

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	松本 康貴
学位授与の要件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
<p>Vorinostat ameliorates impaired fear extinction possibly via the hippocampal NMDA-CaMKII pathway in an animal model of posttraumatic stress disorder</p> <p>（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）</p>			
論文審査担当者			
主査教授	橋本 浩一		
審査委員教授	酒井 規雄		
審査委員教授	松本 昌泰		
〔論文審査の要旨〕			
<p>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。さらに、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。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が新規治療法開発に必須であると仮定し、本研究では 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) 阻害薬の Vorinostat (VS) を用い、恐怖記憶の消去障害に対する効果を検討した。</p> <p>実験は8週齢の雄ラットを用いて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</p>			

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。

結果は以下のごとくまとめられる。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) の解析では、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 発現の解析では、VS 投与群で NR2B mRNA 発現の有意な亢進 ($p < 0.05$) が得られ、NR2B タンパク発現の有意な亢進 ($p < 0.05$) も認めた。さらに、NR2B と共役して長期記憶増強などに関与する CaMKII のタンパク発現の解析では、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。

本研究において、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示され、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示された。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、今回検出された 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結論づけた。

以上の結果から、本論文は未解明である SPS ラットへの VS のヒストン・アセチル化作用に注目し、恐怖記憶の消去障害に対する VS の作用機序を明らかにしたものであり、臨床精神医学の発展に資する研究である。よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。