

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791101

研究課題名(和文) 幼若期ストレスにより誘発される成熟期情動行動障害の分子基盤解析

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of emotional behavior impairment induced by juvenile stress

研究代表者

吉田 隆行 (YOSHIDA TAKAYUKI)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：60374229

研究成果の概要(和文)：扁桃体基底核(BA)には、内因性マリファナ類似物質である 2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)による脱抑制を誘起するために形態的・機能的に特化した抑制性シナプスが存在し、我々はこれを陥入型シナプスと名付けた。BAの錐体細胞ではセロトニン 2A受容体を介して 2-AG が生合成され、GABA およびセロトニンの放出がフィードバック抑制されることが分った。このシステムは、恐怖記憶の消去装置として機能する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we clarified a unique convergence of 2-AG-mediated retrograde signaling molecules at specific inhibitory synapses, termed invaginating synapses in the basolateral amygdala (BA). We also found that endocannabinoid is synthesized via activation of postsynaptic 5-HT_{2A} receptors, and regulates not only inhibitory presynaptic GABA release but also local serotonergic transmission around invaginating synapses in BA. These results suggest that the inhibition of presynaptic GABA or 5-HT release via activation of the invaginating synapses in BA may play an important role for the fear extinction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：扁桃体 カンナビノイド セロトニン

1. 研究開始当初の背景

幼若期のラットに過度のストレスを負荷すると、成熟期において恐怖や不安に関連した情動行動障害が生じることを行動薬理学的解析により報告している。しかしながら、この情動行動障害における神経細胞および局所神経回路レベルでの分子メカニズムについては不明な点が多かった。

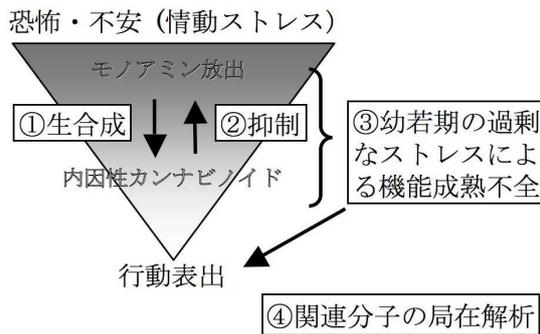
2. 研究の目的

本研究では、情動に関わる薬理作用が類似するモノアミン(特にセロトニン)とカンナビノイドに着目し、関連分子の局在と生理機能の相互作用を免疫組織化学的および電気生理学的に解析することにより、情動のシグナル伝達機構の分子基盤を追求することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、環境要因による不安や恐怖などの情動ストレスの制御メカニズムとして、「モノアミン（特にセロトニン）と内因性カンナビノイドによる相互的な神経伝達調節の分子基盤（①および②）」と「幼若期ストレスによるこれらの神経機能変化と情動行動変容との関連性（③）」について以下検討した。

- ① パッチクランプ法による電気生理学的解析
- ② HPLCによるモノアミン遊離量測定
- ③ 幼若期ストレス動物における①および②の解析
- ④ モノアミンおよびカンナビノイド関連分子の局在解析

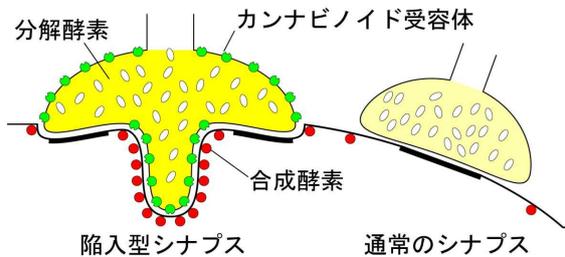


4. 研究成果

(1)

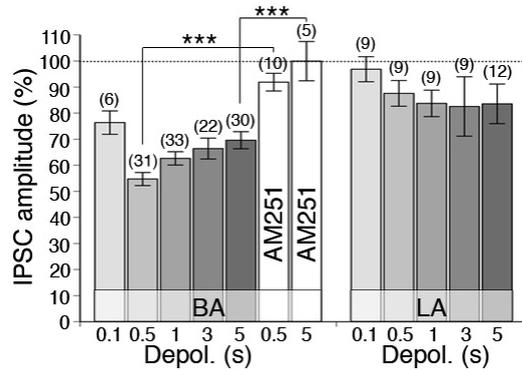
① 陥入型シナプスの発見

海馬や大脳皮質からの入力を受け、ポリモーダルな情報統合を担う扁桃体基底核 (BA) において、DGL α 、CB1 および 2-AG 分解酵素のモノアシルグリセロールリパーゼ (MGL) が高密度に集積するコレシストキニン (CCK) 陽性の抑制性シナプスを発見した。さらに興味深いことに、このシナプスはシナプス前終末部がシナプス後部の細胞体に深く陥入する特殊な形態をしており、我々はこれを「陥入型シナプス」と名付けた。一方、大脳皮質や視床からの入力を受け、ユニモーダルな情報統合を担う扁桃体外側核 (LA) では陥入型シナプスは認められなかった。



②パッチクランプ法による電気生理学的解析から、BAの錐体細胞では内因性カンナビノイド依存的な一過性のGABA放出抑制

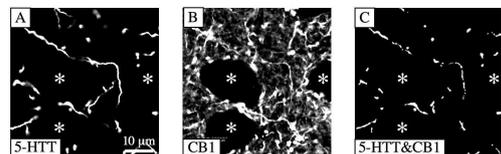
(Depolarization-induced Suppression of Inhibition: DSI)がLAの錐体細胞のDSIに比較して極めて容易に生じた。



(2) 情動調節に関与するモノアミン（特にセロトニン）とカンナビノイドに着目し、関連分子の局在と生理機能の相互作用を解析することにより、情動のシグナル伝達機構の分子基盤を追究した。

① モノアミンおよびカンナビノイド関連分子の組織学的局在解析

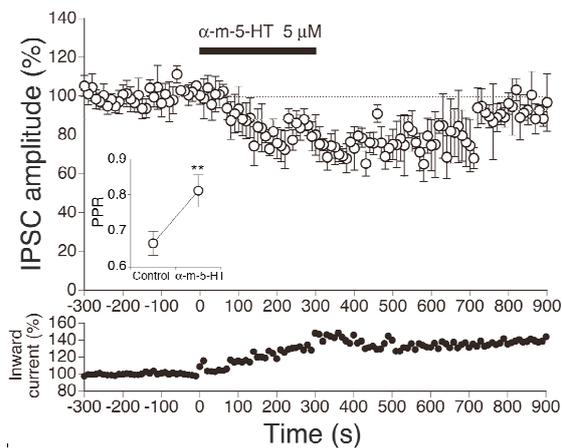
扁桃体基底核においてセロトニン作動性神経終末にカンナビノイドCB1受容体が共局在していた。一方、ドーパミン、ノルアドレナリンおよびアセチルコリン作動性神経終末上にはCB1は認められなかった。



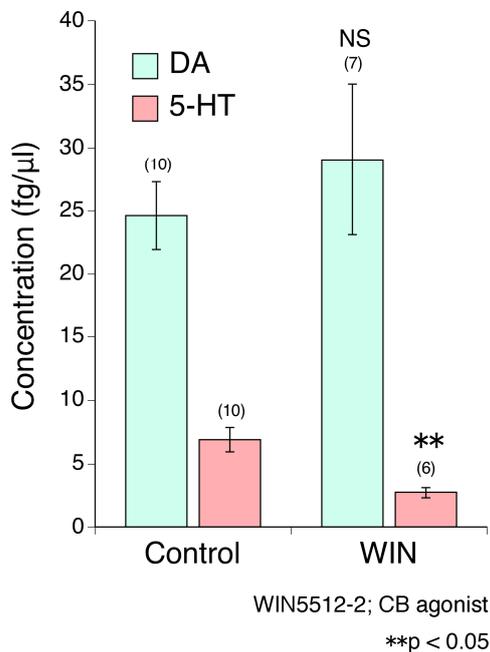
扁桃体基底核外側核における5-HTTとCB1の共局在 (CがAとBの二重露光性、*は細胞体)

② モノアミンによる内因性カンナビノイド生合成の検討(電気生理学的実験)

扁桃体基底核錐体細胞からホールセルパッチクランプ記録を行った。電気刺激誘発性の抑制性シナプス後電流(eIPSC)を記録し、セロトニンおよび5-HT_{2A}受容体作動薬(α -methyl-5-HT)を灌流投与したところ、IPSCの振幅が減弱した。この現象は、1) Paired-Pulse ratioが増大する、2) 記録ニューロンに内向き電流が生じる、3) CB₁受容体拮抗薬で阻害される、4) 5-HT_{2A}受容体拮抗薬で阻害されるという結果から、シナプス後部の5-HT_{2A}受容体を介して内因性カンナビノイドが生合成され、逆行性伝達し、シナプス前終末のCB₁を活性化することによってGABA放出が抑制されるメカニズムが示唆された。



③ 内因性カンナビノイドによるモノアミン放出抑制の検討(神経化学的実験)
扁桃体急性スライス標本を用いて、CB1 作動薬を灌流し、モノアミン(セロトニンおよびドーパミン)の細胞外放出量の変化を電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィー(HPLC-ECD)にて定量解析した。その結果、CB1 作動薬はドーパミン遊離には変化を与えず、セロトニン遊離を有意に減弱させた。以上の結果から、扁桃体基底核の錐体細胞では5-HT_{2A} を介して内因性カンナビノイドが合成され GABA およびセロトニンの放出がフィードバック抑制されることが示唆された。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

① Ohmura Y, Tsutsui-Kimura I, Kumamoto H, Minami M, Izumi T, Yamaguchi T, Yoshida

T, Yoshioka M.: Lithium, but not valproic acid or carbamazepine, suppresses impulsive-like action in rats. *Psychopharmacology*. 2012; 219: 421-432. 査読有

② Hamadate N, Yamaguchi T, Sugawara A, Tsujimatsu A, Izumi T, Yoshida T, Ohmura Y, Yoshioka M.: Regulation of cerebral blood flow in the hippocampus by neuronal activation through the perforant path: Relationship between hippocampal blood flow and neuronal plasticity. *Brain Res.*, 2011; 1415:1-7. 査読有

③ Matsuzaki H, Izumi T, Horinouchi T, Boku S, Inoue T, Yamaguchi T, Yoshida T, Matsumoto M, Togashi H, Miwa S, Koyama T, Yoshioka M.: Juvenile stress attenuates the dorsal hippocampal postsynaptic 5-HT_{1A} receptor function in adult rats. *Psychopharmacology*. 2011; 214: 1329-1337. 査読有

④ Izumi T, Boku S, Shinmin W, Inoue T, Konno K, Yamaguchi T, Yoshida T, Matsumoto M, Watanabe M, Koyama T, Yoshioka M.: Retrieval of conditioned fear activates the basolateral and intercalated nucleus of amygdala. *J Neurosci Res*. 2011; 89: 773-90. 査読有

⑤ Yoshida T, Uchigashima M, Yamasaki M, Katona I, Yamazaki M, Sakimura K, Kano M, Yoshioka M, Watanabe M.: Unique inhibitory synapse with particularly rich endocannabinoid signaling machinery on pyramidal neurons in basal amygdaloid nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2011; 108: 3059-3064. 査読有

⑥ Hamadate N, Yamaguchi T, Sugawara A, Togashi H, Izumi T, Yoshida T, Ohmura Y, Yoshioka M.: Liposome-encapsulated hemoglobin ameliorates impairment of fear memory and hippocampal dysfunction after cerebral ischemia in rats. *J. Pharmacol Sci*. 2010; 114: 409-419. 査読有

⑦ Shikanai H, Izumi T, Matsumoto M, Togashi H, Yamaguchi H, Yoshida T, Yoshioka M.: Diazepam-induced increases of synaptic efficacy in the hippocampal-mPFC pathway are associated with its anxiolytic-like effect of rats. *J. Pharmacol Sci*. 2010; 114: 341-346. 査読有

⑧ Tsutsui-Kimura I, Ohmura Y, Izumi T, Yamaguchi T, Yoshida T, Yoshioka M.: Endogenous acetylcholine modulates

impulsive action via alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors in rats. Eur J Pharmacol. 2010; 641: 148-153. 査読有

- ⑨ Tsutsui-Kimura I, Ohmura Y, Izumi T, Yamaguchi T, Yoshida T, Yoshioka M.: Nicotine provokes impulsive-like action by stimulating alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors in the infralimbic, but not in the prelimbic cortex. Psychopharmacology. 2010; 209: 351-359. 査読有
- ⑩ Ohmura Y, Izumi T, Yamaguchi T, Tsutsui-Kimura I, Yoshida T, Yoshioka M.: The serotonergic projection from the median raphe nucleus to the ventral hippocampus is involved in the retrieval of fear memory through the corticotropin-releasing factor type 2 receptor. Neuropsychopharmacology. 2010; 35: 1271-1278. 査読有

[学会発表] (計6件)

- ① 吉田隆行, 扁桃体基底核におけるカンナビノイドとセロトニンによるシナプス伝達の相互調節機構, 第85回日本薬理学会年会, 2012年3月15日, 国立京都国際会館(京都)
- ② 吉田隆行, 恐怖記憶消去に関連する扁桃体シナプスの機能的分子基盤, 第41回日本神経精神薬理学会, 2011年10月28日, 京王プラザ(東京)
- ③ Takayuki Yoshida, Relation of the cannabinoidergic and serotonergic system modulating inhibitory and excitatory synaptic transmission in the basal amygdala, The 32nd Naito Conference on Biological basis of mental functions and disorders, 2011/10/19, Yatsugatake Royal Hotel (Yamanashi, Japan)
- ④ 吉田隆行, 扁桃体基底核の陥入型抑制性シナプスにおける内因性カンナビノイドシグナル伝達機構, 第34回日本神経科学大会, 2011年9月17日, パシフィコ横浜(神奈川)
- ⑤ 吉田隆行, 扁桃体基底外側核におけるカンナビノイドおよびセロトニンを介するシナプス伝達調節機構, 第33回日本神経科学大会, 2010年9月3日, 神戸コンベンションセンター(兵庫)
- ⑥ 吉田隆行, 扁桃体基底外側核における内因性カンナビノイドを介する逆行性シグナル伝達機構, 第83回日本薬理学会, 2010年3月16日, 大阪国際会議場(大阪)

[その他]

ホームページ等

<http://hokudaineuropharmacol.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 隆行 (YOSHIDA TAKAYUKI)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 60374229

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: