

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26750380

研究課題名(和文) 恐怖条件付け時におけるNA神経の役割

研究課題名(英文) The role of locus coeruleus noradreneline neurons in fear learning

研究代表者

植松 朗 (Uematsu, Akira)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号：90716242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：1) 恐怖条件付け中や想起のどの時点で青斑核NA神経が重要であるかを光遺伝学を用いて明らかにした。恐怖条件づけにおいては電気ショック時の神経活動が、また恐怖の消去学習においては音に応答する神経活動がそれぞれの学習に重要であることが明らかとなった。2) 光遺伝学を用いて同定したNA神経は1で得られた知見と一致して、多くのNA神経が電気ショックに応答すること、また恐怖学習後には恐怖刺激応答性の神経が増加することが明らかとなった。3) さらに、恐怖学習とその消去学習においては青斑核NA神経の投射部位特異的に機能が異なることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this project, we first identified the functional role of locus coeruleus (LC) noradrenaline (NA) neurons by optogenetic manipulation. We found that shock evoked activity of LC-NA is necessary for fear learning and tone evoked activity is required for extinction learning. Consistent with these findings, in-vivo electrophysiology revealed that LC-NA neurons identified with optogenetic inhibition are mostly shock responsive and cue-evoked response is increased after fear conditioning. Finally we tested if LC-NA neurons have heterogeneous functions using recombinant rabies virus expressing light-induced hyperpolarization pump. One population projecting to the amygdala is engaged during aversive emotional learning while a separate population projecting to the medial prefrontal cortex (mPFC) is recruited to extinguish aversive emotional responses when they are no longer appropriate.

研究分野：神経科学

キーワード：青斑核 ノルアドレナリン 恐怖条件づけ

1. 研究開始当初の背景

恐怖反応は危険を予測し生存確率を上昇させるための防御反応である一方で、過度な恐怖情動は心身に様々な障害を引き起こすことが知られている。これら障害の治療法を確立するためには、動物モデルを用いてこの恐怖反応に関わる神経回路を理解することが重要である。恐怖情動においては、扁桃体が感覚情報の統合を行い、恐怖条件づけの獲得や想起において主要な役割を担うことが知られている。また近年、扁桃体外側野や中心核におけるノルアドレナリン (NA) の分泌が、恐怖条件づけ学習時に重要であることがわかってきた。

2. 研究の目的

本研究では NA 神経が多く存在する青斑核に焦点を当て、1) 恐怖条件づけ学習における青斑核 NA 神経の役割と 2) 恐怖情動における扁桃体中心核に投射される青斑核 NA 神経の役割を明らかにすることを目的とする。3) 近年、青斑核 NA 神経は均一ではないとの報告がされていることから、青斑核 NA 神経が投射する部位によって、恐怖学習における機能が異なるのかを検討した。

3. 研究の方法

1) 恐怖条件づけ・消去学習時における青斑核 NA 神経の役割解明

Tyrosine hydroxylase (Th)-Cre ラットでは青斑核の NA 神経特異的に Cre が発現している。このラットの青斑核にアデノ随伴ウイルス (AAV)-Flex-ArchT-GFP を投与し、NA 神経特異的な ArchT-GFP またはコントロールとして GFP を発現させ、青斑核上部に光ファイバーを留置した。恐怖条件づけではラットに音の条件刺激 (conditioned stimulus; CS) それに続いて嫌悪刺激である電気ショックを無条件刺激 (unconditioned stimulus; US) を与えた。このとき CS もしくは US と同時に青斑核 NA 神経にレーザーを照射して抑制をし、24 時間後に CS のみを提示した時の恐怖反応を測定した。さらに恐怖の消去学習中における関与を検討するため、恐怖学習した動物に CS のみを 22 回提示するときに青斑核 NA 神経を抑制した。最後に 24 時間後に CS のみを提示して消去学習記憶を検討した。

2) in-vivo 電気生理

光ファイバーと電極を組み合わせたオプトロードを留置した。これを用いて細胞外記録と光による NA 神経活動の同期をすることにより NA 神経の同定を行った。その後恐怖条件づけを行い、青斑核 NA 神経が条件付け前後での CS に対してどのように応答するのかを記録した。

3) 投射部位特異的な NA 神経機能の解明
最初に逆行性輸送される異なる蛍光色のトレーサーを扁桃体と前頭前野に投与して青斑核 NA 神経での投射による分布を解剖学的に検討した。次に機能を検討するため、逆行性に輸送されて ArchT もしくはコントロールの GFP を発現させる RabiesVirus を扁桃体もしくは前頭前野に投与し、青斑核にファイバーを留置した。1) と同様に恐怖条件づけもしくは消去学習中にこれらの細胞群を抑制した。

4. 研究成果

1) 青斑核 NA 神経の役割解明

ArchT-GFP は青斑核 NA 神経特異的に発現した(図 1a)。US 時抑制群では 24 時間後の恐怖反応が有意に減少するが、CS 時抑制群ではコントロール群と比べて有意な変化は見られなかった(図 1 b-d)。また、消去学習時においては CS 時での活動が消去学習の長期記憶に重要であることが明らかとなった(図 1 e-g)。

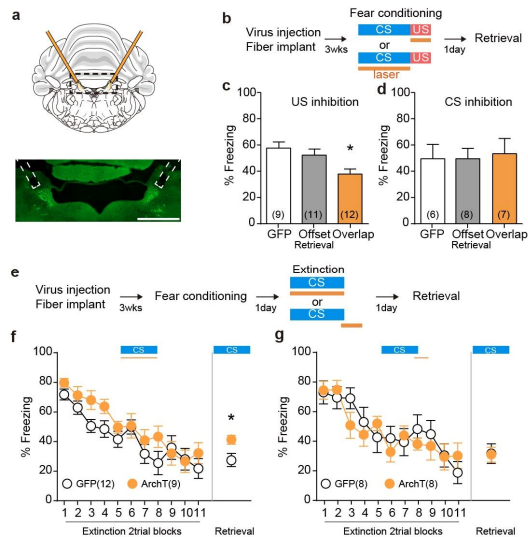


図 1 青斑核 NA 神経を Optogenetics により時間特異的に抑制した時の行動実験結果

2) in-vivo 電気生理

光によって応答するユニットを NA 神経として同定したのちに条件付け前後での CS に対する応答を自由行動下での動物で測定した。CS 応答の基準として CS 中での Z-score が 3 以上のものを CS 応答細胞とした。条件付け前のみ CS 応答する細胞 (Pre) 条件付け後の恐怖反応が高いときのみ応答するもの (Fear) 消去学習が進んだときに応答するもの (Extinction) またその両方であろうとするもの (Fear&Extinction) があることが明らかとなった(図 2 a-d)。

これまで青斑核のノルアドレナリン神経は同じように神経応答があるものと考えられてきたが恐怖反応時には多様な反応を示すことが明らかとなった。一方でほとんどの細胞は電気ショックに対して応答を示

した(図2c 黄色)

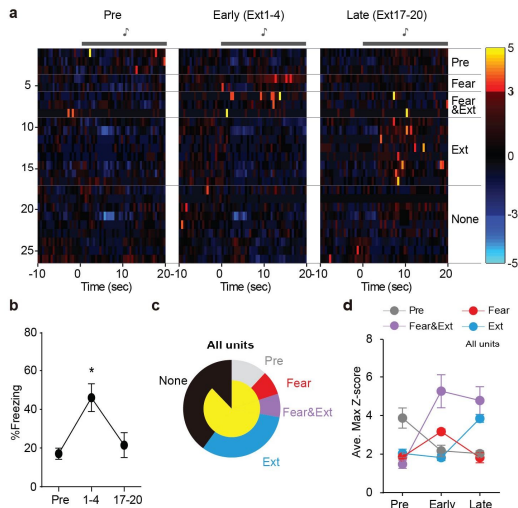


図2 青斑核 NA 神経の条件付け前後での CS 応答変化

3) 投射部位特異的な NA 神経機能の解明

Green と Red Retrobeads トレーサーを扁桃体と前頭前野にそれぞれ投与したところ青斑核における Retrobeads 陽性細胞はすべて NA 神経であった。さらに両方の色に染まる NA 神経はすべての前頭前野もしくは扁桃体投射 NA 神経のうち 3-5% であり、二つの細胞群は解剖学的には特異的であることが明らかとなった(図3a, b)。

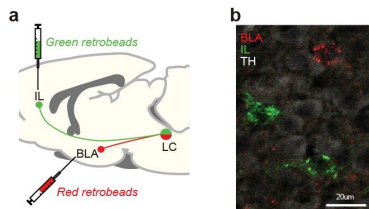


図3 青斑核における解剖学的な特異性

次に RabiesVirus を扁桃体か前頭前野に投与した群において恐怖条件づけもしくは消去学習の行動実験を行った。恐怖条件づけ時では扁桃体投射神経のみ長期記憶に重要であり(図4a, b)、消去学習においては前頭前野投射神経が消去学習の開始または記憶の形成に重要であることが明らかとなった(図4d, e)。また興味深いことに、扁桃体投射神経を消去学習時に抑制すると消去学習の長期記憶が促進されることが明らかとなった。これらの結果より、扁桃体もしくは前頭前野に投射する異なる NA 細胞群が恐怖または消去学習においてそれぞれ異なる役割を持つことが明らかとなった。

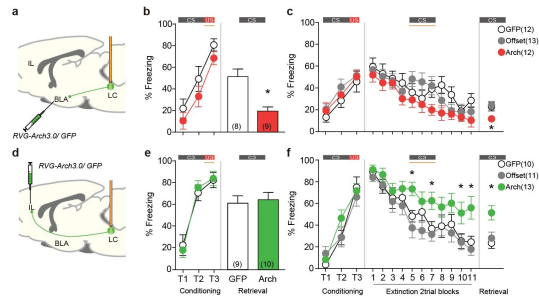


図4 恐怖条件づけ・消去学習時における投射部位特異的な青斑核 NA 神経の機能相違

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

A. Uematsu, B.Z. Tan, J. Johansen, Projection specificity in heterogeneous locus coeruleus cell populations: implications for learning and memory, Learning and Memory, 査読あり, 22, 2015, 444-451

〔学会発表〕(計 3 件)

Akira Uematsu, Edgar Ycu, Joshua Johansen, Anatomical, temporal and functional specificity in locus coeruleus noradrenaline neurons during fear and extinction learning, 2015/10/18, Society for Neuroscience, Chicago, USA

Akira Uematsu, Edgar Ycu, Joshua Johansen, Anatomical, temporal and functional specificity in locus coeruleus noradrenaline neurons during fear and extinction learning, Gordon Research Conference; Amygdala in Health and Disease, 2015/8/2-7, Boston, USA

Akira Uematsu, Edgar Ycu, Joshua Johansen, Anatomical, temporal and functional specificity in locus coeruleus noradrenaline neurons during fear and extinction learning, 日本神経科学大会, 2015/7/30, 神戸国際会議場, 神戸市, 兵庫県

〔図書〕(計 0 件)

〔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：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植松 朗 (Akira Uematsu)

理化学研究所・脳科学総合研究センター

基礎科学特別研究員

研究者番号：90716242

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし