

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20846

研究課題名(和文) 幼少期環境が生むストレス脆弱性における内側前頭前野の脳半球間抑制の機能解明

研究課題名(英文) Involvement of the medial prefrontal cortex in stress vulnerability induced by early life stress

研究代表者

二階堂 義和 (Nikaido, Yoshikazu)

弘前大学・医学研究科・助教

研究者番号：50613478

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は幼少期ストレスが生むストレス脆弱性における左右内側前頭前野の機能解明を目指した。母子分離ストレスを負荷したマウスは成熟後、新規環境に対する不安行動の増加と社会性不安行動の増加を起こした。オプトジェネティクスを用いて右内側前頭前野に連絡する左内側前頭前野神経細胞を興奮させた結果、新規環境への不安行動は抑制されたが、社会性不安行動が増加した。以上から、左右内側前頭前野は幼少期ストレスの影響を受け、環境や社会に由来するストレスへの不安発現調節に関わることが示唆された。しかし、その調節様式は様式ではなく、ストレス脆弱性に左右内側前頭前野がどのように関わるのか引き続き検討していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the involvement of the medial prefrontal cortex (mPFC) activity in stress vulnerability in mice subjected to maternal separation stress. Mice subjected to postnatal maternal separation stress showed increases in open-field anxiety and social-anxiety after maturation. The optogenetic activation of neurons in the left mPFC which projected to the right mPFC reduced open-field anxiety but increased social anxiety. These results suggest that the mPFC is influenced by postnatal maternal separation stress and that the interaction between the left and right mPFC might be differently involved in modulation of anxiety induced by novel environment and social environment.

研究分野：認知行動神経科学

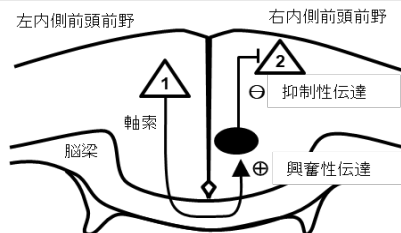
キーワード：幼少期ストレス ストレス脆弱性 内側前頭前野 脳半球間抑制 脳半球間連絡

### 1. 研究開始当初の背景

不安障害等の発症リスクを増加させる要因に幼少期のストレスが挙げられる。育児放棄や虐待等の粗悪な養育環境はストレス脆弱性を形成し、ストレス応答性や情動行動に長期的に影響を及ぼす。しかし、幼少期ストレスを原因とするストレス脆弱性の形成基盤については依然不明な点が多い。

右内側前頭前野はストレスと情動行動の発現調節に、左内側前頭前野は右内側前頭前野の抑制的な調節に関与すると考えられている(Cerqueira et al, Brain Behav Immun 2008)。また、ストレス脆弱性を示す不安障害患者の左右前頭前野はそれぞれ活動異常を示すことが分かっている(Davidson et al, Curr Opin Neurobiol 1999)。これらの知見から、左右内側前頭前野の活動バランスがストレスや恐怖・不安の発現に重要な役割を担うことが示唆される。左右大脳半球の活動バランス制御を担う機構の一つに大脳半球間抑制が挙げられる(図1)。これまでに体性感覚野神経回路における大脳半球間抑制の機構が報告され(Palmer et al, Science 2012)、運動調節や知覚の制御に関わる脳部位の大脳半球間抑制が注目されているが、ストレスや情動行動の制御に関与する内側前頭前野神経回路の大脳半球間抑制が担う機能は分かっていない。

図1. 大脳半球間抑制: 興奮性神経細胞(▲)は反対側のGABA作動性神経細胞(●)を介して興奮性神経細胞(△)を抑制する。



### 2. 研究の目的

本研究では、ストレス応答や情動行動の発現に左右内側前頭前野の活動バランスが関与しているという仮説のもと、幼少期ストレスによる内側前頭前野大脳半球間抑制の異常がストレス脆弱性を生むと考え、その機序解明を目指した。

### 3. 研究の方法

(1)母子分離ストレス負荷マウスの行動解析  
母子分離ストレスによる成熟後のストレス脆弱性を評価するために行動解析を行った。

### (2)大脳半球間神経連絡の標識

左内側前頭前野は右内側前頭前野の抑制的な調節に関与すると考えられることから、本研究はEYFPをコードするアデノ随伴ウイルスベクター(Adeno-associated virus, AAV)を用いて右内側前頭前野に投射する左内側前頭前野神経細胞を標識した。

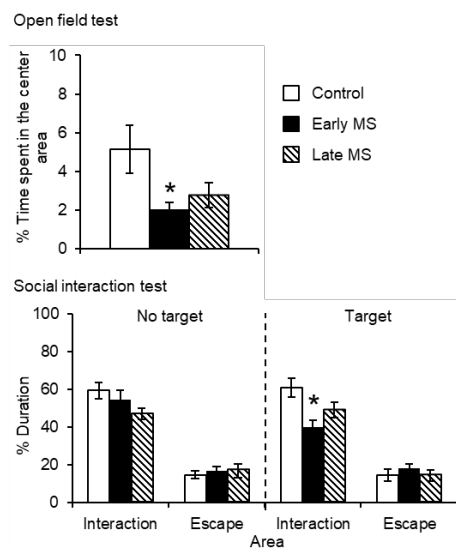
(3)大脳半球間神経連絡の光遺伝学的刺激による不安関連行動の変化の評価

Channelrhodopsin2 (ChR2)または Halorhodopsin (eNpHR)をコードするAAVを左内側前頭前野に投与し、右内側前頭前野に挿入した光ファイバーを介して左内側前頭前野神経細胞を光刺激した。行動試験時の光刺激の有無で行動に変化が生じるか調べた。

### 4. 研究成果

(1)母子分離ストレス負荷マウスの行動解析  
生後1から14日目まで母子分離ストレス(Early maternal separation, Early MS)を負荷した群とコントロール群の成熟後の不安関連行動を評価した結果、Early MS群は有意に新規環境への不安行動の増強や社会的相互作用行動の低下を示した(図2)。Y字迷路における空間記憶能力に変化はなかった。また、生後14日目から21日目まで母子分離ストレス(Late MS)を負荷したマウスは僅かに不安関連行動を示すが、社会的相互作用行動の低下や空間記憶能力の異常は示さなかった。

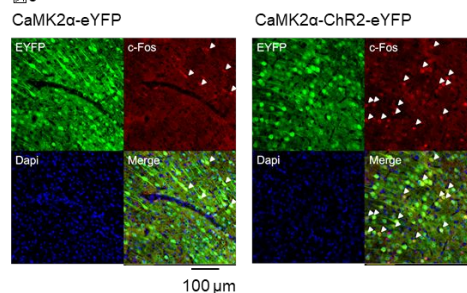
図2



### (2)大脳半球間連絡の標識

AAV-CaMK2a-EYFP及び AAV-CaMK2a-ChR2-EYFPによってマウス左内側前頭前野から右内側前頭前野へ投射する神経細胞を確認した。右内側前頭前野の光ファイバーから478 nm光刺激を行った結果、ChR2を導入した左内側前頭前野神経細胞にc-Fos発現が見られた(図3: 白矢頭)。

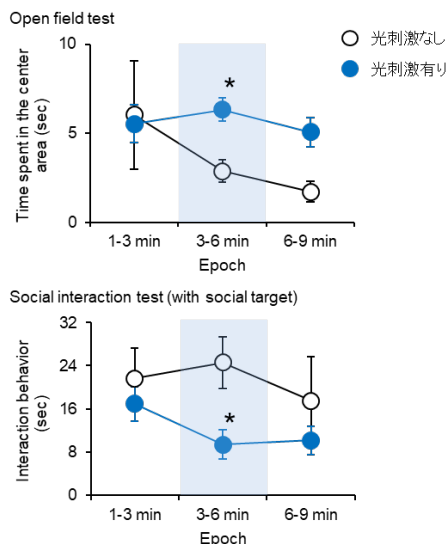
図3



100 μm

(3)大脳半球間神経連絡の光遺伝学的刺激による不安関連行動の変化  
 マウス左内側前頭前野へ AAV-CaMK2a-ChR2-EYFP または AAV-CaMK2a-eNpHR-mCherry を投与し、右内側前頭前野に挿入した光ファイバーから光刺激を行った。ChR2 を光刺激した結果、新規環境に対する不安行動は減少したが、社会的相互作用行動の減少が見られた(図 4)。一方、各行動試験において eNpHR の光刺激は各行動に影響しなかった。

図4



本研究では、早期に母子分離ストレスを受けたマウスは不安を惹起する空間的及び社会的環境に対する脆弱性を示すことが分かった。これらのストレス脆弱性に右内側前頭前野に投射する左内側前頭前野神経細胞が関わるか調べたが、空間的環境と社会的環境では異なる制御系が存在することが示唆された。また、ラットを用いて慢性社会的敗北ストレス負荷後の 5-選択反応時間課題における内側前頭前野神経活動を評価した結果、注意から行動反応を生成する間に活動する右内側前頭前野神経細胞群の協調的活動がストレスによって抑制されることが分かった。以上の結果から、左右内側前頭前野の神経活動バランスが情動行動や社会性、認知機能の発現に関わることが明らかになったが、その調節様式は一様ではなく、幼少期ストレスが生むストレス脆弱性について内側前頭前野大脳半球間抑制の役割を今後引き続き検討していく必要がある。

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)

[雑誌論文](計 2 件)

1. Nikaido Y, Furukawa T, Shimoyama T, Yamada J, Migita K, Koga K, Kushikata T, Hirota K, Kanematsu T, Hirata M, Ueno. Propofol Anesthesia Is Reduced in Phospholipase C-Related Inactive Protein

Type-1 Knockout Mice. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 361 (3):367-374(2017)

2. Nikaido Y, Yamada J, Migita K, Shiba Y, Furukawa T, Nakashima T, Ueno S. cis-3-Hexenol and trans-2-hexenal mixture prevents development of PTSD-like phenotype in rats. Behav Brain Res. 2015 Oct 22; 297:251-258.

[学会発表](計 4 件)

1. 二階堂義和, 古川智範, 下山修司, 櫛方哲也, 廣田和美, 上野伸哉  
 慢性社会的敗北ストレスによってうつ病様モデル化したラットは前頭前野の機能異常を起こす  
 第 4 回日本脳科学会(弘前) 2017 年 10 月

2. Nikaido Y, Furukawa T, Shimoyama T, Kushikata T, Hirota K, Kanematsu T, Hirata M, Ueno S. Phospholipase C-related inactive protein type-1 is involved in intravenous anesthetic-induced EEG changes in mice. Phospholipase C-related inactive protein type-1 は静脈麻酔薬投与による麻酔時脳波の形成に關与する  
 第 40 回神経科学学会(千葉) 2017 年 7 月

3. 二階堂義和, 古川智範, 古賀浩平, 上野伸哉  
 社会的敗北ストレスは 5-選択反応時間課題におけるラット認知機能を低下させる  
 Social defeat stress induces a cognitive deficit in 5-choice serial reaction time task in rats  
 第 93 回日本生理学会大会(札幌) 2016 年 3 月

4. 古川智範, 二階堂義和, 右田啓介, 下山修司, 尾崎拓, 古賀浩平, 上野伸哉  
 ラット前帯状皮質は恐怖記憶の想起と消去では左右異なる活動を示す  
 Asymmetrical activity in rat anterior cingulate cortex in fear expression and extinction  
 第 93 回日本生理学会大会(札幌) 2016 年 3 月

[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

二階堂 義和 (NIKAIDO, Yoshikazu)

弘前大学・医学研究科・助教

研究者番号：50613478

### (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

( )