

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15936

研究課題名（和文）脳幹 中脳 辺縁系回路によるシナプス可塑性と情動行動のドーパミン依存的制御

研究課題名（英文）Neuronal mechanisms underlying synaptic and behavioral plasticity regulated by dopamine

研究代表者

永瀬 将志（Nagase, Masashi）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：40749462

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）：恐怖などの負情動は危険を知らせる警告信号としての役割を担う一方、負情動の制御破綻は過度の苦痛をもたらす大きな問題となる。しかし、情動制御、特に神経修飾物質による情動制御の神経回路機構については未だ不明な点が多い。本研究ではドーパミンに着目し、脳幹-腹側被蓋野-扁桃体神経回路を包括的に解析し、その生理的意義とシナプス・回路レベルでの制御機構を明らかにすることを目指した。光遺伝学的操作による忌避行動誘導などの行動変容、ドーパミンによる扁桃体シナプス伝達制御、経験依存的な味覚情動価の変容、脳幹-腹側被蓋野-扁桃体経路における可塑的变化等を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PTSDなどの精神疾患や慢性疼痛に伴う負情動の制御破綻は過度の苦痛をもたらす、QOLを著しく低下させて臨床上の大きな問題となるが、治療法が乏しいのが現状である。本研究では脳幹-腹側被蓋野-扁桃体神経回路による情動関連行動の制御や味覚情動価の変容に伴う可塑的变化、ドーパミンによる回路修飾を見出した。これらの結果は、負情動の制御破綻を伴う疾患に対して、脳幹-腹側被蓋野-扁桃体神経回路が治療標的となりうることを示すとともに、ドーパミン受容体を標的とする既存の薬物を用いた新たな治療戦略の開発に繋がること期待される。

研究成果の概要（英文）：While negative emotion, such as fear and pain, serves as an alarm signal of danger, dysregulation of the negative emotion is a critical clinical issue. However, neural circuitry mechanisms of regulation of negative emotion, in particular those mediated by neuromodulators, remain unknown. This study focused on dopamine and analyzed roles of a brainstem-midbrain-amygdala circuit to elucidate its physiological significance. We found modulation of mouse behavior by the activation of brainstem-midbrain pathway, induction of avoidance behavior by the activation of brainstem-amygdala pathway, modulatory effects of dopamine on the synaptic transmission in brainstem-amygdala pathway, and experience-dependent changes in taste preferences accompanied by plastic changes in the brainstem-midbrain-amygdala circuit.

研究分野：神経生理学

キーワード：扁桃体 腹側被蓋野 腕傍核 シナプス可塑性 ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

恐怖や痛みなどの負の情動は個体に危険を知らせる警告信号として働くため、個体の生存に必須である。一方、PTSD などの精神疾患に伴う負情動の制御破綻は過度の苦痛をもたらして QOL を著しく低下させ、臨床上の大きな問題となる。しかし、情動制御、特に神経修飾物質による情動制御の神経回路機構については未だ不明な点が多い。

負情動の形成に中心的な役割を担う神経核として、扁桃体が同定されている。申請者らは脊髄後角から痛み情報を直接受け取る脳幹の腕傍核に着目し、腕傍核から扁桃体への投射が PTSD モデルにおいてシナプス増強を示すこと (Watabe et al., *Mol Brain*, 2013)、そして、腕傍核 - 扁桃体経路の光遺伝学的活性化が人工的恐怖記憶を形成することを明らかにしてきた (Sato et al., *Mol Brain*, 2015)。組織学的には、腕傍核がドーパミンニューロンの主要な起始核である腹側被蓋野に投射すること (Coizet et al., *Neuroscience*, 2010)、さらに、腹側被蓋野のドーパミンニューロンが扁桃体に投射することが報告されている (Beier et al., *Cell*, 2015)。

ドーパミンは、古典的には報酬のような快情動の形成における役割が知られるが、近年では、負情動の制御にも重要であることが明らかとなってきた (Pignatelli & Bonci, *Neuron*, 2015)。例えば、扁桃体中心核へのドーパミン受容体拮抗薬の投与によって恐怖記憶の形成が阻害されることや (Guarraci et al., *Behav Neurosci*, 2000)、腹側被蓋野 - 扁桃体経路がドーパミン依存性に恐怖記憶の般化を制御することが報告されている (Jo et al, *Neuron*, 2018)。以上の知見は、脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路が情動行動を制御する可能性を示すが、詳細は明らかでない。

2. 研究の目的

本研究では、脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路が情動行動をどのように制御するのか、そのシナプス機構はどのようなものかを明らかにすることを目指した。そのために、シナプス機能の修飾因子としてドーパミンに着目し、光遺伝学的手法、電気生理学的手法、および、行動学的手法を用いて、脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路のシナプス・回路レベルでの制御機構を明らかにするとともに、個体レベルでの役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路による情動行動制御機構を明らかにするために、各光遺伝学的活性化が情動関連行動に及ぼす影響を、ワイヤレス光インビボ刺激系を用いて解析した。さらに、急性脳切片を用いた電気生理学的解析により、経路特異的なシナプス特性を評価するとともに、ドーパミンが及ぼす影響を解析した。また、細胞種特異的 Cre 発現マウスを用いて脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路の投射パターンを組織学的に評価した。

情動関連行動の変容と脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路の可塑的变化の関係を明らかにするために、経験依存的な味覚情動価値の変容とそのときの脳内変化を解析した。長期間の味質暴露により、味覚嗜好性が変化することが知られている。そこで、うま味または苦味に 3 週間暴露したうま味暴露群と苦味暴露群、ならびに、対照群として水暴露群を作製し、2 ボトルテストによって味覚嗜好性を評価するとともに、脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路の味質応答性を、最初期遺伝子 Fos の蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (Fos FISH) によって評価した。

4. 研究成果

申請者らは脳幹 - 扁桃体経路の光遺伝学的活性化が痛み刺激の代替となり、人工的恐怖記憶を形成することを報告している (Sato et al., *Mol Brain*, 2013)。脳幹 - 扁桃体経路の役割をより詳細に明らかにするために、同経路が嫌悪シグナルとしての機能を担うかを評価した。マウス脳幹に AAV ベクターを用いてチャンネルロドプシンを発現させ、ワイヤレス光インビボ刺激系を用いて自由行動下に脳幹 - 扁桃体経路を光活性化させたところ、マウスは次第に光刺激エリアを避ける行動を示した。この結果は脳幹 - 扁桃体経路が忌避行動を直接誘発する嫌悪シグナルとして働くことを示すものであり、*Molecular Brain* 誌にて成果を報告した (Ito et al., *Mol Brain*, 2021)。また、脳幹 - 腹側被蓋野経路を組織学的に解析し、その光遺伝学的操作による行動変容も見出した。さらに、電気生理学的手法と光遺伝学的手法を用いた経路特異的解析手法によって、急性脳切片において脳幹 - 腹側被蓋野経路のシナプス特性を詳細に解析した。また、細胞種特異的 Cre 発現マウスを用いて、脳幹 - 扁桃体経路と脳幹 - 腹側被蓋野経路が細胞種によ

って異なる投射パターンを示すことを明らかにした。次に、ドーパミンが脳幹 - 扁桃体経路におよぼす作用を電気生理学的に詳細に解析した。特に光遺伝学的手法を用いた経路特異的解析手法によって、ドーパミンによる脳幹 - 扁桃体シナプス伝達制御には複数の異なる制御パターンがあることを見出し、その細胞機構と分子機構を明らかにした。また、腹側被蓋野 - 扁桃体経路の解析も進め、脳幹 - 扁桃体経路におよぼす影響を検討した。

情動関連行動の変容と脳幹 - 腹側被蓋野 - 扁桃体神経回路の可塑的变化の関係を明らかにするために、経験依存的な味覚情動価値の変容と神経回路の可塑的变化を評価した。まず、長期味質暴露モデルにおいて、味覚嗜好性の変化を行動レベルで解析した。うま味暴露群ではうま味嗜好性が亢進したのに対し、苦味嗜好性（忌避性）には変化が認められなかった。一方、苦味暴露群では苦味忌避性が低下したのに対し、うま味嗜好性には変化が認められなかった。以上の結果は、長期間暴露による味覚嗜好性の変化は暴露された味質に特異的であることを示す。味覚嗜好性変容の神経回路機構を明らかにするために、顕著な嗜好性亢進が認めれたうま味暴露群に着目し、脳内のうま味応答性を評価した。脳幹の腕傍核、腹側被蓋野、扁桃体中心核に加え、味覚の伝導経路である脳幹の孤束核と島皮質において、うま味応答性を Fos FISH を用いて解析した。その結果、扁桃体において、長期うま味暴露によって、うま味応答性が細胞種特異的に可塑的に変化することを明らかにした。以上の結果は、経験依存的な味覚嗜好性の変容に扁桃体が細胞種依存性に関与することを示唆する。これらの成果を *Molecular Brain* 誌にて報告した (Hamada et al., *Mol Brain*, 2023)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ito Mariko, Nagase Masashi, Tohyama Suguru, Mikami Kaori, Kato Fusao, Watabe Ayako M.	4. 巻 14
2. 論文標題 The parabrachial-to-amygdala pathway provides aversive information to induce avoidance behavior in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 94
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-021-00807-5	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 Hamada Shun, Nagase Masashi, Yoshizawa Tomohiko, Hagiwara Akari, Isomura Yoshikazu, Watabe Ayako M., Ohtsuka Toshihisa	4. 巻 4
2. 論文標題 An engineered channelrhodopsin optimized for axon terminal activation and circuit mapping	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-01977-7	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 Nagashima Takashi, Tohyama Suguru, Mikami Kaori, Nagase Masashi, Morishima Mieko, Kasai Atsushi, Hashimoto Hitoshi, Watabe Ayako M.	4. 巻 13
2. 論文標題 Parabrachial-to-parasubthalamic nucleus pathway mediates fear-induced suppression of feeding in male mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 7913
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-35634-2	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 Hamada Shun, Mikami Kaori, Ueda Shuhei, Nagase Masashi, Nagashima Takashi, Yamamoto Mikiyasu, Bito Haruhiko, Takemoto-Kimura Sayaka, Ohtsuka Toshihisa, Watabe Ayako M.	4. 巻 16
2. 論文標題 Experience-dependent changes in affective valence of taste in male mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-023-01017-x	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------