

恐怖の減衰過程の背景にある神経・分子基盤の解明

Neural and molecular basis of the decay of the defensive emotional state

カリフォルニア工科大学 板倉 拓海

研究期間 2023年4月1日～2024年3月31日

滞在研究機関 Department of Biology and Biological Engineering, California Institute of Technology

Pasadena, CA 91125, United States

共同研究者等 Prof. David J. Anderson

区分 個人 B

Animals exhibit innate defensive behavior when they encounter predators. This behavioral manifestation is regulated by the defensive state of the brain, which outlasts even after a fear-inducing stimulus is passed but gradually decays over time. Specific populations of the neurons within the dorsomedial part of the ventromedial hypothalamus (VMHdm) are thought to be one of the centers of the defensive state and show persistency and decay in their activity upon the encounter with a predator. However, the neural and molecular mechanisms underpinning the persistency and decay of the VMHdm activity are unknown. Here, we tried to identify the input that generates persistent VMHdm activity and provide feedback inhibition that would contribute to the decay by utilizing circuit tracing, optogenetic manipulation and in vivo recording of neural activity in mice. Our results suggest the involvement of neuropeptide signaling and feedback inhibition to control the slow dynamics of the VMHdm activity. Further studies will uncover how the balance of excitation and inhibition shapes the slow neural activity dynamics.

研究目的

恐怖は生存に必須な感情の一つであり、神経細胞の活動とそれに伴う生化学的シグナルにより形成される脳の防御の状態である^{1,2}。天敵との遭遇は本能的に防御的状态を生み出し、逃避行動、不安様行動、内分泌系の変化を引き起こす。興味深いことに、天敵が去った後でも、防御的状态は持続し、時間経過とともに減衰していく。このことは、一度生じた防御的状态は、感覚入力に依存せずに自律的に持続し時間経過とともに減衰していくメカニズムを有していることを示唆している³。この持続と減衰のバランスの破綻は不安障害などの精神疾患の原因になると予想される。しかし、天敵による一過的な感覚入力がある持続した防御的状态を生み出す神経・分子メカニズムは不明である。

視床下部は進化的に保存された脳領域であり、防御的状态に伴う行動や内分泌系を制御している。中

でも腹内側核背内側領域 (VMHdm) は視床下部の防御ネットワークと呼ばれる神経回路網に含まれており、視床下部の恐怖中枢と考えられている^{4,5}。マウスにおいて、VMHdm は天敵であるラットと出会った際に活性化し、さらにその神経活動はラットが去った後でも数十秒から数分にわたって持続し、減衰していくことが示されている⁶。また、光遺伝学的手法を用いた一過的な VMHdm の活性化は持続的な不安様行動や逃避行動を引き起こし、ラットを提示したことで誘導される VMHdm の持続的活動を抑制すると、持続した不安様行動や逃避行動が減弱することが示された。つまり、天敵による感覚入力は VMHdm の持続的活動を駆動し、この持続的活動こそが、天敵に対する持続した本能的防御的状态を生み出している主要要素の一つであると言える。しかし、この遅い神経活動ダイナミクスが VMHdm とその関連した神経回路網によってどのように実装

されているかは不明である。天敵に由来する感覚情報は3~4シナプス介してVMHdmに伝達され、この神経回路網に持続的な防御の状態を生み出すメカニズムが実装されていると考えられる^{7,8}。このような数十秒から数分にわたって持続し、減衰していく神経活動ダイナミクスは、神経ペプチドや回帰回路などによる神経活動の増幅、およびフィードバック抑制などによる活動の減衰が関与すると予測される⁶。そこで、本研究では、神経回路トレーシング、光遺伝学的手法による神経活動操作、およびin vivoでの神経活動記録を駆使して、VMHdmの持続的な活動の制御メカニズムを解明することを目的とした。

研究経過

まず初めに、VMHdmに入力し、かつ天敵との遭遇により活性化する神経集団がVMHdmの持続的な活動の制御を直接的に支配していると予想した。そこで、改変型狂犬病ウイルスを用いた逆行性トレーシングを行い、VMHdmに入力する神経集団を蛍光タンパク質によりラベルし、さらにラットを提示した際に発現誘導される神経活動マーカーcFosに対する免疫染色を行い、これらのシグナルが重なる二重陽性神経集団の分布を網羅的に探索した。そして、この改変型狂犬病ウイルスを用いた解剖学的・組織化学的アプローチにより絞り込んだVMHdmに入力し、かつラットとの遭遇により活性化する脳領域の活動がVMHdmの持続的な活動を生み出すかをin vivoで検証した。スクリーニングにより見出したVMHdmに入力する脳領域を光遺伝学的手法により10秒間活性化し、VMHdmからファイバーフォトメトリーにより神経活動を記録し、VMHdmの持続的な活動を引き起こす脳領域を探索した。その結果、光遺伝学的活性化に対して、VMHdmの活動が持続する脳領域を見出すことに成功した。現在、この入力脳領域に発現している神経ペプチド、および我々が有するVMHdmのシングルセルRNAseqのデータを元にして、持続的な活動を引き起こす神経ペプチドおよび対応する受容体の絞り込みを行っている。また並行して、改変型狂犬病ウイルスのデータを元にVMHdmに対してフィードバック抑制をしていると予想される脳領域の機能解析を行った。光遺伝学的手法でこのフィードバック抑制の回路を活性化すると、マウスのラットに対する忌避行動が抑制されたことから、この回路はVMHdmの活動を抑制して、恐怖を減衰

させることが示唆された。また、ファイバーフォトメトリーによりこのフィードバック抑制の活動を記録すると、VMHdmと同様の持続した神経活動が観察された。このことは、VMHdmの持続的な活動がフィードバックを引き起こしている可能性を示唆している。現在、フィードバック抑制を阻害した際に、VMHdmの活動減衰および行動にどのような影響があるかを検証している。

考察

本研究では、天敵との遭遇により形成される防御的な状態（恐怖）をモデルとして、感覚入力により生じた感情が持続し減衰していく神経・分子メカニズムの解明を試みている。時間分解能高く標的神経集団の活動を操作することが可能な光遺伝学的手法を適用することで、恐怖中枢であるVMHdmに対する入力を直接活性化し、入力に対してVMHdmの活動が持続する神経回路を見出した。加えて、VMHdmの持続的な活動により誘導されると予想されるフィードバック抑制を見出した。このような持続と減衰により形成される遅い神経活動ダイナミクスは、防御行動だけでなく、攻撃行動や性行動などの視床下部により制御される他の感情にも共通しており、神経ペプチドとフィードバック抑制が関与している可能性がある^{9,10}。これらの異なる感情を制御する神経集団は、今回着目しているVMHdmに隣接する腹外側領域に存在しており、この領域もVMHdmと相同の入出力構造を有し、さらに神経ペプチドやその受容体の発現を示している。今後は防御的な状態を制御するVMHdmにおいて発見した持続と減衰を制御すると予想されるシステムに対して、神経活動や神経ペプチドを介したシグナルの操作によって摂動を与えることで、さらなるメカニズムを解析していく。将来的には、攻撃行動や性行動などにおいても相同なメカニズムが存在するのか、どのような相違があるのか、そしてこれらの異なるシステムがどのように相互作用しているのかについて解明していく。この持続と減衰のダイナミクスは、様々な感情に共通した特徴であり、本研究の遂行は感情の背景にある基本原理の理解につながると期待できる。

参考文献

1. Anderson, D. J. & Adolphs, R. A framework for studying emotions across species. *Cell* **157**,

- 187–200 (2014).
2. Adolphs, R. & Anderson, D. J. *The Neuroscience of Emotion. A New Synthesis.* (2018). doi:xxx.
 3. Robson, D. N. & Li, J. M. A dynamical systems view of neuroethology: Uncovering stateful computation in natural behaviors. *Curr Opin Neurobiol* **73**, 102517 (2022).
 4. Wang, L., Chen, I. Z. & Lin, D. Collateral Pathways from the Ventromedial Hypothalamus Mediate Defensive Behaviors. *Neuron* **85**, 1344–58 (2015).
 5. Kunwar, P. S. *et al.* Ventromedial hypothalamic neurons control a defensive emotion state. *Elife* **4**, e06633 (2015).
 6. Kennedy, A. *et al.* Stimulus-specific hypothalamic encoding of a persistent defensive state. *Nature* **586**, 730–734 (2020).
 7. Choi, G. B. *et al.* Lhx6 delineates a pathway mediating innate reproductive behaviors from the amygdala to the hypothalamus. *Neuron* **46**, 647–660 (2005).
 8. Pérez-Gómez, A. *et al.* Innate predator odor aversion driven by parallel olfactory subsystems that converge in the ventromedial hypothalamus. *Current Biology* (2015) doi:10.1016/j.cub.2015.03.026.
 9. Itakura, T. *et al.* A single vomeronasal receptor promotes intermale aggression through dedicated hypothalamic neurons. *Neuron* **110**, 2455-2469.e8 (2022).
 10. Nair, A. *et al.* An approximate line attractor in the hypothalamus encodes an aggressive state. *Cell* **186**, 178-193.e15 (2023).

研究の発表

なし