

## 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	大村 淳
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Chemogenetic activation of the mPFC alleviates impaired fear memory extinction in an animal model of PTSD (内側前頭前野皮質の化学遺伝的賦活は、PTSD 動物モデルにおける恐怖記憶の消去障害を軽減する)			
論文審査担当者			
主査	教授	相澤 秀紀	印
審査委員	教授	丸山 博文	
審査委員	准教授	飯田 幸治	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>近年、恐怖記憶の消去過程 (Extinction : Ext) の障害は PTSD の病態における中核的な症状と考えられているが、その脳内メカニズムは解明されておらず、十分に有効な治療的介入法も確立されていない。脳局所の破壊実験や神経活動に影響を及ぼす薬物の局所投与実験などから、消去の過程には扁桃核、腹側海馬、及び内側前頭前野皮質 (Medial prefrontal cortex: mPFC) が関与し、特に下辺縁皮質 (Infralimbic cortex : IL) 領域の神経活動の亢進が必要である事が報告されている。本研究では、Ext 障害を呈する PTSD モデルである Single Prolonged Stress (SPS) ラットを用いて、IL の興奮性神経細胞の賦活による Ext 障害の改善効果を検証した。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ストレス誘発鎮痛など、PTSD 患者の臨床特徴を持った動物モデルである。</p> <p>全ての実験には雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。Ext の評価は、初日に恐怖条件付け [Foot Shock (FS) を 2 回] を行い、翌日に FS 無しで同じケージに暴露する Ext 訓練を行い、翌々日には同様の暴露を行う Ext 試験を行い、すくみ時間を計測した。神経細胞の賦活には化学遺伝的手法である DREADDs (designer receptors exclusively activated by designer drugs) を用いた。興奮性神経細胞に極めて優位に発現する Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II<math>\alpha</math> のプロモーター配列を組み込んだ Adeno-associated virus を用いて、Clozapine-N-Oxide (CNO) によって特異的に活性化する human M3 muscarinic cholinergic Gq-coupled receptor を mPFC に遺伝子導入し、Ext 訓練の直前に CNO を腹腔内投与して mPFC を賦活した。まず通常飼育 (Sham) ラットの mPFC を賦活し、Ext を促進するために適切な賦活のタイミング、脳部位を検討した。その後、Sham ラットを用いて設定した適切な賦活条件を適用し、SPS ラットの Ext 障害に対する IL 賦活の影響を検証した。続いて、IL 賦活による Ext の促進効果、SPS ラットの Ext 障害と IL 賦活によるその改善効果の機序を検討するため、multi-unit recording を用いて Sham ラット、SPS ラットそれぞれの IL 錐体細胞の電気活動を測定した。加えて、TUNEL 法を用いて SPS ラットにおける mPFC 領域のアポトーシスを解析した。</p> <p>Sham ラットの mPFC 賦活では、IL の賦活を Ext 訓練と組み合わせた場合のみ Ext を促進させる効果を認め、IL に近接する前辺縁皮質賦活では Ext の促進効果は認めなかった。IL 賦活による Ext 促進効果は、Sham ラットでは Ext 訓練、Ext 試験で共に認めたが、SPS ラットでは Ext 試験でのみ認めた。IL の興奮性神経細胞の活動は、非刺激時点では Sham 群と SPS 群において有意な変化を認めなかったが、DREADDs によって賦活される神経活動の亢進レベルが SPS で有意に低下していた。また、SPS ラットの Ext 訓練直前時点での IL の神経細胞のアポトーシス亢進を認めた。</p> <p>Sham ラットにおいて光遺伝学を用いた IL 賦活によって Ext が促進されることが報告されており、本研究で用いた化学遺伝学による賦活でも同様に IL 賦活によって Ext 促進効果が示された。これに対し、SPS ラットでは IL 賦活による Ext 促進効果は限定的であった。この効果の差異には、本研究で示された SPS による IL でのアポトーシス増加と神経興奮性の低下が寄与していることが示唆された。Ext 訓練と Ext 試験では共に IL の神経活動亢進が重要とされるが、特に安全な記憶の再想起過程である Ext 試験での促進効果には</p>			

IL 賦活に引き続く可塑的变化が必要とされる。これらの知見と本研究の結果から、SPS ラットに対する IL 賦活は、即時的な Ext の促進は得られないものの、安全な記憶の定着を引き起こすには十分な神経活動亢進が得られることが示唆された。

精神神経疾患の治療において、反復経頭蓋磁気刺激や経頭蓋直流電気刺激などのニューロモデュレーションが注目されている。本研究の結果は、曝露課題を用いる PTSD 治療において神経活動を賦活するニューロモデュレーションの併用が Ext 障害の効果的な改善に有用であることを示唆した重要な知見と考えられた。

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、本論文が大村淳氏に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。