

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500246

研究課題名(和文) 行動抑止に関連する発達期要因の生理薬理学的研究

研究課題名(英文) Pharmacophysiological studies related to the deterrence factor of activities during development

研究代表者 本多 芳子 (HONDA YOSHIKO)

財団法人東京都医学研究機構・東京都神経科学総合研究所・主任研究員

研究者番号：50142154

研究成果の概要(和文)：

生後40日までLD 12:12(通常環境)およびLD1:1(1時間ごとに明暗を繰り返す環境)で飼育すると成熟後、新奇場面で多動性を示した。この多動性は脳内のドーパミンの増加に関連し、かつメチルフェニデート投与により改善される。また、ドーパミン D5 受容体の mRNA 発現が基底核で正常に比べ減少していた。さらにドーパミン輸送因子の mRNA 発現を調べたところ正常環境下で生育したラットでは見られない3週齢の前頭葉において発現していることがわかった。

研究成果の概要(英文)：

The rats grown under the condition of LD1:1 (repeated light-dark period every hour) show the hyperactivity in the unfamiliar place. This hyperactivity is related to the high amount of dopamine in the brain. Methylphenidate administration is effective for reduction of hyperactivities. D5 mRNA expression decreased significantly in the caudate nucleus of 6 week old LD1:1 rats. Furthermore, DAT mRNA expression showed abnormal in the frontal cortex of 3 week old LD1:1 rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報科学・認知科学

キーワード：感情・情緒・行動

1. 研究開始当初の背景

AD/HD(注意欠陥・多動性障害)は多動性、不注意、衝動性を症状の特徴とする発達障害の一つとされており、現在教育の場で大きな問題となっている。その原因は不明であり発現機構と誘因解明、さらには治療法の確立が患者個人への対応のみならず社会的視点からも急務とされている。DSM-IV に準拠すると

AD/HD はさらに 1) 多動性・衝動性優勢型 2) 混合型 3) 不注意優勢型(ADD)に下位分類されるが、注意力を維持すること、様々な情報をまとめることを苦手とすることは共通する現象であり、基幹となる病態の存在が示唆される。AD/HD の病因としては、中枢神経系の生物学的障害説が有力である。一方で環境因子、食事、環境ホルモン、疾病などの影

響も否定しきれない。通常 AD/HD は学齢期までに集中困難・過活動・不注意などの症状が確認されることから、われわれは学齢期までの環境因子がその後の行動異常の誘因として寄与している可能性があると考えて研究を進めてきた。

発育過程における環境、その中でも特にホルモン分泌、成長因子放出等に深く関わる生体リズムに強い影響力を持つ光環境に着目（光環境は近年子供の夜更かしとそれに伴う夜間高照度への被曝が問題提起されている）、ラットを用いて出生後から光被曝環境を変えることで、成長後の行動への影響を調べている。予備実験結果によると 24 時間のリズムを乱す光環境におかれて育ったラットは行動の抑制が起こりにくいという知見を得た（行動抑制異常モデル）。さらに、このモデル動物では前頭葉のドーパミン量の増加が明らかになり、発育期におけるドーパミンと成長後の行動との関連を探る。

2. 研究の目的

- 1) 研究グループで作成した「行動抑制異常モデル動物」を用いて多動の背景としてどのような神経伝達物質が関係しているか、ドーパミンおよびセロトニンに異常が見られるかどうか、観測された場合、人為的長期ドーパミン被曝により行動異常が再現できるかを探る。
- 2) ドーパミン輸送に問題のある遺伝子改変マウスを用い 24 時間リズムを乱す環境においたとき多動性へどのような影響が見られるかを探る。
- 3) 人間に近い霊長類を用い発育時の光環境が多動性の誘因になるかを探る。

3. 研究の方法

1) ラットを用いた実験

① 新生時期からのドーパミン長期被曝生後 40 日まで LD 12:12（通常環境）および LD 1:1（1 時間ごとに明暗を繰り返す）の環境で飼育したラットの予備実験の結果「光環境の違いが行動と脳内ドーパミン量に影響する」を検証した。妊娠ラットからリタリン経口摂取で飼育し、出生後も長期にリタリンを投与し続けたラットの行動量および体重、食餌量等を経時的に観測する。（対照群：水投与）生後 8 週齢時に以下の学習・行動実験および生理活性物質測定に供した。

生育後長期投与との比較のため 8 週齢から長期リタリン経口摂取をした群でも同

様に行動量および体重、食餌量等を観測、8 週間経過後行動実験を行った。

② 学習・行動実験

行動実験は予備実験で有意な差がみられたオープンフィールド、および明暗嗜好テストを実施した。

③ 生理活性物質の測定

ドーパミン増加の確認とさらなる行動異常に関連する生理活性物質を見つけるため尿中のホルモン代謝物、血中ホルモン、脳脊髄液中の神経伝達物質、脳組織中の神経伝達物質量と受容体量を計測した。

A. 神経伝達物質の測定

灌流後脳組織を固定、皮質、視床、脳幹など 8 つの部位に分けドーパミン、セロトニンを中心に神経伝達物質の定量を行った。また、脳脊髄液を脳室より採取、神経伝達物質および神経ペプチドを測定した。

B. ホルモンの測定（メラトニン、ストレスホルモン）

代謝ケージで 3 時間毎の尿を集めホルモン量を市販アッセイキットで分析する。また、随時血液サンプルをとりストレスとの関係を調べた。

2) 遺伝子改変マウスの実験

理研から譲り受け継続実験中のドーパミン動態に異常をおこすパーキンソンモデル動物（パエル受容体改変マウス）を用いる。（*研究期間後半から、より効果的と思われるドーパミン受容体ノックアウトマウスへ研究対象を変更した。

D2r/D4r/D5r KO mouse)

① 光環境：ラットの実験結果から夜間高照度光被曝によりリズムの障害と行動障害を観測している。このような条件下で 3 週間飼育。オープンフィールド実験で行動を観察した。

② 食餌環境：制限給餌を行うことで、遺伝子改変マウスでは容易に探索行動が抑制されることが観測された。食餌条件と行動との関係を行動実験で詳細に調べた。

③ ストレス環境：行動異常への誘因としてストレスの検討を行った。

以上のような条件下で生理学的指標（体重、飲食量）および行動リズムを計測記録。さらに随時ビデオ計測下（現有行動観測装置使用）でオープンフィールド等の行動観察実験を行った。

各グループから計画的に個体を抽出灌流

固定し脳内伝達物質測定 (HPLC) ドーパミントランスポータおよび受容体の増減を調べた。

3) マーモセットの実験

マーモセットコロニーの完成と安定供給を進める。3ペアを用いて繁殖を行っており本計画では18頭を育て研究にあてた。

光被爆実験の開始と行動観察

一腹から得られた新生児を正常な光環境およびラットの実験で得られた行動異常を起こしやすい人工的環境とで飼育し、行動の変化を調べた。

実験は普段の行動リズム計測、生体指標計測と学習実験で構成。

- ① 行動リズム生体指標計測は個別ケージ内で自動計測装置を用いて記録
- ② 学習実験は特製のモンキーチェアを使い、遅延時間を設定し一定時間待たせて左右の窓から餌を取らせる。遅延時間の延長と行動の関係をビデオで記録観察。

4. 研究成果

1) ラットを用いた実験

新生児期からの光環境による多動性の検討

生後40日までLD 12:12 (通常の環境) およびLD 1:1 (1時間ごとに明暗を繰り返す) の環境で飼育すると成熟後も恒常明でのリズムが維持され外界変化に対して柔軟に対応できないことがわかった。そこで行動解析により詳細に調べたところ、新規場面での多動傾向を示すことが、組織化学的・薬理学的手法によりこの多動性は脳内のドーパミンの増加に関連しかつメチルフェニデート投与により改善されることが昨年までの研究でわかっている。さらに、本年はドーパミン受容体の mRNA 発現を調べたところ前頭葉と基底核の両方で D1/D5 の発現量が正常と異なっていた。また、ドーパミンおよびノルエピネフリン輸送因子の mRNA 発現に関しても検討し正常環境下のラットと発現してくる時期が変化していた。シンポジウムで報告しているが現在学術誌に発表準備中である

2) マーモセットの実験

高度な認知機能との関連はよりヒトに近い霊長類を用いるのが好ましいという指摘がある。そこで、比較的生育期間の短い霊長類であるコモンマーモセットを用いて一腹から得られた新生児を正常な光環境およびラットの実験で得られた行動異常を起こしやすい人工的環境 (条件1: 恒

常明、条件2: 恒常暗(ディムライト下)、条件3: 通常環境 (LD12:12) とで飼育し経過をした。行動量日内変化、メラトニン量、ビデオ解析による社会性行動などを指標にしてラットに見られた行動変化が観察されるかを調べた結果から、不安傾向による社会性行動の変容があることがわかり、霊長類においても発達期の光環境が重要であることが示唆されている。引き続き臨界期を調べる研究を継続している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1. Honda, Y., Kodama, T., Tanaka, I., Tokuno, H., Usui, S. Photic environments affect development of circadian rhythms in common marmosets., *J. Sleep Research* 19 (2010) 185 (査読あり)
2. Lai, Y.-Y., Kodama, T., Schenkel, E., Siegel, J.M Behavioral response and transmitter release during atonia elicited by medial medullary stimulation, *J. Neurophysiol.* 104 (2010) 2024-33 (査読あり)
3. Kanbayashi T, Kodama T 他6名 Csf Histamine Contents in Narcolepsy, Idiopathic Hypersomnia and Obstructive sleep Apnea syndrome. *Sleep* 32 (2009) 181-187. (査読あり)
4. Soya, A., Song, Y.H. Kodama, T., Honda, Y., Fujiki, N., Nishino, S. CSF histamine levels in rats reflect the central histamine neurotransmission. *Neuroscience Letters*, 430, (2008), 224-229 (査読あり)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計26件)

1. Suppression of muscle tone by the medulla: distinct roles of nucleus gigantocellularis and magnocellularis Kodama, T., Lai, Y.-Y., Siegel, J.M. 40th Neurosciences 2010-11-14 San Diego
2. コモン・マーモセットの視覚弁別学習に対する発育期光環境の影響
田中いく子, 徳野博信, 守屋敬子, 本多芳子, 児玉亨, 臼井節夫
第17回日本時間生物学会学術大会
2010-11-21 東京
3. 恒常明および恒常暗におけるコモン・マーモセット概日リズムの発達
臼井節夫, 本多芳子, 児玉亨, 田中いく子, 徳野博信
第35回日本睡眠学会学術大会 2010-07-02
名古屋

4. 非接触ストレスフリー生理・行動計測による客観的・精神疾患診断法の提案-モデル動物と臨床をつなぐ試み
小柴麻美子、油井邦夫、山内秀雄、田中いく子、本多芳子、児玉亨、徳野博信、臼井節夫、石橋英俊、青木伊知男、田中聡久、田中あかね、松田浩珍、中村俊
Neuro 2010 2010-09-03 神戸
5. Differential activity of monkey anterior cingulate neurons depending on the rival's identity and animacy during competitive games.
Kuwait, M., Hosokawa, T., Kodama, T., Watanabe, M.
Society for Neuroscience 2010-11-17 San Diego, California, USA
6. Photic environments affect development of circadian rhythms in common marmosets.
Honda, Y., Kodama, T., Tanaka, I., Tokuno, H., Usui, S.
20th Meeting of the European Sleep Research Society 2010-09-16 Lisbon, Portugal
7. ラット視床下部におけるオレキシン mRNA の日内変動パターン
田中進、児玉亨、本多芳子、臼井節夫、本多真
34th 日本睡眠学会 2009-10-25 大阪
8. GABA release from the substantia nigra pars reticulata and pedunclopontine tegmental nucleus is facilitated by orexin.
Koyama, Y., Takahashi, K., Honda, Y., Kodama, T.
The 6th Congress of Asian Sleep Research Society 2009-10-26 Osaka
9. 様々な疾患におけるヒスタミン値の測定
伊藤若子、神林崇、児玉亨、細川敬輔、菊池結花、林由理子、清水和美、藍澤里香、千葉茂、清水徹男
34th JSSR 2009-10-26 大阪
10. 恒常明あるいは恒常暗で育てられたコモン・マモセット行動リズムの発達
臼井節夫、本多芳子、児玉亨、田中いく子、徳野博信
日本睡眠学会第 34 回定期学術集会／第 6 回アジア睡眠学会／第 16 回日本時間生物学会学術大会合同大会 2009-10-27 大阪
11. 生育時光環境誘導多動モデル(ラット)へのリタリンの効果
児玉亨、本多芳子、渡邊正孝、臼井節夫
日本睡眠学会第 34 回定期学術集会／第 6 回アジア睡眠学会／第 16 回日本時間生物学会学術大会合同大会

2009-10-26 大阪
12. Orexin facilitates GABA release from the substantia nigra pars reticulata to the pedunclopontine tegmental nucleus that regulates muscle tone.
Takahashi, T., Kodama, T., Honda, Y., Koyama, Y.
Neuroscience 2009 2009-10-18 Chicago
13. Role of GABAergic mechanism in the lateral substantia nigra in sleep regulation.
Kodama, T., Hsieh, K.-C., Nguyen, D., Siegel, J. M., Lai, Y.-Y.
Neuroscience 2009 2009-10-18 Chicago
14. D5 dopamine receptor is involved in the functional modification of dopamine transporter.
林崎 誠二、平井 志伸、伊東 由美、本多芳子、有銘 預世布、曾良 一郎、児玉亨、岡戸 晴生、高田 昌彦
Neuroscience 2009 2009-09-18 名古屋
15. A novel behavioral and endocrinological analysis with PCA for examining the development of social mind in primates.
杉浦 寧、三村 喬生、望月 大二郎、徳野博信、臼井節夫、田中いく子、本多芳子、児玉亨、石橋英俊、中村俊、小柴満美子
Neuroscience 2009 2009-09-18 名古屋
16. Behavioral patterns related to social interaction with peers in developing marmosets.
妹尾 綾、三村 喬生、岩渕 奈穂子、石崎美由紀、望月 大二郎、徳野博信、臼井節夫、田中いく子、本多芳子、児玉亨、石橋英俊、中村俊、小柴満美子
Neuroscience 2009 2009-09-18 名古屋
17. Peer-social response in 4 juvenile marmosets represented the emotional development traits depending on family structure.
清水 航記、三村 喬生、白川 由佳、石橋英俊、田中いく子、本多芳子、臼井節夫、児玉亨、徳野博信、中村俊、小柴満美子
Neuroscience 2009 2009-09-18 名古屋
18. Role of the substantia nigra in the control of sleep and motor activity in sleep
Lai, Y.-Y., Nguyen, D., Hsieh, K., Kodama, T., Siegel, J. APSS 2009-06-09 Seattle
Photic environments in early life affects emotional development in common marmosets. 奥谷 晃久、臼井節夫、田中いく子、本多芳子、鈴木 美穂、田嶋 広景、山崎和行、池田 正太、岩渕 奈穂子、石崎美由紀、望月 大二郎、中村俊、小柴満美子、徳野博信、児玉亨

Neuroscience2009 2009-09-18 名古屋
19. IGFBP3 蛋白のラット脳室内投与による、
オレキシン神経細胞の変化
深沢みゆき、児玉亨、本多芳子、Mignot, E.、
本多真
第 33 回日本睡眠学会定期学術会議
2008-06-25 福島
20. Increase in glutamate and reduction
GABA level in the histaminergic
posterior hypothalamus region promotes
waking. John, J, Kodama, T., Siegel, JM.
SFN 38th Annual Meeting
2008-11-17 Washington, DC
21. 海洋性哺乳類の半球睡眠に関する神
経伝達物質
Kodama, T., Lapierre, JL., Kosenko, PO., Lya
min, OI., Mukhametov, LM., Siegel, JM.
第 33 回日本睡眠学会定期学術会議
2008-06-25 福島
22. 筋緊張維持経路における上位中枢とし
ての橋抑制野の延髄への制御
Kodama, T., Honda, Y., Siegel, JM., Lai, YY.
第 33 回日本睡眠学会定期学術会議
2008-06-25 福島
23. 生育時における長期メチルフェニデー
ト投与による脳内ドーパミン変化
児玉亨、本多芳子、桑波田卓、渡邊正孝、
臼井節夫
第 33 回日本睡眠学会定期学術会議
2008-06-25 福島
24. メチルフェニデートによるサル認知課
題遂行時の注意集中レベル変化
桑波田卓、児玉亨、本多芳子、渡邊正孝第
33 回日本睡眠学会定期学術会議
2008-06-25 福島
25. 生育期のメチルフェニデート長期連続
投与による行動変化 (2)
児玉亨、本多芳子、渡邊正孝、臼井節夫第
33 回日本睡眠学会定期学術会議
2008-06-25 福島
26. 生育時の光環境によるコモン・マーモ
セットの行動リズムの変化
臼井節夫、本多芳子、児玉亨、田中いく子、
徳野博信 第 33 回日本睡眠学会定期学術
会議 2008-06-26 福島
27. 3 種類の光環境下でのコモン・マーモ
セット行動リズムの発達
臼井節夫、本多芳子、児玉亨、田中いく子、
徳野博信
第 15 回日本時間生物学会学術大会
2008-11-09 岡山市

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本多 芳子 (HONDA YOSHIKO)
財団法人医学研究機構・東京都神経科学
総合研究所・主任研究員
研究者番号 : 50142154

(2) 研究分担者

臼井 節夫 (USUI SETSUO)
財団法人医学研究機構・東京都神経科学
総合研究所・主任研究員
研究者番号 : 30160253

児玉 亨 (KODAMA TOHRU)

財団法人医学研究機構・東京都神経科学
総合研究所・副参事研究員
研究者番号 : 20195746

(3) 連携研究者

なし