

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19318

研究課題名（和文）AIによる行動解析と神経活動イメージングを駆使した新しい行動薬理学の創成

研究課題名（英文）Advanced behavioral pharmacology using AI-based behavioral analysis and neural activity imaging

研究代表者

南 雅文（MINAMI, Masabumi）

北海道大学・薬学研究院・教授

研究者番号：20243040

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：AI技術を駆使した画像解析を用いた新しい行動薬理学を構築することを目的とした。行動嗜癖の神経機構解析に役立つ新しい行動試験系を開発することを目指し、マウスが好んで行う輪回し行動について検討を行い、輪回しに対する行動嗜癖形成後では、回し車があると、新奇物体、新奇マウス、エサに対する接近行動が減少することを明らかにした。この結果は、健康や社会生活を犠牲にして対象となる行動を続けるヒトの行動嗜癖を模倣していると考えられ、行動嗜癖モデルとして有用であることを示唆している。さらに、インビボドパミン遊離計測により側坐核内側シェルにおけるドパミン遊離が輪回し行動に対する行動嗜癖形成に関与する可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、マウス輪回し行動が行動嗜癖モデルとして有用であることを示した。さらに、カルシウムイメージングを用いたインビボドパミン遊離計測により側坐核内側シェルにおけるドパミン遊離が輪回し行動に対する行動嗜癖形成に関与する可能性を示し、行動嗜癖の神経機構の一端を明らかにした。近年、世界保健機関の国際疾病分類にゲーム障害が収載されるなど、精神障害の中でもゲームやギャンブルに対する行動嗜癖が今後益々問題になっていくことが考えられる。本研究成果により行動嗜癖の病態メカニズム解明が進み、新たな治療的・治療戦略の創出へと発展することが期待できるとともに、領域融合的な新しい学術の創成も期待できる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to establish a new behavioral pharmacology utilizing image analysis with AI technology. Aiming to develop a new behavioral test to analyze the neural mechanism of behavioral addiction, we examined whether wheel-running behavior is useful as a mouse model of behavioral addiction. After the development of behavioral addiction to wheel-running, approach behaviors to the novel object, novel mouse, and food were reduced in the presence of a running wheel. The results suggest that wheel-running may mimic the behavioral addiction in human where people continue the addictive behavior, such as gaming and gambling, at the expense of their health and social life, showing that wheel-running is useful as a mouse model of behavioral addiction. Furthermore, in vivo dopamine release measurements demonstrated that dopamine release in the medial shell of the nucleus accumbens may be involved in the development/maintenance of behavioral addiction to wheel-running behavior.

研究分野：神経薬理学

キーワード：行動薬理学 ディープラーニング 慢性痛 不安障害 うつ病 薬物依存 行動嗜癖

1. 研究開始当初の背景

(1) 行動薬理学的手法は、精神疾患・疼痛研究において疾患メカニズムや治療薬作用機序の研究に中心的な役割を果たしてきた。しかしながら、近年、精神疾患・疼痛領域では新規作用機序を有する治療薬開発の難易度が著しく上昇しており、ブレークスルーとなる新しい病態解析手法の開発が希求されている。特に、精神疾患・疼痛領域では中核症状が主観的なものであることが解析を困難にしている。従来の行動薬理学的手法の問題点として、多くの行動薬理学的試験において、1) 定常状態ではなく、精神的負荷や侵害刺激を与えた際の反応を評価する実験が多いこと、2) 動物の行動特性やヒトからの外挿により研究者が設定した限られた数の観察・評価項目により実験が行われることが挙げられる。

2. 研究の目的

(1) ディープラーニングなどのAI技術を駆使した最先端の画像解析により自由行動下の病態モデル動物から仮説フリーに行動情報の収集、解析を行うことで、これまで研究者が気づき得なかった評価項目を抽出し新しい行動薬理試験系を構築する。さらに、カルシウムイメージングを用いたインピボ神経活動計測と組み合わせ、行動情報と脳内神経活動情報の相関を統合的に解析することで、精神機能変化・疼痛や薬物作用を鋭敏に検出、評価し、関与する脳内メカニズムの予測情報を提供できる新しい行動薬理学を創成することを目的とする。近年、世界保健機関の国際疾病分類に、ゲーム障害の定義が記載されるなど、精神変容の中でもゲームやギャンブルに対する行動嗜癖が今後益々問題になっていくことが考えられるため、本研究では、行動嗜癖の神経機構解析に役立つ新しい行動試験を開発することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 実験動物：実験には、雄性 C57BL/6J マウスを使用した。すべての動物実験は、北海道大学動物実験委員会の承認のもと行われた。

(2) 条件付け場所嗜好性 (CPP) 試験：取り外し可能な仕切りで区切られた識別可能な2つの同じサイズのコンパートメント (25×25×30 cm) で構成されるボックスを使用した。1日目 (プレテスト) にマウスに2つの部屋を15分間自由に探索させた。2~12日目 (回し車に対する訓練および条件付け) では、マウスを何も置いていない一方の部屋に30分間閉じ込め、6時間後に回し車 (running wheel, RW) もしくは走行不能の (固定した) RW (fixed RW) を置いた他方の部屋に30分間閉じ込めた。13日目 (ポストテスト) に再びマウスに2つの部屋を15分間自由に探索させ、各部屋の滞在時間を測定した。ポストテストにおけるRWペアサイド滞在時間からプレテストにおける滞在時間を引いた値をCPPスコアとして算出した。

(3) 新規行動試験の開発 (図1)：白色チャンパー (20×50×30 cm) を端から、ゾーン1、ゾーン2、ゾーン3に分け (ゾーン1, 3: 20×20×30 cm、ゾーン2: 20×10×30 cm) 1~11日目には、ゾーン1にRWを置いてマウスを毎日30分間ずつ輪回し訓練した。12日目に、ゾーン1にRWを、ゾーン3の中心に新奇物体を置いて自由にチャンパー内を10分間探索させ、各ゾーンにおける滞在時間を測定した (図1A)。対照として、1~12日目にゾーン1になじみのある物体を置いた群と、fixed RWを置いた群を設けた。同様に、12日目のゾーン3に檻に入った新奇マウスを置き、チャンパー内を10分間自由に探索させる実験 (図1B) および、12日目のゾーン3にエサ箱に入ったエサを置き、チャンパー内を30分間自由に探索させる実験 (図1C) も行い、各ゾーンにおける滞在時間を測定した。マウスの行動解析には、ディープラーニング技術によりビデオ画像をもとにマウス上の指定した点の動きを追跡するNoldus社のEthoVision XT システムを用いた。

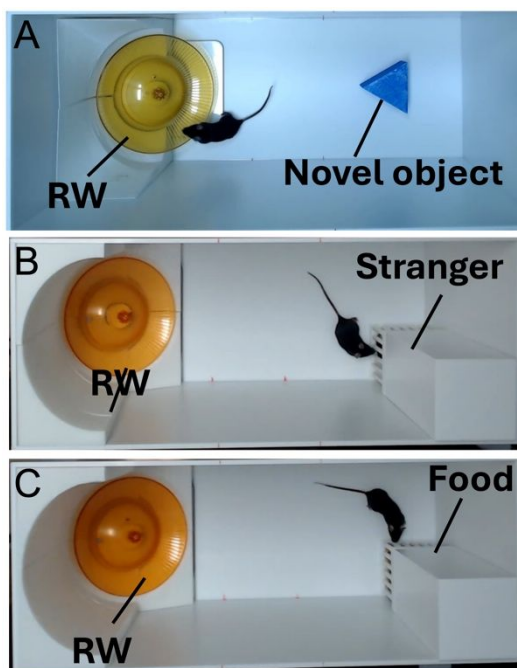


図1 輪回し行動に対する行動嗜癖を評価するための新規行動試験 回し車 (RW) をゾーン1に、新奇物体 (Novel object) (A)、新奇マウス (Stranger) (B)、あるいは、エサ (Food) (C) をゾーン3に設置し、マウスに自由にアクセスさせ、ゾーン3での滞在時間を計測した。

(4) ファイバーフォトメトリー法によるドパミン遊離計測：マウス側坐核に AAV-hSyn-GRAB_DA2m を注入した後、光ファイバーを埋め込

み、歯科用セメントで固定した。数日の回復期間の後、RW を置いたチャンバー (20 × 30 × 30 cm) 内で輪回し訓練を 30 分 / 日実施した (1 ~ 11 日目)。12 日目に RW 接近時の側坐核内ドパミン遊離を測定した。取り外し可能な仕切りで区切られた待機場所 (20 × 7 × 30 cm) にマウスを入れ、2 分後に仕切りを取り外して RW に 1 分間アクセス可能な状態にした。これを 10 トライアル行い、蛍光強度計測の結果を平均した。ベースラインは最初に仕切りを取り外す前の 10 秒間の蛍光強度とし、計測した蛍光強度変化の Z スコアを算出した。1 ~ 12 日目に fixed RW をおいた群、もしくは、何も置いていない (No RW) 群を対照群とした。さらに、9 ~ 12 日目に新奇マウスもしくはエサを置いた群でのドパミン遊離を計測し、RW によるドパミン遊離と比較した。

4. 研究成果

(1) CPP 試験: 条件付けチャンバー内における輪回し回転数は経日的に増加した。RW ペアサイドでの滞在時間は条件づけ前に比較して条件付け後に有意に増加した (図 2A)。Fixed RW で条件付けした場合も条件付け後にペアサイドでの滞在時間は有意に増加したが (図 2B)、CPP スコアは、Fixed RW 群に比較し RW 群の方が有意に大きかった (図 2C)。

(2) 新規行動試験の開発: ゾーン 1 に RW が存在する群では、ゾーン 1 になじみのある物体がある場合や fixed RW がある場合に比べて、新奇物体があるゾーン 3 に滞在する時間が有意に短かった。ゾーン 3 に新奇マウスを置いた場合についても、ゾーン 1 に RW が存在する群では、ゾーン 1 に fixed RW や空の檻が置いてある場合に比べて、ゾーン 3 に滞在する時間が有意に短かった。6 時間および 12 時間絶食後のマウスにおいてゾーン 3 にエサを置いた場合は、ゾーン 1 に RW が存在する群では、ゾーン 1 に空のエサ箱や fixed RW が置いてある場合に比べて、エサがあるゾーンに滞在する時間が有意に短かった。

(3) ファ이버フォトメトリー法によるドパミン遊離計測: RW への接近時に側坐核内側シェルでドパミン遊離が増大した。対照群である fixed RW 群や No RW 群に比較して RW 接近時の Z スコアはより大きかった。側坐核コアにおいては RW への接近時にドパミン遊離は増大したが、fixed RW 接近時と同程度であった。側坐核外側シェルにおいては、しきりが外された際の運動開始時にドパミン遊離の一過性上昇が見られたが、ドパミン遊離は fixed RW 群や No RW 群と同程度であった。側坐核内側シェルにおいて、新奇マウスへの接近時や、6 時間絶食後にエサに接近する時のドパミン遊離と比較して、RW 接近時のドパミン遊離はより大きかったが、RW 接近時と 12 時間絶食後でのエサ接近時ではドパミン遊離は同程度であった。

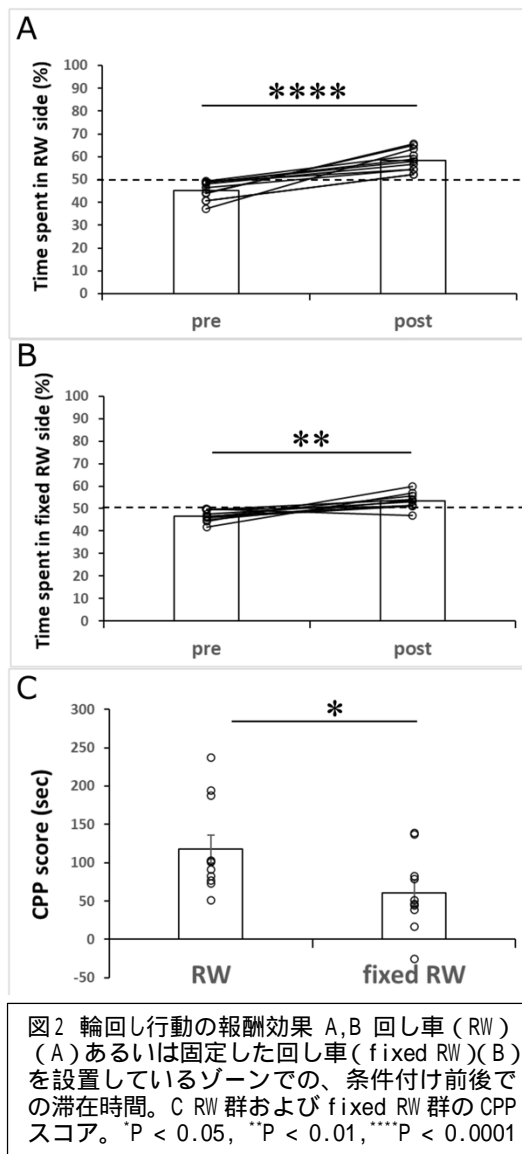


図2 輪回し行動の報酬効果 A, B 回し車 (RW) (A) あるいは固定した回し車 (fixed RW) (B) を設置しているゾーンでの、条件付け前後での滞在時間。C RW 群および fixed RW 群の CPP スコア。*P < 0.05, **P < 0.01, ****P < 0.0001

(4) 本研究において、輪回しによる条件付けは場所嗜好を生じさせたことから、輪回し行動には報酬効果があると考えられる。ファイバーフォトメトリーの試験では、RW 接近時にドパミン遊離が増大したのは側坐核内側シェルと側坐核コアであり、側坐核外側シェルでは増大しなかった。側坐核内側シェルでは fixed RW 群と比較しても RW 群でドパミン遊離は増大した。これらの結果より、輪回し行動の報酬効果には、特に、側坐核内側シェルが関与している可能性が示唆された。一方、fixed RW による条件付けでも場所嗜好が生じたこと、fixed RW 接近時にも側坐核コア内でドパミン遊離が増大したこと、さらに、fixed RW に登るなどの行動が観察されたことから、fixed RW も一定の報酬効果を有する可能性が考えられた。接近行動の対象となる新奇物体や新奇マウス、エサを、RW と同時に与えた場合、新奇物体等の探索が減少することが示された。また、RW 接近時のドパミン遊離は、新奇マウス接近時や 6 時間絶食後のエサ接近時のドパミン遊離より大きいことが示された。行動嗜癖では、自身の健康や社会生活に支障を来すにもかかわらず特定の行動を欲求してしまうことが問題となる。接近行動の対象となるべき新奇物体、新奇マウス、エサへの接近を減少させてまで RW に接近することを示した本研究の結果は、輪回し行動が行動嗜癖のモデルとして有用であることを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamauchi, N., Sato, K., Sato, K., Murakawa, S., Hamasaki, Y., Nomura, H., Amano, T., Minami, M.	4. 巻 8
2. 論文標題 Chronic pain-induced neuronal plasticity in the bed nucleus of the stria terminalis causes maladaptive anxiety.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabj5586
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abj5586	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 Arakaki, S., Minami, M.	4. 巻 42
2. 論文標題 Role of noradrenergic transmission within the ventral bed nucleus of the stria terminalis in nicotine withdrawal-induced aversive behavior.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Report	6. 最初と最後の頁 233-237
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/npr2.12252	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10件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新垣紗也、森翠、南雅文
2. 発表標題 行動嗜癖モデルとしての輪回し行動の有用性
3. 学会等名 第46回日本神経科学学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 南雅文
2. 発表標題 慢性痛における情動システムの変容
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 南雅文
2. 発表標題 慢性痛による抑うつ・不安の神経機構
3. 学会等名 第74回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森翠、新垣紗也、南雅文
2. 発表標題 輪回し行動に関連したマウス側坐核内ドパミン遊離
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 新垣紗也、南雅文
2. 発表標題 ニコチン離脱時の嫌悪行動における腹側分界条床核内ノルアドレナリン神経情報伝達の役割
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森翠、新垣紗也、南雅文
2. 発表標題 輪回し行動に関連したマウス側坐核内ドパミン遊離
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 南雅文
2. 発表標題 慢性痛による負情動生成の神経機構
3. 学会等名 第52回日本神経精神薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新垣紗也、南雅文
2. 発表標題 ニコチン離脱時の嫌悪情動における腹側分界条床核内ノルアドレナリン神経情報伝達の役割
3. 学会等名 第52回日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 南雅文
2. 発表標題 慢性痛による脳報酬系機能低下
3. 学会等名 第44回日本疼痛学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新垣紗也、南雅文
2. 発表標題 ニコチン離脱時の嫌悪行動における腹側分界条床核内ノルアドレナリン神経情報伝達の役割
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北海道大学 大学院薬学研究院 医療薬学部門 医療薬学分野 薬理学研究室
<https://www.pharm.hokudai.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	天野 大樹 (AMANO Taiju)		
研究協力者	野村 洋 (NOMURA Hiroshi)		
研究協力者	山内 直紀 (YAMAUCHI Naoki)		
研究協力者	佐藤 圭一郎 (SATO Keiichiro)		
研究協力者	佐藤 健太 (SATO Kenta)		

6. 研究組織（つづき）

	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	村川 俊作 (MURAKAWA Shunsaku)		
研究協力者	濱崎 友美 (HAMASAKI Yumi)		
研究協力者	新垣 紗也 (ARAKAKI Saya)		
研究協力者	森 翠 (MORI Midori)		

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