

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07004

研究課題名(和文) 扁桃体神経回路制御の可視化とその生理的意義

研究課題名(英文) Characterization of neuronal networks in the amygdala underlying aversive information processing

研究代表者

渡部 文子 (Watabe, Ayako)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：00334277

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：情動記憶は個体の生存にとって重要な鍵となる。情動の座である扁桃体には、痛みなどの無条件刺激(US)と条件刺激(CS)を担う信号が入力し統合されることで、恐怖条件付けなどの連合学習に中心的役割を担うと考えられる。従来の研究ではUSとCSとの連合機構や連合学習におけるCS経路の可塑性が研究の中心であったが、US経路の詳細やその可塑性については未だ不明な点が多い。我々は、腕傍核から扁桃体中心核への直接経路に注目し、そのシナプス可塑性に神経ペプチドであるカルシトニン遺伝子関連ペプチド(calcitonin gene-related peptide; CGRP)が重要な役割を担うことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の研究では、連合学習におけるCS経路可塑性の分子メカニズムやその生理的意義が中心であったが、本研究成果によりUS経路の可塑性メカニズムの一端を明らかにすることができた。腕傍核から扁桃体への直接経路は慢性疼痛モデルや心的外傷後ストレス障害モデルにおいて可塑性異常が報告されており、本研究成果により、多様な疾患に伴う負情動制御破綻のメカニズム解明や将来的にはその治療法開発にも繋がる基礎的知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：The amygdala plays a key role in Pavlovian fear/threat conditioning which is accomplished by associating a conditioned stimuli (CS) and an unconditioned stimuli (US). While molecular mechanisms underlying CS-US association and plasticity in the CS pathway has been extensively studied, not much is known about the nature of US pathway(S) and their plasticity. Here we found that neuropeptide calcitonin gene-related peptide (CGRP) plays critical roles in formalin- induce behavioral plasticity in vivo as well as synaptic plasticity in the parabrachial-amygdaloid pathway in acute brain slices.

研究分野：神経科学

キーワード：扁桃体 情動 マウス 可塑性 神経ペプチド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

痛みなどの無条件刺激 (US) と条件刺激 (CS) との連合学習である恐怖条件付けには、扁桃体が重要な役割を担う。近年、それまで扁桃体の単なる出力系と捉えられてきた中心核 (CeA) が、CS-US 連合の座としても積極的な機能を担うこと、CeA が外側中心核 (CeL) 外包中心核 (CeC) および内側中心核 (CeM) の垂核より構成され、抑制・脱抑制による神経回路レベルでの統合処理を担うことが示された。しかしながら、多くの研究では分子生物学・行動学的手法が中心であり、電気生理学的手法による機能的解析は大きく遅れている。扁桃体への痛み伝達経路として、橋の腕傍核から視床・皮質を経ずに中心核へ直接入力する「直接経路」が示されたが、我々は強い恐怖記憶形成後にこの直接経路に顕著なシナプス増強を見出した (Watabe et al., 2013)。さらに、直接経路の光遺伝学的刺激により「痛み」刺激無しで人工的な恐怖記憶を作ることにも成功した (Sato et al., 2016)。これらの結果は直接経路の情動記憶への関与を示唆するが、直接経路のシナプス増強がどのような分子メカニズムによって制御され、どのような生理的意義を持つのかについてはいまだ不明な点が多い。

2. 研究の目的

以上の経緯から、本研究では直接経路可塑性のメカニズムと生理的役割に着目するに至った。特に、痛みペプチドとしても知られるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (calcitonin gene-related peptide; CGRP) は末梢のみならず、腕傍核にも強い発現が知られているものの、中枢における CGRP の役割には不明な点が多い。そこで本研究では CGRP の遺伝子欠損マウスを用いて、ホルマリンの足底投与による炎症性疼痛モデルマウスにおける急性・亜急性期の疼痛行動およびその後の直接経路におけるシナプス可塑性を詳細に解析することで、情動制御における痛み神経回路可塑性の意義を分子から個体レベルまで一貫して解明することを目的とした。

3. 研究の方法

様々な炎症性および機械性疼痛モデルや心的外傷後ストレス障害モデルにおいて、直接経路のシナプス増強が報告されている。我々は炎症性疼痛モデルとして、5%のホルマリン溶液 20 μ L を左後肢足底皮下に注入し、注射直後から 1 時間までの自発疼痛行動および 6 時間後の機械的刺激に対する後肢の疼痛閾値を解析した。さらに 6 時間後にマウスから急性脳切片を調整し、右扁桃体切片におけるシナプス伝達の詳細な解析をパッチクランプ法を用いて電気生理学的に解析した。本研究に用いた α CGRP 遺伝子欠損マウスは東京大学医学系研究科の栗原裕基先生よりご供与頂き、3 回以上バッククロスを進めたのち、ヘテロ交配で得られる同腹のホモ欠損型 (KO) と野生型 (WT) とを実験に供した。

4. 研究成果

野生型マウスにおいて、ホルマリン投与群では生理食塩水投与群に比べて腕傍核-扁桃体経路 (直接経路) の顕著なシナプス応答増大を示したが、KO 群では増強はほとんど認められなかった。このシナプス増強にはシナプス前終末からの小胞放出確率の増大を伴っていた。個体レベルでは投与後 20 - 30 分における疼痛行動が KO では有意に減弱していた。さらに

投与 6 時間後における機械性疼痛閾値は WT においては左右後肢ともに顕著に減弱していたが KO においては認められなかった。これらの結果から炎症性疼痛マウスにおける直接経路のシナプス可塑性および疼痛行動に内因性の CGRP が関与することが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nagase, M., Mikami, K., and Watabe, A.M.	4. 巻 26
2. 論文標題 Parabrachial-to-amygdala control of aversive learning.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Behavioral Sciences	6. 最初と最後の頁 18-24
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Miyazawa, Y., Takahashi, Y., Watabe, A.M., Kato, F	4. 巻 14
2. 論文標題 Predominant synaptic potentiation and activation in the right central amygdala are independent of bilateral parabrachial activation in the hemilateral trigeminal inflammatory pain model of rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular pain	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Shinohara Kei, Watabe Ayako M., Nagase Masashi, Okutsu Yuya, Takahashi Yukari, Kurihara Hiroki, Kato Fusao	4. 巻 46
2. 論文標題 Essential role of endogenous calcitonin gene-related peptide in pain-associated plasticity in the central amygdala	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2149 ~ 2160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ejn.13662	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 -
1. 著者名 Yokose, J., Okubo-Suzuki, R., Nomoto, M., Ohkawa, N., Nishizono, H., Suzuki, A., Matsuo, M., Tsujimura, S., Takahashi, Y., Nagase, M., Watabe, A.M., Sasahara, M., Kato, F., Inokuchi, K.	4. 巻 355
2. 論文標題 Overlapping memory trace indispensable for linking, but not recalling, individual memories.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 398-403
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/science.aal2690	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 Nomoto, M., Ohkawa, N., Nishizono, H., Yokose, J., Suzuki, A., Matuo, M., Tsujimura, S., Takahashi, Y., Nagase, M., Watabe, A.M., Kato, F., Inokuchi, K.	4. 巻 7:12319
2. 論文標題 Cellular tagging as a neural network mechanism for behavioral tagging.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms12319	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 Sugimura, Y.K., Takahashi, Y., Watabe, A.M., Kato, F.	4. 巻 115
2. 論文標題 Synaptic and network consequences of monosynaptic nociceptive inputs of parabrachial nucleus origin in the central amygdala.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Neurophysiology	6. 最初と最後の頁 2721-2739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jn.00946.2015	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 Tsuji, M., Takahashi, Y., Watabe, A.M., Kato, F.	4. 巻 57
2. 論文標題 Enhanced long-term potentiation in mature rats with a history of cryptogenic infantile spasms.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Epilepsia	6. 最初と最後の頁 495-505
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/epi.13315	査読の有無 無
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 Watabe, A.M., Nagase, M., Hagiwara, A., Hida, Y., Tsuji, M., Ochiai, T., Kato, F., Ohtsuka, T.	4. 巻 136
2. 論文標題 SAD-B Kinase regulates presynaptic vesicular dynamics at hippocampal Schaffer collateral synapses and affects contextual fear memory.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 36-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.13379	査読の有無 無
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9件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 Neuronal Circuits Underlying Regulation of Aversive Valence in Mice.
3. 学会等名 FAOPS2019・第96回日本生理学会大会合同大会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 味覚情動の形成と変容を支える神経回路基盤
3. 学会等名 第11回香りと味に関する産学フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 正と負の情動を担うシナプス制御機構とその破綻
3. 学会等名 第2回和光-精神神経談話会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 Forming and reformatting aversive emotional memories “Neuronal circuits underlying emotional memories”
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 「痛み」から捉える情動記憶の神経回路メカニズム
3. 学会等名 東京大学理学部生物学科生物科学セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 情動の神経回路基盤
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 情動行動を制御する扁桃体神経回路基盤
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部文子
2. 発表標題 痛み情動回路による恐怖記憶の制御
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 M Ito, M Sat, M Nagase, Y K Sugimura, Y Takahashi, A M. Watabe and F Kato.
2. 発表標題 Neural circuits underlying flight-or- freeze behavior triggered by an environmental threat.
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 臨床医学研究所 渡部研究室
<http://watabe-lab.jp/>

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