

摂食行動を制御する先天的と後天的な恐怖情動

小早川 令子

大阪バイオサイエンス研究所 研究部長
(現 関西医科大学附属生命医学研究所)

恐怖と食欲の関係

野生動物は天敵などの生命を脅かす危険と隣り合わせで生活している。このような環境では天敵に襲われる危険がある場所であっても食べ物を探し続ける必要がある。食べ物が得られないことは餓死に繋がり、また、天敵に襲われることも死の危険へと直結する。では、恐怖と食欲のどちらを優先すれば動物は生き延びることができるのだろうか。恐怖と食欲の葛藤は野生環境に限られるものではなく、現代の人間社会においても存在している。摂食障害は痩せていることが美しいという認識を持つ人々が多い地域にみられる難治性の精神疾患で、食べることで太ってしまうことに対する恐怖が摂食行動の異常の原因の一つであると考えられている。現代社会では強いストレスにさらされて毎日の生活を送る人も多い。ストレスや恐怖刺激が食欲や摂食行動にどのような影響を与えるのかは明らかになっていない。

恐怖は行動を支配する強力な情動で、先天的と後天的なメカニズムによって制御されている。精神疾患は先天的と後天的な恐怖により影響を受けることが知られているが、両者の恐怖メカニズムがそれぞれの程度の寄与を示しているのかは解明されていない。これまでの脳研究においては後天的な恐怖を制御するメカニズムの解明に焦点が置かれてきた。脳の特徴の一つは、外界からの刺激や学習の影響を受けて可塑的に変化する性質であり、この後天的な変化が研究者を魅了してきたのである。一方で、先天的な恐怖を効率的に誘発する実験系が確立されていないことなどが原因となり、先天的な恐怖の制御メカニズムの解明は遅れていた。このような背景で私たちは、天敵から分泌される匂い分子の化学構造を最適化することで極めて強力に先天的な恐怖行動を誘発する人工匂い分子「チアゾリン類恐怖臭」の開発に成功した。この成功により、先天的な恐怖メカニズムの解明への新たな道が開かれた。本稿では、先天的と後天的な恐怖刺激による摂食行動の制御と、この行動制御の基盤

となる先天的と後天的な恐怖の統合処理を担う分子と細胞メカニズムに関する研究成果を紹介する。

先天的と後天的な恐怖刺激による摂食行動の抑制

危険な環境では先天的と後天的な恐怖刺激が同時に与えられることがありうる。このような環境であっても動物が生き抜くためには食べ物を探し続けなければならない。私たちは、先天的恐怖、後天的恐怖、食欲の3つの行動に強い影響を与える情動の関係を解明するための新たな行動実験モデルを開発した。図1に実験方法と実験結果を示した。マウスを48時間絶食させた後に3群（A-C）に分けた。Y字迷路で餌を食べる訓練をした後に、A群とC群のマウスは匂いと電気ショックとの関連学習を行い、匂いに対する後天的な恐怖を学習させた。この後に再び16時間の絶食を行った。A群とB群のマウスに関してはY字迷路の片側に後天的に恐怖を学習した匂い、または、先天的な恐怖を誘発する匂いを置き、他方には匂いを置かなかった。先天的または後天的な恐怖の匂いを置いた通路における摂食行動は完全にブロックされ、匂いのない通路側でのみ餌を食べた。C群のマウスに関しては、片側に後天的な恐怖を学習した匂いを置き、もう一方には先天的な恐怖を誘発する匂いを置いた。このような条件では3匹のマウスはいずれの通路の餌も食べなかったが、残りの6匹のマウスはいずれも後天的な恐怖の匂いが存在する側の通路で餌を食べた。これらの結果は、先天的と後天的な恐怖刺激が同時に存在する条件では先天的な恐怖が優先される「先天的恐怖の優先原則」が存在することを示唆している。

図1のA群のマウスは後天的な恐怖の匂いが存在する通路では餌を全く食べなかった。一方で、C群のマウスは後天的な恐怖の匂いがする通路でも餌を食べている。この結果は、C群の条件のように先天的な恐怖刺激と後天的な恐怖刺激とが同時に存在する条件では、後天的な恐怖行動が弱められるというメカニズムが存在する可能

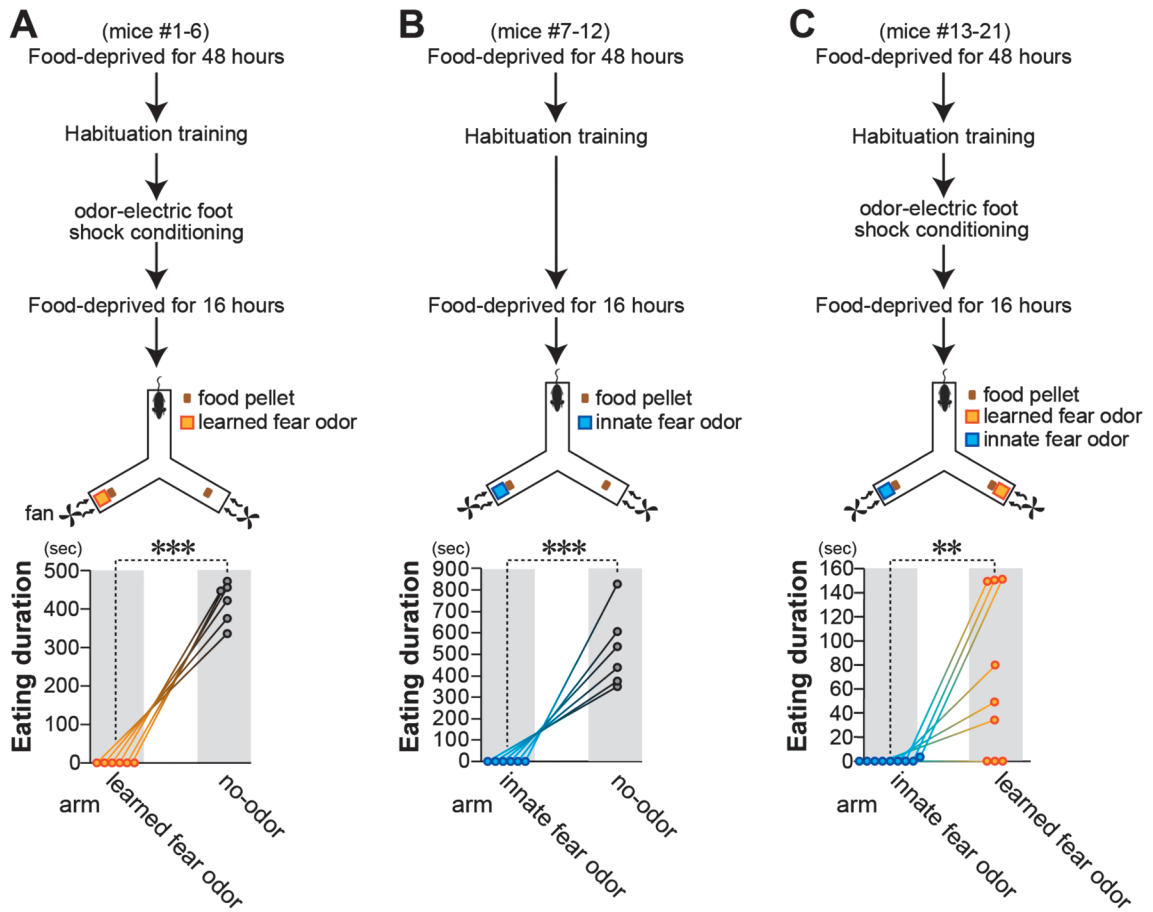


図1 先天的と後天的な恐怖刺激による摂食行動の抑制

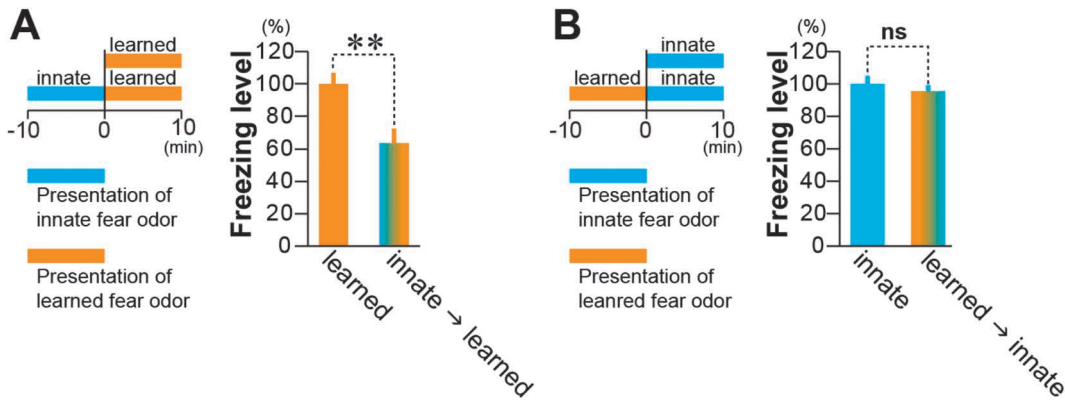


図2 先天的恐怖刺激による後天的恐怖行動の抑制

性を示唆している。この可能性を検証するために、新たな行動実験を行った。図2に実験方法と実験結果を示した。恐怖刺激はマウスにFreezing行動を誘発する。Freezing行動とは恐怖によりすくんで動かなくなる状態を示す。より強い恐怖刺激はより長い時間継続するFreezing行動を誘発するので、Freezing行動を指標にすることで恐怖情動を定量的に評価することができる。

後天的な恐怖の匂いを嗅がせる前に、先天的な恐怖を誘発する匂いを嗅がせると図2Aに示すように、後天的な恐怖刺激が誘発するFreezing行動が低下することが判明した。逆に、図2Bに示すように先天的な恐怖を誘発する匂いを嗅がせる前に、後天的な恐怖を誘発する匂いを嗅がせても、先天的な恐怖が誘発するFreezing行動には変化は認められなかった。これらの結果から、先天

的な恐怖刺激は後天的な恐怖行動を抑制する効果があるが、逆に、後天的な恐怖刺激には先天的な恐怖行動を抑制する効果はないことが示唆される。

先天的と後天的な恐怖の関係を制御する分子と脳領域の探索

行動実験の結果からは、先天的と後天的な恐怖の間には、先天的な恐怖が優先されるという階層性が存在し、さらには、先天的な恐怖刺激が後天的な恐怖を抑制するという拮抗的な関係が存在することが示唆される。このような拮抗的かつ階層的な制御を担う脳領域と分子標的を同定することが次の課題となる。そこで私たちは、全脳活性化マッピングと、向精神薬の投与スクリーニングという手法でこの課題の解明に取り組んだ。

全脳活性化マッピングとは、感覚刺激を与えた条件や行動をしている条件のマウスの全脳領域の脳活動を *c-fos* mRNA などの神経活動マーカーの発現を指標にして解析する方法であり、私たちの研究室ではこの大半の過程を自動化処理することで迅速化する方法を採用している。全脳活性化マッピングの結果、先天的と後天的な恐怖刺激はそれぞれ脳の異なる領域を活性化することが明らかになった。これらの領域の中で、私たちは扁桃体に注目して解析を行った。扁桃体は恐怖情動の制御に関する研究が最も蓄積された領域の一つであり、また、全脳活性化マッピングの結果から先天的と後天的な恐怖刺激がそれぞれ隣接するが異なる亜核を活性化することが明らかになったからである。

様々な種類の分子を標的とする向精神薬を投与した際の影響を解析することで、特定の行動の制御に関与する分子候補を同定することができる。セロトニン2A受容体などの拮抗薬であるリスペリドンを投与すると後天的な恐怖に伴う Freezing 行動が緩和するのに対して、先天的な恐怖に伴う Freezing 行動を増強することが明らかになった。セロトニン2A受容体に特異的な拮抗薬を扁桃体中心核に注入する条件でも、後天的 Freezing 行動の緩和と、先天的 Freezing 行動の増強が確認できた。これらの結果から、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体の活性は先天的と後天的な恐怖行動に対して拮抗的な作用を持つことが明らかになった。

扁桃体中心核のセロトニン2A受容体陽性細胞の機能

薬剤の局所注入実験では薬剤が浸透する領域を正確にコントロールすることはできない。扁桃体中心核のセロ

トニン2A受容体発現細胞の機能を解明するために、Cre-loxP系を用いた実験を行った。セロトニン2A受容体のプロモーターを用いてCre組み換え酵素を発現するトランスジェニックマウスの中の特定の系統では、Cre組み換え酵素が扁桃体中心核に特異的に発現していた。このトランスジェニックマウスの扁桃体中心核を標的にして、Cre組み換え酵素の存在条件でのみカルシウムセンサータンパク質GCaMP6を発現するアデノ随伴ウイルスを注入した。扁桃体は脳の深部に存在するために脳の表面からの顕微鏡観察では神経活動を解析することができない。そこで、光ファイバー束顕微内視鏡を扁桃体中心核へ挿入する方法での解析を行った。光ファイバー束内視鏡は細いため脳の深部へ挿入しても脳へのダメージは少ない。また、光ファイバー束内視鏡を挿入したままでもマウスはほとんど制限なく自由に行動することができるので、この観察系を活用すれば無拘束、無麻酔、自由行動条件での脳深部の神経活動を観察することができる。光ファイバー束顕微内視鏡を用いた解析の結果、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体発現神経細胞は何ら刺激を与えない条件では、1秒に1回程度の頻度で興奮していることが明らかになった。この神経細胞の興奮の頻度は先天的な恐怖刺激を与えるとは有意に低下したが、後天的な恐怖刺激を与えても神経活動に変化は観察されなかった。

次に私たちは、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体細胞の神経活動を人為的に操作した際の先天的と後天的な Freezing 行動への影響を解析した。扁桃体中心核のセロトニン2A受容体発現細胞の神経活動の上昇はチャンネルロブシン2やGq-DREADDを用いて行い、逆に、神経活動の抑制はハロロブシンやGi-DREADDを用いて行った。恐怖刺激を与えない条件では、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体発現細胞の神経活動の人為的な上昇と抑制はいずれも Freezing を誘発しなかった。この結果から、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体細胞は Freezing 行動の誘発に直接関与する機能を持たないことが示唆される。しかし、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体陽性細胞の活性は Freezing 行動とは無関係ではなく、先天的や後天的な恐怖刺激を与えた条件での Freezing 行動の誘発レベルの調節機能を持つことが明らかになっている。

扁桃体中心核のセロトニン2A受容体陽性細胞の神経活動を人為的に低下させた条件では、後天的な恐怖刺激に対する Freezing 行動が有意に抑制されるのに対して、

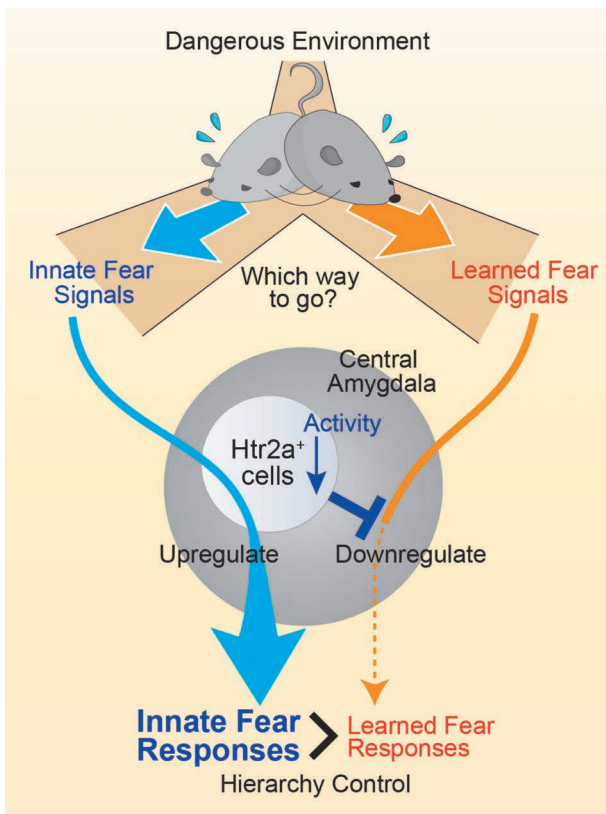


図3 扁桃体中心核のセロトニン2A受容体細胞による先天的と後天的な恐怖行動の階層制御

先天的な恐怖刺激に対するFreezing行動が有意に増強された。逆に、扁桃体中心核のセロトニン2A受容体陽性細胞の神経活動を人為的に増強した条件では、先天的な恐怖に伴うFreezing行動が有意に低下した。

これまでの実験結果を図3にまとめて模式的に示した。動物が先天的と後天的な危険刺激が同時に与えられた条件で、いずれの危険情報を優先するのかの判断に迫られたとする。このような危険な条件での行動選択は生存確率を左右する重要な判断となる。先天的な恐怖刺激は扁桃体中心核のセロトニン2A受容体発現細胞(Htr2a+cells)の神経活動を低下させる。この神経活動の低下により、先天的な恐怖行動が増進されるのに対して、後天的な恐怖行動は抑制される。このようなメカニズムが存在するために、先天的と後天的な恐怖刺激が同時に与えられた条件では、先天的な恐怖行動が後天的な恐怖行動に優先されるという階層性が決定される。なお、ここで紹介した実験の詳細は、Isosaka et al. (2015)¹⁾において詳しく記してある。

考察

危険な天敵が多く生存する環境で生き抜く野生動物は、常に恐怖刺激と隣り合わせで生活している。恐怖やストレスに囲まれて生活するという点では、現代社会で暮らす人間にも共通性があるかもしれない。このような危険な環境であっても、食べ物を獲得し生存するためには、すくんで動けないままではいられない。しかしながら、迂闊な行動は死の危険に直結するし、状況判断に時間を費やすことも避けねばならない。このような要請から、生物は危険な状況での行動規範を獲得したのではないだろうか。先天的な恐怖は全ての個体にとって危険である対象に対して感じるように進化の過程で獲得され遺伝子に刻み込まれている。これに対して、後天的な恐怖は個体の経験や学習に依存して獲得されたものであり変化しやすい性質を持つ。したがって、両者の危険が同時に与えられた際には、先天的な恐怖が優先されることは理に適っているように思われる。

本研究の結果は、先天的と後天的な恐怖は統合される同一の情動状態ではなく、互いに拮抗的な関係にある異なる種類の情動状態であるという予想外のモデルを支持している。このモデルは向精神薬の開発戦略を立案するうえでも重要な意味を持つ。恐怖症、PTSD、強迫性障害などの恐怖情動の異常が引き起こす精神疾患の患者数は非常に多い。これらの疾患は先天的と後天的な恐怖メカニズムの双方により影響を受けることが知られている。しかし、両者のメカニズムの精神疾患の発症や症状に対する寄与度は解明されていない。本研究の成果は、先天的と後天的な恐怖は共に恐怖と呼ばれるがその制御メカニズムは分子や細胞という要素レベルにおいてすら拮抗的な関係にあることを示唆している。したがって、後天的な恐怖情動を緩和する向精神薬の投与は、逆に、先天的な恐怖情動を亢進してしまうという矛盾を生じさせかねない。実際に、向精神薬として用いられているリスパリドンの投与は、後天的な恐怖行動を緩和するが、先天的な恐怖行動を増強してしまうことが判明している。この結果に基づけば、精神疾患の原因となる恐怖情動を先天的と後天的な側面に分解したうえで診断し、その結果に基づいて疾患の増悪に寄与する先天的か後天的かのいずれかの恐怖情動を緩和する薬剤を投与することが必要になるだろう。

本研究では、食欲に基づく摂食行動と、先天的と後天的な恐怖情動に基づく忌避行動を組み合わせた行動実験モデルを開発し、それらのいずれも生存に必須の情動が

互いに拮抗するという複雑な場面で行動を制御する分子や細胞を解明することに成功した。この結果、先天的と後天的な恐怖情動が互いに拮抗的かつ階層的に制御されるというこれまで予想すらされていなかった新たな原理を発見した。情動とは食欲、恐怖、性欲、母性などの人や動物が生存し種を保存するうえで欠かせない本能を呼び起こす脳の機能である。しかし、情動とはどのようなものであり、どのようなメカニズムで制御されるのかという問題は未解明である。私たちは、現在、感覚刺激の意味を脳が判断して情動を生成する過程の解明が重要な課題であると認識して研究を進めている。感覚情報の意味判断プロセスが受容体などの分子のレベルで解明でき

るようになれば、その受容体の活性を介して望ましい情動状態を生み出すという新たな技術が創出できるだろう。この技術は、精神疾患の治療法のみならず、消費者が好ましいと感じる食品などを理論的に開発するという未来の製造業の基盤となるだろう。

謝 辞

本研究を行うにあたりご支援を頂きました公益財団法人三島海雲記念財団に深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) T. Isosaka, et al.: *Cell*, **163**, 1153–1164, 2015.