

<b>Title</b>	新生仔期 NMDA 受容体拮抗薬反復投与動物の行動特性：統合失調症動物モデルとして
<b>Author</b>	川辺, 光一
<b>Citation</b>	人文研究. 65 巻, p.47-62.
<b>Issue Date</b>	2014-03
<b>ISSN</b>	0491-3329
<b>Type</b>	Departmental Bulletin Paper
<b>Textversion</b>	Publisher
<b>Publisher</b>	大阪市立大学大学院文学研究科
<b>Description</b>	堀内達夫教授退任記念

Placed on: Osaka City University Repository

## 新生仔期 NMDA 受容体拮抗薬反復投与動物の行動特性 —統合失調症動物モデルとして—

川 辺 光 一

NMDA 受容体はイオンチャンネル型グルタミン酸受容体のサブタイプの一つであり、学習・記憶時や、発達期の脳における神経細胞の可塑的な変化に関わっていることが知られている。新生仔期にフェンサイクリジンや MK-801 のような NMDA 受容体拮抗薬を投与したラットやマウスは、成体期に及ぶまでの長期にわたり様々な行動・認知機能に異常を示す。これらの異常には統合失調症の症状に類似したものが認められることから、近年これらの動物が統合失調症の動物モデルとして提唱されている。本論ではこれらの動物の行動特性について概観し、統合失調症モデルとしての妥当性について検証すると同時に、これらの動物を使った研究の今後の課題について論じた。

NMDA (*N*-methyl-D-aspartate; *N*-メチル-D-アスパラギン酸) 受容体はイオンチャンネル型グルタミン酸受容体のサブタイプの一つであり、カルシウムチャンネルと共役している受容体である。NMDA 受容体は学習・記憶の生理的基盤の一つと考えられている長期増強に関与しており (e.g., Abraham & Mason, 1988; Harris, Ganong, & Cotman, 1984; Morris, 1989; Morris, Anderson, Lynch, & Baudry, 1986; Stringer, Greenfield, Hackett, & Guyenet, 1983)、この受容体の拮抗薬が学習・記憶障害を引き起こすことも知られている (e.g., Kawabe, Ichitani, & Iwasaki, 1998; Kawabe, Yoshihara, Ichitani, & Iwasaki, 1998; Morris, 1989; Morris et al., 1986)。また、後述のように NMDA 受容体拮抗薬は統合失調症と類似した症状を引き起こすことも知られている。さらに、NMDA 受容体拮抗薬を新生仔期に反復投与もしくは慢性投与すると (以下、単に薬物名を挙げずに「投与」とした場合は NMDA 受容体拮抗薬の投与を指す)、成体期に及ぶまでの長期間にわたり、様々な形で行動・認知機能に障害が残ることが知られている。

統合失調症の発症メカニズムの解明や抗精神病薬のスクリーニングを目的として、様々な統合失調症の動物モデルが開発されている。NMDA 受容体拮抗薬を新生仔期に慢性的、反復的に投与したラットやマウスが統合失調症の発症機構に関する仮説に合致し、またこれらの動物が示す行動・認知機能の異常のいくつかが統合失調症の症状と類似しているため、近年これらの動物が統合失調症のモデル動物の一つとして考えられるようになった。本稿ではこれらのラットやマウスにおける行動特性を中心に概観し、これらの動物の統合失調症モデルとしての可能性について探っていききたい。同時に統合失調症モデル動物 (ここではラット、マウスのみを扱

う) の行動・認知機能の測定に用いられる行動テスト法についても簡単に概説する。

## 統合失調症

統合失調症は幻覚や妄想などの異常体験を主症状とした精神疾患である。性別、人種、民族、文化を問わず、あるいはどの時代においても人口の1%程度に発症が認められるといわれている。また、発症には遺伝的な要因が強く関与しているとされるが、それだけでは発症の原因を説明することはできない。

その症状は陽性症状と陰性症状に分類されることが多い。陽性症状は、幻覚、妄想、滅裂な思考・会話、興奮・昏迷などの緊張性の症状など、健全な人に認められない異常を総称したものである。一方、陰性症状は、意欲や社会性の低下、感情・発話の貧困化、自閉など健全な人に認められる精神機能の低下を総称したものである。一般的に陽性症状は急性期に、陰性症状は慢性化に伴って顕著に認められる。また、注意、記憶、実行機能などのさまざまな認知機能においても異常が認められる。このように症状は多様性に富むが、患者によっても認められる症状が大きく異なっている。

### 統合失調症の発症メカニズムに関する仮説

ここで統合失調症の発症メカニズムに関しては、数多くの生物学的仮説が存在する。ここではそのうちの主要なもの3つを取り上げ、概説する。ただしこれらの仮説はいずれも互いに排他的なものではなく、実際にはここで挙げた以外の仮説も含む複数の仮説に基づく変化が組み合わさって発症するものだと考えられている。

#### (1) ドーパミン仮説

ドーパミン仮説は、ドーパミン系の過剰亢進を発症の原因とする説である。この仮説の主要な根拠とされるのは、以下の2点である。(1) アンフェタミン、メタンフェタミンのような覚醒剤は幻覚、妄想、興奮など陽性症状とよく似た症状を引き起こすが、これらの薬物はドーパミンの放出を促進し、再取り込みを抑制することによってドーパミン系の働きを強めることが知られている。(2) 抗精神病薬の多くがドーパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗薬としての作用を持ち、それらの臨床用量とドーパミンD<sub>2</sub>受容体に対する解離定数(親和性の逆数)の間に正の相関が認められる(Seeman & Tallerico, 1998)。

一方で、覚醒剤によって陰性症状様の症状が生じないこと、ドーパミンD<sub>2</sub>受容体に選択性の強い定型抗精神病薬は陽性症状には改善効果を示すが、陰性症状には改善効果を持たないことが知られている。これらの事実はこの仮説が陽性症状を説明することはできるが、陰性症状については説明できないということを示唆するものである。この弱点を補い、陽性症状の原因

として中脳辺縁系のドーパミン系の機能亢進を、陰性症状の原因として中脳新皮質系のドーパミン系の機能低下を仮定する仮説も提唱されている。

## (2) グルタミン酸仮説

フェンサイクリジン (phencyclidine; PCP) やケタミン (ketamine) は解離性麻酔薬として知られるが、麻薬として濫用される薬物でもある。これらの薬物は陽性症状様の症状を引き起こすだけでなく、陰性症状様の症状も引き起こすことが知られている (Javitt & Zukin, 1991; Jentsch & Roth, 1999; Snyder, 1980)。さらにこれらの薬物は NMDA 受容体拮抗薬としての作用を有していることから、(特に NMDA 受容体を介した) グルタミン酸系の伝達低下を統合失調症の病因と考えるグルタミン酸仮説が提唱された。統合失調症患者の死後脳分析により脳の広い範囲でグルタミン酸受容体数の増加が認められることが知られるが (Ishimaru & Toru, 1997)、これはグルタミン酸放出量が長期にわたって低下したことによって起こる補償作用を示唆する結果である。NMDA 受容体拮抗薬投与後にはドーパミン系の機能亢進が認められることから、ドーパミン仮説をも包含しうる仮説と考えることもできる。

## (3) 神経発達障害仮説

神経発達障害仮説 (Rapoport, Giedd, & Gogtay, 2012; Weinberger, 1987) は、統合失調症を脳の発達障害による進行性の疾患と考える説である。この説では、一次的な脳の発達障害が発達のより初期段階に起こり、その後さらに二次的な発達障害が起こると考える。統合失調症発症の直接的な引き金となるのは二次的な障害の方であり、青年期が発症の好発年齢であることを説明づけることができる。

海馬や扁桃体などを含む内側側頭葉などに体積減少が認められる、脳室が拡大しているなどの構造的な異常が統合失調症の初発患者においても既に認められることから、これらの異常が発病のかなり前から生じているのではないかという考えをもとにこの仮説が生まれてきた。また、統合失調症患者の死後脳分析において、内側側頭葉などに神経細胞の減少や萎縮、細胞構築の乱れといった異常が認められるが、その一方で細胞変性の証拠であるグリオーシスは認められないという知見がある。この知見は、このような異常が脳の基本的な構造が構築される前に生じたということを示すものと考えられている。

以上のような仮説に基づいた動物モデルも数多く作成されている。ドーパミン仮説に基づく動物モデルとして覚醒剤投与動物が、グルタミン酸仮説に基づく動物モデルとして PCP やケタミン、MK-801 (dizocilpine; (5S,10R)-(+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cyclohepten-5,10-imine) などの NMDA 受容体拮抗薬投与動物が用いられることが多い。また、この2つの仮説に関しては仮説を反映するような遺伝子改変を施したマウスが動物モデル

として使われる場合もある。神経発達障害仮説に基づく動物モデルとしては新生仔期腹側海馬損傷動物や新生仔期 Poly I:C (ウイルス感染を模倣するとされる合成 2 本鎖 RNA) 投与動物などが使われる。

NMDA 受容体は脳の発達期における可塑的变化に深く関わっていることが知られていることから (McDonald & Johnston, 1990)、新生仔期 NMDA 拮抗薬反復投与により深刻な脳の発達障害をもたらされることが予想される。したがって、この処置を行った動物は神経発達障害仮説に基づく統合失調症モデルの一つとして考えることができる。また、新生仔期に NMDA 受容体を遮断することによりグルタミン酸系の機能を阻害しているのでグルタミン酸仮説に基づくモデルと考えることもできる。上述のように統合失調症の発症メカニズムはいくつかの仮説に基づく生物学的変化が組み合わさったものと考えられるため、新生仔期 NMDA 拮抗薬反復投与動物はこの 2 つの仮説の特性を備えた有用な動物モデルとして利用できるかもしれない。

### 新生仔期 NMDA 受容体拮抗薬投与動物の行動特性

NMDA 受容体の拮抗薬には、AP5 (2-amino-5-phosphonopentanoic acid)、AP7 (2-amino-7-phosphonoheptanoic acid)、CPP (3-(2-carboxypiperazin-4-yl)propyl-1-phosphonic acid)、CGS 19755 (*cis*-4-(phosphonomethyl)-2-piperidine-carboxylic acid)、CGP 37849 (D,L-(*E*)-2-amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentenoic acid)、CGP 40116 (D-(*E*)-2-amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentenoic acid)、CGP 39551 (D,L-(*E*)-2-amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentenoic acid ethyl ester) などの競合的拮抗薬と、MK-801、PCP、ケタミンなどの非競合的拮抗薬が知られている。競合的拮抗薬は血液脳関門を通過しないものも多く、慢性投与と実験においてはその投与時期にかかわらず非競合的拮抗薬の方が多く用いられている。

精神疾患の動物モデルの妥当性は表面的妥当性 (face validity)、構成概念妥当性 (construct validity)、予測的妥当性 (predictive validity) の 3 つの観点から評価される。表面的妥当性はモデル動物の示す行動異常が目的とする精神疾患の症状と表面的に類似していることを示す。構成概念妥当性は、行動異常や症状の原因となる脳・神経系の構造的・機能的な異常が精神疾患とモデル動物の間で共通しているということを示す。また、予測的妥当性は既存の治療薬が症状の改善効果を持ち、新規治療薬の有効性を予測しうるかどうかということを示している。したがって動物モデルの行動・認知機能の異常を調べることは表面的妥当性の評価を行うことに対応する。

統合失調症における陽性症状のうち最も主要なものは幻覚、妄想のような異常体験であるが、これらは主に言語を介して判定されるものであるため、動物モデルにおいてこのような症状を見いだすのは困難である。したがって動物モデルにおける陽性症状の指標としては、常同行動

や活動性の増大のような興奮性、緊張性の症状が中心となって調べられている。常同行動は統合失調症の患者にしばしば認められるような反復的な行動である。陰性症状の指標として用いられることが多いのは、社会的相互作用テストである。これは同じ実験場面内に存在する他個体に対する身体的接触を調べるものであり、接触時間や接触頻度の低下を社会性の低下とみなすものである。また、抑うつ性の指標としても用いられる強制水泳テストが陰性症状の指標として用いられることもある。これは動物を水の入った深く狭いプールの中に5~20分程度入れておくという方法がとられる。このようにすると動物はしばらくの間は水から逃避しようともがくが、時間がたつと逃避できないことを認知し水に浮かんでほとんど動かなくなる。この無動時間を陰性症状における意欲の低下とみなすものである。

認知機能においては作業記憶などの学習・記憶機能やプレパルス抑制などが調べられている（これらの行動テストについては後述する）。以下にこれらの行動・認知指標についてのいくつかを取り上げ、それらの研究を概観する。

### 1. 一般活動性

一般活動性としてはオープンフィールドや居住ケージ内などでの移動活動量が一般的に測定されるが、立ち上がり反応などの行動を同時に測定する場合もある（ここでは立ち上がり反応も活動性に含めて議論する）。統合失調症様の症状を引き起こす薬物である覚醒剤やPCPの投与によって過活動が起こるため、統合失調症モデル動物においては一般活動性の増加を陽性症状に対応させる場合がある。新生仔期反復投与動物においては一般活動性の増加を認めるものも多く報告されている（Facchinetti, Ciani, Dall'Olio, Virgili, Constetabile, & Fonnum, 1993; Facchinetti, Dall'Olio, Ciani, Sparapani, Virgili, & Contestabile, 1994; Harris, Sharp, Gartlon, Jones, & Harrison, 2003; Wedzony, Fijal, Mackowiak, Chocyk, & Zajackowski, 2008）が、減少を認めるもの（Kawabe, Iwasaki, & Ichitani, 2007; Uehara, Sumiyoshi, Seo, Itoh, Matsuoka, Suzuki, & Kurachi, 2009）（いずれの研究も立ち上がり反応の減少。移動活動量については不変）、変化しないとすもの（Gorter & de Bruin, 1992; Lim, Taylor, & Malone, 2012; Nakatani-Pawlak, Yamaguchi, Tatsumi, Mizoguchi, & Yoneda, 2009; Stefani & Moghaddam, 2005; Uehara, Sumiyoshi, Seo, Matsuoka, Itoh, Suzuki, & Kurachi, 2010）もあり、必ずしも一貫した結果は得られていない。また一般活動性は興奮、不安、新奇場面に対する恐怖や興味などさまざまな情動機能による影響を受けるために多義的な解釈が可能であることや、実験場面の新奇性（一般的には、居住ケージは動物にとっては既知の環境であるのに対し、オープンフィールドは新奇場面と考えられる）や時間に伴った慣れ、照明条件などの実験条件による影響を受けやすいことから、一般活動性の結果のみから特定の情動機能を推測することには注意が必要である。一方で一般活動性は特定の薬物に対しては極めて敏感に反応するため、これらの薬物に対する感受性の評価を簡便に行うことが可能である。例えば覚醒剤

の様なドーパミン系を賦活する薬物を投与すると過活動が起こるため、これらの薬物に対しより低用量で過活動が生じた場合はドーパミン受容体の機能が亢進していることが予想される。NMDA 受容体拮抗薬についても同様であり、低用量で過活動が生じた場合は NMDA 受容体の機能亢進が予想される。新生仔期反復投与動物においては覚醒剤 (メタンフェタミン) (Uehara et al., 2010) や PCP (Nakatani-Pawlak et al., 2009; Wang, McInnis, Ross-Sanchez, Shinnick-Gallagher, Wiley, & Johnson, 2001) 投与による過活動が引き起こされやすくなるという報告があることから、ドーパミン受容体や NMDA 受容体について機能亢進が起きていることが予想される。

## 2. 陰性症状様行動

陰性症状様の行動についての研究例はまだ少ない。Nakatani-Pawlak et al. (2009) は PCP 新生仔期反復投与が他個体に対する社会的相互作用を減少させることを示している。また Wedzony et al. (2008) は社会的相互作用テストにおいて、CGP 40116 新生仔期反復投与が他個体に対する非攻撃的接触行動の時間を減少させることを見いだしている。しかしながら一方で攻撃的接触行動の時間は上昇させるという結果も得ており、この行動変化が陰性症状様の症状を反映したものかということについては判断するのが難しい。

## 3. 学習・記憶機能

NMDA 受容体は種々の学習・記憶に関与していると考えられている海馬に最も多く存在しており、海馬が関与している学習・記憶に大きな役割を果たしているとされている (e.g., Kawabe et al., 1997; Morris, 1989; Morris et al., 1986)。これらの知見に基づき、新生仔期反復投与動物の行動実験においてもその初期から空間記憶のように特に海馬の正常な機能を必要とするような学習・記憶機能が多く調べられてきた。新生仔期反復投与動物が統合失調症モデル動物の一つといわれるようになったのは近年であるため、初期の研究では特に統合失調症モデルとしての妥当性については言及されていない。しかし統合失調症の患者においては海馬を含む内側側頭葉に萎縮が認められることも知られていることから、これらの記憶機能の評価を通じて海馬の機能を評価することは意味のあることである。

例えば Gorter & de Bruin (1992) の研究は NMDA 受容体拮抗薬の新生仔期反復投与が長期にわたる行動障害をもたらすことを見いだしたおそらく初めての研究であるが、この研究では MK-801 新生仔期反復投与によって Morris 水迷路における空間学習課題の習得が障害されることを見いだしている。空間記憶においては課題を問わずそのほかの多くの研究で、新生仔期反復投与によって長期にわたる障害をもたらされることが報告されている (e.g., Brooks, Weeks, Leboutillier, & Petit, 1997; Kawabe et al., 2007; Latysheva & Rayevsky, 2003; Sircar, 2003)。

作業記憶 (working memory; 作動記憶、ワーキングメモリーなどとも訳される) は記憶情報を一時的に保持し、その情報を能動的に操作することによって意思決定を下すまでの一連の認知過程である。作業記憶においては特に前頭前野が中心的な働きを担っていると考えられているが、その一方でこの機能こそが前頭前野における中心的機能とする考えもある。統合失調症患者においては前頭前野の機能低下 (hypofrontality) が示唆されているが、作業記憶も顕著に障害されることも知られている。作業記憶の障害が統合失調症の中心症状であるという考えも提唱されていることもあり (Goldman-Rakic, 1994)、統合失調症の動物モデルにおいても作業記憶の異常が多く調べられてきている。

新生仔期反復投与動物においても、放射状迷路課題 (Kawabe et al., 2007) や、遅延非見本合わせ課題 (Kawabe & Miyamoto, 2008)、遅延交替課題 (Wang et al., 2001; Wedzony et al., 2008)、自発的交替課題 (Stefani & Moghaddam, 2005) などによる作業記憶の異常が報告されている。これらの課題においては以前に選択した (もしくはまだ選択していない) 選択肢がどれであるかということについての記憶が作業記憶の指標とされる。このような記憶は試行が変わるたびにリセットされるため、作業記憶内での情報の一時的な保持機能を主に調べるものである。このような 1 試行内ではしか有効でない記憶については海馬の機能の一つとしてとらえられることもあり (Olton & Papas, 1979)、この場合は対照的な概念として試行間で有効な記憶 (例えば課題のルールなど) である参照記憶 (reference memory) が用いられる。上記のように作業記憶については多くの研究で新生仔期反復投与による異常が認められるが、我々の行った研究では MK-801 新生仔期反復投与ラットにおいて放射状迷路課題 (Kawabe et al., 2007) や遅延非見本合わせ課題 (Kawabe & Miyamoto, 2008) では顕著な障害が認められる一方で、自発的交替課題については大きな障害が認められないという結果を得ている (宮本, 2009)。このことは前者が報酬性の課題であるのに対し、後者は報酬を必要としない自発性の課題であることに起因するのかもしれない。そのように仮定すると、この結果は MK-801 新生仔期反復投与が報酬系と考えられている中脳辺縁系のドーパミン系神経に異常をもたらすことを示唆しているのかもしれない。実際一般活動性の項で述べたように、新生仔期反復投与が陽性症状に関わるドーパミン系の機能亢進を引き起こすということを示唆する研究がある (Uehara et al., 2010)。

作業記憶は単に記憶を保持するだけでなく、記憶や認知機構を制御し意思決定や目的的な行動を導く機能を持つ。このような機能は実行機能と呼ばれる。実行機能は作業記憶の一部とされることもあるが、実行機能が作業記憶を制御しているとされることもある。いずれにせよこの機能は作業記憶において特に重要な機能であると同時に、前頭前野の最も中心的な機能であるとも考えられている。ヒトにおける実行機能の異常の有無を調べるための心理テストとしてウィスコンシンカード分類テストが用いられることがある。このテストは、手元のカードを 4 つの山のいずれかに分類することが要求される。分類方法としてカードに描かれた図形の色、



形、数といった3つの次元に基づく方法が考えられるがそのうちの一つのみが正解である。正解となる分類方法は被験者には明示されず、正解か不正解かというフィードバックのみから正しい方法を導くことが要求される。ある程度正解が続いた後に突然別の次元に基づく分類が正解になると言うルール変更が行われるが、前頭前野損傷患者 (Milner, 1963) や統合失調症患者 (Gold, Carpenter, Randolph, Goldberg, & Weinberger, 1997) においてはこのルール変更に対応できず以前のルールに固執する傾向が認められる。新生仔期反復投与動物において実行機能を調べた研究は少ないが、そのうちの一つとしてこのテストと類似したセットシフティング課題を用いた研究がある (Stefani & Moghaddam, 2005)。この課題はウィスコンシンカード分類テストと同じように原学習後に次元をまたぐルール変更を伴う課題である。この研究では明暗弁別から触覚弁別へのルール変更を行っているが、MK-801 新生仔期反復投与ラットはルール変更後の固執傾向が認められることを明らかにしている。

#### 4. プレパルス抑制

プレパルス抑制 (prepulse inhibition; PPI) は、驚愕反応をもたらすような大きな刺激 (パルス刺激) を与える直前 (数十 ms 程度前) にそれよりも小さな刺激 (プレパルス刺激) を与えると驚愕反応が小さくなるという現象である。パルス刺激、プレパルス刺激には聴覚刺激や触覚刺激 (目への空気吹きつけなど)、光刺激などが用いられるが、ラットやマウスを用いた実験では一般に聴覚刺激が用いられる。

PPI はプレパルス刺激によって前注意が働きパルス刺激の情報を遮断することにより起こるとされている。この遮断機能は感覚運動ゲーティング (sensorimotor gating) と呼ばれている。統合失調症患者は PPI が顕著に低下することが知られている (e.g., Braff, Stone, Callaway, Geyer, Glick, & Bali, 1978; Grillon, Ameli, Charney, Krystal, & Braff, 1992)。健常者は感覚運動ゲーティングが働いて必要な感覚情報だけを選択的に処理することが可能であるが、統合失調症患者はこれが正常に機能せず感覚情報が氾濫 (sensory flooding) した結果さまざまな認知機能の異常が起こるのだとも考えられている。

統合失調症の動物モデルにおいても PPI の異常が精力的に調べられている。多くの研究で新生仔期 NMDA 拮抗薬反復投与動物においても PPI が幼少期や成体期に至るまでの長期にわたって低下することが報告されているが (Harris et al., 2003; Lim et al., 2012; Takahashi, Kakita, Futamura, Watanabe, Mizuno, Sakimura, Castren, Nabeshima, Someya, & Nawa, 2006; Uehara et al., 2009; Uehara et al., 2010; Wang et al., 2001; Wang, McInnis, West, Bao, Anastasio, Guidry, Ye, Salvemini, & Johnson, 2003; Wedzony et al., 2008)、変化が認められないとする研究もある (Rasmussen, O'Neil, Manaye, Perry, & Tizabi, 2007; Su, Wang, Li, Guo, Feng, Yang, Huang, & Si, 2011)。

## 今後の研究の課題

最後にこれまで行われてきた新生仔期反復投与に関する行動研究について、考慮すべき点や今後の研究の課題について列挙していきたい。

### 1. 投与スケジュール

NMDA 受容体拮抗薬を用いた研究だけではなく、ほとんどの反復投与の実験、新生仔期投与の実験に当てはまることではあるが、投与期間や投与回数、投与を行う日齢など、薬物の投与スケジュールは研究によって大きく異なっている。投与期間だけを見ても、短い場合は単回のみの投与、長い場合は2週間程度までの投与期間が一般的であるが、中には新生仔期から幼少・青年期に至るまでの6週間以上にわたって投与したもの (Latysheva & Rayevsky, 2003) もあり、研究ごとに大きく異なっている。筆者の研究室においては、MK-801 を5日間投与 (7~11日齢、12~16日齢、17~21日齢) と14日間 (7~20日齢) 投与した場合の両方で成育後の位置遅延非見本合わせ課題の成績を測定しているが、14日間投与ではこの反応が顕著に障害されるものの (Kawabe & Miyamoto, 2008)、5日間投与においてはいずれの投与時期においても障害が認められないことを見いだしている (宮本, 2009)。これ以外の行動・認知機能について同様の傾向が認められるのかについては定かではないが少なくとも学習・記憶機能のような高次な認知機能に異常をもたらすためには、ある程度長期間の投与が必要なのかもしれない。また、脳内のシナプス新生が最も盛んな時期が生後2週間くらいまでであることから、このような時期に薬物投与を行うことが行動異常を引き起こすのに特に有効かもしれない。

### 2. 成体期投与との比較

新生仔期に NMDA 受容体拮抗薬を投与した動物だけでなく、これらの薬物を成体期に単回、あるいは反復的・慢性的に投与した動物も統合失調症モデル動物として用いられる (Jentsch & Roth, 1999)。NMDA 受容体は発達期の脳の可塑的な変化を引き起こすことから、新生仔期に拮抗薬を投与した方が成体期に投与するよりも脳により大きな構造的・機能的変化を引き起こすと考えられる。しかし、成体期反復投与後と新生仔期反復投与後の行動・認知機能の違いを同時に直接比較した研究は少ない。Kawabe et al. (2007) は放射状迷路課題を用いてその比較を行っているが、MK-801 を新生仔期に反復投与した場合にのみこの課題の習得に障害が認められることを見いだしている。多くの成体期反復投与の実験は反復投与終了直後に行動テストを行っている場合が多いが、この実験は投与終了の2週間後よりテストを開始している。したがって、成体期投与で認められる行動異常は新生仔期投与とは異なり一過性のものであり、次第に回復するものであるのかも知れない。また、PPI においても PCP を成体期反復投与し

た場合と新生仔期反復投与を比較した結果、新生仔期投与のみに長期にわたる異常が認められたとの報告もある (Takahashi et al., 2006)。

### 3. 行動異常の生じる時期

神経発達障害仮説においては青年期前後におこる二次的な発達障害が統合失調症発症の直接的な引き金となることを想定しているため、ここまで述べてきた行動・認知機能の異常が青年期前後に起こるものがこの仮説をよりよく反映したモデルであると考えられることができる。例えば神経発達障害仮説に基づくモデルとして知られる新生仔期腹側海馬損傷動物においては、前思春期 (35 日齢) では現れなかった自発活動性の増大が成体期 (65 日齢) になって認められるということを示した研究がある (Sams-Dodd, Lipska, & Weinberger, 1997)。

新生仔期反復投与動物においてもこれと類似した報告がある。Uehara et al. (2010) は、MK-801 新生仔期反復投与とラットにおいて前思春期 (34~38 日齢) では認められない過活動を指標とするメタンフェタミンに対する感受性の亢進や PPI の低下が、成体期 (62~66 日齢) では認められるようになるということが報告されている。同様に Su et al. (2011) は、MK-801 新生仔期反復投与とラットにおいて Morris 水迷路を用いた作業記憶課題を行わせた結果、前思春期 (35~42 日齢) では成績の低下はわずかであったが、成体期 (63~70 日齢) では成績の顕著な低下が認められるということを報告している。しかし、発達段階を追ってどの時期に行動異常が生じるのかについて調べた研究はまだ少ない。様々な行動テストを用いて、発達に伴ってどのような行動変化が起こるかを詳細に追跡することが望まれる。

### 4. 脳組織や神経細胞の構造的・機能的変化

新生仔期反復投与後の脳内で起こる構造的・機能的な変化については様々な側面から研究が行われている。神経細胞の構造的変化においては、NMDA 受容体拮抗薬を新生仔期に投与した場合、単回投与であっても様々な脳部位の神経細胞にアポトーシス性の神経変性が起こることが数多くの研究により指摘されている (e.g., Fredriksson, Archer, Alm, Gordh, & Eriksson, 2004; Harris et al., 2003; Ikonomidou, Bosch, Miksa, Bittigau, Vockler, Dikranian, Tenkova, Stefovaska, Turski, & Olney, 1999; Wang et al., 2001; Wang, Anastasio, Popov, Leday, & Johnson, 2004; Wang et al., 2003)。新生仔期反復投与の結果、全脳 (Facchinetti et al., 1993; Kawabe & Miyamoto, 2008) や小脳 (Facchinetti et al., 1993) の重量の低下や、海馬台の体積や海馬 CA1 領域の神経細胞数の減少 (Harris et al., 2003) が起こることから考えても、新生仔期反復投与が脳に深刻な発達障害を引き起こすことが示唆される。

また、新生仔期反復投与によってグルタミン酸系、ドーパミン系、モノアミン系、アセチルコリン系、GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid;  $\gamma$ -アミノ酪酸) 系などに様々な神経化学的变化が起こることも報告されている (e.g., du Bois, Deng, Han, Newell, & Huang, 2009; Facchinetti

et al., 1994; Gorter, Botterblom, Feenstra, & Boer, 1992; Harris et al., 2003; Nakatani-Pawlak et al., 2009; Sircar, 2003)。グルタミン酸系についてとりあげると、新生仔期反復投与後に脳内の NMDA 受容体にアップレギュレーションが起こっていることを示唆する研究がいくつかある。Sircar (2003) は、PCP 新生仔期反復投与が成体期における海馬や前頭皮質の NMDA 受容体結合数を増加させることを見いだしている。du Bois et al. (2009) は PCP 新生仔期反復投与ラットについて 12、18、32、96 日齢時の NMDA 受容体結合数を調べたところ、視床においては 18~96 日齢時のすべてに、海馬においては 96 日齢時においてその増加が認められたものの、前頭前野においては 18、32 日齢時、前帯状皮質においては 32 日齢時のみに一過性の増加が認められることを報告している。また、Harris et al. (2003) は MK-801 新生仔期反復投与ラットにおいて成体期の NMDA 受容体のサブユニットである NR1 の発現を調べたところ、視床背外側部、海馬背側門部では発現が減少する一方で、海馬腹側門部と海馬腹側 CA3 領域に増加が認められることを報告している。

海馬における NMDA 受容体のアップレギュレーションは、新生仔期反復投与の結果として、成体期において PCP 急性投与による過活動が引き起こされやすくなるという結果 (Nakatani-Pawlak et al., 2009; Wang et al., 2001) や、NMDA 急性投与によるけいれん感受性が高まるという結果 (Brooks et al., 1997)、海馬 CA1 細胞における電気生理学的反応において NMDA に対する感受性が増大するという結果 (Gorter & Brady, 1994) からも示唆することができる。また、MK-801 新生仔期反復投与後には海馬 CA1 領域のキンドリング刺激によるけいれん感受性が増大するという報告もあるが (Gorter, Titulaer, Bos, & Huisman, 1991)、キンドリングによるけいれん発作には NMDA 受容体を含むグルタミン酸受容体が関与しているとされることから (Morimoto, Fahnestock, & Racine, 2004)、この結果も間接的に NMDA 受容体のアップレギュレーションを裏付ける結果といえるであろう。

NMDA 受容体にアップレギュレーションが起こるという結果は、一見すると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とは矛盾する結果である。しかしながら、統合失調症患者の死後脳分析の結果、脳の広い範囲でグルタミン酸受容体数の増加が起こっているということが知られている (Ishimaru & Toru, 1997)。前述のように、これは神経伝達物質であるグルタミン酸の放出量の長期にわたる低下に基づいて起こる補償作用であると考えられるため、新生仔期反復投与動物においてもシナプス後部のグルタミン酸系の変化だけではなく、シナプス前部の変化を調べるのがこの動物の行動異常の全体像の理解に役立つかもしれない。

## 5. 予測的妥当性の評価

前述のように精神疾患の動物モデルは表面的妥当性、構成概念妥当性、予測的妥当性という 3 つの観点から評価される。予測的妥当性の評価は既存の治療薬が行動・認知機能の異常を改

善するかということから評価される。新生仔期反復投与動物の行動研究については現在までのところ行動自体の評価についての研究が中心であり、行動異常の薬理的な改善を目指した研究は少ない。抗精神病薬を使用した研究である予測的妥当性についての評価についての報告も同様に数少ない。

Wang et al. (2001) は、PCP 新生仔期反復投与による PPI 障害が抗精神病薬のオランザピンによって改善されることを見出している。同様に Nakatani-Pawlak et al. (2009) は、PCP 新生仔期反復投与による社会的相互作用の低下が抗精神病薬のクロザピンによって改善されることを示している。また、Lim et al. (2012) は、MK-801 新生仔期反復投与と離乳後の単独飼育（社会的ストレスの一種と考えられる）を組み合わせた場合に認められる PPI 障害、過活動、物体再認記憶の障害がクロザピンにより改善されることを報告している。ただし、この研究においてはこれらの行動に対し MK-801 新生仔期反復投与のみでの効果がない、もしくは効果が小さいため、MK-801 処置のみを行ったラットに対してはクロザピンの効果は調べていない。またこの研究の筆者らは、過活動、物体再認記憶についての結果はクロザピンの鎮静作用による非特異的な効果であるという可能性も排除できないということを指摘している。

## まとめ

本論では、新生仔期 NMDA 受容体拮抗薬反復投与動物の統合失調症モデルとしての妥当性という観点から、その行動・認知機能の特性を調べた研究を概観した。これらの動物において、作業記憶や PPI などいくつかの行動・認知機能においては統合失調症と類似した障害が認められるとの報告が多い。しかし、これらの動物が統合失調症モデル動物の一つとして考えられるようになったのはせいぜいここ十数年程度のことであり、その行動・認知機能の全体像が把握されているとは言い難い。

また構成概念妥当性を補強する上で、新生仔期反復投与動物において統合失調症と同様の脳の構造的・機能的変化が起こっているかということについてもさらに研究が進められるべきである。同時に、予測的妥当性の評価に関する研究もまだ少ないため、これについても今後の研究が望まれる。

## 文 献

- Abraham, W. C. & Mason, S. E. (1988) Effects of the NMDA receptor/channel antagonists CPP and MK801 on hippocampal field potentials and long-term potentiation in anesthetized rats. *Brain Research*, 462, 40-46.
- Braff, D., Stone, C., Callaway, E., Geyer, M., Glick, I., & Bali, L. (1978) Prestimulus effects on human startle reflex in normals and schizophrenics. *Psychophysiology*, 15, 339-343.
- Brooks, W. J., Weeks, A. C., Leboutillier, J. C., & Petit, T. L. (1997) Altered NMDA sensitivity and learning following chronic developmental NMDA antagonism. *Physiology and Behavior*, 62, 955-

962.

- du Bois, T. M., Deng, C., Han, M., Newell K. A., & Huang, X. F. (2009) Excitatory and inhibitory neurotransmission is chronically altered following perinatal NMDA receptor blockade. *European Neuropsychopharmacology*, *19*, 256-265.
- Facchinetti, F., Ciani, E., Dall'Olio, R., Virgili, M., Contestabile, A., & Fonnum, F. (1993) Structural, neurochemical and behavioral consequences of neonatal blockade of NMDA receptor through chronic treatment with CGP-39551 or MK-801. *Developmental Brain Research*, *74*, 219-224.
- Facchinetti, F., Dall'Olio, R., Ciani, E., Sparapani, M., Virgili, M., & Contestabile, A. (1994) Long-lasting effects of chronic neonatal blockade of *N*-methyl-D-aspartate receptor through the competitive antagonist CGP 39551 in rats. *Neuroscience*, *60*, 343-353.
- Fredriksson, A., Archer, T., Alm, H., Gordh, T., & Eriksson, P. (2004) Neurofunctional deficits and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration. *Behavioural Brain Research*, *153*, 367-376.
- Gold, J. M., Carpenter, C., Randolph, C., Goldberg, T. E., & Weinberger, D. R. (1997) Auditory working memory and Wisconsin Card Sorting Test performance in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *54*, 159-165.
- Goldman-Rakic, P. S. (1994) Working memory dysfunction in schizophrenia. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, *6*, 348-357.
- Gorter, J. A., Botterblom, M. H. A., Feenstra, M. G. P., & Boer, G. J. (1992) Chronic neonatal NMDA receptor blockade with MK-801 alters monoamine metabolism in the adult rat. *Neuroscience Letters*, *137*, 97-100.
- Gorter, J. A. & Brady, R. J. (1994) NMDA receptor responses in adult hippocampal CA1 region after neonatal treatment with MK-801: comparison with NMDA receptor responses in the immature rat. *Brain Research*, *665*, 63-68
- Gorter, J. A. & de Bruin, J. P. C. (1992) Chronic neonatal MK-801 treatment results in an impairment of spatial learning in the adult rat. *Brain Research*, *580*, 12-17.
- Gorter, J. A., Titulaer, M., Bos, N. P. A., & Huisman, E. (1991) Chronic neonatal MK-801 administration leads to a long-lasting increase in seizure sensitivity during the early stages of hippocampal kindling. *Neuroscience Letters*, *134*, 29-32.
- Grillon, C., Ameli, R., Charney, D. S., Krystal, J., & Braff, D. L. (1992) Startle gating deficits occur across prepulse intensities in schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*, *32*, 939-943.
- Harris, E. W., Ganong, A. H., & Cotman, C. W. (1984) Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of *N*-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Research*, *323*, 132-137.
- Harris, L. W., Sharp, T., Gartlon, J., Jones, D. N. C., & Harrison, P. J. (2003) Long-term behavioural, molecular and morphological effects of neonatal NMDA receptor antagonism. *European Journal of Neuroscience*, *18*, 1706-1710.
- Ikonomidou, C., Bosch, F., Miksa, M., Bittigau, P., Vockler, J., Dikranian, K., Tenkova, T. I., Stefovská, V., Turski, L., & Olney, J. W. (1999) Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*, *283*, 70-74.
- Ishimaru, M. & Toru, M. (1997) The glutamate hypothesis of schizophrenia: therapeutic implications. *CNS Drugs*, *7*, 47-67.
- Javitt, D. C. & Zukin, S. R. (1991) Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *148*, 1301-1308.
- Jentsch, J. D. & Roth, R. H. (1999) The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, *20*, 202-225.
- Kawabe, K., Ichitani, Y., & Iwasaki, T. (1998) Effects of intrahippocampal AP5 treatment on radial-

- arm maze performance in rats. *Brain Research*, 781, 300-306.
- Kawabe, K., Iwasaki, T., & Ichitani, Y. (2007) Repeated treatment with *N*-methyl-D-aspartate antagonists in neonatal, but not adult, rats causes long-term deficits of radial-arm maze learning. *Brain Research*, 781, 77-86.
- Kawabe, K. & Miyamoto, E. (2008) Effects of neonatal repeated MK-801 treatment on delayed nonmatching-to-position responses in rats. *Neuroreport*, 19, 969-973.
- Kawabe, K., Yoshihara, T., Ichitani, Y., & Iwasaki, T. (1998) Intrahippocampal D-cycloserine improves MK-801-induced memory deficits: radial-arm maze performance in rats. *Brain Research*, 814, 226-230.
- Latysheva, N. V. & Rayevsky, K. S. (2003) Chronic neonatal *N*-methyl-D-aspartate receptor blockade induces learning deficits and transient hypoactivity in young rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27, 787-794.
- Lim, A. L., Taylor, D. A., & Malone, D. T. (2012) A two-hit model: behavioural investigation of the effect of combined neonatal MK-801 administration and isolation rearing in the rat. *Journal of Psychopharmacology*, 26, 1252-1264.
- McDonald, J. W. & Johnston, M. V. (1990) Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Research Reviews*, 15, 41-70.
- Milner, B. (1963) Effect of different brain lesions on card sorting. *Archives of Neurology*, 9, 90-100.
- 宮本絵梨 (2009) MK-801 新生仔期反復投与ラットの行動異常の解析—投与期間および投与時期による差異— 大阪市立大学大学院文学研究科修士論文 (非公開)
- Morimoto, K., Fahnestock, M., & Racine, R. J. (2004) Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Progress in Neurobiology*, 73, 1-60.
- Morris, R. G. M. (1989) Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning in rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *Journal of Neuroscience*, 9, 3040-3057.
- Morris, R. G. M., Anderson, E., Lynch, G. S., & Baudry, M. (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319, 774-776.
- Nakatani-Pawlak, A., Yamaguchi, K., Tatsumi, Y., Mizoguchi, H., & Yoneda, Y. (2009) Neonatal phencyclidine treatment in mice induces behavioral, histological and neurochemical abnormalities in adulthood. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32, 1576-1583.
- Olton, D. S. & Papas, B. C. (1979) Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia*, 17, 669-682.
- Rapoport, J. L., Giedd, J. N., & Gogtay, N. (2012) Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Molecular Psychiatry*, 17, 1228-1238.
- Rasmussen, B. A., O'Neil, J., Manaye, K. F., Perry, D. C. & Tizabi, Y. (2007) Long-term effects of developmental PCP administration on sensorimotor gating in male and female rats. *Psychopharmacology*, 190, 43-49.
- Sams-Dodd, F., Lipska, B. K., & Weinberger, D. R. (1997) Neonatal lesions of the rat ventral hippocampus result in hyperlocomotion and deficits in social behaviour in adulthood. *Psychopharmacology*, 132, 303-310.
- Seeman, P. & Tallerico, T. (1998) Antipsychotic drugs which elicit little or no Parkinsonism bind more loosely than dopamine to brain D2 receptors, yet occupy high levels of these receptors. *Molecular Psychiatry*, 3, 123-134.
- Sircar, R. (2003) Postnatal phencyclidine-induced deficit in adult water maze performance is associated with *N*-methyl-D-aspartate receptor upregulation. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 21, 159-167.

- Snyder, S. H. (1980) Phencyclidine. *Nature*, **285**, 355-356.
- Stefani, M. R. & Moghaddam, B. (2005) Transient *N*-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia. *Biological Psychiatry*, **57**, 433-436.
- Stringer, J. L., Greenfield, L. J., Hackett, J. T., & Guyenet, P. G. (1983) Blockade of long-term potentiation by phencyclidine and  $\sigma$  opiates in the hippocampus in vivo and in vitro. *Brain Research*, **280**, 127-138.
- Su, Y. A., Wang, X. D., Li, J. T., Guo, C. M., Feng, Y., Yang, Y., Huang, R. H., & Si, T. M. (2011) Age-specific effects of early MK-801 treatment on working memory in female rats. *Neuroreport*, **22**, 402-406.
- Takahashi, M., Kakita, A., Futamura, T., Watanabe, Y., Mizuno, M., Sakimura, K., Castren, E., Nabeshima, T., Someya, T., & Nawa, H. (2006) Sustained brain-derived neurotrophic factor up-regulation and sensorimotor gating abnormality induced by postnatal exposure to phencyclidine: comparison with adult treatment. *Journal of Neurochemistry*, **99**, 770-780.
- Uehara, T., Sumiyoshi, T., Seo, T., Itoh, H., Matsuoka, T., Suzuki, M., & Kurachi, M. (2009) Long-term effects of neonatal MK-801 treatment on prepulse inhibition in young adult rats. *Psychopharmacology*, **206**, 623-630.
- Uehara, T., Sumiyoshi, T., Seo, T., Matsuoka, T., Itoh, H., Suzuki, M., & Kurachi, M. (2010) Neonatal exposure to MK-801, an *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist, enhances methamphetamine-induced locomotion and disrupts sensorimotor gating in pre- and postpubertal rats. *Brain Research*, **1352**, 223-230.
- Wang, C., Anastasio, N., Popov, V., Leday, A., & Johnson, K. M. (2004) Blockade of *N*-methyl-D-aspartate receptors by phencyclidine causes the loss of corticostriatal neurons. *Neuroscience*, **125**, 473-483.
- Wang, C., McInnis, J., Ross-Sanchez, M., Shinnick-Gallagher, P., Wiley, J. L., & Johnson, K. M. (2001) Long-term behavioral and neurodegenerative effects of perinatal phencyclidine administration: implications for schizophrenia. *Neuroscience*, **107**, 535-550.
- Wang, C., McInnis, J., West, J. B., Bao, J., Anastasio, N., Guidry, J. A., Ye, Y., Salvemini, D., & Johnson, K. M. (2003) Blockade of phencyclidine-induced cortical apoptosis and deficits in prepulse inhibition by M40403, a superoxide dismutase mimetic. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **304**, 266-271.
- Wedzony, K., Fijał, K., Mackowiak, M., Chocyk, A., & Zajaczkowski, W. (2008) Impact of postnatal blockade of *N*-methyl-D-aspartate receptors on rat behavior: a search for a new developmental model of schizophrenia. *Neuroscience*, **153**, 1370-1379.
- Weinberger, D. R. (1987) Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, **44**, 660-669.

【2013年9月10日受付, 11月11日受理】



## **Behavioral properties in rats and mice with repeated neonatal treatment by NMDA antagonists: as an animal model for schizophrenia**

**KAWABE Kouichi**

NMDA receptors, a subtype of ionotropic glutamatergic receptors, are related to neuronal plasticity in learning and/or memory, and to that in a developing brain. Rats and mice subjected to repeated neonatal treatment with NMDA antagonists, such as phencyclidine and MK-801, show various patterns of long-term behavioral and cognitive impairment up to adulthood. Since some of these alterations are similar to symptoms in schizophrenic patients, it is recently proposed that these rats and mice might be an animal model for schizophrenia. This paper has reviewed behavioral properties in these animals, and discussed their validity for a model for schizophrenia. Furthermore, remaining issues in the research using these animals are also discussed.