

2011年7月6日

博士学位論文審査報告書

大学名 早稲田大学
研究科名 人間科学研究科
申請者氏名 山田 大輔
学位の種類 博士（人間科学）
論文題目 恐怖記憶の消去学習と再固定化の神経機構についての行動薬理学的研究
—AMPA型グルタミン酸受容体増強薬物を用いた検討—
Behavioral pharmacological studies on the neuronal mechanisms of extinction and reconsolidation of fear memory by a potentiator of AMPA receptors.
論文審査員 主査 早稲田大学教授 熊野 宏昭 博士（医学）（東京大学）
副査 早稲田大学教授 鈴木 伸一 博士（人間科学）（早稲田大学）
副査 早稲田大学教授 榊原 伸一 博士（医学）（東京大学）
副査 早稲田大学教授 内田 直 博士（医学）（東京医科歯科大学）

本論文は、各種恐怖症や心的外傷後ストレス障害（PTSD）などに対して高い有効性を示す暴露型認知行動療法の生物学的基礎過程とされる消去学習をターゲットにして、その過程を促進するAMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor) 型グルタミン酸受容体増強薬物 PEPA (4-[2-(phenylsulfonylamino)ethylthio]-2,6-difluoro-phenoxyacetamide) の効果の詳細を、同じく消去過程を促進することが報告されている NMDA (N-methyl D-aspartate) 型グルタミン酸受容体作動薬物 D-cycloserine (DCS) を対照にして明らかにするものである。なお、被験体は全て C57BL/6J 系統の雄マウスを用い、行動実験は防音箱内で同一の実験箱（白色塩化ビニル製の壁で囲まれステンレス製の棒が並んだグリッド床が電気刺激発生装置と結線されたもの）を使って行われた。本論文は、序論、第1～3章、総括の5つのパートから構成されている。

本論文の序論では、まずパブロフ型古典的条件づけを利用した恐怖条件づけの成立過程とその消去過程に関する基礎研究の展望を行い、以下の事実を明らかにしている。(1)恐怖条件づけは、音や光などの手がかりを条件刺激として用いる手がかり的恐怖条件づけと、実験箱など条件づけを行う際の場所や環境を条件刺激として用いる文脈的条件づけに区別され、本研究でも用いる後者では、海馬を介して扁桃体の基底外側核に入力する文脈情報と、視床を経て同じく扁桃体の基底外側核に入力する嫌悪刺激の間に、シナプス結合の可塑的変化として連合が生じることで条件づけが成立する。(2)条件刺激に対して再暴露されることで、条件づけされた記憶が再活性化され、短時間の暴露では再固定化という恐怖反応の維持・増強の反応が生じ、長時間の暴露では消去学習という条件刺激と嫌悪刺激との関連づけに対する抑制性の新たな連合学習が起こる。(3)再固定化では条件づけに

よる固定化と同様に海馬と扁桃体基底外側核が主に関与し、消去学習では海馬からの文脈情報が扁桃体基底外側核だけでなく内側前頭前野にも入力され、そこから扁桃体内抑制性回路へ投射することにより扁桃体からの出力部位である中心核を抑制するように働く。(4)DCS は動物を長時間再暴露した場合には消去学習を促進し、短時間の再暴露では再固定化を促進する一方で、PEPA は長時間再暴露により消去学習を促進する効果は示されているが、再固定化に関する効果は検討されていない。(5)DSC の作用部位は扁桃体であることが示されている一方で、PEPA の作用部位は内側前頭前野にあることが示唆される。

続く第1章では、PEPA の消去学習促進効果の詳細を DCS と比較しながら明らかにするために以下の検討を行った。PEPA と DCS はともに消去学習促進作用をもつことが報告されているが、DCS についてはさらに暴露型認知行動療法における問題点とされる恐怖反応の再発を抑制する可能性が、動物実験の結果から示唆されている。そこで、PEPA の消去学習促進薬物としての性質をよりよく理解することを目的として、消去学習と、その後の条件性恐怖反応の復元、再消去という3つの現象に対する作用を、以下の3段階で検討した。(1)PEPA の消去学習に対する作用を、DCS の作用と直接比較した。(2) 消去学習後の条件性恐怖の復元に対する PEPA の作用を DCS の作用と比較した。(3) 消去学習後に再び条件付けを行い、再度消去学習を行う再消去という現象に対する PEPA の作用を DCS の作用と比較した。その結果、PEPA と DCS の消去学習促進作用は、同用量で腹腔内投与した場合ほぼ同程度であること、また PEPA は DCS と同様、恐怖反応の復元を抑制する作用をもち、文脈条件性恐怖の再消去は促進しないことが明らかとなった。以上より、PEPA と DCS は消去学習および消去学習関連現象に対して同様な作用をもつことが明らかとなった。

第2章では、PEPA が再固定化に及ぼす影響を明らかにするための検討を進めた。これまでの研究から、消去学習と再固定化は独立した過程であると考えられるものの、ともに動物を条件刺激に再暴露することをきっかけとして開始され、また多くの共通分子メカニズムを持つことが明らかとなっている。そのため、消去学習を促進する薬物は再固定化も促進する、また再固定化を抑制する薬物は消去学習も抑制するなど、これらのうちいずれか一方のみに選択的に作用するような薬物は報告されていない。そこで、消去学習特異的に関与すると考えられている内側前頭前野に作用し、消去学習を促進することが示唆される PEPA は、DCS とは異なり再固定化に作用しない可能性があるという仮説のもと、以下の3段階の検討を行った。(1) PEPA および DCS を腹腔内投与した後、文脈刺激に短時間再暴露させた場合の恐怖反応への作用について検討した。(2)DCS による恐怖反応の増強が再固定化の促進によるものであることを、再固定化を抑制する propranolol を再暴露直後に投与することにより確認した。(3)PEPA および DCS の再固定化に対する作用をより直接的に示すために、PEPA、DCS を再固定化に重要な扁桃体（主に基底外側核）へ局所投与し、短時間再暴露させた場合の恐怖反応の変化について検討した。その結果、末梢投与および再固定化で主要な役割を果たす扁桃体への中枢投与いずれにおいても、DCS が再固定化に作用する一方で、PEPA が再固定化に作用を示さないことが明らかとなった。

第3章では、ストレスが消去学習を阻害することと、それに対する PEPA の効果を見るために、

以下の検討を行った。ストレスは様々な精神疾患の発症に関っている。PTSD 患者にみられる主な症状である恐怖体験の持続的想起（再体験）を引き起こす原因として、PTSD 患者では消去学習が障害されていることが示唆されている。そして、動物を用いた研究からは、動物に身体的ストレスを負荷することによって消去学習が障害されることが知られている。したがって、ストレス負荷動物において障害された消去学習を促進するような薬物を探索することは、暴露型認知行動療法の効果を高めることに有用であると考えられる。そこで本研究では、消去学習が障害されたストレス負荷動物を用いて、PEPA の消去学習に対する作用を以下の 3 段階で検討した。(1)まず消去学習を障害するようなストレス負荷の条件を確立した。(2)ストレス負荷により障害された消去学習に対する PEPA の用量作用関係を検討した。(3)障害された消去学習に対する PEPA の作用を、ストレス負荷によって障害された消去学習を促進することが報告されている DCS の作用と比較検討した。その結果、PEPA はストレス負荷動物においても、同用量で腹腔内投与した DCS とほぼ同等の消去学習促進作用を示すことが明らかとなった。

以上、本研究では、AMPA 受容体増強薬物 PEPA が、既報の消去学習促進薬物である NMDA 受容体作動薬物 DCS とほぼ同程度の消去学習促進作用と消去学習関連現象に対する作用を示す一方、恐怖記憶の再固定化には作用しないことを明らかにした。この結果は、消去学習と再固定化が薬理的に弁別可能な別々の過程であることを示唆する。また、今後、安全性や流通可能性などの検討が必要であるとしても、再固定化の促進という副作用をもたない消去学習選択的促進薬物の実用化に貢献できると考えられる。本研究は基礎的なものであり、臨床心理学分野への応用は今後の課題である。しかし、将来的に暴露療法を効果的に促進する PEPA 様薬物の使用が可能になれば、不安障害に対する臨床心理学的介入に新たな地平が開かれる可能性がある。さらに、これら一連の研究により可能になった、再暴露による記憶の再活性化、消去と再固定化、消去学習後の復元、再消去といった恐怖条件づけに関する諸現象の理解自体が、臨床心理学的な介入を開発し改良する際に大きな示唆を与えるという意味でも、本研究は臨床心理学的意義のある優れた研究であるといえる。

なお、本論文（一部を含む）が掲載された主な学術論文は以下のとおりである。

- [1] Daisuke Yamada, Ko Zushida, Keiji Wada, Masayuki Sekiguchi (2009). Pharmacological discrimination of extinction and reconsolidation of contextual fear memory by a potentiator of AMPA receptors. *Neuropsychopharmacology* 34:2574-2584.
- [2] Daisuke Yamada, Keiji Wada, Masayuki Sekiguchi (2011). Facilitating actions of an AMPA receptor potentiator upon extinction of contextually conditioned fear response in stressed mice. *Neuroscience Letters* 488:242-246.
- [3] Daisuke Yamada, Etsuko Wada, Taiju Amano, Keiji Wada, Masayuki Sekiguchi (2010). Lack of neurotensin type 1 receptor facilitates contextual fear memory depending on the memory strength. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 96(3):363-369.

以上を総合すると、本論文は、博士（人間科学）の学位を授与するに十分値するものと認める。

以上