

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18548

研究課題名(和文)オペラントホイールランニング課題を用いた行動嗜癖の病態メカニズムの解明

研究課題名(英文)Analyses of neural mechanisms of the behavioral addiction using a novel operant running wheel paradigm

研究代表者

金田 勝幸(Kaneda, Katsuyuki)

金沢大学・薬学系・教授

研究者番号：30421366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：ゲーム、ネットなどの特定の行動にのめり込んでしまう行動嗜癖に対する治療法の開発が求められている。しかし、嗜癖の病態メカニズムには不明な点が多い。本研究では、マウスの執拗なランニングホイール(RW)回転行動に着目し、独自の動物モデル実験系を構築した。マウスが鼻先を穴に一定回数挿入するとRWのブレーキが解除され、RWを回転させることができる課題を構築し、鼻先挿入回数からRWへの欲求を評価した。その結果、側坐核でのドパミンD1、D2受容体およびセロトニン5-HT2C受容体を介した神経伝達、および、側坐核神経活動の減少がRWへの欲求に重要であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コロナ禍によりゲーム・ネット嗜癖症者が増加した。よって、科学的根拠に基づいた治療的介入法の開発は喫緊の課題である。本研究により、側坐核でのドパミンD1、D2受容体およびセロトニン5-HT2C受容体を介した神経伝達が行動嗜癖の病態メカニズムとして重要である可能性が示唆されたことから、これらを標的とした治療薬の開発に繋げることで、行動嗜癖という社会課題の解決に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：It is necessary to develop treatments for behavioral addictions, such as gaming, internet, etc. However, the pathological mechanism of addiction is still unclear. In this study, by focusing on running wheel (RW) rotation behavior of mice, we have constructed a novel experimental animal model system. We constructed a task in which mice can rotate the RW by releasing the RW brake after a certain number of nose pokes, which enabled us to evaluate the motivation for the RW. The results suggest that neurotransmission via dopamine D1, D2 receptors and serotonin 5-HT2C receptors in the nucleus accumbens and reduced nucleus accumbens neural activity were important for the motivation for RW.

研究分野：神経薬理学

キーワード：行動嗜癖 オペラント課題 ランニングホイール 依存症 ドパミン セロトニン 側坐核 フィバー  
フォトメトリ

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。

## 1. 研究開始当初の背景

行動嗜癖とは、社会生活に悪影響を及ぼすにもかかわらず、ギャンブル、ゲーム、インターネットなどの特定の行動にのめり込んでしまう状態を指す。国内のギャンブル、ゲーム、ネット障害患者数は740万人にもものぼるとされ、いわゆるIR推進法の成立、および、コロナ禍でのネット・ゲーム利用の増大に伴い、今後ますますその数が激増し、行動嗜癖がいつそう重大な社会問題となることが懸念される。したがって、行動嗜癖に対する治療的介入法の開発がきわめて重要である。そのためには行動嗜癖の病態解明が必要であるが、国内外の嗜癖研究は非常に遅れており、患者の脳イメージングに関する報告が多くを占め、脳神経回路や分子メカニズムに関する研究報告はほとんどない。さらに、行動嗜癖と薬物依存が同様の神経機構で誘導されるのか否かですら不明である。この最大の理由は、実験動物はネットやゲームをしないため、麻薬などを摂取させる薬物依存研究のような適切な動物モデル実験系の確立が困難であることによる。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、マウスがエサなどの報酬がなくても回し車(ランニングホイール:RW)を執拗に回転させることに着目し、まず、独自の「オペラントホイールランニング課題」を構築する。この新たな動物モデル実験系を用いて、薬物依存と密接に関わる脳内報酬系(腹側被蓋野(VTA)から側坐核(NAc)および内側前頭前野(mPFC)にいたるDA神経投射を中心とする神経回路)および衝動性やモチベーションに関わるセロトニン神経伝達に焦点を絞り、行動薬理学、脳活動イメージングなどの融合的解析手法を駆使することで、行動嗜癖の脳内病態メカニズムの解明を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 雄性C57BL/6Jマウス(8週齢以上)を使用した。オペラントホイールランニング課題では、マウスが穴に一定回数鼻先を挿入することで、ランニングホイール(RW)のブレーキが解除され、1分間RWを自由に回転できるようになるというオペラント条件づけを行った。まず、1時間自由にホイールランニングを行わせることで装置馴化を行った。1時間あたりの走行距離が400m以上かつ走行時間が20分間以上の基準を満たした後、fixed ratio (FR) taskに移行した。FR taskでは、マウスを1日1時間装置に入れ、マウスごとに決められた左右どちらかの穴に一定回数(FR)鼻先を挿入することで、1分間のホイールランニングが可能となることを学習させた。FR1において、連続する3日間のホイール解除数の安定後に、FR3、FR5、FR10と鼻先挿入の必要回数を増加させた。FR10において、連続する3日間のホイール解除数の変動が15%以内という基準を満たした後に、薬物投与を行った。側坐核(NAc)への薬物局所投与は、0.2  $\mu$ L/minの速度で薬液を注入することで行った。

(2) ファ이버フォトメトリーでは、マウスのNAcにアデノ随伴ウイルスベクター、AAVdj-hSyn-GRAB\_DA2h、または、AAVdj-hSyn-jGCaMP8を投与し、その直上に光ファイバーを埋め込んだ。2週間以上の回復の後、オペラントホイールランニング課題中に405nmおよび465nmの波長の励起光を照射し、525nmの蛍光をフォトレシーバーで測定した。信号に各種アルゴリズムを適用し正規化実験信号(zdFF)を得た。各イベント前後における蛍光強度変化の比較は、各行動開始時の-5秒から-3秒までの2秒間の曲線下面積(AUC)を基準とし、各行動開始時の-2秒から0秒までの2秒間のAUCと比較することで行った。

## 4. 研究成果

(1) オペラントホイールランニング課題において、RWブレーキ解除に必要な鼻先挿入回数(Fixed ratio: FR)を1, 3, 5, 10と増加させたところ、マウスの鼻先挿入回数も増加した。一方、1分間あたりの走行時間はFRに関わらず一定であった。報酬獲得に必要な労力の増加に伴い、欲求の程度を反映すると考えられる鼻先挿入回数も増加したことから、マウスはホイールランニングに対して強い欲求を示すことが確認された。また、報酬消費行動を反映すると考えられる走行時間は必要な労力の大きさによらず一定であることが示された。

(2) これまでに薬物や自然報酬に対する欲求には、脳内報酬系の一部である側坐核(NAc)におけるDA神経伝達が重要な役割を果たすことが知られている。そこで、ホイールランニングへの欲求発現に伴うNAcでのDA遊離量変化を計測するため、蛍光DAセンサーであるGRAB\_DA2hを用いて、オペラントホイールランニング課題中のファイバーフォトメトリー記録を行った。その結果、FR10における1回目の鼻先挿入前とホイールの解除後にDA遊離の有意な増加が確認された。従って、NAcにおけるDA遊離上昇がホイールランニングへの欲求発現に重要であることが示唆された。

(3) 次に、ホイールランニングに対する欲求制御におけるDA受容体の役割を検討した。DA D1受容体阻害薬、SCH23390(0.025-0.1mg/kg, i.p.)全身投与により、用量依存的に鼻先挿入回数および走行時間が有意に減少した。また、D2受容体阻害薬であるraclopride(0.1-0.6mg/kg, i.p.)全身投与は用量依存的に鼻先挿入回数を有意に減少させた一方で、走行時間に有意な影響を

与えなかった。次いで、NAcにおける各DA受容体の役割を明らかにするため、D1, D2受容体阻害薬のNAc局所投与がホイールランニングに対する欲求に与える影響を検討した。その結果、SCH23390 (0.05 µg/side)のNAc局所投与は鼻先挿入回数、および走行時間を有意に減少させた。また、raclopride (0.3 µg/side)のNAc局所投与は走行時間には影響を与えず、鼻先挿入回数を有意に減少させた。以上の結果より、NAc内のD1およびD2受容体を介した神経伝達が特定の行動に対する欲求の制御に重要であることが示唆された。

(4) 5-HT神経伝達は報酬情報処理に関与することが知られる。5-HT<sub>2C</sub>受容体遮断薬を全身投与したところ、鼻先挿入回数、およびRW回転時間が減少した。ホイールランニングに対する欲求制御における他の5-HT受容体サブタイプの間与について検討した。5-HT<sub>2A</sub>受容体阻害薬であるvolinanserin (0.01-0.1 mg/kg, s.c.)の全身投与は走行時間に影響を与えず、鼻先挿入回数を減少させた。一方で、5-HT<sub>1A</sub>、3受容体の阻害薬(WAY100635, 1, 3 mg/kg; ondansetron, 0.5, 2 mg/kg)の全身投与は鼻先挿入回数および走行時間に有意な影響を与えなかった。以上の結果から、5-HT<sub>2A</sub>および2C受容体を介した神経伝達が特定の行動に対する欲求の制御に重要であることが示唆された。

(5) NAcにおける神経活動をGCaMP8イメージングにより解析したところ、鼻先挿入時には減少し、RWのブレーキ解除時に一過性に増大した。また、鼻先挿入時における神経活動の減少はD1受容体遮断薬の投与により減少した。以上の結果から、RW回転に対する欲求発現に伴いDA遊離が亢進し、これがD1受容体を介してNAc神経活動の減少に寄与する可能性が示唆された。

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 0件）

1. 著者名 Zhang Tong, Nishitani Naoya, Niitani Kazuhei, Nishida Ryoma, Futami Yusaku, Deyama Satoshi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 432
2. 論文標題 A spatiotemporal increase of neuronal activity accompanies the motivational effect of wheel running in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113981 ~ 113981
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbr.2022.113981	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11件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 二井谷 和平、張 たん、二見 優作、西田 涼馬、笹瀬 人暉、泉 翔馬、西谷 直也、出山 諭司、金田 勝幸
2. 発表標題 マウスのランニングホイール回転運動に対するモチベーション調節の神経機構
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田勝幸
2. 発表標題 マウスのランニング・ホイール回転運動に対するモチベーションの神経機構
3. 学会等名 第43回日本生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会合同年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西田涼馬、二井谷和平、張たん、二見優作、笹瀬人暉、泉翔馬、西谷直也、出山諭司、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転運動に対するモチベーション制御におけるセロトニン神経伝達の関与
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tong Zhang、西谷直也、二井谷和平、西田涼馬、二見優作、出山諭司、金田勝幸
2. 発表標題 マウスのランニングホイールを回転行動に対するモチベーションに伴う神経活動の時空間的变化
3. 学会等名 アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 二井谷 和平、笹瀬 人暉、伊藤 志穂、泉 翔馬、西谷直也、出山 諭司、金田 勝幸
2. 発表標題 セロトニンによるランニングホイール回転行動に対するモチベーションの調節機構
3. 学会等名 アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動へのモチベーションの神経機構-齧歯類での行動嗜癖モデルの可能性
3. 学会等名 アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 二井谷和平、西田涼馬、泉 翔馬、西谷直也、出山諭司、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動に対するモチベーション制御における側坐核セロトニン神経伝達への役割
3. 学会等名 アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転運動を報酬とするオペラント課題を用いた行動嗜癖の薬理学的解明
3. 学会等名 BPCNP/PP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動に対するモチベーションに関与する脳領域の同定
3. 学会等名 BPCNP/PP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、谷口遥海、小久米泰祐、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動に対する動機づけを指標とした行動嗜癖の行動薬理学的解析
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、金田勝幸
2. 発表標題 マウスのランニングホイール回転行動を利用した行動嗜癖の病態メカニズムの解明
3. 学会等名 第100回生理学会年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

金沢大学医薬保健研究域薬学系 薬理学研究室  
<http://www.p.kanazawa-u.ac.jp/~yakuri/index.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
研究協力者	西谷 直也  (Nishitani Naoya)		

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