

【要約】

修士課程優秀論文

青斑核のオレキシン1受容体は手がかり依存的な
恐怖記憶の形成に重要な役割を果たすOrexin Receptor-1 in Locus Coeruleus plays an Important Role in
Cue-Dependent Fear Memory Formation金沢大学大学院医学系研究科分子神経科学・統合生理学
(生理学第二)

征 矢 晋 吾

はじめに

オレキシンAとBは摂食行動を制御する神経ペプチドとして見いだされ、その後、オレキシン産生神経の入出力系の解明により睡眠・覚醒制御やエネルギー恒常性、報酬系などに関わることが示唆されている。オレキシン産生神経は視床下部外側野に限局して存在しており、小脳を除く中枢神経系全域に投射している。特に、睡眠・覚醒制御に関わるモノアミン作動性神経の起始核、青斑核 (LC)、縫線核 (RN) や結節乳頭体核 (TMN)、腹側被蓋野 (VTA) やコリン作動性神経の起始核、外背側被蓋核 (LTD) や脚橋被蓋核 (PPT) に密な投射が見られる¹⁾。オレキシンの受容体である1受容体 (OX1R) および2受容体 (OX2R) も脳内に広範な部位に分布するが、LCではOX1Rのみが発現しているのに対し、TMNではOX2Rのみが発現している²⁾。また、VTAにはOX1Rの強い発現が見られるなど、それぞれ異なる分布で発現することが報告されている。

OX2Rはその遺伝子欠損マウスがヒトのナルコレプシーと酷似した病態をしめすことから、主に睡眠・覚醒の制御に関わることが報告されている。また、オレキシンによる代謝や摂食の制御は特にオレキシン2受容体を介することが示唆されている。一方、OX1Rは恐怖記憶やストレスに関わるLCのノルアドレナリン神経 (LC-NA神経) に豊富に発現しており、OX1Rがこれらの生理機能に関与することが示唆される。しかしオレキシンと記憶に関する報告は非常に少なく、またOX1R、OX2Rが情動記憶にどのような役割を果たすかについてもほとんど分かっていない。

恐怖記憶の評価には2種類の恐怖条件付け試験が知られている。一つは恐怖体験をした場所に再度おかれることで恐怖体験を想起し、すくみ行動を示す「文脈的恐怖条件付け」である。もう一つは「手がかり条件付け」である。音や光、匂いなど本来中性的な条件刺激 (手がかり) と電気刺激などの非条件刺激を組み合わせることで被験動物に暴露し、その後新規環境において条件刺激を提示することで恐怖反応が惹起される。先行研究では薬理的な破壊実験によりオレキシン産生神経が局在する視床下部外側野 (LH) は恐怖記憶に関与しない³⁾ことが報告さ

れているが、一方で、オレキシン神経を特異的に欠損させた結果、文脈に対する恐怖行動が著しく減弱したという報告もある。

OX1Rが豊富に発現しているLC-NA神経は脳の広範囲に投射しており、様々な生理機能に関わる。LC-NA神経は恐怖条件付けによって発火頻度が増加し、細胞興奮のマーカであるc-fosの発現が増加する³⁾。また、LC-NA神経は恐怖記憶の中核である扁桃体に投射している⁴⁾。オレキシン神経は情動や意欲に関わる大脳辺縁系 (扁桃体、海馬など) から入力を受けており、扁桃体からの情動刺激がオレキシン神経を興奮させ、その下流に局在するLCへの興奮性の入力が恐怖記憶の形成に重要な役割を果たすことが考えられる。そこで本研究では、OX1R欠損マウスを用いて恐怖条件付け試験を行い、恐怖記憶の形成におけるOX1Rの役割について検証した。

結 果

恐怖記憶の形成におけるオレキシン受容体の異なる役割

OX1R欠損マウスを用いて、手がかりおよび文脈による恐怖条件付け試験を行い恐怖記憶が正常に形成されるか検討した。また、OX2R欠損マウスに関しても同様の実験を行った。その結果、OX1R欠損マウスでは手がかりおよび文脈のどちらに対しても恐怖の指標となるすくみ行動が減弱していた。一方で、OX2R欠損マウスでは文脈に対してのみすくみ行動のみが減弱した。このことから、オレキシンが恐怖行動の発現に深く関与しており、恐怖条件によって異なる受容体が調節を行っていることが示唆された。

OX1R欠損マウスにおけるLC-NA神経の活性

手がかりおよび文脈に対する恐怖行動がどちらも低下していたOX1R欠損マウスでは、OX1Rが豊富に発現しているLCの神経活動が低下していることが予想される。c-fosを用いてOX1R欠損マウスにおける恐怖記憶想起時のLC-NA神経の活動を検討した結果、OX1R欠損マウスでは手がかりおよび文脈に対する恐怖記憶想起時のLC-NA神経の活動は有意に低下していた。このことから手がかり及び文脈に対する恐怖記憶の想起にはOX1Rを介したLC-NA神経の活性が重要である可能性が示唆された。

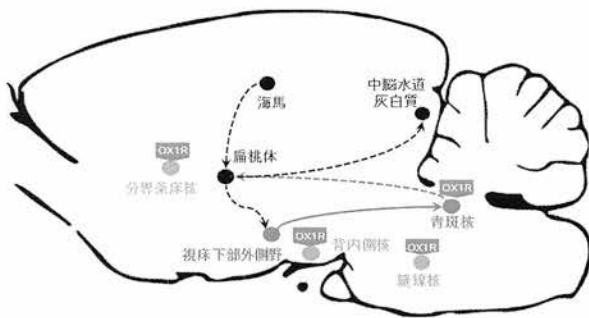


図1. 本研究で想定される神経回路 (赤) とOX1Rを豊富に発現している脳部位 (緑)

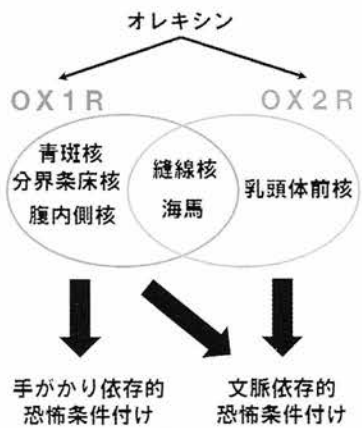


図2. 異なる恐怖条件付けに対するオレキシン受容体の役割を示した想定図

OX1R欠損マウスにおけるLC-NA神経特異的なOX1R発現によるすくみ行動の回復

OX1R欠損マウスのLCにOX1Rをノルアドレナリン神経特異的に発現させた場合、恐怖行動が回復するかどうか検討した。ノルアドレナリン神経特異的にOX1Rを発現させるため、ノルアドレナリン神経特異的なプロモーターであるPR5x8の下でOX1Rを発現する組替えAAVベクターを用いた。この組替えAAVベクターをLCの両側に局所投与し、LC-NA神経特異的にOX1Rを発現させ、その後手がかり及び文脈に対する恐怖条件付けを行った。その結果、文脈に対する恐怖行動に変化は見られなかったが、手がかりによる恐怖行動が回復した。以上のことから、手がかりによる恐怖記憶の想起、または恐怖行動の発現にはOX1Rを介したLCのノルアドレナリン神経の活性化が重要であることが示された。

考 察

恐怖記憶の形成は手がかりによるものと文脈によるものでその神経回路が異なっている。手がかり恐怖条件付けが扁桃体を中心としたものである一方、文脈的恐怖条件付けは海馬と扁桃体が重要な役割を果たす。このことからOX1R欠損マウスにおいては扁桃体の機能が低下しているためであると考えられる。OX1R欠損マウスにおいて扁桃体の活動を検討することで、オレキシンが恐怖記憶のメカニズムにどのような位置づけで関与しているのか明らかにする必要がある。OX1R欠損マウスの扁桃

体の活動が正常であれば、恐怖記憶をすくみ行動として出力する機構に異常がある可能性があり、その機構としてオレキシンとその下流の神経核による新たな神経基盤が想定される。

本研究で注目したLCの他にも外敵から身を守る防衛反応に関わっている視床下部腹内側核 (VMH) や、近年破壊実験により文脈的恐怖条件付けに関わることが報告されている分界条床核 (BNST) などはOX1Rを豊富に発現している (図1)。したがってこれらの神経核がOX1Rを介して音もしくは文脈による恐怖行動の発現に関与している可能性がある。本研究の結果から、手がかりによる恐怖行動と異なり、文脈による恐怖行動はOX1R, OX2R両方のシグナル伝達を必要とすることが示唆される (図2)。縫線核 (DR) はセロトニン神経が密に存在し、OX1RおよびOX2Rを両方発現している神経核である。DRのセロトニン作動性神経系は、内側前頭前野、海馬および扁桃体の神経回路調節に重要であり、情動行動の制御に関与していることが報告されている。また、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) を扁桃体に局所投与した結果、すくみ行動を抑制することも明らかになっている。以上のことから上記に挙げた神経核はオレキシンの下流でOX1RまたはOX2Rを介して恐怖記憶を制御している可能性が考えられる。

結 語

本研究の結果から、オレキシンはOX1R, OX2Rを介して手がかり (音) および文脈に対する恐怖記憶の形成に関与しており、特にLCのノルアドレナリン神経に豊富に発現するOX1Rは手がかりに対する恐怖記憶の想起に重要な役割を果たしていると考えられる。今後、オレキシンシステムを介した恐怖応答の新たなメカニズムの解明が期待される。

参 考 文 献

- 1) Sakurai T (2007) The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nat Rev Neurosci* 8: 171-181
- 2) Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK (2001) Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol* 435: 6-25
- 3) Bush DE, Caparosa EM, Gekker A, Ledoux J (2010) Beta-adrenergic receptors in the lateral nucleus of the amygdala contribute to the acquisition but not the consolidation of auditory fear conditioning. *Front Behav Neurosci* 4: 154
- 4) LeDoux JE, Iwata J, Cicchetti P, Reis DJ (1988) Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J Neurosci* 8: 2517-2529
- 5) Ishida Y, Hashiguchi H, Takeda R, Ishizuka Y, Mitsuyama Y, Kannan H, Nishimori T, Nakahara D (2002) Conditioned-fear stress increases Fos expression in monoaminergic and GABAergic neurons of the locus coeruleus and dorsal raphe nuclei. *Synapse* 45: 46-51



Profile

2011年3月 筑波大学体育専門学群 卒業
 2013年3月 金沢大学大学院医学系研究科 修士課程 修了
 同年4月 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科博士課程 在学中