

機関番号：24402
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20530664
 研究課題名(和文) 新生仔期NMDA拮抗薬投与ラットの行動異常の解析：統合失調症の動物モデルとして
 研究課題名(英文) Behavioral deficits in rats treated neonatally with an NMDA antagonist, a putative animal model of schizophrenia
 研究代表者
 川辺 光一 (KAWABE KOUICHI)
 大阪市立大学・大学院文学研究科・准教授
 研究者番号：30336797

研究成果の概要(和文)：統合失調症モデルと一つと考えられている新生仔期 NMDA 受容体拮抗薬(MK-801)投与ラットについて、その行動・認知機能を評価した。MK-801 は 7～20 日齢に投与され、成体期に sensorimotor gating の指標であるプレパルス抑制(PPI)と作業記憶の指標である自発的交替(SA)についてテストを行った。その結果、MK-801 処置によって PPI が障害される傾向が認められたものの、SA は障害されなかった。また、MK-801 を短期間(5日間)投与した場合はいずれの行動指標においても効果がなかった。

研究成果の概要(英文)：Rats treated neonatally with an NMDA antagonist (MK-801), which are supposed as a putative animal model of schizophrenia, were tested for behavioral or cognitive deficits. Rats were treated with MK-801 from postnatal days 7 to 20. Sensorimotor gating and working memory was tested in adulthood, using prepulse inhibition (PPI) and spontaneous alternation (SA), respectively. As results, MK-801 induced a marginally significant impairment in PPI, but not in SA. MK-801 treatment in a short period (5 days) did not have any behavioral effects.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2008 年度 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |
| 2009 年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 2010 年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：社会科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：作業記憶、sensorimotor gating、NMDA受容体、グルタミン酸神経系、認知障害、統合失調症、動物モデル、生理心理学

1. 研究開始当初の背景

グルタミン酸は脳内の主要な興奮性伝達物質であり、グルタミン酸受容体のサブタイプの一つである N-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体が長期増強や神経系の成熟といった神経の可塑性、学習・記憶(e.g. Kawabe

et al., 1998a, b)などの現象に関わっていることが知られている。一方で、phencyclidine (PCP)や ketamine などの NMDA 受容体拮抗薬が統合失調症様の症状を誘発することから、グルタミン酸系神経の機能低下が統合失調症の原因の一つである可能性が示唆され

ている(Javitt & Zukin, 1991; Jentsch & Roth, 1999)。

研究代表者はこれまで、グルタミン酸受容体の一種である NMDA 受容体の拮抗薬(MK-801)の新生仔期反復投与が放射状迷路課題(Kawabe et al., 2007)および位置遅延非見本合わせ課題(Kawabe & Miyamoto, 2008)における作業記憶の障害、活動量や一般行動の変化(Kawabe et al., 2007)といった様々な行動変化を引き起こすことを見いだした。これらの行動異常は統合失調症、発達障害などに類似する現象である。特に作業記憶の障害が統合失調症の中心症状であるという仮説(Goldman-Rakic, 1994)に基づく、作業記憶障害が認められる MK-801 新生仔期投与ラットは統合失調症の動物モデルとして有用であると考えられる。

また、統合失調症の発症メカニズムについての仮説として、ドーパミン系の過剰な神経伝達を仮定するドーパミン仮説、グルタミン酸系の機能低下を仮定するグルタミン酸仮説、脳の発達不全を仮定する発達障害仮説などがある。新生仔期 NMDA 拮抗薬反復投与ラットは、(1) NMDA 受容体の機能を拮抗薬によって抑制するという点でグルタミン酸仮説の、(2) NMDA 拮抗薬が脳の発達を抑制する働きを持つという点で発達障害仮説の特性を備えている。したがって、新生仔期 NMDA 拮抗薬反復投与ラットは統合失調症のグルタミン酸仮説、発達障害仮説の双方の仮説に基づく動物モデルと考えることができる。

2. 研究の目的

発達初期のグルタミン酸系の異常が脳発達に影響を与え、その発達異常が統合失調症の原因となるという仮説のもとに、NMDA 拮抗薬新生仔期反復投与ラットに種々の認知・行動課題を実施することにより、このラットが統合失調症モデルとして妥当であるか検討することを目的とした。この研究では統合失調症において顕著な障害が認められる認知機能である sensorimotor gating と作業記憶に注目した。さらに、新規抗精神病薬の作用部位の候補であるカンナビノイド CB1 受容体に注目し、この受容体の作動薬・拮抗薬の認知機能に対する効果を調べた。この実験の行動課題には、ラットやマウスにおける宣言的記憶課題と考えられている自発的物体再認課題を用いた。

3. 研究の方法

MK-801 新生仔期反復投与が認知・行動障害を引き起こすかどうか調べるために、MK-801 を 7~20 日齢時(14 日間)に投与

し、その成育後に sensorimotor gating の指標であるプレパルス抑制(PPI)、作業記憶の指標である自発的交替(SA)を測定した。また、これらの認知・行動障害がどの時期の NMDA 受容体の遮断によるものかを調べるために、上記の投与期間を 3 分割し(5 日間投与)、MK-801 の投与時期の差異による認知・行動機能への効果の違いを調べた。5 日間投与の実験においては作業記憶の指標として位置遅延非見本合わせ(DNMTP)反応も用いた。

(1) sensorimotor gating・作業記憶に及ぼす MK-801 長期投与の効果

MK-801(0.2, 0.4 mg/kg)もしくは生理食塩水(SAL)を 7~20 日齢にわたり(14 日間)、1 日 2 回皮下投与し、その成育後に PPI、SA を測定した。

PPI はパルス試行とプレパルス試行からなっていた。パルス試行では 105dB の聴覚刺激(パルス刺激)を 40 ms 提示し、この刺激に対する驚愕反応を測定した。プレパルス試行ではパルス刺激の 100 ms 前に 80 dB のプレパルス刺激を 20 ms の間提示し、パルス刺激提示後に起こる驚愕反応を測定した。驚愕反応はパルス刺激の提示終了から 100 ms(10 ms ごとに 10 回)にわたって計測され、その合計値を試行ごとに算出した。パルス試行、プレパルス試行は 20 試行ずつ行われ、各個体について、両試行における驚愕反応の平均値が算出された。各個体の PPI は次式によって算出された。

$$\text{PPI}(\%) = [1 - (\text{プレパルス刺激における驚愕反応} / \text{パルス刺激における驚愕反応})] \times 100$$

自発的交替課題では Y 型迷路の 3 選択肢を 10 分間にわたり自由に選択させた。この時の選択肢の交替反応を記録し、次式により自発的交替率(%SA)を算出した。

$$\%SA = [\text{自発的交替数} / (\text{総選択数} - 2)] \times 100$$

また、PPI、SA の測定後、オープンフィールド活動性(1 日 5 日間)を 3 日間にわたり測定した。

全実験終了後、全脳を摘出し脳重量を測定した。

(2) sensorimotor gating・作業記憶に及ぼす MK-801 短期投与の効果

MK-801(0.4 mg/kg)を 7~21 日齢のうち 5 日間にわたり 1 日 2 回皮下投与した。すなわち、初期投与群は 7~11 日齢時、中期投与群は 12~16 日齢時、後期投与群は 17~21 日齢時に MK-801 を投与し、それ以外の 10 日間

は SAL を投与した。統制群は 7~21 日齢時にわたり SAL を投与した。これらのラットの成育後に (1) と同様の手続きで PPI、SA、オープンフィールド活動性を測定した。これらの実験終了後、全脳を摘出し脳重量を測定した。

また、PPI、SA のテストを行ったものと別の個体について DNMTTP 課題の訓練を行った。この課題は見本走行と選択走行からなっていた。見本走行では Y 型迷路の左右の選択肢のいずれかに強制選択させた。見本走行の後遅延時間 (5 秒) を挿入し、その後に選択走行を行った。選択走行では左右両方の選択肢のどちらか一方を自由選択することが可能であるが、見本走行と逆方向への選択肢への選択を正選択とした。この課題の訓練を 1 日 6 試行で 25 日間行い、その後に遅延テストを行った。このテストでは、遅延時間を 80 秒に延長し、それぞれの遅延条件の正選択率を測定した。遅延テストは 1 日 6 試行で 5 日間行った。

(3) 自発的物体再認に及ぼすカンナビノイド CB1 受容体作動薬(methanandamide)・拮抗薬(AM281)の効果

①作動薬(methanandamide)の効果

自発的物体再認課題における見本期の 15 分前に R-(+)-methanandamide 1, 3 mg/kg もしくは溶媒(VEH)を腹腔内投与した。見本期ではプラスチックケージ内で物体 1 つを提示した。この物体提示時間によって被験体を提示時間 20 秒群、10 分群に分けた。見本期の 1 日後に再認テストを行った。このテストではオープンフィールド内に見本期で提示した物体 (既知物体) を含む 2 つの物体を提示し、被験体に 10 分間にわたりオープンフィールド内を自由探索させ、各物体に対する探索時間を測定した。テストにおける再認比率を物体再認の指標とした。

再認比率 = 既知物体への探索時間 / 両物体への再認時間

②拮抗薬(AM281)の効果

見本期の 15 分前に AM281 1, 3 mg/kg もしくは溶媒(VEH)を腹腔内投与したこと以外は①と同じ手続きを用いた。

4. 研究成果

(1) sensorimotor gating ・ 作業記憶に及ぼす MK-801 長期投与の効果

MK-801 0.4 mg/kg 投与によって、PPI が障害される傾向が認められたものの ($p < .1$)、SA は MK-801 によって障害されなかった。また、MK-801 はオープンフィールド活動性

にも影響を及ぼさなかった。脳重量は MK-801 の用量に依存して有意に低下した ($p < .01$)。

(2) sensorimotor gating ・ 作業記憶に及ぼす MK-801 短期投与の効果

PPI、SA、オープンフィールド活動性に対する MK-801 の効果はいずれの時期に投与した場合でも認められなかった。DNMTTP 課題の訓練期、遅延テスト期の成績にも投与条件による差は認められなかった。脳重量においては初期投与群が統制群よりも有意に低かった ($p < .05$)。

(3) 自発的物体再認に及ぼすカンナビノイド CB1 受容体作動薬(methanandamide)・拮抗薬(AM281)の効果

提示時間 20 秒群において、AM281 1, 3 mg/kg 投与により再認比率が上昇した ($p < .01$)。

一方、methanandamide はいずれの提示時間群においても再認比率に影響を与えなかった。ただし、この結果においては VEH 条件においてもオープンフィールド内での活動性が低い個体が多かったため、再検討が必要である。

(4) まとめ

(1)、(2) で示した結果のように、長期投与においては PPI が障害される傾向が認められたものの、短期投与においてはいずれの行動・認知機能においても障害が認められなかった。また、短期投与においては DNMTTP 反応の障害も認められなかったが、これは長期投与で DNMTTP 反応の障害が認められたという結果 (Kawabe & Miyamoto, 2008) と相反するものである。以上の結果から、MK-801 新生仔期投与において、成体期に及ぶまでの長期的な認知・行動障害を引き起こすためにはある程度の長期間の投与が必要なが示唆された。

さらに、MK-801 新生仔期投与によって PPI が障害される傾向が認められたことから、MK-801 新生仔期投与ラットが統合失調症モデルとして妥当であることが示唆された。一方で SA においては障害の傾向が認められなかった。同じ作業記憶課題であるが、SA 課題と異なり報酬性の課題である放射状迷路課題 (Kawabe et al., 2007) や DNMTTP 課題 (Kawabe & Miyamoto, 2008) を用いた場合は、MK-801 投与による障害が引き起こされることから、作業記憶課題においては報酬の有無によって結果が変化する可能性が示唆される。またこのような結果が得られた原因は、MK-801 が報酬系に何らかの影響を及ぼしていることによるものなのかもしれない。

その一方で、長期投与のみならず、短期投

与された場合においても発達段階のより初期に投与された場合は脳重量が低下することが分かった。これはMK-801が脳の発達を障害することを示唆するものである。同時に、脳発達のより初期の段階にNMDA受容体が特に重要な役割を果たしていることを示唆するものである。

また、PPIにおいてはMK-801による障害の傾向が認められたものの、その傾向は有意には至らなかった。その原因として、PPIの個体差の大きさが第一に挙げられる。統制群においてもPPIの値が正常値よりもかなり低い値を示すものもいた。したがって、今後のPPIの実験においては被験体数を増やすと同時に、馴化期間の延長や驚愕反応のサンプリング頻度を上げるなど手続きを改良し、より安定したデータを取るための工夫をする必要があるだろう。

さらに本研究では、新規抗精神病薬の作用部位の候補の一つであるカンナビノイドCB1受容体作動薬・拮抗薬が認知機能にどのような影響を及ぼすかということについて、ラット・マウスの宣言的記憶の指標とされる自発的物体再認課題を用いて調べた。その結果、提示時間20秒群においてCB1拮抗薬(AM281)が再認成績を向上することが分かった。この結果はCB1受容体が宣言的記憶に対して抑制的な効果を持つことを示唆するものであり、この受容体の拮抗薬が認知機能の改善薬や抗精神病薬として利用しうる可能性があることを示すものである。

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)

[学会発表] (計6件)

① 川辺光一・岡本こまき ラットの自発的物体再認に及ぼすカンナビノイドCB1受容体作動薬・拮抗薬の効果 日本動物心理学会第70回大会、2010年8月29日、帝京大学。

② 川辺光一・宮本絵梨 ラットのプレパルス抑制および自発的交替反応に及ぼすMK-801新生仔期反復投与の効果 日本動物心理学会第69回大会、2009年9月26日、岐阜大学。

③ 岡本こまき・川辺光一 ラットの自発的物体再認課題における物体記憶の保持過程—見本刺激提示時間と保持間隔の効果—日本動物心理学会第69回大会、2009年9月26日、岐阜大学。

④ 宮本絵梨・川辺光一 ラットの位置遅延非見本合わせ反応に及ぼすMK-801新生仔期反復投与の効果—投与時期による効果の差異(2)— 第38回日本神経精神薬理学会年会、2008年10月1日、品川プリンスホテル。

⑤ 川辺光一 ラットの位置遅延非見本合わせ反応における順向性干渉—見本走行に対する干渉刺激の効果— 日本動物心理学会第68回大会、2008年9月13日、常磐大学。

⑥ 岡本こまき・川辺光一 位置遅延非見本合わせ課題を用いたラットの指示性忘却—視覚的刺激を忘却手がかりとして— 日本動物心理学会第68回大会、2008年9月13日、常磐大学。

6. 研究組織

(1)研究代表者

川辺 光一 (KAWABE KOUICHI)

大阪市立大学・大学院文学研究科・准教授
研究者番号：30336797

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし