

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02660

研究課題名(和文) ソーシャルディスタンスを制御する神経基盤の解明

研究課題名(英文) Elucidating the neural mechanism that regulates social distance

研究代表者

征矢 晋吾 (Shingo, Soya)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：90791442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は新規ニューロペプチドB/W (NPB/W)の1受容体(NPBWR1)を発現する扁桃体中心核のニューロン(NPBWR1ニューロン)が社会行動時の個体識別およびその際のソーシャルディスタンスと社会性に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。実際に、NPBWR1ニューロンを薬理遺伝学的に操作することにより、このニューロンの人為的興奮が新奇個体への社会性を亢進させる一方で人為的抑制は社会性を低下させた。さらにヒトNPBWR1遺伝子のSNP(Y135F)によって、CeAニューロンの活動性が制御されることによって新奇個体に対する社会行動が変化する可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬理遺伝学や光遺伝学を用いてNPBWR1ニューロンを人為的に操作させることで、新奇個体に対する社会性およびソーシャルディスタンスが変化することを突き止めている。NPBWR1を標的とした創薬開発研究を行うことで、様々な要因によって低下した社会性を回復させる効果が期待できる。また、ヒトNPBWR1(Y135F)の生理的意義を明らかにすることによって、個性の範疇であった情動応答および社会行動の多様性(特に人との距離感)を分子・神経科学的に説明するための基礎的知見を提供できる。

研究成果の概要(英文)：It has been suggested that neurons in the central nucleus of the amygdala (CeA) expressing the novel Neuropeptide B/W receptor 1 (NPBWR1) (referred to as NPBWR1 neurons) play a crucial role in individual recognition during social interactions, as well as in the regulation of social distance and sociability. Indeed, by pharmacogenetically manipulating NPBWR1 neurons, artificial excitation of these neurons enhanced sociability towards novel individuals, whereas artificial inhibition reduced sociability. Furthermore, it is hypothesized that the activity of CeA neurons, regulated by the SNP (Y135F) of the human NPBWR1 gene, could potentially alter social behavior towards novel individuals.

研究分野：分子行動生理学

キーワード：扁桃体 Npbwr1 社会的新奇嗜好性 ソーシャルディスタンス

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

私たちの社会においては、言葉や身振り、そして他者を記憶することでコミュニケーションを取る以上見知らぬ他者とのソーシャルディスタンスを縮めていくことは社会性を構築する上で不可欠である。パーソナルスペースとは他人に近付かれると不快に感じる空間または距離を表す概念であり、一般的に親密な相手とのパーソナルスペースは狭く、逆に敵視している相手や初めて会う人に対しては広くなる。したがって、不適切なソーシャルディスタンスの調節によるパーソナルスペースの制御不全は、コミュニケーション障害から対人恐怖症および自閉症に至るまで、社会性に関わる様々な問題の根幹となる現象であると推察される。実際に、自閉症モデルマウスを用いた研究では社会行動の異常(相手との距離が遠く、社会的接触が少ない)が報告されている(Katayama et al., 2016)。動物実験において、社会性および社会行動は主に他者との接触回数およびその持続時間等を観察することで議論されており、関連する脳領域は多数報告されている(Okuyama et al, 2016, Baran et al, 2017)。しかし、実際に精神疾患等にみられる社会性の喪失は突如起こることではないため、接触の有無のみでは複雑な社会行動を理解するには不十分である。自閉症など特定の精神疾患などにおいても、症状としてソーシャルディスタンスが遠いことが観察される一方で、その過程についての段階的な機序についてはいまだ不明である。申請者は、複雑な社会行動を理解するためには経時的に変化するソーシャルディスタンスを調節する因子を捉えることが重要であると考え、他者と社会的接触に至るまでのソーシャルディスタンスを制御する分子・神経メカニズムの探索を試みる。他者との社会的接触前後には自律神経応答を含む情動応答が顕著に観察されるため、ソーシャルディスタンスが調節される背景には情動応答の中核である扁桃体の関与が示唆される。扁桃体が障害される例として Urbach-Wiethe 症候群が知られているが、この患者は情動応答の減弱とともに他者と会話する際のソーシャルディスタンスが非常に近いことが報告されている(Kennedy et al., 2013)。したがって、他者との物理的距離と情動応答を統合する扁桃体の新規神経基盤を探索することで、ソーシャルディスタンスの調節メカニズムを明らかにできる可能性がある。

### 2. 研究の目的

申請者らの研究室では、ソーシャルディスタンスを制御する神経基盤を探索するためニューロペプチド B/W (NPB/W) に注目した。新規のニューロペプチドである NPB/W は疼痛や痛みの制御、自律神経系の調節などに関わることが知られているが、その生理的役割は不明な点が多い。これらの受容体であるニューロペプチド B/W 1 受容体 (NPBWR1) は分界条床核、腹側被蓋野、特に扁桃体中心核 (CeA) の GABA 作動性ニューロンにおいて顕著な発現が確認されていることから、当初は恐怖やストレスなどに関わることが示唆された。申請者らの研究室では、NPBWR1 欠損マウスを独自に作成し、様々な行動テストを行った結果、このマウスは初めて対峙する相手に対して社会的接触時間が非常に長く、執拗な追尾行動を示すことが明らかになった。この時の心拍数、血圧を測定したところ、対照群に比べ顕著かつ持続的な上昇が見られた。また、恐怖応答の減弱が観察された(Nagata-Kuroiwa et al, 2011)。つまり、CeA の NPBWR1 が欠損することにより、自律神経応答や恐怖応答の調節に異常をきたし、恐怖の対象になりうる新規個体に対するソーシャルディスタンスが近いことが示唆される。さらに、申請者らの研究室ではヒトの NPBWR1 遺伝子における 1 遺伝子多型 (SNP) を突き止めている。1 遺伝子が異なる (404A>T) ことでアミノ酸配列が変化し (Y135F)、受容体機能の低下により、ヒトにおいて過度な情動応答の発現および情動刺激に対する心理傾向が異なることを報告している (Watanabe et al., 2012)。

また、NPBWR1 遺伝子に SNP を持つ被験者において情動刺激提示の際に扁桃体活動の顕著な増加が観察されている（未発表）ことから、NPBWR1 遺伝子における SNP は扁桃体機能に影響を与え、個人の性格傾向・心理傾向、特に対人間コミュニケーションにおける心理特性を大きく規定する遺伝子の一つである可能性がある。しかし、NPBWR1 遺伝子の SNP が社会性およびソーシャルディスタンス制御に果たす役割については全く明らかになっていない。ヒト研究で得られたこれらの独自の知見をもとに、本研究では神経特異的なアプローチが可能なマウスを用いて扁桃体において NPBWR1 が発現するニューロン（NPBWR1 ニューロン）の入出力解析を行い、描出した神経回路の操作および活動動態の解析を行うことでソーシャルディスタンスの制御機構を明らかにする。さらに、ヒト NPBWR1 遺伝子(SNP あり)をマウスの扁桃体に導入する新たな手法により、ソーシャルディスタンス制御におけるヒト NPBWR1 の SNP が持つ生理的役割の解明を試みる。

### 3. 研究の方法

#### 実験 1 NPBWR1 ニューロンの神経ネットワークの描出

変異型狂犬病ウイルスベクター（SAD ΔG-GFP(EnvA)）を逆行性トレーサーとして、NPBWR1 遺伝子座に Cre をノックインしたマウス（NPBWR1-iCre, 確立済み）の CeA に投与し、NPBWR1 ニューロン特異的に発現させる。また、順行性トレーサーとしてシナプトフィジンを発現する AAV を上記と同様に投与する。この手法により、NPBWR1 ニューロンがどの領域から直接入力を受けて（狂犬病ウイルスに感染した細胞の数により評価）、どの領域に情報を伝達しているのか（シナプトフィジンを発現する脳領域により同定）その入出力系を明らかにし、CeA の NPBWR1 ニューロンを主とした神経回路の全貌を明らかにする。

#### 実験 2 NPBWR1 ニューロンの人為的操作がソーシャルディスタンスに与える影響

NPBWR1-iCre マウスに Cre 依存的に人工受容体である hM3Dq（興奮性）または hM4Di（抑制性）を発現する AAV を CeA に投与する。これらのリガンドである CNO（Clozapine-N-Oxide）をマウスの腹腔内に投与することで NPBWR1 ニューロンを選択的に操作し、社会行動およびソーシャルディスタンスの変化を解析する。社会行動の解析は、3 チャンバー行動試験を用いて行い、社会的接触および接触時間を評価する。ソーシャルディスタンスは、ケージ（真ん中のドアにより分割）に二匹の被験動物を入れ、ドアを開ける前後の動画を撮影し、独自の解析ソフトを用いた二個体間の距離を算出することにより評価する。同様のマウスを用いて Cre 依存的に光感受性のチャネルロドプシン 2(ChR2) を発現する AAV を CeA に投与する。実験 1 で同定した NPBWR1 ニューロンの投射先に光ファイバーを挿入・留置し、473nm のレーザーを用いて NPBWR1 ニューロン軸索末端を光刺激により興奮させる。この実験により、NPBWR1 ニューロンの下流が社会行動およびソーシャルディスタンスに与える影響について機能的な解析を行うことができる。

#### 実験 3 社会的接触前後における NPBWR1 ニューロンの活動動態

NPBWR1 ニューロンの生理的な役割を理解するため、実際に NPBWR1 ニューロンが社会的接触前後に活性化されているのか確認する必要がある。NPBWR1-iCre マウスの CeA に、Cre 依存的に発現し、神経活動（カルシウムイオンの流入）を検知して蛍光タンパクを発現するバイオセンサー（GCaMP6）を組み込んだ AAV を投与する。神経活動に伴う蛍光シグナルを検知する小型レンズを CeA の直上に留置し、一細胞レベルでの活動計測を可能にする小型顕微鏡カメラ（nVista）を通して NPBWR1 ニューロンの挙動を自由行動下でモニターする。この手法を用いて、社会的接触の前後および社会的接触時の NPBWR1 ニューロンの活動を詳細に観察し、その生理的役割を明らかにする。また、記録したビデオの解析により、ソーシャルディスタンスを算出することで経時的な NPBWR1 ニューロンの神経活動とソーシャルデ

インスタンスの相関関係を明らかにする同時イメージングを試みる。

#### 実験4 マウスを用いたヒトNPBWR1におけるSNPの生理的意義の解明

ヒトのNPBWR1遺伝子におけるSNPの生理的役割を解明するため、NPBWR1欠損マウスの脳内にAAVを用いてSNPを持つヒトのNPBWR1遺伝子を人為的に発現させる新たな手法を試みる。上述したNPBWR1-*iCre* (Homozygous = NPBWR1欠損)マウスのCeAにAAVを投与することでSNPの有無にもとづく2種類のヒトNPBWR1遺伝子[NPBWR1(通常)]または[NPBWR1(機能低下型、SNP:Y135F)]を回復させる。これらのマウスの社会行動およびソーシャルディスタンスを観察し、CeAに局在するNPBWR1の生理的意義を明らかにするとともに、ヒトNPBWR1遺伝子におけるSNP(Y135F)が社会行動、ソーシャルディスタンスに与える影響を個体レベルで明らかにする。

#### 4. 研究成果

実験1で行った狂犬病ウイルスを用いたNPBWR1ニューロンの逆行性トレーシング(A)の結果を図1に示す。CeAのNPBWR1ニューロン(CeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロン)にシナプス接続している脳領域をGFPにより可視化した(B)。特に扁桃核梨状皮質移行領域(amygdala-piriform transition area: AmPir)や後部扁桃体外側部(posterior basolateral amygdala: pBLA)、背側分界条床核(dorsal bed nucleus of the stria

terminalis: dBNST)等の脳領域にGFPシグナル(白色で表示)が豊富に観察された。次にCeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンの順行性トレーシングを行った結果(C)、プレシナプスに発現するsynaptophysinを様々な脳領域でGFPにより可視化した結果、特に微小細胞被蓋(microcellular tegmentum: MiTg)にGFPシグナルの密な集積が確認された(D)。実験2では、CeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンが新奇個体に対する社会行動に与える影響を明らかにするため、薬理遺伝学(Fig. 2A-C)または光遺伝学(Fig. 2D, E)を用いて実験を行った。3コンパートメント社会行動テストを用いて、薬理遺伝学によりCeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンをhM3Dqにより人為的に活性化させた結果、新奇個体に対する社会性が増加した(Fig. 2B)。一方で、hM4Diによって人為的に抑制した場合は社会性が低下した(Fig. 2C)。また、Fig. 1の順行性手トレーシングの結果から、CeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンがMiTgに密な投射を送っていることを確認したため、光遺伝学を用いてMiTgに投射するCeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンをChR2により興奮させた。その結果、hM3Dqと同様に社会性は増加した(Fig. 2D)。実験3

では、新奇個体と接触する際にCeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンの神経活動がどのように変化するか明らかにするため、カルシウムセンサーであるGCaMP7cをCeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンに発現させ、ファイバーフォトメトリー法によりCeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンカルシウム動態を神経活動の指標として観察した(Fig. 3A, B)。その結果、CeA<sup>Npbwr1</sup>ニューロンの活動は新奇の個

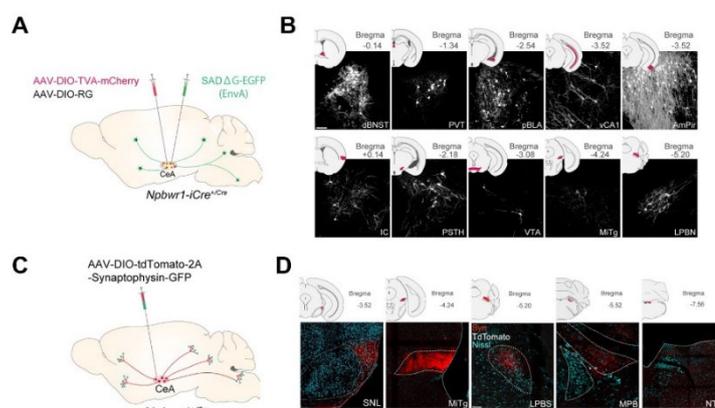


Fig. 2 順行性および逆行性トレーシングの結果

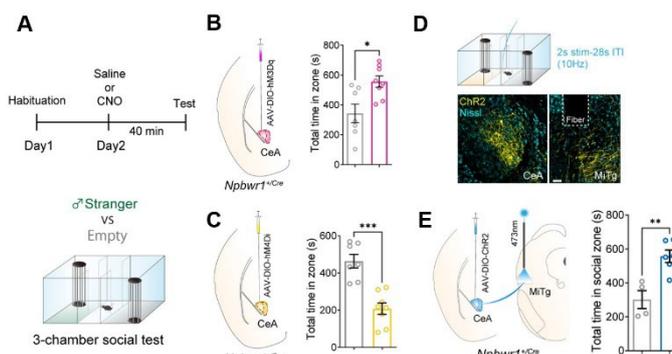


Fig. 1 NPBWR1ニューロンの操作

体に接触した際に増加したが、既知の個体に対しては活動の増加は観察されなかった (Fig. 3C)。実験4では、ヒトのNPBWR1 遺伝子における SNP の生理的役割を解明するため、NPBWR1 欠損マウスの脳内に AAV を用いて SNP を持つヒトの NPBWR1 遺伝子を発現させ、社会性およびソーシャルディスタンスを計測した (Fig. 4)。その結果、ヒト NPBWR1 遺伝子 [NPBWR1 (通常)] を回復させた群では新奇個体に対する社会性の減少およびソーシャルディスタンスの増加が観察された。一方で、NPBWR1 (機能低下型、SNP:Y135F) を回復させた場合には社会性の増加およびソーシャルディスタンスの減少が観察された (Fig. 4B, C)。これらの結果から、NPBWR1 が制御する CeA ニューロンは社会的新奇嗜好性の調節を担っていると推察される。また、ヒト NPBWR1 遺伝子の SNP (Y135F) によって、CeA ニューロンの活動性が制御されることにより新奇個体に対する社会行動が変化する可能性が考えられる。本研究結果を基盤として、NPBWR1 を標的とした自閉症、引きこもり、脱抑制型対人交流障害等の疾患の治療法 (創薬開発) に関する研究が進むことが期待される。

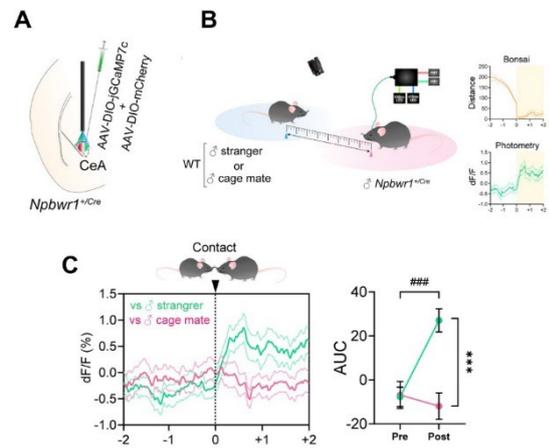


Fig. 3 NPBWR1 ニューロンの活動動態

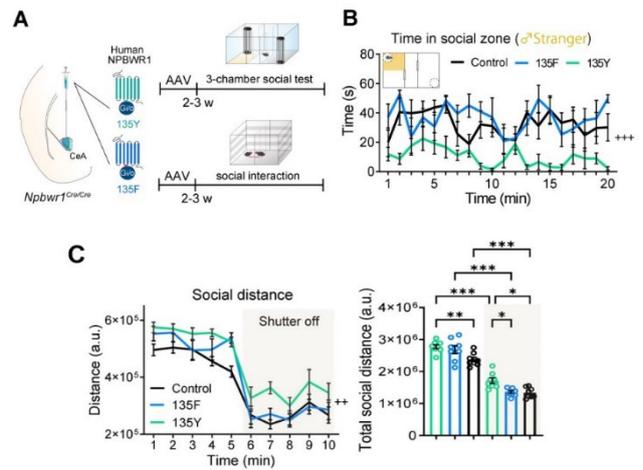


Fig. 4 Y135F が社会性およびソーシャルディスタンスに与える影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 征矢 晋吾	4. 巻 157
2. 論文標題 扁桃体中心核のニューロンは社会行動および個体間距離を制御する	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本薬理学雑誌	6. 最初と最後の頁 440-442
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1254/jpssuppl.95.0_2-S20-2	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 征矢 晋吾
2. 発表標題 扁桃体中心核のニューロンは社会行動および個体間距離を制御する
3. 学会等名 日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 征矢 晋吾
2. 発表標題 個体間距離の制御における扁桃体中心核の役割
3. 学会等名 ブレインサイエンスセミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 征矢 晋吾
2. 発表標題 扁桃体中心核のニューロンは社会行動および個体間距離を制御する
3. 学会等名 日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022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
---------	---------