

論文内容要旨

**Vorinostat ameliorates impaired fear extinction
possibly via the hippocampal NMDA-CaMKII pathway
in an animal model of posttraumatic stress disorder**

(Vorinostat は外傷後ストレス障害の動物モデルにおいて、
おそらく海馬の NMDA-CaMKII 経路を介して、恐怖記憶
の消去障害を改善する)

Psychopharmacology, 2013, in press.

主指導教員：山脇 成人教授
(応用生命科学部門 精神神経医科学)
副指導教員：小澤 孝一郎教授
(応用生命科学部門 治療薬効学)
副指導教員：森信 繁特任教授
(応用生命科学部門 精神神経医科学)

松本 康貴

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

Vorinostat ameliorates impaired fear extinction possibly via the hippocampal NMDA-CaMKII pathway in an animal model of posttraumatic stress disorder

(Vorinostat は外傷後ストレス障害の動物モデルにおいて、おそらく海馬の NMDA-CaMKII 経路を介して、恐怖記憶の消去障害を改善する)

【背景】外傷後ストレス障害(PTSD)は強い外傷体験に暴露されることによって引き起こされ、その動物モデルとしては拘束・強制水泳・エーテル麻酔というストレスを連続して負荷する Single prolonged stress(SPS)がある。SPS 負荷を受けたラットは、視床下部-下垂体-副腎皮質(HPA)系のネガティブフィードバックの過剰抑制がみられ、PTSD 患者で見られる内分泌機能障害を伴っている。また、驚愕反応の亢進、文脈的恐怖記憶の亢進、痛覚刺激に対する閾値の亢進などの行動がみられる。以上のような実験結果から、現在では妥当な PTSD 動物モデルの1つとみなされている。PTSD の病態には恐怖記憶の消去障害の関与が示唆されており、恐怖記憶消去を促進するアプローチは新規治療法開発につながると考えられる。同時に、記憶の消去にはヒストンのアセチル化が関与することが知られている。今回我々は PTSD の新規治療法の開発を目的に、恐怖記憶の消去が障害されている SPS ラットに対して、抗がん剤として使用されているヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬である Vorinostat(VS)を用いて、恐怖記憶の消去障害に対する効果を検討した。

【方法】8週齢のラットを用いて1週間の馴化の後 SPS 負荷を行い、フットショック(FS)による文脈的恐怖条件付け(FC)を施行した。SPS ラットを、空間的な文脈記憶としてのチャンパーボックス(CB)(条件刺激)と、FS(非条件刺激)を関連付けた FC 後に、条件刺激である CB 内に FS 無しで暴露して恐怖記憶の消去を誘導した。SPS ラットを FS 装置の付いた CB に入れ、180秒後に 0.8 mA、4秒間の FS を与えた。その後、恐怖記憶消去訓練 (ET: Extinction training) を目的として、暴露 24、48 時間後に同じ CB に FS 無しで 20 分間暴露した。VS (50 mg/kg)は 2 回目の文脈的暴露直後に腹腔内に単回投与し、投与 24 時間後に恐怖記憶消去の程度を評価するために、すくみ行動の時間を計測した(n=10)。次に、VS 投与 2 時間後に海馬を摘出し、ヒストン・アセチル化を Western blot 法(WB)を用いて解析した(n=10)。さらに、real-time PCR 法と WB を用いて NMDA 受容体の発現を解析した(n=10)。加えて、WB を用いて CaMKII の発現を解析した(n=10)。統計分析は、スチューデント t 検定もしくは分散分析/多重比較検定を行った。

【結果】VS の恐怖消去に対する効果を検討した行動実験において、ET を受けた VS 投与群は ET を受けた非投与群と比較して、本剤投与 24 時間後の時点で有意にすくみ行動の減少(p<0.05)を示した。さらに VS 投与による有意なすくみ行動の減少には、VS 投与前の ET を必要としていた(p<0.05)。ヒストン H3 及び H4 のアセチル化 (Ac-H3、Ac-H4) を解析したところ、VS 投与群で有意な亢進(p<0.05)を認めた。NMDA 受容体の各サブタイプの mRNA 発現を解析した結果、VS 投与群で NR2B mRNA 発現の有意な亢進(p<0.05)が得ら

れ、WB による解析から NR2B タンパク発現の有意な亢進($p<0.05$)も得られた。さらに、NR2B と共役して長期記憶増強などに関与する CaMKII のタンパク発現を解析したところ、VS 投与群で CaMKII α および CaMKII β の有意な亢進($p<0.05$)を認めた。

【考察】行動実験の結果から、ET が恐怖記憶消去に必要であることが分かり、さらに ET 過程での VS 投与は、SPS ラットの恐怖記憶消去の障害を修復させることがわかった。修復効果は、HDAC 阻害薬 VS によってヒストン H3、H4 のアセチル化が亢進し、それに伴い海馬 NR2B 受容体や CaMKII 発現が増加したことに関係していると考えられる。これまでに VS が恐怖記憶消去の促進に関与したという報告はあったが、PTSD モデルである SPS ラットを用いての報告は本研究が初めてである。また、今回検出した NR2B および CaMKII の発現亢進は、恐怖記憶消去という安全な新しい記憶形成の促進に関与したと考えられる。以上の事から、PTSD 動物モデルであり恐怖記憶の消去が障害された SPS ラットにおいて、VS が HDAC 阻害作用を介して恐怖記憶の消去を修復すると言える。今回の実験結果から、VS の投与と、恐怖記憶消去訓練に該当する暴露療法の組み合わせが、恐怖記憶の消去障害に対して有効となる可能性が示唆され、PTSD の新規治療法の提唱につながると考えられる。