

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26282155

研究課題名(和文) 社会性低下の神経機構 リハビリテーション療法のための基盤研究

研究課題名(英文) The neural mechanisms underlying reduced sociability

研究代表者

三谷 章 (Mitani, Akira)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50200043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：社会性の低下は、さまざまな精神疾患において主要な症候であるが、その神経機構は未明のままである。本研究では、社会性に深く関わっている内側前頭前皮質の前辺縁皮質(PL)と下辺縁皮質(IL)の働きについて、ラットの社会行動中において検索した。PLは接近行動や接触行動、特に攻撃行動をするときに活動増加した。一方、ILは離れていく時、特に他者が自身から離れていくときに活動増加した。また、隔離飼育によって社会性の低下したラットでは、上述のPLの活動増加は観察されるが、ILの活動増加は観察されなかった。このようなPLとILの活動バランスの変化が社会性低下の一要因となっている可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Reduced sociability is a central symptom of various neuropsychiatric disorders, and yet the neural mechanisms underlying reduced sociability remain unclear. We recorded multiunit activity in the prelimbic cortex (PL) and infralimbic cortex (IL) of pairs of freely moving rats during social interaction. In group-reared rats, PL neurons increased firing when the rat showed approaching behavior and also contact behavior, especially when the rat attacked the partner. IL neurons increased firing when the rat exhibited leaving behavior, especially when the partner left on its own accord. Isolation-reared rats showed an increased frequency and decreased duration of contact behavior. The increased firing of PL neurons was preserved in isolation-reared rats, whereas the increased firing of IL neurons was suppressed in isolation-reared rats. The differential influence of isolation rearing on neural activity in the PL and IL may be one of the neural bases of isolation rearing-induced behavior.

研究分野：リハビリテーション神経科学

キーワード：リハビリテーション 神経科学 社会性 内側前頭前皮質

1. 研究開始当初の背景

(1) 集団の中で他者との相互関係を良好に保ち、快適な社会生活を営むことはそのヒトのQOLを促進し、ひいては安寧な国民生活を実現させる。社会性の低下はさまざまな精神疾患において主要な症候であるが、その基盤となっている脳機能変化については未明のままである。社会性低下を生じさせている脳機能変化の解明とその科学的根拠に基づいたリハビリテーション介入法の開発が望まれている。

(2) 内側前頭前皮質は、ヒトでも齧歯類でも前頭葉の腹内側面に存在し、自閉症スペクトラムや統合失調症などの患者で、その構造的あるいは機能的損傷が生じていることが報告されている¹⁾。内側前頭前皮質のうち前辺縁皮質(PL)と下辺縁皮質(IL)はともに情動発現に深く関わっている扁桃体に直接線維投射しており、他者に対する社会行動に大きな影響を与えていると考えられている。

(3) 単独で育てるという隔離飼育を受けたラットに見られる神経学的変化は、多くの精神障害でみられる症候と類似することが報告されており²⁾、隔離飼育ラットはそのような精神疾患のモデル動物として有用であると考えられる。

(4) 社会的行動の基盤となる神経機構を検索するためには社会的行動中のニューロン活動を記録する必要がある。自由行動中の動物のニューロン活動を記録する方法として従来よりマルチユニット記録法があるが、この方法は電線ケーブルを動物につなぐ有線方式であり、動物が別の動物と接触行動をすると互いのケーブルが絡み合い、記録を続けることが出来ない。この問題を解消するために、無線で自由行動中の動物のニューロン活動を記録するシステムの開発が必要とされた。

2. 研究の目的

本研究では、社会的行動中のラットの PL および IL のニューロン活動を観察し、これらの脳領域が社会的行動にどのように関わっているか、さらに PL および IL の機能変化が社会性低下の原因となっているかどうか、について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 京都大学動物実験委員会の承認を得て行った。

(2) 64頭(32頭は健常コントロール群としてグループ飼育、残り32頭は隔離飼育)のSDラット(生後8-10週)を用いた。PLあるいはILにマルチユニット記録用電極を埋め込んだ。ニューロン活動を無線にて送信するために独自に開発したトランスミッター(TOSAKA)(図1)をラットの頭部に取り付けた。グループ飼育ラットはグループ飼育ラットと、隔離飼育ラットは隔離飼育ラットとそれぞれペアとし、2頭をテスト箱(1m x 1m x 高さ0.5m)の中に入れ、社会的行動を15

分間行わせ、その行動とニューロン活動を記録した。

(3) 観察された行動を、単独行動、接近行動、接触行動、離去行動に分類し、さらにその行動を自身が行ったか、パートナーが行ったか、に分類した。

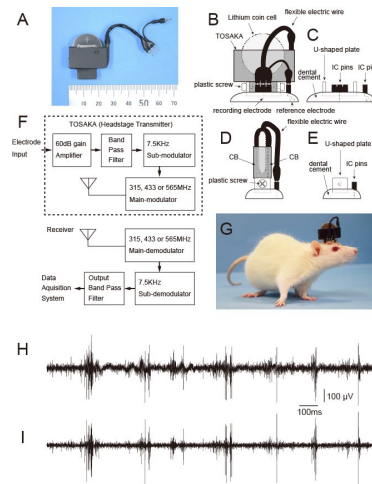


図1. 無線送信機(TOSAKA)の概要. A: TOSAKA. B-E: 外観図. F: システムダイアグラム. G: ラットに装着した図. H, I: 有線記録(H)と無線記録(I)の比較.

4. 研究成果

(1) グループ飼育ラット

行動: 全ペアにおいて単独行動、接近行動、接触行動、離去行動が観察された(図2)。15分間の観察中に平均 14.4 ± 1.1 回の接触行動が観察され、1回の接触行動の持続時間は 40.1 ± 4.6 秒であった。

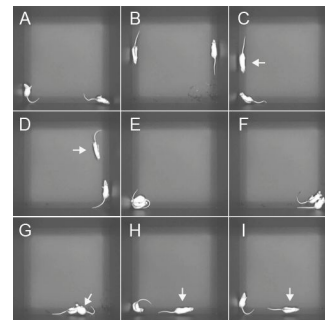


図2. ラットの社会的行動. A, B: 単独行動. C, D: 接近行動-自身が接近(C), パートナーが接近(D). E-G: 接触行動-E: 探索, F: 攻撃, G: 攻撃(パートナーは防御)行動. H, I: 離去行動-自身が離去(H), パートナーが離去(I).

ユニット活動: PLに電極を埋めた16頭のラットのうち15頭から、ILに電極を埋めた16頭のラットのうち12頭から、それぞれマルチユニット活動が記録された(図3)。

単独行動時には、PLおよびILニューロンは比較的安定した発火頻度を示した。PLニューロンは接近行動中と接触行動中に発火頻度を増加させたが、ILニューロンはその間は発火頻度を増加させなかった。離去行動中において、PLニューロンは発火頻度を増加させなかったが、ILニューロンは増加させた(図4)。また、接触行動中においては、攻撃行

動中の発火頻度は、探索行動や防御行動中の発火頻度よりも有意に高かった(図5)。

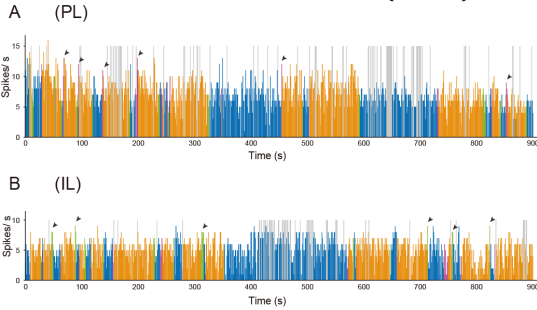


図3. グループ飼育ラットの社会的行動中の PL および IL ニューロン活動の発火頻度の変化例(ヒストグラム). A: PL. B: IL. 青, 赤, 橙, 緑色カラムはそれぞれ単独, 接近, 接触, 離去行動中の発火頻度を表す. A 内の矢頭は, 接近行動中に発火頻度が増加した例を示す. B 内の矢頭は, 離去行動中に発火頻度が増加した例を示す. 縦軸は1秒間の発火頻度, 横軸は時間軸(15分間).

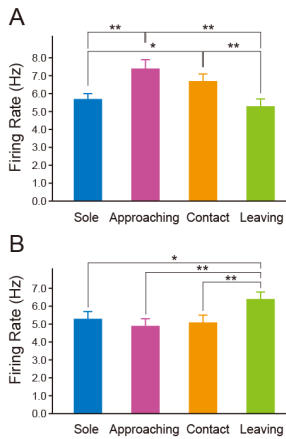


図4. グループ飼育ラットの社会的行動中の PL および IL ニューロン活動の発火頻度の分析. A: PL. B: IL. 青, 赤, 橙, 緑色カラムはそれぞれ単独, 接近, 接触, 離去行動中の発火頻度を表す. PL ニューロンの接近及び接触行動中の発火頻度は単独および離去行動中よりも統計学的に有意に高く(A), IL ニューロンの離去行動中の発火頻度は単独, 接近および接触行動中よりも統計学的に有意に高い(B)ことが示された.

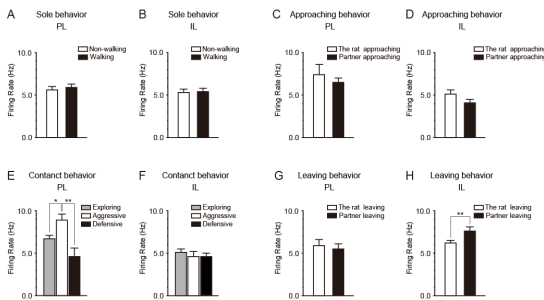


図5. グループ飼育ラットの単独, 接近, 接触, 離去行動中の PL および IL ニューロン活動の発火頻度の分析. A: 単独行動中の PL. B: 単独行動中の IL. C: 接近行動中の PL. D: 接近行動中の IL. E: 接触行動中の PL. F: 接触行動中の IL. G: 離去行動中の PL. F: 離去行動中の IL. 接触行動中において, PL ニューロンの攻撃行動中の発火頻度は, 探索行動や防御行動中の発火頻度よりも有意に高かった(E). 離去行動中において, IL ニューロンの発火頻度は, 相手が離れるときの方が自分が離れるときよりも有意に高かった(H).

(2) 隔離飼育ラット

行動: 全ペアにおいて単独行動, 接近行動, 接触行動, 離去行動が観察された. 15分間の観察中に平均 21.2 ± 0.9 回の接触行動が観察され, 1回の接触行動の持続時間は 19.0 ± 1.9 秒であった. これらの値には, グループ飼育ラットの値と比べて統計学的に有意な差があった. すなわち, 隔離飼育ラットは, グループ飼育ラットと比べて, 接触行動の回数は増加するが, その持続時間は短くなることが示された.

ユニット活動: PL に電極を埋めた 16 頭のラットのうち 14 頭から, IL に電極を埋めた 16 頭のラットのうち 12 頭から, それぞれマルチユニット活動が記録された(図6).

単独行動時には, PL および IL ニューロンは比較的安定した発火頻度を示した. グループ飼育ラットと同様に, PL ニューロンは接近行動中と接触行動中に発火頻度を増加させた. 一方, グループ飼育ラットにおいて観察された IL ニューロンの離去行動中の発火頻度の増加は観察されなかった(図7).

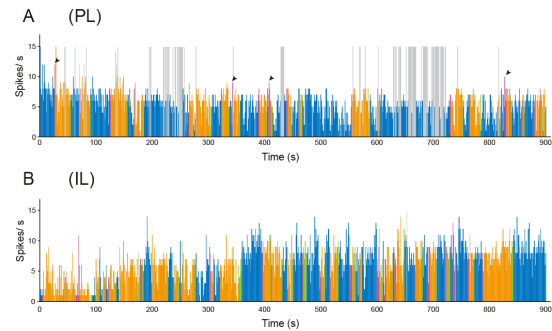


図6. 隔離飼育ラットの社会的行動中の PL および IL ニューロン活動の発火頻度の変化例(ヒストグラム). A: PL. B: IL. 青, 赤, 橙, 緑色カラムはそれぞれ単独, 接近, 接触, 離去行動中の発火頻度を表す. A 内の矢頭は, 接近行動中に発火頻度が増加した例を示す. 縦軸は1秒間の発火頻度, 横軸は時間軸(15分間).

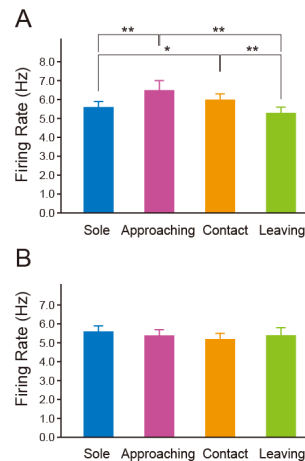


図7. 隔離飼育ラットの社会的行動中の PL および IL ニューロン活動の発火頻度の分析. A: PL. B: IL. 青, 赤, 橙, 緑色カラムはそれぞれ単独, 接近, 接触, 離去行動中の発火頻度を表す. PL ニューロンの接近及び接触行動中の発火頻度は単独および離去行動中よりも統計学的に有意に高かった(A). IL ニューロンは4つの行動間で有意な発火頻度の差を示さなかった(B).

また、接触行動中に隔離飼育ラットは攻撃行動や防御行動をみせることは稀であった。それゆえ、稀に観察された攻撃行動中の発火頻度は、探索行動や防御行動中の発火頻度よりも高くなる印象があったが、統計学的有意差は観察されなかった(図8E)。

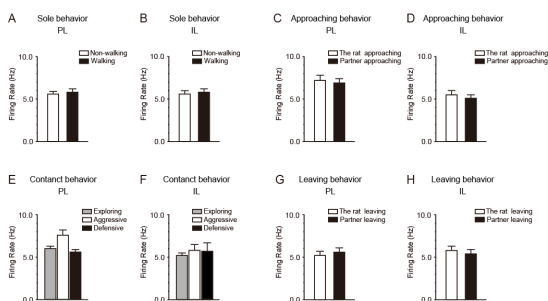


図8. 隔離飼育ラットの単独, 接近, 接触, 離去行動中のPLおよびILニューロン活動の発火頻度の分析. A: 単独行動中のPL. B: 単独行動中のIL. C: 接近行動中のPL. D: 接近行動中のIL. E: 接触行動中のPL. F: 接触行動中のIL. G: 離去行動中のPL. H: 離去行動中のIL.

(3)成果のまとめ

本研究では、独自に無線テレメトリシステムを開発することによって、世界で初めて社会行動中のニューロン活動を記録した。

内側前頭前皮質のPLあるいはILにマルチユニット記録用電極を埋め、無線トランスミッター(TOSAKA)を頭部に装着した2頭のグループ飼育ラットを同時にテスト箱に入れ、その社会的行動中のニューロン活動を記録したところ、PLニューロンは接近および接触行動中に活動増加した。特に、パートナーに対して攻撃行動をするとき発火頻度が上昇した。一方、ILニューロンは離去行動中に活動増加を示し、特にパートナーが離れていく時に発火頻度が上昇した。

これまでの恐怖条件付けを用いた研究³⁾では、PLは恐怖の維持に関連して活動増加し、ILは恐怖の消去に関連して活動増加することが報告されており、PLとILは互いに相反的に働いていることが示唆されている。このPLとILが相反的に働くという図式を今回の社会的行動結果に適用するならば、PLはパートナーに対して積極的に働きかけるときに活動を亢進し、ILはパートナーが離れる、すなわち受動的に注意対象から解放されるときに活動を亢進するのではないかと考えられる。PLとILのバランスのとれた活動が適応的な社会的行動の遂行に重要なかもしれない。本実験においてILがパートナーの離去行動時に最も活動亢進したことは、接触行動中に何らかのストレスがそのラットに負荷されていたことを示唆している。

隔離飼育ラットでは、接触行動の頻度が増加し、その1回の持続時間は短縮した。この結果は、隔離飼育されたラットは、パートナーに対して強い関心を示すが長時間に亘って接触行動を続けることが出来なくなるこ

とを示している。隔離飼育ラットのPLニューロンは、グループ飼育ラットと同様に、接近および接触行動中に活動増加した。一方、ILニューロンは離去行動中の活動増加を起こさなかった。このことは、グループ飼育ラットで離去行動中に生じるILニューロンの活動増加は、隔離飼育によって抑圧されたことを示している。

ILの活動低下は、さまざまな精神疾患患者においても報告されており⁴⁾、恐怖条件付けにおける消去学習の想起不全⁵⁾やヒトの心的外傷後ストレス障害(PTSD)の発生⁶⁾に関わっているとされている。本研究の隔離飼育で観察されたPLの活動は維持されているがILの活動は低下しているというように、PLとILの活動のアンバランスが社会性低下の原因となっている可能性が考えられる。

<引用文献>

- 1) Yamada M, et al., Social cognition and frontal lobe pathology in schizophrenia: a voxel-based morphometric study. *Neuroimage*. 2007;35:292-298.
- 2) Day-Wilson KM, et al., Medial prefrontal cortex volume loss in rats with isolation rearing-induced deficits in prepulse inhibition of acoustic startle. *Neuroscience*. 2006;141:1113-1121.
- 3) Vidal-Gonzalez I, et al., Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learn Mem*. 2006;13:728-733.
- 4) Gradin VB, et al., Abnormal neural responses to social exclusion in schizophrenia. *PLoS One*. 2012;7:e42608.
- 5) Milad MR, Quirk GJ., Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*. 2002;420:70-74.
- 6) Bremner JD, et al., Neural correlates of exposure to traumatic pictures and sound in Vietnam combat veterans with and without posttraumatic stress disorder: a positron emission tomography study. *Biol Psychiatry*. 1999;45:806-816.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計1件)

Minami, C., Shimizu, T., Mitani A., Neural activity in the prelimbic and infralimbic cortices of freely moving rats during social interaction: Effect of isolation rearing. *PLoS One*, 査読有, 2017, 12, e0176740, DOI:10.1371/journal.pone.0176740

[学会発表](計28件)

Shimizu, T. et al., Electrical stimulation of the medial prefrontal cortex has

anxiolytic like effect on freely moving rats. 2nd International Brain Stimulation Conference. 2017.3.6, Barcelona(Spain)

青木丈和、他、新規環境における隔離飼育ラットの内側前頭前皮質ニューロン活動について、第 15 回コ・メディカル形態機能学会学術集会、2016.9.17、京都大学芝蘭会館（京都府・京都市）

清水朋子、他、内側前頭前皮質の電気刺激による不安関連行動の変化、第 14 回コ・メディカル形態機能学会学術集会、2015.9.26、埼玉医科大学（埼玉県・入間郡）

Minami, C. et al., Multi-unit activity in the medial prefrontal cortex during social interaction in rats. 44th Society for Neuroscience Annual Meeting. 2014.11.19, Washington DC(USA)

清水朋子、他、Multi-unit activity in the medial prefrontal cortex involved in decision making in the elevated plus-maze test. 第 37 回日本神経科学学会大会、2014.9.11、パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）

〔その他〕

ホームページ等

www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/human_health/ot0101/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三谷 章 (MITANI, Akira)

京都大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号： 5 0 2 0 0 4 3

(2) 研究分担者

松林 潤 (MATSUBAYASHI, Jun)

京都大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号： 0 0 4 5 2 2 6 9

中井 隆介 (NAKAI, Ryusuke)

中部大学・生命健康科学部・助教

研究者番号： 1 0 5 7 6 2 3 4

(3) 研究協力者

南 千尋 (MINAMI, Chihiro)

清水 朋子 (SHIMIZU, Tomoko)