

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03541

研究課題名(和文) 情動反応を抑制する前頭前野マイクロサーキットの解明

研究課題名(英文) Identifying prefrontal cortical circuit underlying suppression of emotional memory

研究代表者

植松 朗 (Uematsu, Akira)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・特任講師

研究者番号：90716242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：脅威や報酬を予測する刺激に対して、結果が変わった後も過剰な予測反応を示し続けることは病的状態につながりうる。前頭前野が情動反応を変更するのに重要であると言われていた中で、本研究では詳細な神経機構について検討を行った。最新の研究ツールを開発・使用することにより、前頭前野における特定の神経細胞群が脅威や報酬を予測する刺激に対する行動変容に重要であることを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脅威や報酬を予測する結果が異なった場合には予測をアップデートし、状況に適応していくことが必要とされる。アップデートする過程において前頭前野が重要であるが、詳細な神経回路メカニズムについては解明されていなかった。本研究においては動物モデルを用いることで報酬や恐怖を予測する刺激がアップデートされる際の前頭前野のより詳細な神経回路機能を解明した。さらに、神経応答についても新たな知見を得ることができた。PTSDや報酬依存といった病的状態においては前頭前野の機能に異常をきたしていると考えられ、本研究の成果がこれらの理解につながると考える。

研究成果の概要(英文)：Associative memory is a critical function to predict danger or reward in the environment. When the predicted outcome no longer exists, animals can learn to inhibit these emotional memories, a process called extinction. The ventromedial subregion of the prefrontal cortex (vmPFC) is important for appetitive or aversive memory extinction. However, little is known about whether specific projection-defined population encode aversive and appetitive extinction and if so, how the neural dynamics in vmPFC cell populations differentiate distinct forms of extinction. I found that unique population in the vmPFC has specific functional roles in appetitive and/or aversive extinctions. Next, I recorded calcium dynamics of vmPFC excitatory neurons with miniature microscope and tracked same neurons during appetitive and aversive extinctions. The population analysis showed that population dynamics of the vmPFC neurons differ between appetitive and aversive extinction.

研究分野：神経科学

キーワード：消去 前頭前野 恐怖 報酬

1. 研究開始当初の背景

恐怖は生存のために必要な感情であるものの、地震といった自然災害や犯罪被害などによる過度の恐怖は心的外傷後ストレス障害 (PTSD) をはじめとした精神疾患を引き起こす。PTSD 患者の脳内ではモノアミン(ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなど)濃度の変化があることが報告されている。現在の治療法として持続エクスポージャー法(消去)や、脳内のモノアミン濃度をコントロールする薬物治療が行われている。しかしながら、治療の効果には個人差があり、効果がない・再発するといった事例も報告されている。また恐怖記憶を消去する過程における脳での詳細な神経回路の全貌は解明されていない。そこで、動物モデルを用いて消去の神経回路を解明することにより、治療の意義やより効果的な新規治療方法の開発などに寄与できると考える。

先行研究により、ヒト・動物共に複内側前頭前野 (vmPFC) が恐怖記憶の消去に重要であること、またげっ歯類において vmPFC 内でも情動を制御する扁桃体に投射する神経群が消去に必要であることが明らかとなっている。これまで申請者は恐怖記憶形成・消去におけるモノアミンの役割について動物モデルでの研究を行ってきた。その中で、均一の働きを持つと思われていた脳の青斑核に存在するノルアドレナリン神経は vmPFC に投射する群が特異的に消去学習に重要であり、扁桃体に投射する他のノルアドレナリン神経群は消去学習を阻害することを明らかとした(Uematsu et al. Nat Neurosci 2017)。また腹側被蓋野ドーパミン神経においては、vmPFC に投射するドーパミン神経は消去学習を阻害するが、内側側坐核に投射する神経は消去を促進する働きがあることを明らかとした(Luo, Uematsu et al. Nat Comm 2018)。このように、近年における神経回路研究においては、特定脳部位が特定機能を持つというレベルから、特定部位内の特定の神経細胞群が特定機能を持つというような、よりミクロなレベルでの視点が重要になってきている。

他の大脳皮質と同様に vmPFC にも様々な脳部位に投射する特異的な神経細胞群が存在する。これまで恐怖消去の研究では扁桃体投射群の機能のみに焦点が当てられており、光遺伝学や化学遺伝学を用いることで恐怖記憶消去における機能について明らかにされてきている(Bukalo et al. 2015)。しかしながら、他の神経群の消去における機能、さらに扁桃体投射群を含めたそれぞれの神経群の神経表象については明らかでない。また、vmPFC は報酬記憶の消去にも関係していることが報告されている。しかしながら、報酬記憶消去の神経回路が恐怖の消去の場合とどう異なるのか、投射神経それぞれの役割、そして投射神経内での報酬と恐怖消去での相違は明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究では、新規手法を開発することにより vmPFC における数種類の投射先を標識し、それぞれの投射神経群の活動を同時に観察することで、詳細な神経表象を解明する。さらに光遺伝学によりそれぞれの投射神経群の機能を明らかにする。

3. 研究の方法

新規ベクター開発

vmPFCにおける投射神経群を同一個体において標識するため、アデノ随伴ウイルス(AAV)の逆行性のセロタイプを用いた。3種類のベクターにそれぞれ赤色もしくは青色蛍光タンパク質を細胞内局在(核もしくは細胞質)にて発現させるようにデザインした。

カルシウムイメージング

近年、イメージング技術の発達により細胞を同定して神経活動を記録することが可能となってきた。さらに、脚光を浴びているのは、Gradient index (GRIN) lensを留置し、Inscopix社のnVistaという2-3gの軽量小型顕微鏡で焦点を合わせることで、自由行動下動物の脳深部で数十~数百細胞のカルシウムシグナルを1細胞レベルでイメージングする方法である。イメージング法の最大の利点は多数の同一神経細胞を長期にわたって自由行動下にて記録することができることであり、これは従来のin-vivo電気生理学では不可能であった。本研究においてもこの方法を用いることで、恐怖と報酬記憶消去時におけるvmPFCのカルシウムシグナルを同一細胞から記録した。記録のため、AAVによりvmPFCの興奮性神経細胞にGCaMP6fを発現させた。また、特定脳部位における多様な神経を一度に見るため、上記のベクターを3種類の脳部位に投与した。行動実験中のイメージング終了後に2光子顕微鏡を用いてGCaMPと共に赤と青色蛍光を観察し、細胞の投射先について同定を行った。

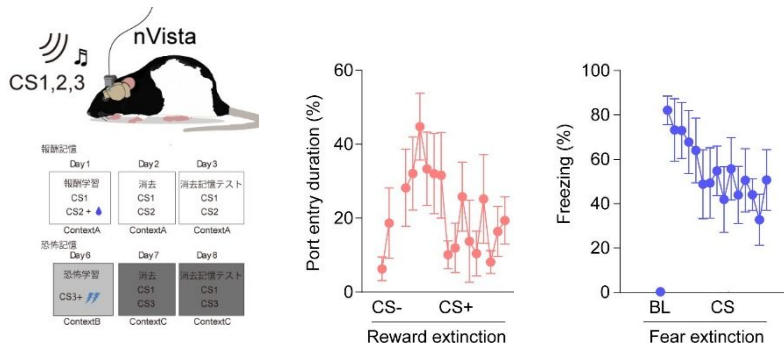
光遺伝学

投射神経細胞群の機能を探るため、ハロロドプシンを用いて活動の抑制実験を行った。報酬もしくは恐怖記憶消去の行動課題中に条件刺激が提示される時レーザーを照射した。この際の行動指標についてコントロール群との比較を行った。

4. 研究成果

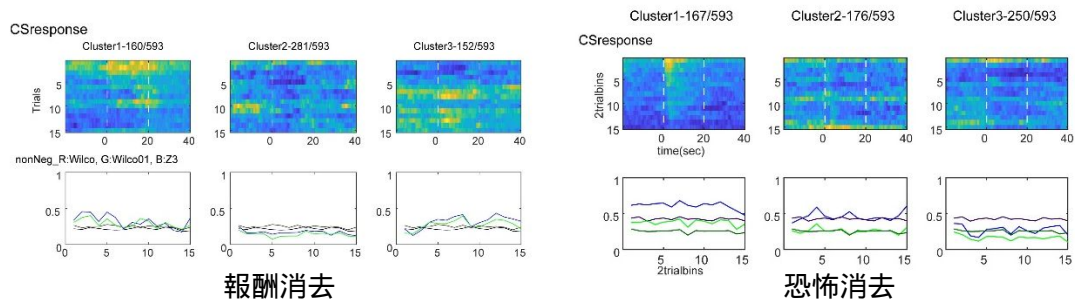
新規の逆行性ウイルスを作製した。蛍光色と細胞局在を組み合わせることにより異なる5種類の異なるシグナルを観察できた。nVistaとの組み合わせについていくつかの条件を試行した結果、3種類の細胞をみる事が可能であることが明らかとなった。そのため、以降は扁桃体・側坐核・中脳へ投射する3群について検討を行うこととした。

カルシウムイメージングにおいては、報酬学習を行った後に消去を行い、さらに同じ動物を用いて恐怖条件づけとその消去を行った。消去時において報酬・恐怖タスク時に行動反応が有意に減少することを確認した(下図)。



9頭のラットより593個の神経細胞を得た。この神経活動についてクラスター解析を行ったところ3種類のクラスターに分類された。各群における活動を平均したものと、

活動する神経細胞の割合を示したものが下のヒートプロットである。



さらに、投射神経群について上記のクラスター分類を適用すると、報酬消去中に扁桃体投射群は条件刺激に対する応答が徐々に上がるもしくは下がるクラスターに多く、中脳に投射する群は活動が抑制されるものが多いことが明らかとなった。恐怖消去中では側坐核と中脳投射群は活動抑制するクラスターに多く、扁桃体投射群は最初もしくは最後に活性化するクラスターに多くなった。以上の結果から、投射先により異なる神経活動クラスターに分類されることが明らかとなった。

次に vmPFC における投射神経細胞群の機能を確認するため、光感受性のハロロドプシンを AAV にて発現させた。光ファイバーを vmPFC に埋込み、手術回復後に報酬学習 消去もしくは恐怖学習 消去という行動タスクを別個体にて行った。消去中の条件刺激の間のみレーザーを照射し、神経活動を抑制した。その結果、扁桃体投射群は報酬と恐怖記憶の消去促進に関与していることが明らかとなった。一方で中脳投射群は恐怖記憶の消去を阻害する役割があることが明らかとなった。

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 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 野辺宣翔、植松朗、榎本和生
2. 発表標題 幼若期ストレスによるPTSD惹起モデルの検討
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mayumi Watanabe, Akira Uematsu, Joshua P Johansen
2. 発表標題 Prefrontal cortical control of emotional responding through projections to the brainstem noradrenaline system
3. 学会等名 SfN Global Connectome（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akira Uematsu
2. 発表標題 Prefrontal cortex dynamics for overriding emotional responding
3. 学会等名 Neuro2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 植松 朗
2. 発表標題 恐怖記憶を制御するカテコールアミン神経の多様性
3. 学会等名 日本生化学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Uematsu
2. 発表標題 Functional heterogeneity of catecholamine system in fear learning and extinction
3. 学会等名 NIPS emotion meeting (招待講演)
4. 発表年 2019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		
スイス	Friedrich Miescher Institute		