

課題番号	LS070
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ストレス疾患克服に向けた情動-自律連関の脳神経回路メカニズムの解明
研究機関・ 部局・職名	京都大学・学際融合教育研究推進センター 生命科学系キャリアパス形成ユニット・ 特定助教
氏名	中村 和弘

1. 当該年度の研究目的

心理ストレスや情動がどのように生体の恒常性維持システムへ影響を与え、ストレス性の自律生理反応を惹起するのかを明らかにするという本研究の大きな目標を達成するために、ストレス反応に関わる脳神経回路を *in vivo* で多角的に解析するための実験系の構築を進める。まず、昨年度に引き続き、ラットの特定の脳部位間の神経連絡を行う投射ニューロン群の活動を特異的に *in vivo* で光操作する生理実験系の開発を進める。また今年度は、この光操作実験で得られた結果の解釈を確実なものにするため、光遺伝学蛋白質を発現したニューロンの神経活動が光照射により期待通りに変化するかを、パッチクランプ法を用いて電気生理学的に確認する。

2. 研究の実施状況

人間関係に伴う心理ストレスに近い動物モデルである、社会的敗北ストレスをラットに与えると体温上昇が生じるが、昨年度、私達は、この反応に関与すると考えられる延髄腹側部の熱産生制御ニューロンを、組織学的なマーカーを用いて同定し、論文発表した(Lkhagvasuren ら、*Eur. J. Neurosci.*, 2011)。ここで私達は、ストレスを受けたときには褐色脂肪組織における交感神経性の熱産生が増大し、ストレス性の体温上昇に寄与するのではないかと考えた。近年、褐色脂肪組織が齧歯類だけでなく成人にも存在することが報告され、体温調節や肥満防止など人体におけるその生理機能に大きな注目が集まっている。そこで今年度は、熱産生と体温を同時測定するテレメリーシステムを導入し、延髄腹側部のニューロンがストレス性の褐色脂肪熱産生や体温上昇に機能するかどうかを、ラットの社会的敗北ストレスモデルと薬物の脳内微量注入技術を組み合わせて生理学的に調べた。その結果、①心理ストレスによって褐色脂肪組織の熱産生が惹起され、ストレス性体温上昇に寄与すること、②その反応の惹起には、延髄腹側部への興奮性信号入力によって熱産生駆動ニューロンが活性化されることが必要であることが明らかとなった。

次に、熱産生駆動ニューロンを活性化するこのストレス性神経入力がどの脳領域に由来するのかを私達は探索した。私達のこれまでの予備実験などから、視床下部の一部がその脳領域の候補として考え、実験を行った。その結果、視床下部から延髄腹側部へ直接の神経連絡があり、その神経連絡の活性化が、体温上昇や熱産生を含めたストレス性の自律生理反応の惹起に機能することが示唆された。

そこで、この可能性を検討するための *in vivo* 機能実験を実施した。昨年度までに、ラットの特定の脳部位間の神経連絡を行う投射ニューロン群の活動を特異的に *in vivo* で光操作する生理実験系の開発に成

様式19 別紙1

功しており、今年度はこの技術を用いて、上記の可能性を検討した。光によって活性化され、神経細胞を活性化するチャンネル蛋白質を、ウイルスベクターを用いてラット脳内の視床下部に注入すると、感染した神経細胞から延髄腹側部へ伸びる軸索線維の終末において、このチャンネル蛋白質が局在していた。そこで、麻酔下で脳内に光ファイバーを刺入し、この延髄の部位に光照射すると、ストレス反応に似た褐色脂肪熱産生やその他の自律生理反応が惹起された。この反応は、チャンネル蛋白質の光活性化を介した軸索終末の脱分極によるものと考えられ、一連の実験結果は、視床下部から延髄腹側部への直接の興奮性神経連絡の活性化がストレス性の自律生理反応の惹起に重要であることを示している。今年度はさらに、延髄腹側部の軸索終末の光活性化をさらに詳細に確かめるため、スライスパッチクランプ実験を行うためのセットアップを新たに構築し、実験系を立ち上げた。

上記の研究成果は現在、論文投稿中である。研究代表者(中村和弘)は、2013年3月に行われた日本生理学会大会にて日本神経科学学会との連携シンポジウム「Optogeneticsを用いた *in vivo* 生理学の新たな夜明け」をオーガナイズし、上記の研究成果を自ら発表した。また、2013年4月に行われた米国生理学会年会(Experimental Biology 2013)のシンポジウムに招待され、上記の研究成果を発表した。さらに、これまでの一連の研究が評価され、研究代表者は「平成24年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞」を受賞した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計3件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 近藤高史、中村和弘 (2012) すぐき汁の味成分分析一かぶら汁との比較一. <i>日本味と匂学会誌</i>, 19 (2): 223-229. [ISSN: 1340-4806] http://mol.medicalonline.jp/library/archive/search?jo=cw7jasts&ye=2012&vo=19&nu=2 <p>(掲載済み一査読無し) 計2件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 中村和弘 (責任著者) (2012) 体温調節の中枢神経機構. <i>日本臨牀</i>. 70 (6): 922-926. [ISSN: 0047-1852] http://mol.medicalonline.jp/library/archive/search?jo=ag6niria&vo=70&nu=6 2. 中村和弘 (責任著者) (2012) 褐色脂肪熱産生を調節する中枢神経機構—寒冷、感染、ストレスを生き抜くために. <i>医学のあゆみ</i> 242 (12): 913-917. [ISSN: 0039-2359] http://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=924212&AC=11870 <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計16件</p>	<p>専門家向け 計16件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 中村和弘、片岡直也. オプトジェネティクスを用いた投射ニューロンの選択的活性化による熱産生指令メカニズムの同定. <i>第90回日本生理学会大会</i> (主催: 日本生理学会), 2013年3月27-29日 東京都 (招待講演) (本講演は、中村和弘と名古屋大学・山中章弘とによって企画されたシンポジウム「Optogeneticsを用いた <i>in vivo</i> 生理学の新たな夜明け(日本神経科学学会連携シンポジウム)」にて行われた). 2. 中村佳子、日置寛之、片岡直也、金子武嗣、中村和弘. オプトジェネティクスを用いた視索前野ニューロンの刺激による代謝性熱産生の抑制. <i>第90回日本生理学会大会</i> (主催: 日本生理学会), 2013年3月27-29日 東京都. 3. 中村和弘. 視床下部室傍核から延髄縫線核へのオキシトシン入力は褐色脂肪熱産生を亢進させる. <i>第8回環境生理学プレコングレス</i> (主催: 環境生理学プレコングレス世話人会), 2013年3月26日 東京都. 4. 中村和弘. 視床下部室傍核から延髄縫線核へのオキシトシン入力は褐色脂肪熱産生を亢進させる. <i>第40回自律神経生理研究会</i> (主催: 東京都健康長寿医療センター研究所・自律神経機能研究室), 2012年12月1日 東京都.

	<p>5. 中村和弘. 皮膚温度の変化に対する自律性体温調節反応の中樞神経機構. 第 65 回日本自律神経学会総会 (主催: 日本自律神経学会), 2012 年 10 月 25~26 日 東京都 (招待講演).</p> <p>6. Kazuhiro Nakamura & Naoya Kataoka. Social defeat stress-induced thermogenesis in brown adipose tissue is inhibited by the serotonin-1A receptor agonist, 8-OH-DPAT. <i>Neuroscience2012</i> (主催: 北米神経科学学会), 2012 年 10 月 13~17 日 ニューオーリンズ・米国.</p> <p>7. Yoshiko Nakamura, Kazuhiro Nakamura Yuchio Yanagawa & Shaun F. Morrison. Medullary GABA neurons that inhibit sympathetic premotor neurons controlling brown adipose tissue thermogenesis. <i>Neuroscience2012</i> (主催: 北米神経科学学会), 2012 年 10 月 13~17 日 ニューオーリンズ・米国.</p> <p>8. Kazuhiro Nakamura, Naoya Kataoka, Hiroyuki Hioki & Takeshi Kaneko. Optogenetic stimulation of medullary raphe-projecting axons of dorsomedial hypothalamic neurons elicits thermogenic and cardiovascular responses. <i>Optogenetics and Pharmacogenetics in Neuronal Function and Dysfunction (7th Brain Research Conference)</i> (主催: エルゼビア), 2012 年 10 月 11~12 日 ニューオーリンズ・米国.</p> <p>9. 中村佳子、中村和弘. 体温調節と発熱の視索前野メカニズム. 第 35 回日本神経科学大会 (主催: 日本神経科学学会), 2012 年 9 月 18~21 日 愛知県名古屋市 (招待講演) (本講演は、群馬大学・柴崎真志と中村和弘によって企画されたシンポジウム「温度環境に依存した神経活動」にて行われた).</p> <p>10. 片岡直也、中村和弘. 社会的敗北ストレスによって引き起こされる体温上昇には褐色脂肪組織における非ふるえ熱産生が関与する. 第 35 回日本神経科学大会 (主催: 日本神経科学学会), 2012 年 9 月 18~21 日 愛知県名古屋市.</p> <p>11. 岡孝和、Battuvshin Lkhagvasuren、中村佳子、林晴男、中村和弘. 社会的敗北ストレスによるストレス性高体温症には視床下部背内側核の活性化を伴う. 第 35 回日本神経科学大会 (主催: 日本神経科学学会), 2012 年 9 月 18~21 日 愛知県名古屋市.</p> <p>12. 中村和弘、片岡直也、日置寛之、金子武嗣. 視床下部—延髄投射ニューロンの光刺激による褐色脂肪熱産生の惹起. 平成 24 年度温熱生理研究会 (主催: 自然科学研究機構・生理学研究所), 2012 年 9 月 4~5 日 愛知県岡崎市 (本研究会は、中村和弘が世話人となって企画したものである).</p> <p>13. 中村佳子、日置寛之、片岡直也、金子武嗣、中村和弘. 視索前野ニューロン活動の光操作による褐色脂肪交感神経活動の調節. 平成 24 年度温熱生理研究会 (主催: 自然科学研究機構・生理学研究所) 2012 年 9 月 4~5 日 愛知県岡崎市 (本研究会は、中村和弘が世話人となって企画したものである).</p> <p>14. 片岡直也、中村和弘. 社会的敗北ストレスによる高体温は延髄縫線核を介した褐色脂肪熱産生が寄与する. 平成 24 年度温熱生理研究会 (主催: 自然科学研究機構・生理学研究所) 2012 年 9 月 4~5 日 愛知県岡崎市 (本研究会は、中村和弘が世話人となって企画したものである).</p> <p>15. 中村和弘. 多様な環境ストレスから生命を守るための温熱生理反応メカニズム. 岡崎統合バイオサイエンスセンター サマースクール 2012 (主催: 岡崎統合バイオサイエンスセンター), 2012 年 8 月 8~9 日 愛知県岡崎市 (招待講演).</p> <p>16. Naoya Kataoka & Kazuhiro Nakamura. Social defeat stress-induced hyperthermia involves non-shivering thermogenesis in brown adipose tissue. <i>Experimental Biology 2012</i> (主催: 米国実験生物学会連合), 2012 年 4 月 21~25 日 サンディエゴ・米国.</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	

様式19 別紙1

産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	京都大学・生命科学系キャリアパス形成ユニット・中村研究室ホームページ http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Nakamura/nakamura-j.html 京都大学ホームページ・「平成24年度科学技術分野の文部科学大臣表彰」受賞者 http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news7/2012/120409_1.htm
国民との科学・技術対話 の実施状況	2012年9月2日に京都大学にて開催された国民との科学・技術対話イベント「京都大学アカデミックデイ」にて「病は気からを科学する」と題する展示を出展し、来場した一般市民に本助成研究の最新の研究成果をわかりやすく解説した(来場者数531人)。 http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news4/2012/120902_1.htm
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	【学会会報への掲載】 1. 中村和弘 、齊藤昌之. 新たにわかった褐色脂肪の生体機能とそのメカニズム. <i>日本生理学雑誌</i> 74, 299-302 (2012).

4. その他特記事項

2012年4月17日 中村和弘が「平成24年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞」受賞

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	123,000,000	41,032,000	48,816,000	33,152,000	0
間接経費	36,900,000	12,309,600	14,644,800	9,945,600	0
合計	159,900,000	53,341,600	63,460,800	43,097,600	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	6,254,537	48,816,000	0	55,070,537	50,565,045	4,505,492	0
間接経費	12,309,600	14,644,800	0	26,954,400	5,839,950	21,114,450	0
合計	18,564,137	63,460,800	0	82,024,937	56,404,995	25,619,942	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	32,743,464	パッチクランプ実験装置、顕微鏡、実験試薬、培養消耗品等
旅費	1,681,070	研究成果発表旅費(北米神経科学会議)等
謝金・人件費等	14,002,234	博士研究員、研究補助員人件費
その他	2,138,277	動物実験施設管理負担費、学会発表参加費等
直接経費計	50,565,045	
間接経費計	5,839,950	
合計	56,404,995	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
小動物の温度測定用 テレメトリー発信器一 台	DSI PhysioTel TT	1	1,077,300	1,077,300	平成24年6月25日	京都大学
電極マニピュレータ	David Kopf 1460	1	803,250	803,250	平成24年6月25日	京都大学
サーマルサイク ラー	ABI Veriti	1	926,100	926,100	平成24年9月6日	京都大学
パッチクランプ用増幅器	Axon MultiClamp 700B	1	2,391,900	2,391,900	平成24年10月23日	京都大学
電気刺激装置	日本光電 SEN- 8203	1	899,850	899,850	平成24年11月6日	京都大学
パッチクランプ用マニ ピュレータシステム	Sutter Instrument	1	1,830,503	1,830,503	平成24年11月16日	京都大学
スライス用ビプラトーム	堂阪EM PRO7	1	1,496,250	1,496,250	平成24年11月27日	京都大学
摂餌量測定装置	メルクエスト特注品	1	2,396,100	2,396,100	平成24年12月11日	京都大学
テレメトリーシステム	DSI ART/Gold	1	5,683,229	5,683,229	平成24年12月11日	京都大学
パッチクランプ用顕微 鏡システム	オリンパスBX51	1	4,451,895	4,451,895	平成24年12月21日	京都大学
リアルタイムPCRシステム	ABI StepOnePlus	1	3,499,650	3,499,650	平成25年1月8日	京都大学

超微量分光光度計	Thermo NanoDrop	1	1,155,000	1,155,000	平成25年2月20日	京都大学
----------	--------------------	---	-----------	-----------	------------	------