

## 論文審査の結果の要旨

### Acute immobilization stress following contextual fear conditioning reduces fear memory: timing is essential

文脈性恐怖条件付後の急性拘束ストレスによる恐怖記憶の低減：  
タイミングの重要性

日本医科大学大学院医学研究科 細胞生物学分野  
研究生 上家 明美

Behavioral and Brain Functions (2016)12:8 掲載

慢性ストレスの条件下では認知機能は低下するが、急性ストレスの条件下では記憶形成を促進するとの報告がある。しかし、恐怖体験後の急性ストレスが与える記憶形成に対する影響についての報告はない。本研究では記憶形成において文脈的恐怖条件付トレーニング（トレーニング）後の急性ストレスが与える影響について検討した。

学習や記憶形成にヒストンのアセチル化が重要な役割を担っていることが注目されている。そこで、10週令のC57BL/6J雄マウスを用いて、トレーニング後に海馬サンプルを採取し、ヒストンH3K14およびH4K5のアセチル化を測定した。続いて、トレーニング60分または90分後に30分間の急性拘束ストレスを施し、恐怖記憶の指標としてトレーニング24時間後のすくみ時間を測定した。すくみ時間測定終了後に海馬サンプルを採取し、脳由来神経成長因子（BDNF）のmRNAの発現量を測定した。トレーニング後にストレスを施し、終了時に海馬サンプルを採取し、海馬のH3K14のアセチル化を測定した。また、トレーニング後およびストレス終了後に血液を採取し、血しょうコルチコステロン量を測定した。

タイムコース実験により海馬のH3K14はトレーニングをしていない群（no training）と比べ、トレーニング60分後および90分後でアセチル化の上昇が有意に見られた（ $P < 0.05$ ）。トレーニング60分後に急性拘束ストレスを施すとno trainingと比較して、24時間後のすくみ時間の低下（ $P < 0.05$ ）、および海馬におけるBDNF mRNAの発現低下（ $P < 0.05$ ）が有意に見られた。しかし、トレーニング90分後の拘束ストレスでは同様の結果は得られなかった。トレーニング60分後にストレスを施し、ストレス終了時のH3K14のアセチル化はno trainingと比較し、有意に低下（ $P < 0.05$ ）したが、トレーニング90分後のストレス終了時ではアセチル化の低下は見られなかった。また、トレーニング90分後に海馬のBDNFプロモーター3領域のH3K14のアセチル化は有意にno trainingおよびトレーニング後にストレスを施した群と比較し高値を示した。ストレスを付加することでトレーニング60分後の拘束ストレス終了時のコルチコステロン量はno training、トレーニングのみを施した群、拘束ストレスのみを施した群と比べ、有意な増加（ $P < 0.05$ ）が見られたが、トレーニング90分後の拘束ストレス後では同様な増加は見られなかった。

本研究でH3K14が記憶形成に関与することが示唆された。また、トレーニング60分後が記憶形成するために重要な時間帯であることが本研究より示唆され、このタイミングに急性拘束ストレスを施すと記憶形成を阻害することが確認できた。今後さらなる研究が必要ではあるが、記憶形成時に拘束ストレスを施すことでコルチコステロンの分泌が相加的に増え、過剰なコルチコステロンが記憶形成障害の一因になるのではないかと示唆された。この時間帯に急性拘束ストレスを施すとコルチコステロンが増えることに伴い、海馬のH3K14のアセチル化を低下、BDNF mRNAの発現低下、記憶形成障害をもたらすことが示唆された。

第二次審査では、多方面から全般に亘り質疑がなされ、それぞれに対する的確な回答がえられ、本研究に関する知識を十分に有していることが示された。

本研究は、記憶形成のメカニズムを解明する基礎研究として価値ある論文と判断された。以上より、本論文は学位（博士）論文として十分に価値あるものと認定した。