

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 10 月 1 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870634

研究課題名(和文)新規視床下部デルタ神経核の生理機能解析

研究課題名(英文)A newly identified hypothalamic area: its neuronal types, connections, and functions.

研究代表者

堀井 謹子(Horii, Noriko)

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：80433332

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)：脳の視床下部は、生命維持活動に重要な本能行動、摂食、飲水、睡眠、性行動ならびに自律神経の調節を担う。視床下部は、その組織学的・化学的特徴から更に10個以上の小区域に分けられている。本研究は、最近我々が発見した新規な視床下部領域、仮称「デルタ神経核」の、構成ニューロンの種類、神経回路、生理機能の3点の解明を目指し研究を行った。その結果、デルタ神経核ニューロンは、神経ペプチドの一種であるエンケファリンを産生し、情動制御に関わる外側中隔と双方向性の神経連絡を有することが明らかとなった。また、これらニューロンは心理的なストレスにตอบสนองし、不安の制御に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： The hypothalamus of the brain is phylogenically old and plays important roles in the maintenance of life by regulating autonomic nervous system and behaviors related with feeding, drinking the water, sleep and reproduction etc.. Now, the hypothalamus is divided into more than 10 compartments based on histological characteristics and physiological functions. In the present study, we found and characterized a new hypothalamic region in the mouse brain. Our data demonstrate that this new region is composed of enkephalin-producing neurons and possesses bidirectional neural connections with the lateral septum. Furthermore, these neurons respond to psychological stressors and are suggested to control anxiety level. This study provides basic information in hypothalamic neuroanatomy and is important for understanding the roles of the neural connections between the hypothalamus and the limbic system.

研究分野：神経解剖

キーワード：視床下部 ペリニューロナルネット ストレス エンケファリン 外側中隔 不安 大脳辺縁系

1. 研究開始当初の背景

脳の視床下部は、摂食、飲水、睡眠、性行動等の本能行動や自律神経の調節を行っている。一般に、学習や刺激に応じて神経回路が柔軟に変化する現象を“可塑性”と呼ぶが、可塑性は個体の成長と共に失われていく傾向にある。しかし、視床下部ニューロンの可塑性は、他の脳領域と比べ高く維持されており、そのことは動物個体の生存や種の保存に有利に働くと考えられる。我々は、脳の可塑性を調節する因子の1つである「ペリニューロナルネット」という特殊な細胞外マトリクス構造(図1)に着目し、その視床下部における形成について調べていた。その際、ストレス応答の要として極めて有名な室傍核と、視床下部と辺縁系をつなぐ脳弓線維の狭間に、ペリ



図1. 大脳皮質のペリニューロナルネット

ニューロナルネットに覆われたニューロンの集団を発見した(図2左)。視床下部は一般に、その組織学的・化学的特性から、十数個の小区域に分けられている。我々はマウスの脳解剖地図(マウス脳アトラス)を用いて本領域の名称を調べたが、特定の名前は記載されておらず、未同定な領域であることが判明した(図2右)。我々は本領域が三角形であることから、仮称「デルタ神経核」と名付け、その化学的特徴や役割について研究を行うことにした。

2. 研究の目的

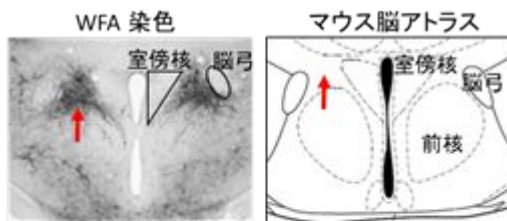


図2. 視床下部のWFA染色像(左)とマウス脳アトラス(右):濃染される三角形(矢印)の領域はアトラスには載っていない。

本研究の目的

は、視床下部新規領域「デルタ神経核」の特性を、本領域を構成するニューロンの種類、神経回路、生理的機能の3つの観点から明らかにすることである。

3. 研究の方法

デルタ神経核の遺伝子発現解析同定:デルタ神経核と近傍の室傍核から組織を回収し、RNAを抽出した。それらを用いてDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。

デルタ神経核ニューロンの免疫組織学的同定:デルタ神経核における種々の神経ペプチドやニューロンのサブタイプマーカータンパク質の発現を免疫染色によって調べた。

神経回路:デルタ神経核ニューロンの投射と入力について、順行性トレーサー(ピオチン化デキストランアミン(BDA))と逆行性トレーサー(フルオロゴールド(FG)またはコレラトキシンb(CTb))を用いた神経回路標識法を用いて調べた。

神経活動解析:種々の刺激(新奇環境ストレス、拘束ストレス、侵入者ストレス、絶水・再飲水、絶食・再摂食)をマウスの与えた後のデルタ神経核におけるc-Fosタンパク質の発現(神経活動のマーカー)について免疫組織化学により調べた。

行動解析:イボテン酸によってデルタ神経核を破壊し、不安様行動に与える影響をオープンフィールドテストによって調べた。

4. 研究成果

【結果】

デルタ神経核のニューロンは、神経ペプチドの一種であるエンケファリンを発現するこ

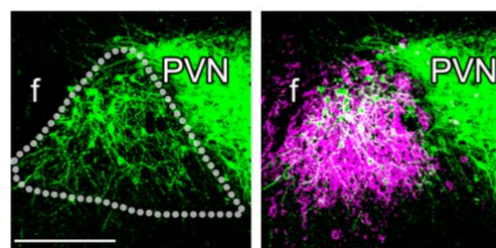


図3. デルタ神経核(マゼンタ)のエンケファリン陽性細胞(緑)

とが明らかとなった(図3)。

また、神経回路について、エンケファリン陽性ニューロンは、大脳辺縁系を構成する外側中隔へと投射することが明らかとなった。また逆に、外側中隔のカルビンディン陽性細胞がデルタ神経核へ投射することも明らかとなった(図4)。

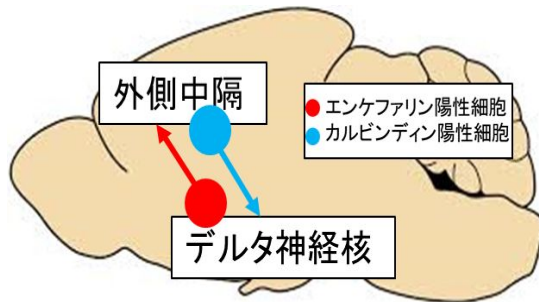


図4. デルタ神経核—外側中隔間の神経回路

よってデルタ神経核と外側中隔には双方向性の神経連絡があると考えられた。

c-Fos タンパク質発現を指標とした神経活動解析の結果、デルタ神経核ニューロンの神経活動は、新奇環境や拘束、侵入者によるストレスによって上昇するが、絶飲や絶食等のストレスによっては影響されなかった。このことから、デルタ神経核ニューロンは心理的ストレスに応答する傾向があると考えられた。最後に、デルタ神経核をイボテン酸によって破壊したマウスでは、不安様行動の上昇が認められた(図5)。

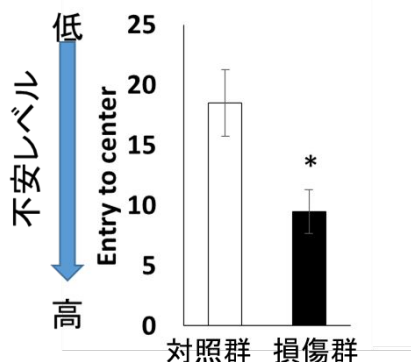


図5. デルタ神経核損傷による不安レベルの上昇

【考察】

デルタ神経核の主投射先である外側中隔は、情動調節に関与することが知られる。本

研究の結果と考え合わせると、デルタ神経核ニューロンは、外側中隔を介して不安レベルの調節を行う可能性が考えられる。またエンケファリンは従来、脊髄における鎮痛ペプチドとして知られるが、最近の研究では、脳レベルにおいては情動に作用することが示されつつある。一般に、ストレスは不安を高めるが、デルタ神経核を破壊すると不安様行動が高まることから、本領域は不安の緩和作用があるのではないかと推察される。本領域と不安様症状を伴う精神疾患との関連性は不明であるが、今後の研究課題として重要であると考えられる。

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5件)

1. Nishi M, Horii-Hayashi N, Sasagawa T: Effects of early life adverse experiences on brain: implications from maternal separation models in rodents. *Frontiers in Neuroscience* 8:166, 2014. [査読有]
DOI: 10.3389/fnins.2014.00166
2. Matsusue M, Horii-Hayashi N, Kirita T, Nishi M: Distribution of corticosteroid receptors in mature oligodendrocytes and oligodendrocyte progenitors of the adult mouse brain. *J Histochem Cytochem* 62: 211-226, 2014. [査読有]
DOI:10.1369/0022155413517700
3. Horii-Hayashi N, Sasagawa T, Matsunaga W, Matsusue Y, Azuma C, Nishi M: Developmental changes in desensitization of c-Fos expression induced by repeated maternal separation in pre-weaned mice. *J*

- Neuroendocrinol. 25: 158-67, 2013. [査読有]
DOI: 10.1111/j.1365-2826.2012.02377.x
4. Nishi M, Horii-Hayashi N, Sasagawa T, Matsunaga W: Effects of early life stress on brain activity: Implications from maternal separation in rodents. *General and Comparative Endocrinol* 181: 306-309, 2013. [査読有]
DOI :10.1016/j.ygcen.2012.09.024
 5. Okuda H, Tatsumi K, Morita S, Shibukawa Y, Korekane H, Horii-Hayashi N, Wada Y, Taniguchi N, Wanaka A: The chondroitin sulfate proteoglycan tenascin-R regulates glutamate uptake by adult brain astrocytes. *J Biol Chem*. 289(5):2620-2031, 2013. [査読有]
DOI: 10.1074/jbc.M113.504787
- [学会発表](計 12 件)
1. Noriko Horii-Hayashi, Takayo Sasagawa, Takashi Hashimoto, Mayumi Nishi: A Newly-identified hypothalamic area enriched with perineuronal nets. 第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会・第 92 回日本生理学会合同大会、3.21-23. 2015. 神戸
 2. Akinori Okuda, Noriko Horii, Takayo Sasagawa, Yasuhito Tanaka, Mayumi Nishi: Axon regeneration and motor function improvement with scaffold-free BMSC sheet transplantation to completely transected spinal cord rat. 第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会・第 92 回日本生理学会合同大会、3.21-23. 2015. 神戸
 3. Takayo Sasagawa, Noriko Horii-Hayashi, Takashi Hashimoto, Mayumi Nishi : Effects of early life stress on palatable feeding behavior. 第 37 回日本神経科学大会、2014.9.11-13、横浜
 4. Takashi Hashimoto, Noriko Horii, Takayo Sasagawa, Mayumi Nishi : The effect of maternal separation in the nucleus of accumbens and the bed nucleus of stria terminalis of the adult mouse: gene profiles after early life stress. 第 37 回日本神経科学大会、2014.9.11-13、横浜
 5. 橋本隆、笹川誉世、堀井謹子、西真弓 : 早期母子分離と、成体マウスの側坐核および分界上床核における遺伝子発現変化. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014.3.27-29、栃木
 6. 西真弓、堀井謹子、笹川誉世、橋本隆 : 視床下部領域に新たに同定されたペリニューロナルネット陽性細胞を含む神経領域について. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014.3.27-29、栃木
 7. 笹川誉世、堀井林謹子、橋本隆、西真弓 : 幼少期ストレスによる食物嗜好性行動への影響. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014.3.27-29、栃木
 8. Horii N, Sasagawa T, Hashimoto T, Nishi M: A novel hypothalamic area enriched with perineuronal nets. International symposium on glycol-neuroscience in Awaji Yumebutai. 2014, Japan 2014.1.9-11
 9. Takayo Sasagawa, Noriko Horii-Hayashi, Takashi Hashimoto, Mayumi Nishi: Effects of early life stress on brain activity: implications from maternal separation in rodents. *Neuroscience*. 2013.11.9-13, San Diego, CA
 10. 堀井謹子、笹川誉世、橋本隆、西真弓 :

視床下部領域に新たに同定されたペリニューロナルネット陽性細胞を含む神経核について. 第40回日本神経内分泌学会学術集会、2013.10.25-26、宮崎(若手研究奨励賞受賞)

11. 堀井-林謹子、笹川誉世、橋本隆、森川訓浩、西真弓:ペリニューロナルネット陽性神経細胞を含む視床下部新規神経核について. 第19回日本行動神経内分泌研究会全国集会、2013.7-5-7、鹿児島
12. 堀井謹子、笹川誉世、松永涉、橋本隆、西真弓:視床下部領域に新たに同定されたペリニューロナルネット陽性細胞を含む神経核について. 第36回日本神経科学大会、2013.6.20-23、京都

〔図書〕(計 0件)
なし

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.naramed-u.ac.jp/~1ana/>

6. 研究組織

- (1)研究代表者
堀井 謹子 (HORII, Noriko)
奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号: 80433332

(2)研究分担者
なし ()

研究者番号:

(3)連携研究者
なし ()

研究者番号: