

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10270

研究課題名(和文)病的習慣化の神経基盤；正常な習慣と依存症や強迫性障害はどのように異なるのか

研究課題名(英文)Identification of neural substrate for pathological habit

研究代表者

戸田 重誠 (TODA, SHIGENOBU)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号：00323006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：まず、ラットのオペラント行動の習慣化を目的とした訓練継続中の最初期遺伝子の発現変化が、線条体全域で主にドパミンD1受容体陽性中型有棘細胞で起きていることを確認した。続いて、ラットのオペラント行動が習慣化しにくいことで知られるfixed interval scheduleにて注意負荷を軽減したところ、習慣化の促進が確認され、持続的な注意が習慣化を抑制することを確認した。次に、扁桃体における神経細胞のオペラント行動における機能的意義を、c-fos発現細胞を特異的に破壊する試薬を用いて検討した。その結果、オペラント行動の促進は主に中心核で、一方習慣化は、外側基底核で制御されていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

行動の過剰な促進化や習慣化は、依存症や強迫性障害、ギャンブル障害など様々な精神疾患で問題となっており、その病態機序の解明と治療法の開発は急務である。本研究の結果、習慣化における持続性注意の意義が明らかとなった。これは注意の持続に障害を有するADHDなどで不適切な習慣化が起きやすい可能性を示唆する。また、扁桃体での異なる領域が、行動の促進化と習慣化に関して独自に関与することが示唆された。この結果は、行動の促進化と習慣化を個別に制御できる可能性を示唆しており、例えば将来的には習慣化を阻害することなく、不適切な行動の異常促進だけを抑制する治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：First, we confirmed that the alteration of immediate early gene expression in the entire rat striatum during an operant training was mainly processed in Dopamine D1-positive medium spiny neurons. We next tried to ease sustained attentional load during a fixed interval schedule of operant training in rats and found this treatment promoted habit formation. Thus, we concluded that sustained attention to measure temporal intervals may suppress habit development. Third, we aimed to reveal the functional significance of c-fos positive neurons in the rat amygdala in behavioral augmentation and habit formation during operant training. A compound that specifically disrupts c-fos positive cells resulted in the attenuation of behavioral augmentation when treated in the central amygdala, whereas it suppressed habit formation when treated in the basolateral amygdala. Therefore, it is suggested that these two amygdala subregions may play distinct roles in operant training.

研究分野：意思決定、依存症

キーワード：習慣 注意 目標指向性行動 線条体 最初期遺伝子

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトや動物がある目的達成のために何らかの技能や技術を習得する過程では、集中を要し時間のかかる段階(=目標指向性行動)と、自動的で素早い行動が可能な段階(=習慣)の異なるモードが存在し、訓練の反復で前者から後者にシフトする。その際には線条体が中心的な役割を担う。目標指向性行動が一過的で柔軟な修正が可能なのに対し、習慣は非常に安定で修正が難しい。ところで、物質関連障害(依存症)や強迫性障害(OCD)、摂食障害等の精神疾患では、自分の行動が不適切だと理解していても意志の力では行動を制御できない。これらの疾患の画像研究は、習慣に関わる脳領域との高い共通性を示唆している。一方で、生理的に起きる習慣化と異なり、精神疾患に伴う習慣化では習慣化した行動に対する集中度・没入度が異常に高く、他の行動を同時に遂行することが困難となる。さらに、習慣化した行動が必要量を遙かに上回って強迫的にエスカレートしていく。正常な習慣と行動促進を伴う病的習慣との違いを詳しく解明し、後者のみをターゲットとする治療法の開発が必要だが、両者の神経基盤の違いの解明は進んでいない。

2. 研究の目的

本研究では、「不確実性(=予測困難性)が高い、あるいは不安やストレスを伴う条件が遷延すると、習慣化の促進に加えて過剰な行動促進と集中が起きる。この時の神経基盤は生理的な習慣化と区別され、精神疾患で認められる強迫的な習慣化のモデルとしてより適当である」と仮説を立て、これを実験的に立証する。本研究の成果は、依存症や強迫性障害などの精神疾患の病態生理の解明と治療法開発に画期的な進展をもたらすと期待される。

3. 研究の方法

実験 1. 確実性の異なる条件間で道具訓練による習慣化過程を比較検証する。

- ① 習慣化に至る過程で最初期遺伝子が発現する線条体中型有棘細胞の識別
- ② RIとFIでの最初期遺伝子パターンが発現の比較
- ③ 習慣化形成における持続性注意が果たす役割の検討

実験 2. 扁桃体内の2つの神経核の活動が習慣化に与える影響を検討する。

- ① 不確実性が高い条件下で訓練施行中に扁桃体中心核あるいは基底外側核の c-fos 発現細胞を選択的に破壊し、行動促進や習慣化にどのような影響を与えるについての検討
- ② 上記の結果に基づいた、ウイルスベクターを用いた回路選択的な検証

4. 研究成果

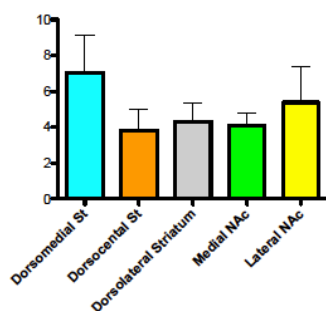


図1a. ドパミンD2受容体陽性中型有棘細胞に対するD1受容体陽性中型有棘細胞のc-fos発現の割合
/~500um²

実験1-①; これまでに習慣化の起きやすいRIスケジュール(random interval; 例えば60秒間に平均1回の割合で餌を獲得できるが、餌のタイミングは予測できない)でのオペラント学習訓練反復の結果、最初にArc、続いてc-Fos、その後再びArcが線条体の中型有棘細胞に発現誘導されることを確認していたが、さらに、両遺伝子発現が常にドパミンD1受容体陽性細胞で起きていることから(図1a)これらの神経マーカー遺伝子の発現交代が、訓練の進展に伴い同一のドパミンD1受

容体陽性細胞で起きていることを確認した (図1b)。

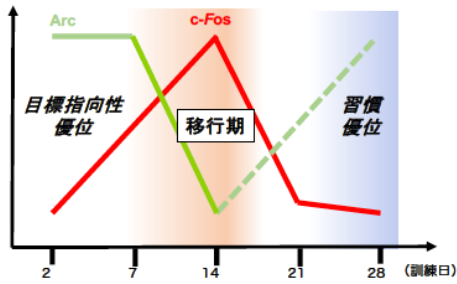


図1b. 訓練の進展に伴い、同一のD1受容体陽性有棘細胞内でArc、c-fosの発現が相補的に入れ替わる

訓練時期に一過性に出現した。一方、ArcはRIスケジュールでは発現が抑制される訓練中期にも誘導が続き、さらに目標指向性行動の獲得に重要とされる背内側線条体では、Arcと同じ細胞に共発現が確認された。この結果は、RIとFIでは最初期遺伝子の発現パターンが異なること、およびArcとc-Fosの発現が独立して制御されていることを示唆する。同時に、Arcはc-Fosと共発現する場合には習慣化への移行を阻害する因子として機能する可能性が示唆された (投稿準備中)。

実験1-③; FIスケジュール (FI60) では、動物は自分で60秒という時間間隔を計時するために注意を持続する必要がある。この時間的注意要求性が習慣化を阻害していると仮説を立て、I)通常

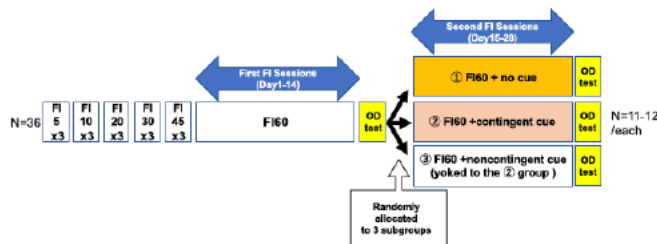


図2a. FI60スケジュールによる実験デザイン; OD: outcome devaluation (脱価値化テスト)

のFIスケジュール群 (= FI + no cueグループ)、II) FIスケジュールにおいてレバー押しタイミングの直前にブザー音を提示することで、被験体が計時を行わなくても (=持続的注意を払わなくても) ブザー音に反応してレバーを押せば報酬が獲得できるよう途中から訓練を変更した群 (= FI + contingent cueグループ)、III) 同様にブザー音を訓練途中から提示するが、音の提示を報酬と関係ないランダムタイミングとした群 (= FI + non contingent cueグループ)、以上の3群を用意して習慣化を比較した (図2a)。

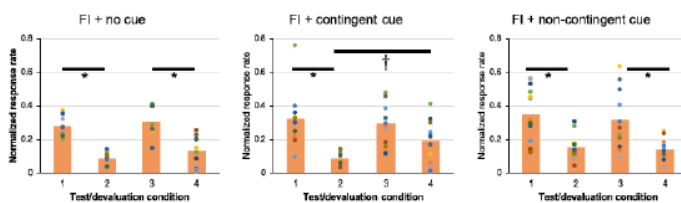


図2b. 脱価値化テストによる習慣化の確認。1-2. Cue追加前のテストの結果 (1:脱価値化なし、2:脱価値化あり)、3-4. Cue追加後のテストの結果 (3:脱価値化なし、4:脱価値化あり)

のFIスケジュール群 (= FI + no cueグループ)、II) FIスケジュールにおいてレバー押しタイミングの直前にブザー音を提示することで、被験体が計時を行わなくても (=持続的注意を払わなくても) ブザー音に反応してレバーを押せば報酬が獲得できるよう途中から

訓練を変更した群 (= FI + contingent cueグループ)、III) 同様にブザー音を訓練途中から提示するが、音の提示を報酬と関係ないランダムタイミングとした群 (= FI + non contingent cueグループ)、以上の3群を用意して習慣化を比較した (図2a)。

習慣化の評価は脱価値化テストで行った。その結果、仮説のようにブザー音で報酬タイミングが提示された群でのみ、同音提示開始の2週間後に習慣化が完成した。従って、動物は自分で1分間という時間間隔を計時するために注意を持続する必要があると、行動の習慣化が阻害されると結論された (図2b ; Lin et al,

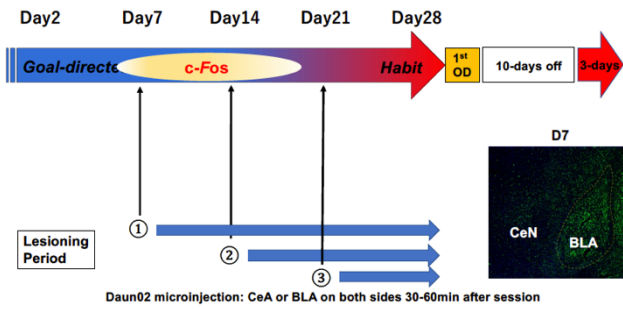
PlosOne, 2020)。さらに、この3群で同じ期間オペラント訓練を反復した後の線条体におけるArc、cFosの発現誘導の比較検討を行った (投稿準備中)。

続いて、「習慣化を誘導する反復性オペラント訓練施行時における線条体神経細胞の可塑性の経時的変化に関する検討」の追加実験を行なった。これまで検討を行ってきたラット線条体の亜領域に加え、特に習慣的記憶に関与すると予想される後部背外側線条体について、これまでと同様、訓練終了2時間後におけるArc、cFos最初期遺伝子の発現誘導と、発現する細胞型について解析を行った。また、線条体へ投射を送る脳部位に関しても、解析の範囲を広げた。具体的には、前頭皮質の前辺縁皮質、前帯状回、S1、M1と、視床束傍核、淡蒼球外節部についても検討した。

さらに、前頭皮質から線条体へ投射する錐体細胞をPT型とIT型に区別し、各投射系におけるArc、cFosの発現誘導を比較した（投稿準備中）。

実験 2-①；予備検討では、扁桃体において訓練開始後7-14日にc-fos陽性細胞が増加することが

図3. RIスケジュール訓練期間中におけるDaun-02によるc-fos発現細胞破壊実験のデザイン



確認された。この時系列パターンは線条体と類似していた。この機能的な意義を解明するために、扁桃体の中心核（CeA）、および外側基底核（BLA）のc-fos陽性細胞について、c-fos発現細胞を特異的に破壊するDaun-02 (Koya et al, 2009) を微小注入して訓練時期特異的に破壊することで、オペラント行動に

与える影響を検討した（図3）。その結果、Daun-02をCeAに注入した場合、獲得ペレット数やレ

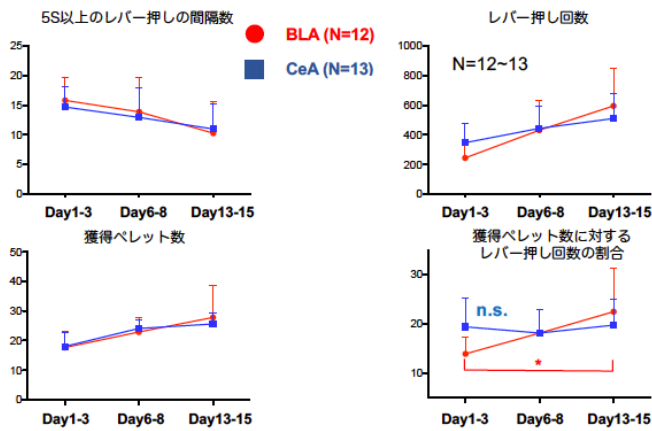


図4. 扁桃体中心核へのDaun02の微小注入は過剰なオペラント行動を抑制する

バー押し回数そのものには影響を認めなかったものの、本来起きる過剰なレバー押し行動の促進がブロックされることが確認された。BLAでは同様の効果を認めなかった（図4）。この効果は訓練後期に特に有意となったが、訓練終了後しばらく期間をおいての再テストでは観察されなかった。一方、習慣化に対する影響を検討したところ、CeAの破壊では習慣化は観察されたが、BLA破壊動物では習慣化が阻害され、目標指向性そのまま維持されていた（図5）。したがって、CeAとBLAはオペラント学習においては異なる役割を担うことが示唆され、前者が主に行動促進に関与するのに対し、後者は習慣化に関与すると考えられた。

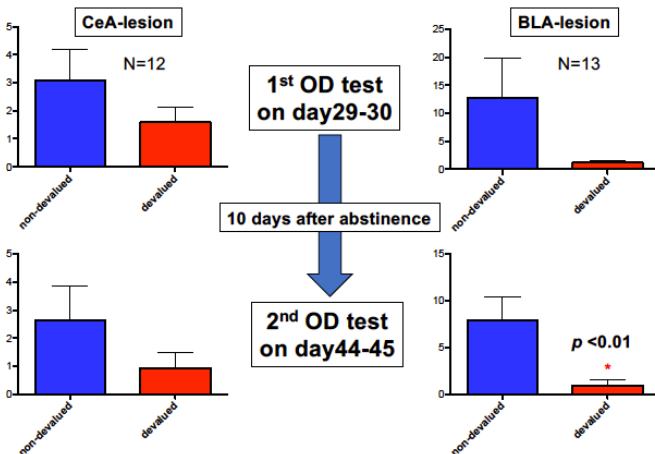


図5. BLAの破壊実験では習慣化が阻害された

実験 2-②；実験担当者が離職したこと、およびコロナ禍に伴う実験の遅延の影響で、強迫性と扁桃体に関する追加の検討は、いったん保留とされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5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 Lin Ziqiao, Nishikawa Hiromi, Iguchi Yoshio, Iwanami Akira, Kikuchi Mitsuru, Toda Shigenobu	4. 巻 10
2. 論文標題 Sustaining temporal attention prevents habit expression during operant learning in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-67304-y	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 Shirama Aya, Takeda Toshinobu, Ohta Haruhisa, Iwanami Akira, Toda Shigenobu, Kato Nobumasa	4. 巻 15
2. 論文標題 Atypical alert state control in adult patients with ADHD: A pupillometry study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0244662
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0244662	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 Nobukawa Sou, Shirama Aya, Takahashi Tetsuya, Takeda Toshinobu, Ohta Haruhisa, Kikuchi Mitsuru, Iwanami Akira, Kato Nobumasa, Toda Shigenobu	4. 巻 12
2. 論文標題 Pupillometric Complexity and Symmetry Follow Inverted-U Curves Against Baseline Diameter Due to Crossed Locus Coeruleus Projections to the Edinger-Westphal Nucleus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 614479-90
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2021.614479	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 Idemoto Keita, Ishima Tamaki, Niitsu Tomihisa, Hata Tatsuki, Yoshida Sumiko, Hattori Kotaro, Horai Tadasu, Otsuka Ikuo, Yamamori Hidenaga, Toda Shigenobu et al	4. 巻 134
2. 論文標題 Platelet-derived growth factor BB: A potential diagnostic blood biomarker for differentiating bipolar disorder from major depressive disorder	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Psychiatric Research	6. 最初と最後の頁 48 ~ 56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jpsychires.2020.12.051	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 戸田重誠	4. 巻 30
2. 論文標題 生化学研究の長期展望	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 精神科	6. 最初と最後の頁 213-216
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 無
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 Keita Idemoto, Tamaki Ishima, Tomihisa Niitsu, Tatsuki Hata, Sumiko Yoshida, Kotaro Hattori, Tadasu Horai, Ikuo Otsuka, Hidenaga Yamamori, Shigenobu Toda etc	4. 巻 301
2. 論文標題 Serum levels of glial cell line-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders and lithium response	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Psychiatric Res	6. 最初と最後の頁 113967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psychres.2021.113967	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 Sou Nobukawa, Aya Shirama, Tetsuya Takahashi, Toshinobu Takeda, Haruhisa Ohta, Mitsuru Kikuchi, Akira Iwanami, Nobumasa Kato, Shigenobu Toda	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of attention-deficit hyperactivity disorder based on the complexity and symmetry of pupil diameter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 8439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-88191-x	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 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 井手本啓太、石間環、新津富央、畑達記、小田靖典、木村敦史、亀野陽亮、蓬莱政、山森英長、戸田重誠、菱本明豊、橋本亮太、中込和幸、伊豫雅臣、橋本謙二
2. 発表標題 気分障害のバイオマーカーとしての血清中血小板由来増殖因子 (PDGF-BB) に関する多施設共同研究
3. 学会等名 第16回日本うつ病学会 徳島、2019.7.5
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aya Shirama, Toshinobu Takeda, Haruhisa Ohta, Shigenobu Toda
2. 発表標題 Atypical alert state control in adult ADHD : A pupillometry study
3. 学会等名 第49回 日本神経精神薬理学会、福岡、R1.10.12
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S Toda, Z Lin, H Nishikawa, Y Iguchi, A Iwanami, Y Minabe
2. 発表標題 HOW IS A HABIT DEVELOPED OR UNDEVELOPED?: IMPLICATIONS FOR A CRITICAL ROLE OF ATTENTION DURING A GOAL-DIRECTED PROCESS OF OPERANT LEARNING IN RATS.
3. 学会等名 ISBRA2018京都(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shigenobu Toda
2. 発表標題 Stage-dependent integration of regulatory processes for the transition from goal-directed to habitual action in striatal direct pathway.
3. 学会等名 第41回日本神経科学学会大会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Lin Z, Nishikawa H, Iguchi Y, Iwanami, A, Minabe Y, Toda S
2. 発表標題 Continuous attentional demand may prevent habit formation in rats.
3. 学会等名 第41回日本神経科学学会大会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Toda
2. 発表標題 The overt and covert interactions between goal-directed behavior and habit
3. 学会等名 Invited Seminar, Department of Psychology, University of Sussex, Brighton, UK (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戸田重誠
2. 発表標題 ラットにおいて習慣化を制御するのは、注意か？予測機能か？
3. 学会等名 第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 熊野 開、信川 創、白間 綾、高橋 哲也、戸田 重誠
2. 発表標題 Pupil Diameter Control Model Focusing on the Left-Right Difference of the Neural Activity Locus Coeruleus of ADHD
3. 学会等名 NOLTA/ /2021.12.9
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊野 開、信川 創、白間 綾、高橋 哲也、戸田 重誠
2. 発表標題 ADHDにおける瞳孔制御モデルの構築
3. 学会等名 FIT2021 (第20 回情報技術科学フォーラム)
4. 発表年 2021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 分担 者	西川 宏美 (NISHIKAWA HIROMI) (70534155)	金沢大学・大学病院・研究員 (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------