

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06520

研究課題名(和文) ストレスが依存性薬物への欲求行動を増強させる神経機構の解明

研究課題名(英文) Neuronal mechanisms underlying stress-induced enhancement of cocaine craving

研究代表者

金田 勝幸 (Kaneda, Katsuyuki)

金沢大学・薬学系・教授

研究者番号：30421366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：薬物依存患者ではストレスにより、一旦止めた依存性薬物を再摂取してしまう再燃が重大な問題となる。本研究では、急性ストレス負荷とコカイン条件付け場所嗜好性試験の組み合わせにより作製した薬物欲求増大モデルマウスに、電気生理学、行動薬理学、化学遺伝学の研究手法を駆使し、ストレスによる薬物欲求増大の神経機構の解明を目指した。その結果、ノルアドレナリン₁受容体刺激を介した内側前頭前野神経活動の上昇がストレスによる薬物欲求増大に重要な役割を果たす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

本研究の結果より、ストレスによる薬物欲求増大の神経メカニズムの一端が明らかになった。さらに、内側前頭前野(mPFC)におけるノルアドレナリン神経伝達の遮断、あるいは、mPFC神経活動の抑制が、ストレスによる薬物欲求の増大を抑制するための治療法につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Reinstatement of drug use is a critical problem of drug addiction. One of the factors that reinstates drug use is stress. In this study, we developed a mouse model of stress-induced augmentation of cocaine craving by combining the cocaine-induced conditioned place preference paradigm and acute stress exposure. Using electrophysiological recordings, chemogenetic techniques and behavioral analyses, we found that stress-induced increase in noradrenergic transmission enhances neuronal activity in the medial prefrontal cortex, resulting in the augmentation of cocaine craving.

研究分野：神経薬理学

キーワード：薬物依存 ストレス コカイン 渴望 ノルアドレナリン 内側前頭前野

1. 研究開始当初の背景

ストレスはヒトを含む動物の意思決定、モチベーション、および、それに伴う行動に影響を与える。薬物依存患者では、ストレスを感じると、一旦止めた麻薬などの薬物を再び摂取する「再燃」が起こる。したがって、再燃をいかに抑制するかが患者にとって最も困難かつ重要な取り組むべき課題となる。このようなストレスによる行動への影響、すなわち、行動変容は、ストレスがアルコールあるいは薬物といった「快情動」をもたらす物質への欲求を上昇させるために誘導されると考えられる。快情動の情報処理は腹側被蓋野 (VTA) を中心とした脳内報酬系が担っているため、このようなストレスによる行動変容は脳内報酬系神経回路の変化に起因していると考えられるが、その神経機構には不明な点が多い。ストレスによる行動変容のメカニズムを明らかにすることは、薬物依存患者の再燃を抑止する上で、また、ヒトの意思決定、モチベーション、および、それらに伴う行動がストレスによりどのように影響を受けるかという重要な問いに対する答えを理解する上で、きわめて重要である。

これまでに我々はコカイン条件付け場所嗜好性試験 (CPP テスト) を用いて、報酬効果と環境との連合学習、および、それに基づく薬物探索行動、つまり、報酬探索行動の発現に脳幹の背外側被蓋核 (LDT) が重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。LDT は VTA へコリン作動性投射を送り、ドパミンニューロン活動を制御することから、我々はこの部位に着目し研究を進めて来た。その結果、LDT - VTA コリン作動性投射が、コカイン報酬効果の学習と薬物探索行動の発現に関わること (Shinohara et al., 2014) また、その過程に、コカイン投与より誘導される LDT コリン作動性ニューロンでのシナプスと膜特性の可塑的变化が重要であることを世界に先駆けて見出した (Kurosawa et al., 2013; Kamii et al., 2015)。これらの知見は、ストレスにより LDT を含む報酬系神経回路に変化が生じれば、薬物探索行動が変容することを示唆する。この仮説を検証するため、コカイン CPP テストに急性拘束ストレス負荷を組み合わせたという独自の実験パラダイムを構築し、実際にストレス負荷が薬物欲求行動を増強させるという動物モデルの確立に成功した。すなわち、一旦コカインの報酬効果を学習した動物は、ストレスが負荷されると、より強い薬物欲求行動を示すこと、また、この欲求行動増強には LDT での NA 神経伝達とそれに伴う報酬系神経回路の活動亢進が重要な役割を果たすことを明らかにした (Taoka et al., 2016)。一方で、これに加えて、青斑核の NA 作動性神経は、内側前頭前野 (mPFC) にも直接投射しており、ストレス負荷によって mPFC で NA 遊離が増大することも報告されている。しかし、この NA 遊離の増大が mPFC の神経細胞・局所回路に与える影響についての知見は乏しく、機能的意義も不明である。我々はこれまでに、通常の、ストレス負荷のない状況下でも mPFC が薬物探索行動の発現において重要な役割を果たすことを見出している (Kaneda, 2017; Kamii et al., 2017; Shinohara et al., 2017)。ストレスにより遊離の亢進した NA による mPFC の活動増強が薬物探索行動の増強にも関与している可能性が高いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、mPFC での NA 神経伝達が拘束ストレス負荷による薬物欲求増大に関与しているのではないかという仮説を証明することを第一の目的とする。さらに、ヒトでの精神的ストレスモデルとして汎用される社会敗北 (SD) ストレス負荷によって、拘束ストレスと同様な薬物探索行動の増強が誘導され得るのかを検証し、さらには、その神経機構を明らかにすることを第二の目的とする。

3. 研究の方法

(1) ストレス負荷時に遊離される NA が mPFC 神経細胞にどのような影響を与えるのかを、C57BL/6 マウス脳スライス標本でのホールセルパッチクランプ記録により解析する。

(2) 拘束ストレスによるコカイン欲求の増強が、mPFC での NA 受容体を介して発現するのかを明らかにするために、マウスを用いたコカイン CPP テストと拘束ストレス負荷を組み合わせた実験系を用いて解析する。mPFC に薬物局所投与のための手術を行い、拘束ストレス負荷直前に mPFC 内に NA 受容体拮抗薬を局所微量投与し、ストレス負荷による薬物欲求行動の増強が抑制されるかどうかを解析する。また、mPFC 神経細胞の活動上昇がストレスによる薬物欲求増強に関与している可能性を検証するために、化学遺伝学的手法である DREADD 法を用いて、mPFC 神経細胞の活動を細胞種選択的に制御し、CPP スコアに対する影響を解析する。

(3) 拘束ストレス負荷に代えて、身体の大いなる ICR マウスに小柄な C57BL/6 マウスを攻撃させる社会敗北 (SD) ストレスを CPP テストのポストテストの直前に負荷し、その後に薬物欲求行動への影響を評価 (評価対象は C57BL/6 マウス) するとともに、NA 神経伝達の関与を解明する。

4. 研究成果

(1) mPFC V層錐体細胞からホールセルパッチクランプ記録を行い、NAをバス適用したところ、NAはV層錐体細胞を脱分極させるとともに、活動電位を惹起した。また、NAは自発性興奮性シナプス後電流(sEPSC)を増加させたが、TTX適用下での微小EPSCを増加させなかったことから、プレシナプスではなく、ポストシナプスに作用することでその効果を発現することが示唆された。さらに、NAによる作用はアドレナリン α 1受容体拮抗薬により抑制され、一方、 α 1受容体作用薬の適用は脱分極を誘導するとともにsEPSCを増加させた。以上の結果より、NAはポストシナプスに存在する α 1受容体を介してmPFC V層錐体細胞を活性化し、mPFC局所神経回路の興奮性を増大させることが示された。

(2) mPFCへのアドレナリン α 1受容体拮抗薬の局所投与により、急性拘束ストレス負荷によるコカイン場所嗜好性の増強が抑制された。また、mPFCへのアドレナリン α 1受容体作用薬投与によりコカイン場所嗜好性の増強が誘導された。一方、mPFCアドレナリン α 1受容体の遮断は急性拘束ストレス負荷によるコカイン場所嗜好性の増強を抑制する傾向を示したが統計学的に有意な作用ではなかった。次に、DREADD法を用いてmPFC錐体細胞の活動を特異的に抑制したところ、急性拘束ストレス負荷によるコカイン場所嗜好性の増強は抑制された。一方、GABA作動性神経細胞の選択的な抑制では、コカイン場所嗜好性に影響を与えなかった。以上の結果から、急性拘束ストレス負荷によるコカイン場所嗜好性の増大にはmPFCアドレナリン α 1受容体を介した錐体細胞の興奮性増大が関与していることが明らかとなった。

(3) SDストレスをポストテストの直前に負荷することにより、拘束ストレス負荷と同様にコカイン場所嗜好性の増大が認められた。この増大はmPFCへの α 1受容体拮抗薬の局所投与により抑制された。また、DREADD法を用いてmPFCの錐体細胞の活動を選択的に抑制したところ、SDストレス負荷によるコカイン場所嗜好性の増強は抑制された。以上の結果から、SDストレスによっても拘束ストレス負荷と同様にコカイン場所嗜好性の増大が誘導され、この増大にはmPFCアドレナリン α 1受容体を介した錐体細胞の興奮性増大が関与していることが明らかとなった。

以上の結果から、ストレス負荷により遊離されたNAがmPFC錐体細胞を活性化することで、拘束およびSDストレスによる薬物欲求行動を増強することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10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 Wada, S., Yanagida, J., Sasase, H., Zhang, T., Li, X., Kamii, H., Domoto, M., Deyama, S., Hinoi, E., Yamanaka, A., Nishitani, N., Nagayasu, K., Kaneko, S., Minami, M., Kaneda, K.	4. 巻 166
2. 論文標題 Acute restraint stress augments the rewarding memory of cocaine through activation of 1 adrenoceptors in the medial prefrontal cortex of mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuropharm.2020.107968.	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 Kaneda, K., Deyama, S., Li, X., Zhang, T., Sasase, H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Neural mechanisms underlying stress-induced enhancement of cocaine craving behaviors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nihon Yakurigaku Zasshi	6. 最初と最後の頁 135 ~ 139
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1254/fpj.19147	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 Zhang Tong, Yanagida Junko, Kamii Hironori, Wada Shintaro, Domoto Masaki, Sasase Hitoki, Deyama Satoshi, Takarada Takeshi, Hinoi Eiichi, Sakimura Kenji, Yamanaka Akihiro, Maejima Takashi, Mieda Michihiro, Sakurai Takeshi, Nishitani Naoya, Nagayasu Kazuki, Kaneko Shuji, Minami Masabumi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex mediate the formation and retrieval of cocaine associated memories in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Addiction Biology	6. 最初と最後の頁 e12723
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/adb.12723	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 Sasase Hitoki, Izumi Shoma, Deyama Satoshi, Hinoi Eiichi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 42
2. 論文標題 Acute Cocaine Reduces Excitatory Synaptic Transmission in Pyramidal Neurons of the Mouse Medial Prefrontal Cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1433 ~ 1436
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b19-00318	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 Kaneda Katsuyuki	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Neuroplasticity in cholinergic neurons of the laterodorsal tegmental nucleus contributes to the development of cocaine addiction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.13962	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 Domoto Masaki, Sasase Hitoki, Wada Shintaro, Ito Shiho, Deyama Satoshi, Hinoi Eiichi, Kaneko Shuji, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 235
2. 論文標題 The synthetic cannabinoid 5F-AMB changes the balance between excitation and inhibition of layer V pyramidal neurons in the mouse medial prefrontal cortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Psychopharmacology	6. 最初と最後の頁 2367 ~ 2376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00213-018-4933-5	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 Zhang Tong, Yanagida Junko, Kamii Hironori, Wada Shintaro, Domoto Masaki, Sasase Hitoki, Deyama Satoshi, Takarada Takeshi, Hinoi Eiichi, Sakimura Kenji, Yamanaka Akihiro, Maejima Takashi, Mieda Michihiro, Sakurai Takeshi, Nishitani Naoya, Nagayasu Kazuki, Kaneko Shuji, Minami Masabumi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex mediate the formation and retrieval of cocaine-associated memories in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Addiction Biology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/adb.12723	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 Ito Shiho, Deyama Satoshi, Domoto Masaki, Zhang Tong, Sasase Hitoki, Fukao Akari, Esaki Hirohito, Hinoi Eiichi, Kaneko Shuji, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Effects of the synthetic cannabinoid 5F-AMB on anxiety and recognition memory in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Psychopharmacology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00213-019-05222-2	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 Chu Jinling, Deyama Satoshi, Li Xueting, Motono Mei, Otoda Atsuki, Saito Atsushi, Esaki Hirohito, Nishitani Naoya, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 743
2. 論文標題 Role of 5-HT1A receptor-mediated serotonergic transmission in the medial prefrontal cortex in acute restraint stress-induced augmentation of rewarding memory of cocaine in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135555 ~ 135555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2020.135555	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 Fumiya, Arakaki Saya, Amano Taiju, Minami Masabumi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 40
2. 論文標題 Noradrenaline enhances the excitatory effects of dopamine on medial prefrontal cortex pyramidal neurons in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 348 ~ 354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12135	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16件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 金田 勝幸
2. 発表標題 Neural mechanisms underlying stress-induced enhancement of cocaine craving
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回日本神経科学大会・第62回日本神経化学学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 二見 優作, Zhang Tong, 出山 諭司, 檜井 栄一, 金田 勝幸
2. 発表標題 Neural mechanisms of maintenance motivation for voluntary wheel running in mice
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回日本神経科学大会・第62回日本神経化学学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhang Tong, 和田 進太郎, 柳田 淳子, 笹瀬 人暉, Li Xueting, 上居 寛典, 堂本 将輝, 出山 諭司, 檜井 栄一, 山中 章弘, 西谷 直也, 永安 一樹, 金子 周司, 南 雅文, 金田 勝幸
2. 発表標題 急性ストレス負荷によるコカイン欲求行動増強における内側前頭前野ノルアドレナリン神経伝達の役割
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaneda K
2. 発表標題 Neural mechanisms of acute stress-induced enhancement of cocaine craving
3. 学会等名 AsCNP2019 (6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wada S, Yanagida J, Sasase H, Zhang T, Kamii H, Domoto M, Li X, Deyama S, Hinoi E, Yamanaka A, Nishitani N, Nagayasu K, Kaneko S, Minami M, Kaneda K
2. 発表標題 Acute restraint stress augments the rewarding effect of cocaine through the activation of α_1 adrenoceptors in the medial prefrontal cortex of mice
3. 学会等名 Neuroscience 2019-Society for neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笹瀬 人暉、泉 翔馬、出山 諭司、金田 勝幸
2. 発表標題 マウス内側前頭前野 層錐体細胞に対するセロトニンの興奮制御機構
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (Web要旨公開で成立)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 李雪テイ、柳田淳子、初金玲、本野芽衣、出山諭司、山中章弘、西谷直也、永安一樹、金子周司、金田勝幸
2. 発表標題 急性社会的敗北ストレス負荷によるコカイン欲求行動増強におけるノルアドレナリンおよびドパミン伝達の役割
3. 学会等名 日本薬学会第140年会（Web要旨公開で成立）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堂本 将輝, 伊藤 志穂, 笹瀬 人暉, 矢口 立真, 和田 進太郎, 出山 諭司, 檜井 栄一, 金子 周司, 金田 勝幸
2. 発表標題 危険ドラッグ5F-AMBによるマウスの行動異常の神経メカニズム
3. 学会等名 第69回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金田 勝幸
2. 発表標題 コカイン依存形成に関わる神経回路とストレスによるその変容
3. 学会等名 第28回日本臨床精神神経薬理学会 第48回日本神経精神薬理学会 合同年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堂本 将輝, Tong Zhang, 上居 寛典, 柳田 淳子, 和田 進太郎, 出山 諭司, 宝田 剛志, 檜井 栄一, 崎村 建司, 山中 章弘, 前島 隆司, 三枝 理博, 櫻井 武, 西谷 直也, 永安 一樹, 金子 周司, 南 雅文, 金田 勝幸
2. 発表標題 コカイン関連記憶の獲得および想起における内側前頭前野グルタミン酸作動性ニューロンの役割
3. 学会等名 第28回日本臨床精神神経薬理学会 第48回日本神経精神薬理学会 合同年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤 志穂, 堂本 将輝, 笹瀬 人暉, 矢口 立真, 和田 進太郎, 出山 諭司, 檜井 栄一, 金子 周司, 金田 勝幸
2. 発表標題 危険ドラッグ5F-AMBにより誘導されるマウスの行動異常の神経メカニズム
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部 第130回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笹瀬 人暉, 和田 進太郎, 堂本 将輝, 伊藤 志穂, 出山 諭司, 檜井 栄一, 金田 勝幸
2. 発表標題 内側前頭前野でのてんかん発作用活動誘導におけるノルアドレナリンの役割
3. 学会等名 第134回 日本薬理学会 近畿部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金田 勝幸
2. 発表標題 Neural mechanisms underlying stress-induced enhancement of cocaine rewarding properties
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笹瀬 人暉, 伊藤 志穂, 和田 進太郎, 堂本 将輝, 出山 諭司, 檜井 栄一, 金田 勝幸
2. 発表標題 The role of noradrenaline in the model of stress-induced seizures
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 乙田篤輝、李セツテイ、初金玲、本野芽衣、齋藤惇、江崎博仁、西谷直也、出山諭司、金田勝幸
2. 発表標題 急性拘束ストレスによるコカイン報酬記憶増強における内側前頭前野セロトニン神経伝達の役割
3. 学会等名 日本薬学会第141年会 リモート
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 二井谷和平、笹瀬人暉、伊藤志穂、矢口立真、泉翔馬、出山諭司、金田勝幸
2. 発表標題 ストレスによるてんかん発作誘発促進における 内側前頭前野 1アドレナリン受容体の関与
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学会・第42回日本生物学的精神医学会・第4回日本精神薬学会合同年会 (NPBPPP2020)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>金沢大学医薬保健研究域薬学系 薬理学研究室 http://www.p.kanazawa-u.ac.jp/~yakuri/index.html</p>

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	出山 諭司 (Deyama Satoshi)		

6. 研究組織（つづき）

	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	西谷 直也 (Nishitani Naoya)		

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