

視床室傍核でのオキシトシンが恐怖記憶にもたらす影響

奈良県立医科大学 精神医学講座

山室 和彦

<研究背景>

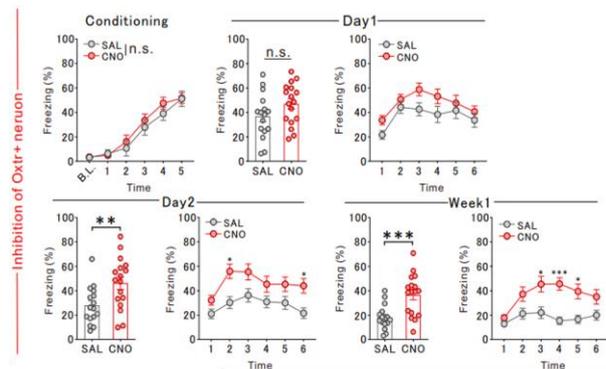
近年、幼少期虐待は本国のみならず、各国で深刻な社会問題となっており、適切かつ有効な環境整備は喫緊の課題である。また、虐待後に自閉スペクトラム症(ASD)症状を呈することも示されている。応募者らは、幼若期の生育環境が様々な精神疾患の病態に関与する前頭前野(mPFC)の機能や構造にどのような影響を与えるのかをマウスおよびヒトを用いて研究してきた(Yamamuro et al, Cereb Cortex, 2018; Makinodan et al, Science, 2012)。応募者らは幼若期隔離マウスの前頭前野-視床回路についての研究を進めたが、mPFCから視床室傍核(PVT)に投射する神経回路が著明に障害され、PVTが社会性に関わっていることを明らかにした(Yamamuro et al. Nature neuroscience, 2020; 内藤記念海外留学助成金および日本学術振興会 海外特別研究員)。また、PVTは社会性だけでなく恐怖記憶にも関わることが報告されているが機序は不明である。そこで、PVTにはオキシトシン受容体(OTR)を持つ細胞が豊富にあり、オキシトシンと恐怖記憶との関連も報告(Penzo et al. Nature, 2015)されているため、幼若期の社会交流の欠如がPVTのOTRに異常を呈し、社会性だけでなく恐怖記憶に関わることを薬理・光遺伝学を用いて明らかにし、病態解明の基盤の確立を目的としている。

<結果>

1. PVTのOxtr+細胞の特異的な抑制による恐怖記憶への影響(Context)

Oxtr creマウスのPVTにAAVを用いてDIO-iDREADDを注入し、PVTのOxtr+細胞特異的にiDREADDを感染させた。注入後、4週間経過した後に、fear conditioningを行った。まず初日はhabituationを行い、ケージや場所、ヒトに慣れさせた。翌日にBaselineでのfreezingを測定し、続いてConditioningを行い、続いてCNO (5mg/kg)を腹腔内注射してその30分後にfreezing (Day1)、翌日もCNO (5mg/kg)を腹腔内注射してその30分後にfreezing (Day2)、その5日後にもCNO (5mg/kg)を腹腔内注射してその30分後にfreezing (Week1)を測定した。

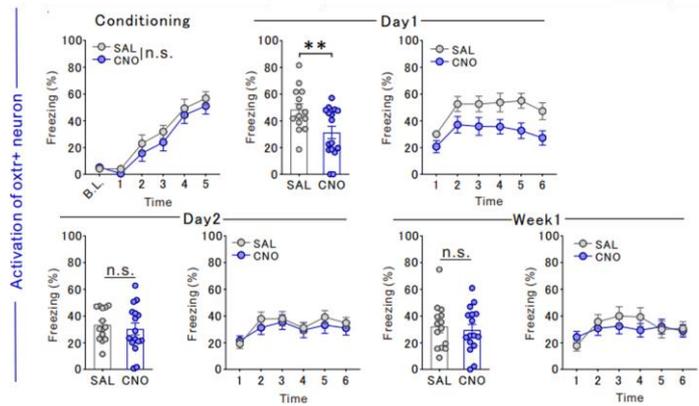
Day 1ではSAL投与群と比較してCNO投与群ではfreezing時間に有意な差を認めなかった。Day2ではSAL群と比較してCNO群ではfreezing時間が有意に増加していた。最後にWeek1でもSAL群と比較してCNO群ではfreezing時間が有意に増加していた。このことから、PVTのOxtr+細胞を特異的に抑制することで恐怖記憶の消去過程が遅延することが分かった(図1)



2. PVTのOxtr+細胞の特異的な活性化による恐怖記憶への影響(Context)

Oxtr creマウスのPVTにAAVを用いてDIO-eDREADDを注入し、PVTのOxtr+細胞特異的にeDREADDを感染さ

せた。注入後、4週間経過した後に、fear conditioningを行った。まず初日はhabituationを行い、ケージや場所、ヒトに慣れさせた。翌日にBaselineでのfreezingを測定し、続いてConditioningを行い、続いてCNO (1mg/kg)を腹腔内注射してその30分後にfreezing (Day1)、翌日もCNO (11mg/kg)を腹腔内注射してその30分後にfreezing (Day2)、その5日後にもCNO (1mg/kg)を腹腔内注射してその30分後にfreezing (Week1)を測定した。



Day1ではSAL投与群と比較してCNO投与群ではfreezing時間が有意に減少した。Day2ではSAL群と比較してCNO群ではfreezing時間に有意な差を認めなかった。最後にWeek1でもSAL群と比較してCNO群ではfreezing時間に有意な差を認めなかった。このことから、PVTのOxtr+細胞を特異的に活性化することで恐怖記憶の消去過程が促進することが分かった(図2)。

3. PVTのOxtr+細胞の特異的な抑制による社会性行動への影響

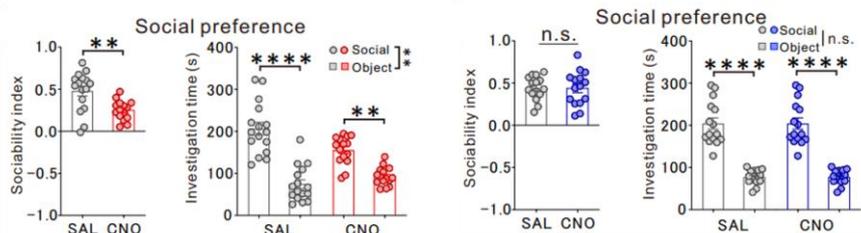
Oxtr creマウスのPVTにAAVを用いてDIO-iDREADDを注入し、PVTのOxtr+細胞特異的にiDREADDを感染させた。注入後、4週間経過した後に、3chamberタスクを行った。まず初日はhabituationを行い、ケージや場所、ヒトに慣れさせた。翌日に、実際の3chamberタスクを行い、社会性行動についての評価を行った。

SAL投与群と比較して、CNO投与群ではSociability scoreが有意に低下していた。一方で、オープンフィールドや高架式十字迷路試験では有意な差はなく、不安や活動量には影響がなかった。このことから、PVTのOxtr+細胞を特異的に抑制することで社会性行動が低下することが分かった(図3)。

4. PVTのOxtr+細胞の特異的な活性化による社会性行動への影響

Oxtr creマウスのPVTにAAVを用いてDIO-eDREADDを注入し、PVTのOxtr+細胞特異的にeDREADDを感染させた。注入後、4週間経過した後に、3chamberタスクを行った。まず初日はhabituationを行い、ケージや場所、ヒトに慣れさせた。翌日に、実際の3chamberタスクを行い、社会性行動についての評価を行った。

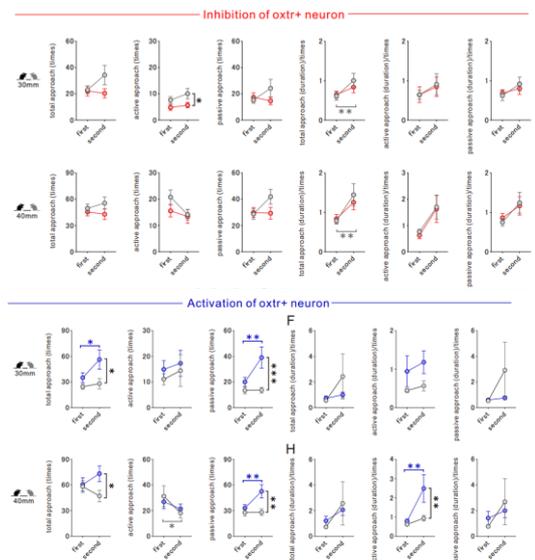
SAL投与群と比較して、CNO投与群ではSociability scoreに明らかな影響を認めなかった。また、オープンフィールドや高架式十字迷路試験では有意な差はなく、不安や活動量には影響がなかった。このことから、PVTのOxtr+細胞を特異的に活性化することで社会性行動には影響をもたらさないことが分かった(図3)。



5. AR-LABOを用いたフリームービングでの社会性行動の評価

Oxtr creマウスのPVTにAAVを用いてDIO-iDREADDおよびDIO-eDREADDを注入し、PVTのOxtr+細胞特異的にiDREADDおよびeDREADDを感染させた。注入後、4週間経過した後に、AR-LABOを用いて社会性行動の評価を行った。

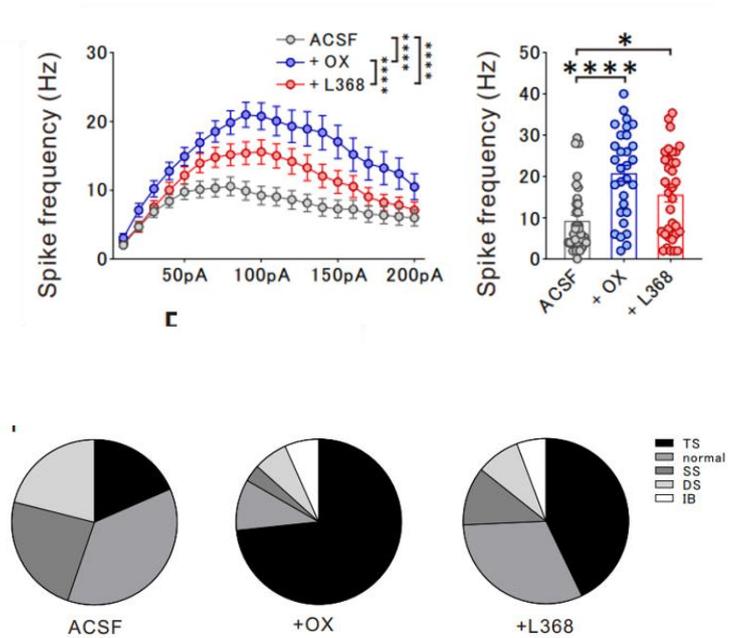
iDREADDを注入したマウスでは、SAL投与群と比較して、CNO投与群ではactiveなアプローチが有意に減少していたが、passiveなアプローチについては有意な差は認めなかった。一方で、eDREADDを注入したマウスでは、SAL投与群と比較して、CNO投与群ではpassiveなアプローチが有意に増加をしたが、一方でactiveなアプローチについては有意な差は認めなかった。このことから、PVTのOxtr+細胞を特異的に抑制することで3chamberタスクと同様に社会性行動が低下することが分かった。また、PVTのOxtr+細胞を特異的に活性化することで3chamberタスクでは見えなかったpassiveなアプローチが増加するという知見を得ることができた(図4)。



6. ホールセルパッチクランプ法によるPVT+細胞のオキシトシニアゴニストおよびアンタゴニストによる挙動

Oxtr creマウスのPVTにDIO-mcherryを注入し、その1週間後にマウスを断頭スライスを作成し、ホールセルパッチクランプ法を用いてvoltage-clampによるsEPSCおよびsIPSCを測定し、current-clampによるaction potentialを測定した。

sEPSCおよびsIPSCについてはfrequencyおよびamplitudeともにオキシトシニアゴニストおよびアンタゴニストの影響の影響は認めなかった。次にaction potentialについては通常のACSFと比較して、オキシトシニアゴニストで最もspike frequencyが有意に増加し、次にオキシトシニアゴニストが次に有意に高かった(図5)。一方でspike amplitudeはこれらの群で有意な差がなかった。過去のPVTでの論文と同様にfiring patternで分類し比較したところ、最もspike frequencyが高いTonic firing patternがオキシトシニアゴニストで最も有意に増えており、次にオキシトシニアゴニストで有意に増加していた。つまり、spike frequencyは全体的に増加しているのではなく、Tonic firing patternが有意に増加した結果であった(図6)。



<考察>

FearについてはPVT全体を抑制した過去の報告(Penzo et al. Nature 2015)とは、逆の結果であった。これについては過去の前頭前野でのOxtr+細胞がソマトスタチン陽性インターニューロンであったと報告されており、インターニューロンを抑制したため過去の報告とは逆の結果となったと考えており、今後PVT+細胞でも同様に細胞種を特定する予定である。社会性行動と恐怖記憶は関連のある行動であり、引き続きPVTでのこれらの行動の病勢整理の解明を進めていく。