

論文の内容の要旨

論文題目

情動伝染を担う神経基盤の解明

氏名 坂口 哲也

【序論】

私たちヒトを含め、一般に動物は他者の行動や表情を観察し、そこから必要に応じて情報を引き出すことにより適切な判断・行動をとることができる。この過程は、相手の情動を認識し共有する能力、すなわち共感により支えられる。共感は自らが危害を被ることなく環境に予備的適応するためのみならず、利他的な集団社会を形成するために重要な脳機能である。この共感の能力が低下する代表的な疾患に、自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder, ASD) がある。ASD は、対人関係の障害や言語障害、固執性を主な症状とする脳機能障害であり、知的障害がないものを含めると、患者数は約 100 人に 1 人に達すると見積もられている。彼らは他者の意図が読み取れないが故に、社会に適応して生きていくのが難しい場合も多い。その一方で、多くの遺伝的素因や環境要因が発症に関与することから、根本的な治療が困難な疾患の一つである。こうした ASD の病態理解の観点からも、共感の調節機構の解明は重要な研究課題である。

共感の強さは常に一定であるわけではなく、受け手の過去の経験に依存して変動する。このことから、自己の経験と他者の観察から得られる情報が統合される仕組みの存在が示唆されるが、その実体は明らかにされていない。本研究では、マウス個体間の情動伝染を共感のモデルとし、行動薬理と生化学的手法を組み合わせることで、その神経基盤と調節機構に迫った。

【結果・考察】

1. 経験に依存したマウス個体間の情動伝染の促進

マウスは恐怖の対象に晒されると、その場で四肢をすくませて無動となる。これは「すくみ反応」と呼ばれる。このすくみ反応の時間を測定することにより、恐怖を定量化することができる。本研究では、2匹のマウスを透明な壁で仕切られた2つの小部屋に入れ、一方のマウス（被ショックマウス）に繰り返し電気ショックを与え、その様子をもう一方のマウス（観察マウス）に観察させた（恐怖観察：図1A）。そして、このとき観察マウスが示したすくみ反応を情動伝染の指標として評価した。その結果、まず観察マウスは被ショックマウスと同一のタイミングですくみ反応を示すことが確認された。また、観察マウスが示すすくみ反応は、観察マウス自身が事前に軽微な電気ショックを経験することにより増大した（図1B）。さらに、事前のショック経験の前に NMDA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストである MK801 を観察マウスに腹腔内投与したところ、すくみ反応の増大は生じなくなった（図1C）。これらの結果から、マウスが情動伝染に基づいて示す恐怖反応は自身の過去の経験によって促進されること、そしてその効果は NMDA 受容体を介した神経回路の可塑的变化に依存していることが示唆された。

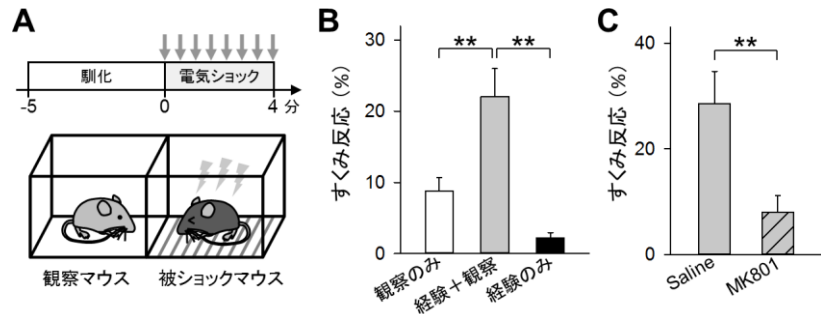


図1 A. 2匹のマウスを実験環境に5分間順化させた後、被ショックマウスに繰り返し電気ショックを与えた。B. 観察マウスに事前にショック経験をさせると観察中のすくみ反応が増大する。C. 経験依存的なすくみ反応の増大は、ショック経験前の MK801 (NMDA 受容体拮抗薬) の投与により阻害される。** $P < 0.01$ 。

（恐怖観察：図1A）。そして、このとき観察マウスが示したすくみ反応を情動伝染の指標として評価した。その結果、まず観察マウスは被ショックマウスと同一のタイミングですくみ反応を示すことが確認された。また、観察マウスが示すすくみ反応は、観察マウス自身が事前に軽微な電気ショックを経験することにより増大した（図1B）。さらに、事前のショック経験の前に NMDA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストである MK801 を観察マウスに腹腔内投与したところ、すくみ反応の増大は生じなくなった（図1C）。これらの結果から、マウスが情動伝染に基づいて示す恐怖反応は自身の過去の経験によって促進されること、そしてその効果は NMDA 受容体を介した神経回路の可塑的变化に依存していることが示唆された。

2. 自己と他者の痛みを表象する神経回路の共有

次に、事前のショック経験時と恐怖観察時の神経活動の関係性を検討した。本研究では、神経活動を捉えるために Arc catFISH 法を用いた。Arc は神経活動に伴い発現する遺伝子であり、その mRNA は活動 5 分後に核内に、そして活動 30 分後に細胞質に集積するという性質をもつ。したがって、本手法により Arc mRNA を可視化し、個々の細胞内における局在を評価することで、2つの異なる時間で活動した細胞を区別して検出することができる。本研究では、「自身のショック経験」と「恐怖観察」を 25 分の間隔を空けて行うことで、これら 2つのイベントに対応した神経活動を捉えた（図2A）。その結果、痛覚経路の一部である前帯状皮質において、ショック経験時と観察時に活動した細胞集団のオーバーラップがチャンスレベルを有意に上回ることが明らかになった。さらに、そのオーバーラップの度合いとすくみ反応には正の相関関係が認められ

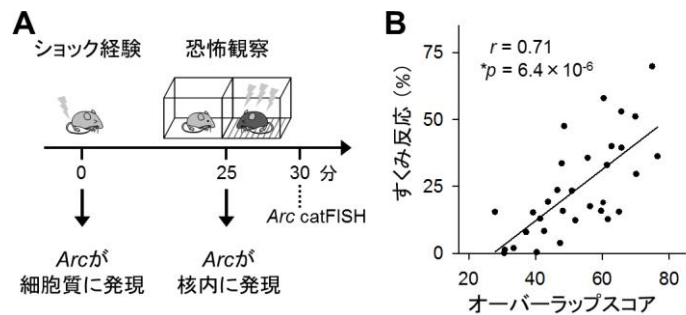


図2 A. Arc catFISH 法を用いた実験の概要。ショック経験から 25 分後に恐怖観察を行い、終了後に脳を摘出し、Arc catFISH を行った。B. 前帯状皮質において、ショック経験時と恐怖観察時の活動細胞の重複の度合いを示すオーバーラップスコアとすくみ反応は正に相関する。

で、2つの異なる時間で活動した細胞を区別して検出することができる。本研究では、「自身のショック経験」と「恐怖観察」を 25 分の間隔を空けて行うことで、これら 2つのイベントに対応した神経活動を捉えた（図2A）。その結果、痛覚経路の一部である前帯状皮質において、ショック経験時と観察時に活動した細胞集団のオーバーラップがチャンスレベルを有意に上回ることが明らかになった。さらに、そのオーバーラップの度合いとすくみ反応には正の相関関係が認められ

た (図 2B)。なお、観察時に活動した細胞の数とすくみ反応との間には相関関係はなかった。つまり、自己と他者の痛みの情報は部分的に共通の細胞集団により表象されており、その重なりが大きいほど、より強い情動伝染が生じることが示唆された。

3. ASD モデルマウスにおける情動伝染の障害

ASD モデルマウスを作製し、上記と同様の実験・解析を行った。ASD モデルには、妊娠期の母体のウイルス感染を模倣した poly(Inosine:Cytosine) (poly(I:C))モデルを用いた。Poly(I:C)は二重鎖 RNA であり、妊娠期の母マウスに 2 度にわたり腹腔内投与を行うと、生まれてくる仔マウスの社会性が低下することが報告されている。まず、母体に saline を投与した対照群では、事前のショック経験により観察中のすくみ反応は有意に増大することが確認された (図 3A 左)。

一方、Poly(I:C)マウスでは、事前のショック経験による観察中のすくみ反応の増加が生じなかった (図 3A 右)。なお、Poly(I:C)マウスは文脈的恐怖条件づけ試験において対照群と同程度の成績を示すことを確認している。つまり、痛覚や恐怖記憶は低下していない。したがって、Poly(I:C)マウスでは、自己と他者の痛みの情報を関連付ける能力が低下していることが示唆される。さらに、このときの前帯状皮質の神経活動を *Arcat*FISH 法により解析したところ、自己と他者の痛みに対応する細胞集団の規模は対照群と変わらない一方で、重なりが有意に低下していた (図 3B)。このことから、Poly(I:C)マウスでは、他者の観察に関わる活動細胞の選別が適切に行われていないと考えられる。

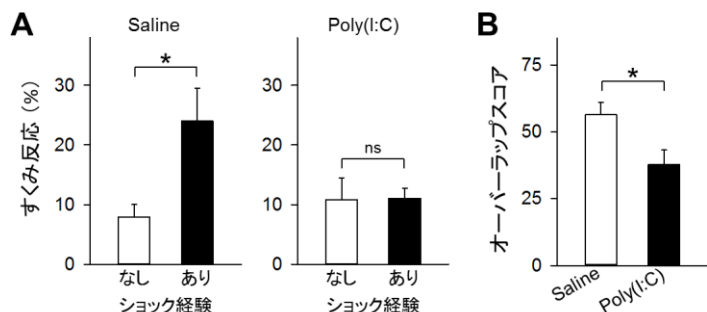


図 3 A. Poly(I:C)マウスは事前にショック経験をしてから恐怖観察を行ってもすくみ反応が増大しない。B. Poly(I:C)マウスの前帯状皮質では、ショック経験時と観察時の活動細胞の重複が対照群より小さい。* $P < 0.05$ 。

4. 情動伝染の薬理学的特性

薬理的処置により情動伝染を調節する因子の検討を行った。まず、候補として生体ホルモンの一種であるオキシトシンに着目した。なぜなら、オキシトシンはヒトやマウスの様々な社会性行動や ASD との関連が報告されているためである。事前のショック経験後、オキシトシン受容体のアンタゴニストである L-368,899 を腹腔内投与し恐怖観察を行ったところ、すくみ反応は有意に低下した (図 4A)。このことから、事前経験による情動伝染の促進が生じるには、オキシトシンのはたらきが必要であることが示唆された。

オキシトシンは近年

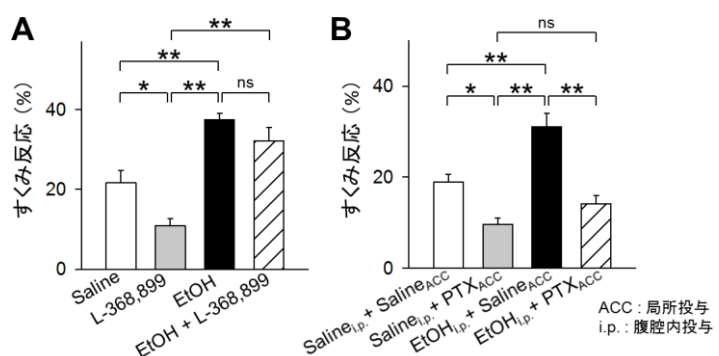


図 4 A. 事前のショック経験の 90 分後、観察マウスに薬物を腹腔内投与し、その 30 分後に恐怖観察を行った。観察中のすくみ反応は L-368,899 (オキシトシン受容体拮抗薬) により阻害される。エタノールを投与すると、すくみ反応は増大し、この作用は L-368,899 により阻害されない。B. エタノールを腹腔内投与すると同時に、前帯状皮質 (ACC) に PTX (GABA_A 受容体拮抗薬) を局所投与すると、エタノールの作用が阻害される。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

の報告から、抑制性神経伝達を増強させることが明らかになっている。そこで、私たちが日常的に摂取する化合物で、抑制性神経伝達を促進するはたらきを有している物質としてエタノールに着目した。エタノールを腹腔内投与したところ、観察中のすくみ反応は増大し、この作用は L-368,899 では阻害されなかった (図 4A)。つまり、エタノールはオキシトシン非存在下においても情動伝達を促進する作用をもつと考えられる。さらに、エタノールの作用は、前帯状皮質への GABA_A 受容体アンタゴニスト (ピクロトキシン、PTX) の局所投与により阻害されたことから、前帯状皮質の GABA_A 受容体の活性化を介していることが示唆された (図 4B)。

【総括】

本研究では、過去の経験が情動伝達を促進する神経基盤とその調節機構に迫った。その結果、前帯状皮質において、自己と他者の痛みを表象する神経回路が単一細胞レベルで共有されており、その重なり具合が情動伝達の強さと相関していることが明らかになった。また、こうした他者の観察に関わる活動細胞の選別機構の破綻が、ASD における共感性の低下に関連していることが示唆された。さらに本研究では、エタノールの摂取が前帯状皮質における抑制性神経伝達の変調を介して情動伝達を促進する可能性を提示した。