

2013年度 生理研研究会

情動研究会 2013

『感覚刺激・薬物による 快・不快情動生成機構とその破綻』

2013 年9月2日(月)～9月3日(火)

自然科学研究機構 生理学研究所(明大寺地区) 1階大会議室

代表者:北海道大学大学院薬学研究院 南 雅文

所内対応者:生理学研究所生体恒常機能発達機構 鍋倉淳一

プログラム・抄録集



平成25年度生理学研究所研究会
感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻
平成25年 9月 2日(月)12:50 ~ 9月3日(火)12:20
プログラム

9月2日 (月)

12:50~13:00 開会のあいさつ

セッション1

13:00~13:40 「うつ病の新規治療ターゲットとしての BDNF-TrkB シグナル」
橋本謙二 (千葉大学 社会精神保健教育研究センター 病態解析)

13:40~14:20 「統合失調症サイトカインモデルでみられた社会行動異常：ドパミン神経系との
関連性」
外山英和・那波宏之 (新潟大学 脳研究所 分子神経生物学)

14:20~15:00 「脳発達期の栄養状態が統合失調症発症脆弱性に与える影響-マウスを用いた検討」
吉川武男 (理化学研究所 脳科学総合研究センター 分子精神科学)

15:00~15:40 「情動行動発現における脊髄後角-腕傍核-扁桃体路の意義」
加藤総夫 (東京慈恵会医科大学 神経科学)

15:40~16:00 休憩

セッション2

16:00~16:40 「痛みによる不快情動生成の脳内メカニズム」
南 雅文 (北海道大学 薬学研究院 薬理学)

16:40~17:20 「味覚嫌悪学習による嗜好性変化とその中枢メカニズム」
乾 賢・志村 剛 (大阪大学 人間科学研究科 行動生理学)

17:20~18:00 「嗅覚入力が誘発する先天的な冷たい恐怖と後天的な温かい恐怖」
小早川 高 (大阪バイオサイエンス研究所)

18:00~18:40 「モノアミンが制御する線虫の記憶学習行動とその神経回路」
森 郁恵 (名古屋大学 理学研究科 分子神経生物学)

19:00~ 懇親会

9月3日（火）

セッション3

9:30～ 10:10 「情動記憶の脳内表現と表出の制御」
松尾直毅（京都大学 白眉センター）

10:10～10:50 「The habenula acts as the switchboard in fear response and aggression」
岡本 仁（理化学研究所 脳科学総合研究センター）

10:50～11:30 「恐怖記憶制御のマイクロエンドフェノタイプ」
喜田 聡（東京農業大学 応用生物科学部）

11:30～12:10 「情動の制御機構を解明するための神経情報基盤の構築」
脳プロ課題Gの活動
貝淵弘三（名古屋大学 医学系研究科）

12:10～12:20 閉会のあいさつ

うつ病の新規治療ターゲットとしての BDNF-TrkB シグナル

橋本 謙二

千葉大学社会精神保健教育研究センター 病態解析研究部門

うつ病の発症率は非常に高く、我が国でも大きな社会問題になっている。うつ病の治療には、抗うつ薬が処方されているが、治療効果を発現するためには数週間以上を要する。また現在の抗うつ薬では奏功しない治療抵抗性患者が存在することが指摘されている。以上のことから、うつ病に対する新たな治療薬の開発が急務である。

これまでの多くの基礎・臨床研究から、脳由来神経栄養因子（BDNF: Brain-derived neurotrophic factor）がうつ病の病態および治療メカニズムに関わっていることが判ってきた。幾つかの基礎研究から、うつ症状発現に対して BDNF は脳部位により逆の作用を有していることが指摘されている。例えば、海馬においては、BDNF が低下するとうつ症状を引き起こし、BDNF を海馬に投与すると抗うつ効果が観察される。一方、報酬系である側坐核においては、BDNF の増加はうつ症状の発現に関わっていることが報告されている。本研究会では、うつ病の発症に関わっている海馬および側坐核における BDNF およびその受容体である TrkB の役割と新規治療ターゲットについて、考察したい。

統合失調症サイトカインモデルでみられた社会行動異常；ドパミン神経系との関連性

外山英和・那波宏之

新潟大学脳研究所分子神経生物学分野

上皮成長因子(EGF)は ErbB 受容体のリガンドの一つである。また、この分子はドパミン神経に対して神経栄養因子活性を示すことが知られている。我々のこれまでの研究では、幼若期に EGF に暴露されたラットは、成熟後、社会性行動の低下や知覚フィルター機能異常など、統合失調症に関連する認知行動異常を示すことがわかっている。最新の我々の研究によると、この末梢からの EGF に反応して黒質—淡蒼球ドパミン神経は過剰発達する。このことが、本モデル動物の知覚フィルター機能障害に関与していると判明している。しかし、本モデル動物の社会性行動異常とドパミン神経との関係は明らかになっていなかった予備実験において、本モデル動物は前頭皮質においてもドパミン代謝異常を呈していた。そこで我々は腹側被蓋野(VTA)–内側前頭皮質(mPFC)経路を中心に詳細な電気生理学・神経化学的解析を行った。本口演では、これらの解析結果を紹介するとともに、VTA– mPFC ドパミン神経の活動異常に対する非定型抗精神病薬の効果についても論じたい。

脳発達期の栄養状態が統合失調症発症脆弱性に与える影響—マウスを用いた検討

吉川 武男

理化学研究所 脳科学総合研究センター 分子精神科学研究チーム

統合失調症は、思春期以降好発する精神疾患の中でも最も重篤であり、発症頻度も約1%と決して少なくない。発症病理の詳細は未だ不明であるが、遺伝学的にも環境的にも脳発達期の微細な侵襲が将来の顕在発症の脆弱性を形成すると考えられている。前者は、リスク遺伝子の多くが脳の発達期に発現開始・増加を示し、後者については、母体や胎児が受けるさまざまなストレスイベントがリスク要因となっているという疫学データの蓄積がある。

リスク環境要因の1つとして、母体が曝された飢饉の大規模事例が2つ報告されている。近年、統合失調症のミエリン仮説に関連して、栄養素として必須脂肪酸の役割が注目されている。我々は、妊娠の2週間前から離乳期までの間、母マウスにアラキドン酸 (arachidonic acid: AA)、ドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid: DHA) 欠乏食を与え、生まれてきた仔マウスには通常食を与えた「脳発達期必須脂肪酸欠乏マウス」を作成した。対照群は、母マウスにも通常食を与えたものである。

「脳発達期必須脂肪酸欠乏マウス」は、成体になったときの行動はヒトの軽度精神病状態、あるいは精神病前駆状態に対応すると考えられる表現型を示し、遺伝子発現では複数のミエリン関係の遺伝子発現レベルが低下していた。前者はモデルとしての「表面妥当性」、後者は「構成妥当性」と考えることも可能であると思われる。

ミエリン関連の遺伝子発現レベル低下の「上流メカニズム」を探るため、発現制御に関わると考えられる転写因子群の発現量を調べたところ、対照群に比較して低下していた。この低下の原因を探るべく、発現量の低下していた転写因子遺伝子のプロモーター領域のDNAメチル化状態を調べたところ、メチル化が亢進している所見を得た。脳発達期の栄養状態とDNAメチル化状態の因果関係はなお不明ながらも、エピジェネティックスマークを刻印していることが示唆された。

情動行動発現における脊髄後角—腕傍核—扁桃体路の意義

加藤総夫

東京慈恵会医科大学・神経科学研究部

「痛みシステム」の生物学的目的は、侵害受容情報を検出し、その原因から身体を遠ざける運動を誘発するとともに、その動物の既定の行動プログラムと実行優先度を書き換え、それによって組織損傷の治癒を促し、かつ、侵害受容を受けうる可能性やその影響を減少させ、結果として生存可能性を上昇させることにある。この既定プログラムの書き換えに伴った内部状態の変化が情動の本態であるとの想定の下、この書き換えのメカニズムの分子・細胞機構の解明を目指している。

C線維由来の侵害受容情報を主に受ける脊髄後角浅層上行性投射ニューロンの大部分は、外側腕傍核（lateral parabrachial nucleus; LPB）に投射し、また、LPBからは、扁桃体中心核外側部/外包部（CeL/CeC）への密な投射がある。この侵害受容と扁桃体を結ぶ経路が「痛みシステム」の可塑性とその結果として生じる情動学習において担う役割を検討し、以下の新事実を見出した。

（1）末梢C線維脱失は神経障害性疼痛によるLPB-CeCシナプス伝達増強を消失させ、足底電気ショックを無条件刺激とした恐怖条件付けを有意に減弱させる。（2）LPBの薬理学的不活性化は恐怖条件付けを有意に減弱させる。（3）LPBニューロンへのChR2-YFP発現ベクター感染動物から作製した扁桃体スライスにおいてCeC/CeLのYFP陽性線維投射領域のニューロンのほとんどが光照射誘発単シナプス性EPSCおよび複シナプス性IPSCを示す。（4）足底および口唇部へのホルマリン注射は、CeCのERKリン酸化を誘発し、疼痛行動が消失した投与6時間後、LPB-CeCシナプス伝達が顕著に増強する。（5）口唇部ホルマリン注射動物は自発的溫度嗜好テストにおいて冷温環境に対する忌避を示す。以上の観察結果は、C線維に起始する侵害受容情報がLPBから扁桃体中心核への興奮性投射を介して扁桃体の情報処理に強く影響を及ぼし恐怖学習から慢性痛に至る情動行動の可塑的制御に関与する可能性を強く支持する。

〔研究協力者：渡部文子、高橋由香里、佐藤優、杉村弥恵、宮沢祐太、杉本真理子〕

痛みによる不快情動生成の脳内メカニズム

南 雅文

北海道大学 薬学研究院 薬理学研究室

痛みは、侵害刺激が加わった場所とその強さの認知に関わる感覚的成分と侵害受容に伴う不安、嫌悪、抑うつ、恐怖などの負の情動（以下、不快情動と呼ぶ）の生起に関わる情動的成分からなる。痛みによる不快情動は、生体警告系としての痛みの生理的役割にとって重要であるが、慢性疼痛では、痛みにより引き起こされる不安、抑うつ、恐怖などの不快情動が、患者の QOL を著しく低下させるだけでなく、精神疾患・情動障害の引き金ともなり、また、そのような精神状態が痛みをさらに悪化させるという悪循環をも生じさせる。しかしながら、慢性疼痛による情動機構の可塑的変化のメカニズムはおろか、痛みによる不快情動生成の神経機構についてもほとんどわかっていないのが現状である。

我々は、痛みによる不快情動生成機構について、「extended amygdala」を構成する脳領域である分界条床核に着目して研究を進めている。昨年の本研究会では、背外側分界条床核内 CRF 神経情報伝達の亢進が、痛みによる不快情動生成に関与していることを示す研究結果を報告している。本研究会では、背外側分界条床核内 NPY 神経情報伝達が痛みおよび CRF による不快情動生成を抑制することを示すとともに、背外側分界条床核内神経細胞に対する CRF と NPY の作用を検討した電気生理学的解析のデータを示し、痛みによる不快情動生成のメカニズムについて論じたい。

味覚嫌悪学習による嗜好性変化とその中枢メカニズム

乾 賢・志村 剛

大阪大学 人間科学研究科 行動生理学

味覚は、食物摂取行動において、口腔内に入れた物質を体内に取り込むか、忌避するか、最終的な判断を下すための手がかりとなる。食物が呈する味は、甘味、塩味、酸味、苦味、うま味という5つの基本味によって構成されている。これらのうち、甘味、塩味、うま味は糖類、ミネラル、アミノ酸の存在を示すシグナルとして機能する。ヒトや多くの動物にとって、これらの味覚は快刺激であり、食物摂取を促進する。一方、酸味と苦味は腐敗物と毒物が呈する不快な刺激である。そのため、ヒトや動物は酸味や苦味を忌避する傾向にある。これらの味覚に対する好み（味覚嗜好性）は生得的なものであることが、ヒトを含む霊長類、サル、げっ歯類などで確認されている。

生得的な味覚嗜好性は可塑的なものであることが、一般的に知られている。例えば、子供は苦いコーヒーを飲むことができないが、大人は好んで摂取する。このような味覚嗜好性の変化とその原因は多様であるが、最も典型的な現象の一つに、味覚嫌悪学習（conditioned taste aversion, CTA）がある。ヒトや動物が食物摂取後に体調不良を経験すると、その食物の味に対する嫌悪を獲得する。このCTAによって味覚に対する嗜好性が「好ましい（快）」から「嫌い（不快）」へと変化する。我々はこのCTAによる味覚嗜好性の変化の中枢メカニズムを、ラットを用いた実験によって解明しようとしている。

数多くのCTAに関する先行研究によって、脳内味覚伝導路に沿って存在する脳部位（結合腕傍核、扁桃体、大脳皮質味覚野）の可塑的変化がCTAの成立に必須であることが示されている。しかし、これらの脳部位の関与だけではCTAにおける味覚嗜好性の変化を十分に説明することができない。そこで我々は、嗜好性に基づく摂取行動の神経基盤として注目されている脳内報酬系に着目している。脳内報酬系の一部である、側坐核から腹側淡蒼球への神経連絡の役割を、行動薬理学的手法やMRIを用いたイメージング法を用いて調べた。本研究会ではこれらの一連の研究成果について紹介する。また最近、扁桃体基底外側核から側坐核、分界条床核、扁桃体中心核への遠心性投射路がCTAに関与していることを示唆する実験結果を得たので、併せて報告したい。

嗅覚入力が誘発する先天的な冷たい恐怖と後天的な温かい恐怖

小早川 高

(公財)大阪バイオサイエンス研究所

近年、光遺伝学やイメージングなどの技術進歩により、特異的な神経回路が情動や行動制御に果たす役割を解明することが可能になってきた。その一方で、情動や行動を特異的に誘発する方法や計測する技術に関しては旧来の手法に頼るという状況が続いている。私たちは、人工化合物ライブラリーのスクリーニングを実施することで、特定の化学構造ルールを満たす一連の匂い分子「恐怖臭」によって極めて強力な先天的恐怖情動が誘発されることを初めて解明した。既知の自然物に由来する匂い分子では Freezing 行動を伴わない弱い恐怖情動反応しか誘発できなかったが、恐怖臭の発見により様々な強度で定量的に恐怖情動反応を誘発する技術が確立された。恐怖臭を用いて誘発した先天的恐怖と、電気ショックや LiCl の腹腔注射を匂い分子と関連学習させることで誘発した後天的な恐怖は Freezing 行動の誘発レベルやストレスホルモンの血中濃度などの既知の恐怖指標を用いて比較する限りは同等レベルと評価され区別できない。しかし、繰り返しの感覚刺激によって後天的恐怖では馴化が起こるが、先天的恐怖では逆に強化が見られるという明確な相違点が存在した。先天的と後天的な恐怖を区別して計測する新たな恐怖指標を探索した。その結果、同等レベルの Freezing を示す個体であっても、先天的恐怖においてのみ体表面と体深部温度の3℃もの同時低下と心拍数の急速な半減という極めて強力な生理応答が誘発されることが明らかになった。

全脳活性化マッピング法と特異的な脳領域の薬理阻害実験により、先天的と後天的な恐怖の違いを表現する脳領域と、先天的な恐怖の強度を表現する脳領域が存在することが明らかになった。恐怖臭によって誘発される強力な先天的恐怖は、扁桃体中心核-PAG 経路に加え、線条体、中隔、大脳皮質などを含む広範な脳領域の神経活動によって制御されることが示唆された。向精神薬に対する応答特異性の解析結果から、恐怖臭による先天的な恐怖を制御する分子ターゲットとヒトの恐怖に関連する精神状態を制御する分子ターゲットの共通性も明らかになった。以上の結果から、哺乳類の脳には先天的な冷たい恐怖と後天的な温かい恐怖の少なくとも2種類の異なる恐怖モードが存在することが示唆される。恐怖臭と多次元情動測定法や全脳活性化マッピングを活用した最新の研究成果について報告する。

モノアミンが制御する線虫の記憶学習行動とその神経回路

森 郁恵

名古屋大学大学院理学研究科 生命理学専攻 分子神経生物学グループ

行動は、過去の経験に基づく記憶と、その記憶に付帯する情動によって規定されると考えられる。記憶または情動のそれぞれを担う分子機構は明らかになりつつあるが、情動に基づいて記憶がどのように行動に反映されるかは未だ不明な点が多い。線虫 *C. elegans* は飼育温度を記憶し、飼育環境の変化（快・不快情報）に基づいて行動を変化させる。我々の研究グループでは、これまでに、セロトニン、オクトパミンなどのモノアミンが快・不快情報の伝達・統合に関与していることを明らかにした。このことは、モノアミンによる情動行動の制御が、哺乳動物から線虫に至るまで進化的に保存されていることを示唆する。また、線虫の主要な温度受容ニューロンは温度を受容するだけでなく、温度記憶を形成することを示した。この単一細胞による温度記憶は快・不快情報に関わらず形成されることがわかった。これらは、温度受容細胞における記憶情報が、飼育環境の変化によらず常に神経回路上に想起されることを示唆する。また、記憶情報は、下流の介在ニューロンに伝達される際に、モノアミンの入力に依存して異なる様式で処理されることで、飼育環境の変化に応答した行動変化が実現すると考えられる。さらに、この単一細胞による温度記憶には **CaMK (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase)** の線虫ホモログをコードする *cmk-1* 遺伝子などのリン酸化酵素が重要な役割をしていることが明らかになってきた。現在、これらの温度記憶を制御するリン酸化酵素の基質を同定するために、名古屋大学医学系研究科貝淵研究室と共同で、リン酸化プロテオミクスによる基質の同定を試みている。本研究によって、モノアミンによる情動入力 が神経回路上でどのように記憶情報処理を制御するか、また単一細胞での **CMK-1** リン酸化酵素を介した記憶のメカニズムが明らかにされると期待される

情動記憶の脳内表現と表出の制御

京都大学 白眉センター 松尾 直毅

記憶情報は脳内のどこで、どのように保持されているのであろうか？という記憶痕跡に関わる疑問は長年にわたる脳神経科学の基本的な重要課題である。これまでに immediate-early genes (IEGs) の神経活動依存的な発現を利用した活動マッピングや、*in vivo* ユニット記録などの研究から、記憶と相関を示す細胞集団の存在が示唆されている。演者らも IEGs のひとつ *c-fos* 遺伝子のプロモーターとテトラサイクリン誘導発現系を活用したトランスジェニックマウスの開発を行い、脳の各階層における記憶痕跡の可視化とその解析を行ってきた。

記憶と特定の機能的細胞集団の間の因果関係を実証するためには、これらの機能的細胞集団の活動を選択的に抑制もしくは賦活化することにより、記憶の想起が阻害される、もしくは人為的に再生されることを動物個体レベルで直接検証することが必要である。そこで本講演では、演者らのテタヌス毒素によるシナプス伝達遮断や DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug) システムを用いたアプローチについて紹介し、情動記憶の脳内表現とその表出の制御について議論を交わしたい。

The habenula acts as the switchboard in fear response and aggression

**Hitoshi Okamoto MD, PhD (RIKEN Brain Science Inst.,
hitoshi@brain.riken.jp)**

The habenula (Hb) is an evolutionarily conserved diencephalic structure that acts as a relay nucleus connecting the limbic forebrain with the brain stem monoaminergic systems. In mammals, the Hb is subdivided into medial and lateral regions (MHb and LHb, respectively). We recently discovered that the dorsal and ventral Hb (dHb and vHb) of zebrafish correspond respectively to the MHb and LHb of mammals. In mammals, the LHb is activated by receiving the unpredictable aversive stimuli, and represses the activity of dopaminergic and serotonergic neurons. We established the transgenic zebrafish in which the neural transmission from the vHb is specifically inhibited. The active avoidance learning was specifically impaired, demonstrating the essential role of the vHb in the aversive learning.

The functions of the MHb in mammals have long remained ambiguous. Recently, we demonstrated in zebrafish that the lateral subnuclei of the dorsal habenula (dHbL) are asymmetrically connected with the dorsal and intermediate parts of the interpeduncular nucleus (d/iPN). This pathway further projects to the region containing the equivalents of the dorsal raphe, the periaqueductal gray, and the dorsal tegmental nuclei. Specific silencing of the dHbL-d/iPN pathway rendered animals extraordinarily prone to freeze in response to conditioned fear stimuli, while the control fish showed only flight behaviors, implicating this pathway in experience-dependent reevaluation of danger during the fear conditioning trials.

We wondered whether the same capacity of this pathway is utilized in case of fighting between two males which have become territorial after isolation, because constant reevaluation of the opponent's strength is necessary during fight until the dominant winner and subordinate loser is ultimately determined. In wild-type zebrafish, it is reported that previous winning experience remarkably increases the probability of winning a subsequent contest. However, this experience-dependent behavior was not found in dHbL-silenced fish. Most of the dHbL-silenced winners of the first interaction lost the second interaction against a naive dHbL-silenced fish, suggesting the role of the dHbL-d/iPN pathway in accumulation of confidence upon victory in fight.

恐怖記憶制御のマイロエンドフェノタイプ

喜田 聡

(東京農業大学応用生物科学部)

記憶は不安定な短期記憶から遺伝子発現依存的な「記憶固定化」のプロセスを経て安定な長期記憶へと移行する。さらに、記憶が想起されると、短期記憶と同様に不安定な状態に戻り、再び安定化されて貯蔵されるためには、固定化と類似した「再固定化」が必要とされる。また、恐怖記憶の場合、記憶が想起される時間が長くなると、恐怖記憶を軽減する「消去」が誘導される。我々は、恐怖条件付け文脈課題及び受動的回避反応課題を用いて、想起後の恐怖記憶制御プロセスの意義とそのメカニズムの解析を進めている。

受動的回避反応課題ではマウスが明箱から暗箱に移動すると電気ショックを受け、暗箱に対する恐怖記憶を形成する。従って、マウスを再度明箱に入れた場合には、恐怖記憶は想起されるものの、恐怖記憶消去は誘導されず、暗箱に移動して、電気ショックを受けない場合にのみ消去が誘導される。従って、この課題では、再固定化と消去を区別して解析できるメリットがある。我々は、受動的回避反応課題では、マウスを明箱に戻して、記憶再固定化を誘導すると海馬、扁桃体、前頭前野における遺伝子発現を経て恐怖記憶が強化されることを明らかにした。さらに、マウスが暗箱に滞在すると、扁桃体、前頭前野における遺伝子発現を経て恐怖記憶消去が誘導されることを明らかにした。現在、これら遺伝子発現が誘導されるニューロン集団の生化学的な性状解析を行っており、これらニューロンにおいて遺伝子発現ばかりではなく、プロテオソーム依存的タンパク質分解も活性化されることが明らかとなっている。発表では、このような情動記憶を制御するニューロン集団に関して議論する。

「情動の制御機構を解明するための神経情報基盤の構築」 脳プロ課題Gの活動

名古屋大学医学系研究科 貝淵弘三

快・不快、恐怖などの情動はモノアミン系神経により制御されていることが知られており、モノアミン系神経による報酬系は線虫からヒトまで幅広く保存されています。モノアミンやグルタミン酸の細胞内シグナルの一部が明らかになりつつありますが、情動に関連する細胞内シグナルについては不明な点が多く残っています。脳科学研究推進プログラム（脳プロ）の課題Gでは、情動の制御や記憶機構を理解するための情報基盤を構築することを目的とし、関連する神経回路の動作原理を制御するメカニズムの一端を明らかにすることを目標としています。そのため、神経回路機能解析、プロテオミクス、コンピューテーションの3つのグループが連携し、データ駆動型の研究を遂行しています。神経回路機能解析グループは、線虫から哺乳類までの各モデル生物における情動・意思決定の回路の特徴を抽出し、シナプスレベルでの情報の統合が、どのように行われているかを明らかにすることを目指しています。プロテオミクスグループは、快感や恐怖を生じる際、マウスの側坐核や扁桃体などの特定の神経核で起こるリン酸化反応を網羅的に解析し、情動制御に関わるシグナル伝達経路を特定します。これらのシグナル伝達経路の神経細胞機能や神経回路の動作・再編における役割を明らかにしようとしています。コンピューテーショングループは他のグループと共同して、リン酸化プロテオミクスのデータベースを構築しつつあります。さらに、得られたシグナル伝達系を既知のものと統合し、報酬予測、恐怖条件付けなど情動制御に関わる細胞機能を予測しうるモデルの作成を試みています。得られたデータベースは脳科学コミュニティに幅広く貢献するものと考えています。本研究会では、課題Gの活動を紹介するとともに、リン酸化データベースの現状についてお話したいと思います。