

Murphy 研究ユニット

Murphy Research Unit

ユニットリーダー MURPHY, Niall P.

生物は脳が快樂と感じる行動を探し求め、それを繰り返しながら生きてゆく。快情動を伴う行動は、脳では数多くの神経伝達物質や神経調節物質を介した様々な神経回路の複雑な相互作用により制御されている。中脳辺縁ドーパミン系は快情動に対する期待やその動機づけにおいて、重要な関与があると考えられている。その一方でエンドルフィンなどのオピオイドの理解は、快情動を伴う行動の制御において最も重要な位置にある。オピオイドには脳内で快情動と不快情動のバランスを保つ働きがあることが分かっている。4つに分類されているオピオイドのうち、最も近年に発見されたのがノシセプチンである。当研究ユニットの目的は、脳がある経験を快と感じる過程（快情動の獲得）と経験した快情動を求める行動（快情動の発現）でのノシセプチンの役割を解明することである。過去の研究に基づいて、我々はノシセプチンが不快情動を維持することにより他のオピオイドと共に脳内での快と不快の情動の発現のバランスを保つ働きを持つという仮説を立てた。ノシセプチンを介した神経回路の働きを除くことにより快情動の刺激による報酬価および動機価が高められることが予想され研究を進めている。これらの研究を通して、我々は正常な脳における快情動探索の制御や薬物依存、うつ病に見られる快情動を経験する能力の異常の解明を目的としている。

1. 急性の薬物報酬効果におけるノシセプチンの調節的役割 (佐郡, 小泉, 緑川, Murphy)

過去の研究では、正常な脳におけるの快情動を制御するノシセプチンの働きについて実験を行ってきた。本年度の研究では、覚せい剤などの報酬性薬物を使用した脳におけるのノシセプチンの働きについての実験を行った。ノシセプチン受容体の阻害や欠損により、メタンフェタミン（覚せい剤）から得られる快情動は強められることが分かった。このことから報酬性薬物から得られる快情動もノシセプチンにより制御されていることが示された。次に、新たな研究の一環として人工的報酬（エタノール）と自然報酬（高嗜好性食物）の自発的な消費の制御に対するノシセプチンの影響について調べた。その結果、ノシセプチン受容体欠損マウスは野生型に比べ、これらの自発的消費が低かった。これらの結果は快情動を探索する動機づけ、または快情動そのものをノシセプチンが制御していることを示している。

2. 薬物の反復投与効果における内因性ノシセプチンの調節的役割 (岡部, 佐郡, Murphy)

これまでの研究により、ノシセプチンは長期的な報酬性薬物の反復投与への反応を制御することが分かった。本年度は、この働きについてさらに理解を深めるため、報酬性薬物への欲求におけるノシセプチンの働きについて実験を行った。その結果、ノシセプチン受容体欠損マウスは報酬性薬物の反復投与に対する欲求を示す反応は低いことが解明された。このことにより、ノシセプチンは短期的な欲求だけでなく、長期的な反復投与による欲求にも影響することが解明された。

3. *in vitro* モデルの開発 (春国, Murphy)

ラット由来組織による中脳辺縁ドーパミン系の働きについての *in vitro* モデルを用いた研究が終了し、ノシセプチン

が培養中脳辺縁系ニューロンの活動を抑制することを明らかにした。来年度行う予定であるノックアウト組織との比較研究ができるよう、マウス由来組織を使用しているモデルも開発を進めている。

4. オピオイド遺伝子発現における急性および反復薬物投与の影響 (小泉, 春国, 岡部, Murphy)

本年度は、快情動がオピオイド遺伝子に与える影響を研究する上で必要な手法を開発した。この手法によって、高嗜好性食物の摂取は、エンドルフィンの遺伝子発現を増加させることを発見した。一方、ノシセプチンの遺伝子発現に変化はなく、ノシセプチンの影響を受けていないことを示した。別の方法では、メタンフェタミンは前脳基底核に位置するダイノルフィンの増加を促進させた。この変化においても、ノシセプチンによる影響を受けていないことを示した。これらの結果により、各オピオイド遺伝子の発現は他のオピオイド遺伝子の発現から独立していることが分かった。この発見は、快情動の刺激とオピオイドの相互作用についての見解を広げるものであり、来年度も継続して行う予定である。

5. ドーパミン作動性神経とオピオイド作動性神経の連繋 (小泉, Murphy)

この研究の目的は、快情動を獲得することを期待し、その快情動を経験する際の中脳辺縁ドーパミン系の働きにおけるノシセプチンの役割を解明することである。ノシセプチン受容体欠損マウスに高嗜好性食物を与えて快情動として獲得させたのち、*in vivo* マイクロダイアリス法を用いて中脳辺縁ドーパミン作動性神経の活動を調べた。この実験に必要な手法は今までにないものであり、本年度はこの手法を確立することに特に力を入れた。来年度中にはこの実験を完了させる予定である。

6. 依存状態の推進役としての情動記憶の役割 (佐郡, Murphy)

ノシセプチンは報酬性薬物の探索行動だけではなく、記憶にも影響を及ぼすことが知られている。本年度はノシセプチンが情動記憶に与える影響に注目して研究を進めた。この結果、ノシセプチンは快刺激の探索行動と嫌悪刺激からの回避行動の両方を抑制することを解明した。また、興味深いことにこのノシセプチンの効果は24時間以上も持続し、我々の予測を遥かに超える期間、効果が維持されることが分かった。一方、情動記憶に与えるノシセプチンの影響をさらに解明するため、恐怖条件付け試験も行った。報酬性薬物の探索に関する実験結果と合わせると、ノシセプチンは恐怖を感じた記憶の再生を抑制することが分かった。一方、長期的な恐怖条件付けはノシセプチンにより高められ、報酬性薬物の探索に関する実験結果とは逆の結果となった。これらの結果により、ノシセプチンの情動記憶の再生への関与が明らかになった。情動記憶の再生は、報酬性薬物の探索行動において重要な役割を担っているため、ノシセプチンが報酬性薬物の探索行動へ及ぼす影響は、ノシセプチンが情動記憶の再生へ及ぼす影響に起因する可能性も示唆された。

7. ドーパミン神経系機能低下モデルの開発 (緑川, Murphy)

これまで、発生生物学分野での報告を元に、中脳辺縁ドーパミン系を特異的に欠失したモデルマウスを開発することに力を入れてきた。しかし、近年になりドーパミン作動性の神経細胞の発生を制御する遺伝子について、発生生物学の分野内でも意見が分かれており、このことは我々の実験計画の遂行上の妨げとなった。新しい計画を現在検討中である。

Building on our previous findings showing a role for endogenous nociceptin in the control of the basal hedonic state of the brain, we proceeded to show that endogenous nociceptin modulates increases in hedonic state brought about by administration of the rewarding drug methamphetamine. Studies using voluntary consumption showed that mice lacking nociceptin receptors consumed less of both natural (highly palatable diets) and artificial (ethanol) rewards indicating that endogenous nociceptin determines the voluntary consumption of rewards. In other studies using nociceptin receptor knockout mice we showed an enhanced response to the locomotor stimulatory response to ethanol and a reduced response in the locomotor sensitizing effects of methamphetamine, suggesting that endogenous nociceptin plays a modulatory role in the processes that underlie changes in the incentive properties of drugs during repeated administration.

In order to understand the role and interaction of opioidergic systems in the response to rewarding stimuli, we initiated projects studying the expression of opioidergic genes during both voluntary and involuntary consumption of rewarding stimuli. We found consumption of highly palatable diets, or administration of methamphetamine stimulated increases in the expression of endorphin and dynorphin genes respectively. However, this action was not influenced by endogenous nociceptin as gene expression was identical in wild-type and nociceptin receptor knockout

mice.

In order to understand the role of nociceptin in the expression of emotional memories that underlie drug-seeking behavior, we studied the effect of nociceptin on the expression of seeking and avoidance behaviors in a place-conditioning paradigm. We found that nociceptin blocked the expression of both conditioned place preference and aversion for extended periods of time. To directly elucidate the role of memory in this effect we studied the effect of nociceptin in the expression of contextual fear memory. Consequently we found that nociceptin blocked the acute expression of contextual fear memory, yet enhanced long-term expression of contextual fear memory.

These studies revealed a clear, but complex role for nociceptin in drug-seeking and the expression of emotional memory.

Research Subjects

1. Role of nociceptin in modulating acute reward processes
2. Role of endogenous nociceptin in modulating the effects of repeated drug administration
3. Development of in vitro models
4. Effects of acute and repeated drug administration on opioid gene expression
5. Connectivity between dopaminergic and opioidergic systems
6. Role of emotional memory in driving addicted states
7. Development of hypodopaminergic models

Staff

Unit Leader

Dr. Niall P. MURPHY

Research Scientists

Dr. Miwako KOIZUMI

Technical Staff I

Mr. Chadwick BOULAY

Ms. Rie HARUKUNI

Ms. Naoko MIDORIKAWA

Ms. Chinami OKABE

Mr. Kazuto SAKOORI

Assistants

Ms. Nana MAEKAWA

RIKEN/BSI Collaborators

Dr. Jun MOTOYAMA (Mol. Neuropathol. Group, BSI)

Dr. Akihiko TAKESHIMA (Lab. Alzheimer's Dis., BSI)

Outside Collaborators

Dr. Nigel T. MAIDMENT (UCLA Neuropsychiatr. Inst.,

USA)

Visiting Scientists

Dr. Kazutaka IKEDA (Dept. Mol. Psychiatry, Tokyo Inst. Psychiatry)

誌上発表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Koizumi M., Sakoori K., Midorikawa N., and Murphy N. P.: "The NOP (ORL1) receptor antagonist Compound B stimulates mesolimbic dopamine release and is rewarding in mice by a non-NOP-receptor-mediated mechanism", *Br. J. Pharmacol.* **143**, 53–62 (2004). *

Okabe C. and Murphy N. P.: "Short-term effects of the nociceptin receptor antagonist Compound B on the development of methamphetamine sensitization in mice: a behavioral and *c-fos* expression mapping study", *Brain Res.* **1017**, 1–12 (2004). *

Koizumi M., Midorikawa N., Takeshima H., and Murphy N. P.: "Exogenous, but not endogenous nociceptin modulates mesolimbic dopamine release in mice", *J. Neurochem.* **89**, 257–263 (2004). *

Murphy N. P., Tan A. M., Lam H. A., and Maidment N. T.: "Nociceptin/orphanin FQ modulation of rat mid-brain dopamine neurons in primary culture", *Neuroscience* **127**, 929–940 (2004). *

Sakoori K. and Murphy N. P.: "Central administration of nociceptin/orphanin FQ blocks the acquisition of conditioned place preference to morphine and cocaine, but not conditioned place aversion to naloxone in mice", *Psychopharmacology* **172**, 129–136 (2004). *

Okabe C., Takeshima H., and Murphy N. P.: "Methamphetamine sensitization in nociceptin receptor knockout mice: locomotor and *c-fos* expression", *Eur. J. Pharmacol.* **507**, 57–67 (2005). *

(総説)

Murphy N. P.: "Nociceptin/orphanin FQ, hedonic state and the response to abused drugs", *日本神経精神薬理学雑誌* **24**, 295–298 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Murphy N. P., Okabe C., Koizumi M., Midorikawa N., Takeshima H., and Sakoori K.: "Nociceptin/orphanin FQ control of reward: pharmacological and genetic studies", *Neuropeptides 2004: XIV European Neuropeptide Meet.*, (European Neuropeptides Club), Alicante, Spain, May (2004).

Murphy N. P., Koizumi M., Midorikawa N., Okabe C., and Sakoori K.: "Effects of the opioid peptide nociceptin on reward processes", 5th Ann. Retreat of Picower Center for Learning and Memory, (MIT), Kennebunkport,

USA, June (2004).

Sakoori K. and Murphy N. P.: "Control of hedonic state by endogenous nociceptin/orphanin FQ", *Int. Narcotics Research Conf. (INRC2004)/Kyoto*, (Japan Foundation for Neuroscience and Mental Health and others), Kyoto, July (2004).

Okabe C. and Murphy N. P.: "Methamphetamine sensitization in NOP receptor knockout mice", *Int. Narcotics Research Conf. (INRC2004)/Kyoto*, (Japan Foundation for Neuroscience and Mental Health and others), Kyoto, July (2004).

Han W., Hata H., Imbe H., Liu Q. R., Takamatsu Y., Murphy N. P., Senba E., Uhl G. R., Sora I., and Ikeda K.: "Increased appetite and body weight in mice lacking mu opioid receptors", *Int. Narcotics Research Conf. (INRC2004)/Kyoto*, (Japan Foundation for Neuroscience and Mental Health and others), Kyoto, July (2004).

Murphy N. P. and Sakoori K.: "Nociceptin/orphanin FQ blocks the expression of place conditioning to morphine and naloxone in mice: Role of memory recall", 34th Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2004), San Diego, USA, Oct. (2004).

Koizumi M., Kimura S., Takeshima H., and Murphy N. P.: "Nociceptin/orphanin FQ receptor knockout mice show reduced preferences for a high sucrose diet", 34th Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2004), San Diego, USA, Oct. (2004).

(国内会議)

Murphy N. P.: "Application of in vivo microdialysis in the neurosciences", 研究会「マウスにおける in vivo brain dialysis」, (グラクソ・スミスクライン筑波研究所), つくば, 3月 (2004).

小泉美和子: "Microdialysis studies of the effect of nociceptin antagonist on mesolimbic dopamine release and locomotion in mice", 研究会「マウスにおける in vivo brain dialysis」, (グラクソ・スミスクライン筑波研究所), つくば, 3月 (2004).

Murphy N. P., 小泉美和子, 岡部千波, 緑川直子, 佐郡和人: "Endogenous opioids and reward: the role of nociceptin in ongoing hedonic state", ニコチン・薬物依存フォーラム 第7回年会プログラム, 東京, 5月 (2004).

佐郡和人, Murphy N. P.: "Nociceptin receptor knockout mice show reduced preferences for ethanol", 第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro2004), 大阪, 9月 (2004).

小泉美和子, 木村修一, 竹島浩, Murphy N. P.: "ノシセプチン受容体による高嗜好食摂取に対する調節的役割", 第25回日本肥満学会, 大阪, 9月 (2004).

小泉美和子, 木村修一, 竹島浩, Murphy N. P.: "ノシセプチン受容体ノックアウトマウスにおける高嗜好食の食欲刺激と摂取行動に伴う中脳辺縁系ドーパミン応答", 第15回マイクロダイアリシス研究会, 東京, 12月 (2004).