

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K14926

研究課題名(和文) 不安障害の治療を効率化する神経活動の解明

研究課題名(英文) Elucidating neural activity to improve treatment of anxiety disorders.

研究代表者

人羅 菜津子 (Hitora-Imamura, 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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：恐怖を克服して行動を起こす脳内メカニズム解明を目的とした。報酬刺激(砂糖水)と嫌悪刺激(電気ショック)を同時に提示し、報酬を得るまでの潜時を測定した(葛藤行動試験)。神経活動マーカーである cFos の免疫染色により、葛藤行動試験中に活性化する脳領域を全脳から網羅的に調べた。さらに、この結果に基づいて内側前頭前皮質(mPFC)に着目し、内側前頭前皮質の薬理的な抑制が恐怖の克服を促進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

不安障害を患うと、本来恐怖の対象とするべき事物や出来事以外に対しても恐怖を感じ、適切な行動を取ることが困難になり、患者のQOLを著しく低下させてしまう。本研究は、葛藤環境で恐怖を克服して行動を起こすことに mPFC が関与することを明らかにした。本成果は、生物が外界の環境や自身の状況に応じて行動を柔軟に調節するメカニズムを解明し、科学的根拠に基づいた不安障害の治療法や治療を効率化する方法を提案することに貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to elucidate the neural mechanism to overcome fear to achieve goals. Using immunostaining for cFos, a neural activity marker, we comprehensively examined brain regions that were activated when mice overcome fear. Based on this result, we focused on the medial prefrontal cortex (mPFC) and found that pharmacological inhibition of the mPFC facilitated to overcome fear. Patients with anxiety disorders feel excessive fear and that makes it difficult for them to take appropriate action. The present study revealed that mPFC is involved in overcoming fear and taking action in a conflict environment. These results will contribute to elucidating the mechanism by which animals flexibly adjust their behavior in response to the external environment and their own circumstances, and to proposing science-based methods for treating anxiety disorders.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 不安障害 記憶学習

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

不安障害は、過剰な恐怖やストレスによって引き起こされる精神疾患である。不安障害を患うと、本来恐怖の対象とするべき事物や出来事以外に対しても恐怖を感じ、適切な行動を取ることが困難になり、患者のQOLを著しく低下させてしまう。外界の環境や自身の状況に応じて適切な行動を取る脳内メカニズムを解明し、科学的根拠に基づいた治療法や治療を効率化する方法を提案することが求められている。

適切な行動選択（ある行動を起こすべきか否か）は、報酬刺激に誘発されて行動を促す Go シグナルと、嫌悪刺激に誘発されて行動を抑制する No go シグナルのバランスによって決定すると考えられる。動物やヒトを対象とした過去の多くの研究によって、報酬刺激、あるいは、嫌悪刺激に対する行動を制御するメカニズムが明らかにされてきている (Hitora-Imamura et. al., 2015; Ferenczi et. al., 2016; Otis et. al., 2017)。しかし、報酬刺激と嫌悪刺激の両方を提示した際に、こうしたメカニズムがどのようにバランスを取って最終的な行動出力を決定しているかに関する研究は未だ十分でない。

2. 研究の目的

本研究は、恐怖の発現を制御する神経活動を明らかにし、これを操作することにより恐怖が発現しにくい状態を作り出すことで、不安障害の治療を効率化する方法を見出すことを目的とした。

私たちが独自に考案した葛藤行動試験では、マウスが報酬刺激を得るためには嫌悪刺激を受けなければならない。この葛藤行動試験を用いて、神経活動マーカーである cFos の免疫染色により、恐怖を克服する際に活性化する脳領域を全脳から網羅的に調べた。さらに、この結果に基づいて内側前頭前皮質 (mPFC) に着目し、内側前頭前皮質の薬理的な抑制が恐怖の克服に与える影響を検証した。

3. 研究の方法

- (1) 葛藤行動試験を用いて、マウスに報酬刺激（砂糖水）と嫌悪刺激（電気ショック）の両方を提示した際の行動選択について研究した。食餌制限をしたマウスに、グリッド床上の皿において砂糖水が得られることを学習させた（報酬学習）。学習成立後、グリッド床にマウスが踏み込んだ際に電気ショック（0.1 mA、0.5 ms、1 回）を与えた（葛藤条件づけ）（図 1）。その後は、マウスが報酬を得ようとする行動を取ったり取らなかったりするよう、

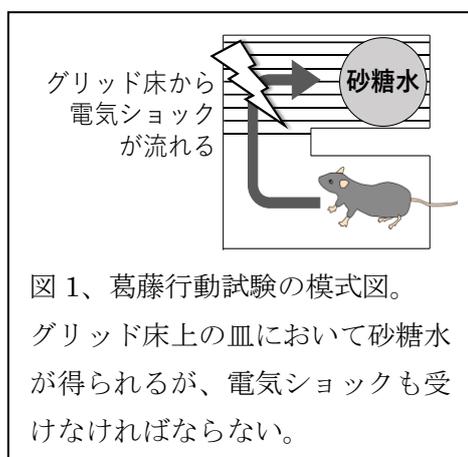


図 1、葛藤行動試験の模式図。

グリッド床上の皿において砂糖水が得られるが、電気ショックも受けなければならない。

2-3 回に一度のトライアルでのみ電気ショックを与えた。恐怖を克服してグリッド床に踏み込み、砂糖水を摂取するまでの潜時（報酬潜時）を記録した。

恐怖を克服する行動に関わる脳領域の活動を網羅的に調べるため、神経活動マーカー

一である c-Fos の免疫染色により、葛藤行動試験中に活性化する脳領域を探索した。Conflict 群は、葛藤条件づけの翌日、実験環境に再暴露してグリッド上の皿にたどり着いたらホームケージに戻し、90 分後に脳を摘出した。Reward 群は、葛藤条件づけの日に一度も電気ショックを与えず、翌日、実験環境に再暴露してグリッド上の皿にたどり着いたらホームケージに戻し、90 分後に脳を摘出した。安静時の神経活動と比較するために、ホームケージ群をコントロール群として用いた。クリオスタットで厚さ 40um の脳切片を作成し、200um 置きに蛍光免疫染色した。蛍光画像を撮影し、0.25 mm 四方の ROI 内の c-Fos 陽性細胞数を計測した。

- (2) mPFC の神経活動を薬理的に抑制し、葛藤行動に与える影響を検証した。mPFC に予めガイドカニューレを挿入する手術を行い、1 週間以上の回復期間の後に葛藤行動試験を行った。葛藤条件づけの翌日以降に、ムシモール (0.05 ug/side) あるいは溶媒 (PBS) のみを投与した 30 分後に葛藤行動試験を行い、報酬潜時を記録した。

4. 研究成果

- (1) 神経活動マーカーである c-Fos の免疫染色により、葛藤行動試験中に活性化する脳領域を探索した。図 2 のように、Conflict 群の多くの脳領域が活性化していることが明らかになった。特に、mPFC の亜領域である前帯状皮質や、側坐核、前障、外側視床下部などで、Reward 群と比較しても Conflict 群が顕著に活性化している様子が明らかになった。

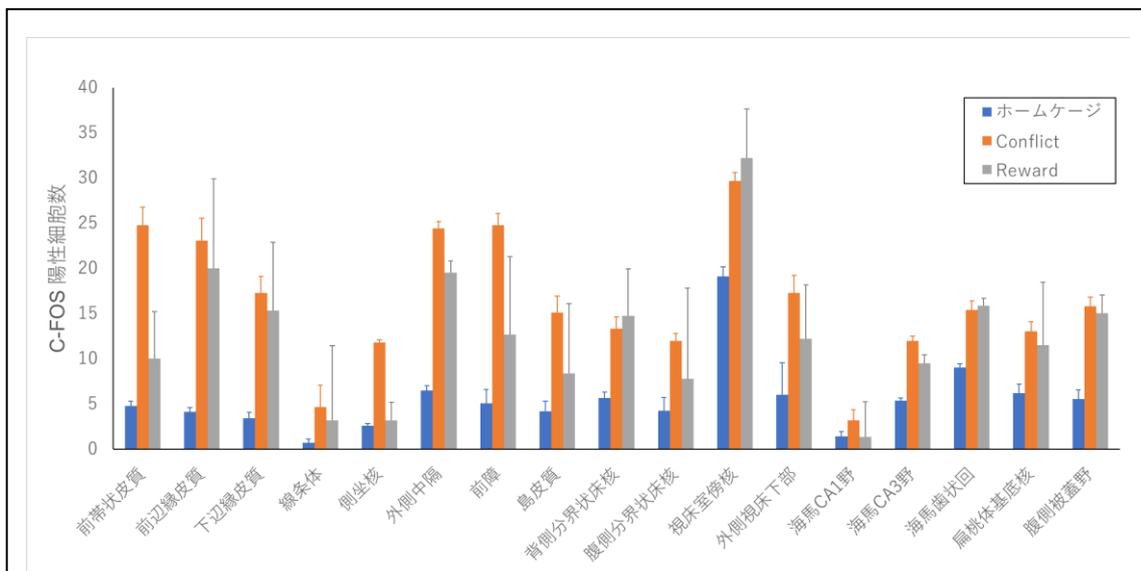


図 2、葛藤行動試験中の神経活動マーカー c-Fos の発現解析。

- (2) (1) で活性化が認められた mPFC の神経活動を薬理的に抑制し、葛藤行動に与える影響を検証した。ムシモール投与群はコントロール (PBS) 群に比べて報酬潜時が

短かった (図 3)。このことから、mPFC の薬理的な神経活動抑制により、恐怖の克服が促されることが明らかになった。

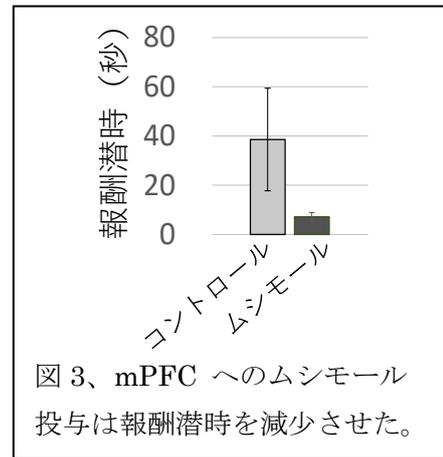


図 3、mPFC へのムシモール投与は報酬潜時を減少させた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 本宿 雄基、齋藤 瞭毅、曾我 卓司、南 雅文、人羅（今村）菜津子
2. 発表標題 葛藤環境での行動選択に関する前帯状皮質から中脳水道周囲灰白質への神経投射メカニズム
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Natsuko Hitora-Imamura, Ryoki Saito, Hikaru Igarashi, Daiki Takahashi, Yuji Ikegaya, Masabumi Minami, Hiroshi Nomura
2. 発表標題 Top-down control of mouse exploratory behaviors
3. 学会等名 GRC, Optogenetics and Imaging: Technology Development, Novel Applications, and Closing the Loop Between Models and Experiments (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 人羅（今村）菜津子
2. 発表標題 カルシウム感受性蛍光タンパク質を用いた in vivo 神経活動計測
3. 学会等名 第92年会日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤 瞭毅、人羅（今村）菜津子、五十嵐 ひかる、高橋 大樹、池谷 裕二、南 雅文、野村 洋
2. 発表標題 前帯状皮質から中脳水道周囲灰白質への神経投射の活性化はマウスの探索行動を増大させる
3. 学会等名 第40回日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Natsuko Hitora-Imamura, Yuki Miura, Chie Teshirogi, Yuji Ikegaya, Norio Matsuki, Masabumi Minami, Hiroshi Nomura
2. 発表標題 Neuronal circuit activities underlying conflict decision making in fearful situations
3. 学会等名 第44回内藤コンファレンス
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------