

## 研究マインド支援グラント 報告書

平成27年度 研究マインド支援グラント(若手) 報告書

## 扁桃体依存的な恐怖条件付け記憶に対する断眠ストレスの影響に関する研究

研究代表者 橋爪 幹 (医学部 生化学)

## 緒 言

扁桃体は動物の情動を司る脳部位であり、特に恐怖・不安やストレスなどの負の情動との関わりについて多くの研究が行われてきた。古典的な恐怖条件付け実験では、ネズミに音を聴かせながら電気ショックを与えると、翌日には音を聴かせるだけで硬直状態に陥ることが確認されている。そして硬直時間を計測することで恐怖記憶獲得の程度を測る指標としてきた。またこの操作は扁桃体基底外側核の錐体細胞と、聴覚情報を伝える視床由来の入力線維との間に長期増強を引き起こすことが知られており、恐怖記憶獲得の細胞モデルであると考えられている。また、動物は電気ショックを与えられた場所のことを強く記憶しており、電気ショック負荷の翌日に同じ実験用ケージに入れると、やはり長い時間硬直する様子が観察される。この現象には扁桃体だけでなく空間記憶を司る海馬も関係していることが知られている。

扁桃体と海馬はともに大脳辺縁系に属しており、また相互に神経軸索を送り合っている。それゆえ、恐怖条件付け記憶の想起時にこの2つの部位から細胞外記録を行うと、 $\theta$ 帯域(4-8 Hz)のオシレーション活動の同期が上昇していることが知られている。一方、個々の扁桃体基底外側核の錐体細胞は周囲の抑制性介在ニューロンから周期的な入力を受け取っている。この自発性の抑制性オシレーション活動(0.1-3 Hz)は複数の錐体細胞間で同期していて、発生・維持には外部ではなく内部の興奮性入力を必要としている。最近、我々の研究室ではこのオシレーション活動が断眠ストレス負荷によって減弱することを示してきた。この現象が扁桃体機能にどのような生理的意義をもたらしているかはいまだ解明されていないが、海馬との関わりから記憶の固定などに影響を与えているのではないかと予想される。

本研究ではラットの恐怖条件付け学習が、条件付けの前後において断眠ストレス負荷による扁桃体の抑制性オシレーション減弱が誘発された場合に、どのような影響を受けるのかを解析する。それによってオシレーション活動の生理的意義について考察することを試みる。

## 材料と方法

全ての実験は埼玉医科大学動物実験指針に従い、埼玉医科大学動物実験委員会の承認を得て行われた。実験動物の使用数は必要最小限となるように努めた。

生後2-3週齢のラットをFear Condition実験用ケージに入れ、3分間自由に行動しているときの様子をビデオカメラで撮影した。その後卓上型ショッカースクランブラーを使って1mA、1秒間の電気ショックを与え、それを7-15秒間隔で10回繰り返した。電気ショック終了後、ラットを再び3分間自由に行動させた後で本来の飼育ケージに戻した。それから24時間後、ラットを再びFear Condition実験用ケージに入れて3分間自由行動させ、その様子をビデオカメラで撮影し、電気ショック負荷前と負荷1日後の動画から動物の硬直時間を計測した。そして3分の自由行動時間に対する硬直時間の割合を算出して比較した。また一部のラットは恐怖条件付け実験を行う前、あるいは行った後のいずれかの時間に断眠ストレスを負荷した。断眠ストレスは水深2-3cmの水と、同じ高さの小型プラットフォーム(直径4cm程度)を設置した飼育ケージにラットを3時間居住させることによって行った。なお断眠の後に恐怖条件付け実験を行う場合は、ラットを乾かすために本来の飼育ケージに10分間居住させ、それからFear Condition実験用ケージに入れた。

## 結 果

ラットをFear Condition実験用ケージに入れて3分間自由に行動させると、新規の環境に対して盛んに探索行動を行っていた。具体的にはケージの壁に沿って歩行・走行し、ケージの隅に鼻先を突き込みながらヒゲを盛んに動かして空間を認知し、後肢で立ち上がって垂直方向を探索し、あるいは移動を停止してグルーミング(毛づくろい行動)を行っていた。一方、電気ショック刺激による恐怖条件付け操作を行った後のラットでは、その24時間後に実験用ケージに入れたときにこのような行動をしている時間が著しく減少し、身体をまったく動かさない硬直時間が1日目と比較して有意に上昇した(図1)。

次に恐怖条件付け学習と断眠ストレス負荷を同時に

行ったグループを解析すると、学習を行ってから断眠したラットは恐怖記憶が正常に形成されていた一方、断眠を行ってから学習を経験したラットでは記憶の形成が充分ではなく、硬直時間が有意に減少していた。

## 考 察

本研究の結果、ラットの文脈依存的な恐怖条件付け記憶は、その直前に断眠ストレスを受けていた場合にのみ、定着しにくくなることが明らかとなった。一方で学習後に断眠ストレスを負荷した場合には記憶の定着に影響が

なかったことから、扁桃体基底外側核の抑制性オシレーションは記憶の獲得時において、正常な活動レベルが保たれている必要があると考えられる。

また恐怖記憶の獲得と抑制性オシレーションの関係について、現時点では記憶の獲得とパワーの減少は関連のある要素なのか、まったく独立の現象であるのかは区別できない。今後は記憶獲得の程度（硬直時間の長さ）とパワーの大きさとの間に相関関係があるかどうかを詳細に分析していく予定である。

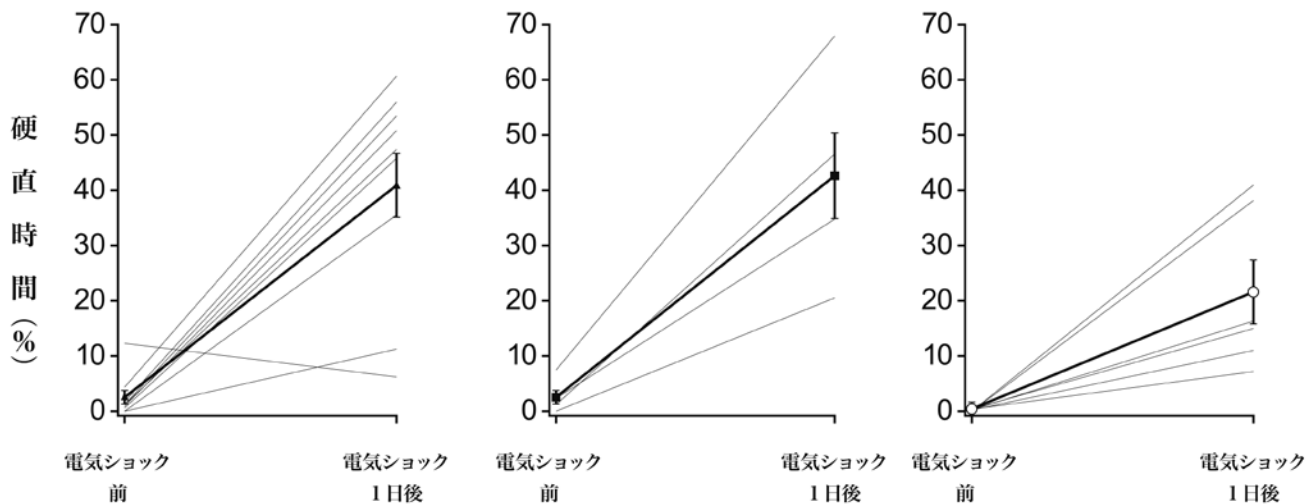


図 1. 電気ショック負荷前後の硬直時間。硬直時間は180秒間の全撮影時間あたりのラットの停止時間で表示した。それぞれ恐怖条件付け学習のみを行った9匹（左）、学習後に3時間断眠を行った5匹（中央）、学習前に3時間断眠を行った6匹（右）のデータと、その平均値をグラフに示している。