

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6月1日現在

機関番号：27104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21530766

研究課題名（和文）ADHDの衝動性・注意を指標化した新しい動物モデルの提唱

研究課題名（英文）A research for the new animal models of ADHD by means of behavioral and physiological measurement of impulsiveness and attention.

研究代表者

麦島 剛 (MUGISHIMA GO)

福岡県立大学・人間社会学部・准教授

研究者番号：40308143

研究成果の概要（和文）：

ADHD（注意欠陥多動性障害）は不注意・衝動性・多動性を主症状とする発達障害であり、DAT過剰等の神経基盤が想定されている。薬物療法とオペラント療法による療育が有用であるが、両効果の体系的な関係性は明確ではない。本研究はELマウスを新しい動物モデルとして提唱し、2種の異なる衝動性とミスマッチ陰性電位様反応を新しいADHD指標として提唱した。この系を用いて、治療薬とオペラント療法の適切な組合せを発見した。さらに、モデル動物の脳において注意が生じる前の過程からすでに認知的不全が惹起されていることを見いだした。

研究成果の概要（英文）：

ADHD (attention deficit hyperactivity disorder) is a developmental disorder to assume cardinal symptoms including inattention, impulsiveness and hyperactivity, which is assumed some neural dysfunctions such as higher concentration of dopamine transporter. Although medication and operant therapy are effective on this disorder, it is not clear that the functional relation between both effects. In this study, EL mouse was proposed as a new animal model of ADHD, and two kinds of impulsiveness and mismatch negativity like response were advocated as behavioral and electrophysiological indices of ADHD. Using these models and indices, I discovered some appropriate combinations of medical dosage and signal clearness on operant therapy, which may suggest the significant aspects of functional relation between these therapies. Furthermore, a cognitive dysfunction was indicated on pre-attention which is the phase before generation of attention in cerebral cortex on animal model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：生理

1. 研究開始当初の背景

ADHD（注意欠陥多動性障害）は、不注意、

多動性、衝動性を主症状とし、生物学的要因が土台となって発現すると考えられる発達障害である。ADHD の療育を受ける子どもは、わが国で一貫して増加している(市川, 2000)。今までの ADHD 動物モデル研究においては、自発運動量や、移動までの潜時などを指標として、多動性を検討した例(McFadyen et al, 2005)が主であり、不注意や衝動性はほとんど検討されていない。しかし、ADHD において認知的側面は本質であり、この指標化は行動薬理学的妥当性を大きく向上させると考えられる。いっぽう、今までに、ADHD モデル動物として、本態性高血圧ラット(SHR)、DAT-KO マウス、6-OHDA 損傷ラット等が提唱されている(Russell et al, 2005)。これらはいずれも神経基盤研究にとって有用である。

ADHD の神経機序の研究は、近年急速に発展してきた。Methylphenidate 等の中枢刺激薬が 70% の ADHD 児の症状を緩和するが、その最有力仮説の一つが DAT(ドーパミントランスporter)過剰説である。過剰に働く DAT が中枢刺激薬により正常化されて、受容体におけるドーパミン(DA)の作用時間を延長する、という理論である。とくに前頭前野の DAT が本質的であるとされるが、中脳-皮質路は他の経路に比べ、DAT に対する NET の比率が高いので、NET を介した制御が大きい役割を持つ(Caine, 1998)。今後ノルアドレナリン(NA)の関与について検討を進める必要がある。

注意に関する認知モデルとして、感覚運動関門(sensory-motor gating)が提唱されている(Braff et al, 1978)。健常者では強い音の直前に微小な音を受けると、強い音に対する驚愕反応が減弱する(pre-pulse inhibition)。統合失調症患者はこの関門に障害を受けている結果、驚愕反応の減弱が見られない。この現象は、カテコラミン受容体やグルタミン受容体機能を変化させた動物でも生じる。また、同様の障害は同じ強さの 2 音を与えた場合(paired stimulation)にも生じ、この障害は脳波学的変化として確認されつつある(Ellenbroek et al, 1999)。連続 2 音に対する誘発電位は、第 1 音に比べて第 2 音の振幅が抑制される(Miyazato et al, 1996)。これは、感覚関門(sensory gating)によると考えられる。この認知モデルをはじめ、各種の注意を反映する精神生理学的指標を ADHD モデル研究に援用できる可能性がある。

2. 研究の目的

今までの ADHD の動物モデルに加え、我々は EL マウスを提唱した(麦島, 2006)。EL マウスは、突発性てんかんのモデルであり、交配により確立した系統である。この系統を本質的モデルとして提唱した理由は、以下の 3

点である。1) てんかん児の約 20% に ADHD が併発されること。2) EL マウスが、日常より明らかな多動性を示すこと。3) 上記のオペラント事象における衝動性が、有意に高いこと。

さらに我々は、オペラント事象での衝動性の高さが、新しい ADHD 治療薬 atomoxetine により改善されることを示した。この薬剤が衝動性を低めたことにより、EL マウスの衝動性には、前頭前野 NET(ノルアドレナリントランスporter)が関与する可能性が示された。この中枢 NA 神経系は、注意機能に深く関与することが知られている。申請者らは、これまでに、おもに統合失調症の認知モデルとして感覚関門(sensory gating)の障害と NA 系の関係を、薬物脳波学的に検討してきた。この感覚関門は、ADHD の認知的モデルとして援用可能であると考えられる。

また、ミスマッチ陰性電位(mismatch negativity; MMN)は、繰り返しの聴覚刺激の変化に対する電位変化であり(Naatanen et al., 2001)、感覚記憶を用いた前注意過程を反映する。ヒトでは潜時 100~200 ms の陰性波形として出現する。統合失調症や ADHD により MMN が減衰することから、これらの障害が注意過程に加えて前注意過程の不全を有する可能性がある。

Methamphetamine や methylphenidate は、強い覚醒作用を持つにもかかわらず、逆説的に ADHD 症状を緩和する。また、感覚関門の促進という結果は、感覚運動関門での多くの知見と正反対となった。つまり、運動系を介さない感覚関門機能は、NA の注意機能を強く反映し、ADHD 症状の改善を反映しうる反応をもたらしたとも考えられる。

これらを踏まえて、本研究では以下 3 点を検討することを目的とした。1) EL マウスが、DRL 事象において、どのように三項随伴性を獲得するのか。2) 弁別刺激の効果と、atomoxetine 等の治療薬効果との関数関係。3) 対照ラットおよびモデルラット SHR の MMN に対する誘発電位への ADHD 治療薬の効果。これらによって、行動療法と薬物療法を理論的に統合し、ADHD に対してより効果的な療育を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対照マウス DDY とモデルマウス EL マウスにおける弁別刺激の明瞭度と atomoxetine 用量との関数関係の検討。

DDY 及び EL マウス雄性 (n=各 3) に対し、オペラント条件づけを 1 日 1 試行 (45 分) 実施した。強化スケジュールは、VI5・VI15・VI30・DRL5・DRL15・(DRL30)・VI30 の順に推移させた。達成条件は、VI では反応数が 3 日連続で 75% 以内に安定することとし、DRL では強化数が 3 日連続で VI30 の 75% 以上とな

ることとした。以上を、弁別刺激なし・薬物投与なしセッション、0%付加・薬物投与なしセッション、40%付加・薬物投与なしセッション、40%付加・2mg/kg 投与セッション、40%付加・5mg/kg 投与セッションの順に実施した。0%付加セッションでは、随伴性をもつ光弁別刺激のみを呈示し、40%付加セッションでは、随伴性をもたない光擬似刺激を1試行の40%分(15秒間×72回:計1080秒)光弁別刺激に混在させた。薬物は実験開始30分前に腹腔内投与した。

(2) 対照マウス DDY とモデルマウス EL マウスの遅延価値割引事態での衝動的選択。

雄性 DDY マウス (対照系統)、雄性 EL マウス (n = 各 3) を用い、レバーを 2 基設置したスキナーボックスで実験を行った。それぞれのレバー上部には、事態の移行を知らせるためのランプを設置した。本実験では 1 日 1 試行 (19 分 30 秒)、餌ペレットを用いた離散試行課題を行った。1 試行は強制選択試行 6 ユニットと自由選択試行 20 ユニットとした。1 ユニットは 45 秒であり、選択期間、遅延期間、待機期間で構成された。選択期間にはそれぞれのレバー上ランプが点灯し、一方のレバーを押すと遅延期間に移行し、レバー押しのあったランプが報酬遅延時間の長さだけ点滅した。遅延期間の終了と同時に強化子が呈示され、次の選択期間の開始までランプは消灯し、待機期間となった。本実験では左右レバーに割り当てた報酬遅延時間と報酬量 (括弧内数字) が 7.5" (2)・7.5" (1)、7.5" (1)・10" (2)、12.5" (2)・7.5" (1)、7.5" (1)・15" (2) である 4 条件を実施した。1 条件は 15 日間とした。

その結果を以下のように分析した。選択期間および遅延期間に生じたレバー押し反応数を遅延時間で割った単位時間あたりの反応数に基づき、

$$\text{Log} (B1/B2) = \text{SD} \text{Log} (D2/D1) + \text{Log} k \quad (1)$$

$$\text{Log} (B1/B2) = \text{SA} \text{Log} (A1/A2) + \text{Log} k \quad (2)$$

(1) および (2) 式から報酬遅延および報酬量に関する回帰直線を求めた。得られた回帰直線について、共分散分析による平行性検定を行った。

(3) 対照マウス DDY とモデルマウス EL マウスの対応法則。

雄性 DDY マウス (対照系統)、雄性 EL マウス (n = 各 3) を用い、レバーを 2 基設置したスキナーボックスで実験を行った。それぞれのレバー上部には、事態の移行を知らせるためのランプを設置した。餌ペレットを強化子とするオペラント条件づけを 1 日 1 試行 (45 分) 実施した。本実験では、左右レバーに割り当てた VI 値が VI60"・VI60"、VI30"・VI60"、VI90"・VI30"、VI20"・VI60"、VI60"・VI40"

である 5 条件を行った。選択肢間の強化比率はそれぞれ 1:1、2:1、1:3、3:1、1:1.5 であった。1 条件は 15 日間とし、COD は 2 秒とした。その結果を以下のように分析した。
$$\text{Log} (B1/B2) = a \text{Log} (r1/r2) + \text{log} k \quad (3)$$

(3) 式から反応数と強化数の比率に関する回帰直線を求めた。DDY および EL の強化に対する感受性 (パラメーター a の値) に差があるかを検討するために、得られた回帰直線について共分散分析による平行性検定を行った。

(4) 健常ラットにおける MMN 様反応の導出と methylphenidate の効果。

Wistar 系雄ラットに対し、大脳皮質頭頂野 (bregma より lat:1.00mm、cau:3.50mm) および側頭野 (lat:6.00mm、cau:4.45mm) に電極を埋め込み固定した。手術回復後、2 種 (2k, 4kHz) の音 (15ms, 87dB) の連続 (間隔 1500ms) を、standard 音:deviant 音=95:5 の割合で合計 1000 音呈示した。音呈示 200ms 前から 1200ms 間電位測定し加算平均した。測定開始 1 分前に生食水または methylphenidate (5 または 10mg/kg) を全身投与した。加算平均値より潜時 100~160ms の成分積分値を算出し、この値の deviant 反応と standard 反応の差を MMN とした。

(5) 対照ラット WKY とモデルラット SHR における MMN 様反応の導出と atomoxetine の効果。

雄性 WKY および SHR に対し、頭頂野 (bregma より lat:1.00mm、cau:3.50mm)、側頭野 (lat:6.00mm、cau:4.45mm)、海馬 CA1 (lat:2.50mm、cau:4.30mm、dep:2.50mm) にネジ電極または 100 μ m ステンレス鋼線電極を埋め込み固定した。手術回復後、2 種 (2k, 4kHz) の音 (15ms, 87dB) の連続 (間隔 1500ms) を、standard 音:deviant 音=95:5 の割合で合計 1000 音呈示し、その間の電位を測定し加算平均した。測定開始 3 分前に生食水または atomoxetine (2 または 10mg/kg) を全身投与した。1ms 毎に両音への反応の差を t 検定により比較した。

4. 研究成果

(1) 対照マウス DDY とモデルマウス EL マウスにおける弁別刺激の明瞭度と atomoxetine 用量との関数関係の検討。

40%付加条件において、薬物投与のない場合、DRL15 の EL の強化数は DDY より少なかった (p < .01) が、atomoxetine 5mg/kg 投与により系統差がなくなった。また、先行研究が示した atomoxetine 10mg/kg 投与の結果と、本研究における 40%付加・ATX 5mg/kg 投与セッションの結果を比べると、EL の強化数に有意差はみられなかった (図 1)。

ある程度の明瞭度をもつ環境下での低用量投与と、高用量の単独投与の有効性は同等

であることが示唆された。このことより、行動的介入と薬物的介入の併用は有効で、両者は相補的な関係を示した。今後、両者の変数を細かく設定することで、関数関係が明らかになるとと思われる。

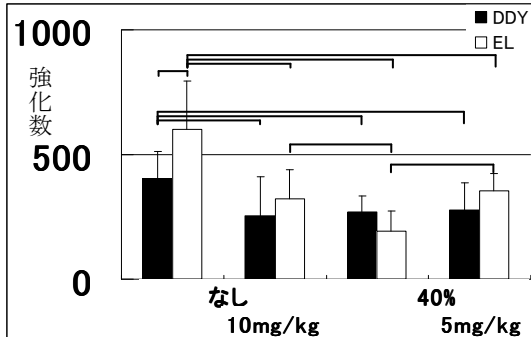


図 1 疑似刺激混入なしと 40% 混入時の atomoxetine の DRL15 での強化数

(2) 対照マウス DDY とモデルマウス EL マウスの遅延価値割引事態での衝動的選択。

EL の SA 値は DDY の SA 値より有意に小さく ($p = .000$)、EL の SD 値は DDY の SD 値より有意に大きかった ($p = .004$)。このことより、EL は報酬遅延を重視した行動をとり、選択場面において衝動的選択を行っていることが示された。本実験から、EL が「実行」だけでなく「結果」に関する衝動性をもつことが明らかとなった。

さらに、EL の報酬遅延および報酬量に対する感受性は、DDY とは異なっており、ADHD 児が報酬遅延に対する感受性が高く (Tripp & Alsop, 2001)、強化に対する感受性が低いこと (Haenlein & Caul, 1987) と一致する。

(3) 対照マウス DDY とモデルマウス EL マウスの対応法則。

2 つの並立 VIVI 事態下 (VI20"VI60"、VI30"VI90") において、DDY は $a = 0.57$ 、EL は $a = 0.73$ であった。また、3 つの並立 VIVI 事態下 (VI60"VI60"、VI60"VI40"、VI30"VI60") において、DDY は $a = 0.63$ 、EL は $a = 0.39$ であった。3 つの並立 VIVI 事態下における DDY および EL の傾きには有意な差があった ($p < .05$) (図 2)。

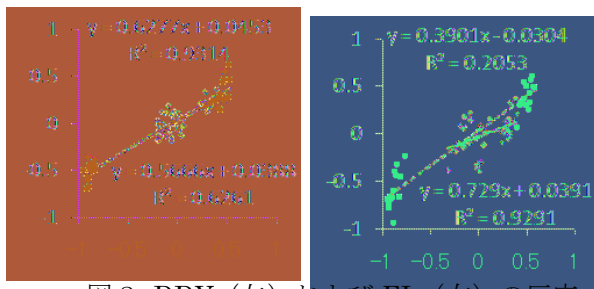


図 2 DDY (左) および EL (右) の反応比率と強化比率のマッチング

(4) 健常ラットにおける MMN 様反応の導出と methylphenidate の効果。

生食水投与時に両野とも deviant 反応が standard 反応より有意に高値だった (頭頂野: $t(6) = 2.80$, $p < .05$ 、側頭野: $t(6) = 2.70$, $p < .05$)。Methylphenidate 投与の効果は両野ともに有意ではなかった (頭頂野: $F(2, 4) = 1.25$ 、側頭野: $F(2, 4) = 2.19$)。平均値としては 5mg/kg 投与により deviant-standard の値が低下し、10mg/kg 投与により上昇した (図 3)。

これらより、ラット大脳皮質で MMN 様の陽性電位が導出され、ラットの感覚記憶や前注意過程が検討可能であることが示唆された。また、標本数の増設により、EL マウスへの衝動性抑制効果と同様に、methylphenidate の U 字型の用量反応性が明瞭に表れる可能性もある。

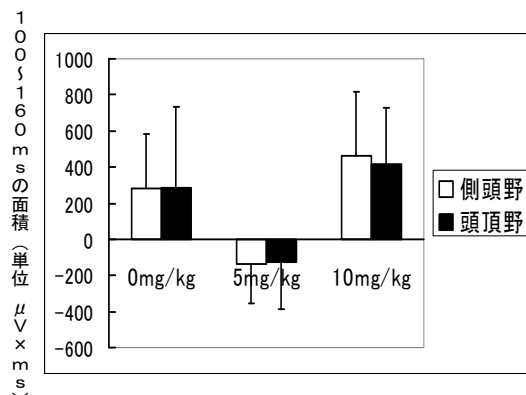


図 3 MMN 様反応への methylphenidate の効果

(5) 対照ラット WKY とモデルラット SHR における MMN 様反応の導出と atomoxetine の効果。

WKY の頭頂では 121-171ms で deviant 反応が standard 反応よりも大きかった ($p < .05$) のに対して、SHR の皮質では有意差はない一方、海馬で deviant 刺激に対し陰性側に反応した ($p < .05$)。WKY では atomoxetine 2mg/kg により頭頂の MMN 様反応が 134-144、162-184ms で亢進し ($p < .05$)、10mg/kg により 125-169ms で減弱した ($p < .05$)。SHR では 2mg/kg により海馬の MMN 様反応が 82-102ms で亢進し ($p < .05$)、10mg/kg により 64-138、160-220ms で亢進した ($p < .05$)。これらの結果から、1) 対象系統で見られる皮質 MMN 様反応が SHR では惹起せず、臨床知見が ADHD モデル動物で初めて示唆された。SHR は前注意過程が不全である可能性がある。2) atomoxetine の少量投与はラットの皮質 MMN 様反応を陰性側に亢進し、十分な量で減弱させる。少量投与時のマウスのオペラント反応抑制との関係等が考えられる。3) SHR では atomoxetine により海馬の MMN 様反応が大きく亢進された。海馬が ADHD の注意障害、前注意過程障害に

関与している可能性が示唆された。

(6) 総合考察。

本研究において EL マウスを新しい動物モデルとして提唱し、2 種の異なる衝動性とミスマッチ陰性電位様反応を新しい ADHD 指標として提唱した。この系を用いて、治療薬とオペラント療法の適切な組合せを発見し、モデル動物の脳において注意が生じる前の過程からすでに認知的不全が惹起されていることを見いだした。

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 12 件)

- ① Nakamoto, Y., Mugishima, G., Kimura, H., Masuda, K., Oyama, A., Kubo, H., Nukada, H., Yoshii, M. Effects of atomoxetine and fluoxetine on the epileptic EL mouse, a possible animal model for ADHD. Society for Neuroscience 2011 年 11 月 16 日 Washington D.C. (米国)
- ② 麦島剛・木村裕・小山明子・久保浩明・中本百合江・吉井光信 報酬遅延を用いた EL マウスの衝動的行動の検討。—ADHD モデル動物の選択行動— 日本行動分析学会 2011 年 9 月 19 日 早稲田大学 (東京都)
- ③ 小山明子・木村裕・久保浩明・森久美子・星子友里恵・中本百合江・吉井光信・麦島剛 遅延価値割引を用いた EL マウスの衝動的行動の検討。—ADHD モデル動物の報酬遅延と報酬量への感受性— 日本行動分析学会 2011 年 9 月 19 日 早稲田大学 (東京都)
- ④ 久保浩明・木村裕・小山明子・永末正志・野添美和・中本百合江・吉井光信・麦島剛 EL マウスの選択行動におけるマッチング法則の検討。—ADHD モデル動物の強化に対する感受性について— 日本行動分析学会 2011 年 9 月 19 日 早稲田大学 (東京都)
- ⑤ 麦島剛・木村裕・小山明子・久保浩明・石田彩香・榛葉俊一 ラットのミスマッチ陰性電位様反応への methylphenidate 投与の効果：前注意過程の検討 日本動物心理学会 2011 年 9 月 8 日 慶應義塾大学 (東京都)
- ⑥ 麦島剛・木村裕・小山明子・久保浩明・江里口武帥・榛葉俊一 ラットのミスマッチ陰性電位様反応への yohimbine 投与の影響：前注意過程の検討 日本動物心理学会 2010 年 8 月 29 日 帝京大学 (東京都)
- ⑦ 久保浩明・木村裕・小山明子・星子友里恵・野添美和・中本百合江・吉井光信・麦島剛 疑似弁別刺激の頻度と持続時間

の変動が EL マウスのオペラント行動に及ぼす影響 日本動物心理学会 2010 年 8 月 28 日 帝京大学 (東京都)

- ⑧ 小山明子・木村裕・久保浩明・野添美和・星子友里恵・中本百合江・吉井光信・麦島剛 弁別刺激の明瞭度および ADHD 治療薬 atomoxetine 投与が EL マウスのオペラント行動にもたらす効果 (2) 日本動物心理学会 2010 年 8 月 29 日 帝京大学 (東京都)
- ⑨ 麦島剛・安野俊紘・小山明子・久保浩明・栢田恵子・榛葉俊一 Paired stimulation に対するラットの聴覚誘発電位への methylphenidate 投与の影響 日本動物心理学会 2009 年 9 月 26 日 岐阜大学 (岐阜県)
- ⑩ 久保浩明・木村裕・栢田恵子・小山明子・中本百合江・吉井光信・麦島剛 擬似弁別刺激の持続時間の変動が EL マウスのオペラント行動に及ぼす影響 日本動物心理学会 2009 年 9 月 26 日 岐阜大学 (岐阜県)
- ⑪ 小山明子・木村裕・栢田恵子・久保浩明・中本百合江・吉井光信・麦島剛 弁別刺激の明瞭度および ADHD 治療薬 atomoxetine 投与が EL マウスのオペラント行動にもたらす効果 日本動物心理学会 2009 年 9 月 26 日 岐阜大学 (岐阜県)
- ⑫ 栢田恵子・木村裕・小山明子・久保浩明・中本百合江・吉井光信・麦島剛 DRL 事態下での EL マウスの衝動性に対する不明瞭な光弁別刺激の効果 日本動物心理学会 2009 年 9 月 26 日 岐阜大学 (岐阜県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

麦島 剛 (MUGISHIMA GO)

福岡県立大学・人間社会学部・准教授

研究者番号：40308143