

令和元年6月17日現在

機関番号：32624

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19791

研究課題名(和文) 恐怖記憶の再燃予防に関わる神経回路の解明

研究課題名(英文) Neural circuits research on the prevention of spontaneous recovery of fear memory

研究代表者

松田 真悟 (MATSUDA, Shingo)

昭和薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：80723246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：雄は恐怖消去トレーニング(FE)日数の増加に伴って、下辺縁皮質(IL)、背側海馬(dCA3)、視床室傍核(PVT)の活動が高まった。性差のある領域としてdCA3、PVT、扁桃体外側基底前部(BLAa)が得られ、FE5日目の雄特異的に後部BLA(BLAp)が活動することが分かった。これらの結果を含め、FE日数の増加に伴う神経活動変動モデルを構築した。さらにサンプル数は少ないが雄のBLApを破壊することで、また、予備実験の段階だが扁桃体中心核(MeA)を破壊することでFE効果の保持が低下する傾向が得られた。以上より、本研究の成果としてBLApとMeAが恐怖消去の安定性に関わる可能性が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外傷後ストレス障害やパニック障害など恐怖記憶と関連のある精神疾患の治療法の一つに曝露療法がある。曝露療法は世界中で広く用いられているが、未だに治療期間を決めるための客観的な指標はない。客観的な指標の確立に向け、本研究は曝露療法の動物実験モデル(恐怖消去トレーニング課題)を利用して、恐怖消去トレーニング日数の変化に伴う脳活動変化を調べ、扁桃体外側基底核後部と扁桃体中心核が恐怖消去トレーニング効果の安定性に関わる可能性が得られた。今後、本研究の成果がヒトでの曝露療法中の脳活動の変動を明らかにする研究へと繋がり、最終的に治療期間を決めるための客観的な指標の確立に結びつくことが期待される。

研究成果の概要(英文)： Neural activation in the infralimbic cortex, dorsal CA3, and paraventricular nucleus of thalamus increased through extinction sessions in males. There were sex differences in neural activation in the dCA3, PVT, and anterior of BLA (BLAa). Based on our result from an experiment investigating c-fos expression following extinction sessions, we predicted an alteration of neural activation through extinction sessions. Although sample number were low, BLAp lesion by ibotenic acid tended to decrease a stability of remote extinction memory in males. Moreover, in preliminary study, MeA lesion also decreased the stability in males. Taken together, our results suggested that BLAp and MeA might regulate a stability of fear extinction.

研究分野：精神神経科学

キーワード：恐怖記憶 恐怖消去 性差 神経回路

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

外傷後ストレス障害(PTSD)やパニック障害など恐怖記憶と関連のある精神疾患の治療法の一つに曝露療法がある。曝露療法は世界中で広く用いられているが、未だに治療期間を決めるための客観的な指標はない。

申請者は曝露療法の動物実験モデル(恐怖消去トレーニング)を用いて、恐怖記憶の再燃の有無を分ける2つの条件(恐怖消去トレーニング日数と性別)を見出している(Matsuda et al., 2015)。この2つの条件を利用することで恐怖記憶の再燃予防を担う神経基盤を解明できると考え、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は治療期間を決めるための客観的な指標の確立に向け、曝露療法の動物実験モデル(恐怖消去トレーニング)を用いて、恐怖記憶の再燃予防を担う神経回路を解明することであった。

### 3. 研究の方法

#### (1) 恐怖記憶の再燃予防に関わる脳領域の解明

まず、雄マウスを対象に恐怖記憶の再燃を予防できない日数(2日間)もしくは予防できる日数(5日間)の恐怖消去トレーニングを実施し、脳を摘出した。また、雌マウスも同じ恐怖消去トレーニング(2日間も5日間も再燃予防できない)を実施し、その後に脳を摘出した。摘出した脳サンプルから脳スライスを作製し、神経活動マーカーである *c-fos* mRNA を使った *in situ* hybridization を実施し、恐怖消去トレーニング日数と性別を考慮して比較解析した。

#### (2) 恐怖記憶の再燃予防に必要な脳領域の解明

研究1の結果から生じた恐怖記憶の再燃予防を担う脳領域候補である扁桃体外側基底核後部(BLAp)と性差が既報されている領域である扁桃体中心核(MeA)に対してイボテン酸による薬理的破壊を行い、恐怖消去トレーニングおよび恐怖記憶の再燃への影響を調べた。

#### (3) 記憶の再燃予防に必要な脳領域の神経投射連絡の解明

BLAp に逆行性トレーサーであるフルオロゴールドを投与し、その神経投射元を解析した。

#### (4) 飼育環境の違いによる恐怖消去への影響

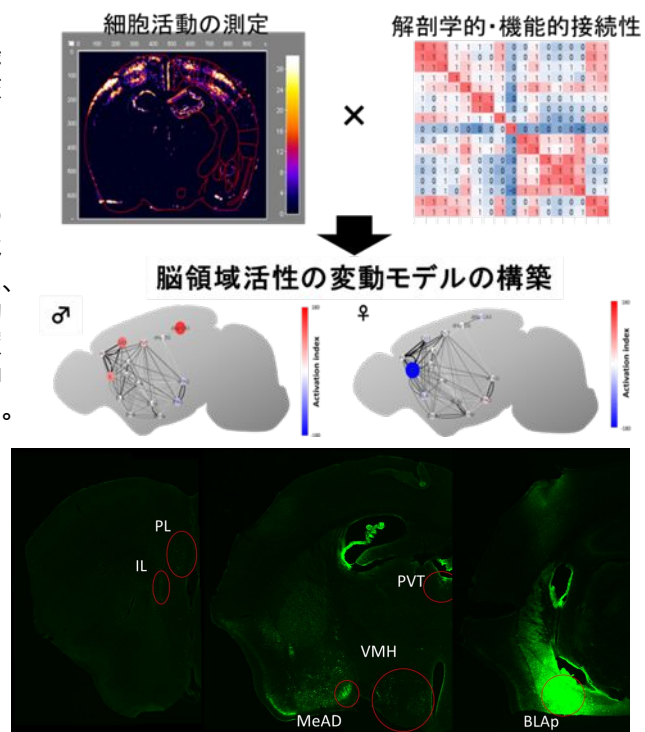
これまでの結果が群飼いのマウスの結果であったが、今後 *in vivo* 神経活動制御法を利用するうえで個飼いの必要がある。行動実験の結果は飼育条件に影響を受けることがある。そこで、我々の実験系において個飼いによって恐怖消去に影響が生じるかを調べるため、雌雄マウスを恐怖消去トレーニング課題実施の1週間前から個飼もしくは群飼にし、飼育方法の違いが恐怖消去トレーニングおよび恐怖記憶の再燃に影響を及ぼすかどうかについて検証した。

### 4. 研究成果

初年度の成果として、雄は恐怖消去トレーニング日数の増加に伴って、下辺縁皮質(IL)、背側海馬(dCA3)、視床室傍核(PVT)の活動が高まることわかった。性差のある領域としてdCA3、PVT、扁桃体外側基底核前部(BLAa)が得られた。さらに、恐怖消去トレーニング5日目の雄特異的に活動する領域として扁桃体外側基底核前部(BLAp)が得られた。また、今回の脳領域間の活動の関連性(機能的接続性)と既報の解剖学的接続性を考慮し、恐怖消去トレーニング増加に伴う神経活動変動モデルを構築した(右図中央)。

2年目の成果として、BLAp を標的とし、イボテン酸による薬理的破壊実験とフルオロゴールドによる神経投射元解析実験の導入に成功した。

3年目の成果として、サンプル数は少ないものの(n=3)、雄のBLApを破壊することで恐怖消去トレーニングの効果は保持しにくくなる傾向が得られた。また、予備実験の段階ではあるが雄のMeAを破壊することで恐怖消去トレーニングが阻害され、その効果が保持しにくくなる結果も得た。加えて、BLAp が



II、PVT、MeA 等から投射を受けていることを明らかにした(右図下)。さらに、雌雄ともに恐怖消去および恐怖記憶の再燃に対して個飼いの影響がないことを確かめた(Mtasuda et al., 2018)。

本研究を通して、恐怖消去の安定性にBLApとMeAが関与する可能性が得られ、また、*in vivo* 神経活動制御法を利用できる環境を整えることができた。今後、本研究の成果を引き継ぎ、恐怖消去の安定に対するBLApとMeAの役割についてさらに追及する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Ishii D, Matsuzawa D, **Matsuda S**, Tomizawa-Shinohara H, Shimizu E. Spontaneous recovery of fear differs among early-late adolescent and adult male mice. 129: 1-9. 2019. 査読有. DOI: 10.1080/00207454.2018.1501049.
2. Ishii D, Matsuzawa D, **Matsuda S**, Tomizawa-Shinohara H, Sutoh C, Kohno Y, Shimizu E. Cued and contextual fear memories are erased by a long passage of time after fear conditioning. 94E: 45-50. 2018. 査読有. DOI: 10.20776/S03035476-94E-5-P45.
3. **松田真悟**. 恐怖消去の性差を担う分子機構. 日本生物学的精神医学会誌.29: 57-59. 2018. 査読有.
4. **Matsuda S**, Tohyama S, Mizutani A. Sex differences in the effects of adult short-term isolation rearing on contextual fear memory and extinction. Neuroscience Letters. 687: 119-123. 2018. 査読有. DOI: 10.1016/neulet.2018.09.030.
5. **Matsuda S**, Matsuzawa D, Ishii D, Tomizawa H, Shimizu E. Development of the fear regulation system from early adolescence to young adulthood in female mice. 150: 93-98. 2018. 査読有. DOI: 10.1016/j.nlm.2018.03.007.

〔学会発表〕(計 7 件)

1. **松田真悟**, 遠山卓, 古屋裕理, 水野郁美, 吉田淑恵, 松澤大輔, 富澤はるな, 一戸紀孝, 清水栄司, 水谷顕洋. 雌の恐怖消去に対するERK上流因子の役割. 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学大会合同年会. 2018年9月6日-9月8日. 神戸国際会議場.
2. **Matsuda S**, Tomizawa H, Tohyama S, Furuya Y, Sahara Y, Ishinohe N, Suto F, Shimizu E, Mizutani A. Sex differences in immune system and fear extinction. The 41<sup>st</sup> Annual Meeting of Japan Neuroscience Society. 2018年7月26日-7月29日. 神戸コンベンションセンター.
3. **松田真悟**. 恐怖消去の性差を担う分子機構. 第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会. 2017年9月28日-9月30日. 札幌コンベンションセンター.
4. **松田真悟**, 遠山卓, 村上由, 古屋裕理, 松澤大輔, 石井大典, 富澤はるな, 須藤文和, 一戸紀孝, 清水栄司, 水谷顕洋. 恐怖消去抵抗性の分子機構解明に向けた基盤的研究. 第10回ハイテクリサーチ報告会. 2017年4月1日. 昭和薬科大学.
5. **松田真悟**, 松澤大輔, 石井大典, 富澤はるな, 一戸紀孝, 須藤文和, 清水栄司. 雌マウスにおける恐怖記憶と恐怖消去の週齢差. 第38回日本生物学的精神医学会・第59回日本神経化学大会合同年会. 2016年9月8日-9月10日. 福岡国際会議場.
6. **松田真悟**, 一戸紀孝, 須藤文和. Sex differences in dynamics of neural activation in fear extinction. 第39回日本神経科学大会 2016年7月20日-7月22日. パシフィコ横浜.
7. **松田真悟**. なぜ教関連疾患の有病率は女性の方が高いのか? 薬物・精神・行動の会 6月例会. 2016年6月24日. 東京慈恵医科大学

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：

国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。