

## 平成 23 年度 博士後期課程学位論文要旨

学位論文題名 (注: 学位論文題名が欧文の場合は和訳をつけること)

The neural mechanisms of yawning behavior induced by emotional stress in rats

(情動ストレスによるあくび行動の脳内神経機構)

学位の種類: 博士 (学術)

人間健康科学研究科 博士後期課程 人間健康科学専攻 ヘルスポモーションサイエンス学域

学修番号:

氏名: 久保田 夏子

(指導教員名: 北 一郎)

注: 1,000 字程度 (欧文の場合 300 ワード程度) で、本様式 1 枚 (A4 版) に収めること

## 【研究背景と目的】

あくびは就寝前や起床時に誘発されるが、一方で、極度の緊張時や不安状態でも誘発されることが経験的に知られている。このことは、あくび行動は不安などに関連した情動行動のひとつであることを示唆している。情動と関連したあくび行動の脳内神経機構は明らかにされていないが、情動行動の発現には扁桃体が重要な役割を果たしており、特に扁桃体中心核は、外部からの感覚刺激に対して生物学的な価値評価に基づき情動反応の発現を制御していることが明らかにされている。あくび行動の誘発には視床下部室傍核のオキシトシンおよび CRF ニューロンが重要な役割を果たしていることが報告されており、視床下部室傍核があくび行動の中核といわれている。これらのことから、緊張時や不安状態でみられるあくびは、扁桃体で処理された情報が視床下部室傍核に伝えられることによって引き起こされている可能性が考えられる。そこで本研究では、情動反応の発現の制御に関与している扁桃体中心核に焦点を当て、情動ストレスによるあくび行動の脳内神経機構について明らかにすることを目的とした。この目的を達成するために、以下の 3 実験を行い検討した。

## 【実験的検討】

実験 1: 視床下部室傍核刺激によるあくび反応における情動関連部位の神経活動に関する検討

視床下部室傍核の薬理刺激によるあくび反応において、情動関連部位の神経活動がみられるのかどうかを免疫組織化学的手法により検討した。実験動物として Wistar 系雄ラットを用い、麻酔・自発呼吸下において興奮性神経伝達物質 (L-glutamate) を視床下部室傍核へ微量投与した。あくび反応の生理学的指標として、呼吸活動の指標となる呼吸筋の筋電図、自律神経系の指標となる血圧、覚醒反応を評価するための皮質脳波を測定・記録した。情動関連領域として辺縁系に属する扁桃体中心核・分界条床核、また脳幹に属する青斑核・背側縫線核を選択し、神経活動の指標となる c-Fos タンパク質発現について評価した。その結果、視床下部室傍核刺激により血圧の下降および覚醒反応に続く深吸気 (ステレオタイプのおくび反応) が誘発され、青斑核および背側縫線核の神経活動は有意に増加した。しかし、扁桃体中心核および分界条床核では有意な変化は認められなかった。これらの結果から、視床下部室傍核刺激によるあくび反応には、情動喚起に関連する青斑核と背側縫線核の神経活動は伴うが、辺縁系に属する扁桃体中心核や分界条床核の神経活動との直接的な関連は認められないことが示唆された。

実験 2: 情動ストレスがあくび行動の誘発と神経活動に及ぼす影響

情動ストレスがあくび行動を誘発するのかどうかを検討するために行動観察を行い、さらに免疫組織化学的手法による脳内神経活動の評価を行った。実験動物として Wistar 系雄ラットを用い、無麻酔・非拘束下において情動ストレスを暴露後 60 分間、あくび行動および不安様行動の観察を行った。情動

ストレスとしては文脈的恐怖条件付けを用いた。その結果、情動ストレスによってあくび行動の回数は有意に増加し、不安様行動も観察された。さらに、情動ストレスによって扁桃体中心核の神経活動は有意に増加し、また、ステレオタイプのあくび反応でみられる神経活動と同様の活動が視床下部室傍核で認められた。これらの結果から、情動ストレスはあくび行動を誘発し、そのあくび行動の誘発には扁桃体中心核が関与している可能性が示唆された。

### 実験 3：情動ストレスによるあくび行動誘発の神経機構に関する検討

#### 実験 3-1：破壊実験．扁桃体中心核の薬理破壊が情動ストレスによるあくび行動の誘発に及ぼす影響

扁桃体が情動ストレスによるあくび行動の誘発に関与しているかどうかを検討するために、扁桃体破壊実験を行った。実験動物として Wistar 系雄ラットを用い、扁桃体中心核の選択的破壊のために神経毒 (Ibotenic acid, Glutamate 受容体のアゴニスト) の局所注入を行った。実験 2 と同様に、無麻酔・非拘束下において情動ストレスの暴露後 60 分間、あくび行動および不安様行動の観察を行った。その結果、扁桃体中心核の破壊後、情動ストレスによる不安様行動はみられたもののあくび行動の誘発回数は減少し、扁桃体中心核が情動ストレスによるあくび行動の誘発に関与していることが示唆された。

#### 実験 3-2：生理学的実験．扁桃体中心核の薬理刺激によるあくび反応の誘発に関する検討

扁桃体があくび反応の誘発に関与しているのかどうかを検討するために、生理学的手法を用いて実験を行った。実験動物として Wistar 系雄ラットを用い、麻酔下において興奮性神経伝達物質 (L-glutamate) を扁桃体中心核へ微量投与した。あくび反応の生理学的指標として呼吸筋の筋電図、血圧、皮質脳波を測定・記録し、さらに脳内神経活動を免疫組織化学的手法により評価した。その結果、扁桃体中心核の薬理刺激によって視床下部室傍核のオキシトシンおよび CRF ニューロンの活動を伴うステレオタイプのあくび反応が誘発された (刺激回数に対するあくび反応の誘発率：77.0%)。これらの結果から、扁桃体中心核の刺激は、あくび反応を誘発し得ることが示唆された。

#### 実験 3-3：解剖学的実験．情動ストレスによるあくび行動における扁桃体中心核から視床下部室傍核への神経経路の検討

情動ストレスによるあくび行動の誘発において、扁桃体から視床下部室傍核への直接的および間接的な神経経路の関与を検討するために、解剖学的手法を用いて実験を行った。間接的な経路としては、不安に関連することが知られている分界条床核を介した扁桃体中心核から視床下部室傍核への経路について検討した。実験動物として Wistar 系雄ラットを用い、視床下部室傍核への神経投射を調べるために逆行性トレーサー (Fluoro-Gold) を視床下部室傍核へ注入した。実験 2 と同様に、無麻酔・非拘束下において情動ストレスの暴露後 60 分間、あくび行動および不安様行動の観察を行い、その時の脳内神経活動を c-Fos と逆行性トレーサーの二重染色による免疫組織化学的手法により評価した。その結果、情動ストレスはあくび行動を誘発し、二重染色細胞数は分界条床核で高い値を示し、扁桃体中心核での存在もわずかながら認められた。これらの結果は、情動ストレスによるあくび行動の誘発に扁桃体中心核から視床下部室傍核への直接的および間接的な神経経路が関与している可能性を示唆する。

### 【まとめ】

本研究において、視床下部室傍核刺激によるステレオタイプのあくび反応においては扁桃体中心核の活動は観察されなかったが (実験 1)、情動ストレスによるあくび行動の誘発においては扁桃体中心核の顕著な活動が観察された (実験 2)。扁桃体中心核の薬理破壊により情動ストレスによるあくび行動の発現は抑制され、一方、薬理刺激によりあくび行動が誘発され得ることが示唆された (実験 3-1、3-2)。さらに、逆行性トレーサーを用いた解剖学的実験から、扁桃体中心核から視床下部室傍核への直接的あるいは間接的な神経経路が情動ストレスによるあくび行動の誘発に関与している可能性が考えられた (実験 3-3)。これらのことから、不安状態といった情動ストレスはあくび行動を誘発し、その神経機構として扁桃体中心核から視床下部室傍核への直接的あるいは間接的な神経経路の関与が示唆された。