

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	片岡 努
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目			
<p>Combined brain-derived neurotrophic factor with extinction training alleviate impaired fear extinction in an animal model of post-traumatic stress disorder （恐怖記憶の消去訓練時に脳由来神経栄養因子を投与することで、外傷後ストレス障害（PTSD）モデル動物における恐怖記憶の消去障害が軽減する）</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	橋本 浩一	印
審査委員	教授	相澤 秀紀	
審査委員	教授	丸山 博文	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>近年、外傷後ストレス障害（PTSD）の病態形成において、恐怖記憶の消去（Extinction: Ext）障害が密接に関与することが提唱されている。このような観点から PTSD の治療では、恐怖記憶の消去（安全な記憶に置き換える）を目的として、認知行動療法が注目されている。しかしながら、PTSD 治療の第一選択薬である選択的セロトニン再取り込み阻害薬は本障害の Ext 障害には有効ではなく、Ext 障害の正確な機序も明らかになっておらず、有効な治療方法はまだ確立されていない。脳局所の破壊実験や神経活動操作から、Ext には内側前頭前野（mPFC）の中でも Infralimbic（IL）領域の神経可塑性が必要であることが報告され、Peters らにより通常飼育ラットの Ext には、海馬での BDNF 産生と IL mPFC での BDNF の作用が必要であることが報告されているが、PTSD における Ext 障害に対して BDNF が及ぼす影響は明らかになっていない。このため本研究では Liberzon らが提唱した PTSD モデルである、Single Prolonged Stress（SPS）負荷ラットを用いて、PTSD の恐怖記憶の消去障害における海馬－内側前頭前野での BDNF の機能を明らかにすべく、BDNF の発現の検討と脳局所への BDNF 投与を行い、行動解析と BDNF 発現変化、BDNF 投与後の受容体（TrkB）のリン酸化の測定を中心に行った。なお、SPS ラットは、視床下部－下垂体－副腎皮質系の過剰抑制や不安・驚愕反応の亢進及び stress-induced analgesia など、PTSD 患者の臨床特徴を持った動物モデルである。</p> <p>10 週齢の雄性 SD ラットを用いた。SPS 負荷として、拘束ストレス 2 時間・強制水泳 20 分・エーテル深麻酔に連続暴露した後、7 日間の無接触期間を与えた。恐怖条件付け（FC）は、ケージ（空間記憶）とフットショック（0.8mA, 4sec を 2 回）を連合させることにより行った。FC の翌日に Ext トレーニングとしてフットショックを与えず同じケージに暴露し、翌々日に Ext テストとして同様の暴露を行った。Ext トレーニングとテストの実施期間におけるすくみ時間を計測し、FC による恐怖記憶の消去の指標とした。FC による恐怖記憶の消去に対する BDNF の効果を解析するため、BDNF の IL および海馬、Prelimbic（PL）への局所投与を行った。SPS 負荷の 1 週前に定位脳手術を行い BDNF 投与のためのカニューラを挿入した。これらのラットに FC を行い、翌日 Ext トレーニングの 60 分前にカニューラから BDNF を IL、海馬、PL にそれぞれ 0.75 μg/0.5 μL/side で 0.1 μL/min で投与した。その後 Ext トレーニングと Ext テストを行い、SPS 負荷群、Sham 群での BDNF 投与によるすくみ行動時間の変化を解析した。さらに、BDNF の発現の検討のため、FC を行った 24 時間後に脳摘出し、ELISA を用いて BDNF タンパク量を測定した。TrkB のリン酸化の評価のため、Ext トレーニング時点でのラット脳を灌流固定し、免疫組織染色を行い、リン</p>			

酸化された細胞数をカウントした。

SPS 負荷により mPFC および海馬における BDNF 発現量は有意に減少したが、小脳での BDNF 発現量は変化がなかった。Sham 群への BDNF 投与は、IL および海馬への投与により Ext トレーニングの際よりすくみ行動時間の有意な減少を認め、Ext テストにおいても有意な減少が見られた。SPS 群への BDNF 投与は、IL へ投与した際のみ Ext テストにおいてすくみ行動時間を有意に減少させたが、PL および海馬への投与では有意な減少は見られなかった。また SPS 群に Ext トレーニングなしで BDNF 投与を行ってもすくみ行動時間の有意な減少は起こらなかった。TrkB のリン酸化は、BDNF 投与を行わなければ SPS 群で有意に減少し、SPS 群、Sham 群ともに BDNF 投与で有意に増加した。SPS 群に BDNF を投与すると、Sham 群に BDNF を投与した場合と比較し、有意差を認めなかった。

SPS ラットでみられたすくみ行動時間の亢進は、PTSD でみられる恐怖記憶の消去障害を示すと思われ、本モデルが行動学的に PTSD モデルとして有用であることを示唆した。また SPS ラットでは BDNF 発現量が有意に減少していた。SPS ラットの IL に BDNF を投与し、恐怖記憶の消去訓練を行うとすくみ行動時間の減少を認めたことは、恐怖記憶の消去のプロセスに BDNF が重要であることを示唆すると考えられた。これまで未処置のラットに恐怖条件付けを行い、BDNF 投与することですくみ行動の改善を認めたことが報告されているが、PTSD モデル動物に対する効果についての報告はない。本研究においては、BDNF 投与のみではすくみ行動の改善は認めず、恐怖記憶の消去訓練を行うことが恐怖記憶の消去障害の改善には必要であった。PTSD でみられる恐怖記憶の消去障害の改善には、減少している BDNF を補うことと、消去訓練を行うこと、これら 2 つの介入を連続的に行うことが必要であると推測された。さらに、SPS ラットではラットの IL に BDNF 投与を行うと BDNF の受容体である TrkB のリン酸化を顕著に増加させた。本研究の結果は、BDNF シグナル伝達の低下が SPS ラットにみられる Ext 障害に関与している可能性があり、BDNF と TrkB 間のシグナル活性化が Ext 障害の新規治療戦略である可能性を示唆するものと思われた。

以上のように、本論文は PTSD の重要な病態を明らかにし、新規治療法の開発に寄与する優れた論文である。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものとした。