

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007-2008
 課題番号：19500288
 研究課題名（和文） 恐怖記憶を抑制する神経回路の同定と同回路における AMPA 受容体の役割解明
 研究課題名（英文） Identification of the neural circuit that inhibits fear memory and the role of AMPA receptors in the circuit
 研究代表者
 関口 正幸（SEKIGUCHI MASAYUKI）
 国立精神・神経センター・神経研究所・疾病研究第四部・室長
 研究者番号：80260339

研究成果の概要：

経験によって獲得される恐怖や嫌悪の記憶を場合に依りて弱めることは、ヒトを含めた動物の生存に有用である。そのための脳機能のひとつとして「経験性恐怖記憶を弱める学習」が知られている。この学習は、海馬、扁桃体、前頭前野の3つの脳部位の連携により行われる。我々は、主に前頭前野に作用してこの学習を促進する物質を見いだし、その特徴付けを行った。このような物質は PTSD 等の不安関連障害に対する治療薬開発に役立つ可能性がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：行動分子神経科学

科研費の分科・細目：神経科学（分科）・神経科学一般（細目）

キーワード：神経科学、行動学、脳神経、恐怖記憶、消去学習、再固定化、AMPA 受容体、ニューロテンシン1型受容体

1. 研究開始当初の背景

パブロウ型条件性恐怖記憶は主に扁桃体における連合学習により形成されると考えられている。この連合とは、恐怖刺激を被った場所（文脈）や感覚情報（音や匂い）等、普段は恐怖感を覚えない中性の刺激（条件

刺激）と、具体的に身体的・精神的な苦痛を伴う「嫌悪刺激」との連合を指す。この連合が成立した動物は、もはや嫌悪刺激なしで条件刺激に対して「恐怖応答」を示すようになる。このようにして恐怖記憶を獲得した動物を繰り返し条件刺激のみに充分

な時間再暴露した場合、その動物の恐怖応答が徐々に減弱していく現象、Fear extinction、が知られている。Fear extinctionは恐怖記憶の消去ではなく、獲得された連合学習に対する抑制性のメタ学習であり、この抑制性学習の固定や想起に主要な役割を果たす神経回路のひとつとして前頭前野から扁桃体への投射が考えられている。Fear extinctionは、PTSD、パニック障害、強迫性障害等の不安関連障害に対する治療法である「暴露型認知行動療法」の基礎プロセスと考えられており、その詳細の研究は同療法を進歩させる上でも重要である。

また、Fear extinctionと密接な関係にある記憶過程に「恐怖記憶の再固定化」が知られている。これは、条件刺激への個体の再暴露が時間的に不十分である場合起こる現象で、恐怖記憶は再固定されこれに根ざした恐怖応答はむしろ増大してしまう。これまでに知られるFear extinction促進薬、例えばNMDA受容体作用薬D-cycloserine(DCS)等は、個体の条件刺激への再暴露が時間的に不十分である場合、Fear extinction促進効果を発揮しないばかりでなく、恐怖記憶の再固定化を促進してしまうことが知られており問題視されていた。恐怖記憶の再固定を抑制する薬物としては唯一βアドレナジック受容体遮断薬プロプラノールが知られているのみであった。

我々はこれまでに、独自開発してきたFlop型AMPA受容体趣向性同受容体増強薬PEPAが主にmPFCを活性化しFear extinctionを促進する、という新しいタイプの薬物であることを見だし報告していた。

2. 研究の目的

本研究では、我々が見いだしたFear extinction促進物質PEPAの作用メカニズ

ムの詳細説明、作用の特徴付けを行い、Fear extinction促進薬物群におけるPEPAの位置づけを明確にすることを第一の目的とした。更に、この新しい薬物を用いることにより、Fear extinctionや恐怖記憶の再固定化という現象について知見を得ることも目的とした。また、β受容体遮断以外の薬理学的手法による恐怖記憶再固定抑制の開発を目的として、ニューロペプチドであるニューロテンシン1型受容体発現低下マウスの恐怖記憶関連行動解析・扁桃体神経機能解析も行った。

3. 研究の方法

(1) Fear extinction促進薬PEPAの特徴解析：次の5種類のFear extinction関連行動タスクや恐怖記憶再固定タスクにおけるPEPAとDCSの作用を比較。

タスク1. 一般的Fear extinction (恐怖記憶強度への依存性等)

タスク2. Re-extinction

タスク3. 恐怖応答の復元 (Reinstatement)

タスク4. 古い恐怖記憶に対するExtinction

タスク5. 恐怖記憶再固定

(2) 恐怖記憶の再固定に関与する新規神経伝達システムの同定：ニューロテンシン1型受容体欠損マウス扁桃体のシナプス可塑性と恐怖記憶再固定化についての検討

実験1 脳切片中の扁桃体からのパッチクランプ記録によるシナプス長期増強の記録

実験2 当該マウスにおいて亢進している恐怖記憶に対する再固定抑制薬プロプラノールやNMDA受容体遮断薬MK801の作用検討

4. 研究成果

(1) Fear extinction促進薬PEPAの特徴解析

●タスク1. 一般的Fear extinction (恐怖記憶強度への依存性等)。PEPAのFear extinction抑制作用は恐怖記憶の強度には依存しておらず、安定した作用を有していた。既存薬DCSと比較した場合、その作用はほぼ同等であった。

●タスク2. Re-extinction。一度Extinctionが確立されたマウスに再び恐怖記憶を植え付けることができるが、この再獲得された恐怖記憶も条件性刺激への再暴露でextinctionされることが知られている (Re-extinction)。既存薬DCSはこのRe-extinctionを促進しないことが報告されているが、PEPAも同様にRe-extinction促進作用を示さなかった。

●タスク3. 恐怖応答の復元 (Reinstatement)。一旦恐怖記憶をExtinctionした後、元々の恐怖の植え付けに用いた刺激 (例えば電気ショック) を少し弱めて個体に与えると恐怖応答が復活する。これを恐怖応答の復元とよんでいる。PEPAでExtinctionを促進したマウスでは、この復元現象も抑制された。既存薬DCSも同様に復元現象を抑制することが我々の検討及び他の研究者の検討で明らかとなっている。

●タスク4. 古い恐怖記憶に対するExtinction。PEPAは比較的最近形成された恐怖記憶のExtinctionには有効であったが、形成されてから時間が経過した恐怖記憶に対するExtinctionには無効であった。一方、既存薬DCSは恐怖記憶の新旧に関わらずExtinctionを促進した。この結果は恐怖記憶の新旧により、それがExtinctionされる機構が異なる可能性を示唆しており、Extinction回路が時間とともに再編成されて行く可能性を示しており興味深い。

●タスク5. 恐怖記憶再固定。恐怖記憶形成後、短時間の条件刺激への暴露は恐怖記憶のExtinctionよりも再固定を促進し、恐怖応答の発現を増大してしまう。DCSはこの再固定を促進する作用があり、これはDCSの持つ重大な副作用として問題視されている。我々の検討でもDCSは短時間暴露による恐怖記憶再固定を促進したが、平行して検討されたPEPAは再固定を促進しなかった。

◎まとめ 以上の実験結果はPEPAが既存薬DCSと同レベルの活性を有するFear extinction促進薬であり、しかもDCSの副作用として問題視されている恐怖記憶再固定促進作用を有しない薬物として位置付けられることを示唆するものであった。この新しいタイプのExtinction促進薬PEPAを用いて、我々は①新旧の恐怖記憶が異なるメカニズムでExtinctionされる可能性、②Extinctionと再固定が薬理的に弁別されうる独立した過程であること、の2つの新知見を見いだした。端的に言えば、我々は新しいメカニズムでFear extinctionに作用する薬物を見だし、これを用いてこれまでの薬物では感知できなかった問題を掘り起こしたり、これまでの薬物では問題だった点を克服する例を示した、ということになり、これは当該分野にインパクトを与えるものと考えている。

(2) 恐怖記憶の再固定に関与する新規神経伝達システムの同定

●実験1. ニューロテンシン1型受容体欠損マウス脳切片中の扁桃体錐体細胞からパッチクランプ記録によりシナプス長期増強 (LTP) の記録を行った。当該変異マウスでは野生型マウスではLTPが起これないシナプス (外側核→基底外側核連絡シナプス) において強いLTPが起こることを見いだした。このLTP亢進はニューロテンシン1型受容体欠損によるドーパミンD2受容体機能亢進→NMDA受容体機能亢進により引き起こされる可能性が高いことを示した。

●実験2 ニューロテンシン1型受容体欠損マウスの行動異常とその薬理的解析を行ったところ、同変異マウスでは恐怖記憶の再固定が亢進しており、結果的に恐怖応答が増大していることが明らかとなった。この増大は NMDA 受容体拮抗薬 MK801 で抑制されることも明らかとなった。

◎まとめ 以上の結果は、ニューロテンシン神経伝達システムがドーパミン D2 受容体

とその下流にある NMDA 受容体の活性調節を介して恐怖記憶の再固定化に関与している可能性を示す。これまでに当該再固定に関与する神経伝達システムはノルアドレナリン系しか知られておらず、ニューロペプチドであるニューロテンシンの関与は当該研究分野にインパクトを与えると考える。今後、ニューロテンシン 1 型受容体アゴニストに恐怖記憶再固定抑制作用があるかどうかを検討したい。

(3) 全体のまとめ

新しい Fear Extinction 促進物質 PEPA の作用解析を通じて、これまでの薬物では感知できなかったこと、すなわち新旧恐怖記憶の Extinction は異なるメカニズムで行われる可能性や、Extinction と恐怖記憶再固定が薬理的に弁別される過程であること、を見いだした。恐怖記憶再固定に関してはこれを抑制する神経伝達系としてニューロテンシン 1 型受容体を介した系の可能性を掘り起こした。特に PEPA は以上の学術的背景のもとに不安関連疾患治療薬として応用できる可能性があり、今後の展望としては、これら応用面にも注意を向けるとともに、更に作用機序の学術的基盤解明等を通じて広く情動学習研究分野の発展に貢献することを目指したい。

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 3 件)

- ① Sekiguchi M, Zushida K, Yoshida M, Maekawa M, Kamichi S, Yoshida M, Sahara Y, Yuasa S, Takeda S and Wada K.
A deficit of brain dystrophin impairs specific

amygdala GABAergic transmission and enhances defensive behavior in mice.

Brain (2009) 132, 124-135. 査読有り

- ② Amano T, Wada E, Yamada D, Zushida K, Maeno H, Noda M, Wada K. and Sekiguchi M.

Heightened amygdala long-term potentiation in neurotensin receptor type-1 knockout mice.

Neuropsychopharmacol (2008) 33, 3135-3145. 査読有り

- ③. Zushida K., Sakurai M., Wada K. and Sekiguchi M.

Facilitation of extinction learning for contextual fear memory by PEPA –a potentiator of AMPA receptors.

J. Neurosci. (2007) 27, 158-166.

査読有り

[学会発表] (計 5 件)

- ① 山田大輔・和田圭司・関口正幸
恐怖記憶の消去学習と再固定: AMPA 受容体増強物質による薬理的な分離
第 1 回日本不安障害学会創立記念総会および学術大会 2009 年 3 月 27 日東京
- ② 関口正幸・山田大輔・天野大樹・和田恵津子・和田圭司
ニューロテンシン 1 型受容体欠損マウスの恐怖記憶亢進: 恐怖記憶再固定の亢進
第 1 回日本不安障害学会創立記念総会および学術大会 2009 年 3 月 27 日東京
- ③ 関口正幸・圖子田康・和田圭司
文脈性恐怖記憶の消去学習における内側前頭前野の時限付き関与
第 51 回日本神経化学学会大会 2008 年 9 月 13 日富山
- ④ 関口正幸
ジストロフィン欠損マウスにおける扁桃

体 GABA シナプスの損傷と情動行動の亢進

Neuro2007 シンポジウム「扁桃体を中心とする情動系の形成と機能の制御メカニズム」2007年9月10日横浜

⑤ Sekiguchi M

Facilitation of extinction learning for contextual fear memory by a potentiator of AMPA receptors.

Neuro2007 サテライトシンポジウム第2回 Molecular and Cellular Cognition Society (MCCS)-Asia シンポジウム「高次脳機能の解明：モデル動物の進展 II」2007年9月9日横浜

6. 研究組織

(1)研究代表者

関口 正幸 (SEKIGUCHI MASAYUKI)

国立精神・神経センター・神経研究所・
疾病研究第四部・室長

研究者番号：80260339