

2006年7月28日
独立行政法人 理化学研究所

マウスの不安行動を制御する大脳内の仕組みの一端を解明

- 大脳皮質でセロトニン信号を伝達する受容体の一つが関与 -

最近、馴染みの言葉になってきた「セロトニン」。行動の動機付けや快感時に神経細胞から分泌される「ドーパミン」や、恐れや驚きなど不快時に分泌される「ノルアドレナリン」と同じ神経伝達物質の一つです。セロトニンの働きが阻害されると、ドーパミンやノルアドレナリンなどによる情報伝達をコントロールすることができず、“うつ”などの精神症状や不安行動を引き起こすと考えられています。しかし、脳内でセロトニンがどのように関与し、このような症状を引き起こすかは、よく分かっていませんでした。

理研脳科学総合研究センター行動遺伝学技術開発チームは、コロンビア大学を中心とする国際研究チームのとして、この不安や“うつ”関連行動に関する脳内での作用メカニズムを明らかにすることに取り組みました。同チームが開発した技術を使って、知覚や思考、記憶などをつかさどる大脳皮質におけるセロトニンの果たす役割を探る実験を行いました。その結果、大脳皮質の神経細胞においてセロトニンの信号を受け止め、次の神経細胞に送る「5-HT_{2A} 受容体」が、不安行動に深く関与していることを発見しました。

セロトニンは、複数の受容体を介して多くの生命現象をコントロールしています。不安行動を制御する仕組みの一部が明らかになったことにより、不安や情動障害などの薬物治療に対して、より有効性の高い方法を確立できる可能性が期待されます。



(図) マウスの不安行動を観測する高架式十字迷路

2006年7月28日
独立行政法人 理化学研究所

マウスの不安行動を制御する大脳内の仕組みの一端を解明

- 大脳皮質でセロトニン信号を伝達する受容体の一つが関与 -

◇ポイント◇

- ・セロトニン信号を伝達する受容体の機能を欠損及び回復できるマウスを作成
- ・大脳皮質におけるセロトニン受容体の一つが不安行動を制御していることを解明
- ・不安や情動障害などの薬物治療に、より有効性の高い方法を確立できる可能性

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、コロンビア大学を中心とする国際研究チーム*として、マウスの不安行動を制御する大脳内の仕組みの一端を解明しました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）行動遺伝学技術開発チームの糸原重美チームリーダーらによる研究成果です。

脳内の情報伝達に重要な役割を果たすセロトニン（5-HT）は、行動の動機付けや快感時に神経細胞から分泌されるドーパミンや、恐れや驚きなど不快時に分泌されるノルアドレナリンと同じ神経伝達物質の一つです。セロトニンの働きが阻害されると、ドーパミンやノルアドレナリンなどによる情報伝達をコントロールすることができず、精神状態が不安定になり、“うつ”などの精神症状や不安行動を引き起こすと考えられています。しかしながら、脳内のどの部位で、どのようにセロトニンが関与することにより、このような症状を引き起こすかは、よく分かっていませんでした。

国際研究チームでは、不安や“うつ”関連行動に関する脳内での作用メカニズムを明らかにするため、神経細胞から分泌されたセロトニンを、次の神経細胞に伝える役割を果たす10数種のセロトニン受容体*1のうち、その1つ（5-HT2A）を全身で働かなくしたマウスを作成し、実験を行いました。このマウスに、不安や“うつ”関連行動を客観的に解析する「高架式十字迷路」などの課題を与えたところ、1つのリスク（不安）に対して、1つの選択肢しかない場合には、通常のマウスと違いが現れませんでした。一方、2つ以上の選択肢があった場合、通常のマウスであれば葛藤の上、より低いリスク（不安）を選択しますが、5-HT2A受容体を欠損させたマウスでは、葛藤もせず、高いリスクを高頻度を選択しました。さらに、行動遺伝学技術開発チームが開発した技術を用い、マウスの大脳皮質*2だけで5-HT2A受容体の機能を回復させたところ、通常のマウスと同じ行動を示すようになりました。これらの結果から、大脳皮質における5-HT2A受容体が、セロトニンの分泌にともなう、葛藤的不安行動に深く関与していることが分かりました。

セロトニンは、複数の受容体を介して多くの生命現象をコントロールしています。今回、不安行動を制御する仕組みの一端が明らかになったことにより、不安や情動障害などの薬物治療に対して、より有効性の高い方法を確立できる可能性があります。

本研究成果は、米国の科学雑誌『Science（サイエンス）』7月28日号で発表されます。

*コロンビア大学、マウント・サイナイ医科大学、エール大学、コーネル大学（米国）、ローザンヌ大学（スイス）、理化学研究所脳科学総合研究センター

1. 背景

セロトニンは、ヒトを含む動植物界に広く存在する化学物質で、必須アミノ酸であるトリプトファンから生成されます。ヒトの体で生成されるセロトニンの多くは、腸などの消化管の運動の際に用いられますが、残りの一部は、脳など中枢神経系における神経伝達物質として存在し、多様な生理現象を制御しています。特に脳内で作用するセロトニンは、“うつ”などの精神異常や不安定行動に深く関与していると考えられており、行動の動機付けや快感時に分泌される神経伝達物質の一つドーパミンや、不快時に分泌されるノルアドレナリンをコントロールし、不安や興奮を静める働きがあることも知られています。

神経伝達物質であるセロトニンの情報が、次の神経細胞に伝わる際には、セロトニンが作用する受容体が必要です。このセロトニン受容体は10種類以上あり、それぞれの受容体は、生体内の違った機能をコントロールしていると考えられていますが、個々の受容体の機能分担についてはよく分かっていません。

不安行動に重要な役割を担う脳内の部位としては、大脳皮質、腹側線条体、海馬および扁桃体が知られています。これらの領域では、セロトニン受容体の一つである5-HT_{2A}受容体が多く発現しており、5-HT_{2A}受容体を介した情報伝達が、不安行動に関与していると考えられていました。このことから、5-HT_{2A}受容体の機能を欠損させたマウスを作成し、5-HT_{2A}受容体と不安行動と関連を探ることとしました。

2. 研究手法

(1) 5-HT_{2A}受容体欠損及び大脳皮質だけで受容体の機能が回復するマウスの作成
5-HT_{2A}受容体の欠損及び大脳皮質だけで受容体の機能が回復するマウスを作成するために、ES細胞を用いた相同性組み換え法を用いて、5-HT_{2A}受容体をコードするhtr2A遺伝子に可逆的な変異を導入したマウスを作製しました。遺伝子から転写されるメッセンジャーRNAの上流端には、タンパク質をコードしない5'非翻訳領域があります。今回作成したマウスは、これに相当する部分にloxP配列（Cre組換え酵素によって認識されるファージ由来の塩基配列）ではさんだ“ストップ配列”が挿入されています。この挿入は、htr2A遺伝子の転写、つまりメッセンジャーRNAの合成をストップさせます。したがって、下流のタンパク質の情報が転写されません。

この変異をホモに持つマウスは、5-HT_{2A}受容体をすべての細胞で欠損します。このマウスに大脳皮質特異的Cre発現マウス（Emx1-Cre）を交配すると、大脳皮質神経細胞では組み換え酵素Creが発現し、その細胞でのみloxP配列ではさまれた“ストップ配列”が除去され、5-HT_{2A}受容体の合成が回復します。それ以外の細胞では、“ストップ配列”が残るため、5-HT_{2A}受容体が欠損したままになります（図1）。

(2) 不安や“うつ”関連行動の解析法

不安や“うつ”関連行動を客観的に解析するためには、一つの解析手法を用いるのではなく、複数の解析手法を用い、得られた結果の信頼度を高める必要があります。また、あらゆる側面から得られた結果の意義を検討しなくてはなりません。

研究チームでは、不安や“うつ”関連行動を解析するため、作成したマウスを、下に掲げる複数の解析手法を用いて、実験を行いました（図 2）。

<“うつ”に関連した行動様式の解析法>

- 強制水泳試験
円筒の水槽に 6 分間泳がせ、後半の 3 分間の非水泳時間の長さを測り、回避意欲の程度を評価します。
- 尾懸垂試験
7 分間、尾を固定してぶら下げ、不動時間の長さを測り、回避意欲の程度を評価します。

<葛藤的な不安行動の解析法>

- オープンフィールド解析
明るく照明した四角の箱の中で 60 分間の移動距離、立ち上がり反応、および場所の嗜好性を評価します。箱の辺縁の不安レベルが低く、中央部では高くなります。
- 明暗箱試験
相互に行き来できる隣り合わせの明暗箱での滞在時間の偏りを 30 分間評価します。明るい箱の不安レベルが高くなります。
- 高架式十字迷路
十字型に交差した高架迷路の X 軸には壁を設け、Y 軸には壁がありません。Y 軸通路の不安レベルが高くなります。5 分間、観察を行います。
- 新奇環境による摂食抑制試験
食餌制限により空腹にした後、新奇環境下で餌を探し出し、食べるまでの時間を評価します。

3. 研究成果とその意義

実験の結果、5-HT_{2A} 受容体欠損マウスは、恐怖の条件付けや“うつ”関連行動に異常を示さないにも関わらず、1つのリスク（不安）に対して、1つの選択肢しかない場合には、通常のマウスと違いがありませんでした。一方、2つ以上の選択肢があった場合、通常野生型マウスであれば、葛藤の上、より低いリスク（不安）を選択しますが、5-HT_{2A} 受容体を欠損させたマウスでは、葛藤もせず、高いリスクを選択するようになりました。

野生型マウスと異なるこの特徴は、大脳皮質でのみ 5-HT_{2A} 受容体の発現を回復させることにより消失し、野生型マウスと同様に高いリスクを避ける行動を示しました。これらの結果は、リスクの高さを評価する能力について、大脳皮質がトップダウン制御するとのモデルを支持する成果です。人を含めた動物がリスクを適切に評価し、高いリスクを避けることは日常生活の中で重要とされる能力です。その一方で、大きな成果を得るためには、あえて高いリスクを冒す事も必要とされます。これをギャンブルとも表現します。つまりリスクは、時と場合によって選び分けなければならないものであることを考えると、この研究結果は興味深いものです。

4. 今後の期待

セロトニン受容体の一つである 5-HT_{1A} 受容体を欠損するマウスでは、不安行動を増す方向に作用することが今までの研究から報告されています。今回、5-HT_{2A} 受容体の欠損マウスでは不安行動を減らす方向に作用することが示されました。

現在、うつ等の治療法に脳内セロトニン濃度を増加もしくは減少させる薬が利用されていますが、その効果は一定ではありません。その一因としては、セロトニン受容体の種類の多さがあげられます。今回、不安行動に関与する脳内の仕組みの一端が明らかになったことにより、不安や情動障害などの薬物治療に対して、より有効性の高い方法を確立できる可能性があります。

また、受容体の機能を分子生物学的なアプローチを用い、脳内の局所ごとに詳細に解析する基礎研究は、今後、有効な治療法開発への道と考えられます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 行動遺伝学技術開発チーム

チームリーダー 糸原 重美

Tel : 048-467-9724 / Fax : 048-467-9725

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 受容体

細胞に存在して、物理・化学的な刺激（情報）を認識して細胞に応答を伝えるタンパク質。

※2 大脳皮質

大脳の表面に広がる神経細胞の灰白質の層。大脳基底核と呼ばれる白質のまわりを覆っている。知覚、思考、記憶など脳の高次機能をつかさどっている。

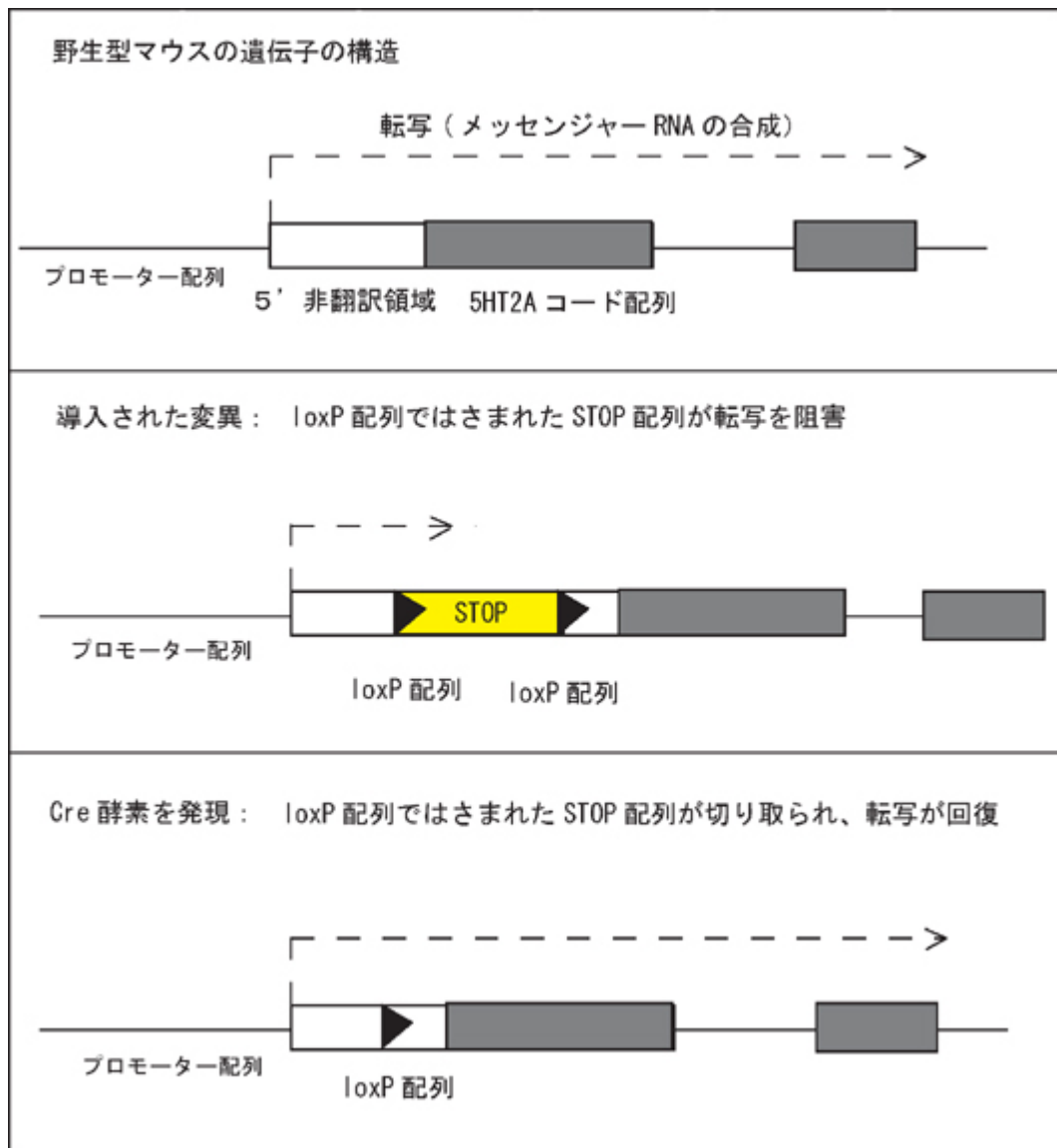


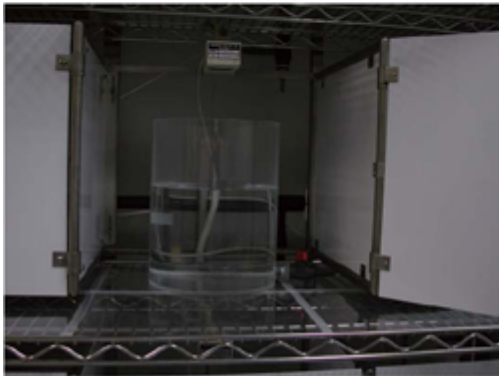
図1 5-HT_{2A} 受容体欠損及び大脳皮質だけで受容体の機能が回復するマウスの作成方法



< オープンフィールド解析 >



< 高架式十字迷路 >



< 強制水泳試験 >



< 尾懸垂試験 >

図2 不安や“うつ”関連行動の解析法（一例）