

【目的】 恐怖記憶は生存に必須な記憶であるが、忘れられない強固な恐怖記憶は時として心的外傷後ストレス障害 (PTSD) などの恐怖関連疾患に結びつく。現在の PTSD 治療薬は極めて限定的で、日本や米国で承認されている薬物はセロトニン選択的再取り込み阻害薬 (SSRI) であるセルトラリンとパロキセチンのみである。SSRI は効果発現までに 2 週間以上要することや治療抵抗性の患者が約 30%存在するため、SSRI 以外の分子を標的とした新規治療薬の開発が切望されている。現在、恐怖関連疾患に対する新規治療薬の標的分子の探索は、恐怖関連疾患の治療理論モデルである恐怖消去課題を用いて精力的に行われている。我々は、これまでに恐怖関連疾患の有病率が男性に比べて女性で約 2 倍高いことに注目し、恐怖消去の性差とその分子機構の解明に向けて研究を行ってきた。その成果として、雌マウスは雄マウスに比べて恐怖消去課題抵抗性を示すことを見出した。さらに、『雌マウスは雄マウスに比べて背側海馬内 CCL5-CCR5 経路が活性化しており、それが原因で恐怖消去抵抗性を示す』という仮説を得た。そこで、本研究は我々の仮説を検証するとともに、CCL5-CCR5 を標的とした新規治療方策 (新規治療薬と分子マーカー) の可能性を探ることを目的とした。

【方法】 1. 恐怖消去の性差に対する背側海馬内 CCL5-CCR5 の関与の検討：雌雄の C57BL/6J マウスをフットショックが流れる箱に入れ、フットショック (0.75 mA, 2 秒間) を 3 回与え、恐怖条件づけを行った。翌日、雌マウスに対しては CCR5 拮抗薬であるマラビロク (0.5 or 1 μ g/site) を、雄マウスに対しては recombinant CCL5 (10 or 20 ng/site) を背側海馬へ投与した。投与の 30 分後に恐怖消去として、フットショックを受けた箱へマウスを 20 分間入れた。この薬物投与と恐怖消去の組み合わせを合計 5 日間実施した。その後、薬物投与部の確認用に 0.5%エオジンを背側海馬に投与し、抜脳した。摘出した脳を 40 μ m の切片とし、エオジンによる染色範囲から、薬物投与部を同定した。恐怖条件づけ時及び恐怖消去時に示したすくみ反応 (% freezing) を恐怖記憶の指標として解析した。2. 腹腔内 CCR5 拮抗薬投与による雌雄の恐怖消去促進効果の検討：薬物投与方法を腹腔内投与に変更したことを除いて、実験 1 と同様の方法で恐怖消去課題を行い、薬物効果を解析した。なお、マラビロクの投与濃度は 20 mg/kg とした。3. 恐怖消去後の雌雄の背側海馬内と血漿中 CCL5 量の相関解析：恐怖消去後の生体内 CCL5 濃度の解析として、実験 1 と同じ方法で 5 日間の恐怖消去を行い、最後の恐怖消去の 1 時間後に背側海馬と血漿を採取した。背側海馬内 *Ccl5* mRNA 量は real time RT-PCR 法を、血漿中 CCL5 量は ELISA 法を用いて解析した。

【結果】 マラビロク (1 μ g/site) を投与することで雌マウスの恐怖消去時の % freezing が低下し、恐怖消去が促進した。一方、今回の濃度の recombinant CCL5 を投与しても雄マウスの恐怖消去時の % freezing は影響を受けなかった。背側海馬内投与と異なり、マラビロク (20 mg/kg) の腹腔内投与では、雌マウスの恐怖消去時の % freezing が増加し、恐怖消去が抑制された。背側海馬内 *Ccl5* mRNA 量と血漿中 CCL5 量の間に相関はなかった。

研究成果に基づく恐怖消去の性差を担う分子機構の仮説

