

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32304

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25780443

研究課題名(和文) 注意欠陥多動障害における認知機能の解析：動物モデルによる検討

研究課題名(英文) Characteristics of cognitive function of attention deficit/ hyperactive disorder:
an animal study

研究代表者

末永 叔子 (Suenaga, Toshiko)

東京福祉大学・心理学部・講師

研究者番号：80431667

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、主要組織適合遺伝子複合体クラス1分子が遺伝的に欠損したADHDモデルマウスの認知機能と脳神経形態の特徴を明らかにすることを目的として行われた。ADHDモデルマウスには有意な運動衝動性の増加と注意欠陥がみられた。一方、認知衝動性や空間学習機能、逆転学習機能については野生型マウスと差はみられなかった。ゴルジ染色法を用いて線条体、側坐核、前頭前野の神経形態を分析したところ、線条体の樹状突起棘の成熟度に差がみられ、未成熟な樹状突起棘の割合がADHDモデルマウスに多いことが示された。また、前頭前野の帯状皮質においてADHDモデルマウスの樹状突起が長く、分岐数が多いことが示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the cognitive function and neuronal morphological characteristics of major histocompatibility complex (MHC) class I deficit mice as an animal model of attention deficit/hyperactive disorder. MHC class I deficit mice showed motor impulsivity and inattention. However there are no differences between wild-type mice and MHC class I deficit mice in acquisition of spatial learning and reversal learning tasks, and cognitive impulsivity. Neuronal characteristics were analyzed using Golgi-Cox staining. In the nucleus accumbens, there are no differences between wild-type mice and MHC class I deficit mice in dendrite length and number of branches. In the striatum, the percentage of immature spine was greater in MHC class I deficit mice than wild-type mice. In the cingulate cortex area1, MHC class I deficit mice had longer dendrite, and also larger number of branches compared to wild-type mice.

研究分野：行動科学

キーワード：注意欠陥多動障害 認知機能

1. 研究開始当初の背景

注意欠陥多動障害 (Attention Deficit / Hyperactivity Disorder: ADHD) は注意障害、多動性、衝動性を中核症状とする障害であり、近年その存在が社会的に認知されるようになってきた。ADHD 者には中枢神経系のドーパミン神経系の機能異常の存在が示唆されている。脳内ドーパミン系は、注意機能をはじめとしたさまざまな認知機能と深く関わっていることがヒトおよび動物研究から示唆されているが、ADHD と診断されたヒトの認知機能の特徴や ADHD の発症メカニズムは未だ不明な点が多い。

近年、主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) クラス I 分子が遺伝的に欠損している遺伝子改変マウスの移所行動を観察したところ、野生型マウスと比較して有意な行動量の増加 (多動) がみられた。さらに、この遺伝子改変マウスには脳内ドーパミン系機能に異常があることを確認した。これらのことから、このマウスはヒトの ADHD と似た行動傾向、生理学的特徴をもつことが示唆され、このマウスが ADHD のモデル動物として使用できる可能性が推測される。上記遺伝子改変マウス (以降 ADHD モデルマウスと記述する) を行動学的に観察した研究はほとんどないが、ヒトを含むほ乳類において、MHC クラス I 分子は前頭前野、海馬など認知機能を担う脳部位に豊富に発現している。従って、MHC クラス I 分子が脳内に発現しない ADHD モデルマウスでは多動以外の行動・認知機能異常が生じている可能性が考えられた。また、本研究で使用した ADHD モデルマウスでは、シナプス伝達長期増強現象 (Long-term Potentiation: LTP) が促進していることが報告されている (Huh et al, 2000)。LTP はシナプスの再構築に役割を担っていると考えられている。従って、ADHD モデルマウスは発達過程においてシナプス構造になんらかの異常が生じ、多動などの行動の変容が表れている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、ADHD モデルマウスの認知機能の特徴を明らかにし、さらにその神経基盤を明らかにすることを目的とした。

(1) まず、オペラント型行動観察装置を用い、空間学習およびその逆転学習課題、注意機能と運動衝動性を測定するための単純反応時間課題、および認知衝動性を測定する遅延価値割引課題を行い、各種認知機能を測定した。

(2) 次に、上記認知機能課題の遂行に役割を担っていると考えられる脳部位の神経形態について、ゴルジ染色法を用いて観察した。

3. 研究の方法

(1) 認知機能の解析

オペラント型行動観察装置の一種であるインテリケージ (Intelligence, NewBehavior) を用いて検討を行った (図 1)。この装置は大型の飼育ケージを兼用し、ひとつのケージにつき、最大 16 匹のマウスを同時に飼育することができる。ケージ 4 隅に小さな部屋 (コーナーチャンバ) があり、中に 2 本の水瓶が左右に設置されている。それぞれの水瓶の飲み口の前にはドアとノーズポークセンサが設けられており、ドアの開閉はノーズポークすることでコンピュータ制御されている。また部屋の入り口にはマウスの皮下に埋め込んだ ID タグを読み取るためのアンテナが設置されており、どのマウスが 4 カ所のいずれのコーナーに入っているのかを個別に認識することができる。

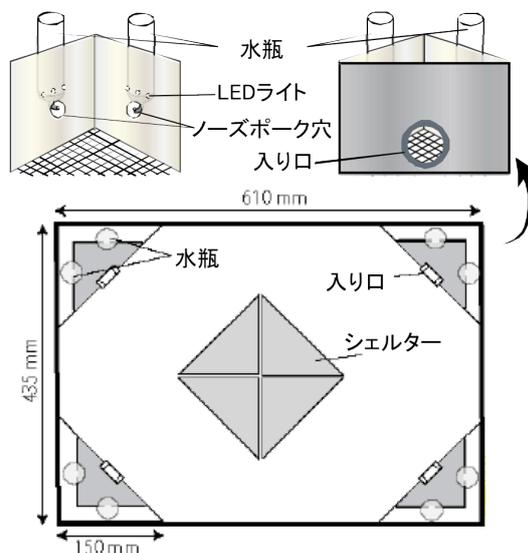


図 1. インテリケージ

行動課題を行う前に、装置に慣れるための期間を設け、その後ノーズポークを行って水を得るノーズポーク訓練を 5 日間行った。以降に行ういずれの認知機能課題でもノーズポークをして水を得るとい、水を報酬としたオペラント型行動を利用しているため、課題に対する動機づけを高めるために実験は 19 時から 22 時までの 3 時間のみ行った。それ以外の時間は水を得ることができなかった。

①空間学習およびその逆転学習

4 つのコーナーのうちの 1 つを報酬コーナーとし、報酬コーナーでノーズポークを行うと水瓶前のドアが開放され、水を飲むことができた。マウスは装置周辺の空間の手がかりをもとに報酬コーナーを学習することを要求された。誤選択数 (報酬コーナー以外でノーズポークを行った数) を測定し、野生型マウスと ADHD モデルマウスの成績を比較した。

空間学習を 5 日間行った後に、逆転学習を 5 日間行った。逆転学習では報酬コーナーを原学習の対極のコーナーに変更した。逆転学習課題では誤選択数と、以前の報酬コーナーでノー

ズポークを行った数を分析した。

②単純反応時間課題

この課題ではすべてのコーナで報酬が得られた。コーナに入りノーズポークすると、1秒、2秒、3秒のいずれかの遅延が挿入され、遅延時間後にノーズポーク穴の上部のライトが5秒間点灯した。ライトが点灯している間に再度ノーズポークすると報酬が得られた。この課題ではマウスは(1)ライトが点灯するまで待つこと、(2)ライトが点灯している間にノーズポークを行うこと、の2つが要求された。(1)は運動衝動性の指標とし、(2)は注意の指標とした。7日間課題を行い、ライトが点灯する前にノーズポークを行った数と、ライトがついてからノーズポークを行うまでの潜時を分析した。

③遅延価値割引課題

この課題では「すぐにもらえる小さな報酬(Sooner-Smaller: SS)」と、「後でもらえる大きな報酬(Later-Larger: LL)」のいずれかを選択することを求められた。衝動性の高い動物(ヒトを含む)は、遅延後にもらえる大きな報酬よりも、すぐにもらえる小さな報酬を選択する傾向がある。本研究では認知衝動性の指標としてこの課題を行った。

すべてのコーナで報酬となる水を得ることができた。左右に設置されたノーズポーク穴の片方はSSに割り当てられ、もう片方はLLに割り当てられた。SS側ではノーズポーク直後にドアが開放され、1秒後にドアが閉められた。すなわち、SS側ではノーズポークを行ってすぐに1秒間だけ水を飲むことができた。LL側ではノーズポークの0, 2, 4, 8または16秒後にドアが15秒間解放された。一旦どちらかでノーズポークを行うと、反対側でノーズポークを行っても水を得ることはできず、再度報酬を得るためには一旦コーナの外に出る必要があった。LLのそれぞれの遅延条件でのLL選択の割合を野生型マウスとADHDモデルマウスで比較した。

(2) 神経形態の観察

ゴルジ染色法を用いた神経形態の観察を行った。観察を行う脳部位は、移所行動に関わる側坐核、運動調整に役割を担う線条体、認知課題の遂行に役割を担う前頭前野とした。行動実験終了後のマウスの脳にゴルジ染色を施し、ニューロルシダ(Neurolucida, MBF バイオサイエンス)を用いて神経細胞の3次元像を構築した。線条体と側坐核では樹状突起長と樹状突起の分岐、樹状突起棘を分析した。前頭前野では樹状突起長と樹状突起の分岐を分析した。

4. 研究成果

(1) 認知機能の解析

①空間学習および逆転学習

空間学習課題において、誤選択数は野生型

マウス、ADHDモデルマウスともに訓練日毎に減少した(図2)。野生型マウスとADHDモデルマウス間に統計学的な差は見られなかった。逆転学習課題における、以前の報酬コーナでノーズポークした割合も、野生型マウスとADHDモデルマウスとの間に差はみられなかった。

本研究で用いているADHDモデルマウスの空間的学習の習得機能や、逆転学習の習得に必要なとされる柔軟性には野生型マウスと差がないことが示された。

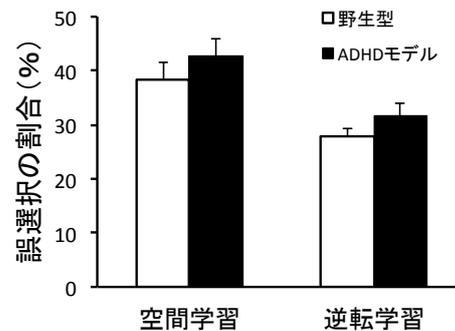


図2. 空間学習と逆転学習における誤選択の割合(平均±標準誤差)

②単純反応時間課題

ライトが点灯する前に反応した割合を、遅延時間毎に算出した(図3)。統計解析の結果、野生型マウスとADHDモデルマウスに有意な差が見られ、ADHDモデルマウスのライト点灯前の反応率が高いことが示された。

ライトが点灯後、ノーズポーク反応が生じた潜時を測定し、潜時毎の反応生起率を算出した(図4)。野生型マウスと比較して、ADHDモデルマウスは反応が生じるまでの潜時が有意に長いことが示された。

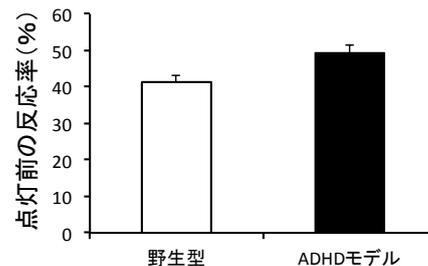


図3. 単純反応時間課題におけるライト点灯前の反応率(平均±標準誤差)

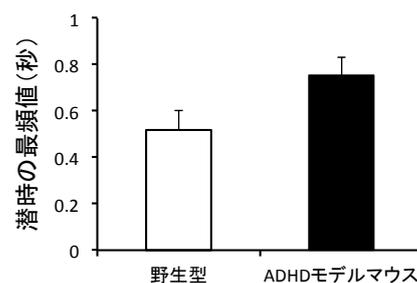


図4. 単純反応時間課題におけるライト点灯後の反応潜時(平均±標準誤差)

③遅延価値割引課題

LL 遅延条件毎の LL および SS 選択数を算出した (図 5)。野生型マウス、ADHD モデルマウスともに LL の遅延条件依存的に LL 選択率が減少し、両群に統計的な差はみられなかった。

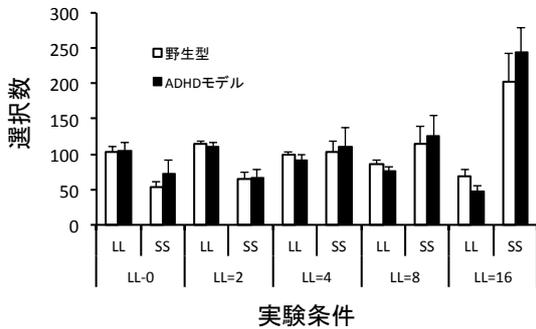


図 5. 遅延価値割引課題における選択数 (平均 ± 標準誤差)

(2) 神経形態の観察

側坐核および線条体では樹状突起長と樹状突起の分岐数、樹状突起棘数およびその形態を観察した。前頭前野では樹状突起長と樹状突起の分岐数を観察した。

側坐核ではいずれの測度でも野生型マウスと ADHD モデルマウスの神経細胞の形態に統計的な差はみられなかった。

線条体では樹状突起長と分岐数にはモデルマウスと野生型マウスに差は見られなかった。樹状突起棘の形態はその成長段階によって、thin、stubby、mushroom にわけられ、mushroom タイプが成熟段階にあると考えられている。線条体において、樹状突起棘の数は両群のマウスに差はなかったが、その形態には群間に差が見られ、thin と stubby の割合は野生型マウスと比較しモデルマウスの割合が多く、mushroom の割合は野生型マウスにおける割合がモデルマウスよりも多かった (図 6)。

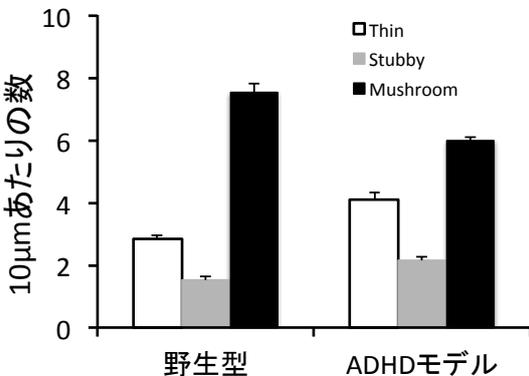


図 6. 樹状突起棘の形態ごとの数 (平均 ± 標準誤差)

前頭前野の帯状皮質の錐体細胞において、

樹状突起長と分岐数に野生型マウスと ADHD モデルマウスに差がみられ、ADHD モデルマウスの樹状突起が長く、分岐数が多いことが示された (図 7)。

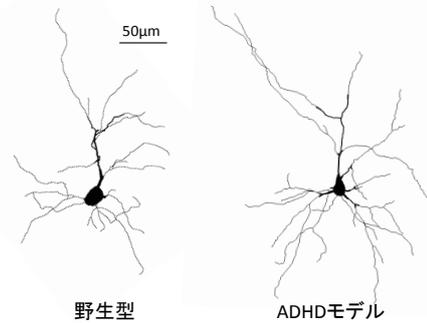


図 7. 各マウスにおける代表的な神経細胞のトレース図

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 3 件)

- ① SUENAGA Toshiko, GAO Shuibo, ISHIDA Yasuhi, NAKAHARA Daiichiro (2015) Effects of adolescent nicotine exposure on intracranial self-stimulation behavior in rats. Neuroscience 2015, Society for Neuroscience. 2015 年 10 月 18 日, ワシントン DC (アメリカ合衆国)
- ② SUENAGA Toshiko, OGAWA Yoko, MENG Hongtui, NAKAHARA Daiichiro (2014) Neuronal characteristics of mice exposed to nicotine during adolescence, The 74th Meeting of the Japanese Society for Animal Psychology, Japanese Society for Animal Psychology. 2014 年 7 月 20 日, 犬山国際観光センター (愛知県・犬山市)
- ③ SUENAGA Toshiko, OGAWA Yoko, MENG Hongrui, ISHIDA Yasushi, NAKAHARA Daiichiro (2013) Long-lasting effects of adolescent nicotine exposure on cognitive function and neuronal development in mice. Neuroscience 2013, Society for Neuroscience. 2013 年 11 月 9 日, サンディエゴ (アメリカ合衆国)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

末永 叔子 (SUENAGA Toshiko)
東京福祉大学・心理学部・講師
研究者番号: 80431667