

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15290

研究課題名（和文）行動嗜癮における異常な欲求発現の5-HTによる制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of abnormal motivation in behavioral addiction by 5-HT.

研究代表者

西谷 直也 (Naoya, Nishitani)

金沢大学・薬学系・助教

研究者番号：30824792

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、行動嗜癮の病態メカニズム解明を目指し、ランニングホイール回転行動を報酬とした課題を行った。課題中の側坐核ドーパミン（DA）遊離変化と神経活動変化を測定したところ、DA遊離は欲求発現時と報酬獲得時に変化することが明らかになった。一方、5-HT<sub>2A</sub>および2C受容体の阻害は欲求を減少させたが、DA遊離変化には影響しなかった。また、臨床での嗜癮の診断基準に基づく行動嗜癮病態モデル作製を試み、約35%のマウスが行動嗜癮病態モデルマウスに分類されることを見出した。さらに、行動嗜癮病態モデルの形成にはカンナビノイドCB<sub>1</sub>受容体、および5-HT<sub>2A</sub>受容体の活性化が関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インターネットやゲーム、ギャンブル等に病的にのめり込む行動嗜癮は社会問題となっているが、実験動物を用いた病態メカニズムの研究はほとんど存在しない。本研究では、行動嗜癮の病態メカニズムにおいて、側坐核でのDA遊離変化と神経活動変化が重要であることを解明した。また、5-HT<sub>2A</sub>および2C受容体の関与も示唆されたが、これはDA遊離へ影響するのではなく、それ以外のメカニズムで作用することが示唆された。最後に、臨床に即した行動嗜癮病態モデルマウスの作製に成功し、病態形成へのCB<sub>1</sub>および5-HT<sub>2A</sub>受容体の関与が示唆された。これらの受容体を標的とすることで行動嗜癮の治療法、治療薬開発に繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：The present study used an operant task with a wheel running reward. Fiber photometry recordings of dopamine release and neural activity in the nucleus accumbens (NAc) during the task revealed that DA release increased before motivational behavior and after reward acquisition, and neural activity decreased around motivational behavior and increased after reward acquisition. Inhibition of 5-HT<sub>2A</sub> and 2C receptors decreased motivation for wheel running but did not affect changes in DA release in the NAc. In addition, we created a mouse model of behavioral addiction based on clinical diagnostic criteria for addiction and found that approximately 35% of the mice were classified as behavioral addiction model mice. Furthermore, it is suggested that activation of cannabinoid CB<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors may be involved in the formation of behavioral addiction pathology model mice.

研究分野：神経薬理学

キーワード：行動嗜癮 ドーパミン 側坐核 5-HT オペラント ランニングホイール

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

行動嗜癖は依存症の一種であり、社会生活に悪影響を及ぼすにも関わらず、インターネットやゲーム、ギャンブルなど特定の行動にのめり込んでしまう状態を指す。特に、ネット・ゲーム使用障害者数は、世界では人口の0.3-26%、日本では420万人と推計され、大きな社会問題となっている。しかし、行動嗜癖の治療薬は存在せず、治療法も確立していない。したがって、それらの開発につながる神経回路・受容体レベルでの病態メカニズムの解明が重要であるが、そのような行動嗜癖の神経基盤に関する基礎研究はほとんど存在しない。その主要因として、マウスはネットやゲームをしないため、適切な動物モデル・実験系の構築が難しいことが挙げられる。一方、マウスはエサなどの報酬がなくてもランニングホイール(RW)を執拗に回転させることが知られる。これは、RW回転行動がマウスにとって報酬として働くことによる。また、RWへの長期間の曝露により、薬物依存症モデル動物で観察されるような神経可塑的变化や、行動嗜癖の臨床像と類似した離脱症状が生じることが報告されている。したがって、マウスのRW回転行動は依存症の一面を持ち、行動嗜癖を評価する実験系としての妥当性を備えていると考えられる。薬物依存では、脳内報酬系の中心である側坐核(NAc)におけるドパミン(DA)やセロトニン(5-HT)による神経活動調節の異常が病態に関与することが示唆されており、行動嗜癖の病態においても重要な役割を果たす可能性が高い。しかし、行動嗜癖を評価できる実験系が存在しないこともあり、行動嗜癖の神経メカニズム研究は進んでいない。

### 2. 研究の目的

これまでの報告に基づき、行動嗜癖の評価系として妥当性が高いと考えられるマウスのRW回転行動に着目することで、( )RW回転行動への「異常な欲求」の体系的な評価により行動嗜癖モデルマウスを選別できる実験系を構築し、( )行動嗜癖モデルにおける5-HTによる脳内報酬系の神経活動調節変化について、神経回路・受容体レベルで解明することで、その病態メカニズムを解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1)実験には7週齢以上の雄性C57BL/6Jマウスを使用した。オペラントホイールランニング課題では、マウスが穴に一定回数鼻先を挿入することで、RWのブレーキが解除され、1分間RWを自由に回転できるようになるというオペラント条件づけを行った。まず、1時間自由にホイールランニングを行わせることで装置馴化を行った。1時間あたりの走行距離が400m以上かつ走行時間が20分以上の基準を満たした後、fixed ratio (FR) taskに移行した。FR taskでは、マウスを1日1時間装置に入れ、マウスごとに決められた左右どちらかの穴に一定回数(FR)鼻先を挿入することで、1分間のホイールランニングが可能となることを学習させた。FR1において、連続する3日間のホイール解除数の変動が20%以内という基準を満たした後、FR3、FR5、FR10と鼻先挿入の必要回数を増加させた。FR10において、同様の基準を満たした後、薬物投与を行った。薬物投与は、各用量をラテン方格にて割り付け、それぞれ1-2日の休薬期間を設けて行った。

(2)ファイバーフォトメトリーでは、マウスのNacにアデノ随伴ウイルスベクター、AAVdj-hSyn-jGCaMP8mを500 nL投与し、その直上に光ファイバーを埋め込んだ。2週間以上の回復の後、オペラントホイールランニング課題中に405 nmおよび465 nmの波長の励起光を照射し、525 nmの蛍光をフォトレシーバーで測定した。得られた信号から基準信号(405 nm)と実験信号(470 nm)を分離し、移動平均を適用することで高周波アーティファクトを除去し、各信号にadaptive iteratively reweighted penalized least squares (airPLS)を適用して得られたベースラインを減算することで光退色を補正した。次に、基準信号と実験信号を独立してzスコア化し、得られた基準信号のzスコアを実験信号のzスコアに回帰して減算することで正規化実験信号(zdFF)を得た。各イベント前後における蛍光強度変化の比較は、マウスの自発的な行動では、各行動開始時の-5秒から-3秒までの2秒間の曲線下面積(AUC)を基準とし、各行動開始時の-2秒から0秒までの2秒間のAUCと比較することで行った。その他のイベントでは、イベント前後2秒間のAUCを比較した。

(3)行動嗜癖病態モデルマウスの分類では、マウスを上記の安定化基準を満たすまで、FR1、FR3、FR5 taskで訓練し、FR5 taskを完了した時点で次の3つの指標(非常に強い欲求、制御不能な欲求、強迫的な欲求)を評価する試験を行った。非常に強い欲求の評価には、RW回転運動の獲得に必要な鼻先挿入回数を5、10、15...と増加させるprogressive ratio (PR) testを行い、その総鼻先挿入回数をを用いた。制御不能な欲求の評価には、鼻先挿入をしてもRW回転行動が得られない時間を試験中に10分間設定し、装置内のライトを点灯させることでそれを明示し、その間の総鼻先挿入回数をを用いた。強迫的な欲求の評価には、FR5 taskの4回目と5回目にfoot shock (0.01 mA, 2秒間)を与える試験を行い、その総鼻先挿入回数をを用いた。得られた3つの指標を用いて、pythonを用いて階層的クラスタリングを行うことで、2群に分類した。

#### 4. 研究成果

(1) これまでの検討で、ホイールランニングに対する欲求制御には NAc の神経活動変化および DA 神経伝達が重要であることが示唆されたが、課題中のどのタイミングで NAc 神経活動変化および DA 遊離変化が起きているかは不明であった。そこで、ファイバーフォトメトリー法により、行動課題中における NAc の神経活動変化および DA 遊離変化について検討を行った。アデノ随伴ウイルスベクターを用いて、蛍光 Ca<sup>2+</sup>センサーである jRCaMP8m を NAc に発現させ、NAc 直上へ埋め込んだ光ファイバーを介して、オペラントホイールランニング課題中のファイバーフォトメトリー記録を行った結果、FR10 における 1 回目の鼻先挿入時に NAc の神経活動は低下し、RW 回転行動が可能となった時に NAc の神経活動は上昇することが明らかとなった。以上より、鼻先挿入前の NAc の神経活動低下および報酬獲得の NAc 神経活動上昇が特定の行動に対する欲求発現に重要である可能性が示唆された。

(2) さらに、ホイールランニングへの欲求発現に伴う NAc でのドパミン遊離量変化を計測するため、蛍光ドパミンセンサーである GRAB\_DA2h を用いて、オペラントホイールランニング課題中のファイバーフォトメトリー記録を行った。その結果、FR10 における 1 回目の鼻先挿入前とホイールの解除後にドパミン遊離の有意な増加が確認された。したがって、これらの NAc における DA 遊離上昇がホイールランニングへの欲求発現に重要であることが示唆された。

(3) これまでの報告から、DA 神経伝達に加え、5-HT 神経伝達も報酬情報処理に関与することが知られる。そこで、ホイールランニングに対する欲求制御における 5-HT 受容体サブタイプの関与について検討した。5-HT<sub>2A</sub> 受容体阻害薬である volinanserin および 5-HT<sub>2C</sub> 受容体阻害薬である SB242084 の全身投与は走行時間に影響を与えず、鼻先挿入回数を減少させた。一方で、5-HT<sub>1A</sub>、3 受容体の阻害薬 (WAY100635, ondansetron) の全身投与は鼻先挿入回数および走行時間に有意な影響を与えなかった。以上の結果から、5-HT<sub>2A</sub> および 2C 受容体を介した神経伝達が特定の行動に対する欲求の制御に重要であることが示唆された。

(4) さらに、5-HT が側坐核での DA 遊離変化に与える影響について検討したところ、5-HT<sub>2A</sub> および 2C 阻害薬いずれの全身投与によっても側坐核における DA 遊離変化に有意な影響を与えなかった。以上より、5-HT<sub>2A</sub>、2C 受容体の活性化は、側坐核での DA 神経伝達を調節するのではなく、その他のメカニズムで作用することが示唆された。

(5) 最後に、より臨床に即した行動嗜癖病態モデル作製を試みた。臨床での嗜癖の診断基準に基づき、非常に強い欲求 (RW 回転を求めて鼻先を挿入する回数)、制御不能な欲求 (鼻先を挿入しても RW 回転が得られないにも関わらず鼻先を挿入する回数)、強迫的な欲求 (RW 回転獲得と同時に電気ショックが与えられても鼻先を挿入する回数) の 3 指標を評価し、クラスター分類を行ったところ、約 35% のマウスが行動嗜癖病態モデルマウスとして分類されることを見出した。ここで、食物嗜癖モデルマウスでの嗜癖形成を抑制することが報告されているカンナビノイド CB1 受容体阻害薬を反復全身投与したところ、上記の①～③の指標が減少する傾向が観察された。同様に、(3) でホイールランニングへの欲求抑制作用を示した 5-HT<sub>2A</sub> 阻害薬の反復全身投与においても同様の変化が観察された。以上より、CB1 受容体および 5-HT<sub>2A</sub> 受容体の活性化が行動嗜癖の病態形成に関与することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6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 Saito Atsushi, Murata Haruka, Niitani Kazuhei, Nagasaki Junpei, Otoda Atsuki, Chujo Yusuke, Yanagida Junko, Nishitani Naoya, Deyama Satoshi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 242
2. 論文標題 Social defeat stress enhances the rewarding effects of cocaine through 1A adrenoceptors in the medial prefrontal cortex of mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 109757 ~ 109757
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2023.109757	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 Esaki Hirohito, Deyama Satoshi, Izumi Shoma, Katsura Ayano, Nishikawa Keisuke, Nishitani Naoya, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 239
2. 論文標題 Varenicline enhances recognition memory via 7 nicotinic acetylcholine receptors in the medial prefrontal cortex in male mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 109672 ~ 109672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2023.109672	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 Niitani Kazuhei, Ito Shiho, Wada Shintaro, Izumi Shoma, Nishitani Naoya, Deyama Satoshi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Noradrenergic stimulation of 1 adrenoceptors in the medial prefrontal cortex mediates acute stress-induced facilitation of seizures in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-023-35242-0	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 Esaki Hirohito, Sasaki Yuki, Nishitani Naoya, Kamada Hikari, Mukai Satoko, Ohshima Yoshitaka, Nakada Sao, Ni Xiyan, Deyama Satoshi, Kaneda Katsuyuki	4. 巻 946
2. 論文標題 Role of 5-HT1A receptors in the basolateral amygdala on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced prosocial effects in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 175653 ~ 175653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2023.175653	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 T, Nishitani N, Niitani K, Nishida R, Futami Y, Deyama S, Kaneda K	4. 巻 432
2. 論文標題 A spatiotemporal increase of neuronal activity accompanies the motivational effect of wheel running in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113981
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2022.113981.	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 Kawai H, Bouchekioua Y, Nishitani N, Niitani K, Izumi S, Morishita H, Andoh C, Nagai Y, Koda M, Hagiwara M, Toda K, Shirakawa H, Nagayasu K, Ohmura Y, Kondo M, Kaneda K, Yoshioka M, Kaneko S	4. 巻 13
2. 論文標題 Median raphe serotonergic neurons projecting to the interpeduncular nucleus control preference and aversion.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 7708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-35346-7.	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 西谷直也、谷口遥海、小久米泰祐、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動への動機づけを指標とした行動嗜癖の神経メカニズムの解明
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小久米 泰祐、谷口 遥海、西谷 直也、金田 勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動に対する欲求を指標とした行動嗜癖の病態神経メカニズムの解明
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Naoya Nishitani, Taisuke Kokume, Harumi Taniguchi, Katsuyuki Kaneda
2. 発表標題 Nucleus accumbens dopamine receptors modulate motivation for wheel running in mice
3. 学会等名 CINP2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 西谷直也、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転運動を報酬とするオペラント課題を用いた行動嗜癖の薬理的解析
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、張たん、二井谷和平、西田涼馬、二見優作、出山諭司、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動に対するモチベーションに関与する脳領域の同定
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、谷口遥海、小久米泰祐、金田勝幸
2. 発表標題 ランニングホイール回転行動に対する動機づけを指標とした行動嗜癖の行動薬理的解析
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷直也、金田勝幸
2. 発表標題 マウスのランニングホイール回転行動を利用した行動嗜癖の病態メカニズムの解明
3. 学会等名 第100回生理学会年会
4. 発表年 2023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