入力様式の解析には、スライスパッチクランプ法を用い、光遺伝学的手法によって大脳皮質入力の特異的に刺激する手法を開発した。恐怖反応の発達過程の解明と経験依存的可塑性の有無の解析には、視覚刺激と行動の記録を制御するシステムを開発し、発達期と成熟後のマウスの視覚刺激に対する応答をトラッキングソフトウェアを用いて解析した。また、経験依存的可塑性については、発達期に 1 週間の暗室飼育を行ったマウスで恐怖反応の変化を解析した。

4. 研究成果

(1) 視覚刺激に対する恐怖反応の発達過程の解明 (図 1)

開眼直後の生後 16 日齢から 56 日齢までの野生型マウスを用いて、侵害的な視覚刺激に対する恐怖反応の発達過程の解析を行った。恐怖反応のうち、フリージング反応は開眼直後から観察できるのに対し、シェルターへの逃避反応は生後 21 日齢までは発現頻度が低く、28 日齢で急激に増加した。生後 16 日齢 ~ 21 日齢のマウスでは視覚刺激に反応して短い距離を移動するスタートル反応が見られたが、その発現頻度は 28 日齢以降では逃避反応の増加に従って減少した。フリージング反応の発現頻度は生後 16 日齢 ~ 56 日齢で変化しなかった。また、28 日齢以降では立ち上がって警戒するような行動が現れるようになり、発達に従って視覚刺激に対する反応が多様化することが示された。

図 1. 視覚誘導性の恐怖反応の発達

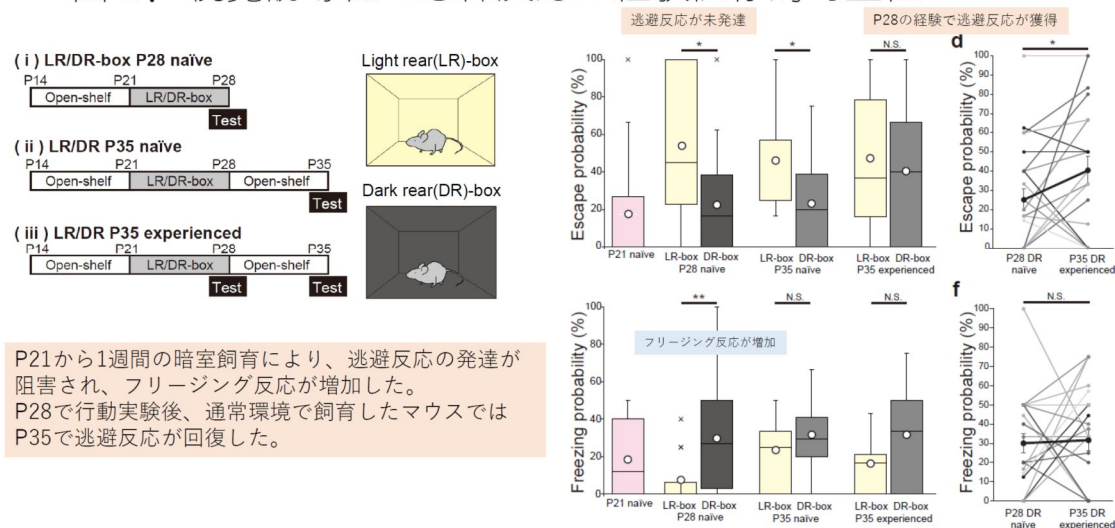


逃避反応がP21からP28で急激に増加する一方、フリージング反応は変化しなかった。また、スタートル反応は減少し、立ち上がり反応は増加した。

(2) 恐怖反応の視覚経験依存的発達 (図 2)

視覚刺激に対する恐怖反応は、これまで生来的な行動だと考えられており、発達過程における感覚経験の操作が恐怖反応に影響を与えるかについてはこれまで報告されていなかった。発達過程の解析から、生後 21 日齢～28 日齢の間に逃避反応の発現確率が急激に増加することが明らかとなったため、この時期に暗室飼育を行って視覚経験を遮断する実験を行った。その結果、暗室飼育を経験したマウスでは 28 日齢では逃避反応が獲得されず、代わりにフリージング反応の出現率が増加していた。暗室飼育後 1 週間、通常環境で飼育したマウスで生後 35 日齢に行動実験を行うと、逃避反応は低下したままであり、通常の視覚経験のみでは逃避反応の発達は回復しないことが示された。しかし、暗室飼育終了直後の生後 28 日齢で行動実験を行い、さらに 1 週間通常環境で飼育したマウスでは、逃避反応が通常飼育マウスと同程度の頻度で観察された。したがって、恐怖反応の正常な発達には視覚経験が必要であること、視覚経験が阻害された場合、逃避反応の発達には単なる視覚情報だけでなく侵害的な視覚刺激に暴露された経験が必要であることが示唆された。上記の成果は恐怖反応のうち逃避反応が発達期に視覚経験に依存して獲得され、逃避かフリージングかというパターン選択が視覚経験依存的に制御されることを初めて明らかにしたものであり、論文として発表した。(Narushima et al., Journal of Physiological Sciences, 2022)

図 2. 視覚誘導性の恐怖反応の経験依存的可塑性



(3) 恐怖反応に関わる上丘 PV ニューロンの同定

視覚誘導性の恐怖反応のうち、素早い逃避行動に関連する上丘ニューロンが投射する Paragigeminal nucleus (PBGN) 核に逆行性トレーサーを注入し、標識された細胞から電気生理学的記録を行い、電流注入による発火特性の解析を行った。また記録後に恐怖反応をトリガーすることが知られているパルプアルブミン (PV) 陽性ニューロン群を識別するため、免疫染色を行い、PV 陽性と PV 陰性の PBGN 投射細胞の膜特性および形態学的特徴の比較を行った。その結果、PBGN 投射かつ PV 陽性の上丘ニューロンに発火特性において少なくとも高閾値 - 連続発火、低閾値 - 連続発火、一過性発火の 3 つのグループがあること、形態学的には表層方向に伸びる apical dendrite 様の樹状突起を持つ細胞が多いことが明らかになった。

(4) 光遺伝学的手法による大脳皮質由来入力の選択的刺激

網膜または大脳皮質一次視覚野に Channelrhodopsin 2 (ChR2) を発現するアデノ随伴ウィルス注入したマウスから上丘を含むスライスを作成し、網膜由来入力または大脳皮質由来入力を青色光により刺激して、PBGN に投射する上丘ニューロン群へのシナプス入力を解析した。その結果、ほぼすべての PBGN 投射ニューロンが網膜または大脳皮質からの単シナプス性の興奮性入力を受けることが明らかになった。現在、暗室飼育により大脳皮質由来入力に起こるシナプス伝達の可塑性についての解析を進めており、引き続き大脳皮質の活動操作が恐怖反応のパターン選択に与える影響の解明を目指している。また、ストレス環境下ではノルアドレナリンの作用により逃避反応の発現確率の増加、潜時の短縮などの変化が見られるという先行研究 (Li et al., 2018) をもとに、大脳皮質由来入力や網膜由来入力に対するノルアドレナリンの作用を検証している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Madoka Narushima, Masakazu Agetsuma, Junichi Nabekura	4. 巻 72
2. 論文標題 Development and experience-dependent modulation of the defensive behaviors of mice to visual threats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12576-022-00831-7	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鳴島 円
2. 発表標題 新生児期から成熟期にいたるシナプスの強化・刈り込み・維持のメカニズム
3. 学会等名 日本赤ちゃん学会第20回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Madoka Narushima, Masakazu Agetsuma, Junichi Nabekura
2. 発表標題 Development and experience-dependent modulation of defensive behaviors to visual threat in mice
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------