

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24240060

研究課題名(和文) 情動行動制御における扁桃核 前帯状回ループの役割の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the roles of the amygdala-anterio cingulate loop in regulation of emotional behavior

研究代表者

中村 克樹 (NAKAMURA, Katsuki)

京都大学・霊長類研究所・教授

研究者番号：70243110

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 22,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの脳研究から、感情障害や不安障害などの情動をうまく制御できない障害と脳の深い場所にある扁桃核や前部帯状回と呼ばれる脳の場所が関係していると考えられている。本研究では、ヒトに近い脳の構造や機能をもっているサルを対象にして、これまでほとんど知られていなかった前部帯状回について、周りにある脳のどの場所と繋がりが強いのか、情動刺激(ビデオや写真)に対してどのような反応を示すのかを調べた。他の前頭葉にある場所と大きく異なり、特に情動行動に関係していると考えられている側頭極皮質・嗅周囲皮質・扁桃核などとの繋がりが強いことや、情動刺激に対して強く反応する神経細胞があることが分かった。

研究成果の概要(英文)： Human imaging studies have suggested that dysfunction of the amygdala-anterior cingulate loop may cause affective disorder and anxiety disorder. However, the existence and function of the loop are still unknown. In the present study, we examined the neural connectivity and responsiveness of the anterior cingulate cortex using monkeys, which have brain structures and function similar to those of humans. We found that, unlike other frontal areas, the anterior cingulate cortex has dense connections with temporal areas related to emotional behavior, such as the temporal pole, perirhinal cortex, and the amygdala. We also found that some anterior cingulate neurons responded to emotional stimuli, such as photos of other monkey faces and snakes. These characteristics of the anterior cingulate may form the basis of its function of emotional regulation.

研究分野：認知神経科学

キーワード：帯状回 情動 扁桃核 側頭極 サル

## 1. 研究開始当初の背景

イメージング・ジェネティクスが新たな研究ツールとして用いられるようになって以降 (Hariri and Weinberger, 2003) 非常に多くの研究が行われ、これまで理解が進んでいなかった感情障害などの精神疾患にも新たな光が当てられるようになり、扁桃核・前頭眼窩回・前帯状回・海馬といった脳領域が情動行動の制御に深く関与していることが示されてきた (Price and Drevets, 2009)。その中でも特に、扁桃核と前帯状回のsubgenual region (膝下部) と呼ばれる領域を含む神経回路、すなわち扁桃核-前帯状回ループ、が注目されている。例えば、扁桃核は情動情報処理に中心的な役割を果たす脳領域であるが、感情障害 (Phillips et al., 2003) や不安障害 (Domschke and Dannlowski, 2010) と深く関連し、感情障害の患者では扁桃核の活動が亢進していることが示されている (Savitz and Drevets, 2009)。また、膝下部前帯状回も、感情障害の患者において体積減少 (Ongur et al., 1998) が報告されている。膝下部前帯状回の構造異常は家族性を示す患者で頻繁に認められている (Boes et al., 2008; Hajek et al., 2008; McDonald et al., 2004)。非常に興味深い結果として、膝下部前帯状回の代謝異常 (Drevets et al., 1997) がある。膝下部帯状回の代謝は、うつ病患者で低下するが、双極性障害の患者では、躁状態のときに代謝が高まり、逆にうつ状態のときに代謝が低くなることが示されている。こうした結果は、扁桃核と膝下部前帯状回の活動が、直接的に感情を制御していることを示唆する (Pezawas et al., 2005)。実際に、扁桃核と前帯状回の結合がイメージング研究から示唆されている (Beckmann et al., 2009; Heinz et al., 2005)。

しかしながら、扁桃核-前帯状回ループが実際に解剖学的に存在し、それらが情動行動をどのように制御しているのかは明らかでない。ヒトに近い構造や機能の神経系を有する

サルを対象に、このループの存在や機能的意義を調べる必要がある。サルを対象に扁桃核の神経結合を調べた研究はこれまでもあるが (Carmichael and Price, 1994; Stefanacci and Amaral, 2000, 2002)、前帯状回との結合様式について詳細に検討したものではなく、その機能的結合に関してはほとんど分かっていない。また、近年開発された遺伝子操作技術を用いると、扁桃核-前帯状回ループのみを機能不全の状態にしたり、扁桃核や前帯状回の活動を操作したりすることが可能であり、サルの他個体との相互作用や社会行動への影響を検討することができる。

本研究の目的は、中枢神経系の構造や機能がヒトに近いサルを用いた研究により、神経生理学的手法や神経解剖学的手法そして遺伝子操作技術を用いて、扁桃核-前帯状回ループの情動行動制御における役割を明らかにすることである。

申請者らは、これまでにサル大脳のニューロン活動を記録解析する研究を行ってきた。特に、情動情報処理における扁桃核の役割を検討してきて、サル扁桃核がさまざまな表情の処理を行っていること、その中でも負の情動表出に対する応答が強いことを明らかにした (Nakamura et al., 1992; Kuraoka and Nakamura 2006, 2007)。我々の用いたテストは、感情障害のイメージング・ジェネティクスで用いられている表情刺激のテストに相当するものであり、また、こうした刺激はサルの情動を実際に変化させていることも確認している (Kuraoka and Nakamura, 2009)。これまでの研究を発展させることが、感情障害の理解につながる情動行動制御の神経機序の解明につながると思った。

さらに、申請者らは、霊長類の社会行動を適切に評価するために、すでにさまざまな社会行動や他個体との相互作用を実験的に調べることに成功しており (Saito et al., 2008, 2010, 2011; Yamaguchi et al., 2009, 2010)、扁桃核

や前帯状回の社会行動における役割を調べる環境が整っている。さらに、申請者の研究室には、霊長類の神経解剖学的研究を専門に行っているスタッフもいる (Kitagawa et al., 2007; Lu et al., 2007; Miyachi et al., 2006; Yasuda et al., 2007)。こうした研究体制や研究環境を考え、上述の目的達成が十分可能であると判断した。

## 2. 研究の目的

期間内の目標：遺伝子操作技術と神経解剖学的・神経生理学的手法を統合的に実施することによって、扁桃核-前帯状回ループの機能を解明する。

### <神経解剖学的研究>

サルを対象として、扁桃核と前帯状回の双方向的な神経結合様式、および前帯状回内における神経結合様式を明らかにし、ループの存在を証明する。さらに、どのような化学物質がループの機能に関与しているのか、神経伝達物質・神経調節物質・ホルモン等に関して明らかにする。特に、感情障害と深い関連のあるモノアミン系に関して、および社会行動に対する作用が報告されているバソプレッシンやオキシトシンに関して明らかにする。

### <神経生理学的研究>

扁桃核および前帯状回のニューロンが、同種他個体の特に負の情動表出に対してどのような応答を示すのか、さらにセロトニンやドーパミン等のモノアミンおよびその関連物質やオキシトシン・バソプレッシンがニューロン応答をどのように調整するのかを検討する。また、各領域間における結合が興奮性なのか抑制性かを含め、機能的な結合を明らかにする。

### <遺伝子操作研究>

サルの扁桃核と前帯状回の神経路に対してイムノトキシン神経路標的法を応用する。両領域間を結合するニューロンのみが二重感染をするようにウィルスベクターを注入し、二重感染したニューロンのみが破壊されるよう

に操作を加える。そして、扁桃核から前帯状回への経路のみ、また前帯状回から扁桃核への経路のみを破壊することによって、扁桃核-前帯状回ループの情動行動制御における意義や役割を明らかにする。

申請者らは、これまでサルにおいて薬物誘導型のうつ病モデル作出を試みた。その研究の一環として、うつ病の症状をサルで評価する方法を有している。

こうした3つの研究項目の成果を統合して、扁桃核-前帯状回ループの情動行動制御における役割を明らかにする。

本研究の成果は、単に神経科学的な情動行動制御の理解に留まらず、ヒトにおける感情障害の発生機序や治療法の開発等に結び付くことが期待できる。現在、日本人の死因で、15歳から49歳という主な就労年齢の世代で自殺が2位以内になっている。特に20歳代後半から30歳代前半の若い世代では死因のトップになっている。こうした自殺の原因にうつ病が関係していると考えられている。本研究成果は、現代社会の抱える問題にも貢献できるものである。

## 3. 研究の方法

### (1)扁桃核-前帯状回ループの神経解剖学的研究

これまでに宮地らが用いてきた神経トレーサー法 (逆行性・順行性標識法) により、扁桃核と前帯状回の神経投射パターンを明らかにする。扁桃核と前帯状回の間での結合のみならず、前帯状回内における結合や扁桃核においてはどの亜核が特に強い結合を有しているかなどに着目する。

### (2)扁桃核-前帯状回ループの神経生理学的研究

これまでに中村らは、扁桃核ニューロンが同種他個体の負の情動表出刺激に強く応答することを示してきた。この解析を前帯状回へ

も広げ、扁桃核と前帯状回における情動情報の処理機構を比較する。

### (3) 遺伝子操作を用いた扁桃核-前帯状回ループの経路選択的破壊

これまでに宮地らは、ウィルスベクターをサル脳の脳に適用する新しい技術を開発し、それを研究に応用してきた。その中のイムノトキシン神経路標的法をサルの扁桃核と前帯状回の神経路に対して応用する。両領域間を結合するニューロンのみが二重感染するようにウィルスベクターを注入し、二重感染したニューロンのみが破壊されるように操作を加える。そして、扁桃核から前帯状回への経路のみを破壊することによって、どのような行動変化が生じるのかを行動を分析することによって詳細に検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 扁桃核-前帯状回ループの神経解剖学的研究

6頭のサルの前帯状回にトレーサーを注入し、扁桃核との結合様式を調べた。注入は、背側前帯状回 (Brodmann 24野に相当) と腹側前帯状回 (Brodmann 25野に相当) に打ち分けた。背側部 (24野) へ注入した場合、逆行性にラベルされたニューロンはおもに扁桃核の基底核に認められた。副基底核にもいくつかニューロンが認められたが数は基底核でラベルされたニューロンの10分の1程度であった。外側核や中心核にはニューロンが認められなかった。一方、腹側部 (25野) へ注入した場合、逆行性にラベルされたニューロンは、同様に基底核と副基底核に同程度認められた。割合は統計的にも有意差が認められた。腹側部は副基底核との結合が背側部より強いと言える。また、腹側部と背側部いずれへの投射も、基底核の中心部分からが主であったため、同一のニューロン群が2つの領域へ投射しているのか、別のニュー

ロン群が別々に投射しているのかを二重染色法を用いて検討した。その結果、同一ニューロンからの投射は非常に少なく、別のニューロン群からの投射であることが分かった。

また、側頭葉領域との結合関係も調べたところ、背側部は上側頭溝や側頭極や側頭葉内側部 (嗅内皮質・嗅周囲皮質・海馬傍回) などから広く入力を受けているのに対して、腹側部はその入力の4分の3は側頭極からであった。また、背側部へは浅層からの入力がほとんどであったのに対し、腹側部へは深層からの入力が多かった。

特に腹側部 (25野) の結合関係はほとんど調べられていなかったため、今回の結果は前帯状回の機能を考える上で非常に重要である。これまでヒトのイメージングで検討されていた扁桃核-前帯状回ループだけではなく、膝下部前帯状回と扁桃核さらには側頭極を含めた情動回路として捉える必要があると考えられる。

この成果について国際学会で発表した。現在、その内容をまとめ論文を執筆中である。

### (2) 扁桃核-前帯状回ループの神経生理学的研究

これまで前帯状回ニューロンの情動刺激に対する応答はあまり調べられて来なかった。扁桃核ニューロンと比較する意味で扁桃核ニューロンの応答性を調べるときに用いたサルの情動ビデオ刺激を用いて前帯状回ニューロンの応答性を調べる、サルの顔やへびなどの情動的写真とニュートラルな写真を用いて前帯状回ニューロンの応答性を調べる、ことを行った。ビデオ刺激は、威嚇表情 (threat)、恐怖表情 (scream)、そして多義的なコミュニケーション手段 (coo) を用いた。ニューロン192個の活動を記録し、ビデオ刺激に対する応答性を調べたところ、49個 (25%) が応答を示した。個々のニューロンに対する最適刺激を調べたところ、扁桃核では恐怖表

情にもっとも強く応答するニューロンが多かったのに対し、前帯状回では威嚇表情にも恐怖表情にも強く応答した。ニューロン182個の活動を記録し、写真に対する応答性を調べたところ、48個(26%)が応答を示した。前帯状回ニューロンは、サルの顔とへビの情動写真にニュートラルな写真よりも強く応答した。これらの結果から、扁桃核は特に恐怖情動の検出に特化しているが、前帯状回はさまざまな情動情報を検出していることが示唆された。

この成果について国際学会で発表した。現在、その内容をまとめ論文を執筆中である。

(3)遺伝子操作を用いた扁桃核-前帯状回ループの経路選択的破壊

本研究の期間内に、十分研究が進まず、この項目は実施できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Konoike N, Nakamura K, Neuronal responses to faces in the anterior cingulate cortex of monkeys. 43th Annual meeting, Society for Neuroscience, (Nov 9-13, 2013, San Diego, CA, USA)
2. Konoike N, Nakamura K, Neurons responsive to faces in the perigenual portion of the anterior cingulate cortex of monkeys. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Sept. 11-13, 2014, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市))
3. Sakata H, Kim Y, Konoike N, Miyachi S, Nakamura K, Projections from the temporal cortical areas to the subgenual portion of the anterior cingulate cortex in macaque monkeys. 44th Annual meeting, Society for

Neuroscience, (Nov 15-19, 2014, Washington, D.C., USA).

4. Kim Y, Sakata H, Konoike N, Miyachi S, Nakamura K, Projections from the amygdala to subregions of the anterior cingulate cortex in macaque monkeys. 44th Annual meeting, Society for Neuroscience, (Nov 15-19, 2014, Washington, D.C., USA).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 克樹 (NAKAMURA, Katsuki)  
京都大学・霊長類研究所・教授  
研究者番号： 70243110

(2) 研究分担者

宮地 重弘 (MIYACHI, Shigehiro)  
京都大学・霊長類研究所・准教授  
研究者番号： 60392354

(3) 連携研究者