

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月19日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21591487

研究課題名（和文）：ストレス障害モデルにおける接触刺激に対する応答反応と無生物に対する攻撃応答反応

研究課題名（英文）：(Kicking and biting behavioral responses toward mechanical touch stimuli in stress-disorder model mouse)

研究代表者：口岩 聡 (Kuchiiwa Satoshi)

鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：90161637

研究成果の概要（和文）：

多くの精神疾患患者においてイリタビリティ症状が発現するが、実験動物ではイリタビリティの解析技術は確立されていない。本研究では、まず、イリタビリティの行動学的症状とされる「接触逃避行動」と「対物攻撃行動」を計測する装置を開発した。次に、精神疾患モデルマウスを使用して、イリタビリティの検出および定量的評価法の確立を試み、向精神薬のイリタビリティ発現に対する影響を調査し、精神疾患モデルにおけるイリタビリティ症状の定量化技術を確立した。

研究成果の概要（英文）：

Irritability is a widely occurring DSM-IV symptom in patients with psychiatric disorders and/or developmental disorders. Behavioral symptoms of irritability also occur in laboratory psychiatric model animals such as stress and/or depression disorders. However, behavioral paradigms for estimation of irritability have not been reported in studies using laboratory animals. Establishment of protocols for estimation of irritability in psychiatric animal models is needed to study psychotropic drug evaluations. In the present study, we developed a new research apparatus that can detect and record intensities and incidence rates of touch escape behavior and aggressive behavior toward inanimate mechanical stimuli. We estimated irritability in chronically stressed mice and evaluated the effects of psychotropic drugs on irritability using the touch escape behavior and aggressive behaviors as paradigms. The present study suggests that both responses can be used as behavioral paradigms in quantitative analyses of irritability. Both paradigms appear to be useful for drug evaluation of psychotropic agents using the same individuals repeatedly.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神薬理学

キーワード：うつ病、統合失調症、行動学研究、接触逃避行動、蹴り払い応答、対物攻撃行動、噛みつき応答、イリタビリティ

1. 研究開始当初の背景

イリタビリティ（易怒性または易刺激性）は、些細なことに強く反応し、穏やかな心的状態から一転して爆発的に不快感情または怒りを亢進させる精神症状である。

イリタビリティは、ストレス障害、鬱病、双極性障害、薬物誘発性気分障害、統合失調症、パーソナリティ障害、認知症、広汎性発達障害、注意欠陥・多動性障害、破壊的行動障害など、多くの精神疾患患者や発達障害者に日常的に現れ、また向精神薬や麻薬の副作用として現れることもあり、さらにはこれらの薬物を中断もしくは減量した時の離脱症状として現れることもある。したがって、イリタビリティの評価は精神疾患診断上重要である。

精神疾患患者と同様に、精神疾患モデルマウスまたはラットにもイリタビリティに起因する行動異常が存在すると考えられる。精神疾患モデル動物は、正常動物に比較すると、一般に扱いにくい性質を有している。例えば、精神疾患モデル動物を手で掴もうとすると、動物はホームケージ内を激しく逃げ回り、時には実験者の手指に噛みつくこともある。このような症状がある動物の体幹を棒で軽く突くと動物は棒を後肢で蹴り払い（接触逃避行動または蹴り払い応答）、また頭部を執拗に触ると棒に噛みつきこれを排除しようとする（対物攻撃行動または噛みつき応答）。これらの精神疾患モデル動物の行動は正常な実験動物には観察されないため、これらは脳疾患または脳障害に伴う症状の一部であ

る。接触逃避行動および対物攻撃行動は、イリタビリティを有する動物に特徴的に発現する異常行動であると考えられる。

現在、実験動物に現れるイリタビリティ症状は精神薬理医学界においてあまり注目されていない。しかし、ヒトの多くの精神疾患にイリタビリティが発現することを考慮すれば、実験動物においてイリタビリティを定量的に評価する技術が必要であることは論を待たない。

精神疾患モデル動物を用いた非臨床的研究は、向精神薬の開発研究において不可欠である。非臨床的研究では、薬理学的研究、生化学的研究、生理学的研究に加え、行動学的研究が重要である。行動学的試験では、ポルソルト強制水泳試験、尾懸垂試験、レジデント-イントルーダー試験、高架式十字迷路試験、明暗選択試験、オープンフィールド試験、プレパルス抑制試験、潜在抑制試験などが行われている。これらの行動試験では、動物の不安、鬱様症状、攻撃性、新奇探索傾向、統合失調症様症状などが評価できるが、イリタビリティを適切に評価することはできない。動物のイリタビリティを定量的に評価する技術を確認させることが急務であると言える。

2. 研究の目的

本研究では、実験動物においてイリタビリティを行動学的に評価する技術を確認する。現在のところイリタビリティを計測するための研究機器は存在しないので、まず第一に、

計測に必要な研究装置を開発する。そして、装置の実用性と信頼性を証明するために、実際の動物行動実験を行って開発した装置の性能を試験し、イリタビリティ定量的計測における機器の妥当性を証明する。また、脳内神経伝達物質とイリタビリティ関連行動の運動性を調べ、精神疾患におけるイリタビリティ評価の有用性を論証する。さらに、向精神薬の評価に本計測法を応用し、薬物評価におけるイリタビリティ測定の有用性を証明する。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、動物のイリタビリティ関連行動である接触逃避行動（蹴り払い応答）および対物攻撃行動（噛みつき応答）を定量的に計測するための研究装置（接触刺激応答計測システム Touch Response Meter: TRM: 室町機械）を開発し、実験に供した。

(2) マウスを長期間隔離飼育してストレス障害を発症させ（長期隔離飼育マウスはうつモデルマウスまたは/および統合失調症モデルマウスとされている）、接触逃避行動および対物攻撃行動を指標とするイリタビリティの評価試験を行った。さらに向精神薬投与後のイリタビリティ関連行動の変化を調べ、イリタビリティの定量的評価にこれらの行動をパラダイムとして使用することの妥当性について検証を行った。これにより、実験動物におけるイリタビリティ評価技術の確立を企図した。

(3) 脳内神経伝達物質の変化とイリタビリティ発現の関連性を調べるために、接触逃避行動および対物攻撃行動を有するストレス負荷マウスの内側前頭皮質、側坐核、視床下部、線条体、海馬、中脳被蓋、橋におけるモノアミンおよびそれらの代謝産物の変化を高速液体クロマトグラフィー法により調査した。これにより、イリタビリティ発現マウスの脳内モノアミン変化を考察した。

(4) 正常な実験動物を拘束して急性ストレスを負荷し、イリタビリティに及ぼす影響について調査した。プラスチック棒を用いて1分間ホームケージ内で軽く突いた動物（緩和ストレス負荷）を対照群として計測した。

4. 研究成果

(1) 隔離飼育ストレス負荷の影響

数週間の隔離飼育を行ったマウスの多くは、実験者の手指による接触を嫌い、ホームケージ内を逃げ回る行動を顕著に現した。プラスチック棒を用いて隔離飼育マウスの側腹部を軽く突く実験では、多くのマウスは後肢で棒を激しく蹴り払う 接触逃避行動（蹴り払い応答）を頻繁に起こし、ホームケージ内を逃げ回った。また頭部を軽く突くような刺激に対しては、棒に噛みつき 棒を排除しようとする対物攻撃行動（噛みつき応答）が発現した。これに対し集団飼育を継続したどの対照群マウスも、実験者の同様の手指による接触に対して目立った応答反応を発現せず、また刺激棒による突き刺激に対する応答反応も発現しなかった。

6週間の隔離飼育を行ったマウスの多くは、TRMを用いた接触逃避行動および対物攻撃行動の計測において、両応答反応の強度および発現頻度が、隔離飼育前に比較して有意に増強または増加した。下表に個々の隔離飼育マウスの3週齢および9週齢における接触逃避行動と対物攻撃行動の1セッション当たりの平均強度と応答回数、および隔離飼育群全体の各計測値の平均を示した。表は、6週間の隔離飼育によって、多くの動物に顕著な接触逃避行動および対物攻撃行動の増強が起こったことを示している。その一方で、一部の動物には大きな変化が起こらなかったことも示している。すなわち、個々の動物における応答反応発症の有無が本計測によって評価できることを示している。次ページ左下のグラフは全隔離飼育マウス（■）の接触逃避行動および対物攻撃行動の平均強度と発現頻

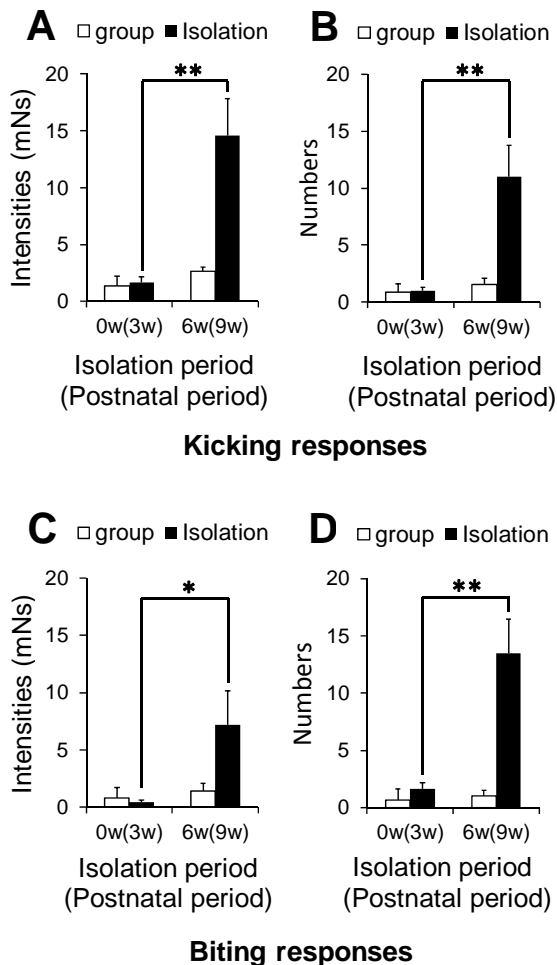
Table 1
Intensities of kicking and biting responses in each isolation-reared mouse

animal ID	0w (p.n. 3w)		6w (p.n. 9w)	
	kicking	biting	kicking	biting
101	3.31	0.23	10.35	3.27
102	3.69	0.22	23.97	14.93
103	3.12	1.88	15.13	1.98
104	3.86	0.44	4.70	2.43
105	1.06	0.09	29.05	8.10
106	0.83	0.00	2.90	0.47
107	0.03	0.01	8.22	8.16
108	0.21	0.85	31.36	30.58
109	0.34	0.10	5.40	1.42
110	0.07	0.09	14.51	0.32
mean±S.E.M	1.65±0.52	0.39±0.18	14.56±3.26	7.17±2.98

度を対照群集団飼育マウス (□) のそれらと対比したものである。グラフは隔離後に両応答反応の平均強度および発現頻度が著しく増強および増加したことを示している。それに対し、対照群の集団飼育マウスでは、飼育期間中に両応答反応はほとんど変化を示さなかったことを示している。

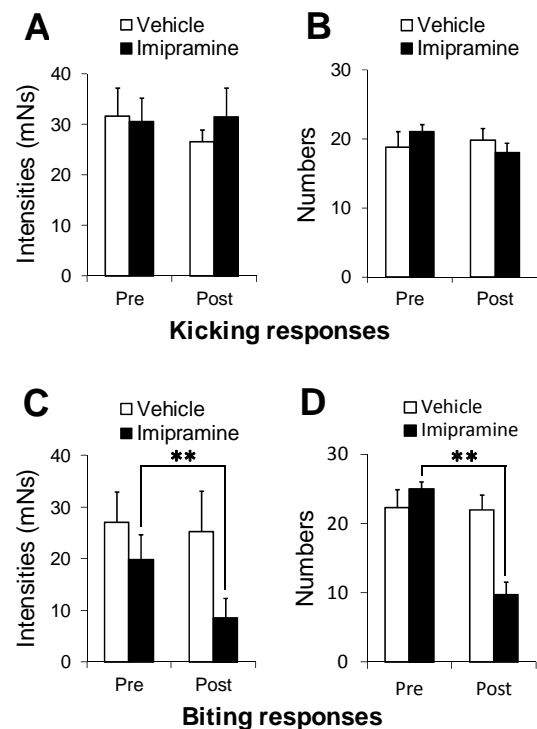
(2) イミプラミン投与の影響

長期隔離飼育ストレスを負荷したマウスでは、イミプラミン (抗鬱薬の一種) 投与前またはヴィークル投与前において、顕著な接触逃避行動および対物攻撃行動がTRMを用いた計測により認められた。これらの動物に対する4週間のイミプラミン投与のあとの再計測では、対物攻撃行動の強度および発現頻度が有意に減弱または減少した。これに対し接触逃避行動の強度および発現頻度は、有意な変化を認めなかった (右下のグラフ)。ヴィークルを投与した対照群は、投与期間中に接触逃避行動の強度と発現頻度はやや減弱および減少を示したが、投与前のそれに比較して統計学的有意差は認められなかった。



以上の研究により、実験動物はストレス症状の負荷に伴いイリタビリティ症状を増強させ、それに伴い、接触逃避行動および対物攻撃行動が増強することが明らかとなった。また逆に、向精神薬投与によるイリタビリティ症状緩和に伴い両行動が減弱することも示された。この実験結果から、TRMを用いて両行動の強度と頻度を適切に定量的計測できたものと結論できた。すなわち、TRMは両行動の定量的計測において妥当であり、さらに、イリタビリティ症状を適切に評価することにおいて妥当であることが示された。

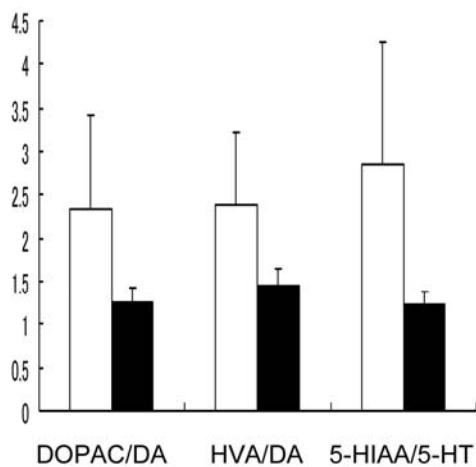
(3) 長期間の隔離飼育を行った (接触逃避行動および対物攻撃行動を発現した) マウスでは、正常動物に比較して、内側前頭皮質ドーパミン量が約 60% またセロトニン量が約 70% 増加した。それらの物質の代謝回転はそれぞれ 40-50% および 60% 低下した。側坐核では、ドーパミン量が 80% 増加し、ヒドリキシンドール酢酸量が約 50% 減少し、ドーパミンの代謝回転が著しく低下した。線条体では、ドーパミン含有量が約 40% 増加したが、その代謝回転には顕著な変化が見られなかった。海馬と中脳被蓋ではドーパミン含有量がそれぞれ約 20% または約 60% 増加した。しかし、いずれの脳部位においてもその代謝回転に明瞭な変化は見られなかった。次ページのグ



ラフは内側前頭皮質と側坐核におけるドパミンとセロトニンの代謝回転の差を正常な動物（□）とイリタビリティ症状がある動物（■）において比較したものである（DAはドパミン、DOPACはジヒドロドキシフェニル酢酸、HVAはホモバニリン酸、5-HTはセロトニン、5-HIAAはヒドロキシインドール酢酸）。以上の結果から、接触逃避行動および対物攻撃行動を発現した動物では、内側前頭皮質や側坐核など、脳内の複数の領域においてドパミンおよび/またはセロトニンの含有量に変化が現れ、またそれらの代謝回転に異常が現れることが明らかとなった。おそらく、イリタビリティ症状発症

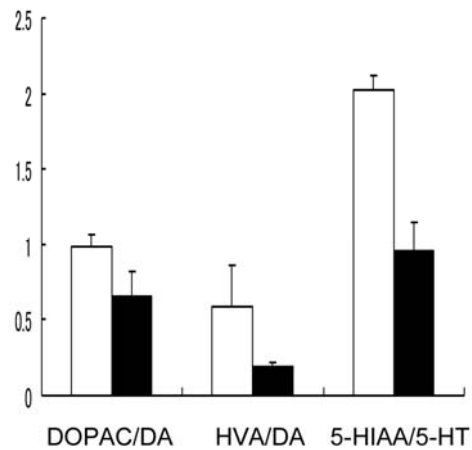
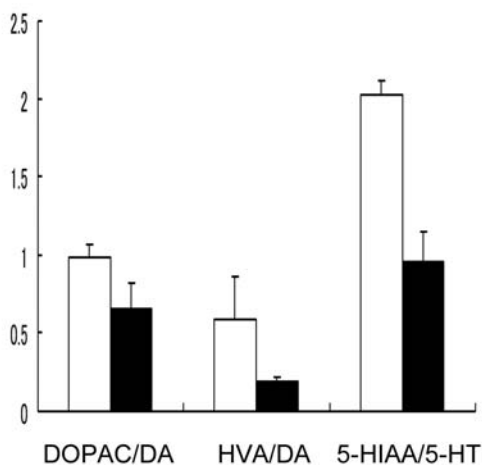
内側前頭皮質

代謝回転



側坐核

代謝回転



〔雑誌論文〕（計1件）

- ①蹴り払い応答と噛みつき応答を指標とする易刺激性の行動学的評価 —慢性緩和ストレスマウスを用いた行動学的・行動薬理学的研究— 口岩俊子、若本純子、村上理、口岩 聡： 鹿児島純心女子大学大学院人間科学研究科紀要、第7号、2012年（査読なし）

〔学会発表〕（計5件）

- ① Measurements of kicking and biting responses toward touch stimuli for evaluation of irritability in isolation-reared mice, Toshiko Kuchiiwa, Osamu Murakami, Satoshi Kuchiiwa, 第85回 日本薬理学会年会 京都市 2012年3月14日～16日。
- ② Kicking and biting responses toward mechanical touch stimuli for evaluation of aggravation and amelioration of stress disorder. Toshiko Kuchiiwa, Satoshi Kuchiiwa, Osamu Murakami, 第34回 日本神経科学大会 Neuro2011、2011年9月14日～17日、横浜市。
- ③ 「蹴飛ばし行動」と「噛みつき行動」を指標とするストレス障害の悪化と治癒の定量的行動評価法、口岩俊子、口岩 聡、村上理、口岩琢哉、若本純子、第84回日本薬理学会年会 2011年3月22日～3月24日 横浜市。
- ④ Quantitative analysis of kicking and biting behavioral responses to mechanical touch stimuli in socially isolated mice, Toshiko Kuchiiwa, Takatoshi Komiya, Takuya Kuchiiwa, Junko Wakamoto1, Osamu Murakami, Satoshi Kuchiiwa, Neuro2010（第33回 日本神経科学学会大会）2010年9月2-4 神戸市。

⑤ストレス行動評価、HPLC 法による脳内モノアミン定量および c-Fos 免疫染色による統合失調症モデルマウスの解析：小宮孝俊、アブドアイニ アブドラヒマン、口岩俊子、村上 理、武田泰生、口岩 聡、山田勝士：第 26 回 日本薬学会九州支部大会、2009 年 12 月 12 日～13 日（福岡市）。

〔産業財産権〕

○取得状況（計 2 件）

名称：機械応答計測システムおよび刺激応答計測方法

発明者：口岩 聡、口岩俊子、村上理

権利者：鹿児島大学

種類：特許

番号：特許第 4 8 5 8 9 9 6 号

取得年月日：平成 2 3 年 1 1 月 1 1 日

国内外の別：国内

名称：脳神経細胞への薬物の標的化剤

発明者：口岩 聡、口岩俊子

権利者：鹿児島大学

種類：特許

番号：特許第 4 9 4 5 7 6 6 号

取得年月日：平成 2 4 年 3 月 1 6 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kuchiiwa.jp>

（科学研究費助成の公開ページ）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

口岩 聡 （ KUCHIIWA SATOSHI ）

鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科・
准教授

研究者番号：9 0 1 6 1 6 3 7