

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08528

研究課題名(和文) 急性ストレスが引き起こす帯状回シナプス変化とその分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Investigation of the stress-induced synaptic changes and its molecular mechanism in the anterior cingulate cortex

研究代表者

北條 泰嗣 (Yasushi, Hojo)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：20536875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：高次の処理、例えば注意・共感・意思決定などを司る前部帯状回ACCはストレスの影響を強く受ける。しかし、ストレスホルモンがACCのどこに作用するかは不明であった。本研究では、ストレスホルモンの結合する受容体が、マウスACCの興奮性と抑制性の神経細胞に存在することを明らかにした。これらの細胞は集団で活動し、発振(オシレーション)現象を引き起こす。この発振現象は上記のACCの機能を発揮する際に必要である。ストレスホルモンによって、この発振現象も変化することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレスに対して影響を受けやすいと言われていた前部帯状回において、ストレス時に分泌されるホルモンがどの種類の細胞に作用するかを明らかにした点、また、注意・共感・意思決定といった高次脳機能を発揮する際に観測される神経回路の発振現象が、このストレスホルモンによって変化することを明らかにした点。以上二点から、前部帯状回の高次機能がストレスによってどのように変化させられるのか、その解明につながる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：The anterior cingulate cortex (ACC), which is responsible for higher order process including attention, empathy and decision making, is vulnerable to stress. In the ACC, however, the site of action of glucocorticoid, released from adrenal upon stress, remains unclear. We identified the cell type which expresses glucocorticoid receptor in mouse ACC, i.e., glutamatergic and GABAergic (parvalbumin- and somatostatin-positive) neurons. Neural circuits of these neurons mainly play a role in generating network oscillation which is associated with the higher order process in ACC above. We also investigated the effect of glucocorticoid on the network oscillation by using the mouse ACC slice. In glucocorticoid-treated group, the magnitude of dopamine-induced modulatory effect on oscillation power was suppressed, suggesting that glucocorticoid alters ACC function via dopaminergic system in ACC.

研究分野：神経科学

キーワード：帯状回 ストレス グルココルチコイド受容体 オシレーション

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前部帯状回 (anterior cingulate cortex 以下 ACC) は意思決定、注意、共感 (特に痛みに対して) などの脳高次機能の発現に関わる部位であり、ストレスに対する脆弱性が知られている。一方、生体がストレスを受けると副腎皮質からグルココルチコイドというストレスホルモンが分泌され、このストレスホルモンは標的細胞に存在するグルココルチコイド受容体に結合して作用を発揮する。このことから、グルココルチコイドが ACC に作用してストレスにさらされた際の機能変化を引き起こすと予想されるが、具体的に ACC のどの細胞に作用して、どのようなメカニズムで機能変化を引き起こすかは不明だった。

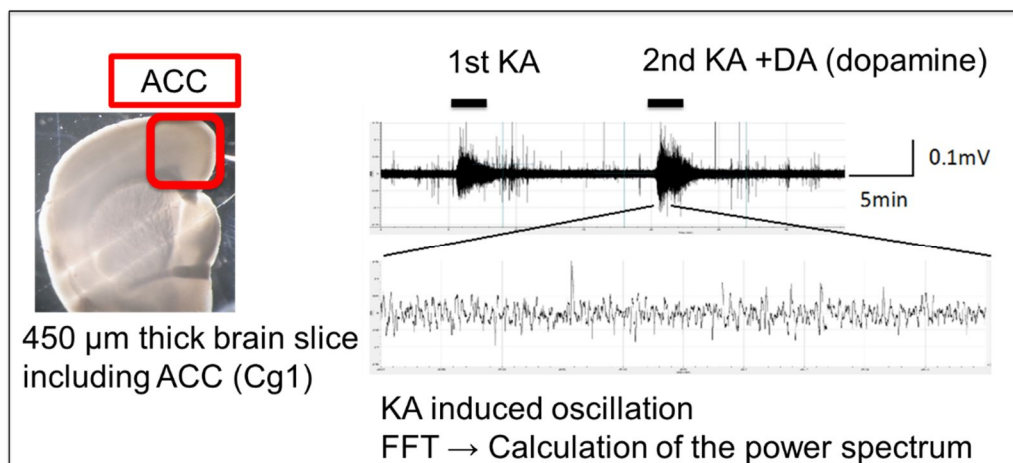
2. 研究の目的

1. の背景を踏まえて、ACC におけるグルココルチコイドの作用部位の特定、すなわち、グルココルチコイド受容体が存在する細胞の特定を第一の目的とした。また、ACC が機能を発揮するには、特定の神経細胞が形成する神経回路の発振 (オシレーション) 現象が観測される。実際、このオシレーション現象に対応すると考えられる ACC 由来の脳波 (Electroencephalogram: EEG) は統合失調症患者において減弱することが知られている。本研究では、このオシレーションを ACC 機能の指標とし、グルココルチコイド投与によってオシレーションがどのように変化するか、また、それはどのようなメカニズムの変化によって引き起こされるのか、というグルココルチコイドによる ACC 機能変化の解析を第二の目的とした。

3. 研究の方法

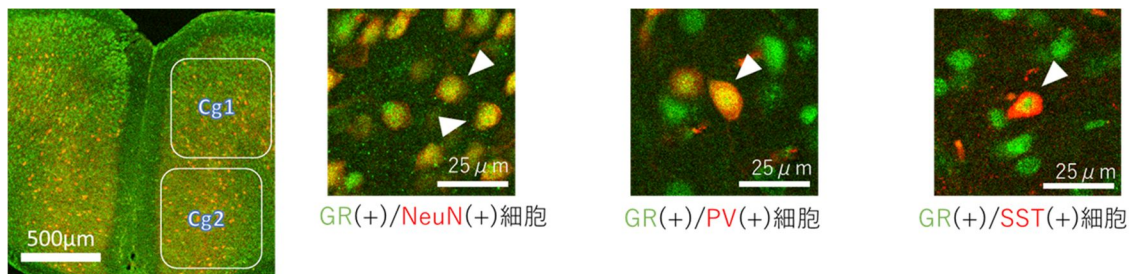
実験動物として C57BL/6J 系統オスマウスを用いた。グルココルチコイド受容体の局在解析には、ACC の凍結薄切片を用いて免疫組織染色法を行った。ACC のオシレーションを発生するのに必須である、興奮性のグルタミン酸作動性神経細胞、抑制性の GABA (gamma-aminobutyric acid) 作動性神経細胞に着目し、これらの細胞におけるグルココルチコイド受容体の局在を解析した。GABA 作動性神経細胞については、バルブアルブミン (parvalbumin 以下 PV) 陽性細胞、および、ソマトスタチン (somatostatin 以下 SST) 陽性細胞のサブグループに分けて解析した。グルタミン酸作動性神経細胞、PV 陽性細胞、SST 陽性細胞の識別のために、

また、ACC のスライスを用いた電気生理学的解析により、ACC の機能発現の際に観測される神経回路の発振 (オシレーション) 現象がグルココルチコイド投与でどう変化するか、変化を引き起こす神経伝達物質は何かを解析した。オシレーションはカイニン酸をスライスに灌流することで誘導した。オシレーションを修飾する神経伝達物質の解析のために、ドーパミン、ノルアドレナリンを灌流した状態でオシレーションを誘導した。細胞外集合電位の記録から高速フーリエ変換によりパワースペクトルを取得し、各周波数帯域 (: 3-8 Hz, : 8-12 Hz, : 12-30 Hz, : 30-80Hz) に分けて解析した。



4. 研究成果

マウス ACC において、興奮性、抑制性神経細胞の双方にグルココルチコイド受容体の局在が観察された。グルタミン酸作動神経細胞の 91%、PV 陽性細胞の 95%、SST 陽性細胞の 88% にグルココルチコイド受容体が発現していた。これらの細胞はオシレーションに必須の回路を形成することから、グルココルチコイドがオシレーションに影響を与えることが示唆された。実際、オシレーションはグルココルチコイド投与により変化した。と帯域において、オシレーションのパワーが減弱した。また、帯域において、ドーパミンによって増強されるはずの発振現象がグルココルチコイド投与により減弱した。ノルアドレナリンの灌流はオシレーションに影響を与えなかった。これに関連して、qPCR 解析により、グルココルチコイド投与群では、ACC におけるドーパミン受容体の発現が増加していることもわかった。この受容体の増加は解析した脳部位 (ACC、海馬、線条体、小脳) のうち、ACC でのみ観察された。これは、グルココルチコイドが作用することにより、ドーパミンの分泌が弱まった結果と示唆される。これらのことから、グルココルチコイドは ACC の神経細胞に存在する受容体に結合し、ドーパミン系を変化させることで、ACC の機能発現を変化させることが示唆される。ストレスに対して影響を受けやすいと言われていた前部帯状回において、ストレス時に分泌されるホルモンがどの種類の細胞に作用するかを明らかにした点、また、注意・共感・意思決定といった高次脳機能を発揮する際に観測される神経回路のオシレーションが、このストレスホルモンによって変化することを明らかにした点。以上二点から、前部帯状回の高次機能がストレスによってどのように変化させられるのか、その解明につながるものが期待される。



図：ACC におけるグルココルチコイド受容体 (GR) の局在解析

ACC を Cg1, Cg2 の二つの領域に分けて、グルタミン酸作動性神経細胞、PV 陽性細胞、SST 陽性細胞、それぞれの細胞種における GR 陽性細胞の割合を算出した。Cg1 における GR の陽性率は：グルタミン酸作動性神経細胞の 91%、PV 陽性細胞の 95%、SST 陽性細胞の 88% であり、Cg2 における GR の陽性率は：グルタミン酸作動性神経細胞の 92%、PV 陽性細胞の 96%、SST 陽性細胞の 85% であった。領域間での陽性率に差はなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ito Rina, Nakano Takanari, Hojo Yasushi, Hashizume Miki, Koshiba Mamiko, Murakoshi Takayuki	4. 巻 437
2. 論文標題 Chronic Restraint Stress Affects Network Oscillations in the Anterior Cingulate Cortex in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 172 ~ 183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2020.04.021	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yasushi Hojo, Mai Kawata, Rina Ito, Miki Hashizume, Takanari Nakano, Takayuki Murakoshi
2. 発表標題 Identification of cell types that express glucocorticoid receptors in mouse anterior cingulate cortex
3. 学会等名 The 42nd annual meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hojo, Y., Matsunaga, T., Komatsu, M., Ito K., Hashimoto T., Takizawa, K., Noguchi S., Ito, R., Hashizume, M., Nakano, T. & Murakoshi, T.
2. 発表標題 The effect of glucocorticoid on dopamine receptors in the anterior cingulate cortex of mice
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hojo, Y., Matsunaga, T., Komatsu, M., Ito K., Takizawa, K., Ito, R., Hashizume, M., Nakano, T. & Murakoshi, T.
2. 発表標題 Effect of glucocorticoid on prepulse inhibition and network oscillation in the anterior cingulate cortex of mice
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松永洸昂、小松睦実、伊藤健治、瀧澤恵子、伊藤史那、中野貴成、北條泰嗣、村越隆之
2. 発表標題 プレパルス抑制 (PPI) と前部帯状回皮質 (ACC) 神経回路オシレーションに対するグルココルチコイド投与の影響
3. 学会等名 第26回神経行動薬理若手研究者の集い
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松永洸昂、小松睦実、伊藤健治、瀧澤恵子、伊藤史那、中野貴成、北條泰嗣、村越隆之
2. 発表標題 Effects of glucocorticoid on pre-pulse inhibition and network oscillation in anterior cingulate cortex in mice
3. 学会等名 第90回日本薬理学会年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	松永 洸昂 (Matsunaga Takeaki)	埼玉医科大学 (32409)	
研究協力者	川田 真衣 (Kawata Mai)	埼玉医科大学 (32409)	