

「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」
平成 16 年度採択研究代表者

西条 寿夫

富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学・教授

情動発達とその障害発症機構の解明

1. 研究実施の概要

【研究のねらい】

情動機能の発達・成熟は、ヒトでは思春期まで継続することが示唆されている。本チームでは、情動発達および情動学習・記憶の神経機構を、情動発現および社会的認知機能の中核である大脳辺縁系（扁桃体、海馬体、視床背内側核、島皮質）やその関連領域（脳幹、視床および大脳基底核）および前頭葉を中心に、動物およびヒトを用いて分子・遺伝子から細胞（ニューロンの種々の刺激に対する応答特性）・システム（脳領域と行動特性の相関）レベルで総合的に解明することを目的とする。

【研究の進捗状況】

乳幼児では、社会生活における体験（人間間の相互作用や目と目を合わせるアイコンタクトなど）により情動や社会的認知機能を発達させていくことが示唆されている。サル扁桃体の顔に選択的に応答する顔ニューロンを解析した結果、1) 実生活で関わりのある人物の表情に対してより識別的に応答する、2) 視線方向と顔方向に識別的に応答し、さらに視線方向に対する応答が顔方向に影響される、3) アイコンタクトのある顔画像に強く応答することなどが明らかになり、扁桃体が乳幼児における脳発達に重要であることが示唆された。また、サル、ラットまたはマウスの上丘、側坐核、海馬体、視床枕、視床背内側核、島皮質、前頭葉などからニューロン活動を記録中であり、社会的刺激（表情、視線）の認知や報酬学習に関与することが明らかにされつつある。一方、遺伝子レベルでは、物質機構を明らかにするため、扁桃体や前頭葉に選択的な種々の受容体あるいはシナプス関連タンパクの遺伝子操作マウスを作製しており、現在行動解析中である。ヒトでは、健常者を用いて乳児から成人までの脳体積を横断的に比較した結果、灰白質は思春期以降に減少したが、白質は思春期以降も増大した。逆に、扁桃体および海馬体は思春期において体積が増大し、それは男子でより顕著であった。一方、統合失調症患者では、海馬体と扁桃体の体積増大がなく、前頭葉がより

萎縮していた。

[今後の展望]

情動発達および情動学習・記憶の神経機構として、1) 扁桃体など皮質下核は生後早期から活動を開始し、ニューロンの応答特性が社会行動を通じて繰り返し刺激を受けることで高まって行く、2) 前頭葉など大脳皮質ニューロンは、社会行動における自己および他者の行動結果(経験)から応答性を獲得していく、3) NMDA、血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)、DNAメチル化関連遺伝子(ATRX 遺伝子)、ドパミン、およびアデノシン受容体などはこれらの神経機構に重要な役割を果たしている、4) ヒトでは大脳辺縁系および前頭葉は少なくとも思春期までダイナミックに変化(成熟)していくことなどを明らかにしていく。さらに、これらメカニズムの障害により様々な行動・情動障害が発症することを明らかにし、治療法開発に貢献したい。

2. 研究実施内容

[研究の目的]

本研究では、情動発達および情動学習・記憶の神経機構ならびにその異常発症機構を、情動発現および社会的認知機能の中枢である大脳辺縁系(辺縁系)を中心に、分子・遺伝子(種々の受容体、DNAメチル化機構、シナプス形成機構などニューロンの機能制御に関与する分子・遺伝子機構)から細胞(ニューロンの種々の刺激に対する応答特性)・システム(脳領域と行動特性の相関)レベルで総合的に解明する。

[研究方法]

1. 動物を用いた研究

1. 覚醒行動下の正常動物(ラット、サル)からニューロン活動を記録し、辺縁系の機能(情動学習における刺激応答性および学習による社会的認知機能の発達)を神経生理学的にニューロンレベルで明らかにする。本年度は、とくにサル扁桃体ニューロンの表情と視線方向の様々な組合せ画像に対する応答性、および同ニューロンの短期記憶課題における応答性を解析した。
2. 遺伝子改変マウスにおいては、1) 種々の受容体遺伝子[NMDA受容体、血小板由来増殖因子β受容体(PDGFR-β)]、DNAメチル化関連遺伝子(ATRX 遺伝子)、アデノシン A1 受容体遺伝子等をノックアウト(KO)したモデルマウスを作製して情動機能を解析するとともに、2) すでに系統が確立されている D1 受容体遺伝子 KO マウスを用いて、脳内自己刺激(ICSS)を報酬とする場所移動課題における扁桃体ニューロンの応答性を解析した。
3. 情動発達障害のモデル動物においては、1) 胎生期にストレスを負荷した仔ラットを用いて、生後早期(生後 5-15 日)における運動能力(傾斜板テストにおける反転時間)と成長後(離乳期・思春期)の情動学習能力(能動的回避課題における回避率)との相関を解析した。2)

NMDA 受容体遮断物質(PCP, MK-801)投与動物（統合失調症モデル動物）においては、遺伝子発現、および社会的行動に関連する神経回路とその神経伝達物質を行動薬理的に解析した。

II. ヒトを用いた研究

健常被験者、および統合失調症患者を中心に種々の情動・行動異常を伴う被験者を用いて、MRI による脳の形態学的発達と情動機能を中心とする機能的脳発達過程の相関を解析した。本年度は、とくに統合失調症における扁桃体形態異常の意義を、他の脳部位の発達や形態学的な神経発達の指標との関連から解析した。また、社会的認知機能におけるアイコンタクトの効果を解析するため、健常人に、1)アイコンタクトのある顔画像または同画像から目の部分を消した顔画像、2) 左または右に視線を向けた顔画像、および 3)標的の順で呈示し、できるかぎりすばやくその標的を検出させた(視線追従課題)。さらに同課題中の脳活動(Oxy-Hb 変化量)を、光トポグラフィ（近赤外線分光法: NIRS）装置を用いて解析した。

[研究結果]

I. 動物を用いた研究

1. 正常動物を用いた神経生理学的研究では、1) サル扁桃体ニューロンは、特定の表情と特定の視線方向の組合せに応答すること、また、日常生活で接触のある人物とない人物の顔画像を比較すると、日常生活で接触のある人物の顔画像に対する応答性が高いことが判明した。この結果は、別の人物と別のサルを用いても同様であった。2) 情動的刺激(報酬性および嫌悪性刺激)に応答するサル扁桃体ニューロンのおよそ 1/4 は、短期記憶課題において遅延期にも応答することが判明した。ヒトで前頭葉の実行機能と扁桃体との関係が示唆されているが、本研究結果は同機能における扁桃体の関与をニューロンレベルで示唆するものである。

2. 遺伝子改変マウスにおいては、1) 扁桃体の特定神経核で NMDA 受容体の機能を阻害するため、Cre 活性依存的に、ドミナントネガティブ型 NMDA 受容体サブユニット GluR ζ 1-N598R と EGFP との融合遺伝子を発現するベクターを用いてトランスジェニックマウス系統を作製した。2) in vitro 条件下で、PDGF-B/PDGFR- β が記憶や情動機能に重要な Akt シグナル伝達系の活動を亢進させることを明らかにするとともに、現在、脳が成熟した後に Tamoxifen を投与することにより PDGFR- β 発現抑制を誘導するマウス系統での行動解析も進めている。3) ATRX 遺伝子 KO マウスでは、大脳と海馬体における ATRX タンパク質が 70% 低下し、前頭葉ニューロンでスパインの形態異常(細長い形態)を呈することが明らかになった。4) 攻撃性の亢進を呈するアデノシン A1 受容体欠損マウスを用い、膜電位感受性色素を用いた光学的測定法により、海馬 CA3 から CA1 領域へ至る興奮性シナプス伝達を解析した。その結果、海馬 CA3-CA1 の脱分極性光学応答の閾値が低下し、応答の振幅と持続時間が増強していることが判明した。さらに、野生型マウス(生後 13-25 週令)の扁桃体スライス標本を用い、大脳皮質から扁桃体外側核への入力線維を刺激して、光学測定法により脱分極性応答の伝播を観察した。その結果興奮は、外側核より基底外側核へ広がることを確認した。5) 場所移動課題におけるマウス扁桃体ニューロン活動を解析し、野生型マウスでは興奮性および抑制性報酬予測応答が認められるが、

D1 受容体遺伝子 KO マウスでは、興奮性報酬予測応答が消失していることが判明した。また、これら扁桃体における興奮性および抑制性報酬予測応答は、側坐核ニューロンの応答潜時よりも早いことから、扁桃体から側坐核へ報酬予測の情報が伝達されることが示唆された。

3. 情動発達障害のモデル動物を用いた研究では、1) 胎性期にダイオキシンを負荷した仔ラットを用いて解析し、生後早期の運動発達障害と成長後の情動学習能力の間に負相関（運動障害のある仔ラットでは情動学習障害を呈する）があることが判明した。一方、ヒトの統合失調症患者、および自閉症児も、生後早期に運動発達障害を呈することが示唆されており、本所見は何らかの共通の発症機構が存在することを示唆するものである。2) サルに慢性低容量の PCP (0.3 mg/kg/day, 7ヶ月間)を投与した結果、自発行動(歩行運動、自己グルーミング)の低下、および社会行動(追従行動、グルーミング、マウンティング、アプローチング、近接行動等)の減少が認められ、霊長類を用いた情動障害の動物モデルになると示唆された。3) MK-801 を慢性投与したラットでは、社会行動の減少と異所運動活動の増加が認められた。扁桃体において、mRNA 発現がもともと減少したのは arginine-vasopressin (AVP) 遺伝子であり、もともと増加したのは transthyretin であった。これらの結果は、情動障害(統合失調症)の症状形成における AVP の役割を支持すると考えられた。

11. ヒトを用いた研究

1. 透明中隔腔の出現頻度は統合失調症患者と健常者の間に有意差はなかったが、前後径 6mm 以上の大きな透明中隔腔を有する患者では、持たない患者に比較して、両側の扁桃体と左側の海馬傍回の体積が有意に小さかった。また統合失調症患者では、視床間橋の欠損率が健常者より有意に高く、欠損する患者の両側扁桃体体積は、欠損しない者より有意に小さかった。大きな透明中隔腔、視床間橋の欠損は胎生期の発達障害を示唆するものであるが、統合失調症患者において、これらと扁桃体の体積減少との関連が見出されたことは、扁桃体の形態変化が早期の発達障害に由来することを支持する所見と考えられる。

2. 視線追従課題では、最初にアイコンタクトのある顔画像を呈示した方がアイコンタクトのない顔画像と比較して、視線方向に位置した標的の検出潜時が早いことが判明した。一方、同課題中の背内側前頭前野 (10 野) では Oxy-Hb が低下し、Oxy-Hb 変化量と標的検出潜時は負相関にあることが明らかになった。以上から、アイコンタクトにより前頭前野の注意過程が増強され、検出潜時が短縮することが示唆された。

3. 研究実施体制

(1) 西条グループ

①研究者名:西条 寿夫 (富山大学・医学薬学研究部システム情動科学)

②研究項目:情動発達ならびに情動学習機構の神経生理学的および行動学的解明

(2) 森グループ(遺伝子操作マウスグループ)

- ①研究者名:森 寿(富山大学・医学薬学研究部分子神経科学)
- ②研究項目:情動発達ならびに情動学習の分子機構の解明

(3) 鈴木グループ

- ①研究者名:鈴木 道雄(富山大学医学薬学研究部精神神経科)
- ②研究項目:ヒト脳の形態学および機能的発達と情動発達過程の解明

(4) 関野グループ

- ①研究者名:関野 祐子(東京大学医科学研究所群馬大学院医)
- ②研究項目:情動と記憶の相互作用の生後発達に関する研究ーシナプス機能低下モデル動物を用いた研究

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- Phuon T.H.N., Kimura T., Ho A.S., Ono T., Nishijo H.: Ameliorative effects of a neuroprotective agent, T-817MA, on place learning deficits induced by continuous infusion of amyloid- β peptide (1-40) in rats. *Hippocampus*, 17: 443-455, 2007.
- Tsubota M., Shojyaku H., Hori E., Fujisaka M., Hayashi N., Kurimoto M., Hatakeyama N., Yamazaki M., Nishijo H., Ono T., Yamamoto H., Watanabe Y.: Effects of vestibular nerve section on sound-evoked myogenic potentials in the sternocleidomastoid muscle of monkeys. *Clin. Neurophysiol.*, 118: 1488-1493, 2007.
- Sakai S., Hori E., Umeno K., Kitabayashi N., Ono T., Nishijo H.: Specific acupuncture sensation correlates with EEGs and autonomic changes in human subjects. *Auton. Neurosci.: Basic & Clinical*, 133: 158-169, 2007.
- Shojaku H., Zang L.R., Tsubota M., Fujisaka M., Hori E., Nishijo H., Watanabe Y.: Effects of selective cochlear toxicity and vestibular deafferentation on vestibular evoked myogenic potentials in guinea pigs. *Acta Otolaryngol.*, 127: 430-435, 2007.
- Nishijo M., Kuriwaki J., Hori E., Tawara K., Nakagawa H., Nishijo H.: Effects of maternal exposure to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin on fetal brain growth and motor and behavioral development in offspring rats. *Toxicol. Lett.*, 173: 41-47, 2007.
- Kawagoe T., Tamura R., Uwano T., Asahi T., Nishijo H., Eifuku S., Ono T.: Neural correlates of stimulus-reward association in the rat mediodorsal thalamus. *NeuroReport*, 18 : 683-688, 2007.
- Nishijo H., Hori E., Tazumi T., Ono T.: Neural correlates to both emotion and cognitive

functions in the monkey amygdala. *Behav Brain Res* 188: 14-23, 2008.

- Umeno K, Hori E, Tsubota M, Shojaku H, Miwa T, Nagashima Y, Yada Y, Suzuki T, Taketoshi Ono T, Nishijo H.: Effects of direct Cedrol inhalation into the lower airway on autonomic nervous activity in totally laryngectomized subjects. *Br J Clin Pharmacol* 65: 188-196, 2008
- Takasaki I., Takarada S., Tatsumi S., Yasuda M., Fukuchi M., Tabuchi A., Kondoh T., Tabuchi Y. and Tsuda M.: Extracellular ATP elicits the expression of BDNF exon IV mRNA in rat astrocytes. *GLIA*, in press, 2008.
- Ishimaru N., Tabuchi A., Hara D., Hayashi H., Sugimoto T., Yasuhara M., Shiota J., Tsuda M.: Regulation of neurotrophin-3 gene transcription by Sp3 and Sp4 in neurons. *J. Neurochem.*, 100: 520-531, 2007.
- Takasaki I., Takarada S., Fukuchi M., Yasuda M., Tsuda M., Tabuchi Y.: Identification of genetic networks involved in the cell growth arrest and differentiation of a rat astrocyte cell line RCG-12. *J. Cell. Biochem*, 102: 1472-1485, 2007.
- Yasuda M., Fukuchi M., Tabuchi A., Kawahara M., Tsuneki H., Azuma Y., Chiba Y., Tsuda M.: Robust stimulation of TrkB induces delayed increases in BDNF and Arc mRNA expressions in cultured rat cortical neurons via distinct mechanisms. *J. Neurochem*, 103: 626-636, 2007.
- Tokoro T., Higa Onaga S., Deguchi-Tawarada M., Inoue E., Kitajima I., Ohtsuka T.: Localization of the active zone protein CAST, ELKS, and Piccolo at neuromuscular junctions. *Neuroreport*, 18(4): 313-316, 2007.
- Yao I., Takagi H., Ageta H., Kahyo T., Sato S., Hatanaka K., Fukuda Y., Chiba T., Morone N., Yuasa S., Inokuchi K., Ohtsuka T., MacGregor G.R., Tanaka K., Setou M.: SCRAPPER-dependent Ubiquitination of Active Zone Protein RIM1 Regulates Synaptic Vesicle Release. *Cell*, 130 : 943-957, 2007.
- La S.Rostaing.P., Lechaire J-P., Boudier T., Ohtsuka T., Fejtov A., Kao H-T., Greengard P., Gundelfinger E.D., Triller A., Marty, S.: Three-dimensional architecture of presynaptic terminal cytomatrix. *J. Neurosci*, 27: 6868-6877, 2007.
- Ohii Y., Ishii Y., Haji A., Noguchi S., Sasaoka T., Fujimori T., Nabeshima YI., Sasahara M., Hattori Y.: Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB inhibits AMPA receptor-mediated synaptic transmission via PDGF receptor-beta in murine nucleus tractus solitarius. *Brain Res*, 85: 1159-77, 2007.
- Umemura K., Kato I., Hirashima Y., Ishii Y., Inoue T., Aoki J., Kono N., Oya T., Hayashi N., Hamada H., Endo S., Oda M., Arai H., Kinouchi H., Hiraga K.: Neuroprotective Role of Transgenic PAF-Acetylhydrolase II in Mouse Models of Focal Cerebral Ischemia. *Stroke*, 38(3): 1063-8, 2007.
- Zheng L., Ishii Y., Oya T., Tokunaga A., Hamashima T., Ishizawa S., Sasahara M.: Neuroprotection of PDGF-B against oxidative stress via the P13K/Akt signal. *Neuroscience*

Research, 58(1): S150, 2007.

- Higa S., Tokoro T., Inoue E., Kitajima I., Ohtsuka T.: The active zone protein CAST directly associates with ligand of Numb protein X. *Biochem Biophys Res Commun*, 354(3): 686-692, 2007.
- Motomura H., Niimi H., Sugimori K., Ohtsuka T., Kimura T., Kitajima I.: Gas6, a new regulator of chondrogenic differentiation from mesenchymal cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 357(4): 997-1003, 2007.
- Watanabe F., Miyazaki T., Takeuchi T., Fukaya M., Nomura T., Noguchi S., Mori H., Sakimura K., Watanabe M., Mishina M.: Effects of FAK ablation on cerebellar foliation, Bergmann glia positioning and climbing fiber territory on Purkinje cells. *Eur J Neurosci*, 27 (4): 836-854, 2008.
- Kawasaki Y., Sumiyoshi T., Higuchi Y., Ito T., Takeuchi M., Kurachi M.: Voxel-based analysis of P300 electrophysiological topography associated with positive and negative symptoms of schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 94: 164-171, 2007.
- Kawasaki Y., Suzuki M., Kherif F., Takahashi T., Zhou S.-Y., Nakamura K., Matsui M., Sumiyoshi T., Seto H., Kurachi M.: Multivariate voxel-based morphometry successfully differentiates schizophrenia patients from healthy controls. *Neuroimage*, 34: 235-242, 2007.
- Matsui M., Arai H., Yonezawa M., Tanaka K., Kurachi M.: Influence of instruction on the Japanese Verbal Learning Test in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 90: 366-367, 2007.
- Matsui M., Sumiyoshi T., Abe R., Kato K., Yuuki H., Kurachi M.: Impairment of story memory organization in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.*, 61: 437-40, 2007. Corrigenda: *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 61 (5), 580, 2007.
- Matsui M., Yuuki H., Kato K., Takeuchi A., Nishiyama S., Bilker W., Kurachi M.: Schizotypal disorder and schizophrenia: A profile analysis of neuropsychological functioning in Japanese patients. *J. Int. Neuropsychol. Soc.*, 13: 672-682, 2007.
- Matsui M., Sumiyoshi T., Arai H., Higuchi Y., Kurachi M.: Cognitive functioning related to quality of life in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 32: 280-287, 2008.
- Sumiyoshi T., Higuchi Y., Matsui M., Arai H., Takamiya C., Meltzer H.Y. and Kurachi M.: Effective adjunctive use of tandospirone with perospirone for enhancing verbal memory deficits and quality of life in schizophrenia. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 31: 965-967, 2007.
- Takahashi T., Suzuki M., Tanino R., Zhou S.Y., Hagino H., Niu L., Kawasaki Y., Seto H., and Kurachi M.: Volume reduction of the left planum temporale gray matter associated with long duration of untreated psychosis in schizophrenia: a preliminary report. *Psychiatry Res.*

- Neuroimaging, 154: 209-219, 2007.
- Takahashi T., Suzuki M., Hagino H., Niu L., Zhou S.Y., Nakamura K., Tanino R., Kawasaki Y., Seto H., and Kurachi M.: Prevalence of large cavum septi pellucidi and its relation to the medial temporal lobe structures in schizophrenia spectrum. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 31: 1235-1241, 2007.
 - Uehara T., Sumiyoshi T., Itoh H., Kurachi M.: Dopamine D1 and D2 receptors regulate extracellular glucose and lactate concentrations in the nucleus accumbens. *Brain Res.*, 1133:193-199, 2007.
 - Uehara T., Sumiyoshi T., Matsuoka T., Itoh H., Kurachi M.: Effects of prefrontal cortex inactivation on behavioral and neurochemical abnormalities in rats with excitotoxic lesions of the entorhinal cortex. *Synapse*, 61: 391-400, 2007.
 - Uehara T., Sumiyoshi T., Itoh H., Kurachi M.: Role of glutamate transporter in the modulation of stress-induced lactate metabolism in the rat brain. *Psychopharmacology*, 195: 297-302, 2007.
 - Hirose Y, Ichida F, Oshima Y, Yoshimura N. Developmental status of young infants with congenital heart disease. *Pediatrics International*, 49: 468-71, 2007.
 - 廣瀬幸美, 宮本千史, 市田露子, 芳村直樹, 大嶋義博: 乳児期に手術を要する児の発達に関する研究—1歳半における発達とその関連要因— *小児保健研究*, 66: 75-82, 2007.
 - 松崎多千代, 松井三枝, 中澤潤, 市田露子, 八木原俊克: 先天性心疾患児の高次脳機能評価としてのベイリー乳幼児発達尺度導入の試み. *脳と発達*, 2007.
 - Jhaveri K.A., Reichensperger J., Toth L.A., Sekino Y., Ramkumar V.: Reduced basal and lipopolysaccharide-stimulated adenosine A1 receptor expression in the brain of nuclear factor-kappaB p50^{-/-} mice. *Neurosci*, 146: 415-426, 2007.
 - Kato K., Sekino Y., Takahashi H., Yasuda H., Shirao T.: “Increase of AMPA receptors-mediated miniature EPSC amplitude after chronic NMDA receptor blockade in cultured hippocampal neurons” *Neurosci. Lett*, 418: 4-8 2007.
 - Tabata T., Kawakami D., Hashimoto K., Kassai H., Yoshida T., Hashimotodani Y., Fredholm B.B., Sekino Y., Aiba A., Kano M.: G protein-independent neuromodulatory action of adenosine on metabotropic glutamate signalling in mouse cerebellar Purkinje cells. *J. Physiol*, 581: 693-708, 2007.
 - Kobayashi C., Aoki C., Kojima N., Yamazaki H., Shirao T.: “Drebrin A content correlates with spine head size in the adult mouse cerebral cortex” *J. Comp. Neurol*, 503: 618-626, 2007.
 - Aoki C., Mahadomrongkul V., Fujisawa S., Habersat R., Shirao T.: “Chemical and morphological alterations of spines within the hippocampus and entorhinal cortex precedes the onset of Alzheimer's disease pathology in double knock-in mice” *J. Comp. Neurol*, 505: 352-362, 2007.

(2) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数:0 件(CREST 研究期間累積件数:1 件)