

「精神・神経疾患の分子病態理解に基づく診断・治療へ向けた
新技術の創出」

平成19年度採択研究代表者

| |
|----------------|
| H23 年度 実績報告 |
|----------------|

井ノ口 馨

富山大学 大学院医学薬学研究部・教授

恐怖記憶制御の分子機構の理解に基づいた
PTSD の根本的予防法・治療法の創出

§1. 研究実施体制

(1)「井ノ口」グループ(富山大学)

① 研究代表者:井ノ口 馨 (富山大学大学院医学薬学研究部(医学)、教授)

② 研究項目

- ・ 恐怖記憶再固定の分子機構・脳内機構
- ・ 想起に伴う恐怖記憶の不安定化の分子機構
- ・ 麻酔薬イソフルランによる恐怖記憶の再固定化の制御
- ・ LTP の再固定化・不安定化系
- ・ 脳活動が新生神経細胞の既存回路への組み込みに与える影響の解析

(2)「喜田」グループ(東京農業大学)

① 主たる共同研究者:喜田 聡 (東京農業大学応用生物科学部、教授)

② 研究項目

動物モデルを用いた恐怖記憶制御機構の解明と PTSD 予防・治療法開発への展開

- ・ 脳内領域の同定
- ・ 脳内部位の役割の解析
- ・ 制御に関わる情報伝達経路及び遺伝子群の同定
- ・ 恐怖記憶制御時の遺伝子発現機構の解析
- ・ マウス遺伝学的手法によるニューロンネットワークの解析
- ・ PTSD モデルマウスの開発
- ・ モデルマウスの PTSD 予防・治療への応用

(3)「森信」グループ(広島大学)

① 主たる共同研究者: 森信 繁 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科、准教授)

② 研究項目

クロマチン構造の制御に基づいた新たな PTSD 治療戦略の開発

- ・ ヒストン・アセチル化の亢進を介した恐怖記憶の消去法の開発
- ・ ヒストン・アセチル化の抑制を介した PTSD 予防法の開発

(4)「金」グループ(国立精神・神経医療研究センター)

① 主たる共同研究者: 金 吉晴

((独)国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所成人精神保健研究部、部長)

② 研究項目

PTSD のエクスポージャー療法に対する増強療法の開発

- ・ D-cycloserine 投与によるエクスポージャー療法の増強効果研究
- ・ 実験的トラウマ記憶の D-cycloserine 投与による消去研究

(5)「松岡」グループ(独立行政法人国立病院機構災害医療センター)

① 主たる共同研究者: 松岡 豊

((独)国立病院機構災害医療センター統括診療部第一外来部精神科医師

* (独)国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所
成人精神保健研究部診断技術研究室長)

② 研究項目

不飽和脂肪酸による PTSD 予防法の開発

- ・ ω3 系脂肪酸の PTSD 二次予防に対する有効性を検討する二重盲検ランダム化比較試験
- ・ ω3 系脂肪酸とストレス誘発心臓血管系反応との関連
- ・ ω3 系脂肪酸の惨事ストレス軽減に対する有効性を検討するランダム化比較試験

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

全体概要

PTSD の新規治療法の開発のために恐怖記憶の再固定・消去の分子メカニズムの研究を、PTSD の新規予防法の開発のために生後脳の神経新生促進の分子メカニズムの研究を進めた。恐怖記憶の再固定・消去に関しては、恐怖記憶を不安定化・消去するメカニズムの研究と PTSD 動物モデルの開発、さらに臨床研究を行った。生後脳の神経新生促進に関しては、新生した神経細胞の神経回路網への組み込みと脳活動の関係に関する研究を進めた。また、臨床研究として外傷患者を対象にして PTSD 発症予防に対する ω3 系脂肪酸の効果を検証す

る二重盲検ランダム化比較試験（RCT）を継続して実施した。

（１）－ １ 恐怖記憶の再固定・消去の分子メカニズムに基づいた PTSD 予防・治療法の開発

・動物モデルを用いた研究

ラット海馬の *in vivo* 長期増強（LTP）を用いて、恐怖記憶で観察される再固定化に類似の現象が測定できる系の開発を継続した。本年度は、LTP が成立した後に、神経活動依存的に LTP が不安定化する系を開発した。LTP 誘導 3 日後にタンパク質合成阻害剤存在下で 0.05 Hz のテストパルスを与えることで、LTP が不安定化することを見いだした。この系が開発できたことで、想起に伴う恐怖記憶の不安定化の分子メカニズムを解析することができるようになった。また、タンパク質分解系のオートファジーが、想起に伴う恐怖記憶の不安定化に関与している可能性を検討した結果、神経活動に伴い神経細胞でオートファジーが活性化され AMPA 型グルタミン酸受容体が分解されることを見いだした。また、麻酔薬イソフルランが恐怖記憶の再固定化を阻害するか否かを検討したが、現在までのところ効果は認められていない。

Vorinostat 投与による恐怖記憶の消去促進に関与する遺伝子を探索する目的で、 Chip-Sequencing 法を用いて本剤によってラット海馬で発現の顕著に変動する遺伝子をゲノムワイドに探索した結果、記憶機能に関連している遺伝子として **Presynaptic cytomatrix protein, carboxypeptidase E** が抽出された。 **Serotonin transporter** 遺伝子エクソン 1 のプロモーター上の CpG アイランド及びショアの DNA メチル化を、Michigan 大学との共同研究から得た PTSD 及び健康者の末梢血由来 DNA を用いて MassARRAY による解析に着手した。

前脳特異的に CREB を活性化させたマウスを、様々な恐怖記憶パラダイムに供して、野生型マウスに比較して強固な恐怖記憶を形成する PTSD モデルを開発した（５）。また、受動的回避反応課題においても、野生型マウスが恐怖記憶を思い出すだけで、恐怖記憶が強化される PTSD モデル実験系を開発した。これらの系を利用して、恐怖記憶強化の分子基盤の解析を進めると共に、恐怖記憶制御時の海馬、扁桃体と前頭前野におけるニューロンと分子群の役割を解析し、さらに領野間の階層性を解析して、恐怖記憶制御時の神経ネットワークを明らかにした。

・臨床研究

NMDA アゴニストである D-サイクロセリン（DCS）および HDAC 阻害剤であるバルプロ酸のヒトの恐怖条件付け記憶消去学習への効果を検討し、両薬剤ともに再発刺激に対する脆弱性の改善に有効性を示した（10）。現在、この学習効果が記憶固定化に重要である睡眠との関連性を追加検討中である。さらに、この薬理効果が恐怖条件付けにとどまらず、一般的な記憶への般化可能性を検討した（9, 12）。また PTSD への持続エクスポージャー療法に対する DCS の増強効果を検証するための RCT を実施し、目標例数の 8 割の組み込

みを達成した。

(1) - 2 生後脳の神経新生促進の分子メカニズムに基づいた PTSD 予防・治療法の開発

・動物モデルを用いた研究

これまでの研究で、生後脳海馬の神経新生が、海馬に蓄えられた恐怖記憶の消去を促進することが明らかとなった。新生神経細胞は新たなシナプス結合を作ることで既存の神経回路網に組み込まれ、海馬の恐怖記憶の消去に関わっていると思われるため、昨年度に引き続き、脳活動が新生神経細胞の既存回路への組み込みにどのような影響を与えるのかを解析した。新生後 12 日程度の若い神経細胞が脳活動に大きく反応し、その後の神経回路網への組み込みが促進された。この時期の若い神経細胞が、海馬からの恐怖記憶の消去に関わっていることが示唆された。

・臨床研究

ω3 系脂肪酸による外傷患者の PTSD 二次予防を目的としたプラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験を継続実施した。平成 23 年 12 月末までに必要症例 140 例中 89 例(63.5%)を登録した。オープン試験の二次解析より、PTSD 発症者は、非発症者に比して驚愕刺激に対してより大きな生理学的反応を示すことが示された(17)。東日本大震災被災地に派遣された緊急医療援助隊の惨事ストレス緩和を目的とした単盲検ランダム化並行群間比較試験を行った(13)。対象者全体では ω3 系脂肪酸に予防効果は認められなかったが、女性では、ω3 系脂肪酸を内服した人は内服しなかった人に比べて PTSD 症状が軽減した(20)。緊急医療援助隊のうち、救援活動直後の感情的苦痛が大きかった人と、震災 1 ヶ月後のテレビ視聴時間が長かった人で、震災 4 ヶ月後の PTSD 症状が強いことを見出した(19)。緊急医療援助隊のうち、原発事故に伴う放射線被曝を心配した人では、そうでない人に比べて PTSD 症状・抑うつ症状が強いことを見出した(16)。魚食頻度の高い者は、ストレス負荷時の平均血圧と心拍数が有意に低いことが分かった。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Kitamura T., Okubo-Suzuki R., Takashima N., Murayama A., Hino T., Nishizono H., Kida S., and Inokuchi K. (2012) Hippocampal function is not required for the precision of remote place memory. *Mol Brain*, 5, 5. (DOI:10.1186/1756-6606-5-5)

2. Kataoka M, Yamamori S, Suzuki E, Watanabe S, Sato T, Miyaoka H, Azuma S, Ikegami S, Kuwahara R, Suzuki-Migishima R, Nakahara Y, Nihonmatsu I, Inokuchi K, Katoh-Fukui Y, Yokoyama M, and Takahashi M, “A Single Amino Acid Mutation in SNAP-25 Induces Anxiety-Related Behavior in Mouse”, *PLoS One*, 6, e25158, 2011 (DOI: 10.1371/journal.pone.0025158)

3. Yamamoto K, Ueta Y, Wang L, Yamamoto R, Inoue N, Inokuchi K, Aiba A, Yonekura H, and Kato N, “Suppression of a neocortical potassium channel activity by intracellular amyloid- β and its rescue with homer1a”, *J Neurosci*, 31, 11100-11109, 2011 (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6752-10.2011)

4. Hosoda H, Miyao T, Uchida S, Sakai S, and Kida S, “Development of tightly regulated tetracycline-dependent transcriptional activator and repressor co-expression system for the strong induction of transgene expression”, *Cytotechnology*, 63, 211-216, 2011 (DOI:10.1007/s10616-011-9335-z)

5. Suzuki A, Fukushima H, Mukawa T., Toyoda H, Wu LJ, Zhao M-G, Xu H, Shang Y, Endoh K, Iwamoto T, Mamiya N, Okano E, Hasegawa S., Mercaldo V, Zhang Y, Maeda R, Ohta M, Josselyn, SA, Zhuo M, and Kida S, “Up-regulation of CREB-mediated transcription enhances both short- and long-term memory”, *J. Neurosci.* 31, 8786-8802, 2011 (DOI: 10.1523/ JNEUROSCI.3257-10.2011)

6. Hosoda H, Tamura H, Kida S, and Nagaoka I, “Transcriptional regulation of mouse TREM-1 gene in RAW264.7 macrophage-like cells”, *Life Sci.* 89, 115-22, 2011 (DOI: 10.1016/j.lfs.2011.05.007.)

7. Takei S, Morinobu S, Yamamoto S, Fuchikami M, Matsumoto T, Yamawaki S,

“Enhanced hippocampal BDNF/TrkB signaling in response to fear conditioning in an animal model of posttraumatic stress disorder”, *J Psychiatric Res*, 45, 460-468, 2011 (DOI: 10.1016/j.jpsychires.2010.08.009)

8. Kuriyama K, Honma M, Shimazaki M, Horie M, Yoshiike T, Koyama S, and Kim Y. “An N-methyl-D-aspartate receptor agonist facilitates sleep-independent synaptic plasticity associated with working memory capacity enhancement”, *Sci Rep*. 1, 127, 2011 (DOI: 10.1038/srep00127)

9. Honma M, Tanaka Y, Osada Y, and Kuriyama K, “Perceptual and not physical eye contact elicits pupillary dilation”, *Biol Psychol*, 89, 112-116, 2011 (DOI: 10.1016/j.biopsycho.2011.09.015)

10. Kuriyama K, Honma M, Soshi T, Fujii T, and Kim K, “Effect of D-cycloserine and valproic acid on the extinction of reinstated fear-conditioned responses and habituation of fear conditioning in healthy humans: A randomized controlled trial”, *Psychopharmacology (Berl)*, 218, 589-597, 2011 (DOI 10.1007/s00213-011-2353-x)

11. Kuriyama K, Honma M, Koyama S, and Kim Y, “D-cycloserine facilitates procedural learning but not declarative learning in healthy humans: a randomized controlled Trial of the effect of D-cycloserine and valproic acid on overnight properties in the performance of non-emotional memory tasks”, *Neurobiol Learn Mem*, 95, 505-509, 2011 (DOI 10.1016/j.nlm.2011.02.017)

12. Kuriyama K, Mishima K, Soshi T, Honma M, and Kim Y, “Effects of sex differences and regulation of the sleep-wake cycle on aversive memory encoding”, *Neurosci Res*, 70, 104-110, 2011. (DOI: 10.1016/j.neures.2011.01.012)

13. Yutaka Matsuoka, Daisuke Nishi, Naoki Nakaya, Toshimasa Sone, Kei Hamazaki, Tomohito Hamazaki, and Yuichi Koido, “Attenuating posttraumatic distress with omega-3 polyunsaturated fatty acids among disaster medical assistance team members after the Great East Japan Earthquake: The APOP randomized controlled trial”, *BMC Psychiatry*, 11, 132, 2011 (DOI: 10.1186/1471-244X-11-132)

14. Kenta Matsumura, Hiroko Noguchi, Daisuke Nishi, and Yutaka Matsuoka, “Effect of omega-3 fatty acids on the psychological assessment for secondary prevention of

posttraumatic stress disorder: an open-label pilot study”, *Global J Health Science*, 4, 3-9, 2012 (DOI: 10.5539/hjhs.v4nlps3)

15. Nomoto, M., Takeda, Y., Uchida, S., Mitsuda, K., Enomoto, H., Saito, K., Choi, T., Watabe, A.M., Kobayashi, S., Masushige, S., Manabe, T. & Kida, S. Dysfunction of the RAR/RXR signaling pathway in the forebrain impairs hippocampal memory and synaptic plasticity. *Mol. Brain*. 5, 8 (2012). (Doi: 10.1186/1756-6606-5-8)

16. Matsuoka Y, Nishi D, Nakaya N, Sone T, Noguchi H, Hamazaki K, Hamazaki T, Koido Y: Concern over radiation exposure and psychological distress among rescue workers following the Great East Japan Earthquake. *BMC Public Health* 2011 March 28, 12:249 [doi:10.1186/1471-2458-12-249]

17. Komachi M, Kamibeppu K, Nishi D, Matsuoka Y: Secondary traumatic stress and associated factors among Japanese nurses working in hospitals. *Int J Nurs Practice* 18(2):155-163, 2012. [doi: 10.1111/j.1440-172X.2012.02014.x.]

18. 栗山健一: 精神ストレスの遷延防止-PTSD の発症・悪化防止の為の睡眠医療-. 特集 睡眠医療と精神医療のリンケージによる効果的な治療プログラムの提案. *精神神経学雑誌* 114(2): 136-143, 2012.

19. Nishi D, Nakaya N, Sone T, Noguchi H, Hamazaki K, Hamazaki T, Koido Y, Matsuoka Y: Peritraumatic Distress, Watching Television and Posttraumatic Stress Symptoms among Rescue Workers after the Great East Japan Earthquake. *PLoS ONE* (in press)

20. Nishi D, Nakaya N, Sone T, Noguchi H, Hamazaki K, Hamazaki T, Koido Y, Matsuoka Y: Fish oil for attenuating posttraumatic stress symptoms among rescue workers after the Great East Japan Earthquake: A randomized controlled trial. *Psychotherapy and Psychosomatics* (in press)