

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 11 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21530758

研究課題名（和文） 情動記憶の消去および再固定過程の脳内メカニズム

研究課題名（英文） Biological mechanisms underlying extinction and reconsolidation processes of emotional memory

研究代表者

山田 一夫 (YAMADA KAZUO)

筑波大学・人間系・准教授

研究者番号：30282312

研究成果の概要（和文）：ラットの恐怖条件づけと条件性場所選好パラダイムを用いて、快および嫌悪情動記憶の消去と再固定の神経メカニズムを検討した。その結果、再固定中の消去がCS間の消去の般化を促進すること、NMDA受容体作動薬が情動記憶の消去を促進するが、学習直後の消去と時間が経ってからの消去ではその効果が異なること、メタンフェタミンによるCPPの習得と再燃にはドパミンD1、D2受容体がそれぞれ関与していることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Neural mechanisms underlying extinction and/or reconsolidation of euphoric or aversive emotional memory were investigated using classical fear conditioning and conditioned place preference in rats. Results showed that (1) the extinction during the reconsolidation window could facilitate a generalization of the extinction between CS's, (2) NMDA receptor agonist could facilitate extinction of fear responses, (3) dopamine D1 and D2 receptors were involved in an acquisition and reinstatement of amphetamine-induced CPP, respectively.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：実験心理学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：ラット、情動記憶、恐怖条件づけ、条件性場所選好、消去、再固定

1. 研究開始当初の背景

(1) 情動記憶の消去は、心的外傷後ストレス障害(PTSD)や不安症、さらには薬物依存の治療にとって重要な意味を持つ。PTSDや不安症の一般的な心理療法として系統的脱感作法や暴露療法が知られているが、このような治療にはかなりの時間を要し、また些細なきっかけにより再発(再燃)することが問

題とされている。これらの治療法で行われていることはまさに情動記憶の消去であり、近年多くの研究者たちが心理療法をより効果的にするための薬物の開発に注目している。ラットの情動記憶の研究でよく用いられている指標は、嫌悪性情動記憶だと恐怖条件づけでの条件性恐怖反応(フリージングなど)、快の情動記憶だと依存性薬物による条件性

場所選好である。

(2) 記憶の検索・再生過程に依存した健忘、すなわち記憶が再活性化されることによってその記憶が損なわれやすくなるという現象は、1960年代から70年代にかけて注目を集めていた。近年になって、記憶が再活性化されたときにグルタミン酸 NMDA 受容体が阻害されるとその記憶が損なわれることが報告され (Przybylski & Sara, 1997), さらに 2000 年には Nature 誌において、タンパク質合成阻害薬もまた同様の効果を持つ (Nader et al., 2000) ことが報告されてから、改めて再活性による記憶の再固定が注目されるようになった。

これらの先行研究では、ラットの恐怖条件づけ課題が用いられている。恐怖条件づけに関与している脳領域としては扁桃体 (Ledoux, 2000) がよく知られており、最近では扁桃体基底外側核の NMDA 受容体が嫌悪性情動記憶の再固定に重要な役割を担っていることが指摘されている (Goossens & Maren, 2004)

一方、快の情動記憶の指標である依存性薬物による条件性場所選好については、薬物の報酬特性の評価や薬物依存の形成メカニズムの観点からの研究しかされておらず、情動記憶の消去や再固定といった視点からの研究はほとんどない。

(3) 条件性恐怖反応や条件性場所選好の表出、すなわち情動記憶を減衰させるには2つの方法が考えられる。ひとつは CS のみの単独提示を繰り返す消去訓練を行い、CS-noUS という新たな連合の記憶を形成することである。もうひとつは、過去に獲得された記憶を再活性化した時に生じる再固定過程を阻害することである。最近の研究では、NMDA 受容体遮断薬は条件性恐怖反応の再固定と消去のどちらも阻害し、反対に NMDA 受容体作用薬はそれらを促進する。再固定を阻害 (促進) するということは、情動記憶の保持が阻害 (促進) されるということを意味し、消去を阻害 (促進) するということはその保持が促進 (阻害) されることを意味する。すなわち、同じ薬物が記憶を促進する場合もあれば逆に阻害する場合もあるということである。この一見複雑で矛盾した現象の詳細なメカニズムについては、まだ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、ラットの恐怖条件づけと条件性場所選好パラダイムを用いて、情動記憶の消去および再固定過程におけるグルタミン酸受容体およびグルココルチコイド受容体

の役割を解明することを目的とし、具体的には以下の(1)~(4)について行動神経学的、行動薬理学的手法を用いて検討する。

(1) 恐怖条件づけを用いた嫌悪性情動記憶については、文脈 CS、音 CS と US (電気ショック) を同時に連合させ、それぞれの CS に対する再固定および消去がどの程度の CS 単独提示で生じるのかを検討する。条件性場所選好を用いた快の情動記憶については、消去や再固定に関する先行研究がほとんどないため、まず覚醒剤による条件性場所選好がどの程度の CS 単独提示によって消去していくのか、そこでも再固定現象はみられるのかの基礎的研究を行う。

(2) 嫌悪性情動記憶について、(1)の状況において、一方の CS の単独提示が他方の CS に対する条件性反応の消去および再固定にどのような影響をもたらすのか (消去および再固定の般化) を検討する。

(3) (1)および(2)の結果に基づいて、嫌悪性情動記憶については、文脈 CS と音 CS それぞれに対する消去および再固定、快の情動記憶については覚醒剤による条件性場所選好の消去および再固定のそれぞれに及ぼす NMDA 受容体作用・遮断薬、グルココルチコイド受容体作用・遮断薬の末梢投与の効果を検討する。

(4) (3)と同様の手続きにより、NMDA 受容体作用・遮断薬、グルココルチコイド受容体作用・遮断薬の海馬・扁桃体局所投与の効果を検討する。

3. 研究の方法

(1) 快の情動記憶について、メタンフェタミン (MAP) による CPP の習得と再燃におけるドーパミン受容体の役割を検討した。被験体として Wistar-Imamichi 系雄ラットを用いた。CPP 装置は白黒色の2つの側室と灰色の中央の部屋からなる装置を用いて、まずベースライン測定のための選好テストを行った。被験体に装置内を15分間自由に探索させ、各部屋での滞在時間を測定した。翌日から MAP (1.0mg/kg)、生理食塩水 (SAL) のいずれかを毎日交互に腹腔内投与し、その直後から一方の側室に30分間放置する場所条件づけを4日間行った。実験1では条件づけの15分前に、D1 受容体遮断薬 SCH23390 (SCH: 0.3, 0.5mg/kg)、D2 受容体遮断薬 Raclopride (Rac: 0.3, 0.5mg/kg) あるいは SAL のいずれかを腹腔内投与した。条件づけの翌日にベースライン測定と同様に選好テストを行った。実験2では MAP による場所条件づけの後、MAP 投与なしで、側室のどちらかに毎日交互

に30分間放置する消去試行を4日間行い、その翌日に低用量MAP (0.5 mg/kg) 急性投与によってCPPを再燃させた。低用量MAP投与の25分前に、SCH (0.3, 0.5 mg/kg), RAC (0.3, 0.5 mg/kg) あるいはSALのいずれかを投与し、MAP投与の5分後に選好テストを行った。

(2) 嫌悪性情動記憶の完全な消去と、同時に条件づけられた2つのCS間の消去の般化に焦点を当て、記憶の再固定期間中の消去試行の効果および再固定期間中の消去がCS間の消去の般化に及ぼす影響について検討した。さらに情動記憶の消去にはグルタミン酸NMDA受容体が関与していることが知られているので、グルタミン酸NMDA受容体作動薬であるD-cycloserine (DCS) 投与がCS間の消去の般化に及ぼす影響についても併せて検討した。被験体としてWistar-Imamichi系雄ラットを用いた。実験1では、音CSとフットショックの対提示による恐怖条件づけを行った翌日、消去試行を行1回目と2回目の間に1時間の遅延を入れた群 (ret群) と入れなかった群 (no ret群) を設けて、翌日の保持テストおよび1ヶ月後の自発的回復テストでの音CSに対するフリージング反応を比較した。続いて実験2では、実験1と同様の手順で条件づけを行った翌日から3日間、文脈CSに対する消去を10分間ずつ行った。その際、まず文脈CSに1分間暴露した後1時間の遅延を入れて再度9分間暴露する群 (ret群) と遅延を入れない群 (no ret群)、および消去をしない統制群を設けた。その翌日、音CSに対する消去の般化を比較するため、音CSに対するフリージング反応を測定した (般化テスト)。さらに実験3では、実験1と同様の手順で条件づけを行った翌日、文脈CSに対する消去を30分間行い、その直後にSALあるいはDCS (DCS 15群, DCS 30群) を投与した。消去しない群 (NE群) は待機箱に30分間入れられた。その翌日に実験2と同様の手続きで般化テストを行った。実験4では、音CS (10 kHz, 65 dB) とフットショック (0.3 mA) の対提示による条件づけの翌日から3日間、文脈CSに対する消去を10分間ずつ行った。各消去試行の直後にSALあるいはDCS (DCS 15群, DCS 30群) を投与した。消去しない群 (NE群) はホームケージに置かれたままであった。消去最終日の翌日に般化テストを行った。

(3) 恐怖条件づけ直後の消去 (短期消去) と遅延を置いた消去 (長期消去) において、消去過程や消去の程度に違いがあるのかどうか (実験1)、またそれぞれの消去に及ぼすDCSの効果 (実験2) を検討した。実験1では、音CS (10 kHz, 65 dB, 10 s) とフットショック (0.3 mA) の対提示による恐怖条件づけを

行った後、被験体を短期消去群あるいは長期消去群のいずれかに振り分けた。短期消去群では条件づけの15分後に音CS (60 s) の15回の単独提示による消去を行った。長期消去群では条件づけの24時間後に同様の消去を行った。両群ともに、消去試行終了から24時間後に音CS (30 s) に対するフリージング反応を測定した。実験2では、被験体を消去時期 (短期・長期) ×薬物 (SAL・DCS) の4群に振り分け、それぞれの消去試行直後にDCSあるいはSALを投与した。すべての群において、消去試行終了から24時間後に音CS (30 s) に対するフリージング反応を測定した。

4. 研究成果

(1) Rac群およびSAL群では有意なCPPがみられたのに対して、SCH群ではCPPが成立しなかった。一方、SCH群およびSAL群で低用量MAP急性投与によるCPPの再燃がみられたのに対して、RAC群では再燃がみられなかった。したがって、ドーパミンD1受容体はMAPによるCPPの習得にのみ関与しており、ドーパミンD2受容体はCPPの再燃にのみ関与していることが示唆された。

(2) 恐怖記憶の再固定期間中に消去を行ったと想定される場合 (ret群) だけでなく、統制群 (no ret群) においても自発的回復が見られなかったことから、①記憶の再固定期間中の消去の効果については明確な結論は出せなかった。しかし実験2の結果から2つのCS間の消去の般化が確認され、②再固定期間中の消去がCS間の消去の般化を促進する可能性が示唆された。

実験3および4では、③消去試行直後に投与されたDCSはCS間の消去の般化に影響しなかったが、DCSは用量依存的に文脈CSに対する恐怖反応の消去を促進することが実証された。

(3) 実験1の結果から、短期消去の場合は一時的に消去が促進するが、その効果は持続せず、再び回復しやすいことが示唆された。消去された反応の回復現象として知られている自発的回復にはかなりの時間経過 (一般的に1ヶ月程度) を要するため、短期消去群でみられた早期の回復のメカニズムは自発的回復とは異なる可能性が考えられた。

また統計的には有意ではなかったものの、実験2では、DCSの消去後投与は、短期消去での恐怖反応を増強するのに対して、長期消去では消去を促進する傾向がみられた。条件づけ直後では恐怖記憶が固定されている途中であるため、DCSはその固定を促進するように作用し、逆に記憶が十分に固定された後の消去では、DCSは新たな連合学習 (CS-no US)

を促進するのかもしれない。

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Ozawa, T., Kumeji, M., Yamada, K. & Ichitani, Y.: d-Cycloserine enhances spatial memory in spontaneous place recognition in rats. *Neuroscience Letters*, 査読有, 509, 2012, 13-16.
- ② Ozawa, T., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Long-term object location memory in rats: Effects of sample phase and delay length in spontaneous place recognition test. *Neuroscience Letters*, 査読有, 497, 2011, 37-41.
- ③ 望月 聡・山田一夫・松井豊・福井俊哉: PTSD患者にみられる神経解剖学的・神経心理学的変化に関する研究の概観 筑波大学心理学研究, 査読無, 42, 2011, 99-108.
- ④ Yamada, K., Furukawa, S., Iwasaki, T. & Ichitani, Y.: Nicotine improves AF64A-induced spatial memory deficits in Morris water maze in rats. *Neuroscience Letters*, 査読有, 469, 2010, 88-92.
- ⑤ 領家梨恵・山田一夫・一谷幸男: げっ歯類を用いた心的外傷後ストレス障害 (PTSD) 動物モデルに関する研究の概観 筑波大学心理学研究, 査読無, 38, 2009, 11-19.
- ⑥ 清水誠・山田一夫・一谷幸男: ラットの空間記憶の再固定過程に関する研究の概観 筑波大学心理学研究, 査読無, 37, 2009, 1-8.

[学会発表] (計 10 件)

- ① □ 山田一夫: PTSD 動物モデル: ストレス誘発性恐怖反応増強効果を用いて 日本心理学会第 75 回大会ワークショップ 日本大学, 2011.10.22(東京都)
- ② 山田一夫・坂本敏郎: 齧歯類の条件性場所選好を用いた性欲と愛情の測定 第 15 回神経科学領域における分子モニタリングシンポジウム 宮崎大学, 2011. 6 月 11 日(宮崎県)
- ③ Ryoike, R., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Effects of adrenalectomy on stress-induced enhancement of conditioned fear response in rats. Society for Neuroscience, 41st Annual Meeting (Washington, D.C.), 2011.11.13(USA)
- ④ Ozawa, T., Yamada, K., & Ichitani, Y.: Increase of brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus plays a key role in consolidation of spatial memory in spontaneous place recognition in rats. Society for Neuroscience, 41st Annual

Meeting(Washington,D.C.), 2011.11.14(USA)

- ⑤ Furuie, H., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Effects of acute MK-801 and scopolamine on locomotor activity in rats neonatally treated with chronic MK-801. Society for Neuroscience, 41st Annual Meeting (Washington, D.C.), 2011.(USA)
- ⑥ Ryoike, R., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Involvement of HPA axis in long-lasting effects of traumatic stress on subsequent fear conditioning in rats. Society for Neuroscience, 40th Annual Meeting (San Diego, CA), 2010. (USA)
- ⑦ Ozawa, T., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Effects of intra-hippocampal administration of mRNA and protein synthesis inhibitors on performance in long-term spatial memory tasks in rats. Society for Neuroscience, 40th Annual Meeting (San Diego, CA), 2010. (USA)
- ⑧ Kaku, M., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Evidence of "directed forgetting" in rats: Delayed nonmatching-to-position and delay-interposed radial maze tasks. Society for Neuroscience, 40th Annual Meeting (San Diego, CA), 2010. (USA)
- ⑨ Ozawa, T., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Role of intrahippocampal de novo protein synthesis in the processes of long-term spatial memory in rats. Society for Neuroscience, 39th Annual Meeting (Chicago, IL) 2009. (USA)
- ⑩ Ryoike, R., Yamada, K. & Ichitani, Y.: Long-lasting effects of traumatic stress on subsequent fear conditioning in rats. Society for Neuroscience, 39th Annual Meeting (Chicago, IL) 2009. (USA)

[図書] (計 1 件)

- ① 山田一夫: 高次神経機能とホルモン 近藤保彦他(編著)『脳とホルモンの行動学: 行動神経内分泌学への招待』第 17 章, 西村書店, 2010.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 一夫 (YAMADA KAZUO)
筑波大学・人間系・准教授
研究者番号: 30282312

(2) 研究分担者

一谷 幸男 (ICHTANI YUKIO)
筑波大学・人間系・教授
研究者番号: 80176289

