

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H05995

研究課題名(和文) 不安障害モデル動物における腹側被蓋野-前頭前皮質神経回路の機能解明

研究課題名(英文) Role of VTA-PFC circuit in an animal model of anxiety disorders

研究代表者

人羅 菜津子 (HITORA, Natsuko)

北海道大学・薬学研究院・助教

研究者番号：40762191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：恐怖復元を不安障害の再発モデルとして用いて神経基盤解明を目指した。以前の研究から前頭前皮質のドパミン D1 受容体が必要であることを明らかにしていたが、本研究により D2 受容体は必須ではないことを明らかにした。また、前頭前皮質が形成する神経回路を網羅的に観察する中で、水道周囲灰白質に対する密な投射を見出した。前頭前皮質から水道周囲灰白質への神経回路の活性化により自発運動量が増大する傾向が認められた。本成果は、生物が環境に応じて行動を柔軟に調節するメカニズムの解明に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated neural basis of fear reinstatement, which was used as an animal model of relapse of anxiety disorders. We found that prefrontal dopamine D1 receptor, but not D2 receptor, is necessary for fear reinstatement. Also, we did anatomical analysis on prefrontal neuronal circuits and found that there is a dense projection from prefrontal cortex (PFC) to periaqueductal gray matter (PAG). Optogenetic activation of PFC-PAG increased locomotor activity. These results contribute to elucidate the mechanism by which animals flexibly regulate behavior according to the environment.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 記憶・学習 不安障害 神経回路

1. 研究開始当初の背景

恐怖は生物が環境に適応して生存するために重要である。一方で過剰な恐怖は不安障害などの精神疾患の原因となる。不安障害治療には抗うつ薬や抗不安薬が用いられるが、症状が寛解した患者のうち約 40 % において症状が再発するという問題点がある (Bruce, 2005; Ansell, 2011)。近年、不安障害に対する新たな治療法として、認知行動療法の一つである曝露療法が注目されている。曝露療法では、患者を恐怖の対象に徐々にさらしていくことにより現在の環境がもう危険ではないことを学習させて恐怖を克服させる。動物モデル (恐怖条件づけと消去学習) を用いた基礎研究が国内外で盛んに行われており、その神経回路メカニズムが解明されてきている。一方、再発に関する研究は非常に少なくメカニズムはほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

本研究は、不安障害再発の動物モデル (恐怖復元) を用いて再発のメカニズムを解明することを目的とした。筆者はこれまでに、復元時に腹側被蓋野 (VTA) - 前頭前皮質 (PFC) 回路を形成するドパミン性細胞が活性化すること、恐怖の復元には PFC の D1 受容体シグナルが必要であることを明らかにしてきた。PFC にはドパミン D1 受容体と D2 受容体の両方が存在することが知られている (Vincent 1993; Santana 2009) が、D2 受容体も D1 受容体と同様に復元に必要であるのかどうかは明らかでなかったため、これについて検討した。

さらに、PFC がどのような下流の脳領域に信号を送り行動を制御するのかを調べるため、PFC が形成する神経回路の解剖学的な検討と光遺伝学的手法による機能の解明をおこなった。

3. 研究の方法

(1) 消去学習後の恐怖復元を不安障害再発の動物モデルとして研究をおこなった。環境 A 内でマウスに電気ショックを与え (条件づけ)、翌日、電気ショックを一度も与えずに環境 A に 40 分間再曝露した (消去トレーニング)。消去トレーニングにより恐怖反応は減少した。その後、別の環境 B で弱い電気ショックを与えることにより、環境 A に対する恐怖反応を復元させた。

(2) PFC がどのような下流の脳領域に信号を送り行動を制御するのかを調べるため、PFC が形成する神経回路を解剖学的に検討した。PFC の中でも特に前帯状皮質 (ACC) をターゲットとして CaMK II プロモーターの下流で蛍光タンパク質 (eYFP) を発現するアデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を投与し、ACC が興奮性投射を送る脳領域の網羅的解

析をおこなった。

(3) PFC-中脳水道周囲灰白質 (PAG) 経路を人工的に活性化することにより、マウスの行動にどのような変化が現れるかを検討した。ACC に AAV-CaMK II-チャンネルロドプシン (ChR2)-eYFP を投与し、PAG に光ファイバーを埋め込む手術をおこなった (ChR2 群)。光ファイバーを介して PAG に青色光を照射することにより ACC-PAG 経路を人工的に活性化した。AAV-CaMK II-eYFP を投与したマウスをコントロール群 (eYFP 群) とした。

4. 研究成果

(1) 恐怖反応の復元に関与する PFC ドパミンシグナルの薬理学的特性を明らかにした。PFC の D2 受容体シグナルが恐怖の復元に必要であるかどうかを行動薬理学実験により検証した。弱い電気ショックを与える前に、D2 受容体阻害薬である Sulpiride (1 µg/side) を PFC に局所投与した。翌日マウスを実験環境 A に再曝露して恐怖反応時間を測定したところ、消去トレーニング後に比べて恐怖反応時間が長く、復元が誘導されていた。このことから、PFC の D2 受容体は復元に必須ではないことが示された。

(2) ACC が形成する神経回路を解剖学的に検討した。その結果、線条体尾状核被殻、前障、側坐核、二次運動野、視床、背側梨状皮質、背外側中脳水道周囲灰白質 (dIPAG) において eYFP 蛍光が観察された (図 1)。

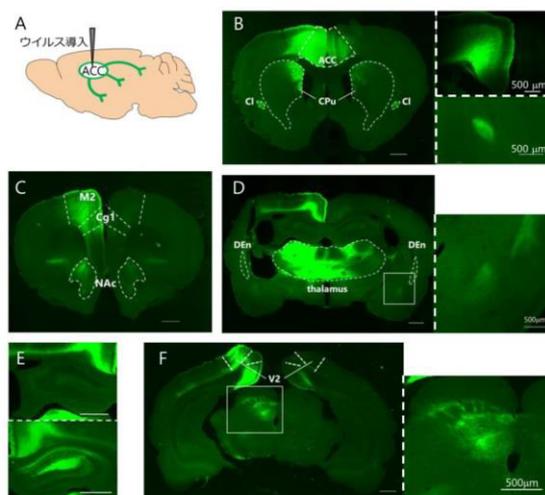


図 1 ACC 神経細胞からの興奮性神経投射

(A) ACC の興奮性神経細胞に AAV-CaMK II-ChR2-eYFP を導入し、神経回路を可視化した。(B) ACC [ウイルス投与位置], 線条体尾状核被殻 CPu, 前障 Cl, (C) 側坐核 NAc, 二次運動野 M2, (D) 視床 thalamus, 背側梨状皮質 DEn, (E) 海馬 CA1, (F) PAG を含む冠状切片の eYFP 蛍光画像。

なお、海馬 CA1 野では、2 個体中 1 個体でのみ eYFP 蛍光が認められた。蛍光が認められた個体のウイルス投与部位は比較的尾側寄りであったため、ACC 内の空間的分布によって神経細胞が形成する神経回路が異なる可能性が示唆される。また、反対側 ACC においても eYFP 蛍光が認められた。

(3) 光遺伝学的手法により ACC-PAG 経路を人工的に活性化し、行動に与える影響を検討した。オープンフィールド試験をおこない、ACC-PAG 経路の活性化が自発運動量に与える影響を検討した。150 秒ごとに 3 回、光の ON と OFF を交互に繰り返した。ON セッションでは、光の強度を 5、7、9 mW と順に上げた。その結果、ON セッションでは Chr2 群がコントロール群に比べて自発運動量が上昇する傾向が認められた。OFF セッションではこのような傾向は認められなかった (図 2)。

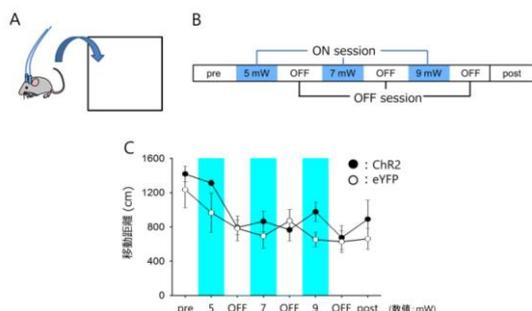


図 2 ACC-PAG 経路活性化による行動変化 (A) マウスにオープンフィールド内を自由に探索させた。(B) 実験パラダイム。(C) 各セッションにおけるマウスの移動距離の推移。

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)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

- ① Natsuko Hitora-Imamura, Yuki Miura, Chie Teshirogi, Yuji Ikegaya, Norio Matsuki, Hiroshi Nomura, Prevention of fear re-appearance by blockage of dopamine signaling, The 46th Annual Meeting of The Society for Neuroscience, 2016/11/14, San Diego (アメリカ)

- ② Natsuko Hitora-Imamura, Yuki Miura, Chie Teshirogi, Yuji Ikegaya, Norio Matsuki, Hiroshi Nomura, Prevention of fear re-appearance by blockage of dopamine signaling, The 15th Annual Molecular and Cellular Cognition Society Meeting, 2016/11/10, San Diego (アメリカ)

- ③ Natsuko Hitora-Imamura, Yuki Miura, Chie Teshirogi, Yuji Ikegaya, Norio Matsuki, Hiroshi Nomura, Prefrontal dopamine-dependent plasticity mediates relapse in an animal model of anxiety disorders, The 30th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology, 2016/7/3, ソウル (韓国)

- ④ 人羅 (今村) 菜津子、三浦友樹、手代木知恵、池谷裕二、松木則夫、野村洋、不安障害再発モデルにおける前頭前皮質ドーパミンの機能解明、第 46 回日本神経精神薬理学会年会、2016/7/2、ソウル (韓国)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

人羅 菜津子 (HITORA, Natsuko)
北海道大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：40762191

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()