

不安障害の発現を担う神経回路の解明

東京大学大学院 薬学系研究科 薬品作用学教室
野村 洋

1. はじめに

不安障害は、様々な恐怖に対する不安によって引き起こされる精神疾患である。最も代表的なものは閉所恐怖症や対人恐怖症など、特定のものに対して極端に恐怖を感じる恐怖症である。また、予期しない発作に突然襲われるパニック障害、些細な事象を過度に気にする強迫性障害、災害や事件、事故などのトラウマ経験によって引き起こされる PTSD などが含まれる。不安障害は現代社会で多くの患者を抱える精神疾患であり、生活の質を著しく低下させる。日本における疫学調査では、生涯有病率が 9.2% であることが報告されている。また、アメリカでの継続的な大規模疫学調査では生涯有病率が 31.2% であることが発表されており、患者数は年々増加している。

不安障害に対する治療法として、抗うつ薬の SSRI（選択的セロトニン再取り込み阻害薬）や抗不安薬のベンゾジアゼピンによる薬物療法、および認知行動療法が用いられている。代表的な認知行動療法は暴露療法である。これは、恐怖の対象に段階的に暴露することで恐怖を克服させる療法である。しかし、いずれの治療法においても高い再発率が課題となっている。症状が寛解した後、3分の1以上の患者で再発することが報告されている。そのため、再発のメカニズム解明と、再発を防ぐ治療法の開発が期待されている。

恐怖条件づけを用いた研究は不安障害の治療に有用な知見を提供しており、中でも消失学習は暴露療法の科学的根拠となっている。条件づけされた恐怖反応がトレーニングによって観察されなくなる現象を恐怖の消失と呼ぶ。恐怖の消失は、条件づけ恐怖が完全に失われるのではなく、条件づけ恐怖を抑制する新たな記憶の形成によるものだと考えられている。恐怖の消失は永久ではなく、ストレスや嫌悪刺激によって再び恐怖が現れる。この恐怖の復元は不安障害の再発に関連すると考えられている。しかし、恐怖の復元に焦点を当てた研究は非常に少なく、そのメカニズムは不明である。そこで私は、恐怖の復元に関与する神経回路を特定することを目的として研究を行った。

2. 方法

文脈的恐怖条件づけを用いて恐怖の形成、消失、復元の解析を行った。実験箱にマウスを入れ、足下から弱い電気ショックを与えることで、実験箱と電気ショックの関係を学習させた。翌日、マウスを同じ実験箱に40分間暴露した（消失トレーニング）。マウスは初

め恐怖反応を示したが、次第に恐怖反応は低下した。実験箱は安全であるという新たな学習が行われたと考えられる。2日後、別な実験箱にマウスを入れ、足下から非常に弱い電気ショックを与えた。この電気ショックのみでは条件づけが成立しないことを事前に確認している。翌日、マウスを元の実験箱に暴露すると、マウスは恐怖反応を再び示すようになった。このように恐怖が復元した後に脳を摘出し、免疫組織化学染色やパッチクランプ記録を行った。

3. 結果

恐怖条件づけ、消失トレーニングを受けたマウスに、弱い電気ショックを与えることで恐怖を復元させた。恐怖の復元時に活性化する脳部位を特定するため、最初期遺伝子c-Fosの免疫組織化学染色を行った。その結果、下辺縁皮質におけるc-Fos陽性細胞の密度は恐怖を復元した時に有意に減少していた。解剖学的な研究から、下辺縁皮質は扁桃体の介在細胞を介して扁桃体中心核を抑制することが知られている。扁桃体中心核は恐怖の発現に直接関与する神経核である。この解剖学的な知見と一致するように、恐怖の復元時には扁桃体介在細胞のc-Fos陽性細胞密度が減少し、扁桃体中心核のc-Fos陽性細胞密度は上昇していた。恐怖の復元時には、下辺縁皮質－扁桃体介在細胞による扁桃体中心核の抑制が解除されることで恐怖が再び発現するようになると考えられる。

次に、下辺縁皮質の可塑性が扁桃体介在細胞や中心核の活動変化および恐怖の復元に関与するかを検証した。恐怖の復元を誘導する弱いショックを与える前に、下辺縁皮質にNMDA受容体アンタゴニストAPVを投与した。その結果、扁桃体介在細胞におけるc-Fos陽性細胞密度の減少と扁桃体中心核におけるc-Fos陽性細胞密度の上昇は抑制された。また、恐怖の復元も阻害された。下辺縁皮質におけるNMDA受容体シグナリングが扁桃体における活動変化と恐怖の復元に関与すると考えられる。下辺縁皮質は前辺縁皮質と隣接しており、前辺縁皮質も恐怖の発現への関与が知られている。そこで前辺縁皮質も恐怖の復元に関与する可能性を検証した。弱いショックを与える前に前辺縁皮質にAPVを投与した場合、恐怖の復元に影響を与えなかった。下辺縁皮質が選択的に恐怖の復元に寄与すると考えられる。

恐怖の復元の細胞基盤を明らかにするため、下辺縁皮質ニューロンからパッチクランプ記録を行った。ニューロンに電流を注入した時の発火数をカウントすることで、内因的興奮性を測定した。恐怖を消失させたマウスの下辺縁皮質ニューロンでは、電流注入時の発火数が上昇していた。しかし、恐怖が復元したマウスでは、有意な差が認められなかった。

さらに、下辺縁皮質ニューロンへのシナプス入力を測定した。テトロドトキシン存在下で自発的な興奮性のシナプス電流 (miniature excitatory postsynaptic currents, mEPSCs) を測定したところ、恐怖が復元したマウスではmEPSCsの頻度が有意に減少していた。mEPSCsの大きさは差が認められなかった。mEPSCs頻度の減少から、そのニューロンへの神経伝達物質の放出が減少している可能性が考えられる。そこでさらにPaired pulse ratioを測定した。Paired pulse ratioは連続する2回の電気刺激によって放出

されるEPSCの比であり、神経伝達物質の放出確率を反映する。Paired pulse ratioは恐怖が復元した場合、上昇していた。これらの結果から、恐怖が復元した場合、下辺縁皮質ニューロンへの神経伝達物質の放出が減少していることが明らかとなった。

4. 考察

本研究は、下辺縁皮質の活動低下が恐怖の復元に関与することを明らかにした。この活動低下は、下辺縁皮質ニューロンへのシナプス入力の減少によって生じると考えられる。そして、下辺縁皮質の活動低下は扁桃体介在細胞の活動低下を介して扁桃体中心核の抑制解除を引き起こし、恐怖が誘導されると考えられる。これまでのところ、下辺縁皮質ニューロンにおいてシナプス入力が増加する分子メカニズムは不明である。しかしこの分子メカニズムの解明により、不安障害の再発を予防する創薬のターゲットが見つかることと期待される。

5. 発表論文

Huilian Shen, Hikaru Igarashi, Natsuko Imamura, Norio Matsuki, Hiroshi Nomura*
N-methyl-D-aspartate receptors and protein synthesis are necessary for reinstatement of conditioned fear. *NeuroReport*, 2013; 24(14), 763-767.