

**平成27年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書**  
〔追跡評価用〕

平成27年4月1日現在

<b>研究代表者 氏名</b>	中西 重忠	<b>所属研究機関・ 部局・職 (研究期間終了時)</b>	財団法人大阪バイオサイエンス研究所・所長
<b>研究課題名</b>	機能的神経ネットワークの構築と制御の分子メカニズムの研究		
<b>課題番号</b>	17002016		
<b>研究組織 (研究期間終了時)</b>	研究代表者 中西 重忠（財団法人大阪バイオサイエンス研究所・所長） 研究分担者 疋田 貴俊（財団法人大阪バイオサイエンス研究所・システムズ生物学部門・研究員） 岡澤 慎（財団法人大阪バイオサイエンス研究所・システムズ生物学部門・研究員） 土居 智和（財団法人大阪バイオサイエンス研究所・システムズ生物学部門・研究員） 矢和多 智（財団法人大阪バイオサイエンス研究所・システムズ生物学部門・研究員） 黄檗 達人（財団法人大阪バイオサイエンス研究所・システムズ生物学部門・研究員）		

**【補助金交付額】**

年度	直接経費
平成17年度	99,600 千円
平成18年度	105,600 千円
平成19年度	109,600 千円
平成20年度	109,600 千円
平成21年度	99,600 千円
総計	524,000 千円

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)～(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

### (1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

#### 1. 報酬と忌避記憶の制御機構

大脳基底核は運動の制御、好ましいものを求める報酬記憶、嫌な刺激を避ける忌避記憶さらに記憶の柔軟性を支配する重要な脳部位である。大脳皮質の入力は基底核の直接路と間接路に伝えられ、それぞれの経路はドーパミンによって制御を受ける。我々はRNB法を用い、報酬記憶及びコカインの依存性には直接路が、一方嫌悪刺激に対する忌避反応には間接路が関与すること、さらにRNB法と薬理的解析法を組み合わせたasymmetric RNB法を開発し、報酬記憶は直接路のドーパミンD1受容体の活性化により、一方忌避記憶は間接路のD2受容体の抑制によって誘導されること、また状況が変化した時に報酬を効率よく得るための記憶の柔軟性は間接路のD2受容体が支配していることを明らかにした。我々はさらにPKAとErkに対するFRETバイオセンサーを直接路、間接路に特異的に発現させ、動物行動中のPKA及びErkの活性の変化を顕微内視鏡で測定する全く新しい手法を開発した。この結果PKAとErkは報酬行動と忌避行動において直接路と間接路で全く逆向きの制御がなされていること、さらに極めて迅速なPKAとErkの活性化或いは抑制が雄マウスの雌マウスに対する交尾行動(自然の報酬行動)を制御していることを明らかにした。以上の結果は1)報酬刺激と嫌悪刺激がドーパミンの濃度上昇と低下という情報に転換され、2)この情報は直接路のD1受容体と間接路のD2受容体を介した制御に転換され、3)D1受容体の活性化とD2受容体の抑制は共にcAMP-PKAシグナル系を活性化し、このシグナル系が神経可塑性を誘導すること、即ち異なった刺激情報は回路特異的なドーパミン受容体の違いによって情報処理され、その下流では共通の機構が働き相反する行動をもたらすという行動選択に関する基本的な制御機構を示したものである。

#### 2. 小脳運動記憶の機構

条件付け瞬目反射(eyeblink conditioning)及び視運動性反射(OKR)の小脳記憶は条件付け刺激と無条件刺激が小脳の苔状線維と登上線維によってプルキンエ細胞と小脳深部核(eyeblink)或いは前庭核(OKR)の2つの神経回路に伝達されることによって誘導される。我々はRNB法を用いて顆粒細胞からプルキンエ細胞への伝達を特異的・可逆的に遮断することによって条件付け瞬目反射の運動記憶においては小脳深部核が記憶の獲得、維持、発現に必須であるが、一方OKR記憶においては記憶の獲得にプルキンエ細胞への入力が必要であるが、記憶情報は前庭核に保持されプルキンエ細胞への入力がなくともOKR記憶が誘導されることを明らかにした。この成果は一連の小脳記憶のプロセスが複数の神経回路の統合的な神経可塑性によって制御されていること、さらに条件付け瞬目反射とOKRの運動記憶の素過程にかかわる機構はそれぞれ独自性を有するという全く新しい事実を明らかにしたものである。

#### 3. 小脳神経回路の成熟機構

小脳皮質の主要な神経細胞である顆粒細胞は発達期に外顆粒細胞層で増殖、分化し、内顆粒層に移動して成熟したシナプスを形成する。この成熟過程で顆粒細胞は脱分極の状態から非脱分極の状態に移行する。我々は顆粒細胞の非脱分極化がAMPA型及びNMDA型のグルタミン酸受容体の応答性を高め、Na<sup>+</sup>チャンネル、Ca<sup>2+</sup>チャンネルを活性化し、この結果Ca<sup>2+</sup>の流入が誘発され、この一連の共通の機構が成熟遺伝子の誘導と未成熟遺伝子の抑制を制御していること、さらにこの発現機構において転写因子Ets familyに属するEtv1がマスター転写因子として誘導と抑制を制御していることを明らかにした。またBDNFがErkシグナル系を活性化しErkによるEtv1の磷酸化が成熟遺伝子の誘導に必須であることを明らかにした。以上の結果は神経細胞の成熟という最終分化プログラムにおいて活性依存的な転写制御機構と細胞外シグナル機構が収斂し制御されているという全く新しい機構を示すものである。

#### 4. 不安と恐怖の情動行動の制御

情動行動を支配する中隔核 - 手綱核は一群の神経細胞群からなり本神経回路の機能発現の機構は不明であった。我々は中隔核の三角中隔核(TS)と前交連床核(BAC)を可視化し、中隔核のTSとBACは手綱核に独自の投射を有すること、一方IMCT法を用いTS及びBACを選択的に除去することによりこの2つの並行した伝達経路は、それぞれ不安と恐怖を制御しているという情動行動に関して重要な事実を明らかにした。

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

## 論文発表：原著論文

- 2010 (6編) Neuron:1編、J.Neurosci.:1編、他  
 2011 (4編) Proc.Natl.Acad.Sci.USA : 2編、J.Neurosci.: 2編  
 2012 (6編) Proc.Natl.Acad.Sci.USA:2編、Eur.J.Neurosci. : 2編、他  
 2013 (4編) Proc.Natl.Acad.Sci.USA:1編、Neuron 1編、他  
 2014 (3編) Proc.Natl.Acad.Sci.USA:2編、Neuroscience、1編

## 国際会議への招待講演

## 2010 (合計2件)

Shigetada Nakanishi (June 8, 2010)

The molecular diversity and function of glutamate receptors. CINF (Collegium International Neuro-Psychopharmacologicum) 2010. Hong Kong Convention and Exhibition Centre, Hong Kong

Shigetada Nakanishi (February 23, 2011)

Information processing and integration of the basal ganglia. Center for Functional Connections, Korea Institute of Science and Technology. Seoul, Republic of Korea

## 2011 (合計3件)

Shigetada Nakanishi (May 19, 2011)

Information processing and integration of the basal ganglia. Herbert Memorial Lecture. Vollum Institute, Portland, Oregon, USA

Shigetada Nakanishi (September 28, 2011)

From molecular neuroscience to systems neuroscience. Korea-Japan Science Forum 2011. Seoul National University, Seoul, Republic of Korea.

Shigetada Nakanishi (October 21, 2011)

The basal ganglia synaptic modulation in rewarding and aversive learning. RIKEN Brain Science Institute New Research Building Inaugural Symposium. RIKEN Brain Science Institute, Wako, Japan

## 2012 (合計2件)

Shigetada Nakanishi (February 14, 2012)

The basal ganglia synaptic modulation in rewarding and aversive learning. The 14<sup>th</sup> Conference of Peace through Mind/Brain Science. Hoter Crown Palace, Hamamatsu, Japan

Shigetada Nakanishi (July 6, 2012)

From molecular neuroscience to systems neuroscience. Riken BSI Summer Program. RIKEN Brain Science Institute, Wako, Japan

## 2013 (合計3件)

Shigetada Nakanishi (May 28, 2013)

Dopamine-mediated neural plasticity in reward and aversive learning. Dopamine 2013, Sardinia, Italy

Shigetada Nakanishi (July 11, 2013)

Information processing and integration of the basal ganglia. The 12<sup>th</sup> Meeting of the Asia Pacific Federation of Pharmacologists, Shanghai, China

Shigetada Nakanishi (September 17, 2013)

Molecular diversity and synaptic mechanisms of glutamate receptors. Ion Channels in Health and Disease: The 50<sup>th</sup> Anniversary of the Award of the Nobel Prize to Hodgkin and Huxley, University of Cambridge, Cambridge, UK

## 2014 (合計2件)

Shigetada Nakanishi (May 15, 2014)

The distinct dopaminergic control of the nucleus accumbens circuit in reward-based and aversive learning. Cold Spring Harbor Asia Conference: Neural circuit basis of behavior and its disorders. Suzhou, China

Shigetada Nakanishi (March 13, 2015)

Integrative neural mechanism in selection of animal behavior. Biomedical Satellite Symposium of the 1st Kyoto University-UC San Diego, Joint Symposium. Kyoto Hotel Okura, Kyoto

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

## (3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

研究代表者：中西 重忠

研究種目：文部科学省科学研究費補助金：基盤研究 S

期間：平成 22 年～26 年（2010～2015）（研究進捗評価結果：「A+」評価）

研究課題名：小脳運動記憶と神経回路形成の分子生物学的研究

研究経費：計 167,400,000 円（直接経費：5 年間）

研究分担者：船曳和雄、岡澤 慎、和田教男、矢和多智

## (4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

1. 好ましいものを求める報酬行動と嫌なものを避ける忌避行動という相反する行動が大脳基底核の 2 つの並行した伝達経路の識別によって選択され、さらにそれぞれの経路の下流シグナルは共通の cAMP-PKA シグナル系の活性化によって起こるという神経情報の基本的な処理機構を明らかにした。
2. PKA 及び Erk 系のシグナル系の変動を行動中の動物で測定できる FRET バイオセンサーと顕微内視鏡を組み合わせた汎用性を持った新技術を開発した。
3. 恐怖と不安が中隔核と手綱核の並行した 2 つの神経経路によってそれぞれ独自に支配されているという情動能の重要な制御機構を明らかにした。
4. 小脳運動記憶の素過程の解明と運動記憶が神経回路によって異なる機構によって誘導されるという事実を明らかにした。
5. 小脳神経細胞の成熟化が一連の細胞内シグナル転写制御によって調節され、さらに細胞外シグナル系が転写制御に収斂するという神経細胞の成熟化に関わる新しい機構を明らかにした。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

### (1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

文部科学省「脳科学研究戦略推進プログラム」のプログラムディレクター（平成20年～平成25年）、科学技術振興機構「生命システムの動作原理の解明と活用のための基盤技術の創出」の研究総括（平成18年～平成24年）をつとめ、脳科学研究の発展のための活動を進めた。また前述した種々の国際学会に招待され神経回路の新しい制御機構に関する講演を行った。特に報酬行動と忌避行動という相反する行動の行動選択、意思決定が脳基底核の神経回路によって制御されているという研究成果はシステムズ神経科学の新しい展開を示すものとして、またコカイン等の薬物依存や統合失調症の精神疾患の行動異常と密接に関連するものとして大きなインパクトを与えている。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

## 【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Nakanishi, S.(2005) Synaptic mechanisms of the cerebellar cortical network. Trends Neurosci. 28:93-100.	IMCT 法やノックアウトマウスの研究から得られた成果のもとに小脳運動制御における小脳の神経回路の役割をまとめた。	21
2	Morishima, Y., Miyakawa, T., Furuyashiki, T., Tanaka, Y., Mizuma, H. & Nakanishi, S. (2005) Enhanced cocaine responsiveness and impaired motor coordination in metabotropic glutamate receptor subtype 2 knockout mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 102: 4170-4175.	コカインの作用および運動制御における mGluR2 の作用機序を明らかにした。	78
3	Sato, M., Suzuki, K., Yamazaki, H. & Nakanishi, S. (2005) A pivotal role of calcineurin signaling in development and maturation of postnatal cerebellar granule cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 5874-5894.	calcineurin シグナル系の生後の小脳顆粒細胞の成熟化における制御機構を明らかにした。	39
4	Suzuki, K., Sato, M., Morishima, Y. & Nakanishi, S. (2005) Neuronal Depolarization Controls Brain-Derived Neurotrophic Factor-Induced Upregulation of NR2C NMDA Receptor via Calcineurin Signaling. J.Neurosci. 25:9535-9543	小脳顆粒細胞の脱分極による BDNF を介した NMDA 型 NR2C サブユニットの遺伝子発現制御を明らかにした。	32
5	Nakanishi, S. & Okazawa, M. (2006) Membrane potential-regulated Ca <sup>2+</sup> signalling in development and maturation of cerebellar granule cells. J.Physiol. 575:389-396	小脳顆粒細胞の成熟化における膜電位の変化による Ca <sup>2+</sup> シグナル系の制御機構をまとめた。	51
6	Renteria, R.C., Tian, N., Nakanishi, S. , Stryker, M.P. & Copenhagen, D.R. (2006) Intrinsic ON responses of the retinal OFF pathway are suppressed by the ON pathway. J.Neurosci. 26:11857-11869	網膜の明るさのシグナルを伝達する ON 経路による 暗さのシグナルを伝達する OFF 経路の調節を明らかにした。	37
7	Tsukamoto, Y., Morigiwa, K., Ishii, M., Takao, M., Iwatsuki, K., Nakanishi, S. & Fukuda, Y. (2007) A novel connection between rods and ON cone bipolar cells revealed by ectopic metabotropic glutamate receptor 7 (mGluR7) in mGluR6-deficient mouse retinas. J.Neurosci. 27:6261-6267.	網膜の桿細胞と ON 双極細胞の補完的な結合を明らかにした。	28
8	Wan, C-T., Blankenship, A., Elstoritt, J., Flkman, M., Nakanishi, S. & Feller, M. (2007) GABA(A) receptor-mediated signaling alters the structure of spontaneous activity in the developing retina. J. Neurosci. 27:9130-9140	GABA 神経伝達物質による発達過程の網膜細胞の反応の制御を明らかにした。	32
9	Wada, N., Kishimoto, Y., Watanabe, D., Kano, M., Hirano, T., Funabiki, K. & Nakanishi, S. (2007) Conditioned eyeblink learning is formed and stored without cerebellar granule cell transmission. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 104:16690-16695.	RNB 法を開発、適用し条件付瞬目反射の小脳記憶誘導の素過程を明らかにした。	29
10	Okazawa, M., Abe, H., Katsukawa, M., Iijima, K., Kiwada, T., & Nakanishi, S. (2009) Role of calcineurin signaling in membrane potential-regulated maturation of cerebellar granule cells. J.Neurosci. 29:2938-2947.	膜電位の変化による calcineurin シグナル系の小脳顆粒細胞の成熟化の制御を明らかにした。	19

## 【研究期間終了後に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Hikida, T., Kimura, K., Wada, N., Funabiki, K. & Nakanishi, S. (2010) Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior. <i>Neuron</i> 66:896-907	大脳基底核神経回路に RNB 法を適用し報酬記憶と忌避記憶は大脳基底核の直接路と間接路がそれぞれ独自に制御されていることを明らかにした。	130
2	Kimura, K., Hikida, T., Yawata, S., Yamaguchi, T. & Nakanishi, S. (2011) Pathway-specific engagement of ephrinA5-EphA4/EphA5 system of the substantia nigra pars reticulata in cocaine-induced responses. <i>Proc.Natl.Acad.Sci.USA</i> 108:9981-9986.	RNB 法を用い、経路特異的な細胞接着因子がコカインの作用に関与することを明らかにした。	6
3	Abe, H., Okazawa, M. & Nakanishi, S. (2011)The Etv1/Er81 transcription factor orchestrates activity-dependent gene regulation in the terminal maturation program of cerebellar granule cells. <i>Proc.Natl.Acad.Sci.USA</i> 108: 12497 -12502	顆粒細胞の成熟化には AMPA と MNDA グルタミン酸受容体、 $NA^+$ 、 $Ca^{2+}$ チャンネルと転写因子 Etv1 の活性化という一連のシグナル系が作用していることを明らかにした。	5
4	Abe, H., Okazawa, M. & Nakanishi, S. (2012) Gene regulation via excitation and BDNF is mediated by induction and phosphorylation of the Etv1 transcription factor in cerebellar granule cells. <i>Proc.Natl.Acad.Sci.USA</i> 109:8734-8739	小脳顆粒細胞の成熟化に Etv1 がマスター転写制御因子として働き、さらに BDNF-Erk シグナル系を介した Etv1 の磷酸化が必須であることを示した。	4
5	Yawata, S., Yamaguchi, T., Danjo, T., Hikida, T. & Nakanishi, S. (2012) Pathway-specific control of reward learning and its flexibility via selective dopamine receptors in the nucleus accumbens. <i>Proc.Natl.Acad.Sci.USA</i> 109:12764-12769	状況の変化に対応した報酬記憶の柔軟性は大脳基底核の間接路のドーパミン D2 受容体によって制御されていることを示した。	16
6	Hikida, T., Yawata, S., Yamaguchi, T., Danjo, T., Sasaoka, T., Wang, Y. & Nakanishi, S. (2013) Pathway-specific modulation of nucleus accumbens in reward and aversive behavior via selective transmitter receptors. <i>Proc.Natl.Acad.Sci.USA</i> 110: 342-347	報酬と忌避記憶を誘導する側座核の直接路と間接路の受容体の同定と作用機序を明らかにした。	19
7	Yamaguchi, T., Danjo, T., Pastan, I., Hikida, T. & Nakanishi, S. (2013) Distinct roles of segregated transmission of the septo-habenular pathway in anxiety and fear. <i>Neuron</i> 78:537-544	中隔核-手綱核の並行した2つの伝達経路の同定と情動行動におけるそれぞれの役割の違いを示した。	19
8	Wada, N., Funabiki, K. & Nakanishi, S. (2014) Role of granule-cell transmission in memory trace of cerebellum-dependent optokinetic motor learning. <i>Proc.Natl. Acad.Sci.USA</i> 111:5373-5378	視運動性反射の小脳運動記憶を RNB 法を用いて解析を行い条件付き瞬目反射と同様複数の神経回路の可塑性の誘導を必要とするが素過程においては異なる機構が関わることを示した。	1
9	Danjo, T., Yoshimi, K., Funabiki, K., Yawata, S. & Nakanishi, S. (2014)Aversive behavior induced by optogenetic inactivation of VTA dopamine neurons is mediated by D2 receptors in the nucleus accumbens. <i>Proc.Natl.Acad.USA</i> 111:6455-6460	光遺伝学によるドーパミン神経細胞の抑制が忌避反応を誘導することを明らかにした。	7
10	Nakanishi, S., Hikida, T. & Yawata, S. (2014) Distinct dopaminergic control of the direct and indirect pathways in reward-based and avoidance learning behaviors. <i>Neuroscience</i> 282:49-59	大脳基底核の直接路と間接路のドーパミン制御による報酬記憶及び忌避記憶の誘導機構をまとめた。	2

**3. その他、効果・効用等の評価に関する情報**

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

**(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）****特許（取得）**

名称：大脳基底核神経回路の神経伝達を解析  
する方法

発明者：疋田貴俊、中西重忠

権利者：財団法人 大阪バイオサイエンス研  
究所

種類：特許

番号：PCT/JP2010/003089

出願年月日：2010年4月30日

本研究の大脳基底核の研究成果はコカイン等の薬物依存症や統合失調症等の精神疾患に密接に関わるものである。特に統合失調症にドーパミン D2 受容体のアンタゴニストが有効な治療薬として使用されているがそのメカニズムは不明であった。本研究において明らかにされた。大脳基底核の経路依存的なドーパミンの作用機序の違いの発見は大脳基底核の基本的な制御機構を示すものとして大きなインパクトを与えており、また、本研究で開発された RNB マウスに関して多くの分与依頼を得ている。



**3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）**

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

疋田 貴俊：京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター（特定准教授）  
岡澤 慎：国立循環器病センター研究所血管生理学部（室長）  
和田 教男：公益財団法人稲盛財団学術部  
矢和多 智：京都大学学際融合教育研究推進センター・健康長寿社会の総合医療開発ユニット  
（特定助教）  
阿部 遥：秋田大学大学院医学系研究科・情報制御学・実験治療学講座（助教）  
土居 智和：香川大学医学部卒業（平成 27 年 3 月）