

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間： 2007～2008

課題番号：19730458

研究課題名（和文） 報酬に基づく学習に関与する脳内メカニズムの解明

研究課題名（英文） Study on the brain mechanisms involving learning with reward

研究代表者 畑 敏道 (HATA TOSHIMICHI)

同志社大学・心理学部・准教授

研究者番号：50399044

研究成果の概要：視床下部で合成されるオレキシンが、脳内報酬系の働きに与える効果を検討した。脳内報酬系は、薬物依存のみならず、食行動の異常などにも関与していると考えられている部位である。実験の結果、腹側被蓋野に投与したオレキシンは、コルチコトロピン放出因子(CRF)含有ニューロンの活動を増大させることで脳内自己刺激の閾値を上昇させることが示唆された。この結果は、薬物依存などの行動の形成過程にオレキシンやCRFが関与している可能性を示している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,100,000	240,000	2,340,000

研究分野：社会科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：オレキシン、CRF、脳内報酬系、脳内自己刺激、マイクロダイアリス、ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

オレキシンは脳内報酬系の中心的な部位で合成され、またそれらの部位へ投射している。しかし、オレキシンが脳内報酬系において果たす役割についてはほとんど明らかではなかった。そこで、オレキシンが報酬系において果たす役割について検討した。

2. 研究の目的

(1) 脳内自己刺激行動にともなってオレキシンニューロンが賦活するか否かを検討した。
 (2) 腹側被蓋野(VTA)内オレキシンA投与が脳内自己刺激閾値に与える効果について検討した。

(3) 腹側被害野(VTA)内オレキシシンA投与が前頭前野、側坐核、扁桃体中心核、分界条床核でのドーパミン放出に与える効果について検討した。

(4) 腹側被害野(VTA)内オレキシシンA投与が扁桃体中心核・分界条床核のCRFニューロンの活動に与える効果について検討した。

(5) 腹側被害野(VTA)内オレキシシンA投与による自己刺激閾値の上昇に与える脳室内CRF阻害薬投与の効果について検討した。

3. 研究の方法

(1) 外側視床下部に刺激電極を埋込み、レバー押し行動にともなって、この電極を介して同部位を弱い電気刺激で刺激することで、レバー押し行動を獲得させた。1日1時間、5日間の訓練終了90-120分後にラット脳を灌流固定し、オレキシシンと神経活性化マーカーであるc-Fos蛋白との免疫組織化学的二重染色を行った。

(2) 腹側被蓋野(VTA)にオレキシシン投与用のガイドカニューレを埋込む手術を施した後、自己刺激行動を獲得させた。行動が安定した後、刺激強度を体系的に操作し、自己刺激行動が生じる閾値となる刺激強度を求めた。この刺激閾値がオレキシシン-AのVTA内投与にともなっていかなる変化を示すのかを観察した。

(3) VTA内にオレキシシン-Aを投与し、同部位のドーパミンニューロンの投射部位である前頭前野、側坐核 shell野及びcore野、扁桃体中心核、分界条床核でのドーパミン放出に与える効果を、マイクロダイアリシス法を用いて検討した。

(4) VTAにオレキシシン-Aを投与し、90-120分後に脳を灌流固定した。そして、扁桃体中心核および分界条床核のCRFニューロンの活動を、神経活性化マーカーであるC-FosとCRF

との免疫組織化学的二重染色によって検討した。

(5) 腹側被蓋野(VTA)にオレキシシン投与用の、側脳室内にCRFアンタゴニスト投与用のガイドカニューレを埋込む手術を施した後、自己刺激行動を獲得させた。行動が安定した後、刺激強度を体系的に操作し、自己刺激行動が生じる閾値となる刺激強度を求めた。オレキシシン-A投与の有無、CRFアンタゴニスト投与の有無を組み合わせた4条件下で、自己刺激閾値の違いを比較した。

4. 研究成果

(1) 自己刺激行動に伴い、外側視床下部の外側部では、c-Fos陽性細胞の数は刺激側で反対側よりも有意に多かった。しかし、c-Fosとオレキシシン-A抗体により二重染色されたニューロンの割合では刺激側・反対側とも同程度に有意に増加していた。また、medial/perifornical areaではこのような増加は見られなかった。これらのことから、外側視床下部の外側部のオレキシシン以外のニューロンは自己刺激によって活性化されたが、同部位のオレキシシンニューロンの活動はおそらく覚醒水準の亢進や活動性の増加と関連して二次的に増加したことが示唆される。また、オレキシシンニューロンは自己刺激行動を引きおこす“1st stage”ニューロンではないことが示唆される。

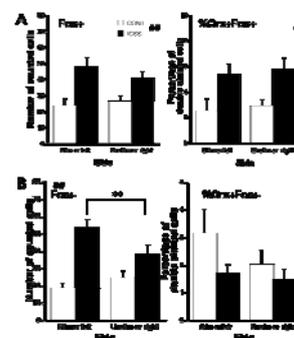


図1 脳内自己刺激行動にともなう外側視床下部でのc-Fosおよびオレキシシン-A陽性細胞数。(A)Medial/perifornical領域、(B)外側領域

(2)VTA への オレキシシン-A(0.1, 0.5, 1.0nmol)投与は用量依存的に自己刺激閾値を上昇させた。また、この効果はオレキシシン-AアンタゴニストであるSB-334867の前処置によって有意に抑制された。また、アンタゴニストの単独投与は自己刺激閾値に影響しなかった。このことは、オレキシシン-Aの閾値上昇効果は確かにオレキシシン-A受容体を介して生じていたことを示唆している。

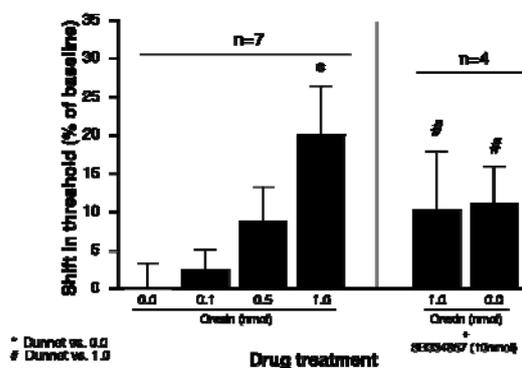


図2 VTA内オレキシシン-A投与が自己刺激閾値に与える効果

(3)VTAへのオレキシシン-A投与は、側坐核core野を除く全ての領域でのドーパミン放出を有意に増加させた。また、この効果は1-2時間にわたって持続した。

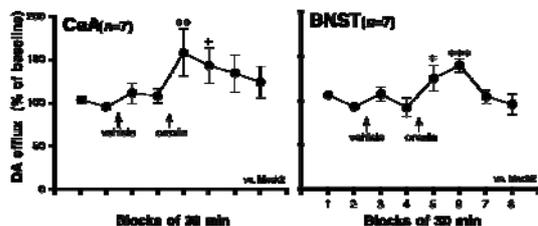


図3 VTA内オレキシシン-A投与が扁桃体中心核(左)および分界条床核(右)でのドーパミン放出に与える効果

(4)VTAへのオレキシシン-A投与は扁桃体中心核のCRFニューロンを賦活させたが、分界条床核ではこのようなCRFニューロンの賦活はみられなかった。このことは、VTAへのオレキシ

シン投与が扁桃体中心核のCRF含有ニューロンを直接あるいは間接的に活性化させることを示唆している。

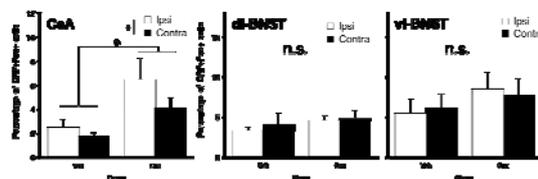


図4 VTAへのオレキシシン-A投与にともなう扁桃体中心核(左)、分界条床核背外側部(中央)および腹外側部(右)でのc-FosおよびCRF陽性細胞数

(5)オレキシシン-AのVTA投与により、自己刺激閾値の上昇が再現された。また、この上昇は、脳室内へのCRFアンタゴニストであるD-Phe-CRF₁₂₋₄₁の投与により抑制された。また、CRFアンタゴニスト単独投与は自己刺激閾値に影響を与えなかった。このことは、オレキシシン-AのVTA内投与による自己刺激閾値の上昇がCRFニューロンの賦活によって生じることを示唆している。

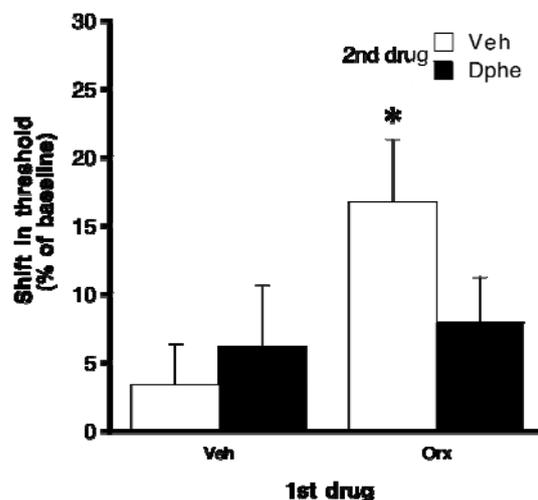


図5 VTA内オレキシシン-A投与にともなう自己刺激閾値の上昇に与える脳室内CRFアンタゴニスト投与の効果

以上のことから、VTAへのオレキシシン-A投与はドーパミン系を仲介して扁桃体中心核のCRFニューロンを活性化し、自己刺激閾値を上昇させていることが示唆された。研究代

表者の知る限り、これらの結果のほとんどが世界で初めての報告であり、今後大変重要な意味を持つことになると思われる。また、薬物嗜癖の形成・維持にオレキシン系とCRF系が関与している可能性を示しており、新たな介入法開発の可能性を含んでいる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計3件)

① Hata, T. et al., 2007 Intra-VTA orexin-A increases intracranial self-stimulation threshold and dopamine efflux in the stress-related brain regions in rats. 37th Society for Neuroscience, San Diego.

② Hata, T. et al. 2007 Orexin attenuates the rewarding effect of intracranial self-stimulation in rats 第30回日本神経科学大会、横浜

③ 畑 敏道 2009 視床下部ペプチド・オレキシンの脳内報酬系における役割について 日本行動科学学会第25回ウィンターカンファレンスシンポジウム 妙高高原

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑 敏道 (HATA TOSHIMICHI)

同志社大学・心理学部・准教授

研究者番号：50399044